

ВЛИЯНИЕ ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ НА РНК-ПОЛИМЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЯДЕР КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА

ГАЛСТЯН Г. Г., ЗАХАРЯН Р. А., ХАЧАТРЯН Г. С.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР, Ереван

Известно, что нейромедиаторы и другие нейроактивные вещества, регулируя функциональную активность клеток головного мозга, могут стимулировать экспрессию их генетического аппарата [1, 2]. В большинстве случаев действие нейромедиаторов на синтез РНК реализуется сАМР и сGMP-зависимым фосфорилированием хроматинных белков [3, 4]. Установлено участие этих циклических нуклеотидов в регуляции компенсаторного синтеза нейромедиаторов [5]. Однако сведения об участии циклических нуклеотидов в регуляции синтеза РНК в клетках головного мозга в основном касаются нейронов. Мало изучена роль циклических нуклеотидов в регуляции синтеза РНК в глиальных клетках [6], практически нет сведений о ядерной функции пири-мидиновых циклических нуклеотидов в клетках головного мозга.

Морфологические, функциональные и биохимические различия нейронов и клеток глии послужили основанием для изучения и сопоставления взаимодействия систем циклических нуклеотидов при регуляции синтеза РНК в указанных клетках.

Эксперименты проводили на белых беспородных 3—4-недельных крысах-самцах. Обогащенные фракции нейронов и глиальных клеток выделяли по методу Blomstrand, Hamburger [7]. Действие циклических нуклеотидов на синтез РНК изучали в бесклеточной РНК-синтезирующей системе, состоящей из ядер нейронов или глиальных клеток и dialизованного цитозоля. Субклеточное фракционирование и очистку ядер проводили по методу Непи [8]. Дифференциальное определение активностей I и II форм РНК-полимеразы осуществляли по модифицированному методу Гаузе и соавт. [9]. Минимальные эффективные концентрации сАМР, сGMP, сUMP и сCMP в реакционной смеси соответственно составляли 5×10^{-6} , 5×10^{-7} , 10^{-5} и 5×10^{-7} М. В сочетании с сАМР эффективная концентрация сUMP составляет 5×10^{-7} М. Реакционную смесь инкубировали при 37° в течение 20 мин. Активность РНК-полимеразы выражали в пмоль включенного за период инкубации [14 C]UMP/мг ДНК.

Каждая серия экспериментов состояла из 6—8 опытов. Полученные данные подвергали статистической обработке по Студенту-Фишеру.

Как видно из данных, приведенных в таблице, при действии сАМР в ядрах нейронов и глиальных клеток активность I формы РНК-полимеразы по сравнению с контролем увеличивается соответственно на 41 и 57%. При этом активность II формы РНК-полимеразы глиальных ядер возрастает на 37%, а в ядрах нейронов наблюдается некоторое понижение активности этой формы РНК-полимеразы. При действии сGMP в ядрах обеих клеточных фракций главным образом

стимулируется активность II формы РНК-полимеразы, ее активность в ядрах нейронов и клеток глии по сравнению с контролем повышается соответственно на 35 и 46%. При этом активность I формы

Таблица

Влияние циклических нуклеотидов на РНК-полимеразную активность ядер нейронов и глиальных клеток в бесклеточной РНК-синтезирующей системе (пмоль [^{14}C]UMP/мг ДНК)

Исследуемые вещества	Ядра нейронов		Ядра глиальных клеток	
	I форма РНК полимеразы*	II форма РНК полимеразы	I форма РНК полимеразы*	II форма РНК полимеразы
Контроль	110±12	315±33	82±8	221±23
cAMP	156±16	266±28	129±15	303±29
p	<0,1	<0,5	<0,05	<0,1
cGMP	133±14	425±44	99±10	323±31
p	<0,5	<0,1	<0,5	<0,05
cUMP	130±14	377±40	94±10	269±26
p	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
cCMP	98±9	307±29	87±9	278±27
p	>0,5	>0,5	0,5	<0,2
cAMP+cGMP	138±15	406±13	123±11	311±32
p	<0,5	<0,05	>0,5	>0,5
cAMP+cUMP	149±14	281±26	159±14	243±25
p ₁	>0,5	>0,5	=0,2	>0,5
cAMP+cCMP	162±15	358±39	111±11	314±23
p ₁	>0,5	<0,1	>0,5	>0,5

Примечание. * при определении активности I формы РНК-полимеразы инкубационная смесь (0,5 мл) содержала 75 мМ трис-НСl буфер, pH 8,0; 0,05 мМ ЭДТА; 0,08 мМ DTT; 1,5 мМ спермидина; 0,1 мМ CaCl_2 ; 10 мМ MgCl_2 ; АТР, GTP и CTP—по 0,32 мМ; 0,06 мМ немеченый UTP и 0,034 мМ [^{14}C]UTP (4 мКи). При определении активности II формы РНК-полимеразы pH смеси доводили до 7,5, добавляли 320 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и вместо MgCl_2 вносили 2 мМ MnCl_2 . p₁—достоверность по отношению к пробам с cAMP.

РНК-полимеразы в ядрах обеих фракций увеличивается всего на 20%. Следует отметить, что минимально эффективные концентрации cAMP и cGMP находятся в пределах их физиологического содержания в клетках головного мозга [10]. Действие cUMP проявляется при концентрации 10^{-5} М и выше, что значительно превышает его физиологическое содержание в тканях. При действии cCMP стимулируется только II форма РНК-полимеразы ядер глиальных клеток, активность которой повышается на 26%. Этот результат интересен в том плане, что cCMP имеет определенные регуляторные функции в менее дифференцированных и быстро растущих тканях [11]. Эффективная концентрация cCMP также оказалась выше его нормального содержания в тканях [11].

Очевидно, что в условиях организма циклические нуклеотиды не могут функционировать изолированно и находятся в тесном взаимодействии друг с другом. Функциональное взаимодействие систем cAMP и cGMP в ядрах ряда тканей описано в литературе [12]. Результаты

проведенных нами исследований дают дополнительную информацию о взаимодействии систем циклических нуклеотидов. cGMP и cCMP устраняют ингибирующее действие cAMP на активность II формы РНК-полимеразы ядер нейронов, в то время как cUMP несколько усиливает эффект cAMP на активность I формы РНК-полимеразы ядер глиальных клеток.

Полученные результаты показывают, что в регуляции синтеза РНК в клетках головного мозга соответствующие пуриновые и пиримидиновые циклические нуклеотиды (cAMP и cUMP, cGMP и cCMP) проявляют определенный синергизм. Можно отметить также неодинаковый характер реакций ядер нейронов и глиальных клеток на действие различных циклических нуклеотидов.

THE EFFECT OF PURINE AND PYRIMIDINE CYCLIC NUCLEOTIDES ON THE ACTIVITY OF RNA-POLYMERASE IN BRAIN CELLS NUCLEI

GALSTIAN H. G., ZAKARIAN R. A., KHACHATRIAN G. S.

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of Armenian SSR, Yerevan

The nuclei of neuronal and glial cells respond differently to the action of cAMP. The activity of the 1st form of RNA-polymerase increased significantly in both fractions, while the activity of the 2nd form diminished in the neuronal and increased in the glial nuclei. In both fractions cGMP stimulated the activity mainly of the 2nd form of RNA-polymerase. It was established, that the corresponding purine and pyrimidine cyclic nucleotides (cAMP—cUMP, cGMP—cCMP) exert a kind of a synergism when regulating RNA synthesis.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Хачатрян Г. С. Биохимия нуклеиновых кислот и высшие функции головного мозга, Ереван, Айтастан, 1981.
2. Куликова О. Г., Белянцева Л. М., Разумовская Н. М., Бородин Ю. С. Нейрохимия, т. 4, с. 3—9, 1985.
3. Greengard P. Harvey Lect. ser., v. 75, p. 277—331, 1981.
4. Кочетков С. Н., Абдурагимов А. Р., Лукашина Т. Н., Северин Е. С. Биохимия, т. 49, с. 344—348, 1984.
5. Lewis E. C., Tank A. W., Weiner N., Chikaraichi D. G. J. Biol. Chem., v. 258, p. 14632—14637, 1983.
6. Schwartz J. P., Costa E. J. Biol. Chem., v. 255, p. 2943—2948, 1980.
7. Blomstrand S., Hamberger A. J. Neurochem., v. 16, p. 1401—1407, 1969.
8. Henn F. A. Adv. Cell. Neurobiol., v. 1, p. 379—403, 1981.
9. Гаузе Л. Н., Экиаццили В. К., Кафиани К. А. Биохимия, т. 45, с. 1017—1024, 1980.
10. Steiner A. L., Pagliara A. S., Chase L. R., Kipnis D. M. J. Biol. Chem., v. 247, p. 1114—1120, 1972.
11. Bloch A. Adv. in Cyclic Nucl. Res. (Eds. Drummond S. A., Greengard P., Robison G. A., Pedd I.), p. 331—339, N. Y., Raven Press, 1979.
12. Johnson E. M., Hadden J. W. Science, v. 187, p. 1198—1200, 1975.

Поступила 10. IX 1986