



Геном и его регуляция

УДК 547.963.3

ЯДЕРНЫЕ РНК НА РАННЕМ ЭТАПЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ

М. Ю. Оболенская, В. И. Прима, И. А. Куликовская, О. М. Платонов

Введение. Изменения жизнедеятельности клеток печени после частичной гепатэктомии (ЧГЭ) до восстановления массы и функции органа проходят в несколько стадий. Первичная ответная реакция выделяется как период трансформации [1], который завершается переориентировкой метаболизма клетки перед вступлением в ряд последовательных клеточных циклов. Согласно современным представлениям [2—4], период трансформации протекает в два этапа. На первом (для половозрелых белых крыс — 0,5—1 ч после ЧГЭ) преобладают реакции, свойственные стрессовым ситуациям, метаболические сдвиги, направленные на усиление функциональной активности гепатоцитов [2, 5], и клетки, по-видимому, приобретают компетентность к восприятию пролиферативных стимулов [6, 7]. На втором этапе (1—3 ч после ЧГЭ) изменения носят более специфический характер [3, 4].

Накопленные к настоящему времени факты еще не позволяют расшифровать конкретные механизмы происходящих изменений. Поскольку доказана генетическая обусловленность процессов в периоде трансформации [8], то детальному изучению подлежит популяция первичных транскриптов — ядерная РНК (ядРНК). Сведения о ее синтезе и составе противоречивы и фрагментарны из-за произвольного выбора длительности экспозиции животных клеток с мечеными предшественниками, а данные об экспрессии генома касаются лишь отдельных классов ДНК [6, 9, 10] или представленности в клетке некоторых типов РНК [11—13]. Настоящая работа предпринята для более полного изучения в динамике периода трансформации особенностей синтеза ядРНК, а также кинетической сложности и доли в ней транскриптов с основных классов ДНК, различающихся по частоте повторения последовательностей.

Материалы и методы. В работе использовали самцов крыс линии Вистар весом 180—220 г, голодавших сутки до начала опыта. ЧГЭ проводили по методу [14]. Контролем служили ложнопериорированные (ЛО) крысы. Животных декапитировали между 9 и 11 ч. ^{14}C -оротовую кислоту (^{14}C -ОК) (9,1 ГБк/ммоль, ВНР) для получения *in vivo* меченой РНК вводили внутривенно. Время введения и количество изотопа указывается в ходе изложения экспериментальных данных. Из ядер, выделенных в растворах лимонной кислоты, содержащих сахарозу различной плотности, получали суммарную РНК, подвергали ее стандартной обработке ДНКазой и очистке на колонке с сефадексом SP 25, как описано ранее [15]. Содержание поли(А)+РНК определяли хроматографией на олиго(dT)целлюлозе («Pharmacia», Швеция) [16]. ДНК выделяли из цитратных ядер с помощью хроматографии на оксиапатите в присутствии мочевины, фрагментировали ультразвуком и разделяли по скорости реассоциации на ряд фракций — частоповторяющиеся (ЧП), среднеповторяющиеся (СП) и уникальные последовательности (УП) ДНК [17]. Препараты H^3 ДНК и P^{32} ДНК с удельной радиоактивностью соответственно 10^5 — 10^6 и 10^8 имп·мин $^{-1}$ ·мкг $^{-1}$ получали путем ник-трансляции ренатурированной ДНК фракций в присутствии H^3 -dЦТФ (0,82 ТБк/ммоль, «Amersham», Англия) и P^{32} dЦТФ (37 ТБк/ммоль, СССР) [16]. Шпильки, образующиеся в процессе работы ДНК-полимеразы, удаляли хроматографией на оксиапатите (ОА). Гибридиза-

цию РНК—ДНК проводили в водном растворе $2\times\text{SSC}$ ($\text{SSC}=0,15\text{ M NaCl}, 0,015\text{ M Na-цитрат}$), 80% -ный формамид (ФА) при 48°C [15] и для достижения максимальных значений R_{0t} — в $0,12\text{ M Na-фосфатном}$ буферном растворе (NaФБ), $\text{pH } 6,8$, $0,82\text{ M NaCl}, 10\text{ mM ЭДТА}$ при 70°C [18]. Ускорения или замедления реакции гибридизации достигали соответствующим изменением концентрации солей в растворе, учитывая при этом ее влияние на оптимальную температуру процесса [15].

При гибридизации следовых количеств $\text{C}^{14}\text{РНК}$ с избытком ДНК последний подбирался таким, чтобы предполагаемое соотношение комплементарных последовательностей ДНК и РНК было порядка $1000:1$. Методика обработки проб и определения степени гибридизации описана ранее [13]. При гибридизации меченой ДНК с избытком РНК соотношение РНК:ДНК составляло $10^3:1$ — $10^5:1$. Пробы объемом от 2 до 50 мкл, содержащие 10^4 — $5\cdot 10^4$ имп·мин $^{-1}$, разводили 10 мл 80% -ного ФА в $0,1\text{ M NaФБ}$ и вносили в термостатированный при 42°C ОА, предварительно уравновешенный согласно [19]. После 15 мин инкубации отмывали несвязавшиеся продукты и ОА последовательно промывали 20 объемами $0,1\text{ M NaФБ}$, 1% SDS при 60 и 90°C на колонке или путем центрифугирования ОА суспензии. Степень гибридизации определяли из отношения радиоактивности, элюируемой при 90°C , к сумме радиоактивностей, элюируемых при 60 и 90°C . При гибридизации в избытке РНК в отсутствие ФА для дифференцировки между реассоциатами ДНК—ДНК и гибридами РНК—ДНК использовали чувствительность гибрида к РНКазе при низкой ионной силе ($0,015\text{ M NaФБ}$). Долю двуспиральных структур определяли с помощью хроматографии на ОА. Различия между значениями, полученными без обработки РНКазой и после нее, соответствуют степени гибридизации.

Во всех случаях указаны ER_{0t} и ED_{0t} — эквивалентные (приведенные к условиям $0,12\text{ M NaФБ}$) [15, 20] значения произведения концентраций находящейся в избытке нуклеиновой кислоты (моль нукл.×л $^{-1}$) на время реакции (с). Полученные результаты обрабатывали стандартными статистическими методами. Представленные на графиках и в таблицах величины являются средними по итогам 3—6 измерений.

Результаты. На основании определения удельной радиоактивности ядРНК после кратковременного (15 мин) и более продолжительного (30 мин, 1 и 3 ч) введения ^{14}C -ОК оценивали интенсивность синтеза и накопление РНК в ядре, учитывая, что время процессинга наиболее быстро обменивающейся РНК в печени крыс не менее 10 мин [21]. Из рис. 1 следует, что в регенерирующей печени в течение первого часа резко возрастает синтез, и в меньшей степени, чем у ЛО животных, задерживается новообразованная РНК в ядре. Из двух возможностей, объясняющих последний факт ускорением распада или выведения в цитоплазму новообразованной РНК, предпочтение отдается второй на основании ранее проведенных цитологических исследований [4]. К трем часам РНК-синтетическая активность ядер падает, а новообразованная РНК, напротив, накапливается в ядре. Изменениям общей РНК-синтетической активности ядер в основном соответствуют изменения синтеза поли(А)+РНК (рис. 2). Последняя, однако, выводится из ядер регенерирующей печени быстрее, чем суммарная новообразованная РНК.

Для общей оценки качественного состава ядРНК изучали степень ее гибридизуемости с тотальной или фракционированной ДНК (табл. 1). Кинетические кривые реакции гибридизации УП ДНК с избытком ядРНК через 3 ч после ЧГЭ и ЛО (рис. 3) перекрывают более двух порядков R_{0t} , что свидетельствует о наличии в ядРНК наборов транскриптов с разным числом копий. Общее количество гибридизующейся ДНК меньше в реакции с ядРНК после ЧГЭ, чем после ЛО.

В табл. 2 приведены кинетические характеристики транскриптов с УП в составе ядРНК, сделанные на основании кинетик гибридизации. Для ЛО животных они сходны с величинами, полученными другими авторами [18]. Для препаратов РНК из регенерирующей печени они свидетельствуют о снижении сложности соответствующих транскриптов, об уменьшении доли последних и количества их типов в составе ядРНК. Среднечисленное количество копий транскриптов имеет тенденцию к повышению. Поскольку снижение сложности транскриптов с части или

со всех работающих УП отмечено в это время также для тотальной клеточной, поли(А)-ядРНК и новообразованной дРНК_{63°} [9, 10, 13], то его можно считать характерным для раннего этапа регенерации. Приведенным результатам противоречит единственное сообщение о не-

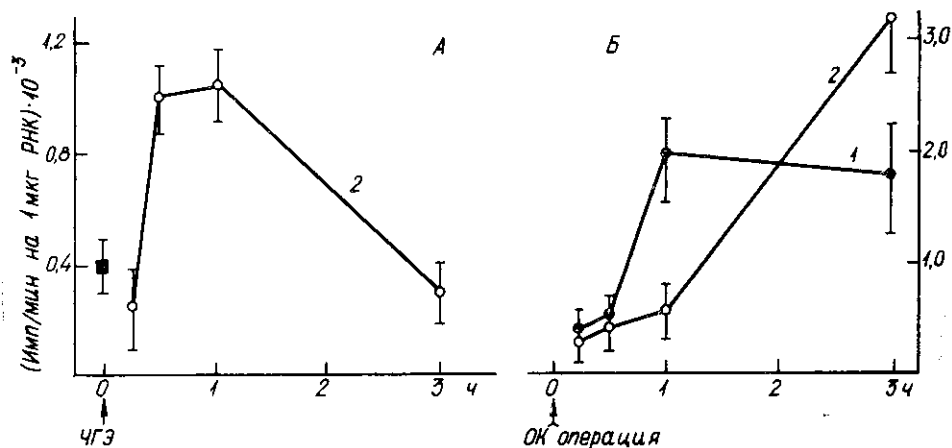


Рис. 1. Интенсивность синтеза (А) и накопление новообразованной РНК (Б) в ядрах печени ЛО (1) и ЧГЭ (2) крыс. ¹⁴С-ОК вводили за 15 мин до декапитации в указанные сроки из расчета 0,18—0,26 МБк/г веса (А) и во время операции на 15, 30 мин, 1 и 3 ч из расчета 0,04 МБк/г веса (Б). Квадратом отмечены показатели intactных крыс после 15 мин метки.

Fig. 1. Intensity of synthesis (A) and accumulation of newly formed RNA (B) in the liver nuclei of sham operated (1) and partially hepatectomized (2) rats. ¹⁴C-orotic acid was injected at 0.18-0.26 MBq per g of body weight 15 min before slaughter at appointed time (A) and at 0.04 MBq per g of body weight during operation for 15, 30 min, 1 h and 3 h. Square marks the data for intact rats after 15 min labelling.

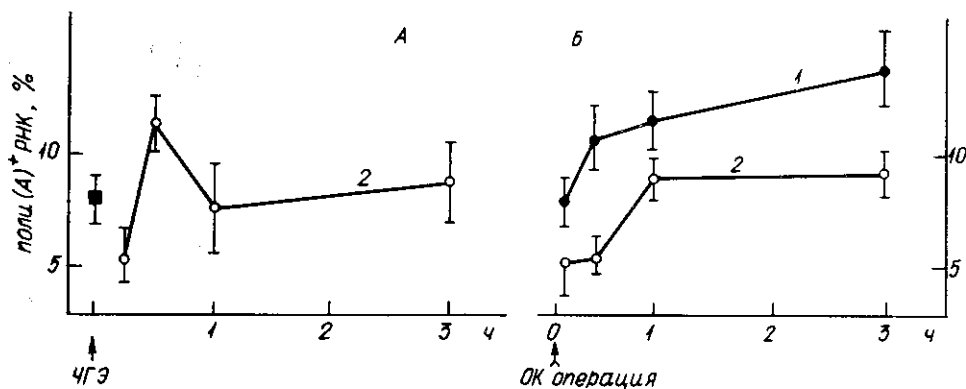


Рис. 2. Интенсивность синтеза поли(А)+РНК (А) и накопление ее (Б) в ядрах печени ЛО и ЧГЭ крыс. Обозначения, как на рис. 1.

Fig. 2. Intensity of synthesis of poly(A)+RNA (A) and its accumulation (B) in liver nuclei of sham operated and partially hepatectomized rats. Other designations are the same as in legend to Fig. 1.

изменной сложности ядРНК на данном этапе [23]. Однако в этом случае реакцию гибридизации проводили на фильтрах, что затрудняет количественный анализ результатов.

Более четкие сведения в отношении копийности транскриптов с УП были получены в реакции гибридизации с избытком ДНК. Так как препараты РНК метили *in vivo*, то выводы касаются лишь новообразованной РНК в отличие от гибридизации в избытке РНК, где характеризуется вся популяция молекул РНК. Степень гибридизуемости ядРНК с УП ДНК как в чистом виде, так и в составе тотальной ДНК (при $ED_{0t} > 3,5$) меньше в регенерирующей печени, чем в печени ЛО крыс. Этот эффект наблюдается для ядРНК, синтезированной в течение 3 ч

Таблица 1
Характеристика тотальной и фракционированной ДНК крысы *
Characteristics of total and fractionated rat DNA

Параметры	T **	ЧП	СП	РП	УП
Кинетическая сложность (пары нуклеотидов)	$2.7 \cdot 10^9$	$1.7 \cdot 10^3$	$3.6 \cdot 10^5$	$4.6 \cdot 10^6$	$1.9 \cdot 10^9$
Доля генома, представленная классом последовательностей	1	0.18	0.08	0.07	0.67
Частота повторения последовательностей	—	$3 \cdot 10^5$	600	40	1
Диапазон гибридизации последовательностей ДНК в составе фракций ($\lg ED_{0t}$)	—	$-3 \div -1$	$0 \div 2$	$1.5 \div 3.5$	$3 \div 5$
Диапазон гибридизации последовательностей в составе тотальной ДНК ($\lg ED_{0t}$)	—	$-2.3 \div -0.3$	$1 \div 3$	$2.6 \div 4.6$	$3.2 \div 5.2$

* Таблица составлена на основании ранее полученных характеристик реассоциации фракций ДНК и их гибридизации со следовыми количествами РНК [13, 17]. ** T — тотальная ДНК; РП — редкоповторяющиеся последовательности ДНК.

Таблица 2
Кинетические характеристики транскриптов с УП ДНК в составе ядРНК через 3 ч после ЛО и ЧГЭ
Kinetic characteristics of transcripts from unique DNA in nuclear RNA 3 h after sham operation and partial hepatectomy

Характеристика РНК	Вид операции	
	ЛО	ЧГЭ
Меченая ДНК в РНК—ДНК-гибридах (%)	11.4	7.9
Сложность (нуклеотиды)	$4.8 \cdot 10^8$	$3.0 \cdot 10^8$
Количество типов транскриптов ¹	$1.4 \cdot 10^5$	$1.0 \cdot 10^5$
Экспериментальная k гибридизации	$4.2 \cdot 10^{-6}$	$1.8 \cdot 10^{-6}$
Ожидаемая k гибридизации ²	$3.3 \cdot 10^{-4}$	$4.7 \cdot 10^{-4}$
Процент РНК, ведущей реакцию ($k_{экс}/k_{ож} \cdot 100$ %)	1.3	0.4
Количество РНК, ведущей реакцию (пг) ³	$2.9 \cdot 10^{-2}$	$2.3 \cdot 10^{-2}$
Количество транскриптов данной сложности на клетку ⁴	$1.7 \cdot 10^4$	$1.3 \cdot 10^4$
Среднечисленное количество копий транскриптов данной сложности на клетку ⁵	0.12	0.13

¹ Отношение сложности транскриптов к среднечисленной длине (3000 нуклеотидов) транскриптов ядРНК [18]. ² Ожидаемая константа гибридизации определялась по формуле [22]

$$k_{ож} = \frac{\text{сложность } \varnothing X174 \text{ РНК} \cdot 200 \text{ моль}^{-1} \text{с}^{-1}}{\text{сложность транскриптов}} \cdot \frac{\text{длина следов. ДНК}}{\text{длина транскриптов}}$$

где сложность $\varnothing X174$ РНК — 5374; длина следов. ДНК — 400 нуклеотидов; среднечисленная длина ядРНК — 3000 нуклеотидов. ³ Общее количество РНК в единичной клетке печени составляет 7,6 иг и около 30 % ее выделяется в виде ядРНК [18]. ⁴ РНК, ведущая реакцию, в граммах \times число Авогадро/г-моль транскриптов. ⁵ Количество транскриптов на клетку/число типов транскриптов.

после операции (рис. 4), а также для коротко меченной РНК через 1 и 3 ч после ЧГЭ (рис. 5). Обращает внимание его большая выраженность через 1 ч после ЧГЭ. Возможными объяснениями сниженной гибридируемости новообразованной РНК могут служить либо уменьшение доли новообразованных транскриптов с УП в составе реакционноспособной ядРНК, либо уменьшение доли реакционноспособной РНК в составе ядРНК, либо увеличение числа копий транскриптов, для которых

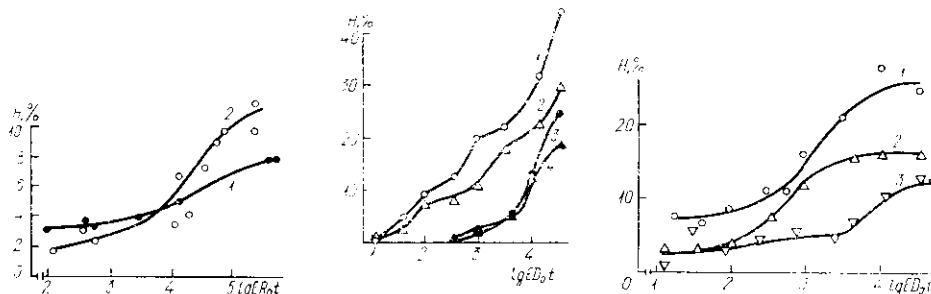


Рис. 3. Гибридизация УП ДНК с избытком ядРНК гепатоцитов из ЛО (1) и ЧГЭ (2) крыс через 3 ч после операции. H — здесь и в дальнейшем означает долю гибридирующегося следового компонента.

Fig. 3. Hybridization of unique DNA probes with excess of liver nuclear RNA from sham operated (1) and partially hepatectomized (2) rats 3 h after operations. H — here and below marks the hybridization rate of trace component.

Рис. 4. Гибридизация тотальной (1, 2) и УП ДНК (3, 4) со следовыми количествами ядРНК, образованной в течение 3 ч после ЛО (1, 3) и ЧГЭ (2, 4). ^{14}C -ОК вводили из расчета 0,08 МБк/г веса животного.

Fig. 4. Hybridization of total (1, 2) and unique (3, 4) DNA with traces of liver nuclear RNA newly formed during 3 h after sham operation (1, 3) and partial hepatectomy (2, 4).

Рис. 5. Гибридизация тотальной ДНК со следовыми количествами импульсно меченной ядРНК гепатоцитов из ЛО (1) и ЧГЭ крыс через 1 ч (2) и 3 ч (3) после операции. ^{14}C -ОК вводили за 15 мин до декапитации из расчета 0,4 МБк/г веса.

Fig. 5. Hybridization of total DNA with traces of pulse-labelled (15 min) liver nuclear RNA from sham operated (1) and partially hepatectomized rats 1 h (2) and 3 h (3) after operation. 0.4 MBq of ^{14}C -orotic acid was injected per g of body weight.

используемый избыток ДНК оказывается недостаточным. Первому предположению противоречит снижение гибридируемости меченой ядРНК с тотальной ДНК в области повторяющихся последовательностей (рис. 4, кривые 1 и 2), второму — отсутствие существенных различий между опытными и контрольными образцами в гибридации с очищенными повторами ДНК (рис. 7, 8). Наиболее вероятным кажется третье предположение, правомерность которого показана для РНК_{63°} [13]. Помимо этого, увеличение числа копий транскриптов с УП обнаружено независимыми методами в составе ядерной поли(А)+РНК [11], так что, по-видимому, эта особенность дополняет характеристику раннего этапа регенерации.

Набор транскриптов с СП в составе ядРНК через 3 ч после ЧГЭ несколько расширяется. Об этом свидетельствуют значения разниц между верхним и нижним плато на кривых гибридации (рис. 6), которые для ЧГЭ и ЛО крыс составляют 3,6 и 2,6 % соответственно. Отсюда сложность транскриптов определяется равной $1,5 \cdot 10^4$ и $1,1 \cdot 10^4$ нуклеотидов. Более высокое начальное значение (нижнее плато) гибридации СП с ядРНК из регенерирующей печени, по-видимому, обусловлено примесью во фракции СП частых повторов, активнее транскрибирующихся при регенерации.

Кроме отмеченного факта расширения набора транскриптов с СП, можно констатировать также неизменность на раннем этапе регенерации доли ядРНК, считанной с СП. На это указывает гибридация как коротко (рис. 7, А), так и длительно меченных (рис. 7, Б) препаратов ядРНК с избытком СП ДНК в диапазоне $ED_{50}t$ от 0 до 2, практи-

чески совпадающая с контролем. Что же касается числа копий транскриптов с СП, то оно существенно возрастает для части последовательностей после ЧГЭ. Об этом свидетельствует чувствительность их гибридизации к избытку СП ДНК. Там, где он недостаточно велик, например в составе тотальной ДНК (рис. 4, кривые 1 и 2), гибридизуемость в диапазоне СП заметно снижена для РНК после ЧГЭ.

Приведенные на рис. 7 кривые гибридизации частично перекрывают и область $\lg ED_{0t} > 2$, характерную для реакции редко повторяющихся сегментов ДНК, в которой проявляется снижение реакционной способности быстро обменивающихся транскриптов через 3 ч после ЧГЭ (рис. 7, А).

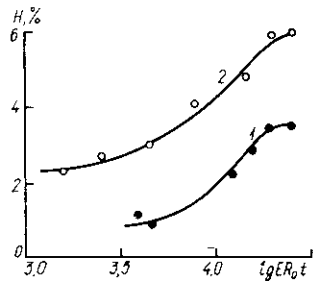


Рис. 6. Гибридизация СП ДНК с избытком ядРНК гепатоцитов из ЛО (1) и ЧГЭ (2) крыс через 3 ч после операции.

Fig. 6. Hybridization of middle repetitive DNA with excess of liver nuclear RNA from sham operated (1) and partially hepatectomized (2) rats 3 h after operation.

Учитывая ранее полученные данные [13], представляло интерес изучение набора транскриптов на характерных этапах периода трансформации с помощью гибридизации в избытке часто повторяющейся ДНК (характерная область $\lg ED_{0t} - 3 \div -1$). Обнаружено, что к первому часу после ЧГЭ содержание транскриптов с ЧП не отличается от контроля (рис. 8, А) и только к трем часам регенерации гибридизуемость РНК в указанной характерной области достоверно превышает контрольный уровень, близкий к нулю (рис. 8, Б). Таким образом, резкий скачок транскрипционной активности ЧП на третьем часу регенерации проявляется не только в информационноподобной дРНК_{63°}, как было показано раньше [13], но и в широком наборе ядРНК.

Обсуждение результатов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что изучаемые показатели меняются в течение периода трансформации. На первом этапе возрастает синтез тотальной ядРНК, что до некоторой степени обусловлено более интенсивным образованием поли(А)⁺РНК и транскриптов с ряда последовательностей уникальной части генома. Транскрибируемость ЧП практически не изменяется. Ускоренному образованию ядРНК сопутствует ее более быстрое выведение в цитоплазму, что указывает на участие в регуляции экспрессии генома через 1 ч после ЧГЭ наряду с транскрипционным и посттранскрипционным уровнем. Перечисленные изменения, в значительной степени касающиеся экспрессии структурной части генома, совпадают по времени с возросшим синтезом белков «домашнего хозяйства» [4] и метаболическими сдвигами, направленными на усиление функциональной активности гепатоцитов [5], что дает основание предположить существование между ними причинно-следственной связи.

На втором этапе периода трансформации снижается интенсивность синтеза тотальной, поли(А)⁺ядРНК, а также некоторых транскриптов с УП, хотя она остается повышенной по сравнению с ЛО животными. Новообразованная РНК задерживается в ядре. Вероятно, эти изменения могут быть связаны с активно происходящей перестройкой рибосомного аппарата, предшествующей трансляции «новой» РНК [24].

Характерным изменением качественного состава тотальной ядРНК является снижение сложности транскриптов с УП. Это явление может быть обусловлено распадом предсуществующих молекул ядРНК либо синтезом РНК меньшей сложности, или обоими, одновременно протекающими процессами. В пользу первого предположения свидетельствуют данные о снижении через 3 ч после ЧГЭ доли тотальной

ядРНК, ведущей гибридизацию с УП, при неизменном относительном содержании соответствующих транскриптов в составе новообразованной ядРНК, в пользу второго — снижение сложности новообразованной РНК_{63S} [13]. Таким образом, обнаруженное нами снижение сложности ядРНК, вероятно, обусловлено распадом предсуществующих молекул РНК, а также снижением транскрибируемости ряда УП до уровня, не определяемого использованными методами. Сопоставляя результаты на-

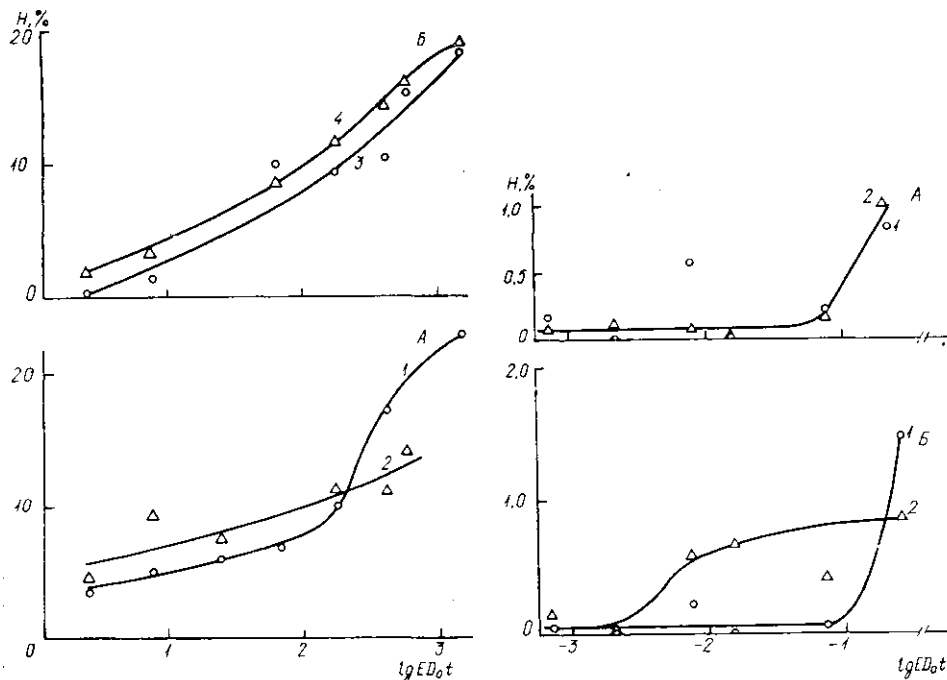


Рис. 7. Гибридизация СП ДНК со следовыми количествами новообразованной ядРНК гепатоцитов из ЛО (1, 3) и ЧГЭ (2, 4) крыс через 3 ч после операции. ¹⁴С-ОК вводили за 15 мин до забоя из расчета 0,4 МБк/г веса (А) и в момент операции из расчета 0,08 МБк/г веса (Б) животных.

Fig. 7. Hybridization of middle repetitive DNA with traces of newly formed liver nuclear RNA from sham operated (1, 3) and partially hepatectomized (2, 4) rats 3 h after operation. ¹⁴C-orotic acid was injected 15 min before slaughter at 0.4 MBq per g of body weight (A) and during operation at 0.08 MBq per g of body weight (B).

Рис. 8. Гибридизация ЧП ДНК со следовым количеством новообразованной ядРНК гепатоцитов из ЛО (1) и ЧГЭ (2) крыс через 1 (А) и 3 (Б) ч после операции. ¹⁴С-ОК вводили в момент операции из расчета 0,18 МБк/г веса на 1 ч (А) и 0,08 МБк/г веса на 3 ч (Б).

Fig. 8. Hybridization of highly repetitive DNA with traces of liver nuclear RNA newly formed during 1 h (A) and 3 h (B) after operation, from sham operated (1, 3) and partially hepatectomized (2, 4) rats. 0.18 MBq (A) and 0.08 MBq (B) of ¹⁴C-orotic acid was injected per g of body weight.

стоящей работы с полученными ранее [13], можно предположить, что сужение спектра внутриядерных транскриптов с УП относится ко всей популяции гетерогенной ядРНК, в том числе и к пре-мРНК. Последнее может приводить к снижению некоторых функций гепатоцитов, вероятнее всего, не обладающих приоритетом по отношению к пролиферации [5]. В настоящее время имеются сообщения о снижении синтеза желчных кислот и дезинтоксикационной функции печени через 6—12 ч после ЧГЭ [2], когда резко усиливается выход в цитоплазму РНК [25].

Наряду с тем, что через 3 ч после ЧГЭ транскрипты с УП в составе ядРНК менее сложны, чем после ЛО, часть из них представлена большим количеством копий, что может иметь значение для поддержания жизненно важных функций органа меньшим числом клеток.

Весьма важным изменением качественного состава ядРНК представляется возрастание разнообразия транскриптов с СП и относитель-

ного содержания транскриптов с ЧП. Функциональное значение этих РНК можно рассматривать, исходя из общих представлений о регуляторной роли транскриптов с повторяющимися последовательностями [26]. Появление же их на определенном этапе перехода из состояния покоя к делению позволяет отнести регенерирующую печень к объектам со стадийспецифическим характером транскрипции повторяющихся последовательностей [27, 28].

Характерные для данного периода изменения ядРНК свидетельствуют о включении более сложных и разнообразных, чем на первом этапе, регуляторных механизмов, по-видимому, обеспечивающих перепрограммирование генома гепатоцитов.

NUCLEAR RNA AT THE EARLY STAGE OF LIVER REGENERATION

M. Yu. Obolenskaya, V. I. Prima, I. A. Kulikovskaya, O. M. Platonov

Institute of Molecular Biology and Genetics,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

During the first three hours of the rat liver regeneration two stages differing in synthesis, accumulation and qualitative characteristics of nuclear RNA are observed. At the first stage (0.5-1 h after operation) the synthesis of total and poly(A)⁺ nuclear RNA, transcription of some unique DNA sequences and translocation of newly formed RNA from nucleus to cytoplasm are intensified.

At the second stage (1-3 h after partial hepatectomy) the synthesis of total, poly(A)⁺ nuclear RNA as well as transcription of some unique DNA sequences decrease while newly formed RNA is retained in nucleus. Nuclear RNA is characterized by a decrease in complexity of transcripts from unique part of genome with simultaneous increase in the number of some their copies and the growth of diversity of transcripts from middle repetitive sequences and relative content of transcripts from highly repeated DNA.

1. Терских В. В. Периоды покоя в нормальных и малигнизированных клеточных системах // Клеточный цикл.— М.: Наука, 1973.— С. 165—189.
2. Tsuncu R. Cell cycle and liver function // Results and Problems in cell differentiation.— Berlin et al.: Springer-Verlag, 1975.— V. 7.— P. 197—248.
3. Зеленин А. В., Куц А. А. Активация хроматина и некоторые проблемы регуляции генетической активности в эукариотической клетке // Молекуляр. биология.— 1985.— 19, № 1.— С. 285—294.
4. Экспрессия генома гепатоцитов на раннем этапе регенерационного ответа / М. Ю. Оболенская, В. И. Прима, Т. Б. Герасимова и др. // Сравнительные аспекты в изучении регенерации и клеточной пролиферации: Тез. докл. Всесоюз. конф.— М., 1985.— Ч. II.— С. 224—227.
5. Яковлев А. Ю. Динамическое резервирование гепатоцитов — механизм обеспечения специфических функций регенерирующей печени // Цитология.— 1979.— 21, № 11.— С. 1243—1252.
6. Makino R., Hayashi K., Sugimura T. *c-myc* transcript is induced in rat liver at a very early stage of regeneration or by cycloheximide treatment // Nature.— 1984.— 310, N 5979.— P. 697—698.
7. Microinjected *C-myc* as a competence factor / L. Kaezmarek, J. K. Hyland, R. Watt et al. // Science.— 1985.— 228, N 4705.— P. 1313—1315.
8. Cell-cycle-specific cDNAs from mammalian cells temperature sensitive for growth / R. R. Hirshhorn, P. Aller, Zhi-An Yuan et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1984.— 81, N 19.— P. 6004—6008.
9. Grady L. J., Campbell W. P., North A. B. Nonrepetitive DNA transcription in normal and regenerating rat liver // Nucl. Acids Res.— 1979.— 7, N 1.— P. 259—269.
10. Grady L. J., Campbell W. P., North A. B. Sequence diversity of nuclear and polysomal polyadenylated and non-polyadenylated RNA in normal and regenerating rat liver // Eur. J. Biochem.— 1981.— 115, N 2.— P. 241—245.
11. Krieg L., Alonso A., Volm M. Kinetic complexity of nuclear poly(A)-containing RNA in normal and regenerating rat liver // Ibid.— 1979.— 96, N 1.— P. 77—85.
12. Платонов О. М., Лисица Э. Г. Особенности транскрипции ядерного генома на ранних стадиях регенерации печени. Ядерные ДНК-подобные РНК, комплементарные уникальным и повторяющимся последовательностям ДНК // Биохимия.— 1980.— 45, № 5.— С. 896—900.
13. Прима В. И., Лисица Э. Г., Платонов О. М. Особенности транскрипции ядерного генома на ранних стадиях регенерации печени. Экспрессия фракций ДНК с различ-

- ной частотой повторения последовательностей // Там же.— 1982.— 47, № 1.— С. 145—152.
14. *Higgins G. M., Anderson R. M.* Experimental pathology of the liver // *Arch. Pathol.*— 1931.— 12, N 2.— P. 186—202.
 15. *Оболенская М. Ю., Прима В. И., Платонов О. М.* Гибридизация нуклеиновых кислот эукариот в присутствии высоких концентраций формамида // *Stud. biophys.*— 1983.— 98, N 2.— С. 103—110.
 16. *Maniatis T., Fritsch E. F., Sambrook J.* Molecular cloning: A laboratory manual.— N. Y.: Cold Spring Harbor, 1982.— 545 p.
 17. *Прима В. И., Платонов О. М., Газарян К. Г.* Анализ реассоциации фракций ДНК крысы // *Биохимия.*— 1980.— 45, № 3.— С. 498—506.
 18. *Chikaraishi D. M., Deeb S. S., Sueoka N.* Sequence complexity of nuclear RNAs in adult rat tissues // *Cell.*— 1978.— 13, N 1.— P. 111—120.
 19. *Paetkau V., Langman L.* A Quantitative batch hydroxyapatite method for analyzing native and denatured DNA at room temperature // *Analyt. Biochem.*— 1975.— 65, N 1—2.— P. 525—532.
 20. *Britten R. J., Graham D. E., Neufeld B. R.* Analysis of repeating DNA sequences by reassociation // *Meth. Enzymol.*— 1974.— 29E.— P. 363—418.
 21. *Черновская Т. В., Любимова Е. В., Лерман М. И.* Метаболизм мРНК в клетках регенерирующей печени: ускорение процессинга и распада мРНК // *Молекуляр. биология.*— 1976.— 10, № 6.— С. 1364—1368.
 22. *Holland C., Mayrand S., Pederson Th.* Sequence complexity of nuclear and messenger RNA in *HeLa* cells // *J. Mol. Biol.*— 1980.— 138, N 4.— P. 755—778.
 23. *Greene R. F., Fausto N.* Analysis of gene expression in regenerating rat liver by hybridization of nuclear and cytoplasmic RNA with DNA // *Cancer Res.*— 1977.— 37, N 1.— P. 118—127.
 24. *Изменения ультраструктуры цитоплазмы и содержания полирибосом в клетках печени крыс в первые часы после частичной гепатэктомии / О. М. Платонов, Т. Б. Герасимова, В. М. Андрианов и др. // Цитология и генетика.*— 1981.— 15, № 5.— С. 25—28.
 25. *Герасимова Т. Б., Оболенская М. Ю., Платонов О. М.* Авторадиографическое изучение синтеза и перехода в цитоплазму РНК на ранних стадиях регенерации печени // Там же.— 1980.— 14, № 3.— С. 77—82.
 26. *Davidson E. H., Britten R. J.* Regulation of gene expression: Possible role of repetitive sequences // *Science.*— 1979.— 204, N 4397.— P. 1052—1059.
 27. *Газарян К. Г., Тарантул В. З., Баранов Ю. Н.* Transcription of repetitive and unique DNA nucleotide sequences in pigeon erythroid cells with different degrees of specialization // *Differentiation.*— 1976.— 6, N 1.— P. 41—46.
 28. *Co-ordinated control of gene expression. Muscle-specific 7S RNA controls sequences homologous to 3'-untranslated regions of myosin genes and repetitive DNA / P. Khandekar, C. Saidapet, M. Kranskopi et al. // J. Mol. Biol.*— 1984.— 180, N 3.— P. 417—435.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 31.01.86

УДК 579.254.2

ОПОСРЕДОВАННАЯ ЛИПОСОМАМИ ДОСТАВКА ДНК В ПРОТОПЛАСТЫ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

И. Е. Костецкий, В. А. Кордюм

Введение. В последние годы показано, что липосомы способны служить эффективным носителем для введения в клетки биологически активных веществ. В липосомы удается включить как низкомолекулярные соединения, так и макромолекулы, в том числе молекулы РНК и ДНК. С помощью липосом эти биополимеры успешно вводят в клетки млекопитающих [1], растительные протопласты [2], компетентные клетки *Escherichia coli* [3], *Bacillus subtilis* [4] и другие объекты. Основные преимущества липосом как носителей биологически активных веществ заключаются в предохранении включенных соединений от разрушения, повышении включения переносимого материала в клетки, возможности направленного транспорта [5]. Все это позволяет использовать липосомы для доставки требуемых веществ не только в клетки *in vitro*, но и в некоторые органы и ткани *in vivo*.