

СИНТЕЗ РНК В ЯДРЕ ООЦИТА В ТЕЧЕНИЕ ЦИТО- И ТРОФОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РОСТА У КОШЕНИЛИ

М. Г. ХАЧАТРЯН, Е. М. КАРАЛОВА, Ю. А. МАГАКЯН

Радиоавтографически исследован синтез РНК в ядре ооцита кошенили. Показано, что на всем протяжении фолликулярного периода синтезируется РНК и во время вителлогенеза выводится в ооплазму. Сначала включение ^3H -уридина наблюдается в зоне компактизованных бивалентов, затем—в зоне ядрышка. Это свидетельствует о высоком уровне транскрипции, несмотря на наличие активно функционирующих в это время трофоцитов. Обсуждается вопрос о природе синтезируемой РНК и о вероятной амплификации р-генов в ядре ооцита.

Ключевые слова: кошениль, ооцит, РНК, транскрипция.

В предыдущем сообщении было показано, что в период фолликулярного развития овариолы кошенили хромосомно-ядрышковый аппарат ооцита претерпевает значительные морфологические изменения [7], свидетельствующие, в первом приближении, о его интенсивном развитии и возрастании транскрипционной активности. Для окончательного ответа на этот вопрос нами было предпринято автографическое исследование синтеза РНК в ядре ооцита, данные которого приводятся в настоящем сообщении.

Материал и методика. Яичники личинок и половозрелых самок араратской кошенили извлекали в изотоническом растворе и переносили в аналогичный раствор, содержащий ^3H -уридин (уд. акт. 14,8 Ки/ммоль, конечная концентрация изотопа в растворе 50 мКи/мл), инкубировали при 26° в течение 30 мин—2 ч, а затем переносили в среду С-45 для культивирования клеток насекомых, содержащую «холодный» предшественник в той же концентрации, и культивировали 2—24 ч при 26° . Яичники фиксировали в смеси формалин—этанол—уксусная кислота (9:3:1), после 2-часового культивирования и далее через каждые 2 ч готовили срезы (5 мкм), покрывали эмульсией типа «М» (ГОСНИИХИМФОТОПроект), экспонировали 14 суток, проявляли стандартным способом и окрашивали гематоксилином по Майеру и эозином. Определяли наличие метки, характер ее распределения над ядром ооцита и фотографировали.

Результаты и обсуждение. Полученные нами данные говорят о том, что ^3H -уридин активно включается в ядро ооцита на всем протяжении фолликулярного периода развития овариолы араратской кошенили (рис.), однако интенсивность включения метки и характер ее распределения над ядром в течение этого периода значительно изменяются. Так, в начале I стадии фолликулярного периода¹ метка располагается над

¹ Согласно предложенной нами периодизации, оогенез кошенили подразделяется на два периода: дофолликулярный (включающий 2 стадии) и фолликулярный (с 5-ю стадиями); в фолликулярном периоде осуществляются процессы цито- и трофоплазматического роста [4, 6, 8].

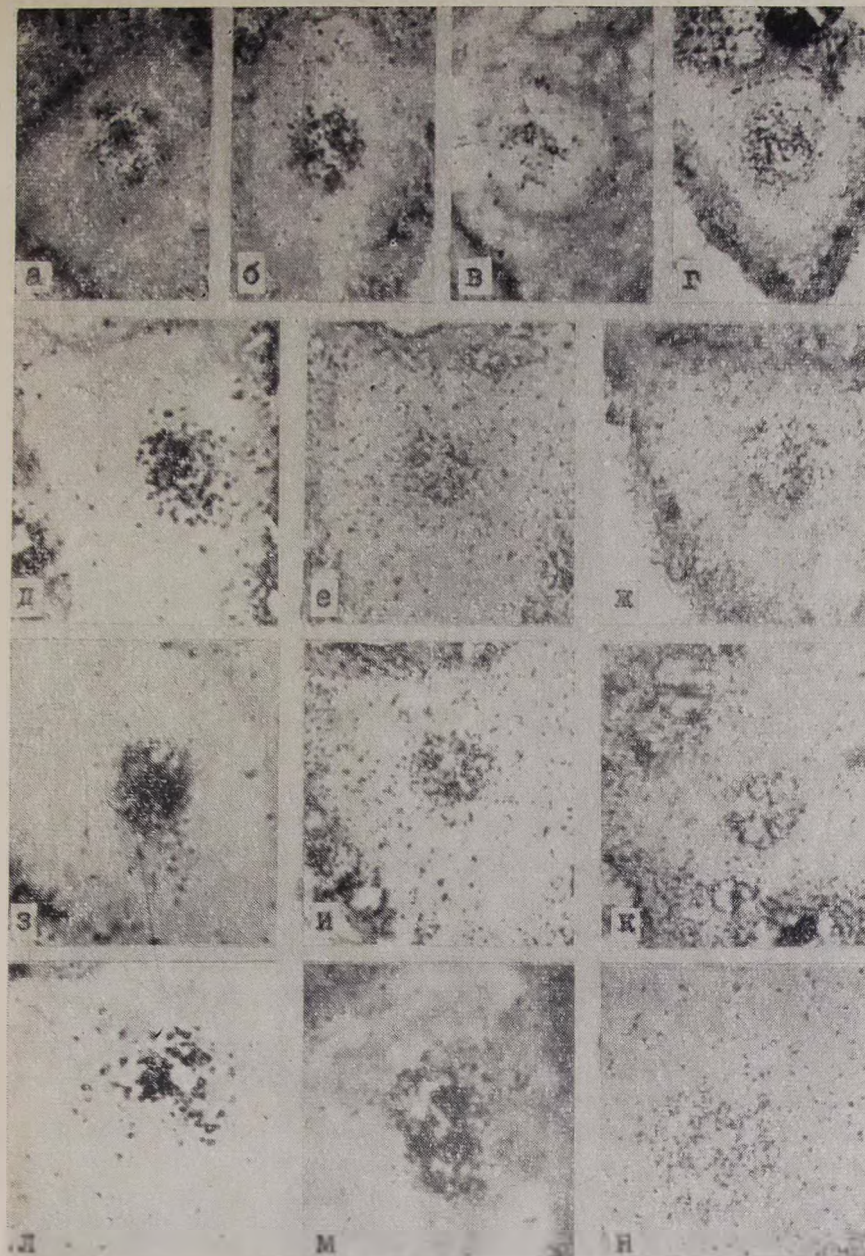


Рис. Изменения в интенсивности включения ^3H -уридина в ядро ооцита и в характере распределения метки в течение цито- и трофоплазматического роста у кошенили. а, б—включение ^3H -уридина в начале (а) и в конце (б) I стадии фолликулярного периода; в—ж—то же на II стадии, инкубация в среде, содержащей ^3H -уридин, в течение 30 мин (в), 1 ч (г), 2 ч (д), культивирование в «холодной» среде в течение 4 ч (е), 8 ч (ж); з—и—то же на III стадии, инкубация в среде, содержащей ^3H -уридин 1 ч культивирование в «холодной» среде 4 ч (з) и 8 ч (и), 12 ч (к); л—н—то же на IV (л, м) и на V (н) стадиях, инкубация с ^3H -уридином 1 ч, культивирование с «холодным» предшественником 4 ч. Объяснения в тексте. Окраска гематоксилином по Майеру и эозином. Увел.: об. 100X, ок. 12,5X.

семью сильно укороченными и конденсированными бивалентами (диплотена, рис. а), к концу этой стадии она также преимущественно концентрируется над хромосомами, но при этом отмечается и в других участках ядра; некоторое количество меченого ^3H -уридинного материала выводится в ооплазму (рис. б). Эти данные свидетельствуют о том, что на данной стадии в ядре ооцита, вероятно, синтезируются все типы РНК и в небольшом количестве транспортируются в ооплазму.

Начиная со II стадии характер распределения и интенсивность включения метки меняются. При коротких сроках культивирования (30 мин) в растворе, содержащем ^3H -уридин, гранулы восстановленного серебра большей частью располагаются над уже более или менее декодсированными хромосомами (рис. в), при более длительной инкубации с меткой интенсивность ее включения в ядро возрастает, а меченые частицы обнаруживаются как над хромосомами, так и вне их (рис. г); заметен также выход меченой РНК в ооплазму. При еще более длительном инкубировании яичника с меченым предшественником (2 ч) возрастает не только интенсивность мечения ядра ооцита и транспорт меченого материала в ооплазму, но и концентрация метки в зоне ядрышка (конец II стадии; рис. д). В случае продолжения культивирования яичника в «холодной» среде интенсивность мечения ядра снижается при одновременном возрастании количества меченого материала в ооплазме (рис. е). При еще более длительном культивировании в этой среде снижение интенсивности мечения ядра продолжается, а гранулы восстановленного серебра выявляются в основном над декодсированными диакинетическими хромосомами (рис. ж).

Эти данные позволяют с определенной долей уверенности говорить о том, что в это время в ядре ооцита идут параллельно два процесса: синтез РНК на хромосомах (менее интенсивный) и синтез РНК (скорее всего р-РНК) в ядрышке (значительно более интенсивный, чем первый), сопровождающийся активным транспортом синтезированного материала в ооплазму.

Описанная картина сохраняется и на III стадии развития фолликула, при этом интенсивность мечения ядрышка и транспорта меченой РНК в ооплазму увеличивается (рис. з—и).

На IV стадии несколько понижается интенсивность включения метки в ядрышко или в его почкующиеся фрагменты (рис. л, м, соответственно). Характер распределения ее над остальными участками ядра изменяется: уже не замечается специфических фигур расположения метки над диакинетическими хромосомами (рис. л, м), что связано с продолжающимся разрыхлением хроматина в это время [7].

К концу V стадии интенсивность мечения ядра еще больше понижается, в некоторых случаях вновь становится заметным характерное распределение метки над тонкими диакинетическими хромосомами (рис. н). Нет (и не может быть) специфической концентрации метки в зоне ядрышка, так как именно в это время оно и его крупные фрагменты подвергаются экстрезии [7]. Это не означает, однако, что в ядре

нет ядрышкового материала, в виде мелких гранул он располагается по периферии ядра в тех случаях, когда ядрышко не выталкивается из ядра целиком [7] и, по-видимому, выводится в ооплазму. Об этом свидетельствуют не только морфологические данные, представленные в предыдущем сообщении [7], но и расположение меченных ^3H -уридином гранул по периферии ядра и выход их в ооплазму (рис. н).

Таким образом, представленный материал подтверждает сделанное ранее [7] предположение о высокой транскрипционной активности генома ооцита кошенили в период цито- и трофоплазматического роста, когда в ооците протекают процессы пре- и вителлогенеза, и трофоциты интенсивно синтезируют и транспортируют в ооцит РНК [4, 5, 8]. Полученные данные интересны, так как характеризуют кошениль как насекомое, занимающее по типу оогенеза промежуточное положение между солитарным и нутриментарным.

Ранее подобное явление было обнаружено у некоторых жуков [9, 10, 12] и у золотоглазки [2], однако характер включения ^3H -уридина в ядро ооцита кошенили отличается от такового у указанных насекомых. Так, у жуков, имеющих политрофные овариолы, хромосомы ооцита образуют компактную кариосферу, но тем не менее активно включают ^3H -уридин [11]. Обычно же сильно конденсированные хромосомы в кариосфере активности не проявляют. У кошенили кариосфера не образуется [7, 8], но наблюдается, как было показано, активное включение метки в также сильно конденсированный хроматин бивалентов на стадии диплотены. В ооцитах жуков формируются множественные истинные ядрышки, тесно контактирующие с капсулой кариосферы и исчезающие вместе с ней после обработки препаратов РНК-азой, но не включающие ^3H -уридин [11]. У кошенили же, как правило, образуется одно крупное ядрышко, интенсивно включающее, как можно было видеть, метку. В то же время у золотоглазки, у которой рано формируется кариосфера, синтез ДНК на хромосомах выявляется только до этого момента, а затем, в результате амплификации рРНК, развивается активно функционирующий гигантский нуклеолярный аппарат [1, 3].

Из данных предыдущего и настоящего сообщений видно, что в ядрышке ооцита кошенили не только накапливается, но и активно синтезируется РНК, которая затем выводится в ооплазму. Столь высокий уровень транскрипционной активности в ядрышке должен скорее всего обеспечиваться дополнительным матричным материалом, накопление которого в ядрышке может быть обусловлено амплификацией р-генов. С целью проверки этого предположения нами было предпринято комплексное цитофотометрическое и радиоавтографическое исследование синтеза и накопления ДНК в ядре ооцита кошенили, данные которого представлены в предыдущем сообщении.

ԶՎԱԲԶՋԻ ԿՈՐԻՉՈՒՄ ՌԵԹ-Ի ՍԻՆԹԵԶԸ ՈՐԴԱՆ ԿԱՐՄՐԻ
ՑԻՏՈ- ԵՎ ՏՐՈՖՈՊԼԱԶՄԱՏԻԿ ԱՃԻ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Մ. Գ. ԽԱԶԱՏՐՅԱՆ, Ե. Մ. ԿԱՐԱՆՈՎԱ, ՅՈՒ. Ա. ՄԱԳԱՔՅԱՆ

Կատարված է որդան կարմրի ձվաբջջի ՌԵԹ-ի սինթեզի ռադիոավտոգրաֆիկ ուսումնասիրություն՝ օվարիոլի զարգացման ֆոլիկուլյար ժամանակաշրջանում: Յուշ է արված, որ այդ ամբողջ ժամանակամիջոցում սինթեզվում է ՌԵԹ և վիտելոգենների ընթացքում դուրս է բերվում ձվաբջջի պլազմայի մեջ: Վաղ փուլերում 3H-ուրիդինի ներառումը նկատվում է խտացված բիվալենտների գոտում, ավելի ուշ՝ մշտապես աճող կորիզակի գոտում: Այս սովորական վկայում են ձվաբջջի կորիզի տրանսկրիպցիոն ակտիվության բարձր մակարդակի մասին, չնայած հենց այդ ժամանակ առկա են ակտիվ դործող, սնող բջիջներ: Քննվում են սինթեզվող ՌԵԹ-ի լինելության, ինչպես նաև՝ որդան կարմրի կորիզում Ռ-գենների հավանական ամպլիֆիկացիայի հարցերը:

RNA SYNTHESIS IN THE OOCYTE NUCLEUS DURING
CYTO- AND TROPHOPLASMATIC GROWTH OF COCHINEAL

M. G. KHACHATRIAN, E. M. KARALOVA, Yu. A. MAGAKIAN

Radioautographic investigation of RNA synthesis has been carried out in the oocyte nucleus of cochineal. It has been shown that RNA is synthesized through full extent of follicular period during vitellogenesis is introduced into the ooplasm. In different stages ³H-uridine inclusion is noted in the zone of the compacted bivalents, and in latter ones in the zone of permanently growing nucleolus. The problems of the nature of synthesized RNA and of the probable amplification of r-genes in the oocyte nucleus are discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. Цитология, 17, 10, 1132—1137, 1975.
2. Грузова М. Н. В кн. Современные проблемы оогенеза. 51—98, М., 1977.
3. Грузова М. Н., Зайчикова З. П., Соколов И. И. Цитология, 14, 2, 269—276, 1972.
4. Магакян Ю. А. Биол. ж. Армении, 32, 4, 279—300, 1979.
5. Магакян Ю. А., Каралова Е. М., Хачатрян М. Г. Цитология, 21, 5, 548—557, 1979.
6. Магакян Ю. А., Макарян С. Р., Петросян А. В., Мкртчян Л. П., Аброян Л. О., Акопян Л. А. Цитология, 18, 8, 932—936, 1976.
7. Магакян Ю. А., Макарян С. Р., Акопян Л. А., Петросян А. В. Биол. ж. Армении, 32, 11, 1129—1134, 1979.
8. Хачатрян М. Г., Акопян Л. А., Петросян А. В., Каралова Е. М., Макарян С. Р., Магакян Ю. А. Цитология, 21, 4, 382—390, 1979.
9. Bier K., Kunz W., Ribbert D. Chromosoma, 23, 214—254, 1967.
10. Matuszewski B., Hoser P. Experientia, 31, 431—433, 1975.
11. Matuszewski B., Hoser P., Hoser G., Michalak M. Experientia, 33, 883—885; 1977
12. Matuszewski B., Klod M. Experientia, 32, 34—35, 1976.