

М. Г. ЧУМАК

**РИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА И ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ЗОНА
КЛЕТОЧНЫХ И НЕКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР
СЕМЕННЫХ КАНАЛЬЦЕВ КРЫС**

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 6 VIII 1953)

Учение О. Б. Лепешинской (1) о происхождении клеток из живого вещества привлекло внимание к изучению тканевых неклеточных структур. При анализе процесса сперматогенеза у крыс было показано (2), что в семенных канальцах образуется большое количество неклеточных структур, которые являются продуктами превращения протоплазмы сперматид, неиспользованной в процессе формирования спермиев. Было сделано предположение, что эти образования содержат большое количество рибонуклеиновой кислоты, так как они окрашиваются азуром II в темносиний цвет, т. е. обладают резкой базофилией. Попутно было обнаружено, что вокруг ядрышка сперматоцита имеется базофильная зона, что представляет определенный интерес в связи с известным предположением о роли ядрышка в синтезе рибонуклеиновой кислоты.

Известно, что высокая базофилия чаще всего свидетельствует о большом содержании рибонуклеиновой кислоты (4-5). Кроме выявления рибонуклеиновой кислоты мы поставили своей целью изучить изоэлектрическую зону этих структур для определения степени их относительной базой и оксифилии, обусловленных электроколлоидальными свойствами белков.

Изучение природы неклеточных структур, образующихся в процессе сперматогенеза, представляет значительный интерес с точки зрения выяснения роли неклеточного вещества в формировании половых клеток (2, 3).

Методика. В данной работе использован метод препаратов-отпечатков, который был применен (2) для изучения сперматогенеза у крысы.

Клетки и неклеточные образования канальцев семенника крысы находятся в полужидкой среде. Обладая плотной оболочкой, клетки легко переходят на предметное стекло, не повреждаясь. На препарате всегда можно выбрать место, где клетки лежат в один слой. Быстро присыхая к стеклу, клетки не сморщиваются, почти не уменьшаются в диаметре по сравнению с живыми клетками. Поэтому, для изучения клеток и неклеточных структур семенника этот метод имеет ряд преимуществ перед парафиновыми срезами, в которых при фиксации кусочков семенника происходит сильное уплотнение ткани вследствие потери воды и уменьшения объема клеток почти в 8 раз. Для получения отпечатков семенник разрезался пополам. Легким прикладыванием кусочков семенника к стеклу делались отпечатки. Для определения рибонуклеиновой кислоты отпечатки фиксировались 3 мин. в метиловом спирте. Для определения изоэлектрической зоны — в 96% этиловом спирте в течение 20 мин. Для выявления рибонуклеиновой кислоты препараты обрабатывались рибонуклеазой слюны в течение 50 мин. при 37—40°. Слюна обрабатывалась по методу Г. И. Роскина (7). Другая часть препаратов выдерживалась в дистиллированной воде при той же температуре в течение того же времени. По нашим данным такая обработка дает наилучшие результаты.

Окраска препаратов производилась смесью 0,1% растворов азура II-эозина в отношении 2 : 1 в течение 20 мин. О наличии рибонуклеиновой

кислоты в тех или иных структурах можно судить путем сравнения окраски препаратов, обработанных рибонуклеазой и дистиллированной водой. Как известно, при удалении рибонуклеиновой кислоты происходит падение базофилии (⁴⁻⁶).

Для определения изоэлектрической зоны препараты - отпечатки окрашивались смесью основной и кислой красок (метиленовой сини и кислого фуксина), разведенных 1 : 4000 на растворах буферных смесей. Буферные смеси в зоне pH 2,2—4,8 с интервалами pH 0,2 готовились по таблице Мак-Ильвена, а в более кислой зоне pH 1,4—1,6—1,9 — по таблице Бриттена.

Окрашивание длилось 15—20 мин., затем препараты промывались чистым буферным раствором соответствующего pH. Как правило, смена окраски структур происходила в довольно значительном интервале pH, поэтому определялась фактически не точка, а зона pH, в которой окраска менялась от синей к красной. Контрольные отпечатки фиксировались 3 мин. в метиловом спирте и окрашивались 20 мин. смесью 0,1% растворов азура II-эозина в отношении 2 : 1.

Для исследования были взяты взрослые самцы белых крыс. От каждого животного

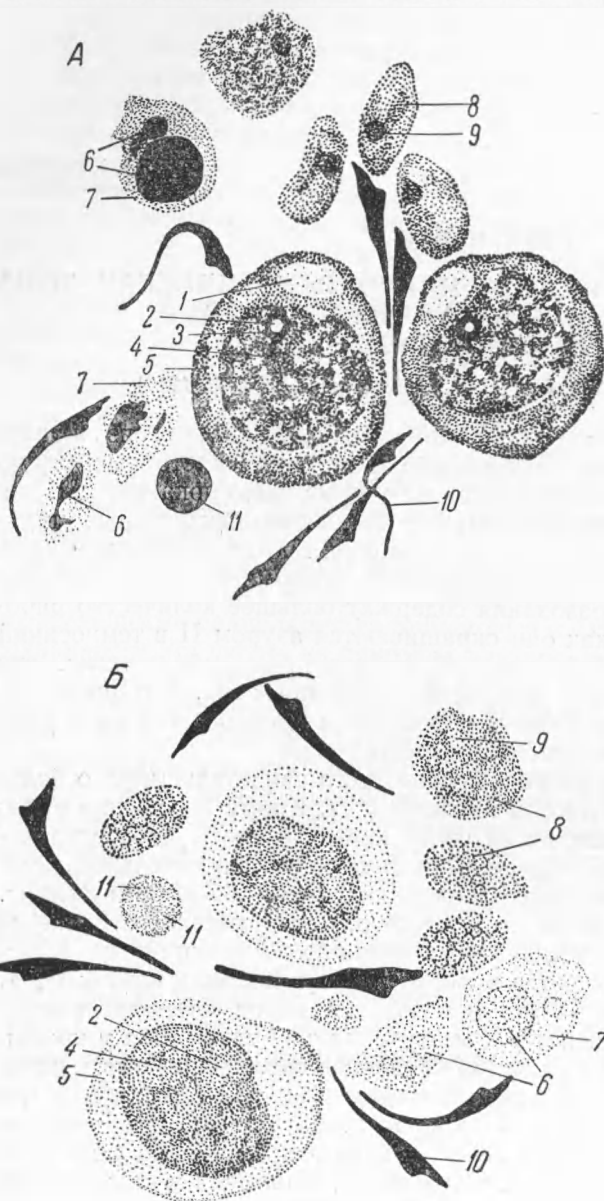


Рис. 1. А — препарат, выдержанный в дистиллированной воде в течение 50 мин. при 37—40°. Сперматоцит: 1 — центросома, 2 — ядрышко, 3 — зона вокруг ядрышка, 4 — ядро, 5 — плазма. Неклеточные структуры: 6 — базофильные включения, 7 — оксифильная часть, 11 — базофильная капля. Ядра клеток Сертоли: 8 — ядро, 9 — ядрышко. Сперматозоиды: 10 — головки сперматозоидов. Б — те же структуры после обработки препарата рибонуклеазой в течение 50 мин. при 37—40°. Рисунки сделаны с препаратов-отпечатков, окрашенных азура II-эозином. Рисов. аппарат объект, 90 ×, окуляр 10 ×

бралась серия препаратов-отпечатков семенников. Определение локализации рибонуклеиновой кислоты показывает, что действительно присутствие

ее обуславливает базофилию. При сопоставлении рис. 1 А и Б видно, что после обработки рибонуклеазой почти полностью исчезает окрашиваемость азуром II базофильной части неклеточных структур и свободных базофильных капель. Пропадает также зона вокруг ядрышка сперматоцита, резко уменьшается базофилия протоплазмы. Интенсивность окраски головок спермиев не уменьшается; они сохраняют свою темную краснофиолетовую окраску. У ядер сперматоцитов исчезает синий оттенок окраски и остается красный.

Таблица 1

Название структур	Значение рН	Название структур	Значение рН
Плазма сперматоцита .	3,4—3,2	Ядро сперматоцита . .	3,4—3,75
„ сперматогонии .	2,8—3,2	Ядрышко сперматоцита	4,0—4,2
Зона вокруг ядрышка		Центросома	4,4—4,6
сперматоцита	1,9—2,3	Ядро сперматогоний . .	3,4—3,75
Ядрышко клеток Сер-		Ядро клеток Сертоли .	3,4—3,75
толи	1,6—2,3	Оксифильная часть не-	
Базофильная часть не-		клеточных структур .	4,2—4,4
клеточных структур .	1,6—2,3		

Для установления относительной степени базофилии и оксифилии нами было проведено определение изоэлектрических зон. В процессе исследования выявилась определенная закономерность значений рН изоэлектрической зоны различных структур. Как видно из табл. 1, базофильная часть неклеточных структур, а также плазма сперматоцитов, сперматогоний, зона вокруг ядрышка сперматоцита, одно из ядрышек клеток Сертоли имеют различные изоэлектрические зоны, сдвинутые в более кислую сторону (рН 1,6—3,2). Изоэлектрические зоны ядер половых клеток, их ядрышек и центросом, оксифильной части неклеточных структур, ядер Сертоли сдвинуты в щелочную сторону (рН 3,4—4,6).

Таким образом, неклеточные структуры, присутствующие в определенные периоды сперматогенеза, содержат, как мы показали, большое количество рибонуклеиновой кислоты, значение которой в развитии ткани не подлежит в настоящее время сомнению.

На судьбу этих образований уже указывалось (2). Они не удаляются вместе со спермой, а остаются длительное время в канальце среди развивающихся половых клеток, претерпевая определенные изменения. Роль их остается пока не выясненной. Однако участие этих структур в развитии половых клеток очень возможно в связи с обнаружением в них большого количества рибонуклеиновой кислоты.

Московский государственный
университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
9 IV 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ О. Б. Лепешинская, Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме, 1950. ² Н. С. Строганова, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6 (1952). ³ Е. Д. Логачев, ДАН, 85, № 1 (1952). ⁴ Л. Б. Левинсон, З. П. Канарская, ДАН, 58, № 9 (1947). ⁵ Г. И. Роскин, ДАН, 49, № 4 (1945). ⁶ Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 31, 1 (1951). ⁷ Г. И. Роскин, Микроскопическая техника, 1951.