Доклады Академии наук СССР
1955. Том 100, № 3

ЦИТОЛОГИЯ

И. И. КИКНАДЗЕ

ИЗМЕНЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ОПЛОДОТВОРЕНИИ И РАЗВИТИИ ЯЙЦА ЦИКЛОПА

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 23 XI 1954)

Нуклеиновые кислоты с момента их открытия Мишером (1869 г.) неизменно привлекали внимание исследователей. Изучение биологической роли этих соединений, хотя и связанное в основном с морфологическими наблюдениями, привело к представлению о зависимости между количественным содержанием нуклеиновых кислот и важнейшими жизненными процессами, протекающими в клетках. Так как общим для всех этих процессов является образование простых или сложных белков, то возник ряд гипотез о связи нуклеиновых кислот с синтезом белка ([1,4,5]).

Работами О. Б. Лепешинской ([6]) было показано значение нуклеиновых кислот для развития живого вещества, превращения доклеточных форм в клеточные. Большой интерес представляет выдвигаемый ею вопрос о поведении нуклеиновых кислот в онтогенезе яйцевой клетки и в ее последующем развитии. Авторы, изучавшие нуклеиновые кислоты в развивающихся яйцах различных животных, указывают на наличие синтеза дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в ходе развития, но вопрос об источниках этого синтеза остается до сих пор дискуссионным.

Браше ([2,3]) связывает синтез ДНК с превращением рибонуклеиновой кислоты (РНК). Противоположного мнения придерживается Касперссон ([4]), который считает, что, напротив, синтез РНК в плазме индуцируется ДНК ядра.

Таким образом, вопрос о поведении и взаимоотношении двух видов нуклеиновых кислот оказывается до сих пор нерешенным, хотя он и привлекает к себе большое внимание.

Настоящая работа имела целью выяснение изменений в содержании и распределении нуклеиновых кислот при оплодотворении и на ранних этапах эмбрионального развития, причем нуклеиновые кислоты использовались как один из показателей обменных процессов, лежащих в основе развития.

Материалом для исследования послужили яйца Cyclops fuscus. Оплодотворение и начавшие развиваться яйца фиксировались через определенные промежутки времени (каждое дробление занимает около 1 часа) для получения всех необходимых стадий развития. Фиксаторами служили: смесь Васюточкина и смесь сулемы с уксусной кислотой.

ДНК выявлялась методом Фельгена, РНК — по Браше (окраска метиловым зеленым — пиронином по Унна, контрольная обработка срезов рибонуклеазой — по Роскину). Для получения сравнимых результатов срезы различных стадий развития наклеивались на одно предметное стекло. Определение интенсивности окраски метиловым зеленым — пиронином производилось при помощи колориметрической шкалы при увеличении микроскопа — об. 8×, ок. 15.

В период выделения направительных телец, и хромосомы яйца и проникший сперматозоид дают отчетливую реакцию Фельгена (рис. 1 *а*). В ходе оплодотворения * происходит исчезновение ДНК: пронуклеусы в момент их сближения и при слиянии не дают реакции Фельгена (рис. 1 *б*).

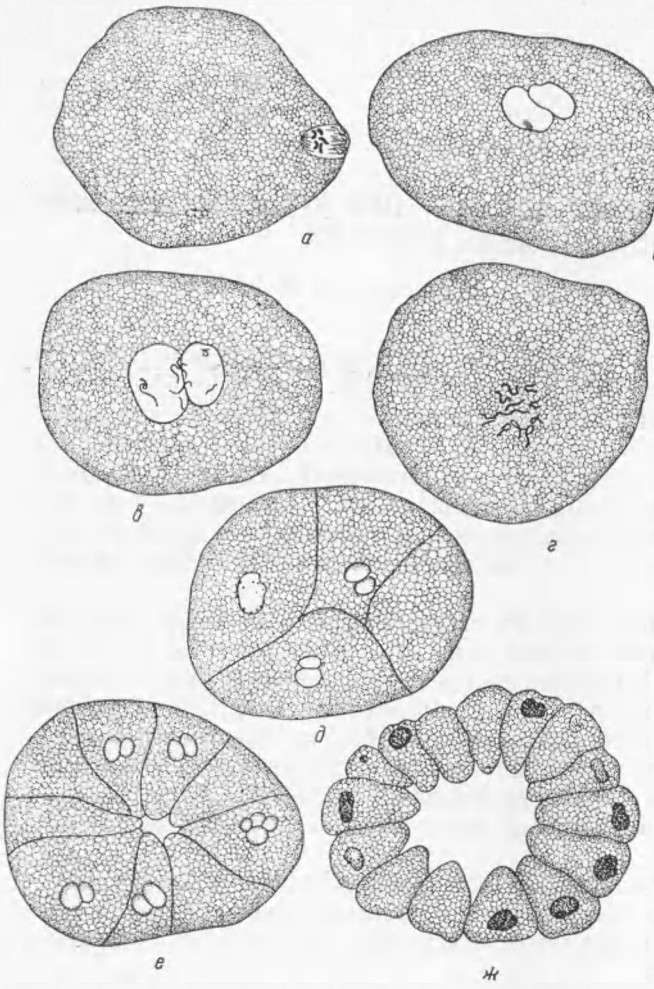


Рис. 1. ДНК в ходе развития яйца циклопа. Фиксация смесью сулемы с уксусной кислотой, обработка по Фельгену. *а* — выделение первого направительного тельца, *б*—сближение пронуклеусов, *в* —ранняя профаза первого дробления, *г* — метафаза первого дробления, *д* —стадия 8 бластомеров, *е* —стадия 16 бластомеров, *ж* — бластула

В профазе первого дробления в ядрах появляются окрашивающиеся по Фельгену нити, вначале короткие, немногочисленные, затем удлиняющиеся и заполняющие весь объем ядер (рис. 1 *в*). К началу метафазы из них формируются хромосомы, дающие резкую реакцию на ДНК (рис. 1 *г*). Формирование ядер первых двух бластомеров связано с постепенным ослаблением реакции Фельгена вплоть до почти полного ее исчезновения.

Таким образом, во время первого дробления наблюдается определенный цикл ДНК: она отсутствует в пронуклеусах, появляется вначале подготовки к делению и вновь расходуется при формировании дочерних ядер. Отсутствие ДНК в пронуклеусах служит показателем повторения в онтогенезе яйцевой клетки филогенетически пройденных этапов. В соответствии с данными О. Б. Лепешинской ([6]) о развитии женского пронуклеуса из протоплазмы яйца через ряд переходных форм наблюдаемое нами состояние яйцевого ядра должно быть оценено как стадия лининового остова. Постепенно лининовый остов обогащается ДНК, превращаясь в типичное ядро, способное к делению.

Цикличные изменения ДНК, характерные для первого дробления, наблюдаются вплоть до стадии бластулы (рис. 1 *д*, *е*). В интеркине-

---

* Под оплодотворением, согласно Т. Д. Лысенко ([7]), понимают последовательные этапы взаимной ассимиляции двух гамет, начиная от проникновения спермия и кончая образованием зиготы.

тических ядрах на этих стадиях ДНК либо совсем не обнаруживается, либо имеется небольшое число мелких зернышек по краю ядра, дающих положительную реакцию Фельгена.

Основываясь на литературных данных ([3],[8]) о связи между активностью обменных процессов в клетке и содержанием ДНК, можно предположить, что почти полное расходование ДНК при построении ядер на ранних этапах развития связано с повышенной активностью ядер бластомеров вследствие нарушения в этот период ядерно-плазменных отношений.

На стадии бластулы, когда ядерно-плазменные отношения становятся иными, приближаясь к нормальным, ДНК в ядрах уже не исчезает: они дают довольно интенсивную реакцию по Фельгену (рис. 1 *ж*). Но и здесь в момент подготовки к делению интенсивность окраски усиливается.

И, наконец, ядра науплиуса оказываются сплошь заполненными глыбками, дающими резкую реакцию Фельгена.

Несмотря на такое различие циклов на разных этапах развития, все же отчетливо выступает общая тенденция прогрессирующего возрастания количества ДНК, так как увеличение количества ядер в ходе дробления сопровождается повышением содержания в них ДНК.

При изучении препаратов обнаруживается известная неравноценность бластомеров, выражающаяся в неодновременности их деления, начиная со стадии двух бластомеров.

Что касается РНК, то яйца циклопа богаты ею на всем протяжении развития. Однако на фоне общего высокого содержания РНК удается заметить определенную закономерность изменения ее содержания в зависимости от этапа развития. Количество РНК постепенно уменьшается до стадии 16 бластомеров, но при образовании бластулы оно резко увеличивается, достигая первоначального уровня. Надо заметить, что в цитоплазме яйца циклопа обнаруживаются элементы двух типов, содержащие РНК: мелкая зернистость, очень интенсивно окрашивающаяся пиронином, и крупные гранулы, дающие более слабую окраску. Изменение содержания РНК происходит лишь за счет РНК, содержащейся в крупных гранулах.

Таким образом, не удается установить прямой связи между изменениями ДНК и РНК, которая свидетельствовала бы о их взаимных превращениях при развитии яйца, хотя при делении содержание РНК в плазме яйца, в соответствии со схемой Браше, несколько падает.

В яйце, моруле и бластуле не удалось наблюдать того резко убывающего анимально-вегетативного градиента распределения РНК, о котором говорит Браше ([2]): и яйцо, и бластомеры окрашиваются равномерно.

На основании изучения ранних этапов эмбрионального развития Cyclops fuscus с использованием методов обнаружения дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК) кислот можно придти к следующим выводам:

1. При развитии яиц циклопа наблюдается определенный цикл поведения ДНК в ядрах, меняющийся в зависимости от стадии развития: на ранних этапах (пронуклеусы, 2, 4, 8, 16 бластомеров) ДНК почти полностью расходуется при построении ядер, накапливаясь к моменту деления. Со стадии бластулы ДНК в интеркинетических ядрах сохраняется.

2. Процесс развития яиц циклопа сопровождается постоянно идущим синтезом ДНК.

3. Наблюдается рано возникающая неравноценность бластомеров, проявляющаяся в асинхронности деления.

4. Прямой связи между изменениями ДНК и РНК в развивающихся яйцах циклопа не наблюдается.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
28 X 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. Н. Белозерский, Сборн. Совещание по белку, 146,1948. [2] Ж. Браше, Сборн. Некоторые проблемы современной эмбриофизиологии, 255, 1951. [3] J. Brachet, Embryo. logie chimique, 1944. [4] T. Casperson, Cell growth and cell function, 1950. [5] Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., **31**, 1, 38 (1951). [6] О. Б. Лепешинская, Клетка, ее жизнь и происхождение, 1950. [7] Т. Д. Лысенко, Агробиология, 1948. [8] Т. П. Платонова, Усп. совр. биол., **28**, 2, 169 (1949).