

Л. Б. ЛЕВИНСОН и З. П. КАНАРСКАЯ

СОДЕРЖАНИЕ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КЛЕТКЕ ВО ВРЕМЯ ДЕЛЕНИЯ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 16 VII 1947)

Рибонуклеиновая кислота находится в протоплазме и ядрышках клеток самых разнообразных растений (от бактерий до высших растений) и животных (от простейших до млекопитающих) (1-9).

Весьма важно выяснение взаимоотношения в цикле жизни клетки двух содержащихся в ней нуклеиновых кислот — тимонуклеиновой и рибонуклеиновой. По этому вопросу выявились две точки зрения: Белозерский и Браше считают вероятным синтез тимонуклеиновой кислоты из рибонуклеиновой. По мнению Касперссона, рибонуклеиновая кислота является промежуточным звеном в синтезе протеинов в клетке и не имеет отношения к синтезу тимонуклеиновой, обладающей способностью к саморепродукции.

Задачей настоящей работы является изучение изменения количества и распределения рибонуклеиновой кислоты в делящейся клетке по сравнению с клеткой покоящейся и выяснение наличия топографической связи между обеими нуклеиновыми кислотами клетки.

Браше (8) показал, что во время митоза количество рибонуклеиновой кислоты в клетке значительно снижается и она локализуется главным образом в хромосомах и отчасти ахроматиновом веретене.

Материал и методика. Объектом исследования служили нейробласты мозга личинки рабочей пчелы, клетки эпителия кишки аксолотля и белой мыши, расположенные в глубине крипт, и клетки базального слоя кожи лягушки.

Материал фиксировался смесями Гелли и Буэна, заливался в парафин и разлагался на срезы толщиной 5—6 μ ; окрашивался метиловой зеленью — пиронином по Унна и азуром II-эозином. Тимонуклеиновая кислота выявлялась при помощи реакции Фельгена, рибонуклеиновая — по методу Браше.

Собственные исследования. В протоплазме нейробластов мозга личинки пчелы (зрительные массы, грибовидные тела) имеется большое количество базофильных веществ. Пиронином протоплазма нейробластов красится в яркокрасный цвет, а после азура II-эозина — в синий. Но уже в самой ранней профазе интенсивность окраски пиронином протоплазмы резко снижается. Кариоплазма в это время начинает окрашиваться в розовый цвет. Хроматин из сине-зеленого становится фиолетовым. На этой стадии митоза ядрышко сначала начинает интенсивнее краситься пиронином, а потом расплывается. В метафазе базофилия протоплазмы еще снижается; веретено немного более базофильно, чем окружающая протоплазма. При реконструкции ядра плазма начинает опять становиться базофильной и через некоторое

время базофилия достигает той степени, которая характерна для нейробластов данной стадии развития в данных отделах мозга (рис. 1). После обработки рибонуклеазой базофилия исчезает, и протоплазма пиронином и азуром II не красится. Это значит, что базофилия в данном случае обусловлена наличием рибонуклеиновой кислоты. На этом же материале была проведена реакция Фельгена. На препаратах можно было видеть постепенное увеличение количества тимонуклеиновой кислоты от покоящегося ядра к метафазе и постепенное уменьшение вновь к покоящемуся ядру.



Рис. 1. Изменение количества рибонуклеиновой (I) и тимонуклеиновой (II) кислот в процессе митоза нейробластов мозга личинки пчелы. I — окраска метиловой зеленью — пиронином; II — реакция Фельгена; объектив 99X, окуляр 15X

Сравнение препаратов, обработанных по Фельгену и окрашенных по Унна или азуром II-эозином, показывает, что при уменьшении базофилии протоплазмы и исчезновении ядрышка увеличивается интенсивность окраски после Фельгена, и наоборот. Клетки эпителия кишки аксолотля в глубине крипт отличаются очень сильной базофильей протоплазмы и крупными, сильно базофильными ядрышками. Как и в нейробластах, в них происходит резкое падение базофилии протоплазмы в профазе и метафазе и постепенное возрастание базофилии в телофазе. Веретено более базофильно, чем остальная протоплазма.

В противоположность тому, что наблюдается в нейробластах, изменения цвета хроматина при вступлении клетки в митоз не происходит.

Клетки эпителия кишки аксолотля в глубине крипт также базофильны. В профазе цвет хроматина изменяется с зеленовато-синего на фиолетовый, ядрышко становится более, а плазма несколько менее базофильной. Наименее базофильна протоплазма в метафазе и анафазе, в телофазе базофилия вновь увеличивается. Ахроматиновое веретено и в клетках кишки белой мыши базофильнее окружающей протоплазмы.

В базофильных клетках базального слоя кожи лягушки мы наблюдали в делящихся клетках сходную картину: некоторое уменьшение

базофилии при вступлении клетки в митоз и увеличение базофилии в телофазе, а особенно при реконструкции ядра. Цвет хроматина при вступлении клетки в митоз не менялся. Обработка рибонуклеазой показала во всех случаях, что базофилия протоплазмы, ядрышка и ахроматинового веретена определяется наличием в них рибонуклеиновой кислоты.

В делящихся нейробластах и клетках кишки белой мыши после обработки рибонуклеазой хромосомы окрашиваются по Унна не в фиолетовый, как до этого, а в синевато-зеленый цвет.

В клетках кишки аксолотля хромосомы после обработки рибонуклеазой красятся по Унна, как и до обработки.

В клетках базального слоя кожи лягушки хроматин покоящегося ядра красится по Унна в сине-фиолетовый цвет, хромосомы — в фиолетовый. После обработки горячей водой они красятся в сине-зеленый цвет. Рибонуклеаза не вносит изменений в эту картину.

Обсуждение результатов. При начале митоза количество рибонуклеиновой кислоты в клетке уменьшается, увеличивается базофилия ядрышка, затем оно расплывается, рибонуклеиновая кислота обнаруживается в ядерном соке, а с начала метафазы в клетке остается совсем мало рибонуклеиновой кислоты. В телофазе количество рибонуклеиновой кислоты в протоплазме постепенно увеличивается и ко времени завершения реконструкции ядра достигает величины, характерной для данного вида клеток в определенные моменты их жизненного цикла.

Как известно, во время митоза происходит синтез тимонуклеиновой кислоты. Если сравнить количество тимонуклеиновой кислоты на всех фазах митоза с количеством рибонуклеиновой кислоты на тех же стадиях, то довольно отчетливо видно уменьшение количества рибонуклеиновой кислоты при одновременном увеличении тимонуклеиновой (профаза, метафаза) и наоборот — увеличение количества рибонуклеиновой при уменьшении количества тимонуклеиновой (телофаза, период реконструкции ядер в дочерних клетках).

Браше показал, что при оплодотворении и развитии яиц морского ежа происходит увеличение количества тимонуклеиновой кислоты при одновременном уменьшении рибонуклеиновой, причем содержание нуклеинового фосфора и пуринового азота остается постоянным.

Белозерский, изучая динамику нуклеотидов при прорастании семян, пришел к выводу, что в семенных ростках содержится много пентозонуклеотидов. В период прорастания количество их уменьшается при одновременном увеличении количества тимонуклеиновой кислоты.

«Трудно предполагать,— пишет Белозерский,— чтобы компоненты тимонуклеиновой кислоты синтезировались заново из простых соединений при наличии в громадных количествах уже готовых пуринов и пиримидинов, образующихся при распаде пентозонуклеотидов».

Приведенные факты и соображения позволяют высказать предположение, что рибонуклеиновая кислота играет большую роль при делении клеток, представляя как бы строительный материал при синтезе тимонуклеиновой кислоты.

Браше⁽⁸⁾ утверждает, что хроматин при митозе всегда красится в фиолетовый цвет, а после обработки рибонуклеазой — в зеленый. По его мнению, это доказывает, что в хромосомах содержится значительное количество рибонуклеиновой кислоты. Из приведенных нами данных видно, что это явление встречается далеко не всегда и не имеет общего значения. Действительно, нами исследовалось четыре объекта. В двух случаях (нейробласты и эпителиальные клетки кишки белой мыши) наблюдения Браше подтвердились: в одном случае (эпителий кожи лягушки) хромосомы стали краситься вместо фиолетового в зе-

ленный цвет уже после обработки горячей водой, из чего следует, что пиронинофилия их обуславливалась не рибонуклеиновой кислотой, а другими базофильными веществами, легко растворяющимися в горячей воде, и, наконец, в одном случае (эпителий кишки аксолотля) хроматин не изменял цвета при окраске по Унна после вступления клетки в митоз. Обработка рибонуклеазой делящейся клетки также не оказывала никакого действия на эффект окраски метилового зеленым — пиронином. Следовательно, если даже и согласиться с Браше, наличие рибонуклеиновой кислоты в хромосомах не представляет общего явления и характерно только для некоторых клеток.

Институт зоологии
Московского государственного университета

Поступило
16 VII 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Н. Белозерский, Нуклеопротенды и полинуклеиновые кислоты растений, Диссертация, МГУ, 1943. ² А. Н. Белозерский, Усп. совр. биол. и мед., 18, 1 (1944). ³ Б. В. Кедровский, Биол. журн., 4, № 5—6 (1937). ⁴ Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 12, № 3 (1940). ⁵ Б. В. Кедровский, там же, 15, № 3 (1942). ⁶ Г. И. Роскин, ДАН, 49, № 4 (1945). ⁷ J. Brachet, Arch. de Biol., 53 (1941). ⁸ J. Brachet, Embryologie chimique, 1944. ⁹ T. Caspersson, Chromosoma, 1, 1 (1933).