

Е. ШУБНИКОВА

**РИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА В ЦИКЛЕ ЖИЗНИ
ПРОТОЗОЙНОЙ КЛЕТКИ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 8 VIII 1946)

Рибонуклеиновая, или дрожжевая нуклеиновая кислота, как показали работы последних лет, играет важную роль в жизни клетки. Обладая способностью давать легкоподвижные солеобразные соединения с белком, рибонуклеиновая кислота блокирует тем самым его аминокруппы. Как только происходит диссоциация нуклеопротеида, освободившиеся аминокруппы становятся вновь реактивноспособными. Таким образом, рибонуклеиновая кислота регулирует ряд процессов, в частности, ферментативных, происходящих в клетке (1).

Кроме того, рибонуклеиновая кислота участвует в процессе фосфорилирования и дефосфорилирования в углеводном обмене, являясь источником аденинтрифосфорной кислоты (1).

Наблюдения над клетками, находящимися в состоянии активной жизнедеятельности (быстрый рост, дифференцировка, выработка белкового секрета и т. д.), показали, что цитоплазма таких клеток всегда богата рибонуклеиновой кислотой (2-5, 8, 10, 11). Повидимому, рибонуклеиновая кислота необходима для осуществления белкового синтеза в клетке.

Изучение развивающихся яиц морского ежа и сперматогенеза (8), с одной стороны, и изучение распределения нуклеиновых кислот во время митоза, — с другой (10), позволяют думать, что тимонуклеиновая и рибонуклеиновая кислоты могут переходить одна в другую. Таким образом, рибонуклеиновая кислота может служить источником тимонуклеиновой кислоты и наоборот.

Таковы вкратце известные в настоящее время сведения о роли рибонуклеиновой кислоты. Однако весьма вероятно, что назначение ее в жизни клетки гораздо более разнообразно.

Большинство исследований, посвященных рибонуклеиновой кислоте, было проведено либо с помощью спектрофотометрического метода (9), либо с помощью метода Brachet (7, 3). При этом исследовались главным образом многоклеточные животные.

В 1944 г. Роскин и Гинзбург (3, 4), изучая рибонуклеиновую кислоту у простейших, показали, что базофилия цитоплазмы простейших и, в частности, парамеций обусловлена в основном рибонуклеиновой кислотой. В протоплазме парамеций она встречается в различных количествах и распределена по-разному. У одних — рибонуклеиновая кислота расположена равномерно по всей плазме, у других — лишь в задней части парамеций, у третьих — плотно вокруг ядра. Эта базофильная субстанция либо диффузно пропитывает плазму, либо образует мелкие зерна и глыбки. Кроме того, рибонуклеиновая кислота была обнаружена в макронуклеусах. Произведенные наблюдения по-

казали, что распределение и количество рибонуклеиновой кислоты имеют свою закономерную динамику.

Данная работа является попыткой вскрыть некоторые факторы, влияющие на содержание и распределение рибонуклеиновой кислоты в протозойной клетке на примере парамеций. С этой целью мы исследовали процесс конъюгации, а также влияние некоторых факторов (голодания и освещения) на содержание и распределение рибонуклеиновой кислоты в протоплазме парамеций.

Изменение рибонуклеиновой кислоты во время конъюгации и после нее. При изучении конъюгации парамеций перед нами возникли следующие вопросы.

1. Есть ли разница в базофилии предконъюгантов и конъюгантов? Иначе говоря, каким образом отражаются на содержании дрожжевой кислоты те изменения в физиологии парамеций, которые наступают при конъюгации (прекращение питания, сложные изменения ядерного аппарата и т. д.)?

2. Изменяется ли содержание рибонуклеиновой кислоты в течение процесса конъюгации?

3. Происходит ли у эксконъюгантов изменение содержания рибонуклеиновой кислоты в момент растворения макронуклеусов, т. е. происходит ли переход тимонуклеиновой кислоты в рибонуклеиновую?

4. Расходуется ли у поздних эксконъюгантов дрожжевая кислота во время реконструкции ядерного аппарата, т. е. происходит ли обратный переход рибонуклеиновой кислоты в тимонуклеиновую? (Такой переход кажется теоретически возможным и требует превращения рибозы в дезоксирибозу и урацила в тимин.)

Пользуясь методом Brachet (одновременная окраска метилгрюн-пиронином части препаратов, предварительно обработанных ферментом-рибонуклеазой и другой части—без такой обработки), мы получили следующие данные.

Конъюганты без обработки рибонуклеазой имели очень базофильную цитоплазму, красящуюся в яркорозовый цвет пиронином, несколько гуще у ядра. Дрожжевая нуклеиновая кислота концентрировалась у них вокруг макронуклеусов и делящихся микронуклеусов. На периферии клеток она почти полностью отсутствовала. В соответствии с этим и розовая окраска плазмы была интенсивной лишь около ядер. После обработки рибонуклеазой базофилия конъюгантов почти утрачивалась, и они окрашивались пиронином в слабый серо-розовый цвет. На разных стадиях конъюгации каких-либо изменений в содержании или распределении рибонуклеиновой кислоты обнаружить не удалось.

Иные данные были получены при изучении эксконъюгантов.

Исходя из существующего в литературе мнения о теоретически возможном переходе тимонуклеиновой кислоты в рибонуклеиновую и обратно, можно было высказать следующие предположения. 1) Количество рибонуклеиновой кислоты у эксконъюгантов не будет изменяться, если процесс образования ее из макронуклеусов (или иным путем) уравновешивается расходом на синтез тимонуклеиновой кислоты новообразующихся ядер. 2) Количество рибонуклеиновой кислоты в плазме эксконъюгантов будет уменьшаться в связи с более интенсивным расходом ее на внутриклеточные синтезы (в частности на синтез тимонуклеиновой кислоты). 3) Количество дрожжевой кислоты будет увеличиваться, что может быть связано: а) с усиленным образованием ее из разрушающихся макронуклеусов; б) с более интенсивным синтезом ее непосредственно из плазмы. Этот синтез предшествует или сопутствует расходу рибонуклеиновой кислоты при формировании нового ядерного аппарата. Именно последний случай наблюдался на наших препаратах.

Чтобы проследить изменения в количестве и распределении дрож-

жевой кислоты у эксконъюгантов разных возрастов, их отсаживали в отдельные часовые стекла и после расхождения фиксировали через определенные промежутки времени: непосредственно после конъюгации, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24 и 48 часов. Наблюдения показали, что ранние эксконъюганты, у которых еще не начался заметный распад макронуклеуса, содержали рибонуклеиновую кислоту вокруг макро- и микронуклеусов в значительно больших количествах, чем на периферии клеток. На более поздних стадиях (через 8—12 часов) рибонуклеиновая кислота концентрировалась вокруг микронуклеусов и глубоководных распадающихся в это время макронуклеусов. Общее количество дрожжевой кислоты у поздних эксконъюгантов оказалось более значительным, чем у ранних. Таким образом, из трех высказанных предположений о судьбе рибонуклеиновой кислоты у эксконъюгантов оказалось справедливым последнее: количество рибонуклеиновой кислоты возрастает после конъюгации. Кроме того, проведенные наблюдения устанавливают весьма важное обстоятельство: процесс конъюгации не ограничивается только ядерными превращениями; в этот процесс включается в определенный момент и рибонуклеиновая кислота цитоплазмы.

Изменения рибонуклеиновой кислоты под влиянием голодания и темноты. Для получения ответа на вопрос о том, изменяется ли содержание рибонуклеиновой кислоты в зависимости от функционального состояния клетки под влиянием внешних факторов, в частности при голодании, был проделан следующий опыт. Парамеции, хорошо промытые в нескольких порциях дистиллированной воды, отсаживались в воду, прокипяченную за сутки до этого в течение 30—40 минут. В такой воде, практически лишенной питательных веществ, парамеции оставались сутки, после чего фиксировались сначала параами осмиевой кислоты, а затем метиловым спиртом. Для контроля одновременно делались мазки из культур «сытых» парамеций. Базофильное вещество плазмы «голодных» парамеций концентрируется у переднего и заднего концов тела, а также по всей периферии, в то время как вокруг ядра базофилия ослаблена. У «сытых» парамеций, напротив, базофилия хорошо выражена вокруг ядра и плохо на периферии. После обработки препаратов рибонуклеазой бледная фиолетово-розовая окраска «сытых» и «голодных» клеток оказалась сгущенной лишь на полюсах и слегка по периферии. Очевидно, голодание (а может быть, и некоторый недостаток кислорода в воде) приводит к перераспределению рибонуклеиновой кислоты в цитоплазме парамеций из центра к периферии. Вместе с этим и количество дрожжевой кислоты слегка уменьшается.

Другая серия опытов по анализу влияний внешних условий на содержание рибонуклеиновой кислоты посвящена вопросу о действии освещения на парамеций. Парамеции помещались в темноту на 15—40 дней. Контрольные оставались на свету. Наблюдения показали, что никакой разницы в содержании рибонуклеиновой кислоты у тех и других парамеций не наблюдается.

Выводы. Прделанные наблюдения позволяют сделать следующие выводы:

1. Рибонуклеиновая кислота концентрируется у конъюгантов вокруг макронуклеусов и делящихся микронуклеусов, сохраняя такое же расположение на протяжении всего процесса конъюгации, так же как и после него. Насколько позволяет судить об этом наша методика, в течение процесса конъюгации количественного изменения рибонуклеиновой кислоты не происходит.

2. У эксконъюгантов, т. е. в момент сложных процессов реорганизации ядерного аппарата, происходит нарастание содержания рибонуклеиновой кислоты (по крайней мере, до стадии 48 часов после конъюгации — самой поздней из прослеженных мною). Тем самым

выдвигается новая проблема: роль рибонуклеиновой кислоты в половом процессе инфузорий.

3. Различные функциональные состояния в клетке по-разному влияют на распределение и количество рибонуклеиновой кислоты. Голодание приводит к заметному перераспределению ее из центра клетки к периферии и, особенно, к полюсам. Таким образом, в отличие от тимонуклеиновой кислоты, рибонуклеиновая кислота легко поддается изменению в зависимости от условий существования клетки.

4. Освещение никак не влияет на содержание рибонуклеиновой кислоты.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
1 VII 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Н. Белозерский, Диссертация, Москва, МГУ, 1942. ² Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., **15**, 295 (1942). ³ Г. И. Роскин и А. С. Гинзбург, ДАН, **42**, № 8 (1944). ⁴ Г. И. Роскин и А. С. Гинзбург, ДАН, **43**, № 3 (1944). ⁵ Г. И. Роскин и Г. В. Харлова, ДАН, **44**, № 9 (1944). ⁶ Г. И. Роскин, ДАН, **49**, № 4 (1945). ⁷ S. Brachet, C. r. Soc. biol., **133**, 88 (1940). ⁸ S. Brachet, *Enzymologia*, **10**, 87 (1941). ⁹ T. Caspersson, *Scand. Arch. Physiol. Suppl. B* (1936). ¹⁰ T. Caspersson, *Naturwiss.*, **29**, H. 3, 33 (1941). ¹¹ Y. Davidson, C. W. W. W. W., *Nature*, **152**, No. 3845 (1943).