

ЛИТЕРАТУРА

1. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. - М. Мир., 436, 1976.
2. Одолевская Е.Р., Синеокий. Генетика, 23, 4, 643-653, 1987.
3. Оганесян Г.Г. Биолог. журн. Армении, 48, 55-58, 1995.
4. Оганесян Г.Г., Барсесян А.А., Оганесян М.Г. Биолог. журн. Армении, 37, 5, 398-404, 1984.
5. Рыбчин В.Н. Генетика, 15, 3, 391-409, 1979.
6. Berlyn M.B. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62, 3, 814-984, 1998.
7. George J., Castellazzi M., Butin. Mol. Gen. Genet., 140, 309-332, 1975.
8. Gottesman S. Ann. Rev. Genet., 30, 465-506, 1996.
9. Gottesman S., Stout V. Mol. Microbiol., 5, 1599-1606, 1991.
10. Jubete Y., Maurizi M.R., Gottesman S. J. Biol. Chem., 271, 48 30798-30803, 1996.
11. Kelley W.L., Georgopoulos C. J. Mol. Microbiol., 25, 5, 913-931, 1997.
12. Ogannessian M.G., Ogannessian H.G. Genetics, 1973.

Поступила 23.1.2000

Биолог. журн. Армении, 1-2 (53), 2001

УДК 547.963.32

ОСОБЕННОСТИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННОЙ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ОПУХОЛЕВУЮ ДНК

Д.В. ГАРИБЯН, Н.В. ХУДАВЕРДЯН, И.С. ДАНИЕЛЯН, А.С. АГАРОНЯН,
О.Г. КАРАПЕТЯН

Институт тонкой органической химии НАН Армении, 375014, Ереван

5-метилцитозин - метилирование - саркома 45

При выяснении молекулярных механизмов злокачественной трансформации и дифференцировки клеток сделано заключение о корреляции уровня метилирования ДНК с функциональной активностью клеток. Выявлено, что одним из признаков злокачественного развития является нарушение уровня метилирования ДНК, поскольку энзиматическое метилирование ДНК является одним из мощных источников мутации в клетке и может дестабилизировать структуру генов [1, 4]. Кроме того, существует внутриклеточный механизм регуляции экспрессии генов [9], где активация экспрессии клеточных генов, как правило, сопровождается уменьшением уровня метилирования, что может привести к изменению характера дифференцировки клеток [11, 10]. Уникальность процесса метилирования ДНК заключается в том, что это единственный тип модификации первичной структуры ДНК эукариотической клетки.

контролируемой ее геном. Показано гиперметилирование ДНК опухолевых клеток различного генеза [2, 3, 5, 8, 13]. Действие многих активных противоопухолевых веществ направлено непосредственно на ДНК, как главную мишень опухолевой клетки, поскольку повреждения структуры ДНК, вызываемые этими веществами, приводят к их гибели.

Исходя из этого, чтобы показать обладает ли бактериальная культура, выделенная от здоровых людей (3 штамма кишечной палочки, зарегистрированных в ГОС Научно-исследовательском институте стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича, паспорт N 01-07/89), цитостатическим воздействием на опухоль, были исследованы структурные особенности ДНК опухоли саркома 45 до и после воздействия на нее бактериальной культурой *in vitro*. Кроме того, в этом же плане изучалась и сама бактериальная культура.

Материал и методика. 10г опухолевой ткани (саркома 45) гомогенизировали в 0,15 Н растворе NaCl, добавляли 18 мл бактериальной культуры, выделенной от здоровых лиц, в одну колбу, во вторую колбу в тех же условиях добавляли бактериальную культуру, выделенную от онкобольных, в третью - от онкобольных, получавших в течение 3-х месяцев бактериальную культуру, выделенную у практически здоровых лиц. Контроль - 10 г опухолевой ткани гомогенизировали в 0,15 Н растворе NaCl. Гомогенаты инкубировали в термостате при 37° 24 ч. В работе использовали метод экстракции ДНК, разработанный Ванюшиным [12] на основе фенольно-хлороформного метода экстрагирования ДНК в присутствии 1,5%-ной SDS.

Гидролиз до оснований производили в запаянных стеклянных ампулах в 85%-ной муравьиной кислоте при 175° в течение одного часа (0,1 мл кислоты на 1 мг ДНК). Разделение оснований производили с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на ДЭАЭ-целлюлозе в растворителе н-бутанол-вода-амиак (60:10:0,1). Спектрофотометрию элюатов всех оснований ДНК (А Т МЦ Г Ц) производили против элюатов из соответствующих участков хроматограмм.

Экстракцию ДНК из бактериальной культуры здоровых людей, онкологических больных и исследование ее нуклеотидного состава проводили по той же методике.

Результаты и обсуждение. Полученные данные показали, что бактериальная культура, полученная от здоровых людей, ингибирует метилирование ДНК в опухолевой ткани (табл. 1). По всей вероятности, бактериальная культура *E. coli*, полученная от здоровых людей, может выступать в роли генного индуктора, изменяя первичную структуру ДНК опухоли, деметилируя ее путем эксцизии 5-метилцитозина (5МЦ), активизации нуклеаз (деметираз), что может вызвать повреждения опухолевой ДНК и привести к утрате клетками своих функций, нарушая механизмы, связанные с ростом клеток, что в свою очередь может привести к гибели (некрозу) клеток. При воздействии бактериальной культуры онкобольных на опухолевые клетки (саркома 45) не только не наблюдается снижения уровня метилирования ДНК, но, наоборот, имеется тенденция к повышению содержания 5МЦ, что говорит в данном случае о функциональной активности клеток, поскольку метилирование ДНК коррелирует с функциональной активностью и дифференцировкой клеток.

Как видно из табл. 1, резко подавлен уровень метилирования ДНК в самой бактериальной культуре онкологических больных, что свидетельствует о том, что для экспрессии многих генов необходимо,

чтобы они были полностью или хотя бы частично неметилированы [7]. У онкобольных, получавших в течение 3 месяцев бактериальную культуру, выделенную от здоровых людей, кишечная флора при инкубации с опухолевыми клетками также уменьшает содержание 5МЦ в ДНК, но в меньшей степени, чем бактериальная культура, выделенная от здоровых лиц. Не исключено, что ингибирование метилирования ДНК в этих случаях в какой-то мере может быть ответственным и за начало реперационных процессов в ДНК опухоли, поскольку деметилирование ДНК приводит к экспрессии генной активности. В таблице приведены данные по содержанию известных оснований (Г, Ц, А, Т) и 5МЦ в исследуемых ДНК. Содержание основных пар оснований в изученных ДНК практически одинаково. Выделенные ДНК принадлежат АТ-типу, количество (Г+Ц+5МЦ) в них составляет 43,9 - 45,5 мол%.

Таблица 1. Нуклеотидный состав ДНК

Источник ДНК	Содержание оснований в ДНК, мол%					
	Г	Ц	МЦ($\bar{X} \pm \sigma$)	А	Т	Г+Ц+МЦ
Бак. культура здоровых людей	21,8	20,9	1,12 \pm 0,02	28,1	28,1	43,8
Бак. культура онкобольных	21,6	20,9	0,73 \pm 0,02	28,4	28,4	43,2
Опухоль (саркома 45)	21,3	20,7	1,57 \pm 0,03	28,3	28,2	45,5
Саркома 45 + бак. культура здоровых людей	21,9	20,9	0,61 \pm 0,02	28,3	28,3	43,4
Саркома 45+ бак. культура онкобольных, получавших в течение 3-х месяцев бак. культ. здоровых людей	21,8	20,7	1,17 \pm 0,02	28,2	28,2	43,6
Саркома 45 + бак. культура онкобольных	21,5	20,7	1,74 \pm 0,02	28,0	28,1	43,39

Нуклеотидный состав ДНК соответствует правилам Чаргаффа. Четко выделяется разница в уровне метилирования между образцами ДНК.

Результаты наших исследований коррелируют с высоким канцеролитическим свойством исследуемых штаммов бактерий *E. coli*, где индекс некроза опухолевых клеток (ИНОК)-способность кишечных палочек, полученных от здоровых лиц, подвергать некрозу опухолевые клетки - очень высок - 86%. ИНОК штаммов бактерий *E. coli*, высеянных от пациентов, в организме которых имеется злокачественный процесс, низкий - 29% [6].

Таким образом, развитие и прогрессия неопластического состояния, по-видимому, тесно связаны с изменением генетического материала, и здесь речь может идти и об энзиматическом метилировании опухолевой ДНК. Изменения характера и уровня метилирования ДНК опухоли при воздействии на нее бактериальной культурой, выделенной от практически здоровых людей, свидетельствуют об изменении первичной структуры ДНК опухоли, которая связана с активацией нуклеаз (деметираз) путем эксцизии 5МЦ, а это может вызвать соответствующие повреждения ДНК и привести к некрозу опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белохвостов А.С., Осипович В.К. и др. Радиационная биол., 35, 356-363, 1995.
2. Жижина Г.П., Когарко И.Н., Троцкая Т.П., Виноградова Ю.Е. Экспер. онкология, 11, 5, 54-56, 1982.
3. Кляшева Р.И. Вopr. онкологии, 36, 10, 1186-1189, 1990.
4. Мазин А.Л. Молек. биол., 26, 2, 244-263, 1992.
5. Федоров Н.А. Структура ДНК и трансформация клеток, М., Медицина, 1983.
6. Шагеламов В.А., Карпетян А.О., Карпетян О.Г. Материалы по актуальным вопросам совр. гистологии, Москва, 1988.
7. Adams R.L.P., Hanley A., Rinaldi A. FEBS Lett., 269, 1, 29-31, 1990.
8. Baruchel A., Sigaux F. Nonv. Rev. Fr. Hematol, 33 (6), 551-553, 1991.
9. Carington M.W., Solter R.D., Cress W.P., Ting Y.P.V. Immunogenetics, 22, 3, 219-229, 1985.
10. Counts J.L., Ms. Clain R.M., Yoodman J.I. Mol. Carcinog., Feb, 18 (2), 97-106, 1997.
11. Kay P.H., Spagnolo D.V., Taylor J., Ziman M. Leuk-Lymphoma, Jan., 24 (3-4), 211-220, Australia, 1997.
12. Vanjushin B.F., Masin A.L., Vasiliev V.K. e.a. Biochim. et Biophys. Acta, 229, 397, 1973.
13. Verfino P.M., Issa J.P., Pereira-Smith O.M., Baylin S.B. Cell-Growth-Differ, 5 (12), 395-402, 1994.

Поступила 17.XII.2000

Биолог. журн. Армении, 1-2 (53), 2001

УДК 581.4, 581.84

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ
ПРОИЗРАСТАНИЯ ПО МОРФОАНАТОМИЧЕСКИМ
ПОКАЗАТЕЛЯМ У ЭНДЕМИЧНОГО ВИДА ЯЧМЕНЯ**

С.С. ЗАМИНЯН, Л.Г. МУРАДЯН, Р.Э. АВАЛЯН, Л.Х. АБРАМЯН

Ереванский государственный университет, кафедра генетики и цитологии, 375025

*Ячмень дикорастущий - экстремальные условия произрастания -
морфоанатомические структуры*

В настоящее время разработана концепция комплексного экологического мониторинга природной среды. Одним из важнейших его элементов являются растительные организмы как наиболее чувствительные и надежные индикаторы загрязненности окружающей среды [4, 6].

В связи с этим актуальным является поиск структур-индикаторов