

Б. В. КЕДРОВСКИЙ

**РИБОЗОНУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ
В КЛЕТКАХ ПРЭСНОВОДНОЙ ГИДРЫ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 17 VI 1948)

Материал: роды *Hydra* и *Pelmatohydra*. Животные, отобранные по 15—20 шт. для витального окрашивания и для контроля, содержались в 100—200 см³ воды, в темноте, при 12—13° С. Корм: дафнии. Концентрации нейтральной красной для прижизненного окрашивания: 1 : 500 000 — 1 : 2 000 000. В наиболее сильных разведениях ярко красные гидры жили неделю и дольше. Реакции на раздражение и размножение путем почкования не нарушались, по крайней мере в течение первых суток. За этот срок обычно уже устанавливалась основная картина накопления краски. В дальнейшем окраска лишь усиливалась. Гидры, перенесенные в ряде опытов через 24 часа из сильных разведений краски в чистую воду, постепенно становились бесцветными и выживали.

Фиксация и окраска (*Hydra* sp.): модификация жидкости Ценкера (1,6), эозин-азур. Срезы витально окрашенных и контрольных гидр наклеивались для окрашивания на одно и то же стекло. Плазма интерстициальных клеток, молодых книдобластов и одноклеточных желез гастральной полости красится на фиксированном препарате основными красками интенсивно, плазма остальных клеток лишь бледно. Переваривание в жидкости, содержащей энзимрибонуклеазу (метод Браше (3)), после которого базофилия плазмы исчезает, показывает, что она зависит от присутствия рибозонуклеиновой кислоты. Ту же природу и на том же основании следует признать за содержимым гранул и глыб, возникающих при прижизненном окрашивании (система «кринома»).

При развитии стрекательных клеток (книдобластов) из интерстициальных режим рибозонуклеиновых кислот изменяется строго закономерно. При развитии пенетранта плазма сначала интенсивно окрашивается азуром. На этой стадии, соответствующей рис. 1, б, в темносиней плазме возникает розовый зачаток книды, который скоро приобретает голубую оболочку. Когда в розовом содержимом книды появляется розовый зачаток стилета (рис. 1, д), базофилия плазмы падает и с дальнейшим развитием почти исчезает. Ядро развивающегося книдобласта уменьшается в объеме и обогащается хроматином. Относительно еще больше уменьшается размер ядрышка. Аналогичное падение базофилии плазмы наблюдается и при созревании мелких форм книдобластов (глутинантов и вольвентов).

Картина прижизненной окраски пенетрантов описана Шлотке (4), но недостаточно полно. Последовательные стадии их развития, витально окрашенные, изображены на рис. 1, а — з. Интерстициальные клетки (а) окрашиваются редко, обычно лишь на вторые сутки или при применении более высоких из указанных выше концентраций краски. Число гранул, рассеянных по клетке, различно, но не превышает 8—10. То же справедливо и для самых молодых стадий созревания (б, в). С возникновением хорошо оформленного зачатка стилета (д) гранулы краски концен-

трируются в одном участке клетки и слипаются, образуя глыбки. Начиная с этой стадии, красятся все книдобласты. Между этой и следующей стадией (перед образованием зачатка нити) достигается максимум связывания краски. На более поздней стадии (*ж*) интенсивность накопления снова падает, и гранулы опять рассеяно располагаются в цитоплазме. Зрелые книдобласты после 24-часового окрашивания гранул

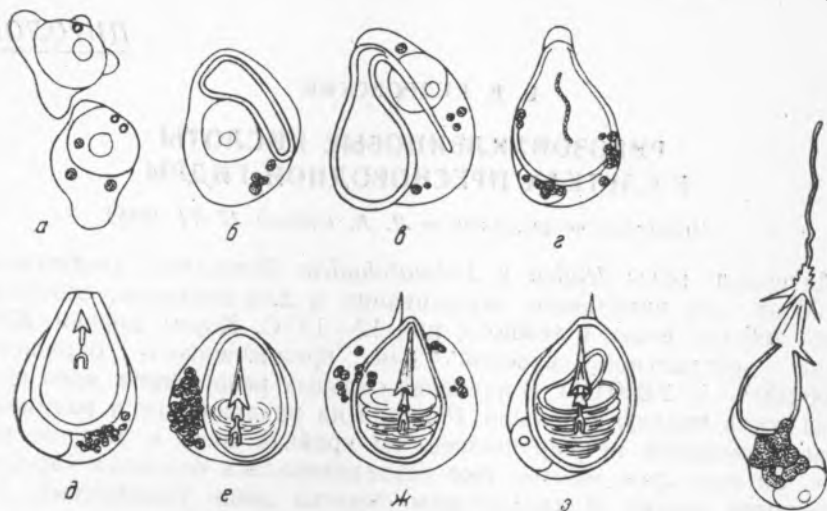


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Полусхематические рисунки стадий развития пенетрантов из гидр, витально окрашенных в течение 24 час. Рисунки сделаны с живых животных. Красные гранулы краски изображены серыми. *а* — две интерстициальных клетки с блестящими зернами и с гранулами краски; нижняя совершала при жизни медленные амебOIDные движения; *б, в* — стадии закладки стрекательной капсулы; *г, д, е* — стадии закладки и роста стилета; между стадиями *д* и *е* оболочка капсулы становится более тонкой и блестящей, немного позже возникает зачаток стрекательной нити; *ж* и *з* — дозревающий и зрелый книдобласты

Рис. 2. Интенсивное накопление нейтральной красной в зрелом книдобласте после витального окрашивания гидры в течение 3 суток. Капсула разрядилась под покровным стеклом, причем книдобласт был выброшен из эпителия. Стрекательная нить нарисована не вся. На фиксированных препаратах в книдобластах при тех же условиях обнаруживаются глыбки таких же размеров

краски не обнаруживают (*з*), однако на следующий день во многих из них видны мелкие глыбки, которые в последующие дни становятся крупнее. Согласно объяснению Шлотке, которое, по видимому, правильно, такие пенетранты являются стадиями развития, дозревшими в присутствии краски и сохранившими способность к ее накоплению. Присутствие связанной краски, очевидно, не затрудняет дозревания капсулы у более поздних стадий (*ж*; ср. рис. 2), между тем как более ранние стадии (*д* и *е*) через 24 или 48 час. — в зависимости от концентрации краски в растворе — в большом количестве гибнут. Судя по такому результату, в пределах этих двух стадий лежит чувствительный или критический период, когда влияние проникающей краски может создать блокаду для дальнейшего развития. Развиваются дальше лишь те клетки, которым удается прорвать блокаду, а также те, которые уже раньше перешли за критический пункт развития; остальные обречены на гибель, поскольку молодой книдобласт или развивается или умирает. Наиболее юные книдобласты (*б, в*) видимых изменений от поглощения краски не испытывают.

Гранулы пенетрантов и их родоначальных клеток, содержащие краску при жизни, содержат вместе с нею субстрат, который на фикси-

рованном препарате интенсивно окрашивается азуром; он относится к категории анаболитов, т. е. соединений, содержащих в качестве основной составной части рибозонуклеиновую кислоту (1,2). Количество субстрата точно соответствует величине красных гранул у разных стадий при жизни. Лишь гранулы самых молодых пенетрантов (рис. 1, б и в) содержат, повидимому, так мало субстрата, что очень редко сохраняются в препарате и с трудом отыскиваются в темносиней плазме, с которой окрашиваются одинаково.

В молодых стадиях глютинантов и вольвентов поглощение краски значительно усиливается по сравнению с их родоначальными клетками. На фиксированных препаратах в тех и других обнаруживаются синие зерна и глыбки. В молодых книдобластах они встречаются в два раза чаще, чем в мелких интерстициальных клетках, из которых они развиваются.

Изложенные здесь факты позволяют сделать некоторые выводы.

1. По интенсивности базофилии цитоплазмы можно судить о содержании в ней рибозонуклеиновых кислот (5-7). При развитии пенетрантов из интерстициальных клеток содержание этих кислот постепенно снижается вплоть до необнаружимых количеств: первое указание на физиологическую активность (и на потребление) рибозонуклеиновых кислот при построении капсулы (рис. 3, 1).

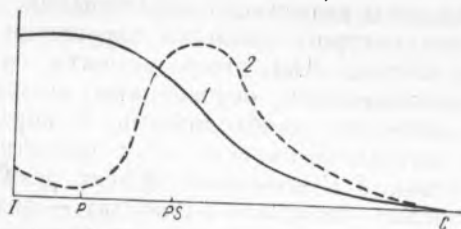


Рис. 3. Зависимость степени базофилии, т. е. относительного содержания рибонуклеиновой кислоты (1) и продукции той же кислоты при витальной окраске (2), от стадии развития книдобласта. I — интерстициальная клетка, P — закладка капсулы (рис. 1, б и в). PS — закладка оформленного стилета (рис. 1, д), C — зрелый книдобласт (рис. 1, з)

2. Нейтральная красная реагирует в живой клетке с соединениями рибозонуклеиновой кислоты, обособляет их в форме гранул, выключает из нуклеиновокислого обмена веществ и тем самым на некоторой критической стадии, соответствующей максимальной силе ее реакции с ними, нарушает ход созревания книдобластов. Дегенерация этих последних на указанной стадии дает второе указание на важное значение нуклеиновых кислот для дифференцировки стрекательной капсулы. Более ранние и более поздние стадии развития книдобластов страдают при витальной окраске несравненно меньше.

3. Интенсивность накопления рибозонуклеиновой кислоты в гранулах, возникших при витальном окрашивании (рис. 1), свидетельствует преимущественно о способности клеток к продукции новых молекул нуклеиновых кислот. Они образуются в форме «свободной», т. е. реагирующей с органическими основаниями типа нейтральной красной. Новообразование их связано с непрерывным замещением молекул нуклеиновых кислот, постепенно уходящих, в соединении с краской, в состав гранул и глыб кринома, в которых продолжает откладываться поступающая краска. Только так можно объяснить способность слабо базофильных поздних стадий созревания книдобластов к образованию боль-

ших масс кринома при витальном окрашивании в течение нескольких суток (рис. 2).

4. Кривая 2 рис. 3 изображает изменение способности развивающихся книдобластов к такому рода заместительной продукции рибозонуклеиновых кислот. Для ранних стадий и для родоначальных клеток мерой интенсивности послужили не только относительные массы обнаруживаемого на срезах содержимого кринома, но и количества клеток, его вообще образующих. При сопоставлении обеих кривых этого рисунка видно, что ранние стадии созревания (рис. 1, б, в) протекают при высоком содержании связанной формы нуклеиновой кислоты, между тем как способность к образованию реагирующей формы в этот момент невелика и, вероятно, даже понижается по сравнению с интерстициальными клетками. Наоборот, на последующих стадиях книдобласты способны образовать рибозонуклеиновой кислоты больше, чем содержат в норме.

В конце дифференцировки их образование идет медленно и большие количества кринома возникают не раньше, чем на 2—3-и сутки витального окрашивания (на схеме этот процесс не отображен). На некоторой промежуточной стадии (рис. 1, д, е) при 24-часовом окрашивании наблюдается максимум продукции нуклеиновой кислоты, с которым совпадает и максимум связывания краски. В пределах этого периода как-раз лежит момент, когда нуклеиновокислый обмен книдобласта испытывает под влиянием витального окрашивания, наибольшее расстройство, следствием которого является нарушение дифференцировки и массовая гибель клеток. Для этого момента созревания капсулы реагирующие с органическими основаниями молекулы нуклеиновой кислоты являются особенно необходимыми. В нормальном развитии книдобласта и при витальной окраске идут, вероятно, реакции одного типа, но продукт реакции и конечный эффект резко различны.

1) Рибозонуклеиновая кислота + метаболит \rightarrow физиологический продукт реакции. Реакции обмена веществ идут дальше.

2) Рибозонуклеиновая кислота + краска \rightarrow соединение, удаляемое из метаболизма созревания. На средних стадиях он нарушается и клетка гибнет.

Зрелый книдобласт (рис. 1, з) не содержит обнаружимых количеств рибозонуклеиновой кислоты и, по крайней мере в течение 24-часового витального окрашивания, ее не образует.

5. В начале развития книдобласты содержат большое количество рибозонуклеиновой кислоты в связанной форме. В дальнейшем связанная кислота частично переходит в свободную, поскольку в средних стадиях, содержащих много кринома, цитоплазма часто окрашивается бледнее, чем у контрольных гидр.

Способность к продукции рибозонуклеиновых кислот обнаруживают почти все клеточные формы пресноводной гидры. После 48-часового окрашивания крином был найден в эпителии эктодермы, в эпителии энтодермы (много в энтодерме щупальцев), в ферментных клетках гастральной полости, в секреторных клетках подошвы и изредка в сперматоцитах. Почки, служащие для бесполого и полового размножения, витально почти не окрашиваются.

Институт цитологии, гистологии
и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
28 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. В. Кедровский, Биол. журн., 5, № 5—6, 1137 (1937). ² Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 15, 295 (1942). ³ I. Brachet, Arch. de Biol., 53, No. 2, 207 (1941). ⁴ E. Schlottke, Z. mikroskop.-anat. Forsch., 24, 101 (1931). ⁵ T. Painter, J. exper. Zool., 100, No. 3, 523 (1945). ⁶ Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 12, № 3, 468 (1940). ⁷ Л. Б. Левинсон и З. П. Канарская, ДАН, 58, № 9 (1947).