



УДК 577.21:576.3

## СТИМУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА РНК ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДОМ ЗАВИСИТ ОТ СТАДИИ РАЗВИТИЯ КУЛЬТУРЫ ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТОК

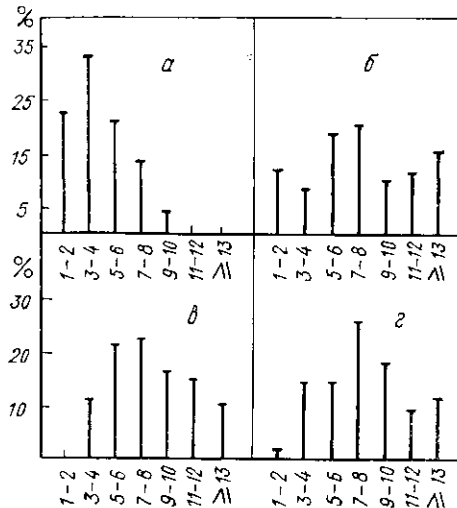
Е. А. Эренпрейса, Т. Г. Сьякте

Диметилсульфоксид (ДМСО) привлекает внимание исследователей своей способностью вызывать в нетоксической концентрации (1—2 %) дифференцировку опухолевых клеток, что связывают с индукцией им однонитевых разрывов ДНК [1]. Интерес к изучению непосредственного влияния ДМСО на синтез РНК возник в связи с обнаружением в клетках асцитной гепатомы Зайдела после их обработки 1 %-ным ДМСО в течение 2 ч ультраструктурных признаков интенсификации синтеза РНК [2]. Изучение включения импульсной <sup>3</sup>H-уридиновой метки на этой модели выявило значительное увеличение синтеза РНК по сравнению с контролем — в 3,2 и 4,6 раз в двух различных опытах [3]. В литературе имеются данные лишь о подавлении синтеза РНК токсическими дозами ДМСО [4]. Дальнейшее исследование этого вопроса проводилось на трансформированных вирусом SV40 фибробластах джунгарского хомячка линии 4/21. Нам удалось выявить новые закономерности этого явления, что и является предметом данного сообщения.

**Материалы и методы.** Линия 4/21 представлена более чем на 90 % диплоидными клетками. Культура, выращиваемая в течение 24 ч, состоит из прикрепившихся клеток, только часть которых распластана и начинает ориентироваться. Двух- и трехдневные

Гистограммы распределения интенсивности синтеза РНК по клеткам в популяции (данные опыта № 3 табл. 2): а, б — культура, выращиваемая в течение 24 ч; в, г — 7 дней; а, в — контроль; б, г — обработка 1 %-ным ДМСО (2 ч). По вертикали — число клеток (%), по горизонтали — интенсивность синтеза РНК, выраженная в количестве зерен серебра в клетке <sup>3</sup>H-уридин-автографов (n=120)

Distribution of cells according to their RNA synthetic activity (data from exp. 3, Table 2). Ordinate — the number of cells in per cents, abscissa — the number of silver grains per a cell (n=120). а, б — 24 h culture; в, г — 7-day culture; а, в — control; б, г — treatment with 1 % DMSO (2 h)



культуры содержат полностью распластаные клетки в фазе экспоненциального роста. Семидневная культура представлена плотным монослоем. Культуру пересевали на 7-й день в среду, содержащей среду Игла, гидролизат лактальбумина и бычью сыворотку в отношении 4,5 : 4,5 : 1, а также пенициллин и стрептомицин. Клетки высевали в равных количествах (примерно по 10<sup>6</sup>) во флаконы Карреля с равным количеством среды. В различные дни роста в среду на 2 ч добавляли ДМСО («Serva», ФРГ) до 1 %-ной концентрации. За 15 мин до окончания инкубации добавляли <sup>3</sup>H-уридин до конечной концентрации 74 кБк/мл.

Затем клетки снимали со стекла раствором трипсина и версена, объединяя каждый раз по три флакона на контроль и опыт, отмывали средой, приготавливали мазки в капле бычьей сыворотки, фиксировали их этанолом и уксусной кислотой (3:1, 10 мин), отмывали от избытка уридина 3 %-ным раствором хлорной кислоты при 4 °С (20 мин), промывали и высушивали. В каждой серии экспериментов использовали одни и те же реактивы, а препараты покрывали фотоэмульсией (типа М) и проявляли в одном держателе одновременно. Интенсивность синтеза РНК определяли по среднему числу зерен проявленного серебра на 80—120 клеток, подсчет митотического индекса производили в 1000 клеток.

**Результаты и обсуждение.** В опытах на 2—3-дневных культурах усиления синтеза РНК под влиянием ДМСО не обнаружено (табл. 1). Предположив, что эффект ДМСО может проявиться на иной стадии выращивания, мы взяли для контрастного сравнения культуры после 24 ч и 7 дней роста. Были поставлены три одинаковые серии экспериментов на трех посевах. Их результаты даны в табл. 2. Обнаружено, что ДМСО вызывает усиление синтеза РНК — в среднем в 2,4 раза в клетках 24-часовой культуры. На 7-дневную, как и на 2—3-дневную культуру, он влияния не оказывает. Изучение гистограмм показывает, что в 7-дневной культуре ДМСО существенно не влияет на распределение интенсивности синтеза РНК по клеткам; в 24-часовой культуре некоторая часть клеток устойчива к действию ДМСО (рисунок).

Таблица 1  
Влияние ДМСО на интенсивность включения <sup>3</sup>H-уридина \*  
Influence of DMSO on a pulse label with <sup>3</sup>H-uridine

№ опыта	Возраст культуры, дни	Среднее количество зерен серебра на клетку **	
		Контроль	ДМСО
1	2	8,8±1	9,7±2
2	3	16±2	17±3
3	3	27±5	26±7

\* Здесь и в табл. 2 сравнение интенсивности синтеза РНК правомочно только по горизонтали, так как продолжительность экспозиции автографов в сериях различна. Исключение — опыт № 1 табл. 1 и опыт № 3 табл. 2. \*\* Доверительные интервалы рассчитаны для вероятности 95 % (то же в табл. 2).

токсической концентрации ДМСО и на другом объекте — фибробластах линии 4/21. Как и на клетках гепатомы Зайдела, повышение синтеза РНК весьма значительно. Вместе с тем выявляется новая закономерность — способность ДМСО вызывать эффект в зависимости от стадии роста культуры. Эффект проявляется на очень молодой культуре с низким уровнем синтеза РНК, он отсутствует на 2—7-дневных культурах с высоким уровнем синтеза РНК. Более того, анализируя данные, приведенные в табл. 2, мы видим, что ДМСО вызывает прирост синтеза РНК в 24-часовой культуре до уровня синтеза РНК в 7-дневной культуре. Это позволяет предположить, что ДМСО приводит в действие естественный потенциал синтеза РНК, который нормально реализуется в данных клетках при дальнейшем росте культуры.

Обнаруженная нами интенсивность и альтернативность клеточного ответа дает основание предположить триггерный характер механизма действия ДМСО. Включение

следующие показатели пролиферации: митотические индексы составляют для 24-часовой культуры — 22 % (n=4), для 3-дневной — 22 % (n=5) и для 7-дневной — 3 % (n=4).

Таким образом, нам удалось подтвердить усиление синтеза РНК, что выражается в раннем ответе опухолевых клеток на действие не-

Таблица 2  
Влияние ДМСО на интенсивность включения <sup>3</sup>H-уридина в зависимости от срока роста культуры  
Influence of DMSO on a pulse label with <sup>3</sup>H-uridine depending on the term of cell cultivation

№ серии экспериментов	Среднее количество зерен серебра на клетку					
	24-часовая культура			7-дневная культура		
	Контроль	ДМСО	Прирост (кратно), P<0.05	Контроль	ДМСО	Прирост (кратно), P<0.05
1	3,5±0,3	6,6±0,7	1,9	6,0±0,5	5,4±0,6	Нет
2	2,1±0,4	7,2±1,4	3,4	6,8±0,5	6,8±0,9	Нет
3	4,2±0,5	8,2±0,8	2	8,5±1,3	8,4±1,3	Нет

этого механизма, на что указывает пролиферативная активность культур, непосредственно от нее не зависит. Общим для двух объектов, чувствительных к ДМСО (клеток асцитной гепатомы и 24-часовой культуры линии 4/21), является отсутствие или слабое взаимодействие клеток с субстратом и между собой, существенных для реализации тканевой дифференцировки [5]. Можно думать, что ДМСО запускает в них процесс, который естественно индуцируется в культуре при установлении монослоя. В связи с этим выполнен ряд работ по изучению положительной корреляции между плотностью клеток в культуре (точнее, степенью развития их контактов) и активацией их ядер [6]. Ранние явления дерепрессии генома обнаружены и при действии иного индуктора дифференцировки — бутирата натрия [7].

Учитывая вышеизложенное, выдвигается предположение, что активация генома как начальный этап дифференцировки — общебиологическая закономерность.

#### STIMULATION OF RNA SYNTHESIS BY DIMETHYL SULPHOXIDE DEPENDS ON THE DEVELOPMENTAL STAGE OF THE TRANSFORMED CELLS' CULTURE

*E. A. Erenpreisa, T. G. Sjakste*

Institute of Experimental and Clinical Medicine,  
Ministry of Public Health of the Latvian SSR, Riga

#### Summary

The work has been carried out by the method of quantitative pulse <sup>3</sup>H-uridine autoradiography on the line 4/21 of transformed hamster fibroblasts. As previously stated on Zajdela ascite hepatoma 2 h treatment with 1 % DMSO causes 2-3-fold enhancing of RNA synthesis. However, it manifests only on 24 h culture with the low ground level of RNA synthesis. The later cultures with the high RNA-synthetic activity do not respond. The trigger-like mechanism of DMSO action is discussed.

1. Scher W., Friend C. Breakage of DNA and alterations in folded genomes by inducers of differentiation in Friend erythroleukemic cells // *Cancer Res.*— 1978.— 38, N 3.— P. 841—849.
2. Эренпрейса Е. А., Зирне Р. А., Эренпрейс Я. Г. Влияние диметилсульфоксида на ультраструктуру клеток асцитной гепатомы Зайдела // *Цитология.*— 1984.— 26, № 9.— С. 1085.
3. Эренпрейса Е. А., Сьяксте Т. Г., Зирне Р. А. Влияние одностранных разрывов ДНК на ультраструктуру и РНК-синтетическую активность хроматина опухолевых клеток // Тез. IX Всесоюз. симпозиум «Структура и функции клеточного ядра».— Черноголовка, 1987.— С. 99.
4. Hagemann R. F. Effect of dimethyl sulfoxide on RNA synthesis in S-180 tumor cells // *Experientia.*— 1969.— 19, N 12.— P. 1298—1300.
5. Васильев Ю. М. Опухолевые клетки и их микроокружение // *Вопр. онкологии.*— 1984.— 25, № 19.— С. 4512—4517.
6. Bolund L., Darzynkiewicz Z., Ringertz N. R. Cell concentration and the staining properties of nuclear deoxyribonucleoprotein // *Exp. Cell Res.*— 1970.— 62, N 1.— P. 76—89.
7. Reeves R., Cserjesi P. Sodium butyrate induces new gene expression in Friend erythroleukemic cells // *J. Biol. Chem.*— 1979.— 254, N 10.— P. 4283—4290.

НИИ эксперим. и клин. медицины МЗ ЛатвССР, Рига

Получено 25.11.86

УДК 579.887.111:579.252

#### ДНК МИКОПЛАЗМ СОДЕРЖАТ ФРАГМЕНТЫ, ГОМОЛОГИЧНЫЕ ДЛИННЫМ КОНЦЕВЫМ ПОВТОРАМ ВИРУСА РАУШЕРА

**С. Н. Борхсениус, И. В. Раковская, О. А. Чернова, Н. А. Меркулова**

Микоплазмы — самые малые прокариотические организмы, способные к самостоятельному воспроизведению. В природе большинство микоплазм являются паразитами растений, животных и человека [1, 2]. Микоплазмы часто сопутствуют другим инфекциям и активируют персистирующие, в том числе онкогенные вирусы [3]. Осо-