

Н. М. СИСАКЯН и М. С. ЧЕРНЯК

## О НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТАХ ПЛАСТИД

(Представлено академиком А. И. Опариным 4 IX 1952)

Пластиды, как высокоорганизованные структурные образования, обладают многогранными функциями и играют весьма важную роль в жизни растительных организмов. При исследовании каталитических функций пластид одним из нас <sup>(1)</sup> было показано, что на названных структурных образованиях происходит не только аккумуляция ферментов, но и синтез каталитических белков. Это обстоятельство подводит нас к пересмотру представлений о липопротеидном характере пластид. Изучая химическую природу пластид и их субмикроскопическую структуру, исследователи рассматривали их состоящими из белковой стромы, на которой, в зависимости от условий, наслаиваются липоидные соединения. Эту точку зрения в течение продолжительного времени отстаивает А. Фрей-Висслинг, хотя В. Залесский еще в 1911 г. <sup>(2)</sup> указывал на значение нуклеопротеидов в качестве структурных элементов хлоропластов. А. Фрей-Висслинг считает например, что: «В состав хлоропластов входят белки, липоиды и пигменты: хлорофилл а, хлорофилл b, а также объединяемые под общим названием каротиноидов — каротин и ксантофилл <sup>(3)</sup>».

Такой односторонний подход к природе протеидного комплекса пластид отдаляет нас от понимания столь ярко выраженной каталитической функции хлоро-, хромо- и лейкопластов, которые показаны исследованиями нашей лаборатории.

Совокупность экспериментальных фактов и литературных указаний свидетельствует о том, что образование тех или иных структур, в основе которых лежит прежде всего синтез белковых тел, связано с участием нуклеиновых кислот <sup>(4, 5, 6)</sup>. Все это и вызвало необходимость пересмотра существующих представлений о природе протеидного комплекса пластид и экспериментального исследования этого вопроса.

Для изучения протеидного комплекса пластид нами были изолированы хлоро- и лейкопласты из листьев и корней сахарной свеклы методом суперцентрифугирования на суперцентрифуге Шарплесс при 33 000 оборотов в минуту <sup>(7)</sup>. Для опыта были взяты 4 образца пластид различного происхождения. Образец 1. Лейкопласты, выделенные из этиолированных листьев сахарной свеклы второго года вегетации сорта Верхнячка. Образец 2. Лейкопласты, выделенные из корней сахарной свеклы этого же сорта после выращивании этиолированных листьев и их удаления. Образец 3. Лейкопласты, выделенные из корней сахарной свеклы того же сорта, после выдерживания растений с этиолированными листьями в течение 11 дней на свету. Образец 4. Хлоропласты, выделенные из листьев сахарной свеклы первого года вегетации сорта Уладовка 752.

Из всех названных образцов нами были выделены нуклеопротеиды. Выделение велось следующим образом. 5—6 г сырых пластид заливались 25—30 мл 0,2% NaOH, и материал тщательно растирался в ступке. Экстракция щелочью велась в течение 1 часа на холоду при непрерывном перемешивании раствора. Затем раствор профильтровывался

через мязгу, и нуклеопротеид в фильтрате осаждался добавляемой по каплям 20%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Выпавший осадок отделялся от раствора центрифугированием, промывался водой до нейтральной реакции и затем высушивался обычным путем спиртом и эфиром\*. Фильтрат после осаждения нуклеопротеида проверялся на содержание нуклеиновой кислоты, для чего к нему добавлялся двойной объем крепкого спирта при подкислении  $\text{HCl}$  до кислой реакции на конговую бумажку. Следует заметить, что нежный хлопчатый осадок от добавления спирта выпадал лишь при работе с хлоропластами и лейкопластами этиолированных листьев свеклы. В двух остальных случаях вся рибонуклеиновая кислота осаждалась 20%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

Все полученные вышеописанным способом препараты нуклеопротеидов давали сине-зеленую окраску при кипячении с орциновым реактивом, что свидетельствовало о наличии в них пентоз. Для большей убедительности в наличии нуклеиновых кислот мы воспользовались методом люминесцентно-микроскопического выявления их, детально разработанным М. Н. Мейселем\*\* (8). В основе метода лежит избирательное сродство ряда флуорохромов, в частности акридина оранжевого, к нуклеиновым кислотам и их соединениям как *in vitro*, так и *in vivo*. При этом нуклеиновые кислоты рибозного типа и их соединения с белками при обработке акридином оранжевым люминесцируют всегда ярко красным или оранжевым цветом, а дезоксирибонуклеиновая кислота и ее соединения — ярким светлозеленым цветом.

Представленные снимки наглядно показывают наличие нуклеиновых кислот во всех исследованных нами образцах. Как видно из снимков, основная масса их представлена рибонуклеиновой кислотой, отдельные зеленые точки на фотографиях свидетельствуют о наличии в лейко- и хлоропластах наряду с рибонуклеиновой кислотой также и незначительных количеств дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Когда наши исследования были закончены, появилась заметка Мецнера (9), в которой автор сообщает о своих поисках нуклеиновых кислот в хлоропластах высших растений гистохимическими методами. Однако нужно указать, что использованные автором методы не столь совершенны, чтобы можно было окончательно решить вопрос о нуклеиновых кислотах, входящих в состав хлоропластов.

Таким образом, на основании полученных данных возникает необходимость не только пересмотра представлений о липопротеидном характере пластид, но и необходимость рассмотрения их как протеидов значительно более сложной природы, куда наряду с другими соединениями входят также и нуклеиновые кислоты, и организация в связи с этим детальных исследований протеидного комплекса пластид.

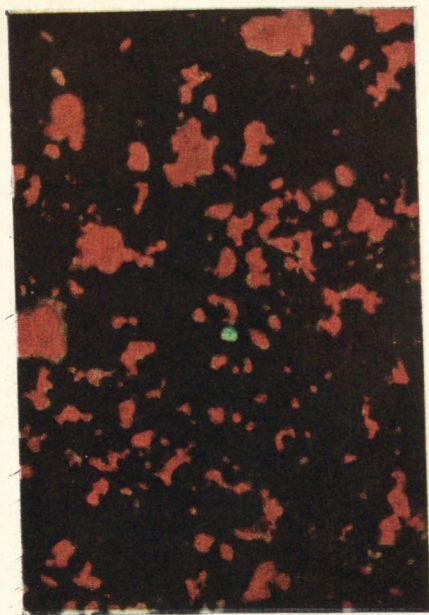
Поступило  
31 VII 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. М. Сисакян, А. М. Кобякова, Биохимия, 17, в. 3 (1952); Н. М. Сисакян, Ферментативная активность протоплазменных структур, изд. АН СССР, 1951. <sup>2</sup> В. Залесский, Ver. Deut. Bot. Ges., 29, 146 (1911). <sup>3</sup> А. Фрей-Висслинг, Субмикроскопическое строение протоплазмы и ее производных, 1950. <sup>4</sup> А. Н. Белозерский, Нуклеопротеиды и полинуклеиновые кислоты растений, Диссертация, МГУ, 1943. <sup>5</sup> Ш. Браше, Усп. совр. биол., 29, в. 1 (1950). <sup>6</sup> С. Е. Бреслер, там же, 30, в. 1 (1950). <sup>7</sup> А. С. Вечер, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3, 271 (1949). <sup>8</sup> М. Н. Мейсель, В. Б. Корчагин, Бюлл. эксп. биол. и мед., 3 (1952). <sup>9</sup> H. Metzner, Naturwiss., 39, 3, 64 (1952).

\* При выделении нуклеопротеида из хлоропластов последние предварительно многократно обрабатывались ацетоном и после него спиртом для удаления хлорофилла.

\*\* Авторы выражают глубокую благодарность проф. М. Н. Мейселю за предоставленную возможность осуществить просмотр и съемку опытных препаратов.



*a*



*б*



*в*



*г*

Рис. 1. Люминесценция рибонуклеиновой кислоты: *a* — из лейкопластов этиолированных листьев сахарной свеклы второго года вегетации сорта Верхнячка; в центре снимка в виде светлозеленого пятна видна люминесценция тимонуклеиновой кислоты; *б* — из лейкопластов корней сахарной свеклы того же сорта после удаления этиолированных листьев; *в* — из лейкопластов корней сахарной свеклы того же сорта после выращивания растений с этиолированными листьями в течение 11 дней на свету; *г* — хлоропластов, выделенных из листьев сахарной свеклы первого года вегетации сорта Уладовка 752