

УДК 612.8.015

БИОХИМИЯ

Ж. А. Чалабян

Биосинтез РНК в коре головного мозга при различных функциональных состояниях

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. Х. Бунятяном 12/IV 1972)

Предыдущими нашими исследованиями было установлено, что в больших полушариях головного мозга при его возбуждении или торможении происходят глубокие сдвиги в количественных соотношениях разных типов РНК, судя по изменениям нуклеотидного состава РНК цитоплазмы и ядер. Повышение отношения Г+Ц/А+У для ядерной и цитоплазматической РНК под действием интрацестернально введенной ГАМК, по-видимому, обусловлено тормозным состоянием в большинстве участков больших полушарий головного мозга. В пользу такого предположения говорят однотипные сдвиги в отношении Г+Ц/А+У при наркотическом сне, вызванном гексеналом или тиопенталем-натрия (1, 2). Кроме того, нами было показано, что агенты, действующие на функциональное состояние нервной системы, в зависимости от применяемой дозы *in vivo* оказывали различные воздействия на активность РНК полимераз, выделенных из ткани головного мозга (3, 4).

В связи с этим представляло интерес изучить влияние ГАМК, гексенала, а также электрического стимулирования мозга на биосинтез отдельных фракций РНК в коре головного мозга с помощью седиментации меченой РНК на градиенте сахарозы.

Опыты ставили на белых крысах-самцах весом в 180—200 г. Меченый предшественник РНК C^{14} -оротат вводили интрацестернально в количестве 5 мккюри на 100 г веса крысы. Крысам опытных групп вместе с оротатом интрацестернально вводили ГАМК или актиномицин в дозах соответственно 0,4 и 0,005 мг на 100 г веса животного. Спустя час инъекция ГАМК повторялась. Гексенал вводили внутрибрюшинно в количестве 10 мг на 100 г веса одновременно с оротатом. Электрическую стимуляцию вызывали за 30 мин до забоя животных переменным током 100 в в течение 0,1 сек с промежутками 5 мин и общей продолжительностью 30 мин. Электроды закрепляли к нижней губе и затылочной области. Животных забивали через 2 часа после введения

C^{14} —оротата и, извлекая большие полушария головного мозга, отделяли кору.

Ядерную РНК из предварительно изолированных ядер коры головного мозга получали и очищали по методу, описанному Веско и Джуидитта (5). Был использован линейный градиент сахарозы (5—20%) в растворе 0,01 М ацетата натрия и 0,1 М NaCl. На каждый градиент осторожно было добавлено 2—3 мг РНК. После центрифугирования при 78 000 г, 3°C в течение 14 часов в роторе SW—25.2, дно пробирки прокалывали и собирали фракции по 20 капель. Пробы разбавляли в 3 мл воды, определяли оптическую плотность при 260 мк, а затем нерастворяющийся в трихлоруксусной кислоте материал собирали на миллиметровые фильтры (величина 0,6—0,9 мк), высушивали и считали на сцинтилирующем спектрометре Nuclear Chicago model mark I.

Седиментационный анализ полисом на градиенте сахарозы проводили по методу Ямагами и Мори (6).

Результаты наших опытов показывают, что ядерная РНК коры головного мозга седиментирует двумя четкими пиками—28 S и 18 S с отношением экстинкций 28S/18S, равным 2, что хорошо совпадает с литературными данными (7). Удельная радиоактивность 18 S РНК выше, чем 28 S РНК (рис. 1, А). Под действием ГАМК происходит уменьшение количества и удельной радиоактивности 18 S РНК, а отно-

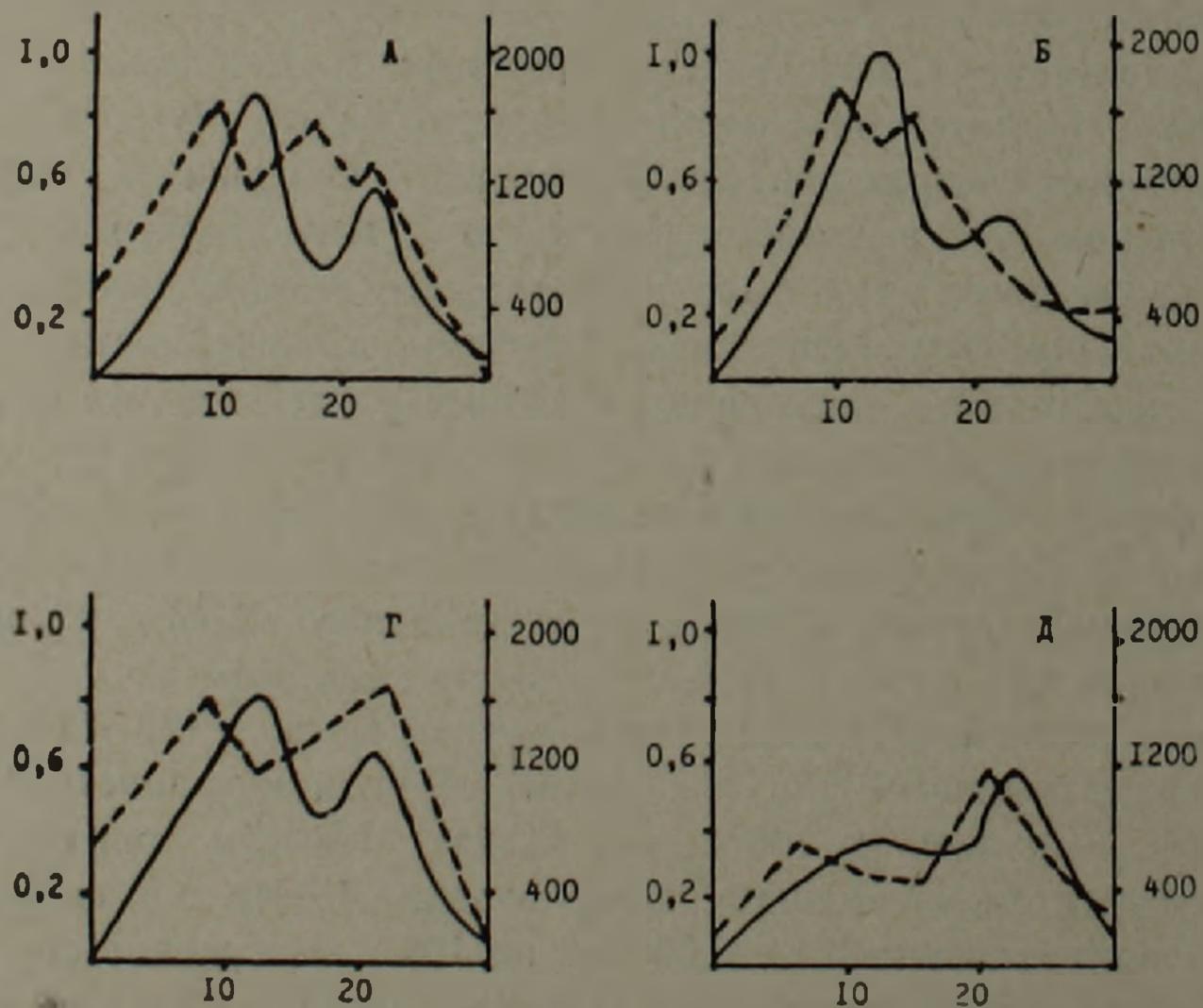


Рис. 1. Профиль седиментации ядерной РНК из коры головного мозга крыс. Животных убивали через 2 часа после интракостернатального введения C^{14} —оротата. Сплошная линия адсорбция, прерывистая радиоактивность. А—контроль; Б—ГАМК; Г—электрическая стимуляция; Д—актиномицин

шение 28S/18S возрастает. Наблюдается также незначительное повышение удельной радиоактивности 28 S РНК (рис. 1,Б).

Электрическая стимуляция приводит к увеличению 18 S и его удельной радиоактивности. Отношение 28S/18S уменьшается (рис. 1,Г).

С целью расшифровки и оценки происходящих сдвигов в профиле седиментации ядерной РНК под влиянием ГАМК и электрической стимуляции мы сопоставили их с профилем седиментации ядерной РНК из коры головного мозга при интрацестернальном введении малых доз актиномицина «Д» (5 мкг на 100 г веса животного). При этом мы исходили из хорошо установленного факта, что актиномицин «Д» в применимых нами дозах угнетает синтез рибосомальной РНК на 90%, не влияя на и-РНК (8,9).

Резкое уменьшение 28 S пика под действием малых доз актиномицина дало нам основание отнести его к рибосомальному типу, тогда как 18 S наряду с р-РНК содержит и-РНК, устойчивая к актиномицину (рис. 1,Д). По-видимому, моноцистроновые и-РНК: созревшие для перехода в цитоплазму, седиментируют вместе с 18 S рибосомальной РНК. Исходя из этих соображений, а также данных прежних наших исследований о повышении отношения Г+Ц/А+У, РНК под влиянием ГАМК (2), можно заключить, что вышеописанные сдвиги в ядерной РНК обусловлены подавлением синтеза и-РНК и стимулированием образования р-РНК. Распространяя эти рассуждения на ядерную РНК из мозга крыс, подвергнутых электрическому стимулированию, можно прийти к выводу, что при этих условиях усиливается синтез и-РНК. Поскольку и-РНК является одним из факторов, лимитирующих содержание полисом в цитоплазме, то интересно было проследить за изменениями в профиле седиментации полисом в условиях, когда синтез и-РНК в ядрах подавлен или, наоборот, стимулирован. На рис. 2 показаны профили седиментации полисом из мозга контрольных и опытных крыс. Под влиянием ГАМК происходит увеличение доли тяжелых полисом и снижение их удельной радиоактивности.

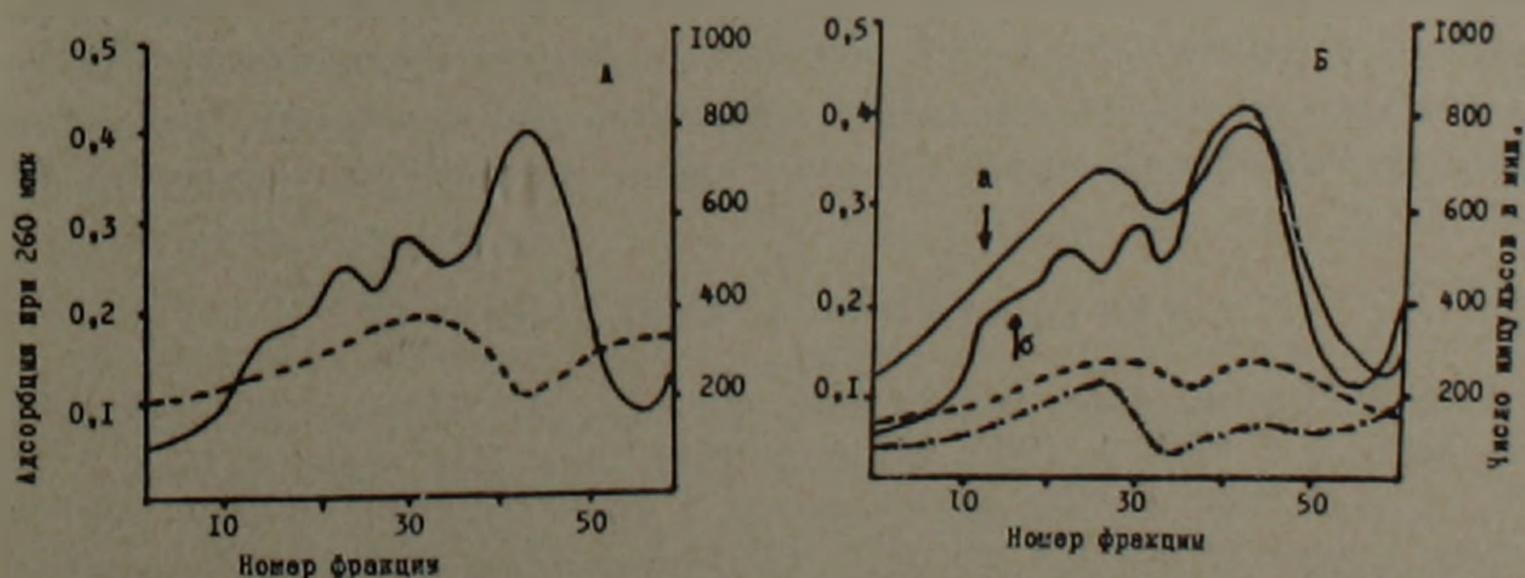


Рис. 2. Профиль седиментации полисом из коры головного мозга крыс. Животных убивали через 2 часа после интрацестернального введения C^{14} -оротата. Сплошная линия адсорбция, прерывистая радиоактивность. А—контроль; Б—ГАМК и гексенал (а—ГАМК, б—гексенал)

Тот факт, что полисомы при подавлении синтеза и-РНК и ее перехода в цитоплазму (на это указывает снижение удельной радиоактивности полисом), не распадаются, можно объяснить наличием в цитоплазме стабильных и-РНК. Повышение доли тяжелых полисом объясняется либо усилением синтеза рибосомальной РНК, либо повышением активности аминоацил-т-РНК синтез. Ряд авторов сообщил о способности ГАМК стимулировать включение некоторых меченных аминокислот в белки в бесклеточной системе, причем действие ГАМК было направлено на повышение активности аминоацил-т-РНК синтетаз (10, 12). Вряд ли в этом процессе играет роль функциональное состояние нервной системы, так как гексеналовый сон не оказывает заметного влияния на профиль седиментации полисом, хотя скорость включения метки значительно снижается (рис. 2).

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Ժ. Ա. ՉԱԼԱԲՅԱՆ

ՌՆԹ-ի բիոսինթեզը գլխուղեղի կեղեվում նրա տարբեր ֆունկցիոնալ վիճակների ժամանակ

Փորձերը դրվել են 180—200 գ քաշ ունեցող սպիտակ արու առնետների վրա, որոնց մի խմբի մոտ ուսումնասիրվել է ԳԱԿԹ-ի (դամամաամինակարագա-թթվի) ներգանգային ներարկման (04 մգ 100 գ քաշին), իսկ մյուս խմբի մոտ նույն ճանապարհով ներարկված ակտինոմիցինի (0,005-մգ 100 գ քաշին) ազդեցությունները ռիբոսոմալ կենտրոնների սինթեզի վրա գլխուղեղի կեղևում:

Կենդանիների երրորդ խմբի մոտ ուսումնասիրվել է էլեկտրական զրգման ազդեցությունը նույն պրոցեսների վրա:

Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս, որ ԳԱԿԹ-ի ազդեցության տակ բջիջների կորիզներում տեղի է ունենում ինֆորմացիոն ՌՆԹ-ի սինթեզի ընկր-ճում և ռիբոսոմալ ՌՆԹ-ի սինթեզի խթանում: Հակադիր փոփոխություններ են նկատվում գլխուղեղի էլեկտրական զրգման դեպքում: Բացի այդ ԳԱԿԹ-ն բար-ձրացնում է ամինաազոտ-ՌՆԹ սինթետազա ֆերմենտների ակտիվությունը, որի հետևանքով մեծանում է ծանր պոլիսոմների քանակությունը, չնայած որ նրանց փոխանակային ակտիվությունը (նշված օրոտաթթվի ներդրումը) իջ-նում է:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ Ж. А. Чалабян, «Биол. журнал Армении», т. 20, № 8 (1967). ² Ж. А. Чалабян, ДАН АрмССР, т. 49, № 1 (1969). ³ Ж. А. Чалабян, Вопр. Мед. химии, т. 15, п. 3, 230 (1969). ⁴ Ж. А. Чалабян, «Укр. биохим. журн.», т. 42, 347 (1970). ⁵ Vesco and Guiditta, Biochim. Biophys Acta V. 142, 385(1967). ⁶ S. Yamagami and K. Mory, J. Neurochem., v. 17, 721 (1970). ⁷ D. Schneider and S. Roberts, J. Neurochem., v. 15, 1469(1968). ⁸ R. F. Perry, Exptl Cell Res, v. 29, 400 (1963). ⁹ М. И. Лерман, В. Л. Мантьева, П. П. Георгиев, ДАН СССР, т. 152, 744(1963). ¹⁰ C. F. Baxter and S. Tewari, In: „Protein metabolism of the Nervous system“ Ed. A. Lajtha New York, London, p. 439, 1970. ¹¹ A. T. Campagnoni and H. R. Mahler, Biochemistry, v. 6, 966 (1967).