

форетичних фракцій розчинних білків печінки, що може бути пов'язано зі змінами фізико-хімічних та структурних властивостей окремих фракцій розчинних білків печінки кроликів.

Література

1. Бакуменко М. С.— Автореф. дисс. канд. мед., М., 1957.
2. Горюхина Т. А.— *Вопр. онкол.*, 1964, X, 5.
3. Горюхина Т. А.— *Укр. біохім. журн.*, 1964, 2, 308.
4. Грабарь П.— *Биохимия*, 1957, 22, 49.
5. Илков В. А., Николов Т.— *Вопр. мед. хим.*, 1959, 5, 388.
6. Елецкий Ю. К.— *Архив патол.*, 1965, 28, 8.
7. Капланский С. Я., Кузовлева О. Б., Успенская В. Д.— *Биохимия*, 1956, 21, 469.
8. Капланский С. Я., Старосельцева Л. К.— *Биохимия*, 1959, 24, 1.
9. Капланский С. Я., Кузовлева О. Б., Старосельцева Л. К.— *Вопр. мед. хим.*, 1957, 3, 6.
10. Магомедова М. О.— *Терап. арх.*, 1963, 35, 8.
11. Полякова В. И.— *Терап. арх.*, 1965, 37, 5.
12. Стрельчук И. В.— *Острая и хронич. алк. инток.*, М., 1966.
13. Сухомлинов Б. Ф.— *Биол. действ. радиац.*, 1962, 1, 8.
14. Сухомлинов Б. Ф., Форняк Н. М.— *Укр. біохім. журн.*, 1965, 3.
15. Сухомлинов Б. Ф., Шевчук Я. Г., Капис М. В.— *Тез. докл. I Всес. биох. съезда*, 1964, 3, 188.
16. Egert H., Höfer R., Neumaier A.— *Klin. Wochenschr.*, 1962, 40, 3.
17. Läurpi E., Schmidlin-Mézaros J.— *Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss.*, 1956, 12, 3.

Надійшла до редакції
5.V 1968 р.

ПРО ПРОНИКНЕННЯ ДНК У ДРІЖДЖОВІ КЛІТИНИ, ОПРОМІНЕНІ ШВИДКИМИ НЕЙТРОНАМИ

Є. Ю. Чеботарьов, Е. З. Рябова, В. М. Індик, Б. П. Мацелюх

*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР;
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного АН УРСР, Київ*

Численними дослідженнями встановлено, що ДНК має необхідні захисні та лікувальні антипроменеві властивості [1, 7, 3, 12, 14]. Проте, досі нема єдиної точки зору щодо механізму антипроменевої дії цього полімеру, а також шляхів проникнення ДНК у клітину [1, 5, 13]. Деякі дослідники вважають, що в силу трансформуючої активності ДНК проникає в клітину, не змінюючись. Інші автори [15] наводять докази дуже швидкого зруйнування введеної ДНК донора ДНК-азою реципієнта. Особливо швидко цей процес здійснюється у тварин.

Досі спостереження за проникненням ДНК у бактеріальні клітини або в клітини тварини провадили переважно методом радіоавтографії. Ми простежили проникнення ДНК у дріжджові клітини методом імунофлюоресцентної мікроскопії.

В основу роботи були покладені дослідження, проведені Мацелюхом [3], в яких автор застосував метод імуно-флюоресцентної мікроскопії для візуального спостереження за трансформуючою ДНК у актиноміцетів.

Автор показав, що ДНК актиноміцетів у сполученні з білком в дезоксирибонуклеопротейдному комплексі має антигенну активність і викликає утворення видоспецифічних антитіл в організмі кроликів.

Одержані антитіла мітили ізоціанатом флуоресцеїну [2, 4].

Досліди проведені на дріжджовій культурі *Saecharomyc. vini* штам Меррі 139-В. Дріжджові клітини суспензували у розчині високополімерної ДНК *Actinomyces rimozus* ЛС-Т118 (молекулярна вага $6 \cdot 10^6$ — $8 \cdot 10^6$) з концентрацією $1,1 \cdot 10^{-5}$ мкг на клітину і інкубували протягом однієї години в термостаті при температурі $+30^\circ\text{C}$. Водночас у такому ж розчині ДНК інкубували дріжджові клітини, опромінені швидкими нейтронами ($10\,000\text{ рад}$). Потім культури відділяли від роз-

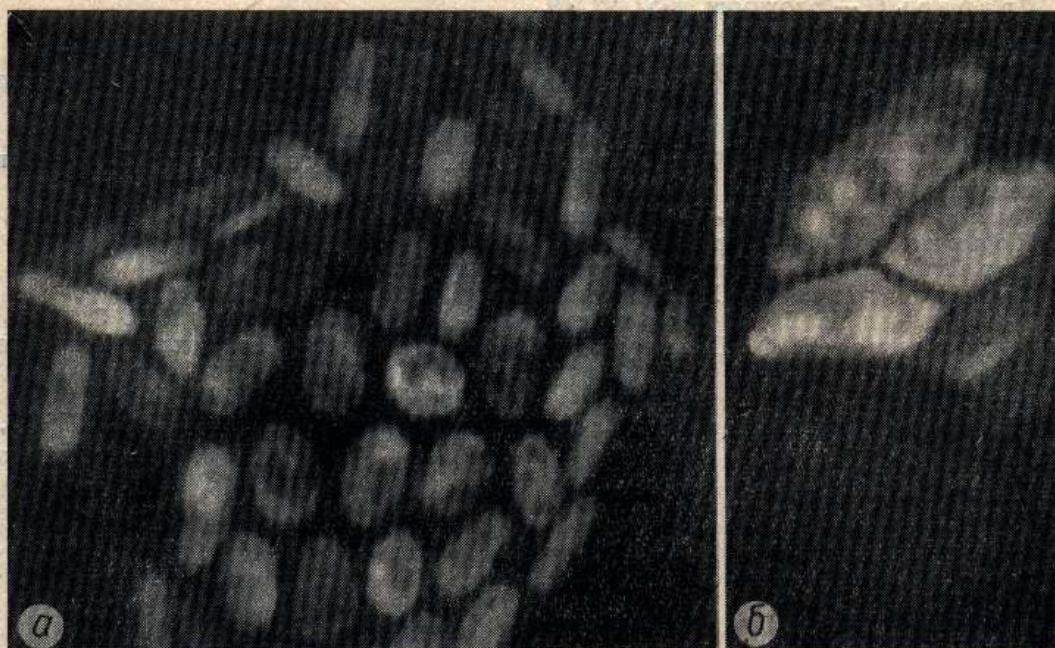


Рис. 1. Неопромінені дріжджові клітини *Saecharomyc. vini* штам Меррі-В після оброблення специфічною люмінесцюючою сироваткою (а, б).

чину центрифугуванням, двічі промивали дистильованою водою і наносили на предметне скло у вигляді мазків.

Мазки висушували, фіксували 96° -ним етанолом протягом 10 хв і вміщували в термостат при температурі 37°C у вологій камері на 30 хв. Потім мазки промивали протягом 5 хв у проточній дистильованій воді. Мікроскопічні дослідження провадили на люмінесцентному мікроскопі МЛ-2 з фільтрами: збуджуючим ФС і СЗС та зрізуючим ЖС-18.

Реєстрацію одержаних даних провадили з допомогою мікрофотонасадки МФН-3 і фотокамери «Зоркий» на плівку РФ-3.

В результаті проведених досліджень ми відзначали, що проникнення ДНК в неуражену клітину складається з двох етапів. Перший етап — адсорбція нуклеопротейду клітинною оболонкою. Другий етап — проникнення досліджуваної речовини в клітину.

У клітині ДНК розподіляється дифузно по всій цитоплазмі (рис. 1, а) або концентрується у вигляді окремих крупних або дрібних гранул (рис. 1, б).

Таке неоднотипне нагромадження ДНК можна пояснити, очевидно, різним функціональним станом спостережуваних об'єктів. За даними Касперсона, Брандта, Спербера та ін. [9, 10, 11, 16], у дріжджових клітин, що перебувають в інтерфазі, протоплазматичні нуклеопротейди нагромаджуються в кількох гранулах. З початком стадії рос-

ту і розмноження ці гранули розпливаються, і полінуклеотиди дифузно поширюються по всій цитоплазмі.

Аналогічні дані були одержані і в наших дослідженнях. У клітинах, що перебувають у стадії підготовки до брунькування і поділу, ДНК, яка проникла крізь оболонку, дифузно розподіляється по всій

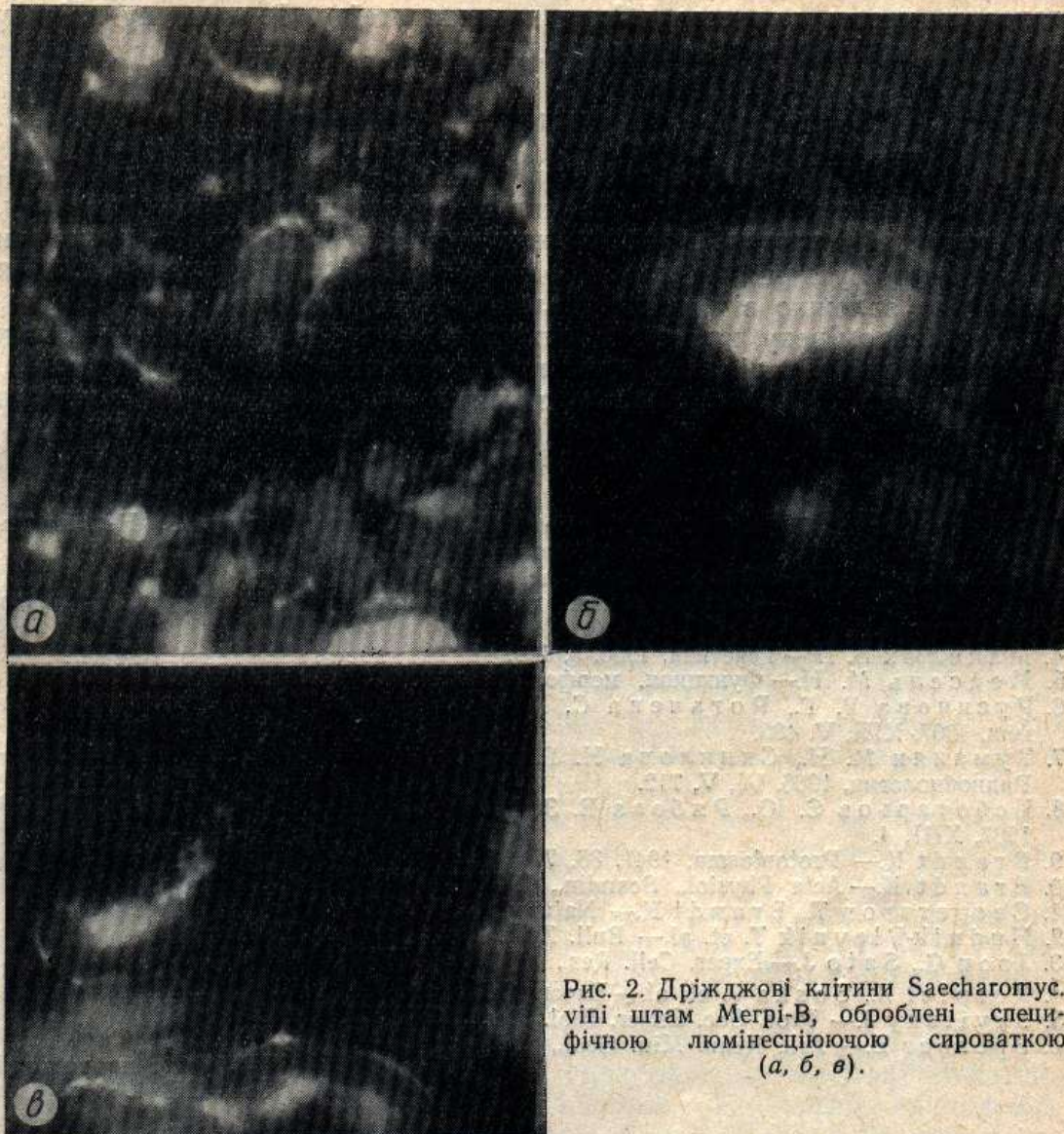


Рис. 2. Дріжджові клітини *Saccharomyc. vini* штам Мегрі-В, оброблені специфічною люмінесціюючою сироваткою (а, б, в).

протоплазмі. У клітинах, що не зазнають поділу, нуклеопротейди нагромаджуються у вигляді окремих гранул.

Цілковито іншу картину можна спостерігати у опромінених клітин. Стадія адсорбції ДНК поверхнею клітини виражена дуже незначно.

Великі кількості нуклеопротейду проникають у клітину і нагромаджуються у вигляді крупного конгломерату в центрі (рис. 2, а, б).

Рідко трапляються клітини, в яких ДНК рівномірно розподілена в цитоплазмі, і зовсім відсутні такі, де видно нагромадження ДНК у вигляді окремих гранул.

Одержані результати ще раз підтверджують наявні дані про значне зруйнування проникності клітинних мембран та про зміну всіх процесів функціонування опромінених культур. Особливо уражуються при

цьому процесу поділу клітин. У культур опромінених швидкими нейтронами, різко пригнічені процеси клітинного поділу.

Одержані нами дані підтверджують літературні відомості про кількісну зміну проникнення ДНК в уражені клітини.

Юн і Сато [13] показали, що уражена клітина здатна поглинати без будь-яких патологічних ускладнень для себе кількість ДНК, що становить чверть власного об'єму нуклеопротеїду. В уражену клітину проникає значно більша кількість ДНК.

Висновки

1. Шлях ДНК в неопромінену клітину складається з двох етапів — адсорбція на поверхні клітини та проникнення в протоплазму. Молекула ДНК проникає у дріжджову клітину повністю, не зазнаючи при цьому мабуть ніяких перетворень. У клітині ДНК розподіляється по-різному, залежно від функціонального стану клітини.

2. В опромінену клітину проникають більші кількості ДНК, ніж у неопромінену. Стадія адсорбції поверхнею клітини слабо виражена. Розподіляється ДНК в уражених клітинах у вигляді одного крупного конгломерату.

Література

1. Либинзон Р. Е., Константинова В. В., Муксимова К. Н., Попова Т. Г., Рогачева С. А.—Радиобиология, 1963, I, III, 111.
2. Мацелюх Б. П.—Мікробіол. журн. АН УРСР, 1964, 26, 16.
3. Мацелюх Б. П.—Симпозиум по генетике микроорганизмов, Тез. докладов, «Медицина», 1965, 4.
4. Мацелюх Б. П.—Генетика, 1966, 5, 135.
5. Мейсель М. Н.—Функцион. морфол. дрожжевых организмов, М., 1950.
6. Русинова Г. Г., Рогачева С. А., Либинзон Р. Е.—Вопросы мед. химии, 1967, XIII, V, 485.
7. Туманян М. Н., Синилова Н. Г., Дулищева А. И., Иванов К. К.—Радиобиология, 1966, VI, V, 712.
8. Чеботарьов Є. Ю., Рябова Е. З., Індик В. М.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1967, XIII, 4.
9. Brandt K.—Protoplasma, 1941, 36, 77.
10. Brandt K.—Acta Physiol., Scand., 1945, 30, 10.
11. Caspersson T., Brandt K.—Naturwiss., 1941, 29, 33.
12. Hudnik-Plevnik T. et. al.—Bull. Zust. Nucl. Science, 1959, 9, 133.
13. Joon G., Sato J.—Exper. Cell. Res., 1964, 34, 3, 599.
14. Korpel Z., Soška J. et. al.—Exper. Cell. Res., 1959, 183, 4675, 1600.
15. Savitsky J.—Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1961, 107, 4, 845.
16. Sperber E.—Ark. Kemi. Min. Geol., 1945, 21, 1.

Надійшла до редакції
4.XI 1968 р.