

Ж. А. Чалабян

О нуклеотидном составе термических фенольных
 фракций РНК головного мозга животных

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятыном 17/VII 1967)

Многочисленные исследования показали, что в биосинтезе специфических белков ведущая роль принадлежит информационной рибонуклеиновой кислоте (и-РНК). Она, синтезируясь в клеточном ядре на дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК), переносит в цитоплазму — к месту синтеза белка генетическую информацию, обусловленную последовательностью нуклеотидов. Возможно, что и-РНК принимает непосредственное участие в функциональных проявлениях нервной системы, о чем свидетельствуют данные об увеличении синтеза белка и РНК, а также изменения нуклеотидного состава (снижение отношения $\Gamma + \Psi / \text{A} + \text{Y}$) цитоплазматической РНК при возбуждении нейрона (¹⁻²).

В предыдущей работе мы показали, что коразоловые судороги приводят к снижению отношения $\Gamma + \text{Y} / \text{A} + \text{Y}$ цитоплазматической РНК, по-видимому, за счет перехода в цитоплазму и-РНК (³). Немаловажным в этих процессах является также значение других фракций РНК хромосомно-ядрышкового аппарата (ХЯ-РНК). Первым шагом по пути исследования этих типов РНК в деятельности нервной системы, естественно, является их выделение из головного мозга и идентификация. Выделение ХЯ-РНК из клеток млекопитающих можно осуществить путем предварительного изолирования ядер или произвести по методу, разработанному Георгиевым (⁴). Последний позволяет выделять из тканей животных различные типы РНК, изменяя при этом температуру фенола.

Подопытными животными служили взрослые кролики, весом 2,5—3,0 кг. Убивали животных обезглавливанием, извлекали большие полушария головного мозга и гомогенизировали в растворе 0,14 М NaCl. Гомогенат обрабатывали равным объемом фенола рН 6. После центрифугирования собирали водную фазу, содержащую высоко- и низкополимерные РНК цитоплазмы (ВП-РНК), (НП-РНК). Данные по нуклеотидному составу этих РНК приведены в предыдущей нашей

работе (3). Промежуточный слой промывали четыре раза в системе: фенол рН 6—0,14 М NaCl, а затем выделяли 55°-фракцию ХЯ-РНК, встряхивая промежуточный слой в той же системе при температуре 55°С в течение 30 мин. После центрифугирования собирали водную фазу, из которой осаждали РНК двумя объемами абсолютного спирта. Данную процедуру повторяли четырежды для полной экстракции 55°-фракции, а затем аналогичным способом извлекали 65°-фракцию ХЯ-РНК (и-РНК) при рН фенола 8,0 и температуре 65°С.

Нуклеотидный состав термических фракций РНК определяли методом бумажной хроматографии (5).

Результаты проведенных опытов показывают, что выделенная из больших полушарий головного мозга 55°-фракция ХЯ-РНК относится к ГЦ типу, т. е. отношение $G+U/A+U$ выше единицы — 1,27 (табл. 1).

Таблица 1

Нуклеотидный состав 55°-фракции РНК, выделенной из больших полушарий головного мозга кроликов

№ опыта	Гуанин	Аденин	Цитозин	Урацил	$G+U/A+U$
1	31,4	23,3	26,3	18,9	1,36
2	29,4	20,6	27,2	22,8	1,30
3	25,7	19,3	28,8	26,2	1,19
4	26,1	26,4	25,6	21,8	1,07
5	26,0	24,0	28,6	25,0	1,11
6	32,0	22,3	28,0	18,5	1,40
7	26,6	24,7	28,5	20,3	1,22
В среднем	$28,2 \pm 1,6$	$22,9 \pm 1,43$	$27,6 \pm 0,7$	$22,8 \pm 1,83$	$1,27 \pm 0,07$

В работе Георгиева и сотр. (4), проведенной на клетках карциномы Эрлиха и печеночной ткани, было показано, что выделенная при этих условиях РНК по своему нуклеотидному составу соответствует ВП-РНК цитоплазмы (рибосомальная РНК). Исходя из этого, они считают, что данная РНК является рибосомальной и служит предшественником ВП-РНК цитоплазмы. Однако, по нашим данным, нуклеотидный состав 55°-фракции РНК отличается от нуклеотидного состава ВП-РНК цитоплазмы более низким отношением $G+U/C+U$. Следовательно, нет основания считать ее ядерной рибосомальной РНК. Такое расхождение следует объяснить своеобразием процесса депротенинизации РНК в нервной клетке или же существованием особого типа РНК в нервной ткани.

В табл. 2 приведен нуклеотидный состав 65°-фракции ХЯ-РНК, рассмотрение которой показывает, что она относится к АУ типу (отношение $G+U/A+U = 0,85$) и характеризуется примерно одинаковым содержанием аденина и урацила, а цитозин превалирует над содержанием гуанина. Таким образом, РНК, полученная при температуре 65°, по своему нуклеотидному составу приближается к ДНК (отношение $G+U/A+U = 0,75$). Учитывая также и другие признаки этой фракции РНК, как, например, способность гибридизиро-

ваться с ДНК и стимулировать биосинтез белка, следует отнести ее к информационному типу (4).

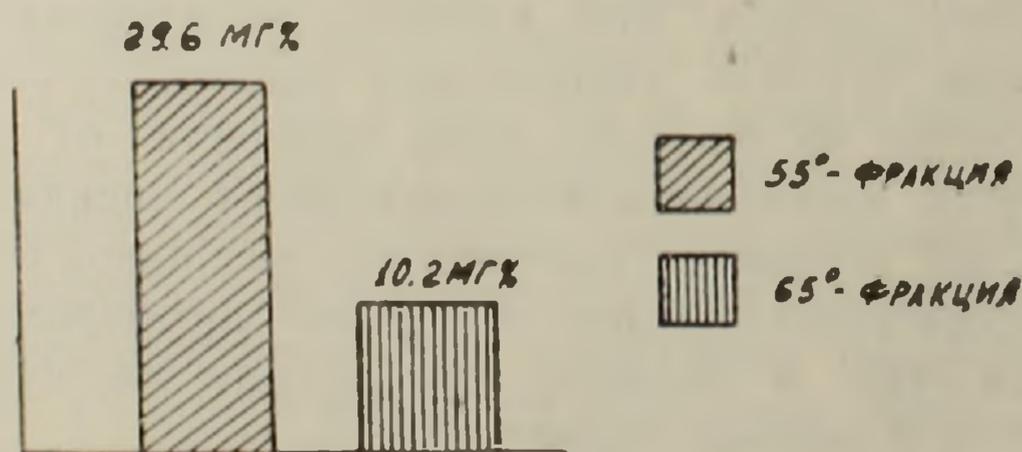
Таблица 2

Нуклеотидный состав 65°-фракции РНК, выделенной из больших полушарий
головного мозга кроликов

№ опыта	Гуанин	Аденин	Цитозин	Урацил	Г+Ц/А+У
1	22,8	28,3	23,6	25,2	0,87
2	26,1	32,3	28,4	33,3	0,83
3	27,7	34,9	32,4	32,4	0,95
4	17,8	29,4	24,0	28,8	0,72
5	21,0	24,7	22,2	31,4	0,77
6	22,4	32,7	20,6	24,3	0,76
7	27,4	24,5	25,4	26,7	1,03
В среднем	23,6±2,15	29,5±2,37	25,6±1,59	28,8±2,13	0,85±0,06

Джакоб, Стевенин и др. (6), изучая нуклеотидный состав и-РНК после разделения на колонке МАК (метилованный альбумин с кизельгуром), обнаружили, что ее основным компонентом является урацил (29%), несколько реже встречается аденин, а гуанин и цитозин содержатся в еще меньшем количестве. Отношение Г+У/А+У составляло 0,87. Сравнивая эти данные с нашими, можно заметить, что полученная нами и-РНК более близка по своему нуклеотидному составу с ДНК. Некоторое расхождение между результатами наших исследований и данными упомянутых авторов можно объяснить различием методов исследования. Мы тоже не обнаруживали полной комплементарности и-РНК с ДНК. Это следует объяснить тем, что и-РНК синтезируется не на всей молекуле ДНК, а на отдельных ее локусах, которые отличаются своим составом.

Количественное определение фракций ХЯ-РНК показало, что их выход из головного мозга гораздо выше, чем из клеток карциномы Эрлиха и печени крыс.



Фиг. 1. Содержание ХЯ-РНК в больших полушариях
головного мозга кроликов (среднее из 4 опытов).

Как видно из фиг. 1, содержание 55°-фракции в больших полушариях головного мозга составляет 29,6 мг%, т. е., примерно, 10% всей РНК клетки. Что касается и-РНК, то в предварительных опытах мы получили очень низкий выход, применяя фенол рН—6,0. При повышении рН до 8 выход и-РНК составлял 10,1 мг%

(3,5% всей РНК клетки). Одна четвертая часть ХЯ-РНК приходится на и-РНК, а остальная часть на 55°-фракцию.

Полученные данные позволяют заключить, что применяемая нами процедура выделения 55° и 65°-фракции РНК проста, обеспечивает большой выход и получение сравнительно чистых препаратов РНК. Фракция-65° является информационной РНК, на что указывает низкое отношение $\Gamma + \Psi / \text{A} + \text{У}$.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ջ. Ա. ՉԱԼԱԲՅԱՆ

Գլխուղեղի մեծ կիսագնդերի ՌՆՔ-ի ջերմաֆենոլային ֆրակցիաների նուկլեոտիդային կազմի մասին

Այս հետազոտության նպատակն է հղել գլխուղեղի մեծ կիսագնդերից անջատել ուսումնական նախափուլի (ՌՆՔ) կորիզա-բրոմոսոմային ֆրակցիաները ջերմաֆենոլային մեթոդով և ուսումնասիրել նրանց նուկլեոտիդային կազմը:

Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ ֆենոլ рН 6—0,14 M NaCl սիստեմում 55°C ջերմության տակ մշակելիս հյուսվածքից անջատված ՌՆՔ-ն պատկանում է ԳՑ տիպին, այսինքն գուանինի և ցիտոզինի գումարի հարաբերությունը ադենինի և ուրացիլի գումարին ($\text{Գ} + \text{Ց} / \text{Ա} + \text{ՈՒ}$) մեծ է մեկից և կազմում է 1,27: Նույն սիստեմում, բայց 65°C ջերմության տակ մշակելիս հյուսվածքից անջատվում է մի այլ տիպի ՌՆՔ, որը իր նուկլեոտիդային կազմով պատկանում է ԱՈՒ տիպին (հարաբերությունը $\text{Գ} + \text{Ց} / \text{Ա} + \text{ՈՒ} = 0,85$) և բնութագրվում է ադենինի և ուրացիլի մոտավորապես հավասար քանակներով: Այս երկրորդ ֆրակցիայի նուկլեոտիդային կազմը չափազանց նման է դեզօքսիտիրոնուկլեինախիլի (ԴՆՔ) նուկլեոտիդային կազմին և հետևաբար պատկանում է ինֆորմացիոն տիպին:

Այս ֆրակցիաների բանակական ուսումնասիրություններով պարզված է, որ գլխուղեղի մեծ կիսագնդերում 55° ֆրակցիայի պարունակությունը հավասար է 29,6 մգ% (մոտ բջջի ամբողջ ՌՆՔ-ի 10%), իսկ 65°-ֆրակցիայինը՝ 10,1 մգ% (բջջի ամբողջ ՌՆՔ-ի 3,5%):

ЛИТЕРАТУРА — ԿՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ А. В. Палладин, Укр. биохим. журн. 33, 621, 1962. ² Х. Хидек и Егуази, Рос. Nat. Acad. Sci. 52, 1030, 1964. ³ Ж. А. Чалабян, Биол. журн. Армении, т. XX, 8, 1967. ⁴ Г. П. Георгиев и В. Л. Мантьева, Биохимия, 27, 949, 1967. ⁵ Е. Б. Сквирская, и Т. П. Бабий, Укр. биохим. журн., 31, 859, 1959. ⁶ М. Джакоб, И. Стевенин и др. J. Neurochem, 13, 619, 1966.