

1784-8/
1978/2



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF THE GEORGIAN SSR

BIOLOGICAL SERIES

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1978 N 3 - თბილისი - შობი
T B I L I S I - T O M
T B I L I S I - T O M
V O L.

4

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

Теоретическая биология
Физиология человека и животных (норм. и патол.)
Морфология
 Анатомия
 Эмбриология и гистология
 Цитология
 Патологическая морфология
Биохимия
Фармакология
Ботаника (экспер. и теорет.)
Физиология растений
Зоология (экспер. и теорет.)
Энтомология
Паразитология
Гельминтология
Палеобиология
Биогеоценология
Экология
Микробиология
Вирусология
Иммунология
Генетика
Радиобиология
Биофизика
Молекулярная биология
Бионика и биокибернетика

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

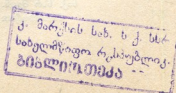
10657

ტომი 4, № 3
Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წელს
Журнал основан в 1975 году
გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

გამომცემლობა „მეცნიერება“
ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“

● თბილისი ● 1978
ТБИЛИСИ ●



სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა
მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი
სწავლული მდივანი გ. ბეკაია

ლ. გაბუნია, ს. ღურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჩანოვი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნაღარეიშვილი, პ. ქომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავიძე
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окужава
Зам. главного редактора Т. Н. Онiani
Ученый секретарь Г. Л. Бекаия

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецохели, П. А. Кометиани,
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, И. И. Тумаджанов, Г. Д. Туманишвили,
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили
Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava
Associate Editor T. N. Oniani
Editorial Secretary G. L. Bekaiia
Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, N. N. Ketskhoveli,
P. A. Kometiani, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, I. I. Tumajanov,
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР
Серия биологическая, 1978

Технический редактор Н. А. Онанова
Корректор Г. Н. Дугладзе

Сдано в набор 23.1.1978; Подписано к печати 9.6.1978; Формат
бумаги 70×108^{1/16}; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,01
УЭ 09913 Тираж 1300 Заказ 1063

Цена 70 коп.

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

საქ. სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Типография «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაკისი — CONTENTS

Б. С. Зильберфарб. Биологические аспекты идентификации биопроизводства в клетке	197
ბ. ზილბერფარბი. უჯრედის ბიოწარმოებათა იდენტიფიკაციის ბიოლოგიური ასპექტები	
B. S. Zilberfarb. Biological aspects of bioproduction identification in cells	
T. Э. Адамия, К. Д. Латария, Н. П. Митагвария. Исследование динамики местного кровотока в теменной коре мозга у крыс при решении лабиринтной задачи	206
თ. ადამია, კ. ლატარია, ნ. მითაგვარია. ვირთაგვეების თავის ტვინის თხემის ქერქში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის დინამიკის გამოკვლევა ლაბირინთულ ამოცანის გადაწყვეტის დროს	
T. E. Adamia, K. D. Lataria, N. P. Mitagvaria. Study of the dynamics of microflow in the rat parietal cortex during maze learning	
Н. К. Тотибадзе, М. Ш. Пирцхалайшвили, Н. И. Белоиваненко. Зрительные входы подушки таламуса кошки	214
ნ. თოთიბაძე, მ. ფირცხალაიშვილი, ნ. ბელოივანენკო. კატის თალამუსის ბალიშის შედეგელობითი აფერენტები	
N. K. Totibadze, M. Sh. Pirtskhalaishvili, N. I. Beloiivanen'ko. Visual inputs to the pulvinar in cats	
Г. И. Бахтадзе. Синтез РНК и структура хромосом типа ламповых щеток в сперматоцитах профазы I мейоза у саранчовых	223
გ. ბახტაძე. რნმ-ის სინთეზი და ლამბის ჯაგრისის ტიპის ქრომოსომების სტრუქტურა კალეების 1-პროფაზის სპერმატოციტებში	
G. I. Bakhtadze. RNA synthesis and lampbrush chromosomes of prophase I of meiosis in the grasshopper spermatocytes	
Ш. Р. Джинджолия, П. В. Челидзе. Кольцевидные внутриядерные включения в различных тканях 8-дневных куриных зародышей и их сравнение с другими типами ядерных тел	232
შ. ჯინჯოლია, პ. ჭელიძე. ბირთვშიდა რგოლსებური ჩანართები ქათმის 8-დღიანი ემბრიონის სხვადასხვა ქსოვილში და მათი შედარება ბირთვის სხვა ტიპის სხეულებთან	
Sh. R. Jinjolia, P. V. Chelidze. The ring-shaped intranuclear inclusions in different tissues of 8-day old chick embryo and their comparison with other types of nuclear bodies	
Н. Д. Чхолария, Ц. И. Абакелия, Т. Ш. Букия, Н. Г. Лариснова. Морфocytoхимическая характеристика лейкопоэза у мышей линии СВА в условиях воздействия стафилококкового токсина	238
ნ. ჩხოლარია, ც. აბაკელია, თ. ბუკია, ნ. ლარიონოვა. ლეიკოპოეზის მორფოციტოქიმიური დანახაობა СВА ზაზის თავებში სტაფილოკოკური ტოქსინის ზემოქმედების პირობებში	
N. D. Tchkholaria, Ts. I. Abakelia, T. Sh. Bukia, N. G. L'arionova. Morphocytochemical characteristics of leucopoiesis of the CBA mice under staphylococcal toxin effect	
Ц. С. Турманидзе, Д. А. Долидзе. Исследование продуктов гидролиза некоторых белков протеиназами <i>Actinomyces fradiae</i> 110	247
ც. თურმანიძე, დ. დოლიძე. <i>Actinomyces fradiae</i> 110-ს პროტეინაზების პროდუქტების გამოკვლევა	
Ts. S. Turmanidze, D. A. Dolidze. Investigation of products of hydrolysis of some proteins by proteinases of <i>Actinomyces fradiae</i> 110	
М. В. Шаламберидзе, Н. И. Соколова, З. А. Шабарова. Синтез и модификация дезоксинуклеозид-5'-дифосфатов	254
მ. შალამბერიძე, ნ. სოკოლოვა, ზ. შაბაროვა. დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5'-დიფოსფატების სინთეზი და მოდიფიკაცია	

M. V. Shalamberidze, N. I. Sokolova, Z. A. Shabarova. **Synthesis and modification of deoxynucleoside-5'-diphosphates**

კ. პ. Кацитадзе. Локализация и интенсивность синтеза нуклеиновых кислот в клетках изолированной меристемы стеблевых апексов вегетирующих растений томатов

230

კ. კაციტაძე. ტომატის ვეგეტირებული მცენარიდან იზოლირებული ლეროს აპიკალური მერისტემის უჯრედებში ნუკლეინის მკავათა სინთეზის ლოკალიზაციისა და ინტენსივობის შესწავლა

კ. პ. Katsitadze. Localization and intensity of RNA synthesis in the isolated meristemic cells of the stem apex in vegetative tomato plants

რ. ს. შავერდაშვილი, თ. რ. კოკოსაძე. Эффективность естественного воспроизводства храмули р. Куры в условиях действия факторов антропогенного происхождения

268

რ. შავერდაშვილი, თ. რ. კოკოსაძე. მდ. მტკვრის ხრამულის ბუნებრივი აღწარმოების ეფექტიანობა ანტროპოგენური ფაქტორების გავლენის შემოქმედების პირობებში

რ. ს. Shaverdashvili, J. R. Kokosadze. Effectiveness of natural reproduction of Khramuli of the Kura river under the factors of antropogenic origin

ზ. ვ. Гольденберг, А. Д. Горгидзе, О. Т. Хачидзе. Аминокислотный состав белковых фракций зерна у межродовых пшенично-ржаных гибридов и их исходных форм

275

ზ. ვოლდენბერგი, ა. გორგიძე, ო. ხაჩიძე. ხორბალ-ჰევის გვართშორისი ჰიბრიდებისა და საწყისი ფორმების მარცვლის ცილურ ფრაქციათა ამინომჟავური შემადგენლობა

З. V. Goldenberg, A. D. Gorgidze, O. T. Khachidze. Amino acid composition of seed protein fraction of intergeneric wheat-rye hybrids and of the initial forms

ლ. გ. Ломидзе, Н. А. Гачечиладзе, М. М. Заалишвили. Влияние температуры, концентрации АТФ, ионной силы и рН среды на суперпреципитацию и АТФазную активность синтетического актомиозина попеременно-полосатой мышцы карпа

282

ლ. ლომიძე, ნ. გაჩეჩილაძე, მ. ზაალიშვილი. ტემპერატურის ატფ-ის კონცენტრაციის, იონურ ძალისა და pH-ის გავლენა კობრის განივზოლიანი კუნთის სინთეზური აქტომიოზინის სუპერპრეციპიტაციასა და ატფაზურ აქტივობაზე

L. G. Lomidze, N. A. Gachechiladze, M. M. Zaalishvili. The influence of temperature, ATP concentration, ionic strength and pH on the superprecipitation and ATPase activity of synthetic actomyosin from striate muscle

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ БИОПРОИЗВОДСТВ В КЛЕТКЕ

Б. С. Зильберфарб

НИИ экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 17.1.1977

Рассматриваются биологические аспекты биопроизводств в гетеротрофных клетках. Каждое биопроизводство характеризуется полными наборами затрачиваемых и выпускаемых веществ. Рассматриваются различные технологии одного и того же биопроизводства. Вводятся такие понятия как промежуточное и используемое вещества, а также соответствующие критерии их дифференциации. Обсуждается также вопрос полноценного охвата метаболических путей набором пяти взаимосвязанных классов биопроизводств, введенных ранее.

При представлении клеточного метаболизма в виде пяти однофункциональных взаимосвязанных классов биопроизводств [1] принадлежность каждого конкретного метаболического пути к биопроизводствам того или иного класса является далеко не тривиальной задачей. При этом, очевидно, рассмотрение всех метаболических путей и, тем более, их обсуждение является, с первого взгляда, безнадежным. Однако эта же задача применительно к центральным метаболическим путям приобретает вполне решаемые очертания.

Основная задача данной работы — обсудить полноценность охвата метаболических путей указанным набором пяти взаимосвязанных классов биопроизводств, а также рассмотреть биологические аспекты идентификации биопроизводств в гетеротрофной клетке.

КЛАСС БИОПРОИЗВОДСТВ, ПОСТАВЛЯЮЩИХ ЭНЕРГИЮ

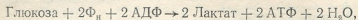
Исходными веществами биопроизводств этого класса являются некоторые биостроительные блоки, а также продукты неполного окисления биостроительных блоков — лактат и кетоновые тела [1]. Вначале подробно рассмотрим одно из биопроизводств указанного класса, использующее для получения энергии в качестве исходного вещества глюкозу. Это биопроизводство (рис. 1) объединяет гликолиз и дыхание.

Судьба полученных на этом пути из молекулы глюкозы двух молекул пирувата может быть различной. Существующие возможности превращения пирувата определяют различные технологии, осуществимые данным биопроизводством. Молекула пирувата может стать акцептором электронов, выделенных на стадии триоз, и, таким образом, превратиться в лактат (гликолиз); или, когда в конкуренции над лактат-дегидрогеназой берет верх челночная система и дыхательная цепь, молекула пирувата окисляется до ацетил-КоА (дыхание). Существует также третья возможность дальнейшего превращения молекулы пирувата — это карбоксилирование пирувата до оксалоацетата с целью дальнейшей его конденсации с ацетил-КоА.

Основным результатом вступления молекулы ацетил-КоА в цикл трикарбоновых кислот (при её полном сгорании и регенерации молекулы оксалоацетата) является производство энергии в форме АТФ, сопряженное с переносом электронов по дыхательной цепи (рис. 1). Поэтому дыхательная цепь является, очевидно, необходимым звеном данного биопроизводства.

Рассмотрим теперь подробнее возможные технологии данного биопроизводства.

Технология 1. Обе молекулы пирувата восстанавливаются до лактата (гликолиз). Получение энергии за счет такой технологии возможно во многих клетках. Эритроциты, например, получают всю необходимую им энергию за счет гликолиза. Записав суммарное уравнение гликолиза

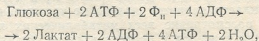


можно зафиксировать не только конечный целевой продукт и исходное вещество (источник этого продукта [1]), но и наборы затрачиваемых и выпускаемых веществ при данной технологии биопроизводства.

В набор затрачиваемых веществ, кроме исходного вещества биопроизводства — глюкозы, входят также АДФ — «аккумулятор» энергии, способный заряжаться от различных источников, и неорганическое вещество — Φ_{H} .

В набор выпускаемых веществ, кроме конечного целевого продукта АТФ, входят также лактат — результат неполного сгорания глюкозы, и неорганическое соединение — вода.

Суммарное уравнение рассматриваемой технологии можно записать и в другом виде:



где учитываются также затраты энергии фосфатной связи АТФ, необходимой для работы биопроизводства. С учетом того, что две молекулы АТФ, являясь источником энергии и участвуя в биопроизводстве, затем регенерируют, они могут быть опущены при записи суммарного уравнения биопроизводства, но при этом необходимо этот факт как-то зафиксировать. Для этого можно выделить в отдельную группу те вещества, участие которых в биопроизводстве не отражено в записи суммарного уравнения, так как они, превращаясь в процессе биопроизводства в другие вещества, затем регенерируют. Такие вещества будем в дальнейшем называть используемыми.

При данной технологии функционирования биопроизводства используемыми являются вышеупомянутые две молекулы АТФ (остальные молекулы АТФ являются конечным целевым продуктом).

Нетрудно видеть, что к используемым биомолекулам нельзя никак причислить промежуточные соединения (например, глюкозо-6-фосфат и т. п.), так как они, в отличие от используемых веществ, получаясь в процессе биопроизводства, тут же превращаются в другие вещества.

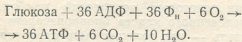
Для полноценного описания любой технологии биопроизводства, кроме фиксирования затрачиваемых, выпускаемых и используемых веществ, необходимо охарактеризовать также состав соответствующей рабочей группы.

В рассматриваемой технологии биопроизводства, рабочая группа состоит из одиннадцати ферментов, локализованных в растворимой части цитоплазмы, и кофермента НАД — переносчика электронов. Учитывая то, что на стадии триоз реакции катализируются двумя молеку-

лами ферментов с использованием двух молекул кофермента, здесь можно говорить также и о соответствующем количественном составе рабочей группы. Элементы рабочей группы, подобно используемым в биопроизводстве биомолекулам, после окончания собственной миссии регенерируют. Это дает возможность в дальнейшем также говорить об их использовании.

Технология 2. Окисление обеих молекул пирувата до ацетил-КоА с их последующим полным сгоранием в цикле трикарбоновых кислот (дыхание).

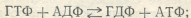
Суммарное уравнение биопроизводства в этом случае имеет следующий вид:



Данное суммарное уравнение, очевидно, не учитывает участия используемых в биопроизводстве биомолекул, а также соответствующей рабочей группы, т. е. полностью определяет технологию биопроизводства. При данной технологии функционирования биопроизводства примером используемых биомолекул могут служить:

— две молекулы оксалоацетата, которые используются для вступления ацетил-КоА в цикл трикарбоновых кислот, а затем регенерируют;

— две молекулы ГДФ, необходимые для получения ГТФ, которые также регенерируют в результате реакции



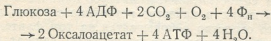
— диоксиацетонфосфат, который используется при работе челночного механизма, но затем регенерирует и т. п. (рис. 1).

Рабочая группа биопроизводства на этот раз состоит из цитоплазматических и митохондриальных ферментов, ферментов дыхательной цепи, ферментов соответствующего челночного механизма и коферментов. Здесь переносимые группы определяют необходимое количество молекул каждого кофермента, а молекулы соответствующего субстрата — необходимое количество молекул фермента.

Учет используемых биомолекул и рабочих групп дает возможность определить полные наборы затрачиваемых и выпускаемых веществ, которые уже исчерпывающе характеризуют данную конкретную технологию биопроизводства.

Заканчивая рассмотрение данной технологии биопроизводства, нетрудно заметить, что в данной и рассмотренной ранее технологии, рабочие группы существенно отличаются друг от друга, в то время как затраты энергии и здесь и там остаются одинаковыми.

Технология 3. Карбоксилирование двух молекул пирувата с образованием оксалоацетата. Осуществляется в случае, когда большая концентрация ацетил-КоА (топливо цикла трикарбоновых кислот), полученная в результате работы других биопроизводств или соответствующей технологии данного биопроизводства, нуждается в оксалоацетате для вступления в цикл трикарбоновых кислот. Суммарное уравнение биопроизводства в этом случае записывается следующим образом:



Закончив рассмотрение возможных технологий одного представителя класса биопроизводств, поставляющих энергию, можно заключить следующее. В данном биопроизводстве, кроме основного постав-



щика энергии — глюкозы, в качестве затрачиваемых веществ, необходимо иметь: «аккумуляторы» энергии, используемые биомолекулами, органические соединения и соответствующие рабочие группы. Здесь, кроме основного целевого продукта, биопроизводством могут выпускаться и другие биомолекулы, а также неорганические соединения.

В заключении необходимо подчеркнуть, что рассмотрены, естественно, не все возможные технологии данного биопроизводства. Возможно также наличие технологий, использующих иные анаэробические пути, например при получении малата из пирувата или оксалоацетата из фосфоенолпирувата. Однако не имеет смысла останавливаться на рассмотрении этих технологий функционирования биопроизводства. Подробные рассмотрения некоторых технологий наиболее характерных представителей определенного класса биопроизводства приведены здесь лишь с целью показать — как должны быть рассмотрены и интерпретированы другие варианты функционирования данного производства, а также всех подобных биопроизводств. Очевидно, биопроизводство может функционировать не только с конкретной технологией, но и с их комбинациями.

Перейдем теперь к рассмотрению других характерных представителей класса биопроизводств, поставляющих энергию. При этом отметим следующий немаловажный факт. Все биопроизводства рассматриваемого класса, независимо от конкретного вида исходного вещества, начиная с некоторого места, сливаются с вышерассмотренным биопроизводством, которое для краткости в дальнейшем будем называть **основным** (рис. 1). Исключения составляют биопроизводства, поставляющие энергию в форме восстанавливающей способности коферментов. Действительно, биопроизводства, поставляющие энергию из гексоз (фруктоза, манноза, галактоза), пентоз (рибоза, рибулоза), глицерина, глицерофосфата, сливаются с основным биопроизводством в первой его стадии, т. е. до получения пирувата (рис. 1). Что касается биопроизводств, поставляющих энергию за счет распада некоторых аминокислот (аланин, серин, глицин, треонин, цистеин), то они совпадают с основным биопроизводством, начиная с пирувата. То же самое можно сказать и о биопроизводстве энергии из лактата.

Биопроизводства, поставляющие энергию за счет окислительного расщепления жирных кислот с четным числом атомов углерода, включаются в основное биопроизводство на уровне ацетил-КоА. При этом, оксалоацетат, который необходим для вовлечения ацетил-КоА в цикл трикарбоновых кислот, не может быть получен в данном биопроизводстве. Конечными продуктами рассматриваемого биопроизводства являются не только целевой продукт — энергия фосфатной связи АТФ, но также и свободная ацетоуксусная кислота, эфир ДВ-оксималяной кислоты и некоторые неорганические соединения, причем соотношение этих конечных продуктов может быть различным в зависимости от различных технологий рассматриваемого биопроизводства.

Биопроизводство, поставляющее энергию из кетоновых тел, а также биопроизводства, представляющие собой катаболизм некоторых аминокислот, стыкуются с основным биопроизводством на уровне ацетил-КоА (рис. 1).

Представляет самостоятельный интерес наличие сходства биопроизводств, использующих в качестве источника энергии лактат или кетоновые тела. Это сходство основывается на том факте, что в указанных биопроизводствах исходными веществами служат продукты неполного сгорания биостроительных блоков, т. е. временная (вынужденная) форма хранения богатого энергией топлива цикла Кребса.

классу, так как конечным продуктом их распада служит оксалоацетат, ценность которого для биопроизводств данного класса уже обсуждалась выше.

В заключении необходимо привести пример биопроизводств рассматриваемого класса, поставляющих энергию в форме восстанавливающей способности коферментов. Это фосфоглюконатный путь, основная функция которого состоит в том, чтобы генерировать в цитоплазме восстановитель в форме НАДФН, который используется как источник энергии при синтезе жирных кислот [2].

КЛАСС БИОПРОИЗВОДСТВ БИОСТРОИТЕЛЬНЫХ БЛОКОВ

Рассматриваемый класс биопроизводств включает в себя как биопроизводства, поставляющие биостроительные блоки за счет расщепления макромолекул (например расщепление гликогена до глюкозы) и производных биомолекул, так и биопроизводства, обеспечивающие синтез одних биостроительных блоков из других [1]. Биопроизводства последней группы многочисленны и охватывают почти все центральные метаболические пути. Если биопроизводства, поставляющие энергию, включали катаболические пути распада сахаров, жирных кислот и аминокислот, то биопроизводства рассматриваемого класса объединяют катаболические и анаболические пути, т. е. как пути генерирования энергии, так и пути ее утилизации. При этом, средством их объединения служит цикл трикарбоновых кислот. На рис. 2 схематически показаны многие биопроизводства рассматриваемой группы. Исходным веществом биопроизводства здесь может служить любой из биостроительных блоков, а также лактат или кетоновые тела, если они являются началом какого-либо пути (рис. 2). Конечным же целевым продуктом биопроизводства может быть каждый из биостроительных блоков, получаемых на любом из альтернативных метаболических путей, начинающихся с данного исходного вещества. Например, глицерин может являться источником как глюкозы, так и некоторых аминокислот. Что же касается аминокислот триптофана, лизина, лейцина, то они, также как и жирные кислоты с четным числом атомов углерода, не могут быть источником глюкозы, так как путь получения глюкозы из вышеназванных источников требует оксалоацетата. Рис. 2 позволяет рассматривать биопроизводства превращения глицина в серин, глутамата в пролин и т. д. Коммутации между биостроительными блоками [1] осуществляются с помощью сети биопроизводств, изображенной на рис. 2. Подробное описание каждого биопроизводства, то есть фиксацию полных наборов затрачиваемых и выпускаемых веществ, можно осуществить аналогично тому, как это было проделано для основного биопроизводства.

КЛАСС БИОПРОИЗВОДСТВ, УДОВЛЕТВОРЯЮЩИХ АБСТРАКТНОГО ПОТРЕБИТЕЛЯ БИМОЛЕКУЛ

В качестве примера биопроизводств этого класса рассмотрим синтез холестерина. Существует ряд биопроизводств, целевым конечным продуктом которых является холестерин или стероиды. Исходными веществами соответствующих биопроизводств могут служить любые биостроительные блоки, в результате катаболизма которых может образоваться ацетил-КоА. Так, лейцин, например, является предшественником холестерина, так как в результате катаболизма лейцина образуется α -кетио- β -метилглутарил КоА, из которого синтезируется холестерин. Аминокислоты: фенилаланин, тирозин, триптофан, лизин, жирные кислоты и многие другие соединения также могут служить исходными

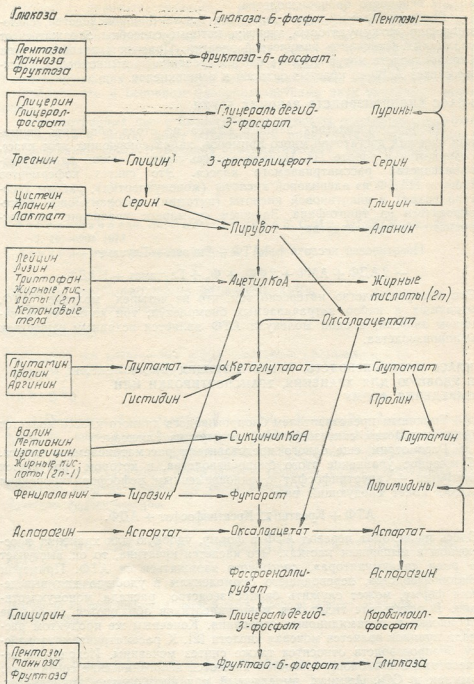


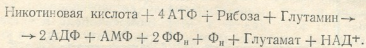
Рис. 2. Биологические производства биостроительных блоков

веществами при синтезе холестерина. Для каждого из них можно, записав суммарное уравнение, определить полные наборы затрачиваемых и выпускаемых веществ — аналогично тому, как это было сделано для основного биопроизводства.

Рассматриваемый класс содержит также биопроизводства, синтезирующие «аккумуляторы» энергии, которые способны заряжаться от различных источников химической энергии. Примером подобного типа биопроизводств могут служить синтез креатина из аминокислот, а также синтез АДФ из простых сахаров и аминокислот.

КЛАСС БИОПРОИЗВОДСТВ РАБОЧИХ ГРУПП

На биопроизводствах данного класса не стоит обострять внимания, так как достаточно много примеров, характеризующих этот класс, содержится в работе [1]. Приведем здесь пример лишь одного биопроизводства рассматриваемого класса. Это синтез коферментов НАД и НАДФ из адениловой кислоты (моонуклеотид), рибозы (простой сахар) и никотиновой кислоты (витамин), которая может синтезироваться из триптофана. Запишем суммарное уравнение рассмотренного биопроизводства:

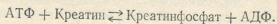


Это биопроизводство интересно тем, что из четырех молекул АТФ, входящих в набор затрачиваемых биомолекул, три являются источником энергии, а одна молекула АТФ является исходным веществом биопроизводства.

КЛАСС БИОПРОИЗВОДСТВ, ПРЕОБРАЗУЮЩИХ БИОМОЛЕКУЛЫ В УДОБНУЮ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ ИЛИ ВЫВЕДЕНИЯ ФОРМУ

Типичным представителем биопроизводств данного класса является биопроизводство, синтезирующее гликоген из глюкозы.

Рассмотрим еще одного представителя рассматриваемого класса. Суммарное уравнение этого биопроизводства, в котором получается фосфаген — креатинфосфат с одновременным рефосфорилированием АДФ, имеет следующий вид:



Здесь происходит перевод АТФ в форму, удобную для хранения в основном в мышечных клетках. Что касается креатина, то он выступает в роли «аккумулятора», способного заряжаться от АТФ. Примером биопроизводства, переводящего биомолекулы в удобную для выведения форму, может служить биопроизводство распада моонуклеотидов. В результате гидролиза моонуклеотидов образуются свободные пуриновые и пиримидиновые основания. Конечным же продуктом распада пуринов является мочевая кислота [2]. К рассматриваемому классу биопроизводств относится также синтез мочевины. Исходными веществами этого биопроизводства являются неорганические соединения: аммиак и CO_2 . Аммиак, выделяемый при катаболизме аминокислот, частично используется в биопроизводствах (например при синтезе пиримидинов), но оставшаяся часть его является достаточно токсичной [2]. Биопроизводство мочевины позволяет перевести NH_3 в растворимое в воде соединение, выводимое с мочой. Орнитин в этом биопроизводстве играет роль используемой биомолекулы. Что же касается ас-

партата, то он является лишь носителем NH_3 , а не исходным веществом биопроизводства, как это может показаться с первого взгляда. Причиной преимущественного рассмотрения в данной работе класса биопроизводств, поставляющих энергию, и класса биопроизводств биостроительных блоков является то, что ферментативное расщепление основных питательных веществ и синтез биостроительных блоков (предшественников почти всех важных соединений в клетке), играющих центральную роль в клеточном метаболизме, можно представить в основном биопроизводствами двух указанных классов.

Рассмотренные выше биологические аспекты идентификации биопроизводств в клетке дают возможность приступить в дальнейшем к установлению соответствующих математических характеристик биопроизводств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабунашвили М. К., Зильберфарб Б. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 3, 197—204 1977.
2. Ленинджер А. Биохимия, «Мир», М., 1974.

უჯრედის ბიოწარმოებათა იდენტიფიკაციის ბიოლოგიური ასპექტები

ბ. ზილბერფარბი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და
კლინიკური ქირურგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

განხილულია ბიოლოგიური წარმოების პროცესები ჰეტეროტროფულ უჯრედში. თითოეული ბიოლოგიური წარმოების დასახასიათებლად დიფერენციაციის სათანადო კრიტერიუმების მოშველიებით შემოტანილია საშუალო და გამოყენებული პროდუქტების ცნებები, კერძო მაგალითებზე განხილულია აგრეთვე ერთისა და იმავე ბიოლოგიური წარმოების სხვადასხვა შესაძლო ტექნოლოგიები.

BIOLOGICAL ASPECTS OF BIOPRODUCTION IDENTIFICATION IN CELLS

B. S. ZILBERFARB

Institute of Experimental and Clinical Surgery, Georgian Ministry of Health,
Tbilisi, USSR

Summary

The biological aspects of bioproduction in heterotrophic cells are considered. Every bioproduction is characterized by a complete set of issued and utilized substances. The different technologies of the same bioproduction are considered. Such concepts as intermediates and utilized substances are introduced. The question of full valued inclusion of metabolic pathways by a set of five correlated classes of bioproduction, introduced earlier, is also discussed.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ МЕСТНОГО КРОВОТОКА В
 ТЕМЕННОЙ КОРЕ МОЗГА У КРЫС ПРИ РЕШЕНИИ
 ЛАБИРИНТНОЙ ЗАДАЧИ**

Т. Э. Адамия, К. Д. Латария, Н. П. Митагвария

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 25.3.1977

Работа проведена на белых крысах с хронически вживленными электродами — в теменной коре головного мозга (для регистрации интенсивности местного кровотока — ММКТ) и в грудной области (для регистрации частоты сердцебиений). Измерение ММКТ проводили по методу электрохимической генерации молекулярного водорода. Показано, что при обучении прохождению многоходового лабиринта (мосткового типа) имеет место резкое повышение ММКТ в теменной коре, причем от пуска к пуску уровень изменений ММКТ уменьшается. При изменении конфигурации лабиринта ММКТ вновь резко возрастает. Указанные изменения ММКТ не коррелируют с изменениями частоты сердцебиений. Делается заключение, что изменения ММКТ являются вегетативным компонентом эмоционального напряжения при ориентировочной реакции животного.

К настоящему времени накопилось достаточно данных, показывающих, что усиление или ослабление функции нервной ткани сопровождается изменениями интенсивности кровотока в мозге. Например, при эпилептических судорогах в мозгу обнаружено увеличение потребления кислорода и усиление кровотока [13]. Обнаружено также, что при слабобумии, наркозе и различных типах комы, потребление кислорода и кровотока в мозгу понижены [15]. В указанных работах авторы проводили измерения усредненного потребления кислорода и кровотока в мозгу с помощью широко известной методики Кети [10]. В исследованиях Ингвара и Рисберга [9] показано, что у людей решение психологических задач вызывает значимые изменения кровотока в сером веществе мозга. Используя вживленные электроды для измерения кровотока и напряжения кислорода в мозгу у больных, Уолтер и Купер (см. обзор Е. Д. Хомской [7]) при условнорефлекторной деятельности обнаружили локальные эффекты на площади в несколько квадратных миллиметров. Анализ локальных изменений кровотока и напряжения кислорода был проведен также в условиях бодрствования и сна [5, 14]. Во время парадоксальной фазы сна было обнаружено относительное увеличение кровотока в коре и мостовой ретикулярной формации и его относительное ослабление в мезэнцефалической ретикулярной формации. В исследованиях Кармона [7] показано, что при запоминании и воспроизведении музыкальных мелодий повышается уровень кровотока и кислорода в правом полушарии, а при выполнении различных вербальных тестов — в левом. Кроме того, Купер и Олсен [7] обнаружили отчетливое возрастание локального кровотока в сенсомо-

торной области соответствующего полушария при сжатии руки кулак. При работе же двумя руками уровень кровотока увеличивается в обеих премоторных и префронтальных областях головного мозга.

Все приведенные результаты свидетельствуют, что при психической деятельности имеет место усиление метаболизма и активности мозга. Анализируя изменения кровотока и напряжения кислорода при этом, можно судить о характере активного состояния «работающего мозга». Исходя из этого, можно полагать, что интенсивность кровотока и напряжение кислорода будут являться информативными параметрами и при исследовании процесса обучения, хотя в доступной нам литературе таких исследований мы не обнаружили.

В настоящей работе нами предпринята попытка изучения динамики местного кровотока в теменной коре у крыс при обучении прохождению многоходового лабиринта.

МЕТОДИКА

Исследования проводили на белых крысах (самцы весом 200—250 г) с хронически вживленными электродами. Десять групп крыс (по шесть животных в каждой группе) методом проб и ошибок обучались находить оптимальную траекторию в лабиринте мосткового типа для попадания в ящик-гнездо (рис. 1). При этом, с помощью разработанного

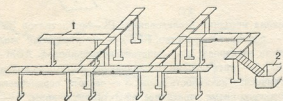


Рис. 1. Конструкция лабиринта: 1 — стартовая площадка, 2 — ящик-гнездо

нами несложного релейного устройства, осуществляли автоматическую регистрацию траектории движения крыс. Анализ записи траектории позволял судить о числе допущенных ошибок (отклонений от оптимального пути) и времени прохождения как всего лабиринта, так и его отдельных мостков.

Непрерывная, качественная регистрация интенсивности местного кровотока в теменной коре осуществлялась методом Любберса и Штоссека [12] в модификации Ю. Е. Москаленко с сотрудниками для хронических экспериментов [3, 4]. Метод основан на принципе электрохимической генерации молекулярного водорода непосредственно в ткань мозга и полярографической регистрации парциального давления водорода (P_{H_2}) в зоне генерации.

Имплантируемые электроды состояли из трех жил (рис. 2). Платиновая диаметром 200 мкм служила для электрохимической генерации водорода, а диаметром 100 мкм — использовалась для полярографической регистрации P_{H_2} (изменения последнего пропорциональны изменениям местного мозгового кровотока). Между этими платиновыми жилами помещали константановый провод (диаметром до 200 мкм), который создавал необходимое расстояние между платиновыми жилами и одновременно использовался для регистрации электрической активности коры мозга. Все жилы электрода изолировались по всей длине лаком и лишь кончики тщательно защищались на расстоянии 200—300 мкм со стороны рабочего торца электрода.

Электроды сравнения (платиновый — для генерирующей, серебрянный — для полярографической цепей) фиксировались в черепе на расстоянии до 1 см от основного электрода. Платиновую жилу (диаметром 100 мкм) можно было использовать и для полярографической регистрации напряжения кислорода (PO_2).

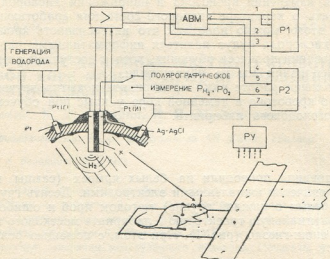


Рис. 2. Общая схема методики исследований: P1 — регистратор ЭУГ-16, P2 — регистратор НЗ20-5, РУ — релейное устройство, Pt (Г) — генерирующая жила электрода, Pt (И) — измерительная жила электрода, К — константовый провод, АВМ — аналоговая вычислительная машина, 1 — ритмические составляющие электрической активности коры, 2 — суммарная электрическая активность коры, 3 — частота сердцебиений, 4 — усредненная частота доминирующего ритма электрической активности коры, 5 — усредненная частота сердцебиений, 6 — интенсивность ММКТ (напряжение кислорода), 7 — траектория движения животных по лабиринту

Специальный электрод для регистрации частоты сердцебиений подшивали под кожу в грудной области, а его вывод подводили к пятиштырьковому разъему, закрепленному с помощью норакрила на черепе животного.

Таким образом, в ходе эксперимента осуществлялась одновременная регистрация следующего комплекса параметров: траектории движения крыс по лабиринту (с определением числа совершенных ошибок, времени прохождения всего лабиринта и времени нахождения на каждом его мостке), интенсивности местного мозгового кровотока (или же напряжения кислорода), электрической активности коры мозга и частоты сердцебиений. Последние два параметра анализировались (в реальном масштабе времени) с помощью аналоговой вычислительной машины (АВМ), которая выдавала отдельные частотные составляющие электрической активности, среднюю частоту ее доминирующего ритма и осуществляла непрерывное интегрирование частоты сердцебиений.

Регистраторами служили — пятиканальный быстродействующий регистратор типа НЗ20-5 и шестнадцатиканальный электроэнцефалограф типа ЭУГ-16.

При первом пуске по лабиринту (только в первый день обучения) животным помогали (подталкиванием) находить оптимальный путь, а в дальнейшем они обучались самостоятельно методом проб и ошибок. После достижения «автоматизма» в прохождении лабиринта ме-

пяти его конфигурацию и животные переучивались без какой-либо дополнительной помощи экспериментатора.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящей работе мы остановимся лишь на результатах, полученных по динамике изменений местного мозгового кровотока при решении лабиринтной задачи. Что же касается данных по динамике напряжения кислорода и электрической активности, то они будут рассмотрены нами отдельно.

70657

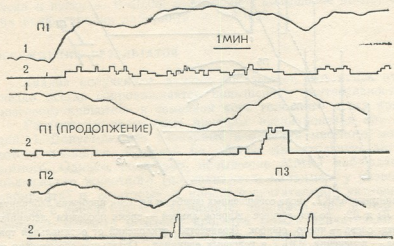


Рис. 3. Оригинал записи динамики ММКТ (1) и траектории движения (2) по лабиринту: П1, П2, П3 — первый, второй и третий пуск соответственно. Стрелками указаны моменты переноса животного на стартовую площадку лабиринта

На рис. 3 приведен оригинал записи изменений местного мозгового кровотока во время трех последовательных пусков одной крысы в лабиринте одной фиксированной конфигурации (второй день обучения). На верхней кривой рисунка изображена динамика ММКТ, а на нижней — траектория движения крысы (каждому мостку лабиринта соответствует определенный уровень отклонения пера регистратора).

Как видно из данного рисунка, одновременно с переносом животного из ящика-гнезда на стартовую площадку лабиринта (указано стрелкой) ММКТ начинает резко увеличиваться. При этом его динамика четко коррелирует с ориентировочными реакциями животного. Как только животное прекращает поиск пути и останавливается на каком-либо мостке, ММКТ начинает падать (независимо от общей двигательной активности, например во время интенсивного «умывания»). Одновременно с продолжением поиска пути ММКТ вновь начинает увеличиваться и лишь после возвращения животного в ящик-гнездо, медленно выходит на исходный уровень. При втором и третьем пусках резко уменьшается как время пробежки лабиринта, так и число совершенных ошибок (например, при третьем пуске на рис. 3 крыса двигалась без ошибок). Одновременно с этим уменьшается уровень повышения ММКТ и длительность его изменения.

На рис. 4 приводятся результаты многократного пуска крысы сперва по лабиринту одной конфигурации (Л1), а затем по лабиринту с измененной конфигурацией (Л2).

ქ. მარტოხიძის სახ. ს. ქ. სსრ 209
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა
აкадеმიის ბიბლიოთეკა

Параллельно с процессом обучения, четко прослеживается уменьшение уровня изменения ММКТ и времени его восстановления. Однако одновременно с изменением конфигурации лабиринта ММКТ вновь

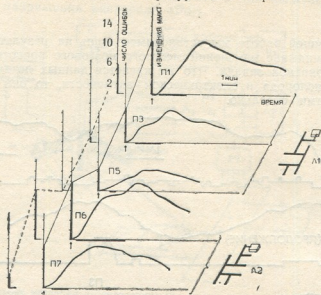


Рис. 4. Динамика ММКТ, числа совершенных ошибок и времени пробежки лабиринта конфигурации Л1 и Л2: по осям абсцисс жирной линией — время пробежки лабиринта; по осям ординат: слева — число ошибок (количество отклонений от оптимальной траектории), справа — изменения ММКТ в условных единицах. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2

резко возрастает в тесной корреляции с количеством совершенных ошибок и общим временем пробежки лабиринта.

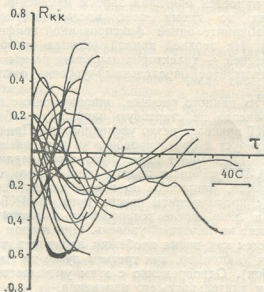


Рис. 5. Суперпозиция кросскорреляционных функций динамики ММКТ и частоты сердцебиений



Сопоставление динамики ММКТ и частоты сердечного пульса (рис. 5) ясно показывает отсутствие корреляции между ними (на рисунке приведена суперпозиция кросскорреляционных функций для указанных параметров, рассчитанных на ЭВМ).

Воспроизводимость описанных выше результатов по динамике ММКТ во всех случаях локализации электрода в теменной коре (проводился соответствующий морфологический контроль) была в пределах 95%.

Результаты непараметрической оценки достоверности динамики ММКТ, полученные в опытах на 60 крысах (200 пусков), следующие: 1. повышение ММКТ — $P < 0,05$; 2. повышение уровня увеличения от пуска к пуску — $P < 0,05$; 3. повторное повышение ММКТ при изменении конфигурации лабиринта — $P < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных данных показывает, что поиск пути в ящигнездо всегда сопровождается повышением интенсивности местного мозгового кровотока в теменной коре головного мозга крыс.

Рассмотрим возможные причины возникновения описанных реакций. 1. Допустим, что указанные изменения местного мозгового кровотока являются реакцией на общую двигательную активность животного. Однако, во-первых, повышение ММКТ наблюдается и у неподвижного животного (находящегося, например, у развилки мостков лабиринта) и, во-вторых, в процессе двигательной активности (не связанной с ориентацией в лабиринте, например при интенсивном «умывании») местный мозговой кровоток может значительно понижаться.

2. Можно предположить прямое влияние изменений минутного объема сердца на интенсивность местного мозгового кровотока (несмотря на хорошо известные данные по автономности системы регуляции мозгового кровообращения [2, 8, 11, 16]). Если в данных условиях эксперимента критерием оценки изменений минутного объема сердца принять изменения частоты сердцебиений, то, как показывают кросскорреляционные функции на рис. 5, такое влияние не имеет места.

3. Предположим, что реакции местного мозгового кровотока являются вегетативным компонентом ориентировочных реакций, точнее, развивающихся при этом эмоциональных напряжений.

Если на начальных этапах обучения прохождению лабиринта целостный поведенческий акт, согласно П. В. Симонову [6], рассматривать по схеме:

мотивация + эмоция + действие, то в дальнейшем, как известно, по мере выработки упроченных, автоматизированных условных рефлексов, данная схема приобретает вид:

мотивация + действие. В это время целенаправленный поведенческий акт совершается без эмоциональной окраски и без признаков ориентировочного рефлекса. Однако нарушение динамического стереотипа действий мгновенно вызывает ориентировочную реакцию [1], а значит и соответствующее эмоциональное напряжение.

Анализ полученных нами данных показывает, что если предположить, что реакция ММКТ является вегетативным компонентом эмоциональных реакций в процессе обучения (и переучивания), то его динамика полностью укладывается в описанные выше схемы. В самом деле, в начале, одновременно с возникновением ориентировочного рефлекса, возникает и резкое усиление ММКТ. В дальнейшем параллельно с угасанием ориентировочного рефлекса (в результате обучения) уменьшается и выраженность реакции ММКТ. При этом, как



только меняется конфигурация лабиринта (нарушение динамического стереотипа действий) в коре мозга вновь резко увеличивается ММКТ.

Кроме этого, как хорошо видно из рисунков 3 и 4, реакция ММКТ носит гиперкомпенсаторный характер и после пробежки лабиринта и возвращения животного в ящик-гнездо, восстановление исходного уровня местного мозгового кровотока длится достаточно долго (по сравнению с временем его возрастания). И этот факт лишний раз подтверждает, что реакцию ММКТ следует рассматривать как компонент эмоционального напряжения, так как при возникновении последнего, как известно, имеет место гиперкомпенсаторный характер вегетативных сдвигов [6]. Как считает П. В. Симонов, «...эта избыточность мобилизации энергетических ресурсов организма определяется самим гезезом эмоциональных состояний. В ситуации прагматической неопределенности выгоднее заготовить на всякий случай больше того, что может потребоваться на самом деле» [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев М. А. Журн. высшей нервн. деят., 17, 5, 786—797, 1967.
2. Маршак М. Е. Бюлл. экпер. биол. и мед., 1, 43—47, 1957.
3. Москаленко Ю. Е., Вайнштейн Г. Б., Демченко И. Т., Кисляков Ю. Я., Кривченко А. И. Внутрочерепная гемодинамика. Биологические аспекты, «Наука», Л., 1975.
4. Москаленко Ю. Е., Демченко И. Т., Буров С. В., Митрофанов В. Ф. Физиол. ж. СССР, 60, 4, 750—754, 1974.
5. Рейвич М., Исаакс Дж., Эвартс Э., Кети С. В сб.: Корреляция кровоснабжения с метаболизмом и функцией, «Мецниереба», Тбилиси, 1969, 36—47.
6. Симонов В. П. Высшая нервная деятельность человека. Мотивационно-эмоциональные аспекты, «Наука», М., 1975.
7. Хомская Е. Д. Вопросы психологии, 5, 178—179, 1974.
8. Folkow B. *Physiol. Rev.*, 40, Suppl. 4, 286, 1960.
9. Ingvar D. H., J. Risberg. *Exp. Brain Res.*, 3, 115—211, 1967.
10. Kety S. S. *Cerebral Circulation*, Washington, 1961.
11. Lassen N. *Physiol. Rev.*, 39, 183, 1959.
12. Lübbers D. W., Stosseck K. *Naturwissenschaften*, 57, 311, 1970.
13. Obrist W. D., Sokoloff L., Lassen N. A., Lane M. H., Butler R. N., Feinberg I. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 15, 610—619, 1963.
14. Shapiro C. M., Rosendorf C. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 39, 365—369, 1975.
15. Schmidt C. F. *The Cerebral Circulation in Health and Disease*, Thomas Springfield, 1950.
16. Sokoloff L., Kety S. S. *Physiol. Rev.*, 40, 38—49, 1960.

ვირთაგვეზის თავის ტვინის თხემის ქერაში ადგილობრივი სისხლის ნაკადის დინამიკის გამოკვლევა ლაბირინთული ამოცანის გადაწყვეტის დროს

თ. ალავია, კ. ლაბარია, ნ. მითაგვარია

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი ე მ ე

თეთრ ვირთაგვებზე, ქრონიკული ექსპერიმენტის პირობებში, მრავალსელვიან ლაბირინთში ოპტიმალური გზის დასწავლის პროცესში ადგილობრივი



სისხლის ნაკადი მკვეთრად ძლიერდება თავის ტვინის თხემის ქერქში. უნდა აღინიშნოს, რომ სისხლის ნაკადის ასეთი ცვლილება წარმოადგენს ცხოველის საორიენტაციო რეაქციის დროს წარმოქმნილი ემოციური დაძაბულობის ვეგეტატიურ კომპონენტს.

STUDY OF THE DYNAMICS OF MICROFLOW IN THE RAT PARIETAL CORTEX DURING MAZE LEARNING

T. E. ADAMIA, K. D. LATARIA, N. P. MITAGVARIA

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

Experiments were carried out in albino rats with the chronically implanted electrodes in the parietal cortex (for recording the microflow) and in the chest (to record the heart rate). Measurement of microflow was done by the method of electrochemical generation of molecular hydrogen. It has been demonstrated that during learning of complex maze task there is a sharp increase in microflow in the parietal cortex. What is more, from trial to trial the level of changes falls. When the configuration of the maze is modified microflow sharply reincreases.

The changes in microflow are not correlated with those in the heart rate. It is concluded that the change in microflow is a vegetative component of emotional tension during the orientation reactions.

УДК 611.815

ГИСТОЛОГИЯ

ЗРИТЕЛЬНЫЕ ВХОДЫ ПОДУШКИ ТАЛАМУСА КОШКИ

Н. К. Тотибадзе, М. Ш. Пирцхалайшвили, Н. И. Белоиваненко

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 12.10.1977

У десятидневных котят после односторонней энуклеации глаза методом терминальной дегенерации по Наута-Замбрицкому изучены зрительные входы в подушку таламуса. В раннем постоперационном периоде (7—9 дней) исследовано распространение перерожденных ретинальных волокон. В позднем постоперационном периоде (2 месяца) изучено распределение ортоградно перерожденных волокон трансинаптически атрофированных клеток наружного колоччатого тела. Установлено, что подушка таламуса получает ретинальные афференты малого, а генукулярные афференты в основном среднего диаметра.

Зрительный вход в подушку таламуса (ПТ), несмотря на заинтересованность физиологов и морфологов этим ядром, не уточнен окончательно. Ряд противоречий касается не только возможности существования прямых афферентов из зрительного тракта в ПТ [24, 22, 25, 3, 19, 7, 16, 27, 21, 8, 13, 4], но и поступления афферентов из наружного колоччатого тела (НКТ) [21, 4—6, 28]. В ряде работ допускается наличие прямых проекций в ПТ как от сетчатки глаза, так и от НКТ [2, 9].

Проведенное ранее исследование [2] из-за ограниченных методических возможностей не давало нам полного основания точно определить зрительные входы в ПТ и их удельный вес. Это было связано с тем, что при электролитическом повреждении НКТ, особенно его вентральной части, задевались и волокна зрительного тракта.

В настоящем исследовании, проведенном на материале, взятом в разные сроки после односторонней энуклеации у котят, были исключены неблагоприятные моменты, которые обычно сопутствуют исследованиям с электролитическим повреждением ЦНС (добавочное повреждение ЦНС ходом электрода, повреждение на месте коагуляции волокон, проходящих из других участков ЦНС).

В раннем постоперационном периоде (1—2 недели после энуклеации) определялись эфферентные связи сетчатки, путем прослеживания распространения ортоградно перерожденных волокон оптического тракта. В позднем постоперационном периоде (2 месяца после энуклеации), благодаря развитию трансинаптической атрофии клеток НКТ, прослеживалась дегенерация вторичного зрительного пути, т. е. волокон, берущих начало от атрофированных клеток НКТ, и этим самым изучались эфферентные связи последнего.

Известно, что транснейрональную атрофию в ЦНС удается вызвать лишь в НКТ после энуклеации глаза или перерезки зрительного тракта [12]. Известно также, что сроки транснейрональной атрофии клеток НКТ сильно колеблются и зависят как от вида животного, так и

от его возраста. Так, если у обезьян и человека быстро прогрессирующая транссинаптическая атрофия клеток НКТ наблюдается уже на 4-й день после перерезки оптического тракта [10, 14, 23], то у кроликов и кошек этот процесс развивается медленно (от 2 до 12 месяцев и более) [10—12]; у котят необратимые транснейрональные изменения клеток НКТ наступают раньше, чем у взрослых кошек [17] и отмечаются спустя 17 дней после энуклеации [15].

Умеренная скорость протекания транснейрональной атрофии клеток НКТ у котят дает возможность точно установить сроки начала и развития ортоградной дегенерации волокон данных клеток. По этой причине для опытов мы выбрали десятидневных котят. Не найдя в литературе соответствующих данных об использовании транссинаптической атрофии клеток НКТ, для изучения распространения ортоградно дегенерированных волокон вторичного оптического пути нам пришлось исследовать этот материал в разные сроки после энуклеации глаза (от одной недели до 2-х месяцев).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

У 12 десятидневных котят под эфирным наркозом в асептических условиях производили одностороннюю энуклеацию глаза. Через определенное время (см. табл. 1) котят умерщвляли углублением наркоза. Мозги перфузировались 10%-ным нейтральным формалином. После месячной (и более) фиксации в 10—12%-ном растворе нейтрального формалина, блоки мозгов заливались в 12%-ную желатину, резались на замораживающем микротоме. Каждый 5-й срез в 25 мк обрабатывался по методике Наута в модификации Замбрицкого [1] и параллельно окрашивался кризильвиолетом.

Таблица 1

Постоперационный период в днях	Количество случаев
7	2
9	2
14	2
30	1
50	1
58	1
60	3

Дополнительно исследован контрольный мозг двухмесячного неоперированного котенка, срезы которого окрашены кризильвиолетом для сравнения с соответствующими препаратами экспериментального материала.

Описание препаратов, окрашенных по Нислю, дается для сопоставления атрофических изменений клеток НКТ с началом и дальнейшим развитием ортоградной дегенерации их аксонов, импрегнированных по Наута-Замбрицкому. В импрегнированном материале распространение терминальной дегенерации вне ПТ (как волокон сетчатки, так и НКТ) изложено не полностью и только в связи с надобностью констатировать наличие той или иной стадии ортоградной дегенерации волокон.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В препаратах мозга котенка с **однедельным постоперационным периодом** на противоположной энуклеации стороне отмечается хорошо

выраженная дегенерация волокон зрительного тракта. В слое «В» НКТ видно много фрагментов и их цепочек, разбросанных хаотично. Слой «А₁» содержит лишь цепочки фрагментированных проходящих волокон, ориентированных вертикально к поверхности НКТ. В слое «А» отмечаются как разбросанные фрагменты, так и цепочки перерожденных волокон, ориентированных в разных направлениях. В соседних ядрах НКТ (заднее и заднелатеральное ядра) прослеживаются случайные единичные фрагменты тонких волокон, тогда как в местах их избытия (НКТ) они среднего или большого калибра. В дорсальной половине задних отделов ПТ также встречаются единичные зерна или фрагменты тонких волокон.

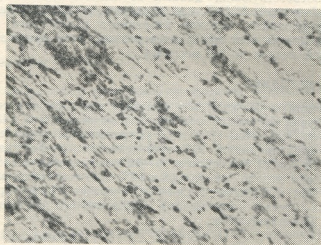


Рис. 1. Дегенерация волокон в конечной полоске зрительного оугра котенка с десятидневным постоперационным периодом после односторонней энуклеации. Импрегнации по Наута-Замбрицкому. Ув. 5×40

На ипсилатеральной поврежденной стороне зрительный тракт (ЗТ) и слой «А₁» НКТ содержат большое количество обрывков и цепочек перерожденных волокон. В латеральной половине слоя «В» фрагментированные волокна направлены вертикально к поверхности НКТ. Медиальный же участок данного слоя, также как интерламнарные центральные и медиальные ядра, содержит обильное количество хаотически разбросанных фрагментов волокон в основном среднего калибра. Слой «А» свободен от волокнистого перерождения. Дегенерация также не отмечается в соседних с НКТ ядрах таламуса, включая ПТ.

В препаратах мозга с девятидневным постоперационным периодом на контралатеральной энуклеации стороне к описанной картине соответствующих препаратов с недельным постоперационным периодом добавляется обильная дегенерация волокон среднего и большого диаметра в конечной полоске зрительного бугра (*stria terminalis*) на уровне А 4,5 (рис. 1). В медиальном направлении фрагментированные волокна расходятся в ручке переднего бугра и переходят в претектальную область. В данном месте фрагменты и зерна перерожденных волокон разбросаны хаотично. Относительно малое количество раздробленных тонких волокон и округленных мелких зерен прослеживается в ПТ (рис. 2 А, Б), а также в супрагенулярном и заднелатеральном яд-

рах. Фрагментированные волоконца содержатся и в пучках зрительной радиации, пересекающих ПТ.

В препаратах ипсилатеральной стороны данного периода, в центральной части задних участков ПТ (А Б), вблизи от НКТ, отмечается малое количество фрагментов перерожденных волокон средней толщины. При удалении от НКТ их количество уменьшается до единичных зерен или обрывков тонких волоконцев. Такая же картина наблюдается в более ростральных участках ПТ, а также в заднелатеральном ядре, за исключением участка, расположенного рядом с ручкой переднего бугра, где обзревается большое количество цепочек и зерен.

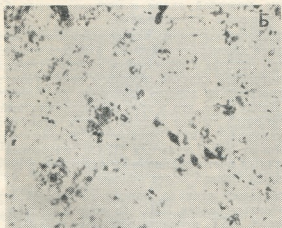
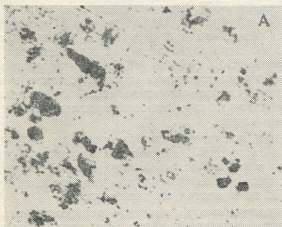


Рис. 2 А, Б. Фрагменты дегенерированных ретинальных волокон в ПТ контралатерального от энуклеации глаза полушария котенка с десятидневным постоперационным периодом. Импрегнация по Наута-Замбрицкому. Ув. 5×40

В материале с двухнедельным постоперационным периодом на контралатеральной стороне, в местах наличия фрагментированных волокон большого и среднего калибра (ЗТ, НКТ, конечная полоска, ручка переднего бугра и претектальная область), их меньше, чем в препаратах с девятидневным постоперационным периодом. Кроме того, фрагменты больше округлены и почти не встречаются более или менее уд-

линные обрывки волокон или их цепочки. В местах же, где в предыдущих случаях прослеживались тонкие перерожденные волокна (ПТ заднелатеральное ядро), их вовсе нет. Такая же картина и в препаратах ипсилатеральной стороны. В срезах этого периода, окрашенных по Нисслию, уже заметно определенное уменьшение размера как отдельных клеток, так и всего соответствующего слоя НКТ, по сравнению с интактным слоем противоположной стороны или с теми же слоями контрольного материала.

В препаратах с **месячным постоперационным периодом** основная масса дегенерированных волокон уже убрана. Малое количество их отмечается в хиазме, еще меньшее в ЗТ и лишь единичные зерна или фрагменты волокон в НКТ. В окрашенных крезилвиолетом срезах этого периода атрофические изменения клеток соответствующих слоев НКТ выражены резко, чем в препаратах с двухнедельным постоперационным периодом. Это проявляется как в уменьшении толщины соответствующих слоев НКТ («А» и «В» слои на контралатеральной и «А₁» слой — на ипсилатеральной сторонах), так и в изменении клеточных элементов (слабая окрашиваемость цитоплазмы, стертость границы между цито- и кариоплазмой, уменьшение ядрышка в виде слабоокрашенной точки).

С увеличением постоперационного срока до **полутора месяцев** в атрофированных слоях НКТ встречается больше клеток со стертыми границами цито- и кариоплазмы. Однако в этот срок аксональная дегенерация у этих клеток не отмечается, ибо нет дегенерированных волокон ни в НКТ, ни в местах его проекции.

Небольшое количество фрагментов перерожденных волокон видно лишь в хиазме зрительного нерва. Эта затянувшаяся уборка фрагментов волокон, видимо, обусловлена топографическим расположением хиазмы вне мозговой ткани и поэтому менее благоприятными условиями для процесса рассасывания.

В **пятидесятидвухдневном постоперационном материале** появляется ортоградная дегенерация волокон атрофированных клеток НКТ. Малое количество цепочек и фрагментов прослеживается в зрительной радиации, во внутренней капсуле, лучистом венце (*corona radiata*) и в самом НКТ. Относительно хорошо выражена дегенерация в ручке переднего бугра. Ввиду того, что в этот постоперационный период фрагментации подвергаются не все аксоны клеток атрофированных слоев НКТ (на что указывает малое количество фрагментированных волокон в перечисленных выше участках ЦНС), подробнее опишем материал с **двухмесячным постоперационным периодом**, в котором перерождение волокон представлено более обильно.

В препаратах этого периода, наряду с обильной дегенерацией волокон в определенных частях ЦНС (в коре и подкорке: зрительная, сенсомоторная кора, НКТ, переднее четверохолмие и т. д.), отмечается их отсутствие в зрительном тракте. Это обстоятельство лишний раз свидетельствует о полном освобождении мозговой ткани от перерожденных ретинальных волокон и о принадлежности фрагментированных волокон клеткам атрофированных слоев НКТ.

В ПТ контралатеральной стороны, на всем ее протяжении, находится большое количество хаотично разбросанных фрагментов волокон среднего и малого калибра (рис. 3). Однако в передних ее частях (А 11, 12) эти фрагменты прослеживаются больше в вентральной половине. На ипсилатеральной стороне ПТ содержится относительно меньшее количество фрагментов перерожденных волокон, из которых большинство ориентировано медиально и может относиться к волокнам, проходящим через ПТ.

Подытоживая данные, полученные в ранние сроки после односторонней энуклеации глаза у котят, можно заключить, что ортоградная дегенерация ретинальных волокон хорошо выражена в недельном постоперационном материале в ЗТ и в соответствующих слоях НКТ. Однако в этот срок в основном фрагментированы волокна большого и среднего калибра. Единичные раздробленные тонкие волокна, обнаруживаемые в задне-дорсальных участках противоположной подушки, можно считать за коллатерали ретиногенукулярных волокон.

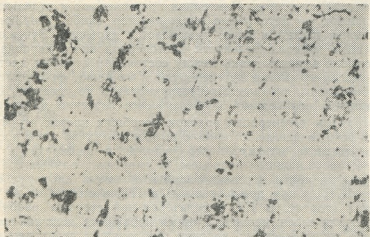


Рис. 3. Фрагменты дегенерированных волокон НКТ в ПТ контралатерального полушария котенка с двухмесячным постоперационным периодом. Импрегнация по Наута-Замбрицкому. Ув. 5 \times 40

В срезах с девятидневным постоперационным периодом к картине предыдущего материала добавляется обильная дегенерация волокон в конечной полоске и претектуме, а также менее выраженное перерождение волокон в супрагенулярном, заднелатеральном ядрах и на всем протяжении подушки зрительного бугра. Однако дегенерация в конечной полоске и претектуме отмечается в волокнах большого и среднего диаметра, тогда как в заднелатеральном, супрагенулярном ядрах и, особенно, в ПТ прослеживаются лишь зерна и фрагменты тонких волоконцев. Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что для фрагментации определенного вида не только тонких, но и толстых и среднего калибра волокон необходим более продолжительный, чем недельный срок, отрезок времени и что разное время начала и развития дегенерации волокон, видимо, зависит не столько от диаметра, сколько от определенного их вида (физико-химический состав). Дегенерация волокон в ПТ больше выражена на стороне противоположной энуклеации, что свидетельствует о преимущественно перекрестной проекции ретинальных волокон на подушку зрительного бугра.

В препаратах с двухнедельным постоперационным периодом отмечается картина поздней стадии дегенерации волокон. Неубранные фрагменты, в виде зерен или обломков малого размера, прослеживаются в соответствующих слоях НКТ, ЗТ, в конечной полоске. В этих местах уже нет более или менее удлиненных обрывков волокон. В участках же, где отмечалась фрагментация мелкокалиберных волокон, в том числе и в ПТ, они отсутствуют (из-за малых размеров фрагментов быстрее рассасываются). Таким образом, оптимальным сроком для выявления ретино-пульвинарных проекций у котят по результатам наших опытов является постоперационный период от 8 до 10 дней.

Если учесть, что у котят ортоградная дегенерация протекает быстрее, чем у взрослых кошек [18, 20, 26], то для выявления ретино-пульвинарных волокон в последнем случае, видимо, понадобится более 9—10 дней постоперационного периода.

В препаратах с постоперационным периодом от двух недель и более после энуклеации (окрашены по Нисслию) уже различается уменьшение как толщины соответствующего слоя НКТ («А» и «В» слоев на контралатеральной и слоя A_1 на ипсилатеральной сторонах), так и размеров их клеток. Изменения претерпевают и отдельные компоненты клеток — цитоплазма окрашивается слабо, стираются границы оболочек клетки и ядра, уменьшается ядрышко. Эти изменения с увеличением продолжительности постоперационного периода углубляются, однако выявить грань между состоянием атрофии клеток и их гибелью (когда их аксоны дегенерируют и начинают фрагментироваться) на препаратах, окрашенных крезилвиолетом не удастся. Для этой цели, возможно, необходимо цитохимическое изучение материала.

Ортоградная дегенерация волокон погибших клеток атрофированных слоев НКТ в нашем материале выявилась на 58 день после энуклеации и достигла максимального развития в препаратах с двухмесячным постоперационным периодом. В импрегнированных срезах этого периода фрагменты дегенерированных волокон, наряду с другими участками ЦНС, были прослежены и в ПТ, в основном, на контралатеральной стороне. В ПТ ипсилатеральной стороны разбросанных фрагментов или зерен меньше, а ориентированные цепочки оставляют впечатление перерожденных волокон, проходящих через нее в соседние таламические ядра.

Таким образом, исходя из данных нашего материала, ПТ получает прямые проекции в основном из контралатеральной ретины и из ипсилатерального НКТ (слои «А» и «В»). При этом, ретинальные волокна являются тонкими, тогда как волокна из наружного коленчатого тела — больше среднего калибра.

То, что в одной из предыдущих работ [2] после электролитического повреждения НКТ нами описано лишь малое количество фрагментов перерожденных волокон среднего и малого калибра (в основном в каудальных отделах ПТ) объясняется центральной локализацией повреждения, т. е. повреждением преимущественно слоя « A_1 », который, по данным настоящего исследования, слабо проецируется на ПТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Замбрицкий И. А. Бюлл. эксп. биол. мед., 14, 119—120, 1963.
2. Малолетнев В. И., Нарикашвили С. П., Тотибадзе Н. К. Физиол. ж. СССР, 58, 7, 1033—1039, 1972.
3. Школьник-Яррос Е. Г. Нейроны и межнейрональные связи зрительного анализатора, «Медицина», Л., 1965.
4. Altman J. J. Comp. Neurol., 119, 77—88, 1962.
5. Barris R. W., Ingram W. R., Ranson S. W. J. Comp. Neurol., 62, 117—153, 1935.
6. Bishop G. H., Clague M. H. J. Comp. Neurol., 103, 269—304, 1955.
7. Brouwer B., Zeeman W. P. Brain, 49, 1—35, 1926.
8. Campos-Ortega G., Gleeves P. J. Physiol. (Engl.) 191, 2, 93—95, 1967.
9. Chalupa Leo M., Hervey Anchel and Donald B. Lindsley. Exp. Neurol., 36, 449—462, 1972.
10. Clark W. E. Le Gros and Penman G. G. Proc. Roy. Soc., London, (ser. B), 114, 291—313, 1934.

11. Cook W. H., Walker J. H. and Barr M. L. J. Comp. Neurol., 94, 267—292 1951.
12. Cragg B. G. Brain Res., 34, 53—60. 1971.
13. Garey L. J. and Powell P. T. S. J. Anat. (Lond.), 102, 189—222, 1968.
14. Glee P. and Le Gros Clark W. E. J. Anat. (Lond.), 75, 295—309, 1941.
15. Guillery R. W. J. Comp. Neurol., 149, 423—438, 1973.
16. Hayhow W. R., Septon A. and Webb C. J. Comp. Neurol., 118, 295—307, 1962.
17. Kupfer C. and Palmer P. Exper. Neurol., 9, 400—409, 1964.
18. Laemle L., Benhamide C. and Purpura D. P. Brain Res., 41, 25—37, 1972.
19. Laties M. A., Sprague J. M. J. Comp. Neurol., 127, 35—70, 1966.
20. Leonard C. M. Brain Res., 53, 412—416, 1973.
21. Majorossy K., Rethely M., Szentagothai J. Hirnforsch J., 7, 415—432, 1965.
22. Marburg O. Arch. Ophth., 28, 61—78, 1942.
23. Mattheus M. R., Cowan W. M. and Powel T. P. S. J. Anat. (Lond.), 94, 145—169, 1960.
24. Minkowski M. Schweiz. Arch. Neur. Psychiat., 5—6, 201—251, 1920.
25. Polyak S. The Vertebrate Visual System. H. Kluver (Ed.). Univ. of Chicago Press, 1957.
26. Saavedra G. P., Mascitti J. P. and Soret I. L. P. Brain Res., 50, 265—274, 1973.
27. Singleton M. C. and Peele T. L. J. Comp. Neurol., 125, 303—314, 1965.
28. Wilson M. E., Cragg B. G. J. Anat. (Lond.), 101, 677—692, 1967.

კატის თალამუსის ბალიზის მხედველობითი აფერენტები

ნ. თოთიბაძე, მ. ფიცხალაიშვილი, ნ. ბალოვიანაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ათლიან კნუტებზე თვალის ცალმხრივი ენუკლეაციის შემდეგ ნაუტა-ზამბრეიციის ტერმინალური დეგენერაციის მეთოდით შესწავლილ იქნა თალამუსის ბალიზში შემავალი მხედველობითი აფერენტები.

ოპერაციის შემდეგ აღრეულ პერიოდში (7—9 დღე) შესწავლილ იქნა ბაღურის გადაგვარებული ბოჭკოების გავრცელება, ხოლო გვიან პერიოდში (2 თვე ოპერაციის შემდეგ) გარეთა დამუხლილი სხეულის ტრანსსინაფსურად ატროფირებული უჯრედების ორთოგრაფულად გადაგვარებული აქსონების გავრცელება.

გამოირკვა, რომ ბაღურიდან თალამუსის ბალიზში ადის წვრილი დიამეტრის, ხოლო გარეთა დამუხლილი სხეულიდან, ძირითადად, საშუალო დიამეტრის აფერენტები.

VISUAL INPUTS TO THE PULVINAR IN CATS

N. K. TOTIBADZE, M. Sh. PIRTSKHALAISHVILI, N. I. BELOIVANENKO

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

In 10-day old kittens following unilateral enucleation, the visual afferents to the pulvinar have been studied by the method of Nauta terminal degeneration as modified by Zambrzhicki.

In early postoperation period (7-9 days) distribution of degenerated fibres of the retina and in later postoperation period (2 months) of ortho- grade degenerated fibres of transsynaptically atrophied LG neurons was studied. It has been demonstrated that the pulvinar receives retinal afferents of small diameter, while the geniculate afferents are mainly of medium diameter.



УДК 576.352:595.727

ЦИТОЛОГИЯ

СИНТЕЗ РНК И СТРУКТУРА ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК В СПЕРМАТОЦИТАХ ПРОФАЗЫ I МЕИОЗА У САРАНЧОВЫХ

Г. И. Бахтадзе

Институт зоологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 4.2.1977

Морфология сперматоцитов профазы I мейоза изучена в процессе сперматогенеза у 8 видов саранчовых. Показано, что на стадии пахинема наблюдается морфологически ярко выраженные хромосомы типа ламповых щеток, боковые петли которых постепенно регрессируют и исчезают к метафазе I. Предполагается, что формирование структуры ламповых щеток начинается еще в лептотенных-зиготенных хромосомах и проявляется, таким образом, в течение всей профазы мейоза у саранчовых. Результаты включения H^3 -уридина *in vitro* в семенные фолликулы изученных видов саранчовых свидетельствуют о корреляции между интенсивностью синтеза РНК и дифференцировкой структуры хромосом типа ламповых щеток в сперматоцитах профазы I мейоза. Показано, что пик интенсивности синтеза РНК приходится на стадию с максимально дифференцированной структурой хромосом типа ламповых щеток (пахинема). Обсуждается вопрос о роли активности генома сперматоцитов в процессе сперматогенеза у саранчовых.

Значение синтеза РНК для клеточного деления общеизвестно. В оогенезе же благодаря этому процессу закладывается информационная программа яйца, которая реализуется в раннем развитии, и, по сложившемуся мнению, для успешного завершения процесса созревания ооцитов в большинстве случаев необходимо накопление продуктов, синтезируемых под контролем хромосом типа ламповых щеток [4]. Таким образом, высокую активность генома ооцита и наличие у различных групп животных хромосом типа ламповых щеток можно отнести к закономерностям развития процессов оогенеза.

Однако наличие хромосом типа ламповых щеток, как оказалось, характерно не только для хода дифференцировки клеток зародышевого пути у самки. Ряд авторов отмечает наличие данной структуры в хромосомах сперматоцитов профазы I мейоза у саранчовых [10, 11, 14, 15]. По мнению Хендерсона [11, 13] хромосомы саранчовых в любой стадии мейотической профазы I проявляют в большей или меньшей степени структуру ламповых щеток, которые в отличие от таковых ооцитов амфибий более длинные и тонкие, диффузные, что затрудняет их идентификацию. Исследуя автордиографически синтез РНК в сперматоцитах *Melanoplus differentialis*, Ваткинс [15] показал, что H^3 -уридин включается вокруг боковых петель хромосом типа ламповых щеток. По его же данным петли регрессируют в диплонеме и исчезают к метафазе I. Несколько позже Хендерсон [11] показал, что после завершения мейотического цикла РНК вновь синтезируется мо-

лодыми сперматидами, что указывает на начало дифференцировки. Однако по другим данным [9] транскрипционная активность сперматид практически не проявляется и их основная РНК синтезируется сперматоцитами. Вместе с тем, данные относительно синтеза РНК на разных стадиях профазы I мейоза в процессе сперматогенеза отсутствуют.

Таким образом, из вышесказанного видно, что как функциональная активность генома сперматоцитов, так и ее связь с морфологией мейотических хромосом изучены плохо. В связи с этим целью настоящей работы было автордиографическое изучение синтеза РНК в хромосомах сперматоцитов профазы I мейоза в процессе сперматогенеза у разных видов саранчовых.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили семенные фолликулы взрослых самцов 8 видов саранчовых, относящихся к двум подсемействам. Определение видов проводили по Савенко [8]. Семейство *Acridinae* было представлено следующими видами: *Schistocerca gregaria* Forsk. (лабораторная культура) — $2n=23$; *Docostaurus brevicollis* Ev. — $2n=23$; *Omocestus haemorrhoidalis haemorrhoidalis* Charp. — $2n=17$; *Chorthippus brunneus brunneus* Thunb. — $2n=17$; *Chorthippus apricarius major* Pyln. — $2n=17$; *Euchorthippus transcaucasicus* Tarb. — $2n=17$. Из подсемейства *Oedipodinae* изучены *Oedipoda coerulea* L. — $2n=23$ и *Pseudocoles oedipodioides* J. Vil. — $2n=23$. Для самцов саранчовых характерно нечетное число хромосом, так как Y-хромосома у них отсутствует (X0).

Изучение синтеза РНК в половых клетках названных видов саранчовых проводили с помощью включения *in vitro* H^3 -уридина (удельная активность 16,96 кюри/ммоль, концентрация 100 мкюри/мл). Изолированные семенники взрослых самцов инкубировали в растворе Хенкса, содержащем изотоп, в течение 30 минут, фиксировали в смеси спирт — ледяная уксусная кислота (3:1) и окрашивали 2%-ным ацетоорсеином. Давленные препараты готовили в 45%-ной уксусной кислоте и покровные стекла немедленно удаляли замораживанием в жидком азоте; остатки уксусной кислоты отмывали спиртом. Для автордиографии использовали жидкую эмульсию типа М (ГосНИИхимфотопроект), экспозиция которой составляла 21 сутки. Проводили статистическую обработку полученных результатов [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика морфологии хромосом сперматоцитов в профазе I мейоза у разных видов саранчовых. Исследование тотальных препаратов семенных фолликулов показало, что хромосомы сперматоцитов всех изученных видов саранчовых в профазе I мейоза в большей или меньшей степени (в зависимости от стадии) проявляют структуру типа ламповых щеток (рис. 1). Наиболее ярко эта структура проявляется на стадии пахнемы (рис. 1А), которая, как известно, является наиболее продолжительной стадией мейоза у саранчовых [5]. На стадиях лептономы и зигонемы хромосомы практически гомогенны, в связи с чем оценка их структуры затруднена и может быть определена лишь в результате электронно-микроскопического исследования. Вместе с тем, вполне логично предположить, что струк-

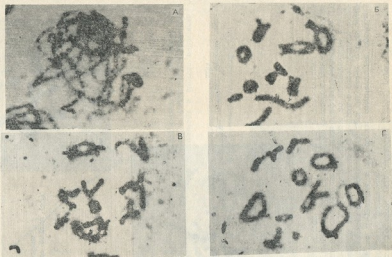


Рис. 1. Структура хромосом типа ламповых щеток в спейндах/щетах профазы I у саркопитов:
 А — *Osmotatus haemorrhoidalis haemorrhoidalis*, пакхтене; Б — *Pseudocides oedipodioides*, диплотене; В — *Oedipoda coarctata*, диакинез; Г — *Dactyloscopus brevicollis*, диакинез.
 Давленные препараты, окраска ацето-железом, $\times 1200$

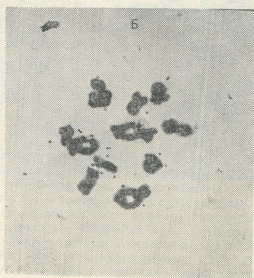
тура ламповых щеток начинает формироваться в хромосомах сперматоцитов на стадиях лептономы и зигонемы, так как в пахинеме достигается наивысшая степень дифференцировки этой структуры. На последующих стадиях профазы I мейоза (диплонема, диакинез) боковые петли хромосом типа ламповых щеток регрессируют (рис. 1Б-Г) и исчезают к метафазе I.

Включение H^3 -уридина в хромосомы сперматоцитов профазы I мейоза у нескольких видов саранчовых. При инкубации *in vitro* семенных фолликулов изученных видов саранчовых в среде Хенкса, содержащей H^3 -уридин, наблюдается различное по интенсивности включение изотопа в хромосомы сперматоцитов профазы I мейоза (табл. 1). При этом H^3 -уридин включается вокруг боковых петель хромосом типа ламповых щеток (рис. 2). На табл. 1 представлены результаты



А — *Doclostaurus brevicollis*, диплонема

Б — *Schistocerca gregaria* (30°),
диакинез



В — *Oedipoda coerulescens*, дип-
лонема

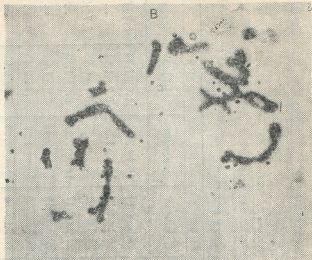


Рис. 2. Включение H^3 -уридина в хромосомы типа ламповых щеток в профазе I мейоза у саранчовых.

Давленные препараты, окраска ацетоорсеином, $\times 1200$

включения изотопа в хромосомы сперматоцитов у разных видов саранчовых в зависимости от стадии профазы I мейоза. Из этой таблицы видно, что наибольшая интенсивность включения H^3 -уридина наб-

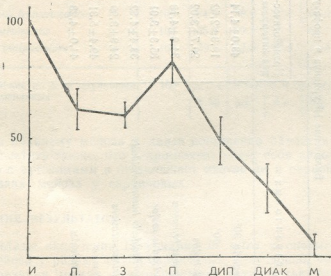


Рис. 3. Изменение интенсивности включения H^3 -уридина в сперматоциты саранчовых в зависимости от стадии профазы I мейоза: И — интерфаза, Л — лептонема, З — зигонема, П — пахинема, Дип — диплонема, Диак — диакнез, М — метафаза I.

По оси абсцисс — стадии профазы I мейоза. По оси ординат — среднее число зерен серебра над хромосомами сперматоцитов профазы I мейоза у саранчовых в % к премейотической интерфазе

Включение H^3 -урцидина в профазу I мейоза у самцов разных видов саранчовых

Таблица 1

Вид саранчовых	Среднее число зерен серебра на хромосомах						
	Премейотическая интерфаза	Лептомега	Зиготема	Пахицепа	Диакinesis	Диакinesis	Метафаза I
1. <i>Schistocerca gregaria</i> 30°	43,0±4,14	25,1±3,56	23,8±2,96	34,5±0,81	19,1±3,15	11,6±1,84	5,3±0,54
40°	19,3±2,52	12,3±2,12	12,6±2,08	16,1±0,51	12,0±1,35	8,7±1,91	—
2. <i>Oedipoda aegyptiaca</i>	29,7±3,02	23,3±3,11	20,9±3,99	28,8±4,01	20,2±2,56	13,7±0,68	3,7±0,54
3. <i>Chorthippus brunneus brunneus</i>	34,8±4,18	21,8±3,79	18,7±3,85	29,0±2,17	16,3±2,23	6,6±1,18	—
4. <i>Chorthippus apricarius major</i>	35,3±3,01	29,4±4,16	18,9±2,77	30,3±3,16	18,1±2,45	5,9±1,03	—
5. <i>Omocestus haemorrhoidalis haemorrhoidalis</i>	38,4±4,52	19,0±2,93	22,5±3,47	25,3±2,30	15,0±1,97	8,4±2,41	—
6. <i>Euchorthippus transcaspicus</i>	24,8±3,99	16,1±3,89	14,7±2,15	17,5±2,73	11,4±2,08	7,3±0,91	—
7. <i>Oedipoda aegyptiaca</i>	49,4±5,31	27,5±4,16	29,4±3,81	38,9±3,97	20,6±2,98	13,0±3,01	4,9±0,55
8. <i>Pseudocercus oedipoides</i>	44,0±4,28	30,5±4,16	27,4±3,01	39,8±3,93	17,5±2,05	10,6±2,61	3,8±0,52

людается на стадии пахины мейоза и постепенно падает к метафазе I. Включение метки в сперматоциты наблюдается также и в течение профазы II мейоза, но не обнаруживается в сперматидях. На рис. 3 показано изменение интенсивности включения H^3 -уридина в сперматоциты саранчовых в зависимости от стадии профазы I мейоза. На этом графике за 100% принята интенсивность включения изотопа в премейотическую интерфазу и относительно к этому вычислена средняя интенсивность включения изотопа в каждую отдельную стадию профазы I мейоза у всех изученных видов саранчовых (табл. 2). Из этого рисунка следует, что пик интенсивности включения H^3 -уридина при-

Таблица 2
Интенсивность включения H^3 -уридина в профазу I мейоза у нескольких видов саранчовых (в % к премейотической интерфазе)

Вид саранчовых	Включение H^3 -уридина в разные стадии профазы I мейоза (в % к премейотической интерфазе)							
	Премейотическая интерфаза	Лептонема	Зигонема	Пахионема	Диплонема	Диакinesis	Метафаза I	
1. <i>Schistocerca gregaria</i> 30°	100	58,4	55,3	80,2	44,4	27,0	12,3	
40°	100	63,7	65,2	83,4	62,2	45,0	—	
2. <i>Docostaurus brevicollis</i>	100	78,4	70,4	97,0	68,0	46,1	12,4	
3. <i>Chorthippus brunneus brunneus</i>	100	62,6	53,7	83,3	46,8	19,0	—	
4. <i>Chorthippus apricarius major</i>	100	57,8	53,5	85,8	51,3	16,7	—	
5. <i>Omocestus haemorrhoidalis haemorrhoidalis</i>	100	49,5	58,6	68,5	39,1	21,9	—	
6. <i>Euchorthippus transcaucasicus</i>	100	64,9	59,3	70,6	46,0	29,4	—	
7. <i>Oedipoda coerulescens</i>	100	55,7	59,5	78,7	41,7	26,3	9,9	
8. <i>Pseudocercus oedipodioides</i>	100	69,3	62,3	90,4	39,8	24,1	8,6	
Среднее значение по всем изученным видам саранчовых	100	62,2± 8,36	59,8± 5,55	82,0± 8,9	48,8± 10,0	28,4± 10,5	4,8± 3,8	

ходится на пахиному мейоза и далее постепенно падает к метафазе I. Следует отметить также, что X-хромосома ведет себя аллоциклично по сравнению с аутоосомами и не включает изотоп ни в первой, ни во второй профазе мейоза у саранчовых.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты включения H^3 -уридина *in vitro* в сперматоциты профазы I мейоза у разных видов саранчовых, безусловно, свидетельствуют о корреляции между функциональной активностью генома в этот период и структурой хромосом типа ламповых щеток. В частности, на стадии пахины, характеризующейся ярко выраженной структурой хромосом типа ламповых щеток и являющейся самой продолжительной стадией мейоза у саранчовых [5], интенсивность синтеза РНК достигает максимального уровня и далее, с параллельной регрессией структуры ламповых щеток, падает к метафазе I. В связи с этим интересно отметить, что по данным Ляпуновой [7] в ходе всей профазы I мейоза в процессе сперматогенеза у сверчка идет синтез белка, кото-

рый имеет два периода наивысшей активности, одна из которых приходится на лептоному-зигонему, а второй на среднюю пахинеми.

Сперматиды, в отличие от данных Хендерсона [11] и согласно данным Гулд-Сомера и Холланда [9], не синтезируют РНК. Однако предположение последних относительно того, что активность генома сперматоцитов в течение ранней стадии начала деления созревания обеспечивает протекание процессов сперматогенеза, с нашей точки зрения представляется несостоятельным. Об этом свидетельствуют данные относительно изучения функциональной роли полиплоидных клеток стенки семенных фолликулов, которые четко свидетельствуют, что именно эти клетки участвуют в процессах сперматогенеза и являются носителями трофической функции по аналогии с питающими клетками яичников насекомых с мероистическим типом развития [1, 2]. По-видимому, роль активности генома сперматоцитов скорее заключается в обеспечении нормального протекания собственно процессов созревания, когда формируются сложные структуры синаптонемального комплекса (зигонема-пахинема) и кроссинговера, и образования молодых сперматид. Косвенно в пользу подобного предположения может свидетельствовать факт существенного падения активности генома сперматоцитов при повышении температуры до 40° у *Schistocerca gregaria* (табл. 1), так как по данным Хендерсона [12] при этом стимулируется частота хиазм, что можно объяснить недостатком синтеза основного белка — гистона. В норме синтез основного белка интенсивно протекает в лептомене-зигонеме и пахинеме [7] и по мнению некоторых авторов [3, 7] биологическое значение подобной задержки этого процесса в профазе I мейоза заключается в том, что частично оголенная ДНК, завершающаяся, в основном, свой синтез в премеиотической интерфазе, легче осуществляет конъюгацию гомологичных хромосом. Если это так, то падение активности генома сперматоцитов при повышении температуры до 40° должно стимулировать частоту хиазм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахтадзе Г. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 1, 225—231, 1975.
2. Бахтадзе Г. И. Авторадиографическое изучение редупликации ДНК и транскрипция при дифференциации клеток семенных фолликулов в онтогенезе *Schistocerca gregaria*, Автореф. канд. дисс., ТГУ, Тбилиси, 1975.
3. Богданов Ю. Ф., Ляпунова Н. А., Шерудило А. И., Антропова Е. Н. Цитология, 9, 8, 986—990, 1967.
4. Дэвидсон Д. Действие генов в раннем развитии, «Мир», М., 1972.
5. Кикнадзе И. И., Бахтадзе Г. И., Истомина А. Г. Цитология, 17, 5, 509—517, 1975.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия, «Высшая школа», М., 1973.
7. Ляпунова Н. А. Количественное цитохимическое исследование гистонов в сперматогенезе сверчка, Автореф. канд. дисс. ЛГУ, Л., 1973.
8. Савенко Р. Ф. Фауна саранчовых Грузии, «Мециереба», Тбилиси, 1966.
9. Gould-Somero M., Holland L. Roux'Archiv, 174, 2, 133—148, 1974.
10. Henderson S. A. Nature, 200, 1235—1237, 1963.
11. Henderson S. A. Chromosoma, 15, 345—366, 1964.
12. Henderson S. A. Nature, 211, 1043—1047, 1966.
13. Henderson S. A. Ann. Rev. Genet., 4, 292—324, 1970.
14. Henderson S. A. Chromosoma, 34, 28—40, 1971.
15. Watkins M. S. Exp. Cell Res., 36, 15—18, 1964.

რნმ-ის სინთეზი და ლამპრის ჯაბრისის ტიპის ქრომოსომების
სტრუქტურა კალიების მეიოზის 1-პროფაზის
სპერმატოციტებში

ბ. ბახტაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის
ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

კალიების 8 სახეობის სპერმატოგენეზის პროცესში შესწავლილია მეიო-
ზის 1-პროფაზის სპერმატოციტების მორფოლოგია. ნაჩვენებია, რომ პაქი-
ნემის სტადიაში ქრომოსომებს ახასიათებს მკვეთრად გამოხატული ლამპის
ჯაბრისის ტიპის სტრუქტურა, რომელიც შემდგომ სტადიებში რეგრესიას
განიცდის და იკარგება მეიოზის 1-მეტაფაზაში. *In vitro* H³-ურიდინის შე-
ყვანით ჩატარებულმა გამოკვლევებმა დაგვანახეს, რომ არსებობს კორელაცია
რნმ-ის სინთეზის ინტენსივობასა და ლამპის ჯაბრისის ტიპის ქრომოსომათა
დიფერენცირებას შორის. განხილულია აგრეთვე საკითხი თუ კალიისებრ
სპერმატოგენეზის პროცესებში რა როლს თამაშობს სპერმატოციტების გე-
ნომის აქტივობა.

RNA SYNTHESIS AND LAMPBRUSH CHROMOSOMES OF
PROPHASE I OF MEIOSIS IN THE GRASSHOPPER SPERMATOCYTES

G. I. BAKHTADZE

Institute of Zoology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

The spermatocyte morphology of meiotic prophase I was studied in
spermatogenesis of 8 grasshopper species. The lampbrush chromosomes were
shown to have a distinctly expressed morphology in pachytene, their lateral
loop regressing and disappearing until metaphase I. The formation of the
lampbrush chromosomes is supposed to start in the leptotene-zygotene
chromosomes and thus it can be observed throughout meiotic prophase I of
grasshoppers. The results of H³-uridine administration *in vitro* into testicular
follicles of grasshoppers testify to the correlation of the RNA synthesis and
the lampbrush chromosome differentiation in spermatocytes of meiotic pro-
phase I. The highest intensity of the RNA synthesis is observed at the stage
with a maximal differentiation of lampbrush chromosomes (the pachytene
stage). The role of the activity of the spermatocyte genome during sperma-
togenesis of grasshoppers is discussed.

УДК 576.3

ЦИТОЛОГИЯ

КОЛЬЦЕВИДНЫЕ ВНУТРИЯДЕРНЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ 8-ДНЕВНЫХ КУРИНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ И ИХ СРАВНЕНИЕ С ДРУГИМИ ТИПАМИ ЯДЕРНЫХ ТЕЛЕЦ

Ш. Р. Джинджолия, П. В. Челидзе

Тбилисский государственный университет, кафедра цитологии, гистологии и эмбриологии;

Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Натишвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 17.3.1977

Приводятся результаты исследований тонкой структуры кольцевидных ядерных телец в клетках печени, почки и эпителия хрусталика 8-дневных куриных зародышей. Эти структуры имеют очень плотную гранулярную периферию и фибриллярную сердцевину. На основе морфологического сходства гранул, входящих в состав ядрышка и ядерных телец, предполагается, что описываемые включения имеют ядрышковое происхождение и в периферической части содержат РНП. При сопоставлении структуры кольцевидных включений с известными в литературе ядерными тельцами обнаружены некоторые различия. Высказывается мнение, что данные структуры представляют собой еще один тип внутриядерных телец, имеющих ядрышковое происхождение.

В настоящее время описан целый ряд внутриядерных включений в клетках различных тканей [3, 4, 8, 10, 11]. Как правило, появление ядерных телец связывают с повышением ядерно-цитоплазматических взаимодействий [6]. Было описано также появление ядерных телец в селезенке мышей при злокачественной трансформации под влиянием вирусов лейкоза Раушера [1]. Таким образом, ядерные тельца могут являться своеобразным морфологическим показателем самых различных процессов как при повышении физиологической нагрузки, так и при нарушении внутриклеточных процессов. Различают фибриллярные, гранулярные, глобулярные, тубулярные, ламеллярные ядерные включения, а также так называемые клубочковые тельца. В настоящей работе приводятся результаты изучения ядерных включений в печени, почке и в эпителии хрусталика 8-дневных куриных зародышей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

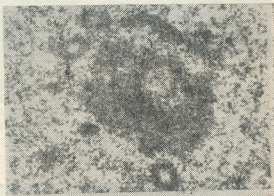
Печень и почка 8-дневных куриных зародышей измельчалась и фиксировалась по ранее описанной методике в 2,5%-ном глутаровом альдегиде и 1% OsO₄, приготовленных на 0,1 М фосфатном буфере [2]. Хрусталик, извлеченный из глаза, фиксировался в течение 4 ч в 2,5%-ном глутаровом альдегиде и постфиксировался в 1% четырехокиси озония в течение 3 ч. Обезвоженные кусочки ткани заключались в эпон 812. В случае хрусталика пользовались плоской заливкой. При этом эпителий хрусталика был обращен ко дну шайбы, в которой производилось полимеризация. Из залитого в эпон хрусталика бритвой

вырезались участки так, чтобы в плоскость среза попадали эпителий и волокна. Из них в дальнейшем готовили ультратонкие срезы. Материал нарезался с помощью ультратома ЛКВ III, контрастировался 5%-ным водным раствором уранилцетата в течение 60 мин и цитратом свинца по Рейнольдсу. Просматривали срезы в электронном микроскопе Tesla BS-500 в отделе цитологии Института экспериментальной морфологии АН ГССР.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 показаны кольцевидные ядерные включения в печени 8-дневного куриного зародыша. Эти включения отделены от ядрышка

Рис. 1. Ядрышко гепатоцита 8-дневного куриного зародыша с расположенными вблизи него кольцевидными структурами. $\times 44000$



узким слоем нуклеоплазмы. Они имеют вид колец. Периферия кольцевидных включений имеет высокую электронную плотность, в центральной же части располагается менее плотная сердцевина. При больших увеличениях (рис. 2а, б) видно, что периферическая часть состоит

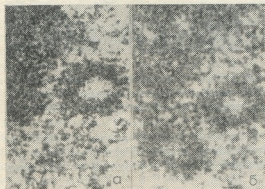


Рис. 2а, б. Кольцевидные включения при больших увеличениях. Видна плотная гранулярная периферия и светлая средняя зона, содержащая нитчатые элементы. Размеры частиц такие же как и у ядрышковых гранул. $\times 90000$

из частиц, величина которых почти такая же как и у ядрышковых гранул, однако плотность упаковки последних не такая высокая как в кольцевидном тельце. Центральная светлая зона имеет фибриллярную текстуру.

На рис. 3а, б, показаны подобные включения в эпителии хрусталика и почки. При этом их морфология такая же как и в ядрах печени. Диаметр светлой сердцевинки непостоянен. Часто можно видеть

как кольцевидные включения располагаются по периферии ядрышка и лежат среди гранул этого органоида (рис. 4а). На рис. 4б показан случай, когда кольцевидное включение контактирует с ядерной обо-

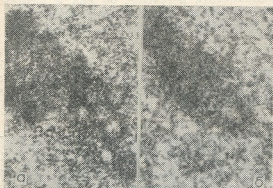


Рис. 3. Кольцевидные включения в эпителии хрусталика (а; $\times 44000$) и в клетках почечного эпителия (б; $\times 66000$)

лочкой и лежит на значительном расстоянии от ядрышка. Если стенка кольцевидных включений срезается тангенциально, то в этом случае они имеют вид очень плотных гранулярных телец без светлой фибриллярной сердцевинки (рис. 5а). Нитчатые элементы светлой зоны напоминают тяжи ДНП (рис. 2а, б).

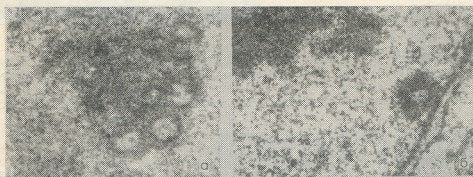


рис. 4а — Ядрышко гепатоцита 8-дневного куриного зародыша: кольцевидные структуры расположены на периферии и как бы лежат среди частиц гранулярной части ($\times 44000$); б — контакт кольцевидного тельца с ядерной оболочкой. $\times 60000$

На рис. 5б показан фрагмент ядра печени 11-дневного куриного зародыша. Стрелкой указано клубочковое тельце. Упаковка структурных элементов в этом типе включений иная и не похожа на таковую, показанную на рис. 5а.

ОБСУЖДЕНИЕ

Принято считать, что все типы ядрышковых включений имеют ГНП природу [5, 7, 8, 11, 12]. Исходя из нашего материала, кольцевидные ядерные тельца также должны содержать РНП. Наличие частиц, сходных по размерам с гранулами в теле ядрышка, говорит в пользу этого предположения. Вероятнее всего данные образования имеют ядрышковое происхождение. Чаще всего их можно встретить вблизи

ядрышка, а также на периферии этого органоида. Создается впечатление, что кольцевидные ядерные включения отшнуровываются от тела ядрышка, оказываясь в нуклеоплазме.

О значении этих структур на данном этапе трудно что-либо сказать. Непонятен также факт контакта кольцевидных телец с оболочкой ядра. Однако присутствие их в быстро делящихся клетках наводит на мысль с том, что кольцевидные включения каким-то образом могут

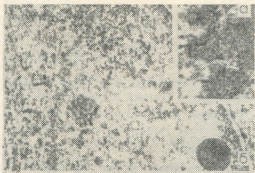


Рис. 5. а — Ядерные тельца при тангенциальном сечении ($\times 100000$); б — клубочковое тельце в гепатоците куриного зародыша. $\times 66000$

отражать интенсивность внутриядерных процессов. Возможно, что они действительно являются показателями повышенного ядерно-цитоплазматического обмена. В объемном изображении эти структуры должны представлять собой пузырьки с гранулярными стенками и фибриллярной внутренней частью. О природе нитчатых элементов сердцевинки также трудно что-либо сказать, хотя они и напоминают тяжи ДНП. Смар [10] предполагает, что в некоторых типах ядерных телец содержится ДНК.

В литературе широко обсуждается вопрос о так называемых гранулярных и клубочковых ядерных тельцах [3, 6, 8, 11, 12]. На рис. 5а показан случай, когда описываемые нами структуры можно было бы принять за известные в литературе гранулярные или клубочковые тельца. Однако при сравнении описываемых нами структур с клубочковыми тельцами из печени 11-дневного куриного зародыша (рис. 5б) легко можно заметить, что характер укладки и размеры частиц сравниваемых объектов отличаются друг от друга. Сметаной [11, 12] также были описаны и гранулярные ядерные тельца. Размеры частиц в этом типе телец приблизительно такие же как и у ядрышковых гранул и описываемых нами кольцевых включений. Однако плотность упаковки элементов гранулярной части ядрышка более высокая. Как показал Сметана, гранулярные тельца также чаще всего встречаются на периферии ядрышка, из которого они скорее всего образуются. При этом, данный тип включений имеет по периферии фибриллярное кольцо, которое отделяет их от нуклеоплазмы. Обнаруженные нами кольцевидные структуры непохожи и на ядерные тельца, описанные Бутенко и Науменко [1]. Во-первых, последние имеют более плотную среднюю часть, во-вторых, также как и гранулярные тельца, описанные Сметаной, окружены фибриллярным кольцом.

Очевидно, мы имеем дело с еще одним типом внутриядерных телец, происходящих, по всей вероятности, из ядрышка. Следует отметить тесную связь хроматиновых фибрилл с кольцевидными ядерными включениями, которые со всех сторон подходят к описываемым структурам (рис. 2а, 5). Рехер [9] на основе цитохимических экспериментов предполагает наличие ДНК в некоторых типах ядерных телец. Не ис-



ключено, что в нашем случае нитчатые элементы центральной светлой зоны кольцевидных ядерных телец имеют ДНП природу. В настоящее время предпринимаются попытки цитохимического изучения природы этих структур с помощью обработки нуклеазами и ЭДТА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко З. А., Науменко О. И. Тезисы докладов X Всесоюзной конференции по электронной микроскопии, 2, 141—142, Ташкент, 1976.
2. Челидзе П. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 5, 417—424, 1975.
3. Bouteile M., Kalifat S. R., Delarue J. J. Ultrastruct. Res., 19, 474—486, 1967.
4. Dupui-Coin A. M., Kalifat S. R. VII Congr. Intern. Micr. Electr. Grenoble. Soc. Franc. Micr. Electr., Paris, 259—260, 1970.
5. Dupui-Coin A. M., Lazar P., Kalifat S. R., Bouteile M. J. Ultrastruct. Res., 27, 244—249, 1969.
6. Erlandson R. A., de Harven E. J. Cell Sci., 8, 353—397, 1971.
7. Fakan S. J. Ultrastruct. Res., 34, 568—596, 1971.
8. Monneron A., Bernhard W. J. Ultrastruct. Res., 27, 266—268, 1969.
9. Recher L., Parry N., Witescarver J., Briggs L. J. Ultrastruct. Res., 38, 398—410, 1972.
10. Simar L. J. Z. Zellforsch., 99, 235—251, 1969.
11. Smetana K., Gyorkey F., Gyorkey P., Busch H. Exp. Cell Res., 64, 133—139, 1971.
12. Smetana K. Biogenesis of Cell Organelles, Edited by Dvořak M., 155—179, Brno, 1974.

ბირთვშიდა რგოლისაგური ჩანართები ქათმის 8-დღიანი ემბრიონის სხვადასხვა ქსოვილში და მათი უმადარება ბირთვის სხვა ტიპის სხეულსაგებთან

შ. ჯინჯოლია, პ. ბილიაშვილი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ციტოლოგიის, ჰისტოლოგიის და ემბრიოლოგიის კათედრა;

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ა. ნათიშვილის სახელობის ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

მოყვანილია ქათმის 8-დღიანი ემბრიონის ღვიძლისა, თირკმლის ქსოვილისა და ბროლის ეპითელის უჯრედებში ბირთვის შიგნითა რგოლისებური სხეულსაგებების ულტრასტრუქტურული მონაცემები. ამ სტრუქტურებს აქვთ ძალიან მკვერივი გრანულარული პერიფერია და ფიბრილარული შიგთავსი. ბირთვსაგებებისა და ბირთვის გრანულების მორფოლოგიური მსგავსების საფუძველზე ნაგარაუდევია, რომ ეს ჩანართები ბირთვსაგებების წარმოშობისანი არიან და რომ მათი პერიფერიული ნაწილი შეიცავს რიბონუკლეოპროტეიდებს. თუ რგოლისებურ ჩანართებს შევადარებთ ლიტერატურაში ცნობილ ბირთვის სხეულსაგებს, დაინახავთ ზოგიერთ განსხვავებას. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ეს სტრუქტურები ბირთვშიდა სხეულსაგების კიდევ ერთ ტიპს წარმოადგენენ და ბირთვსაგებების წარმოშობისანი არიან.

THE RING-SHAPED INTRANUCLEAR INCLUSIONS IN DIFFERENT TISSUES OF 8-DAY OLD CHICK EMBRYO AND THEIR COMPARISON WITH OTHER TYPES OF NUCLEAR BODIES

Sh. R. JINJOLIA, P. V. CHELIDZE

State University, Chair of Cytology, Histology and Embryology, Tbilisi,
A. N. Natishvili Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences,
Tbilisi, USSR

Summary

The annular nuclear bodies in the liver, kidney and lens epithelium of 8-day old chick embryo were studied. They have granular cortex which is more dense than the nucleolar granular part and fibrillar core. On the basis of morphological similarity of particles of nucleolar granular part and annular bodies it is suggested that these structures are of nucleolar origin and contain RNP in the peripheral part. By comparison of structure of these bodies with other intranuclear inclusions, some differences are found. It is suggested that these structures are new type of intranuclear bodies of nucleolar origin.

УДК 611—018.58:611—018.46:576.345

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ

МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЙКОПОЭЗА У МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТАФИЛОКОККОВОГО ТОКСИНА

И. Д. Чхолария, Ц. И. Абакелия, Т. Ш. Букия, Н. Г. Ларионова

*Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Натишвили АН ГССР,
Тбилиси*

Институт экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 15.2.1977

Изучались морфофункциональные изменения лейкоцитов периферической крови и костного мозга у мышей линии СВА в различные сроки после введения сублетальной дозы стафилококкового токсина.

Установлено, что в начальном периоде воздействия стафилококкового токсина наблюдается мобилизация защитных сил организма, выражающаяся в повышении общего числа лейкоцитов, нейтрофилии со сдвигом нейтрофильной формулы влево, в увеличении фагоцитарной способности нейтрофилов, в повышении в них содержания гликогена. В более поздние сроки наблюдения стафилококковый токсин оказывает угнетающее влияние на морфофункциональные свойства лейкоцитов, что проявляется в уменьшении числа лейкоцитов до лейкопенических цифр, резком снижении числа лимфоцитов, в понижении фагоцитарной активности нейтрофилов, в нарушении внутриклеточного метаболизма (скопление грубых зерен гликогена в нейтрофилах, резкое снижение в них активности пероксидазы).

Увеличение лейкобластических и в основном гранулоцитарных элементов костного мозга, выявленное увеличением костномозговых индексов, было относительным. В действительности, учитывая уменьшение общего количества миелокарицитов, наблюдалось угнетение лейкобластического роста костного мозга. Все эти данные указывают на значительное понижение реактивности организма животного в этот период.

В возникновении, течении и исходе патологического процесса решающее значение имеет иммунобиологическое состояние организма. Защитный потенциал организма, наряду с гуморальными факторами иммунитета, определяется участием клеточных факторов и в первую очередь лейкоцитов.

Способность нейтрофилов к фагоцитозу является одним из критериев естественной сопротивляемости организма, что позволяет использовать ее для оценки общей иммунологической реактивности организма [6]. Поэтому изучение фагоцитарной активности лейкоцитов с целью оценки их функционального состояния представляет значительный интерес в условиях стафилококковой интоксикации.

Согласно литературным данным за последние два десятилетия функциональную способность лейкоцитов, наряду с фагоцитарной активностью, определяет их внутриклеточный метаболизм [9, 14, 8]. Не подлежит сомнению вопрос о том, что фагоцитарная активность в зна-



чительной степени зависит от углеводного обмена фагоцитов [10, 13, 12, 11, 4]. В клеточном метаболизме лейкоцитов значительное место занимают и липиды, количество которых в клетке тесно связано с функциональной активностью лейкоцитов [7]. Для определения функциональной активности гранулоцитов большое значение имеет и содержание фермента пероксидазы, участвующей в окислительно-восстановительных процессах [15, 5, 3, 2].

Учитывая вышесказанное, представляло интерес провести одно-временное изучение фагоцитарной активности лейкоцитов и их цитохимического состава при воздействии стафилококкового токсина, тем более, что такого рода работы в доступной нам литературе обнаружены не были.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на 130 мышах-самцах линии СВА, которым вводилась сублетальная доза стафилококкового токсина. Через 3, 6, 12, 24, 48, 72 ч, 5, 10, 20, 30 и 60 дней после введения токсина у мышей изучалось общее количество лейкоцитов и их морфологический состав, а также фагоцитарная активность (микрометодом Платонова) и некоторые цитохимические показатели (гликоген—методом Шабаша, РНК — методом Андреса, липиды — по Мак-Манусу, пероксидаза — по Грэхем-Кноллю) клеток крови.

Контрольной группе животных вводился физиологический раствор. Материал брался в те же сроки, только в течение первых пяти дней.

Для изучения костного мозга в каждый из перечисленных сроков забивалось 5 мышей. Определялось общее количество миелокариоцитов в 1 мм³ костного мозга, подсчитывались медулограмма и митотический индекс, выводились костномозговые индексы: лейко-эритробластический, грануло-эритробластический и созревания нейтрофилов. Кроме того, в клетках костного мозга были изучены вышеперечисленные цитохимические ингредиенты по тем же методикам. Оценка изучаемых цитохимических показателей проводилась по средне-цитохимическому

коэффициенту (СЦК) по формуле Астальди и Верга $\frac{0a + 1b + 2c + 3d}{100}$,

где буквы в числителе означают процент клеток с определенной интенсивностью окраски, а цифры выражают степень интенсивности окраски: 0 — отсутствие окраски, 1 — следы или слабое окрашивание, 2 — умеренное, 3 — интенсивное окрашивание. Цифра 100 обозначает общее количество подсчитанных в каждой группе клеток. Весь цифровой материал обрабатывался методом вариационной статистики.

Для построения кривых (изменения цифровых значений в средних величинах) пользовались полулогарифмической сеткой с логарифмической шкалой (на оси абсцисс отсчитывали логарифмы сроков наблюдения в часах).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по изучению морфологического состава периферической крови при воздействии стафилококкового токсина были опубликованы ранее [1]. Они показали, что в начальном периоде после действия стафилококкового токсина отмечается повышение общего числа лейкоцитов, нейтрофилез со сдвигом нейтрофильной формулы влево, снижение числа лимфоцитов. В последующем происходит уменьшение числа лейкоцитов до лейкопенических цифр, еще большее снижение числа лимфоцитов.

Изучение фагоцитарной активности лейкоцитов у подопытных и контрольных мышей показало следующее: в течение первых 6 ч после введения стафилококкового токсина у подопытных мышей заметно воз- растал как фагоцитарный показатель (с исходных $44,7 \pm 1,0$ до $63,8 \pm 2,22$, $P < 0,001$), так и фагоцитарный индекс (с исходных $1,15 \pm 0,06$ до $3,3 \pm 0,42$, $P < 0,001$) нейтрофилов. В дальнейшем фагоцитарный по- казатель оставался повышенным до 5 дня наблюдения, затем норма- лизовался и колебался в пределах исходных показателей до конца наблюдения. Фагоцитарный же индекс (рис. 1) после кратковременно- го 6-часового повышения нормализовался, а с 72 ч наблюдения за- метно понизился (с исходных $1,15 \pm 0,06$ до $0,69 \pm 0,06$, $P < 0,001$). Только к концу опыта он стал вновь приближаться к исходным пока- зателям.

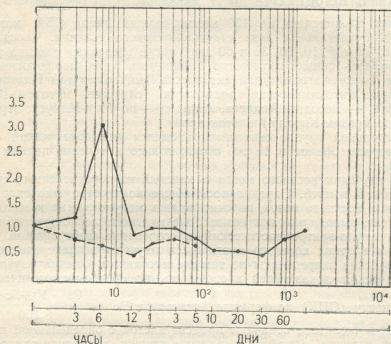


Рис. 1. Изменение фагоцитарного индекса нейтрофилов крови: по оси абсцисс — время после воздействия стафилококкового токсина, по оси ординат — фагоцитарный индекс нейтрофилов

У контрольных мышей изменения фагоцитарного показателя после введения физиологического раствора были очень незначительны и статистически недостоверны, фагоцитарный же индекс, чуть-чуть снизившись в начале опыта (с исходных $1,15 \pm 0,06$ до $0,83 \pm 0,09$, $P < 0,01$), колебался в этих пределах все 5 дней наблюдения.

Что касается цитохимических показателей, содержание гликогена в нейтрофилах периферической крови подопытных мышей с момента введения стафилококкового токсина заметно и закономерно изменялось (рис. 2). Так, СЦК гликогена, составляющий до начала опыта $1,05 \pm 0,02$, уже через 3 ч после введения токсина возрос до $1,57 \pm 0,03$ ($P < 0,001$) и продолжал возрастать во все последующие часы наблюдения, достигнув к 24 ч, $2,03 \pm 0,04$ ($P < 0,001$). Оставаясь приблизительно на этом уровне через 48 и 72 ч после начала опыта, СЦК гликогена

к 5 суткам еще больше увеличился ($2,22 \pm 0,04$, $P < 0,001$), достигнув максимума ($2,28 \pm 0,04$, $P < 0,001$) к 10 суткам наблюдения. В последующие сроки исследования (20, 30, 60 дней) содержание гликогена в нейтрофилах стало снижаться, однако даже в последний день опыта (через 60 дней после введения токсина) оставалось достоверно повышенным по сравнению с исходным показателем ($1,39 \pm 0,09$, $P < 0,01$). Необходимо отметить, что гликоген, выявляющийся в нейтрофилах мышей до начала опыта и в первые 5 дней после введе-

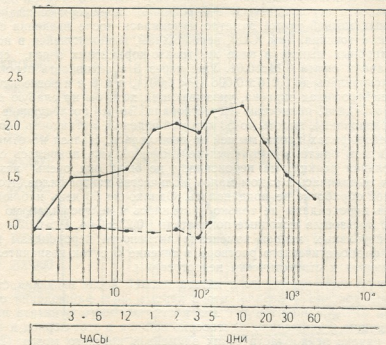


Рис. 2. Изменение содержания гликогена в нейтрофилах крови: по оси абсцисс—время после воздействия стафилококкового токсина, по оси ординат—средний цитохимический коэффициент гликогена в нейтрофилах крови

ния токсина в виде нежной розовой гомогенной окраски, в дальнейшем выявлялся в виде грубых темно-вишневых зерен, густо заполняющих цитоплазму нейтрофилов. Увеличение СЦК гликогена происходило в основном за счет увеличения числа нейтрофилов именно с такой выраженной зернистостью.

У контрольных мышей, содержание гликогена в нейтрофилах крови в течение 5 суток после введения менялось очень незначительно.

Содержание липидов в нейтрофилах периферической крови подопытных животных после введения стафилококкового токсина изменялось резко и в то же время закономерно. Так, в первые 12 ч после введения токсина в нейтрофилах крови липиды вовсе не выявлялись и СЦК липидов с исходных $0,70 \pm 0,024$ снижался до нуля. В последующие сроки исследования до 5 суток содержание липидов в нейтрофилах выявлялось очень незначительно и колебалось на предельно низком уровне ($0,04 \pm 0,01$ — $0,03 \pm 0,01$, $P < 0,0001$). Начиная с 5 дня опыта СЦК липидов стал постепенно возрастать, но долго еще (до 2-х ме-

сяцев) держался на относительно низком уровне и только к двум месяцам наблюдения вернулся к исходным показателям.

У контрольных мышей уменьшение СЦК липидов отмечалось только через 3 ч после введения физиологического раствора (с исходных $0,70 \pm 0,02$ до $0,40 \pm 0,07$, $P < 0,001$). В дальнейшем этот показатель все 5 дней наблюдения колебался в пределах исходных данных.

Содержание РНК в моноцитах и лимфоцитах периферической крови мышей после введения стафилококкового токсина изменялось незначительно и незакономерно.

Активность пероксидазы в нейтрофилах периферической крови подопытных мышей также заметно изменялась после введения стафилококкового токсина. Так, СЦК пероксидазы, выявляющейся в нейтрофилах здоровых мышей в виде желтовато-коричневых зерен, составлял до начала опыта $0,14 \pm 0,01$. Уже через 3 ч активность пероксидазы резко снизилась до $0,016 \pm 0,006$ ($P < 0,001$), а к 6 ч и вовсе исчезла. Во всех нейтрофилах окраска, указывающая хотя бы на слабую активность пероксидазы, полностью отсутствовала. Во все последующие часы и дни исследования, вплоть до 60 дня наблюдения, активность пероксидазы в нейтрофилах крови мышей не выявлялась. Нельзя не отметить, что на 30 день опыта в единичных нейтрофилах уже появилась слабоположительная реакция на пероксидазу, но была она очень незначительной и выявлялась в таком малом количестве нейтрофилов, что статистической обработке не поддавалась. Однако на 60 день наблюдения активность пероксидазы не только проявилась в нейтрофилах, но даже несколько превзошла исходные показатели ($0,23 \pm 0,04$, $P > 0,02$).

У контрольных мышей изменения активности пероксидазы после введения физиологического раствора в течение 5 суток незначительны, незакономерны и статистически недостоверны.

Изучение костномозгового пунктата мышей после введения стафилококкового токсина показало, что в первые часы наблюдения общее количество миелокарицитов в 1 мл^3 костномозгового пунктата проявляет тенденцию к снижению. Достоверно снижен в этот период и митотический индекс лейкобластических элементов костного мозга ($23,8 \pm 3,0$ с исходных $43,8 \pm 1,7$, $P < 0,001$). Начиная с 12 ч наблюдения и вплоть до 5 суток, количество миелокарицитов резко понижается, особенно на 3—5 сутки опыта (рис. 3). Интересно отметить, что именно в этот период (5 сутки наблюдения) в костном мозгу отмечалось выраженное повышение митотического индекса (с исходных $43,8 \pm 1,7$, до $92,8 \pm 8,0$, $P > 0,001$), что, по-видимому, было обусловлено резким понижением общего числа миелокарицитов. В последующие дни наблюдения митотический индекс лейкобластических элементов костного мозга хоть и понизился, но все же заметно превышал исходные данные, и только через 2 месяца наблюдения приблизился к начальным показателям. Именно этим повышением митотического индекса, по-видимому, и объясняется возрастание общего числа миелокарицитов с 20 дня наблюдения. Однако повышение это было недостаточно выражено и на протяжении всего срока исследования оставалось ниже исходных данных.

Соотношение лейко-эритробластических элементов в костном мозгу, выраженное лейко-эритробластическим и грануло-эритробластическим индексами, в первые сутки наблюдения не изменялось, но начиная с 48 ч относительное количество лейкобластических элементов в костном мозгу возрастает, особенно на 3 сутки наблюдения, и в дальнейшем до 30 дня остается увеличенным. С 30 дня этот индекс заметно понижается, хотя через 2 месяца несколько превышает исходные данные (повышение это статистически недостоверно).

Параллельное увеличение лейко-эритробластического и грануло-эритробластического индексов указывает на то, что относительное повышение лейкобластических элементов в костном мозгу мышей происходит за счет гранулоцитов.

Индекс созревания нейтрофильных элементов, в отличие от двух первых индексов, заметно изменяется в первые часы и дни опыта. Достоверно возрастая уже с 3 ч исследования, этот показатель максимально увеличивается к 12 ч, оставаясь повышенным до 48 ч, а в дальнейшем он снижается до исходной величины, значительно повышаясь лишь на 20-й день опыта, оставаясь при этом во все последующие сроки наблюдения на сравнительно высоком уровне.

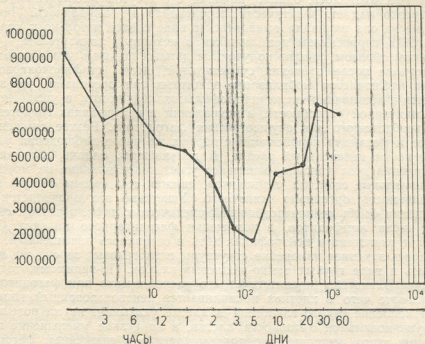


Рис. 3. Изменение количества миелокарицитов костного мозга: по оси абсцисс — время после воздействия стафилококкового токсина, по оси ординат — число миелокарицитов в 1 мм³ костного мозга

Цитохимическое изучение клеток костного мозга выявило следующее: после введения стафилококкового токсина содержание гликогена во всех клетках нейтрофильного ряда костного мозга в первые 3—12 ч наблюдения почти не изменялось или слегка повышалось. Через 24—48 ч после введения токсина содержание гликогена заметно и достоверно понижалось во всех клетках нейтрофильного ряда, а начиная с 3-х суток и до конца наблюдения выравнивалось и колебалось в пределах исходного уровня. Повышение уровня гликогена, отмечаемое в зрелых нейтрофилах периферической крови мышей в течение почти всего периода наблюдения после введения токсина, в клетках костного мозга не наблюдалось ни в одном случае.

Содержание РНК в нейтрофильных клетках костного мозга подопытных мышей, а также в лимфоцитах и моноцитах, после введения стафилококкового токсина изменялось незначительно и незакономерно.

Что касается содержания липидов, то в первые 3—6 ч после введения стафилококкового токсина содержание их в зрелых клетках нейтрофильного ряда костного мозга слегка увеличивалось, однако не настолько, чтобы можно было вычислить СЦК. В дальнейшем же в течение всего опыта вновь выявлялись только слабые следы липидов. В незрелых нейтрофильных клетках липиды в период наблюдения так и не выявлялись.

Активность пероксидазы в первые 3—12 ч после введения стафилококкового токсина во всех нейтрофильных элементах костного мозга мышей резко уменьшилась до полного исчезновения у части животных. Через 24—48 ч содержание пероксидазы в нейтрофилах несколько восстановилось, однако, начиная с 3-х суток наблюдения, оно вновь резко падает. Фактически пероксидаза не выявлялась. Лишь через месяц она начинала выявляться в виде следов и только к концу опыта СЦК пероксидазы приближался к исходным показателям.

Таким образом, анализ полученных данных показал, что в начальном периоде после введения сублетальной дозы стафилококкового токсина наблюдается мобилизация защитных сил организма, что выражается в повышении числа нейтрофильных лейкоцитов, в увеличении их фагоцитарной способности, в накоплении в нейтрофилах гликогена, столь необходимого для осуществления фагоцитоза. Резкое снижение липидов и фермента пероксидазы с первых же часов наблюдения указывает на их интенсивный расход. В дальнейшем, однако, введенная сублетальная доза токсина оказывает угнетающее влияние на морфофункциональные свойства лейкоцитов, снижая тем самым общую сопротивляемость организма животного. Угнетение это проявляется в уменьшении числа лейкоцитов до лейкопенических цифр, в резком снижении числа лимфоцитов, в понижении фагоцитарного индекса. Содержание гликогена в нейтрофилах хоть и оставалось повышенным, но отмечалось заметное изменение структуры гликогеновых зерен, они выявлялись в виде грубых темно-вишневых глыбок. По-видимому, такая структура гликогена препятствует его расходованию при фагоцитозе, в результате чего в клетках накапливается неиспользованный гликоген. Накопление такого гликогена в клетке указывает не на повышение функциональной активности клетки, а на резкое уменьшение потребления этого вещества, что подтверждается и снижением фагоцитарного индекса нейтрофилов в этот же период. Резкое понижение фермента пероксидазы, наблюдаемое в течение всего опыта, связано, по-видимому, с выраженной дезинтоксикационной функцией этого фермента.

Что касается костного мозга, то стафилококковый токсин оказывает определенное угнетающее влияние на костномозговое кроветворение, что подтверждается выраженным уменьшением общего числа миелокариоцитов начиная с 12 ч опыта. Увеличение лейкобластических и, в основном, гранулоцитарных элементов, выявленное увеличением костномозговых индексов, было только лишь относительным. В действительности, учитывая резкое уменьшение миелокариоцитов в 1 мм^3 костного мозга, наряду с эритроцитарным угнетением наблюдалось угнетение лейкобластического роста.

Повышение митотической активности лейкобластических элементов костного мозга, отмечаемое с 5 дня наблюдения, было не столь заметно выражено и не смогло обусловить нормализацию резко уменьшенного числа миелокариоцитов, общее количество которых хоть и возросло, но до конца наблюдения оставалось ниже исходных показателей.

ლიტერატურა

1. აბაკელია ც. ი., ჩხოლარია ნ. დ., ბუკია თ. შ., ლარიონოვა ნ. გ., გოცაძე ნ. შ. მათერ. I Закавказской конференции морфологов, «Мец-ნიереба», Тбилиси, 1975, 5—6.
2. Бурятинский Д. Л. Лаб. дело, 3, 17—19, 1961.
3. Губин В. А., Соловьева Е. А. Сборник рефератов по радиационной медицине за 1957, М., 1, 1959, 62—63.
4. Киреева С. Н. Тр. Ижевского мед. ин-та, 27, 1967, 37—38.
5. Красовская О. В. Бюлл. exper. биол., 12, 30—33, 1954.
6. Мардашиашвили Ш. И. В кн.: Диагностика и лечение некоторых онкологических заболеваний, М., 1967, 278—285.
7. Морозова В. Г., Шевченко Н. Г. Лаб. дело, II, 643—646, 1966.
8. Попеску Э. Р. Лейкемии, Медицинское изд-во, Бухарест, 1965.
9. Роскин Г. И. Успехи совр. биол., 47, 3, 375—389, 1959.
10. Транквилитати Н. Н. Тр. Гос. мед. ин-та, Донбасс, II, 1958, 182—183.
11. Хейфец Ю. Б. В сб.: Вопросы радиобиологии, Ереван, 5, 119—120, 1965.
12. Шахламов В. А. Арх. анат., 16, 8, 94—96, 1961.
13. Шерстнева О. С. Бюлл. exper. биол., 45, 3, 67—69, 1958.
14. Caspersson T. Swedish Cancer Soc. Year. Book 1960—1962, Stockholm, 1963, 174—181.
15. Iain N. C. J. Exp. Med., 92, 337—338, 1950.

ლიეიკოკოეზის მორფოციტოქიმიური დახასიათება სვა ხაზის
თავგებუნი სტაფილოკოკური ტოქსინის ზემოქმედების პირობებში

ნ. ჩხოლაია, ვ. აბაქელია, თ. ზუკია, ნ. ლარიონოვა

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ა. ნათიშვილის სახელობის ექსპერიმენტული
მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური
ქირურგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

სვა ხაზის თავებში სტაფილოკოკური ტოქსინის სუბლეტალური დო-
ზის ერთჯერადი შეყვანა იწვევს სისხლისა და ძვლის ტვინის ლეიკოციტე-
ბის მორფოფუნქციური თვისებების საკმაოდ ხანგრძლივ დათრგუნვას. ეს
დათრგუნვა გამოიხატება ლეიკოციტების საერთო რაოდენობის შემცირებაში,
ლიმფოციტების რაოდენობის მკვეთრ შემცირებაში, ნეიტროფილების ფაგო-
ციტური ინდექსის დაქვეითებაში. ნეიტროფილებში გროვდება უხეში სტრუქ-
ტურის მქონე გლიკოგენის მარცვლები, რომლის მოხმარება ფაგოციტური
პროცესის დროს ვერ ხერხდება. ძლიერ მკვეთრად ქვეითდება ფერმენტ პე-
როქსიდაზას აქტივობა ნეიტროფილებში. ლეიკოციტების მორფოფუნქციუ-
რი თვისებების ამგვარი დაქვეითება განაპირობებს ცხოველის ორგანიზმის წი-
ნალმდეგობის უნარიანობის საგრძნობ დაქვეითებას.



MORPHOCYTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF LEUCOPOIESIS OF THE CBA MICE UNDER STAPHYLOCOCCAL TOXIN EFFECT

N. D. TCHKHOLARIA, Ts. I. ABAKELIA, T. Sh. BUKIA, N. G. LARIONOVA

A. N. Natishvili Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Research Institute of Experimental and Clinical Surgery, Georgian SSR Ministry of Health, Tbilisi, USSR

Summary

A single injection of the sublethal dose of staphylococcal toxin to the CBA mice, results in rather prolonged repression of the morphofunctional properties of leucocytes of the blood and the bone marrow.

This repression is expressed by the decreasing of the total number of leucocytes, by the sharp decreasing of the number of lymphocytes, by the decreasing of the phagocytic index of neutrophiles. The granulations of glycogen of gross structure impossible for usage during the phagocytic process accumulate in neutrophiles. The activity of peroxidase is sharply decreased in neutrophiles.

The same decrease of the morphofunctional properties of leucocytes condition the considerable decreasing of the ability for the resistibility of the animal, body in this period.

УДК 543.544.6

БИОХИМИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ ПРОТЕИНАЗАМИ *ACTINOMYCES FRADIAE* 110

Ц. С. Турманидзе, Д. А. Долидзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 30.2.1977

Казеин, альбумин и эластин гидролизovali в течение 0,5—120 часов при 37°C препаратом протеаз *Act. fradiae* 110 и выделенным из него ферментом эластазой (отношение по весу — субстрат:фермент=500:1). Определяли глубину гидролиза белков. Продукты гидролиза фракционировали на ДЭАЭ-целлюлозе в виде их комплексов с Cu^{2+} . Результаты показали, что при действии ферментов на белки от 30 до 70% пептидных связей разрываются в их молекулах. Образуются не только низкомолекулярные пептиды, но и от 3,5 до 22,5% свободных аминокислот. Во фракциях свободных аминокислот, выделенных из продуктов ферментативных гидролизатов белков, идентифицировано от 7 до 14 индивидуальных аминокислот.

Микроорганизмы, в том числе актиномицеты, синтезируют и выделяют в культурную среду комплекс протеолитических ферментов. Протеолитические ферменты актиномицетов из группы розовых (различные штаммы *Act. fradiae*) гидролизуют различные глобулярные белки, эластин, коллаген и шерсть [1, 6, 7, 8].

Глубина гидролиза этих белков ферментами *Act. fradiae*, а также образующиеся продукты протеолиза исследованы недостаточно, однако эти данные позволили бы оценить возможности использования протеаз в некоторых отраслях пищевой и легкой промышленности.

Ранее нами был выделен из культуральной жидкости *Act. fradiae* 110 комплекс протеолитических ферментов — препарат протеаз, который был разделен на фракции, и одна фракция, обладающая эластолитической активностью, была выделена в гомогенном виде.

Целью данной работы являлось изучение способности препарата протеаз *Act. fradiae* 110 и выделенного из него эластолитического фермента гидролизовать некоторые белки, а именно казеин, альбумин, эластин, а также исследование продуктов гидролиза этих белков.

МЕТОДИКА

В работе использовали препарат протеиназ, выделенный этанолом из фильтрата глубинной культуры *Act. fradiae* 110 на среде с соевой мукой, крахмалом и солями [2]. Разделив очищенный комплекс ферментов на биогеле Р-10, получили шесть фракций, из которых одна содержала щелочную протеиназу с большой эластолитической активностью; после рехроматографии этой фракции на биогеле Р-10 эластаза оказалась гомогенной при электрофорезе в полиакриламидном геле (рН 4,5) [3].

В качестве субстратов протеолиза использовали казеин, альбумин из сыворотки человека (фирма «Реанал») и эластин, который получали из выйной связки крупного рогатого скота по методу Гранта и Роббинса [5].

Для проведения протеолиза готовили 2%-ные растворы альбумина и казеина в 0,012 М боратном буфере рН 8,0, добавляли раствор протеиназ или эластазы в отношении (по весу) субстрат: белок=500:1. Протеолиз проводили при 37°C в течение 0,5—120 ч. Через каждые 24 ч в растворы гидролизующихся белков вносили дополнительно по 1 мг фермента. Глубину гидролиза определяли по увеличению количества аминного азота в растворах после протеолиза и выражали в процентах; за 100% принимали количество аминного азота, образовавшегося после кислотного гидролиза исследуемых белков (гидролиз 6Н НСl 6 ч при 130°). Аминный азот определяли по реакции с нингидрином [9]. Для

Таблица 1
Глубина гидролиза эластина, казеина и альбумина препаратом протеаз и эластазой *Act. fradiae* 110 (соотношение субстрат: фермент=500:1)

Субстрат протеолиза (действие на белки препаратом протеаз)	Глубина гидролиза (%) при продолжительности действия фермента (ч)							
	0,5	1	3	24	48	72	96	120
Эластин	7,5	16	27,7	33,5	33,5	—	—	—
Казеин	14,5	16	23,5	30	34,5	50,5	70,5	70,5
Альбумин	13	14	17	42,4	51	59,8	68,5	68,5
Субстрат протеолиза (действие на белки эластазой)								
Эластин	2,0	4,6	7,5	19	32	32	—	—
Казеин	7	8	12	23,5	35,5	44,5	58,5	58,5
Альбумин	3,5	4	5,5	18,5	35,8	43	53	53

определения глубины гидролиза эластина к 50 мг эластина добавляли 1 мг препарата фермента или эластазы в 5 мл 0,012 М боратном буфере рН 8,0 (отношение по весу — эластин:фермент=500:1). Эластолиз проводили при 37°C в течение 0,5—72 ч. По истечении этого времени нерастворившийся эластин отделяли фильтрованием. Глубину гидролиза эластина определяли по количеству аминного азота в растворимых продуктах эластолиза.

Таблица 2
Количество свободных аминокислот, образующихся при гидролизе эластина, казеина и альбумина препаратом протеаз и эластазой *Act. fradiae* 110*

Субстрат протеолиза	Свободные аминокислоты (%) при продолжительности протеолиза (ч)			
	Действие на белки			
	препаратом протеаз		эластазой	
	24	96	48	96
Эластин	13,2	—	3,5	—
Казеин	—	22,4	—	9,6
Альбумин	—	7,8	—	5,4

* За 100 принимаем содержание аминокислот в мкМ в тех же ферментативных гидролизатах после их дополнительного гидролиза 6Н НСl

Пептиды и аминокислоты продуктов протеолиза разделяли на ДЭАЭ-целлюлозе № 11 емкостью 1 мэкв/2 («Ватман», Англия) в виде их комплексов с медью по методике [10]. Элюция — ступенчатая, коллидин-ацетатным буфером рН 8,0 и 4,5.

В элюатах определяли: оптическую плотность фракций при 630 мкм, содержание меди в экстракте хлороформа (после разрушения комплексов меди 8-оксихинолином) по его оптической плотности при 396 мкм, количество аминного азота в водной фазе после ступенчатой элюции хлороформа по реакции с нингидрином. О величине молекулы пептидов судили по увеличению количества аминного азота во фракциях пептидов после их кислотного гидролиза.

Аминокислотный состав фракций свободных аминокислот и фракций пептидов (после их гидролиза 6N HCl в течение 6 ч при 130° в запаянных ампулах) определяли на автоматическом анализаторе аминокислот JLC C-6 АН фирмы «JEOL».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение глубины гидролиза белков препаратом протеаз *Act. fradiae* 110 и его эластолитическим ферментом (эластазой) показало

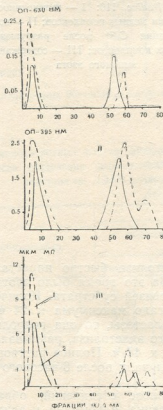


Рис. 1. Фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе продуктов гидролиза казеина протеиназами (1) и эластазой (2) *Act. fradiae* 110: I — интенсивность окраски медных комплексов; II — концентрация Cu^{2+} после разрушения медных комплексов; III — содержание аминного азота

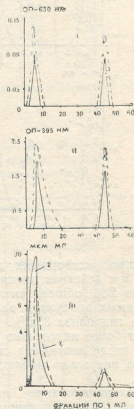


Рис. 2. Фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе продуктов гидролиза альбумина протеиназами (1) и эластазой (2) *Act. fradiae* 110: I — интенсивность окраски медных комплексов; II — концентрация Cu^{2+} после разрушения медных комплексов; III — содержание аминного азота

(табл. 1), что атакуемость исследуемых белков протеиназами при продолжительности протеолиза 0,5—3 ч в два-четыре раза выше атакуемости белков эластазой. При более длительном протеолизе эта разница сглаживалась, но тем не менее после 96-часового протеолиза препаратом в молекуле казеина и альбумина соответственно гидролизовалось 70 и 68% пептидных связей, а при действии эластазой в это же время гидролизуется соответственно 58 и 53% пептидных связей.

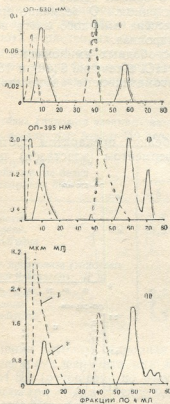


Рис. 3. Фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе продуктов гидролиза эластина протеиназами (I) и эластазой (2) *Act. fradiae* 110: I — интенсивность окраски медных комплексов; II — концентрация Cu^{2+} после разрушения медных комплексов; III — содержание аминного азота

Количество растворимых продуктов эластолиза быстро нарастало в первые 3 ч действия препарата протеаз. За это время было прогидролизировано 28% общего числа пептидных связей субстрата. Количество растворимых продуктов эластолиза достигало максимума к 24 ч при глубине гидролиза 33,5%. Что касается эластазы, то она гидролизует субстрат более интенсивно после 3-часового эластолиза, разрывая 32% общего числа пептидных связей эластина к 48 ч. Полное растворение эластина визуально наблюдали в обоих случаях после 6-часового эластолиза.

Фракционирование на ДЭАЭ-целлюлозе соединений, образующихся при ферментативном гидролизе казеина, альбумина и эластина препаратом протеаз и эластазой *Act. fradiae* 110, показало наличие в гидролизатах свободных аминокислот (рис. 1, 2, фракции 3—20, 3—15; рис. 3, фракции 3—22). Количество свободных аминокислот, образующихся при протеолизе казеина препаратом протеаз и эластазой, значительно больше, чем при действии этих ферментов на альбумин и эластин (табл. 2).

Таблица 3

Аминокислотный состав фракций аминокислот и пептидов, полученных после разделения ферментативных гидролизатов альбумина, эластина и казеина на ДЭАЭ-целлюлозе (действие на белки препаратом протеаз *Act. fradiae* 110)

Аминокислота	Ферментативный гидролизат*					
	Фракции аминокислот, мг/г			Фракции пептидов, мг/г		
	казеина	альбумина	эластина	казеина	альбумина	эластина
Лизин	30,58	0,32	1,34	3,38	1,24	1,84
Гистидин	25,87	5,16	следы	0,71	0,44	3,12
Аргинин	8,29	3,36	0	1,27	0,60	3,04
Аспарагиновая кислота	следы	0	0	4,04	3,56	1,60
Треонин	2,46	0	0,84	2,16	1,08	5,36
Серин	7,50	2,68	0,42	0,05	0,40	4,40
Глутаминовая кислота	следы	0	следы	10,25	5,52	6,08
Пролин	следы	0	0	7,76	0,68	19,92
Глицин	0,89	0,08	5,29	1,79	0,60	2,64
Аланин	1,90	1,40	19,57	2,07	1,76	3,76
Цистин	2,13	0,44	0	0,28	0,72	0
Валин	8,62	3,44	27,22	1,18	1,52	38,08
Метионин	7,95	0,60	следы	3,99	0,24	3,20
Изолейцин	8,29	1,44	8,74	2,16	0,08	0,16
Лейцин	14,0	5,32	37,13	2,02	1,04	21,92
Тирозин	18,82	2,48	1,34	4,23	0,48	11,2
Фенилаланин	17,47	4,12	17,47	2,59	0,36	19,6

* Использованы 96-часовой гидролизат казеина и альбумина и 24-часовой эластина.

Таблица 4

Аминокислотный состав фракций аминокислот и пептидов, полученных после разделения ферментативных гидролизатов казеина, альбумина и эластина на ДЭАЭ-целлюлозе (действие на белки эластазой *Act. fradiae* 110)

Аминокислота	Ферментативный гидролизат*					
	Фракции аминокислот, мг/г			Фракции пептидов, мг/г		
	казеина	альбумина	эластина	казеина	альбумина	эластина
Лизин	0,34	5,02	следы	3,20	3,92	0,47
Гистидин	1,49	3,14	следы	0,80	1,36	1,26
Аргинин	1,11	1,38	следы	1,05	3,0	5,58
Аспарагиновая кислота	0,84	0	0,18	3,0	3,92	1,09
Треонин	следы	0,27	следы	1,80	2,04	1,49
Серин	0,13	0,42	0,44	1,80	1,56	2,19
Глутаминовая кислота	0	0	следы	8,60	8,36	5,74
Пролин	0	0	0	4,80	1,44	8,81
Глицин	0,31	0,08	0,89	0,89	1,08	13,98
Цистин	0	0	0	0	0,96	0
Валин	0,53	0,88	0,89	4,30	4,08	13,67
Метионин	0,72	0,12	следы	1,30	0,88	4,26
Изолейцин	0,43	0,27	следы	0,86	0,60	4,71
Лейцин	5,04	5,40	9,62	3,80	4,56	10,61
Тирозин	3,12	2,07	следы	4,55	1,48	2,67
Фенилаланин	5,23	5,21	6,29	2,80	2,48	6,52

* Использованы 96-часовой гидролизат казеина и альбумина и 48-часовой эластина

Пептиды, образовавшиеся во время протеолиза исследуемых белков, элюировались на ДЭАЭ-целлюлозе при pH 4,5 во фракциях 80 в случае эластина, 50—75 в случае казеина, 40—50 в случае альбумина, образуя несколько пиков (рис. 1, 2, 3). С целью определения средней величины пептидов их дополнительно гидролизовали в вакуум-ампулах с 6N HCl. Оказалось, что после кислотного гидролиза пептидов количество аминного азота увеличивалось в 3—7 раз. Это свидетельствует о том, что при гидролизе белков препаратом протеаз *Act. fradiae* 110 и эластазой образуется большое количество пептидов, состоящих, по-видимому, в среднем из 3—7 аминокислотных остатков.

Во фракциях свободных аминокислот и пептидов, после дополнительного кислотного гидролиза последних, определяли наличие отдельных аминокислот.

Из результатов анализа видно (табл. 3, 4), что в продуктах протеолиза казеина и альбумина препаратом и эластазой, содержится большинство определявшихся аминокислот.

Во фракциях свободных аминокислот в продуктах гидролиза казеина и альбумина эластазой не оказалось пролина, цистина и глютаминной кислоты, а в продуктах гидролиза этих же белков препаратом отсутствуют пролин, треонин и дикарбоновые аминокислоты. Последние образуют с Cu^{2+} отрицательно заряженные комплексы и поэтому могут элюироваться в одной из пептидных фракций.

Аминокислотный состав фракций свободных аминокислот и фракций пептидов после гидролиза эластина препаратом и эластазой отражает как некоторые особенности аминокислотного состава эластина (отсутствие гистидина, цистина, следы метионина), так, по-видимому, и некоторые особенности действия ферментов на эластин. Во фракциях свободных аминокислот не обнаружены аргинин, пролин, которые полностью находятся во фракции пептидов, а в гидролизате эластина препаратом обнаружена большая часть аланина, изолейцина и примерно 60% общего количества лейцина во фракции свободных аминокислот.

На основании результатов исследования соединений, образовавшихся при эластолизе, можно считать, что эластаза, выделенная из комплекса протеолитических ферментов *Act. fradiae* 110, в отличие от других эластаз [1, 4, 6, 7, 8] является экзопроteinазой, обладающей достаточно широкой специфичностью к гидролизуемым связям.

Таким образом, полученные данные показали, что препарат протеаз *Act. fridiae* 110 и эластаза, выделенная из этого препарата, при действии на казеин, альбумин и эластин осуществляют глубокий гидролиз этих белков, разрывая от 30 до 70% общего числа пептидных связей в их молекулах, с образованием свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долидзе Д. А., Петрова И. С. Сообщения АН ГССР, **68**, 1, 209—211, 1972.
2. Долидзе Д. А., Турманидзе Ц. С., Петрова И. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., **1**, 5, 6, 437—440, 1975.
3. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полнакриламидном геле, «Мир», М., 1971, 121—123.
4. Banga J. Structure and Function of Elastin and Collagen. Academia Kiado, Budapest, 34—35, 1966.
5. Grant N. H., Robbins K. Arch. Biochem. Biophys., **66**, 396—399, 1957.
6. Mandil J. Adv. Enzymol., **23**, 163—164, 1961.
7. Mōrihara K., Tsuzuki, Oka T., Inoue H., Ebata M. J. Biol. Chem., **240**, 3295—3297, 1965.



8 Partridge S. M. Adv. Protein Chem., 17, 227—231, 1962.
 9. Rosen H. Arch. Biochem. Biophys., 67, 10—15, 1963.
 10. Tommel K. J. Vliegenthart I. F. O., Ponders T. I., Abens J. F., Biochem. J., 107, 335—342, 1968.

ACTINOMYCES FRADIAE 110-ის პროტეინაზების მიერ ზოგიერთი ცილის ჰიდროლიზის პროდუქტების გამოკვლევა

ც. თურმანიძე, ჯ. დოლიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

Act. fradiae 110-ის პროტეაზების პრეპარატით და მისგან გამოყოფილ ფერმენტ ელასტაზით ვახდენდით კაზეინის, ალბუმინისა და ელასტინის ჰიდროლიზს 0,5—120 საათის განმავლობაში. წონითი შეფარდება სუბსტრატსა და ფერმენტს შორის იყო 500:1.

ვამოწმებდით ცილების ჰიდროლიზის სიღრმეს. ჰიდროლიზის პროდუქტების ფრაქციონირებას ვახდენდით დეაე-ცელულოზის სვეტზე Cu^{2+} -თან კომპლექსის სახით. მიღებული შედეგებით ცხადი გახდა, რომ როცა ფერმენტები ცილებზე მოქმედებს მათ მოლეკულებში ხდება 30-დან 70%-მდე პეპტიდური ბმების გახლეჩა.

ჰიდროლიზის შედეგია დაბალ-მოლეკულური პეპტიდები და 3,5-დან 22,5%-მდე თავისუფალი ამინომჟავები. ცილების ფერმენტული ჰიდროლიზის პროდუქტებიდან მიღებული თავისუფალი ამინომჟავების ფრაქციებში იდენტიფიცირებულია 7-დან 14-მდე ამინომჟავა.

INVESTIGATION OF PRODUCTS OF HYDROLYSIS OF SOME PROTEINS BY PROTEINASES OF *ACTINOMYCES FRADIAE* 110

Ts. S. TURMANIDZE, D. A. DOLIDZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

Hydrolysis of casein, albumine and elastin was carried out during 0.5—120 hours by the protease preparation of *Act. fradiae* 110 and by the enzyme elastase isolated from it. The substrate—enzyme weight ratio was 500:1. The depth of protein hydrolysis was determined. Proteolytic products were fractionated on DEAE cellulose in the form of their Cu^{2+} complexes. 30 to 70% of peptide bonds have been broken by the action of enzyme on protein molecules. As a result of hydrolysis low molecular peptides and 35—22.5% of free amino acids were formed. 7 to 14 individual amino acids were found in the fractions of free amino acids isolated from the products of protein hydrolysis by enzymes.

УДК 547.963.32

БИОХИМИЯ

СИНТЕЗ И МОДИФИКАЦИЯ ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИД-5'-ДИФОСФАТОВ

М. В. Шаламберидзе, Н. И. Соколова, З. А. Шабарова

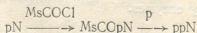
*Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси,
 Московский государственный университет*

Поступила в редакцию 5.4.1977

Предлагается новый метод синтеза дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфатов, основанный на реакции смешанного ангидрида мононуклеотида и мезитиленкарбоновой кислоты с неорганическим фосфатом. Определены оптимальные условия этого синтеза и получены четыре природных дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфатов. Предложен также метод получения смешанных ангидридов дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфатов с мезитиленкарбоновой кислотой. Эти соединения могут быть использованы для бисспецифического мечения активного центра ферментов.

В последние годы в связи с широким исследованием ферментов, катализирующих полимеризацию нуклеозид-5'-ди- и трифосфатов, появилась необходимость в нуклеозид-5'-дифосфатах, модифицированных по сахару или β-фосфату. Такие соединения используются для изучения механизма действия ферментов в качестве аналогов субстратов или конкурентных ингибиторов. Основные методы синтеза нуклеозид-5'-дифосфатов заключаются во взаимодействии активированного нуклеотида с фосфорной кислотой [10, 11]. Недостатком этих методов является их многостадийность и низкая специфичность образования пирофосфатной связи. Поэтому несмотря на то, что разработан ряд путей синтеза нуклеозид-5'-дифосфатов, получение этих соединений представляет определенные трудности и продолжают поиски более простых и эффективных методов их синтеза. Так, в 1975 году для синтеза нуклеозид-5'-ди- и трифосфатов предложили активировать нуклеотид через смешанный ангидрид с ди-н-бутилтиофосфиновой кислотой [7]. Ограничением метода является сложность синтеза реагента активирующего нуклеотид. Для биологических исследований, требующих небольшие количества вещества, дезоксирибонуклеозид-5'-ди- и трифосфаты обычно получают с помощью ферментов [3].

В настоящем сообщении предлагается новый метод синтеза нуклеозид-5'-дифосфатов, основанный на активации нуклеотида через смешанный ангидрид с мезитиленкарбоновой кислотой (MsCOOH) и последующей реакцией с три-н-бутиламмониевой солью ортофосфорной кислоты:



Этим методом получены основные дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфаты. Кроме того, описывается синтез смешанных ангидридов, полученных

путем взаимодействия дезоксирибонуклеозид-5'-дифосфатов с мезитиленкарбоновой кислотой — $MsCOdppN$, и используемых в качестве реагентов для биоспецифического мечения активных центров ферментов нуклеинового обмена [1].

МЕТОДИКА

Хроматографию и электрофорез проводили на бумаге «Фильтрак-1» (ГДР). При хроматографии использовали системы: а) этанол — 1 М ацетат аммония, pH 7,5 (7:3); б) изо-пропанол-аммиак-вода (7:1:2). Вертикальный электрофорез проводили в течение 1,5 ч при напряжении 1000 В в 0,05 М триэтиламмониюв бикарбонатном буфере (ТЭАБ), pH 7,5. Для ферментативных гидролизис использовали препараты ФМЭ *E. coli* и ФДЭ змеиного яда фирмы «Calbiochem», гидролизис проводили по методике [6]. Синтез $MsCOCl$ выполнен по [4].

Общая методика синтеза смешанных ангидридов дезоксирибонуклеотидов и мезитиленкарбоновой кислоты ($MsCOpN$).

0,1 ммол три-*n*-октиламмониюв соли дезоксинуклеотида растворяли в 1 мл пиридина, высушивали упариванием с абсолютным бензолом, остаток растворяли в 1 мл абсолютного пиридина и добавляли 0,5 ммол (0,08 мл) хлорангирида мезитиленкарбоновой кислоты ($MsCOCl$). Реакционную смесь выдерживали 5 мин при 0°C, затем разбавляли равным объемом воды (1 мл) и экстрагировали эфиром (2 мл × 2). Водный слой хроматографировали на бумаге в системе А или на колонке с ДЕАЕ-целлюлозой в линейном градиенте ТЭАБ (от 0,01 до 0,2), содержащем 20% спирта.

Общая методика синтеза дезоксинуклеозиддифосфатов

К водному раствору, содержащему 0,01 ммол $MsCOpN$ добавляли 0,1 ммол три-*n*-бутиламмониюв соли ортофосфорной кислоты. Смесь упаривали досуха, остаток сушили многократной отгонкой с абсолютным пиридином, затем добавляли 1 мл абсолютного пиридина и смесь оставляли при 37°C. Через 2 суток раствор упаривали, добавляли 0,5 мл воды и хроматографировали в системе А.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальные условия синтеза смешанных ангидридов нуклеотидов и $MsCOOH$ —0°C, 5 мин, 5-кратный избыток $MsCOCl$ — определены нами ранее [5]. В этих условиях избирательно активируется фосфатная группа нуклеотида и не реагируют гидроксильные группы сахара и аминогруппы гетероциклических оснований. При взаимодействии с аминами и спиртами смешанные ангидриды нуклеотидов и мезитиленкарбоновой кислоты ($MsCOpN$) оказались эффективными фосфорилирующими агентами [9]. При этом необходимо было определить достаточно ли активация фосфатной группы в $MsCOpN$ для взаимодействия с такими слабыми нуклеофилами как фосфорная кислота и алкилофосфаты. Эта реакция дала бы возможность получать производные нуклеотидов с пирофосфатной группировкой, то есть нуклеозиддифосфаты и нуклеотидкоферменты.

Было замечено, что при выдерживании $MsCOpN$ в абсолютном пиридине наблюдается образование симметричных пирофосфатов $(-pN)_2$. Постепенно количество пирофосфата начинает уменьшаться и

в среде накапливается исходный нуклеотид. Поскольку эти превращения не наблюдаются в других органических растворителях, можно предположить, что пиридин играет роль катализатора. Механизм этих реакций не совсем ясен, однако очевидно, что с участием смешанных ангидридов в пиридине возможен синтез нуклеотидных производных с пирофосфатной связью.

Таблица 1

Выходы и характеристики синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	R _f в системе		U _p A
		А	В	
dppT	50	0,15	0,23	0,82
dppA	45	0,12	0,20	0,7
dppG	40	0,10	0,17	0,65
dppC	40	0,14	0,21	0,68
(-dppT) ₂	90	0,25	0,31	0,83
(-dppA) ₂	80	0,22	0,28	0,7
MsCO dppT	70	0,67	0,72	—
MsCO dppA	60	0,6	0,67	—
MsCO dppG	50	0,55	0,6	—
MsCO dppC	50	0,6	0,65	—

Структура полученных пирофосфатов дезоксирибонуклеотидов была подтверждена их гидролизом с помощью фосфодиэстеразы змеиного яда до нуклеотидов и сольволизом уксусным ангидридом в абсолютном пиридине [8], в результате которых образуется 3'-ацетилдезоксирибонуклеотиды. Кроме того, в случае d(-pT)₂ его хроматографические и электрофоретические характеристики совпали с характеристиками пирофосфата дезокситимидиловой кислоты, полученного встречным синтезом с ДЦК [2]. Характеристики симметричных пирофосфатов приведены в табл. 1.

Для выбора оптимальных условий синтеза нуклеозиддифосфатов была поставлена серия опытов по получению dppT с использованием разного избытка фосфорной кислоты. Определилась также зависимость выхода dppT при различной температуре и продолжительности реакции. Из сравнения результатов опытов, приведенных в табл. 2, следует:

1) При 5-кратном избытке неорганического фосфата параллельно с образованием dppT в качестве побочного продукта образуется симметричный пирофосфат (опыты 1—3, 13). При 10-кратном избытке неорганического фосфата симметричный пирофосфат в реакционной смеси не обнаружен (очевидно, синтез его подавлен избытком фосфата). Дальнейшее увеличение избытка фосфата (до 20- или 50-кратного) по отношению к MsCOdppT не приводит к заметному повышению выхода dppT (опыты 4 и 7, 14 и 15). Однако при 50-кратном избытке неорганического фосфата максимальный выход достигается через 24 ч, а не через 48 ч, как при 10- и 20-кратном избытке (опыты 5, 8 и 10).

2) Повышение температуры реакционной смеси от 37° до 50°С не приводит к увеличению выхода dppT за сутки (опыты 4 и 14, 7 и 15). Более того, при длительной инкубации реакционной смеси при 50°С выход dppT начинает падать (опыт 16).

3) Сравнение выходов dppT через определенные интервалы времени (24, 48 и 72 ч) при 10- или 20-кратном избытке неорганического фосфата при 37°С показало, что максимальный выход достигается через 48 часов, а при дальнейшей инкубации уменьшается количество dppT в реакционной смеси и нарастает количество мононуклеотида.



Очевидно, это вызвано расщеплением пирофосфатной связи в $dp\Gamma$ за счет следов влаги в пиридине.

Таким образом, оптимальными условиями синтеза $dp\Gamma$ оказались следующие: 10-кратный избыток три-*n*-бутиламмониевой соли фосфорной кислоты, 37°C; время реакции — 2 суток. Эти условия были использованы для получения дезоксирибонуклеозиддифосфатов, выходы и характеристики которых приведены в табл. 1. Выделение этих соединений из реакционной смеси проводили хроматографией на бумаге или на колонках с ДЕАЕ-целлюлозой в градиенте концентрации ТЭАБ от 0,01 до 0,2 М. Структуру полученных дезоксирибонуклеозиддифосфатов подтверждали гидролизом их ФМЭ до соответствующих нуклеозидов и ФДЭ — до мононуклеотидов. Хроматографические характеристики синтезированного и коммерческого препаратов $dp\Gamma$ совпали.

Таблица 2
Синтез $dp\Gamma$ в различных условиях

№ опыта	Избыток фосфата, эквив.	Т, °С	Время реакции, ч	Выход $dp\Gamma$, %	Выход $d(-pT)_2$, %
1	5	37	24	38	20
2	5	"	48	31	17
3	5	"	72	25	25
4	10	"	24	30	—
5	10	"	48	40	—
6	10	"	72	33	—
7	20	"	24	30	—
8	20	"	48	42	—
9	20	"	72	34	—
10	50	"	24	48	—
11	50	"	48	47	—
12	50	"	72	42	—
13	5	50	24	20	20
14	10	50	24	22	—
15	20	"	24	30	—
16	20	"	48	26	—

Предложенный метод синтеза нуклеозиддифосфатов одностадийен, так как из-за высоких выходов и отсутствия побочных продуктов при получении $MsCOpN$ можно, не выделяя такие смешанные ангидриды, добавлять в реакционную смесь соль неорганического фосфата и затем проводить хроматографическое разделение на конечной стадии. Сравнительно невысокий выход нуклеозиддифосфатов связан с их неустойчивостью в пиридине [11]. Известно, что такие полифосфаты устойчивы в диметилформамиде. Однако синтез нуклеозиддифосфатов в других органических растворителях, таких как диметилформамид, диметилсульфоксид, диоксан, провести не удалось. Возможно, необходим нуклеофильный катализ пиридином, в результате которого повышается электрофильность атома фосфора в $MsCOpN$. Кроме того, важным преимуществом предложенного метода синтеза нуклеозиддифосфатов является отсутствие в реакционной смеси побочных продуктов: при использовании 10 и более эквивалентов неорганического фосфата симметричные пирофосфаты не образуются.

При взаимодействии $MsCOdp\Gamma$ с 10-кратным избытком *p*-нитрофенилфосфата в абсолютном пиридине при 37°C через 2 суток с выходом 50% образуется P^1 (*p*-нитрофенил, P^2 -дезокситимидил-5') пирофосфат (табл. 1). Структуру этого соединения подтверждали гидролизом ФДЭ. В гидролизате обнаружили *pT и *p*-нитрофенилфосфат. Этот синтез показывает принципиальную возможность получения нуклеотид-*

коферментов с использованием смешанных ангидридов нуклеотидов и мезитиленкарбонической кислоты. При обработке три-н-октиламмониевых солей дезоксирибонуклеотид-5'-дифосфатов в абсолютном пиридине 5-кратным избытком MsCOCl в течение 5 мин при 0° по методике, описанной для синтеза MspN , образуются смешанные ангидриды, имеющие структуру MsCODppN . Выходы и характеристики полученных по конечному фосфату модифицированных нуклеозиддифосфатов, приведены в табл. 1.

Таким образом, в проведенном исследовании доказано, что смешанные ангидриды мононуклеотидов и мезитиленкарбонической кислоты могут быть использованы в качестве активированных производных нуклеотидов для синтеза нуклеозидполифосфатов. Простота эксперимента, отсутствие побочных продуктов, мягкие условия синтеза делают предложенный метод особенно удобным для получения аномальных, лабильных и меченых по β -фосфату динуклеозиддифосфатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов И. А., Шаламберидзе М. В., Новикова И. Ю., Соколова Н. И., Шабарова З. А. Биохимия, **42**, 9, 1704—1710, 1977.
2. Корона Г. Новые направления в химии биологически важных эфиров фосфорной кислоты, «Мир», М., 1964.
3. Назаренко И. А., Беляева Т. А., Воробьева Н. В., Неханевич И. Ф., Потапов В. А., Ромащенко А. Г., Юликова Л. Ю., Салганик Р. И. Мол. биология, **10**, 6, 1231—1237, 1976.
4. Синтезы органических препаратов (сб. статей), ИЛ, М., 1949, 118.
5. Соколова Н. И., Носова В. В., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. ДАН СССР, **206**, 129—131, 1972.
6. F. F. McCutchan, P. T. Gilham. Biochemistry, **12**, 4845—4848, 1973.
7. T. Hata, K. Furusawa, M. Sekine. J. C. S. Chem. Commun., **2**, 196—197, 1975.
8. N. W. Moon, H. G. Khorana. J. Am. Chem. Soc., **88**, 1798—1804, 1966.
9. V. V. Shumyantzeva, N. I. Sokolova, Z. A. Shabarova. Nucleic Acids Research, **3**, 903—916, 1976.
10. M. Smith, H. G. Khorana. J. Am. Chem., **80**, 1141—1145, 1958.
11. D. L. Verheyden, W. E. Wehrli, J. G. Moffatt. J. Am. Chem. Soc., **86**, 1253—1254, 1964.

დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5'-დიფოსფატების სინთეზი და მოდიფიკაცია

ა. შალამბერიძე, ნ. სოკოლოვა, ზ. შაბაროვა

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი, მოსკოვის მ. ლომონოსოვის სახელობის უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

მოწოდებულია დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5'-დიფოსფატების სინთეზის ახალი მეთოდი, რომელსაც საფუძვლად უდევს მონონუკლეოტიდისა და მეზოთილენკარბონის შეჯვის შერეული ანჰიდრიდის რეაქცია არარაგანულ ფოსფატთან. გარკვეულია ამ სინთეზის ოპტიმალური პირობები და მიღებულია ოთხი დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5'-დიფოსფატი.

გარდა ამისა, სინთეზირებულია ამ დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5'-დიფოსფატების შერეული ანჰიდრიდები მეზითილენკარბონის მჟავასთან, რომლებიც შეიძლება გამოვიყენოთ ფერმენტების აქტიური ცენტრების ბიოსპეციფიკური ნიშანდებისათვის.



SYNTHESIS AND MODIFICATION OF DEOXYNUCLEOSIDE-5'-DIPHOSPHATES

M. V. SHALAMBERIDZE, N. I. SOKOLOVA, Z. A. SHABAROVA

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR
Moscow State University, USSR

Summary

A new method of synthesis of deoxyribonucleoside-5'-diphosphates, based on reaction of mixed anhydrates of mononucleotide and mesitoic acid with inorganic phosphate is proposed. Optimal conditions for this synthesis are established and four natural deoxynucleoside-5'-diphosphates are obtained.

A procedure is also described for the preparation of mixed anhydrates of deoxynucleoside-5'-diphosphates with mesitoic acid. These compounds can be used for the affinity labelling of active site of enzymes.

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ИНТЕНСИВНОСТЬ СИНТЕЗА
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ ИЗОЛИРОВАННОЙ
МЕРИСТЕМЫ СТЕБЛЕВЫХ АПЕКСОВ ВЕГЕТИРУЮЩИХ
РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ**

К. П. Кацитадзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 24.2.1977

Циторадиоавтографическое изучение интенсивности и локализации синтеза ДНК и РНК в клетках изолированной меристемы показало, что число меченых ядер клеток периферической зоны меристемы не превышает 65%. Наблюдающиеся в течение первых двух дней после изолирования деления не содержат метку. В дальнейшем включение метки в ДНК ядер отражает интенсивность деления в каллусных клетках, а также процесс полиплоидизации в них. В центральной зоне включение метки в ДНК наблюдается только после десяти дней культивирования, не сопровождается последующими митозами и является основой последующей прямой редифференцировки в клетках центральной зоны.

В клетках периферической зоны интенсивность включения РНК коррелирует с митотической активностью, тогда как на всех этапах культивирования в клетках центральной зоны интенсивность синтеза РНК очень низкая и не изменяется в связи с перестройкой этих клеток.

Культура изолированных органов, тканей и клеток растений является удобной модельной системой для изучения активности растительных меристем.

В настоящее время точно установлено, что меристема апекса стебля сложноустроенная система, в которой разные зоны и группы клеток выполняют функционально разные задачи [1, 5, 15, 18].

В зависимости от способов вычленения меристематического эксплантата и его размеров, а также от состава питательной среды, изолированная меристема или переходит к нормальному морфогенезу, образуя побег, который после корнеобразования превращается в целое растение или индуцируется к неорганизованному росту, образуя каллусную ткань. Культура изолированной меристемы, так же как и культура каллусной ткани, меристемного происхождения и в настоящее время широко используется для оздоровления и размножения посадочного материала декоративных, ягодных, овощных растений и картофеля [8, 9, 6, 11].

Большие экономические выгоды, которые приносит применение культуры изолированной меристемы в сельском хозяйстве, определяют требования к детальному изучению поведения разных зон и клеток изолированной меристемы в разных условиях выращивания. Однако

таких работ почти нет в обширной литературе по культуре ткани растений [7, 14, 19].

В настоящей статье приводятся данные о синтезе нуклеиновых кислот в клетках разных зон меристемы апекса томатов в связи с их редифференцировкой и образованием каллуса в культуре тканей.

В наших предыдущих сообщениях [4] мы описывали цитологические и морфометрические особенности этих клеток и их изменения в процессе редифференцировки и каллусогенеза. Представляло интерес выяснить, будут ли эти клетки различаться также функционально.

Синтез нуклеиновых кислот в связи с дедифференцировкой подробно изучался в паренхиматических клетках специализированных тканей [2, 20, 21], но не исследовался при получении каллусов в культуре меристемы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служила верхушечная меристема стебля вегетирующих растений томатов сорта «Пушкинские» на 24 день после посева. Вычленение меристемы проводили под бинокулярной лупой с увеличением 4×6, асептически, в стерильном боксе. Меристемные эксплантаты помещали в чашки Петри (по 5 штук) на модифицированную, агаризованную питательную среду Гамборга, к которой добавляли меченых предшественников (H^3 -тимидин и H^3 -уридин). Рост меристемы и каллусогенез проходил при постоянном присутствии H^3 -тимидина или 5-часовой инкубации в присутствии H^3 -уридина. Концентрация меченых предшественников составляла 1 $\mu C/мл$, удельная активность тимидина — 8,6 $C/ммоль$, уридина — 6 $C/ммоль$.

Для доказательства специфического включения H^3 -уридина в РНК, часть препаратов обрабатывали РНК по общепринятой методике [3] (концентрация фермента 0,5 $мг/мл$ и инкубация в термостате при 37°C в течение 2 часов). Отсутствие включения H^3 -уридина после подобной обработки говорило о специфичности включения H^3 -уридина в РНК в наших опытах.

Меристемы фиксировали подкисленным спиртом (3:1). Приготавливали мазковые препараты, окрашивали их ацетоорсеином. Отдельно определяли число ядер в фазе митоза, для центральной и периферической зон меристемы. На препараты наносили эмульсию типа «Р».

Анализ циторадиоавтографов проводили деля меристему условно на две зоны — периферическую и центральную, что отражает исходную зональность меристемы. При определении процента меченых ядер просчитывали все клетки для центральной и периферической зоны меристемы.

Микроскопические исследования проводили с помощью микроскопа МБИ-3 и МБИ-11.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Локализация и интенсивность синтеза ДНК

а) Периферическая зона. Уже через 3 часа после переноса изолированной меристемы из среду с H^3 -тимидином в ядрах клеток периферической зоны можно отметить около 2% ядер, включающих метку (рис. 1). В течение первых трех суток число ядер, включающих метку, колеблется от 2 до 7%, а число делящихся клеток не превышает 0,68%. Митозы, наблюдаемые в первые дни, не содержат метки. Между 48 и 72 часами процент меченых ядер не возрастает, а процент делящихся клеток остается очень низким. На 7 сутки % меченых ядер возрастает до 13% (рис. 2) и продолжает увеличиваться до полного выращивания

изолированной меристемы на среде с меченым предшественником. Со-
 поставление динамики возрастания числа меченых ядер на среде с мече-
 ным предшественником с динамикой митотической активности (рис. 2)
 показало, что увеличение числа меченых ядер между 3 и 7 сутками

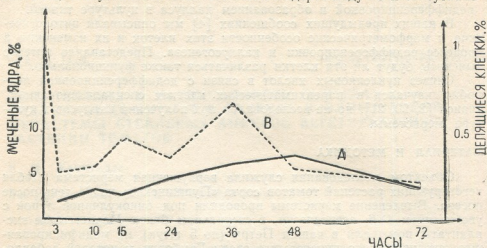


Рис. 1. Процент ядер меченых H^3 -тимидином (кривая насыщения) в клетках периферической зоны меристемы в первые трое суток после изолирования (А) и митотический индекс (В)

связано, очевидно, с началом интенсивного деления в клетках периферической зоны и образованием каллусных клеток. Между 7—17 сутками меченые ядра наблюдаются в основном в каллусных клетках;

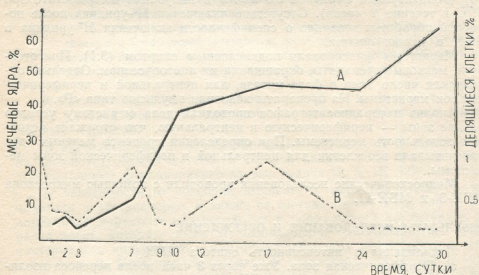


Рис. 2. Процент ядер меченых H^3 -тимидином (кривая насыщения) в клетках периферической зоны изолированной меристемы (А) и митотический индекс (В).

продолжающееся возрастание их числа связано с достаточно интенсивным делением каллусных клеток. Между 17 и 24 сутками число меченых ядер стабилизируется на уровне ~ 50%, что отражает, по-видимому, прекращение вступления новых клеток в митотический цикл.

Однако между 24 и 30 сутками снова наблюдается увеличение числа меченых ядер. Митотический индекс в это время очень низок. Число меченых ядер увеличивается значительно и является, несомненно, достоверным. Эту ситуацию можно объяснить двумя способами. Во-первых, это может быть следствием вступления в синтетическую фазу клеток, образующих меристематические очаги, в которых затем произойдет дифференцировка корневых апексов. Во-вторых, это может быть результатом синтеза ДНК в связи с эндоредупликацией. В пользу последнего предположения говорит то обстоятельство, что между 24—30 днем резко увеличивается не только число меченых ядер, но и число зерен серебра на ядро. До 24 дня существенных различий по числу зерен на ядро в разные сроки наблюдения мы не отмечали.

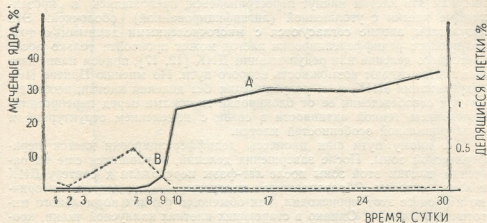


Рис. 3. Число меченых ядер в клетках центральной зоны изолированной меристемы — кривая насыщения (А) и митотический индекс (В)

б) Центральная зона. Анализ радиоавтографов в ядрах клеток центральной зоны изолированной меристемы показал, что ядра клеток центральной зоны не включают метку в течение 7 суток инкубации (рис. 3). На 8 сутки появляются меченые ядра в очень небольшом числе клеток (~2%), несколько больше их становится на 9 сутки (~5%). К 17 суткам число меченых ядер резко возрастает и в дальнейшем сохраняется на постоянном уровне ~30%.

Интересно сопоставить данные о синтезе ДНК с их митотической активностью (рис. 3). В течение первых 7 суток в клетках этой зоны наблюдаются только отдельные митозы и все они характеризуются отсутствием сетки. На 10 сутки и позже в клетках центральной зоны митозов совсем нет. Однако именно в это время наблюдается возрастание числа меченых ядер в этой зоне.

Изучение локализации и интенсивности синтеза ДНК в клетках изолированной меристемы в сопоставлении с митотической активностью могло дать ряд дополнительных сведений об особенностях перехода этих клеток к каллусообразованию. Отсутствие меченых митозов в первые трие суток инкубирования изолированной меристемы на питательной среде с H^3 -тимидином указывает, что митозы, наблюдающиеся в это время как в клетках периферической, так и в клетках центральной зоны, подготовлены еще во время нахождения этих клеток в составе меристемы целого растения. Это объяснение более вероятно для клеток периферической зоны, где активность клеточных делений почти прекращается ко второму дню, а далее, после перестройки, наблюдается значительное увеличение числа меченых ядер и затем митозов,

и менее вероятно для клеток центральной зоны, где появление меченых ядер в ощутимом количестве наблюдается только на десятые сутки культивирования меристемы. В отношении клеток центральной зоны более вероятным является предположение, что эти клетки входят в митоз из G_2 фазы митотического цикла. Наиболее примечательным результатом, полученным при изучении особенностей синтеза ДНК в клетках изолированной меристемы, нам кажутся различия между клетками разных зон, составляющих эту гетерогенную образовательную ткань. Клетки центральной части меристемы не синтезируют ДНК в течение первых 8—10 дней выращивания меристемы, хотя небольшая митотическая активность в них наблюдается. Достаточно интенсивное включение предшественника в ДНК ядер начинается перед тем, как эти клетки начнут перестраиваться, превращаясь в прозенхимные клетки с утолщенной (лигнифицированной) оболочкой. Эти результаты вполне согласуются с многочисленными данными о том, что процесс редифференцировки клеток может произойти только после клеточного деления или редупликации ДНК [12, 17], причем наши данные подтверждают возможность второго пути. По мнению Цанева [13], редупликация ДНК, т. е. редупликация без деления клетки, необходима для освобождения ее от блокировки гистонами перед перепрограммированием генной активности в связи с изменением структурной и функциональной особенностей клетки.

По иному пути шли процессы дедифференцировки клеток периферической зоны. После завершения делений, начавшихся еще на растении, клетки этой зоны после лаг-фазы переходили к синтезу ДНК и затем митозам. Образовавшиеся каллусные клетки делились вторично и процесс этот происходил, как обычно, в рамках нормального митотического цикла. Однако в стареющих клетках каллусной ткани, кроме обычных митозов, происходят, очевидно, эндомитозы, что следует из результатов, показывающих увеличение числа меченых ядер и числа зерен на ядро при сохранении митотической активности почти на нулевом уровне.

Локализация и интенсивность синтеза РНК

а) Периферическая зона. Во всех клетках периферической зоны изолированной меристемы в О-точке наблюдалось включение H^3 -уридина в РНК цитоплазмы и ядер. Количество клеток, включающих метку, составляет ~ 100%.

Уже в исходном материале среднее число зерен на клетку равно $16 \pm 0,39$. Пределы варьирования достаточно широкие от 10 до 30 зерен. Гетерогенность клеток периферической зоны в отношении интенсивности синтеза РНК резко увеличивается в течение первых суток культивирования. Пределы варьирования составляют 12—83 зерен, при среднем числе зерен на клетку $34 \pm 1,61$. Однако в период почти полного прекращения деления (3 сутки) клетки становятся более выравненными в отношении синтеза РНК (10—25 зерен на клетку), а средний уровень числа зерен на клетку падает до $15 \pm 0,36$. В течение всего последующего процесса каллусообразования и морфофизиологических изменений в каллусных клетках в периферической зоне сохраняется большая гетерогенность клеток по интенсивности синтеза РНК (рис. 4).

Однако, сопоставив изменение среднего числа зерен на клетку с изменением митотической активности в клетках периферической зоны (рис. 4), можно считать, что до 17 дня интенсивность синтеза РНК в клетках этой зоны хорошо коррелирует с митотической активностью. После 17 дня митотическая активность быстро снижается, тог-

да как интенсивность синтеза РНК остается на высоком уровне, хотя значительно снижается в ядре, а также становится ниже по плотности на единицу площади клетки.

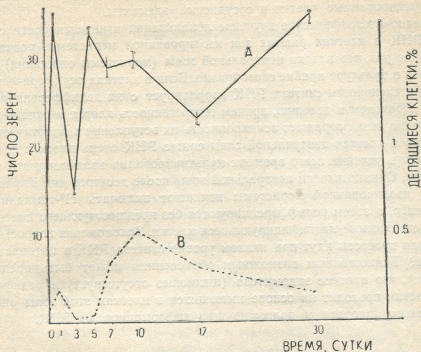


Рис. 4. Число зерен серебра на клетку (А) и митотический индекс (В) для периферической зоны меристемы при импульсной метке с помощью H^3 -уридина

б) Центральная зона. Уже в исходном материале в клетках центральной зоны изолированной меристемы заметна более слабая активность клеток в отношении синтеза РНК, число меченых клеток не превышает 70%, а число зерен на клетку в среднем 7%. В дальнейшем число клеток, включавших меченый H^3 -уридин, повышается, но не достигает 100%, интенсивность включения остается столь же низкой.

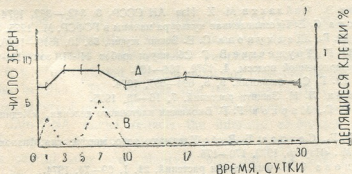


Рис. 5. Число зерен серебра на клетку (А) и митотический индекс (В) для центральной зоны меристемы при импульсной метке с помощью H^3 -уридина

Сопоставление изменения интенсивности синтеза РНК в клетках центральной зоны и митотической активности не указывает на четкую

корреляцию между этими процессами (рис. 5). Синтез РНК происходит примерно с одинаковой интенсивностью в течение всего периода культивирования, в том числе и при их редифференцировке в прозенхимные, лигнифицированные клетки и сосудистые элементы.

Радиоавтографическое изучение локализации и интенсивности синтеза РНК в клетках разных зон изолированной меристемы, подтвердили еще раз, что клетки центральной зоны (меристемы ожидания) ведут себя в культуре крайне своеобразно. Если в клетках периферической зоны интенсивность синтеза РНК коррелирует с их дедифференцировкой и переходом к делению, причем гетерогенность клеток в отношении включения метки отражает асинхронность их вступления в митотический цикл, то в клетках центральной зоны синтез РНК очень низок и не изменяется в течение всего времени культивирования изолированной меристемы. Однако клетки центральной зоны после десятого дня выращивания изолированной меристемы начинают включать H^3 -тимидин в ДНК ядер, а затем редифференцируются без предшествующего деления как прозенхимные, лигнифицирующиеся клетки. Закономерен вопрос: почему эти процессы идут при низком уровне синтеза РНК в цитоплазме и ядре? Единственным возможным объяснением может быть предположение, что процесс эндомитоза (цитокinesis отсутствует) и редифференцировки проходит на основе имеющихся в клетках этой зоны рибосомального аппарата и долгоживущих информационных РНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гукасян И. А. Дифференциация апексов стеблей при переходе растений от вегетативного роста к генеративному развитию, Автореф. канд. дисс., М., 1971.
2. Дмитриева Н. Н. Индукция клеточных делений в сердцевинной паренхиме стебля табака, Автореф. канд. дисс., М., 1972.
3. Епифанова О. И., Терских В. В. Метод радиоавтографии в изучении клеточных циклов, «Наука», М., 1969.
4. Кацитадзе К. П. В сб.: II Всесоюзная конференция по культуре клеток растений, Киев, 1975, 32—33.
5. Миляева Э., Чайлахян М. Х. Изв. АН СССР, 3, 342—352, 1974.
6. Морозова С. Е. Промышленная культура малины в РСФСР, М., 1975, 38—41.
7. Попов Ю. Г., Щелкунова С. Е. Ботан. журн., 58, 10, 1519—1520, 1973.
8. Попов Ю. Г., Трушечкин В. Г. Сб. науч. работ. Н.-И. зон. Ин-та садоводства нечерноземной полосы, 4, 1972, 184—186.
9. Попов Ю. Г. С/х биология, 9, 5, 694—697, 1974.
10. Трофимец Л. Н. Защита растений, 7, 16—18, 1975.
11. Цанев Р. Г., Марков Г. Г. Биохимия клеточного деления, «Медицина», М., 1964.
12. Цанев Р. Г., Сендов Б. В. сб.: Клеточное ядро, морфология, физиология, биохимия, М., «Наука», 1972, 170—175.
13. Щелкунова С. Е. Физиология растений, 21, 1, 69—74, 1974.
14. Vuvaf R. Ann. Sci. Nat. Bot., 13, s 11, 199—205, 1952.
15. Fosket D. E., Torrey J. G. Plant Physiol., 44, 871—873, 1969.
16. Lance-Nougarede A. Internat. Rev. Cytol., 21, 203—208, 1967.
17. Morel G. Rev. Cytol. Biol. Vég., 27, 307—314, 1964.
18. Steward F. Amer. J. Bot., 45, 705—708, 1958.
19. Yeoman M. M. Ann. Bot., 31, 323—327, 1967.

ტომატის ვეგეტატიური მცენარეიდან იზოლირებული ლეროს
აკიკალური მერისტემის უჯრედებში ნუკლეინის მჟავათა
სინთეზის ლოკალიზაციისა და ინტენსივობის შესწავლა

ბ. კავიტაძე

საქართველოს სსრ მეცნერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის
ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

იზოლირებული მერისტემის უჯრედებში ღწმ და რწმ სინთეზის ციტო-
რადიოავტოგრაფიული მეთოდით შესწავლამ გვიჩვენა, რომ ნიშანდებული
ბირთვების რიცხვი მერისტემის პერიფერიულ ზონაში 65%-ს არ აღემატება.
მერისტემის გამოყოფიდან პირველი ორი დღის განმავლობაში ხდება უჯრე-
დების დაყოფა, რომლებიც ნიშანდებულნი არ არიან. ეს იმას ნიშნავს, რომ
უჯრედებში ღწმ სინთეზი ჯერ კიდევ მანამდე მომხდარა, ვიდრე მერისტემას
მთლიანი მცენარეიდან გამოეყოფიდა. ამის შემდეგ ღწმ სინთეზი მთლიანად
ასახავს კალუსურ უჯრედებში დაყოფის ინტენსიურობას და აგრეთვე ამ უჯ-
რედებში პოლიპლოიდიზაციის პროცესს. მერისტემის ცენტრალურ ზონაში
ნიშნის ჩართვა კულტივირებიდან მხოლოდ ათი დღის შემდეგ არის შესა-
ჩნევი, რასაც თან არ ახლავს შემდგომი მიტოზები, და უჯრედებში მომხდარი
პირდაპირი რედუქციონირების შედეგს წარმოადგენს.

პერიფერიული ზონის უჯრედებში რწმ-ის ჩართვის ინტენსიურობა მის
მიტოზურ აქტივობას შეესაბამება, მაშინ როდესაც, მერისტემის კულტივი-
რების ყველა ეტაპზე, ცენტრალური ზონის უჯრედებში რწმ სინთეზი მეტად
დაბალია და ამ უჯრედების გარდაქმნებთან დაკავშირებით არ იცვლება.

LOCALIZATION AND INTENSITY OF RNA SYNTHESIS IN THE ISOLATED MERISTEMIC CELLS OF THE STEM APEX IN VEGETATIVE TOMATO PLANTS

K. P. KATSITADZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

Studies on the intensity and localization of DNA and RNA synthesis in the cell of isolated meristem by cytoradioautography have shown that the number of cell nuclei of the meristem peripheral zone does not exceed 65%. Label is not incorporated into the divisions observed during the first two days after isolation. This indicates that the phase of DNA synthesis in these cells has occurred before the isolation. Subsequently, the incorporation of the label into DNA nuclei reflects the intensity of division in callus cells and the process of polyploidization in them. Label incorporation into DNA in the central zone was observed only ten days after cultivation accompanied by no further mitosis representing the basis for a subsequent direct redifferentiation in the cell of the central zone.

In the cell of peripheral zone the intensity of RNA incorporation is correlated with a mitotic activity, while the intensity of RNA synthesis is lower at all cultivation stages and is not changed due to the reconstruction of these cells.

УДК 581.522.4

ЭКОЛОГИЯ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЕСТЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА ХРАМУЛИ Р. КУРЫ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Р. С. Шавердашвили, Т. Р. Кокосадзе

Центральная контрольно-производственная лаборатория промышленного объединения
«Грузрыбпром», Тбилиси

Поступила в редакцию 19.3.1977

Статья посвящена хозяйственно важному вопросу: эффективности естественного воспроизводства храмули р. Куры в условиях зарегулированного стока и других факторов, вызванных хозяйственной деятельностью человека. Рассчитаны биомассы и коэффициент промыслового возврата как отдельных возрастных групп, так и в целом популяции. Освещен вопрос отрицательного влияния нерегулируемого промысла. Дается рекомендация по рациональному использованию биомассы курийской популяции храмули.

Разрешение всего комплекса вопросов по сохранению рыбных запасов в условиях реконструкции речного стока требуют знаний эколого-биологического характера, без которых невозможна действенная организация искусственного воспроизводства хозяйственно-ценных видов.

Особое внимание при изменении гидрологического и гидробиологического режима рек необходимо уделять количественной стороне естественного воспроизводства, так как без ее сохранения невозможна охрана и хозяйственная эксплуатация гидробиологических ресурсов наших внутренних водоемов в современных условиях.

В частности, мы имеем в виду коэффициент промыслового возврата от естественного нереста, в данном конкретном случае курийской храмули *Varicorhinus capoëta* (Güld), материалы исследования которой легли в основу настоящей статьи.

При подготовке материала нами учтен огромный опыт работ советских ученых, обобщенный в рыбохозяйственной и ихтиологической литературе. Это касается в первую очередь А. Н. Державина, Ю. Ю. Марти, Н. И. Кожина, М. И. Тихого, Н. Л. Чугунова, Б. И. Черфаса и других специалистов, труды которых легли в основу восстановления численности осетровых Каспия, не имеющего прецедента в мировой рыбохозяйственной практике.

Вопросы, разбираемые в настоящей статье, имеют двоякий интерес. Во-первых, первостепенное значение мы придаем знанию закономерностей динамики численности промысловой ихтиофауны. Во-вторых, подобного рода исследования необходимы при организации искусственного воспроизводства промысловых видов рыб, на численность которых значительно повлияла деятельность человека. Вместе их объединяет современное действие антропогенных факторов, создающих

массу противоречий, поиски выхода из которых требуют решения эколого-биологических задач, чему и посвящена настоящая работа.



О МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ОСНОВАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЕСТЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА РЫБ

Промысловый возврат, или количественный показатель выживания, является показателем того количества промыслового улова, которое может быть получено в течение определенного числа лет из имеющегося в данный момент количества исходных ранних стадий (икры, личинок или молоди).

Аналогичным промысловому возврату является рыбоводный коэффициент [2].

Во всех этих показателях величина исходных ранних стадий (икра — молодь) сопоставляется с величиной улова. Здесь необходимо учитывать, что кроме промыслового в природе имеется показатель биологического выживания, который учитывает количество особей из имеющегося в водоеме (реке) исходного материала, достигающих половозрелого возраста. Под выживанием подразумеваются все стадии от икры, личинок, мальков, сеголеток, годовиков и т. д. до возраста, когда рыба становится половозрелой и принимает участие в воспроизводстве.

Во всех случаях показатель биологического выживания выше промыслового коэффициента. Эти показатели могут совпадать лишь в прудовых хозяйствах (вследствии полной их подконтрольности).

Анализ работ по установлению коэффициента промыслового возврата показывает, что все исследователи, несмотря на различную терминологию, стремятся дать в относительных показателях выживание взрослых рыб от того или иного исходного материала (икра, личинки, мальки, производители и т. д.). Поскольку выживание вычисляется по данным промысловых уловов, во всех случаях мы имеем промысловое выживание, т. е. показатели промыслового возврата.

За относительный показатель промыслового выживания принят «коэффициент промыслового возврата», показывающий, какой процент взрослых особей выживает до промыслового размера и веса.

Установление показателей выживания до промыслового возраста методически очень сложно. Вокруг этого вопроса всегда возникают большие споры.

Во всех случаях при изучении промыслового возврата, будь это экспериментальные работы или методы теоретических вычислений, показатели промыслового выживания обычно определяются согласно данным статистики годового улова. Эти данные подтвердили, что показатели промыслового выживания для одного и того же вида дают значительные колебания по отдельным годам и отдельным бассейнам. Числовое выражение показателей промыслового выживания будет всегда выше для видов с небольшой плодовитостью (в случаях проявления заботы о потомстве). Числовое выражение показателей промыслового выживания будет также выше для подрастающей молоди, нежели для отложенной икры, личинок.

Ни экспериментальный метод, ни метод теоретических вычислений не свободны от различного рода допущений, аналогий и обобщений, однако при теоретических вычислениях их больше [1].

В настоящее время общепризнано, что оплодотворение и развитие икры в естественных условиях проходит достаточно совершенно и что наибольшие потери в природных условиях приходится не на эмбриональный, а на ранний постэмбриональный период. Особенно большая гибель личинок рыб наблюдается при переходе на активное питание.

Этот период связан с отрывом личинок от субстрата и подъемом в верхние слои воды. Если это, к тому же, происходит в реке, сток которой регулируется, начавшие активную жизнь личинки и мальки выносятся из реки и гибнут в оросительных системах с недостроенными рыбозащитными устройствами или же в турбинах электростанций.

В реках Грузии из промысловых видов рыб мы имеем осетровых (р. Риони), лососевых (реки Абхазии), форель (верхние течения почти всех рек), карповые — храмули, усачи и др. (все крупные реки Восточной и Западной Грузии).

Таблица 1

Краткая сводная таблица коэффициентов промыслового возврата
(по Н. И. Кожину [1])

В и д	Исходные элементы расчета	Коэффициент промыслового возврата в %
Осетр русский	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,0104
Себряга	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,018—0,036
Лосось	$\frac{\text{Улов}}{\text{мальки}}$	0,14—0,19
Лосось	$\frac{\text{Улов}}{\text{сеголетки}}$	0,3—1,0
Лосось	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,125
Озерный лосось	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,09—0,125
Карповые	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,012—0,015
То же	$\frac{\text{Улов}}{\text{плодовитость}}$	0,008—0,023
То же	$\frac{\text{Улов}}{\text{покатная молодеь}}$	1
То же	$\frac{\text{Поколение}}{\text{плодовитость}}$	0,0006—0,022

В табл. 1 сведены данные коэффициентов промыслового возврата основных видов. Приведенные данные показывают насколько значительны колебания выживания даже у одного и того же вида рыб в отдельные годы.



Между тем, показатели выживания являются основой всех расчетов при проектировании искусственного рыбозаведения и оценке его эффективности.

В основу расчета количества производителей храмули, участвующих в естественном воспроизводстве в р. Куре на территории Грузинской ССР, мы взяли материал биологических анализов из промысловых уловов за 1973—1976 гг., а также полученные данные относительно гибели храмули в оросительных системах. Весь материал обработан вариационно-статистическим методом, причем особое внимание уделено размерно-возрастному распределению храмули в промысловых уловах. При подсчете количества производителей в основу положены данные промысла и результаты биологических анализов средних проб [3].

Таблица 2
Расчетный показатель биологического выживания храмули по данным 1973—1976 гг.

Стадия	Количество выживших особей		Процент выживших особей от всего количества выметанной икры
	в шт	в % от предыдущей стадии	
Икра	954000 000	—	—
Личинки и мальки	95400 000	10,0	10,0
Сеголетки	19080000	20,0	2,0
Годовики	47700 000	25,0	0,5
Двухгодовики	1717200	36,0	0,18
Трехгодовики	875772	51,0	0,09
Четырехгодовики	516706	59,0	0,05
Пятигодовики	377195	73,0	0,03
Шестигодовики	331932	88,0	0,03

Количество производителей рассчитывалось по статистически достоверному среднему весу одного экземпляра. Соотношение самок и самцов принималось как 1:2.

Таблица 3
Расчетная биомасса храмули (кг) на каждом году жизни одного поколения

Возраст	Количество выживших рыб нереста в шт	Средний вес 1 шт в г	Биомасса в кг
Годовики	4770 000	10,2	48654
Двухгодовики	1717200	52,0	89294
Трехгодовики	875772	116,9	102377
Четырехгодовики	516706	343,1	177281
Пятигодовики	377195	447,3	168719
Шестигодовики	331932	501,6	166497

В среднем за указанные годы в р. Куре в пределах Грузинской ССР, по нашим подсчетам, в нересте одновременно участвовало 53000 самок. При осредненной цифре их индивидуальной плодовитости, равной 18000 икринок [4], общее количество выметанной икры было 954 млн. шт. Максимальное количество потерь приходится на период инкубации и личиночную стадию. Процент гибели в этот период мы принимаем за 90. В р. Куре потребителями икры и личинок храмули являются следующие виды рыб: усач, уклейка, чанари, куринский усач,

головль, пескарь, голец и др. Встречаемость икры в желудках указанных рыб в период размножения, т. е. икрометания, может доходить до 30—40% пищевого комка. Икра, в свою очередь, является быстро усвояемым продуктом и ее перевариваемость позволяет полагать, что хищниками уничтожается еще более значительное количество отложенной икры. Кроме указанного, существует целый ряд факторов среды, ограничивающих численность этого вида.

В табл. 2 сведены данные, показывающие биологическую выживаемость потомства куринской храмули. Эти данные свидетельствуют о той напряженности, которая существует между видом и окружающим его факторами внешней среды. Здесь ясно видно, что только «закон больших чисел» позволяет сохранить численность, в данном конкретном случае храмули, на необходимом уровне.

Допуская, что биологическое выживание возможно при условии отсутствия пресса промысла и других факторов антропогенного происхождения, в табл. 3 мы приводим биомассу, которую может дать одно поколение храмули на каждом году жизни.

Как видим, расчетная биомасса, которую дает одно поколение, достаточно внушительная. Однако, как это будет показано ниже, уже в первые 3 года жизни более 80% пополнения выпадает из этого расчета.

Таблица 4

Промысловое изъятие храмули различных возрастных групп: расчетный и фактический коэффициенты промыслового возврата (расчетный—по определенным данным за 1973—1976 гг., а фактический—по данным улова храмули в 1976 г.)

Возраст	Количество проанализированных рыб в шт	Количество в %	Расчетный коэффициент промыслового возврата	Фактический коэффициент промыслового возврата
1	1247	18,62	0,09	0,004
2	2270	33,92	0,06	0,0008
3	1891	28,25	0,02	0,004
4	1132	16,91	0,009	0,0004
5	140	2,09	единицы	0,0004
6	11	0,16	"	0,00004
Всего	6691	99,95	0,179 (0,18)	0,00964 (0,01)

В табл. 4 даны материалы, показывающие долю (в промысловом изъятии) каждой возрастной группы одного поколения и коэффициент промыслового возврата.

Материалы даны на основании биологических анализов промысловых уловов и гибели храмули в результате регулирования стока р. Курь. В отличие от данных табл. 3, здесь приведены материалы по возрастным группам различных поколений, поэтому фактический показатель коэффициента промыслового возврата, например двухгодовалков, резко отличается от расчетного. Объясняется это, на наш взгляд, большим промысловым изъятием в предыдущем году или малой численностью народившегося поколения.

Исходными элементами для расчета обоих коэффициентов послужили плодовитость и улов. Коэффициент промыслового возврата по возрастным группам высчитан согласно данным, приведенным в табл. 2 и 3.

Как видим, разница в коэффициентах (0,18 и 0,01) существенная. Мы считаем, что эта разница является следствием отсутствия непра-

ვильного статистического учета и контроля за промыслом. Здесь необходимо оговориться, что под промыслом мы подразумеваем не только 6 с небольшим тонн храмули, выловленной «Грузрыбпромом», но и неучтенные 18 тонн, которые присвоены рыбаками, изъяты браконьерами.

Резюмируя вышесказанное, мы видим, что потенциальные возможности р. Куры используются нераационально. Одно только регулирование промысла путем увеличения ячей орудий лова позволит сохранить первые 2 возрастные группы храмули; тем самым будут сохранены пополнение к стаду храмули и добыча (за счет прироста массы старших возрастных групп).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кожин Н. И. Тр. ВНИРО, XXI, Пищепромиздат, М., 1951, 127—132.
2. Черкас Б. И. Рыбоводство в естественных водоемах, Пищепромиздат, М., 1956, 49—68.
3. Шавердашвили Р. С., Кокосадзе Т. Р., Нишуа Н. Щ. Биологические науки, 5, 16—19, 1977.
4. Эланидзе Р. Ф., Деметрашвили М. Г., Бурчуладзе О. Г., Курашвили Б. Е. Рыбы пресных вод Грузии, Атлас, «Мецниереба», Тбилиси-1970.

მდ. მტკვრის ხრამულის ბუნებრივი აღწარმოების ეფექტიანობა ანტროპოგენური ფაქტორების გავლენის გამოკვლევის პირობებში

რ. შავერდაშვილი, თ. ჯოჯოხაძე

გაერთიანება „საქთევზმრეწვის“ ცენტრალური საკონტროლო საწარმოო ლაბორატორია, თბილისი

რეზიუმე

დადგენილია, რომ ბუნებრივი და ანტროპოგენური კომპლექსური მოქმედების შედეგად ხრამულის „მოსავალი“ ქვირითის და აღრეემბრიონალურ სტადიაზე ნადგურდება არა ნაკლებ 90% დაყრილი ქვირითის საერთო რაოდენობისა.

ნახევნებია რეწვით დაქერილი და სარწყავ სისტემებში თევზამრიდების გარეშე აშენებულ სათავე ნაგებობებში განადგურებული ხრამულის ასაკობრივი და წონითი შეფარდების მონაცემები 1973—1976 წლებში.

განსაზღვრულია ცალკეული ასაკობრივი კლასების ბიომასა. გამოანგარიშებულია საწარმოო დაბრუნების კოეფიციენტი ცალკეული ასაკის კლასებისათვის და დადგენილია, რომ საერთო კოეფიციენტი ხრამულისათვის არ აღემატება 0,18%.

აღნიშნულია, რომ 1—3 წლამდე ხრამულის თაობების რაოდენობა რეწვის ნადავლში 80% შეადგენს. რეკომენდირებულია ბადეების სელექტიურობის რეგულირების საშუალებით შენარჩუნებული იყოს 1 და 2 წლიანი ხრამული, რაც დიდ სარეწავო ეფექტს მოგვცემს თევზის ინდივიდუალური მასის ნმატის შედეგად.

EFFECTIVENESS OF NATURAL REPRODUCTION OF KHRAMULI OF THE KURA RIVER UNDER THE FACTORS OF ANTHROPOGENIC ORIGIN

R. S. SHAVERDASHVILI, J. R. KOKOSADZE

The Central Control Production Laboratory "Gruzribprom", Tbilisi, USSR

Summary

The data allowing the determination of effectiveness of natural reproduction of Khramuli in Georgia under the conditions of regulated drainage are analysed.

A combined action of natural and antropogenic factors limiting the reproduction of Khramuli was shown to destroy the "Harvest" at the stage of spawn and larva within the limits of no less than 90% of the total quantity of spawn. Information concerning age and weight composition of Khramuli during the fishings of 1973-76 and the calculated biomass of every year class are given. The factor of fishing return for separate age groups is also calculated. The factor for Khramuli appeared to be within the range of 0.18%.

In the first 3 years of life Khramuli constitutes 30% of replenishment of the fishing herd. It is recommended to preserve the first 2 age groups regulating the selectivity of fishing tools, thus increasing the biomass at the expense of separate species mass increase, which gives an appropriate fishing effect.

УДК 575.576.8

ГЕНЕТИКА

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ ЗЕРНА У МЕЖРОДОВЫХ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ И ИХ ИСХОДНЫХ ФОРМ

З. В. Гольденберг, А. Д. Горгидзе, О. Т. Хачидзе

*Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси,
Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.2.1977

Из зерновок межродовых пшенично-ржаных гибридов и исходных форм выделены белковые фракции: альбумины, глобулины, глютенины и глиадины. Изучен их аминокислотный состав.

Высоким содержанием незаменимых аминокислот, в частности лизина, выделяются фракции легкорастворимых белков (альбуминов и глобулинов).

Выявлены различия по аминокислотному составу у межродовых гибридов и исходных форм.

Из исследованных образцов по содержанию полноценного растительного белка наиболее перспективными оказались пшенично-ржаной амфидиплоид $2n=42$ (Горгидзе) и амфидиплоид $2n=56$ (Писарев).

Питательная ценность зерновок хлебных злаков зависит не только от общего содержания белка, но и от соотношения белковых фракций и сбалансированности аминокислотного состава, особенно количественного содержания незаменимых аминокислот, из которых лимитирующими являются лизин, метионин и триптофан. Последние не могут синтезироваться в организме человека и животных и их содержанием определяется высокая биологическая ценность растительного белка [6, 8, 10].

По содержанию незаменимых аминокислот отдельные белковые фракции зерна пшеницы значительно различаются.

В настоящее время ведется большая работа по выведению сортов с высоким содержанием полноценного белка. В этом отношении практический и теоретический интерес вызывают пшенично-ржаные амфидиплоиды. Благодаря сочетанию таких признаков, как высокое содержание белка и лизина, многоколосковость и многоцветковость, амфидиплоиды обладают более высокими потенциальными возможностями в повышении продуктивности, чем исходные формы.

Исследователи, работающие в области отдаленной гибридизации [2, 8, 11, 12], обратили внимание на гексаплоидные формы тритикале, обладающие более высокой продуктивностью по сравнению с октоплоидными формами.

Нами изучен аминокислотный состав белков зерновок пшенично-ржаных амфидиплоидов: 1) Венгерский ($2n=42$) — скрещивание твердой пшеницы с рожью; 2) Горгидзе ($2n=42$) — скрещивание древнеколхидской пшеницы с рожью; 3) двойной пшенично-ржаной амфидиплоид Горгидзе — скрещивание амфидиплоидов $2n=56$ (Писарев)

с 2п=42 (Горгидзе); 4) Писарев (2п=56) — скрещивание мяской пшеницы с рожью.

Кроме того, нами исследованы исходные формы: древнекохридская полба (*T. palaeocolchicum*), мягкая пшеница (*T. aestivum*), твердая пшеница (*T. durum*) и рожь (*Secale*).

Выделение отдельных белковых фракций (альбуминов, глобулинов, глиадинов и глютеинов) проводили по методике Осборна [12, 9]. Гидролиз белка проводили в 6N HCl в запаянных ампулах при температуре 110°C в течение 24 часов. Аминокислотный состав определяли на аминокислотном анализаторе фирмы «Jeol» Японии. При анализе белковых фракций были выявлены различия по содержанию аминокислот между видами пшениц и межвидовых гибридов. Результаты биохимического анализа по аминокислотному составу представлены в 4-х таблицах по фракциям.

Водорастворимая фракция (альбумины). Как видно из табл. 1, в водорастворимой фракции содержится наибольшее количество незаменимых аминокислот. Сумма незаменимых аминокислот в среднем у исходных форм *T. palaeocolchicum* — 18,9%, *T. durum* — 37,1%, *T. aestivum* — 33,8%, *Secale* — 24,3%. Наиболее

Таблица 1
Аминокислотный состав водорастворимой фракции (альбумины) в %

Аминокислота	Виды и гибриды							
	<i>T. palaeocolchicum</i> v. <i>cheimite</i> .	<i>T. durum</i> v. <i>apulicum</i>	<i>T. aestivum</i> v. <i>erythrosp.</i>	<i>Secale</i> многолет.	<i>Triticale</i> 2n-42 (Вен. ре.)	<i>Triticale</i> 2n-42 (Горгидзе)	<i>Triticale</i> 2n-56 (Писарева)	Полгибридный гибрид (Горгидзе)
Лизин	3,9	5,7	5,7	8,0	5,8	5,2	5,1	6,0
Гистидин	1,4	2,8	2,6	1,5	3,1	2,9	3,9	3,9
Аргинин	7,9	10,2	8,3	1,5	6,5	5,9	9,8	12,6
Аспарагиновая к-та	9,3	9,5	9,5	1,5	9,8	9,8	9,8	7,6
Треонин	4,5	4,5	3,8	3,4	3,9	3,6	3,7	3,8
Серин	5,6	4,1	3,4	2,4	4,2	3,8	3,8	5,3
Глютаминová к-та	17,2	12,6	15,3	10,7	12,0	12,8	13,1	10,8
Пролин	8,2	8,0	7,0	6,8	8,6	8,0	6,2	5,4
Глицин	5,6	5,4	7,3	10,4	5,0	5,4	5,5	4,3
Аланин	5,9	6,2	7,0	12,1	7,2	7,2	7,5	5,9
Цистин	+	+	+	+	+	+	+	+
Валин	5,9	6,5	6,8	14,2	7,8	10,9	8,0	6,7
Метионин	0,5	0,2	0,2	+	1,2	0,9	0,7	0,8
Изолейцин	4,2	5,3	6,7	4,5	3,4	3,4	4,1	4,2
Лейцин	7,7	8,8	8,5	6,5	8,8	9,2	8,2	7,6
Тирозин	4,8	5,0	4,2	+	5,5	5,8	5,1	5,8
Фенилаланин	5,4	4,0	4,0	+	5,5	5,5	4,6	4,9

характерным для этой фракции является высокое содержание лизина — 5,7% у *T. durum* и *T. aestivum*, а для ржи отмечено высокое содержание лизина (8,0%), аланина (12,1%), валина (14,2%).



Интересные данные были получены для межродовых пшенично-ржаных гибридов по аминокислотному составу, среди которых особенно выделяется полигеномный пшенично-ржаной гибрид. В наследственную основу нового гибрида входят геномы *T. palaeocolchicum*, *T. aestivum* и *Secale* (многолетней и однолетней) [2]. По содержанию некоторых незаменимых аминокислот (валин, фенилаланин, метионин, аргинин), превосходящему материнскую форму, т. е. пшеницу, также следует отметить и амфидиплоид $2n=56$ (Писарев). Характерной особенностью всех амфидиплоидов является то, что наследование незаменимой аминокислоты — лизина идет по отцовской линии, т. е. ржи, которая является высоколизинным образцом или наследуется по промежуточному типу. По содержанию незаменимых аминокислот (лизина, метионина, валина) амфидиплоид $2n=42$ (Горгидзе) превышает материнское растение пшеницу — *T. palaeocolchicum*. Этот гибрид интересен тем, что он характеризуется двухлетним циклом развития, самофертильностью, высокой продуктивностью, прочной соломиной и иммунитетом к грибным заболеваниям, т. е. признаками весьма перспективными для селекции.

Таблица 2
Аминокислотный состав солаерастворимой фракции (глобулины) в %

Аминокислота	Виды и гибриды							
	<i>T. palaeocolchicum</i> v. <i>chevantic.</i>	<i>T. durum</i> v. <i>aralicum</i>	<i>T. aestivum</i> v. <i>erythrosp.</i>	<i>Secale</i> многолет.	<i>Triticale</i> 2n-42 (Бен-реп.)	<i>Triticale</i> 2n-42 (Горгидзе)	<i>Triticale</i> 2n-46 (Писарева)	Полгибридный гибрид
Лизин	6,0	6,3	6,5	8,0	6,7	6,4	6,9	6,0
Гистидин	2,3	2,3	1,2	5,0	2,0	1,3	2,2	2,4
Аргинин	9,1	9,9	7,4	9,7	10,6	12,3	10,8	11,0
Аспарагиновая к-та	10,5	9,7	10,5	14,7	8,8	9,4	12,7	9,9
Треонин	2,8	4,6	3,2	6,6	3,5	3,2	3,8	4,1
Серин	2,7	4,4	2,5	5,8	3,4	5,5	4,0	4,3
Глютаминовая к-та	18,5	18,3	18,8	18,1	14,7	14,4	14,4	13,3
Пролин	6,9	4,1	5,9	+	4,6	6,1	6,3	3,7
Глицин	7,5	5,4	7,2	8,3	6,1	6,7	7,1	6,3
Аланин	9,3	6,5	8,0	4,7	7,2	5,5	7,8	6,4
Цистин	+	+	+	+	+	+	+	+
Валин	7,7	7,2	8,5	6,4	8,4	7,6	2,5	7,7
Метионин	0,3	1,6	0,4	7,0	0,8	0,6	0,5	0,6
Изолейцин	3,4	4,2	4,5	8,5	4,6	3,4	2,1	4,8
Лейцин	6,9	9,1	7,6	7,2	7,9	9,3	8,1	9,6
Тирозин	2,8	3,4	2,8	+	2,3	2,5	1,9	3,8
Фенилаланин	3,9	4,5	3,9	+	3,6	4,3	4,0	5,3

Солаерастворимая фракция (глобулины). Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что глобулины родительских форм (*T. palaeocolchicum*, *T. durum*, *T. aestivum*, *Secale*) по содержанию незаменимых аминокислот (лизина, валина, лейцина, метионина) превосходят альбуминовую фракцию. Особенно выделяются виды *T. durum* и *T. aestivum*. В глобулиновой фракции глютаминовой кислоты и пролина больше, чем в альбуминовой фракции.

Для глобулинов ржи характерно наивысшее содержание лизина (8,0%) и метионина (7,0%). Вообще, если сравнить аминокислотный состав белка пшеницы и ржи, то заметим, что зерно ржи содержит почти в 1,5 раза больше лизина и метионина, которые являются лимитирующими аминокислотами [10]. Исходные формы (пшеницы) характеризуются высоким содержанием аминокислот (аргинина содержится от 7,4 до 11,0%, аланина 6,5—9,3%; глютаминовой кислоты у пшениц в глобулиновой фракции больше, чем в альбуминовой). Для амфидиплоидов характерно, что в глобулиновой фракции содержание аминокислот или совпадает, или отклоняется очень незначительно от материнского образца пшеницы.

Спирторастворимая фракция (глиадины). По литературным данным известно, что глиадин самая неполноценная фракция, так как в ней лизин, метионин и другие аминокислоты находятся в меньшем количестве, но зато для глиадинов характерно высокое содержание глютаминовой кислоты, пролина, лейцина, что отмечено и другими авторами [6, 8, 12].

Таблица 3
Аминокислотный состав спирторастворимой фракции (глиадины) в %

Аминокислота	Виды и гибриды							
	<i>T. palaeosolitchicum</i> v. <i>clavimic.</i>	<i>T. durum</i> v. <i>aputicum</i>	<i>T. aestivum</i> v. <i>erythrosp.</i>	Secale микродет.	<i>Triticale</i> 2n-42 (Белгер)	<i>Triticale</i> 2n-42 (Горпидзе)	<i>Triticale</i> 2n-56 (Пн-сарва)	Полноценный гибрид (Горпидзе)
Лизин	0,6	1,2	1,0	1,3	0,7	0,8	1,0	1,0
Гистидин	0,9	1,0	1,7	1,6	0,9	0,8	1,8	1,6
Аргинин	1,5	3,4	3,0	1,8	3,2	3,0	3,9	3,0
Аспарагиновая к-та	1,1	2,4	2,6	5,6	3,7	3,5	2,9	2,8
Треонин	0,9	1,9	2,4	2,4	1,1	1,2	3,0	2,7
Серин	1,7	3,9	4,9	2,9	2,7	4,9	4,9	5,6
Глютаминовая к-та	36,9	30,2	34,9	29,5	29,5	30,1	30,6	28,5
Пролин	14,4	15,0	21,9	13,0	13,1	15,0	15,9	15,0
Глицин	4,7	5,6	3,8	9,5	4,8	5,9	3,2	2,4
Аланин	2,9	3,1	2,1	3,7	3,3	3,1	2,0	2,3
Цистин	0,3	0,1	0,6	0,5	0,1	1,2	1,6	1,3
Валин	3,5	4,2	4,2	4,7	4,7	5,1	4,7	3,3
Метионин	+	+	+	1,5	0,9	1,0	1,0	1,0
Изолейцин	3,5	4,2	4,0	2,7	3,7	4,6	3,3	3,5
Лейцин	3,1	4,3	4,3	8,8	7,9	8,1	8,3	8,3
Тирозин	1,9	2,3	2,2	1,1	1,3	1,5	2,4	2,5
Фенилаланин	6,0	6,1	7,3	3,4	3,1	4,3	6,0	5,9

По нашим данным (табл. 3) среди изученных видов пшениц, только у *T. durum* и *T. aestivum* отмечено более высокое содержание лизина (1—1,2%). У ржи — 1,3% лизина, 1,5% метионина, но глютаминовой кислоты содержится меньше, чем у пшеницы. Обращает на себя внимание тот факт, что белок ржи по содержанию в нем лизина богаче

пшеницы. Положительные свойства белка ржи генетически подтверждаются примерами высококачественных форм *Triticale* [1,3].

По содержанию незаменимых аминокислот (лизин, аргинин, глицин, валин) амфидиплоиды занимают промежуточное положение между родительскими формами. По высокому содержанию аминокислот выделяются высокоплодные амфидиплоиды — Писарев ($2n=56$) и Горгидзе (полигеномный).

Таблица 4
Аминокислотный состав щелочерастворимой фракции (глютенины) в %

Аминокислота	Виды и гибриды							
	<i>T. polaco-cotichium</i> v. <i>chromiticum</i>	<i>T. durum</i> v. <i>apulum</i>	<i>T. aestivum</i> v. <i>erythrosp.</i>	<i>Secale</i> многолет.	<i>Triticale</i> 2n-42 (Вейгер)	<i>Triticale</i> 2n-42 (Горгидзе)	<i>Triticale</i> 2n-56 (Писарева)	Полигеном- ный гибрид (Горгидзе)
Лизин	2,9	3,4	3,3	3,9	3,3	3,1	3,2	3,0
Гистидин	1,4	3,1	2,3	1,4	2,1	2,0	1,5	1,9
Аргинин	4,2	3,8	5,6	4,5	4,7	4,9	4,2	4,7
Аспарагино- вая к-та	3,4	2,0	5,0	6,2	4,8	5,2	6,2	4,9
Треонин	2,8	2,6	3,5	3,7	3,2	3,2	3,5	3,0
Серин	4,0	2,1	5,1	5,7	3,8	3,4	5,1	3,2
Глютамино- вая к-та	30,6	31,4	30,6	23,6	29,3	27,4	22,5	20,8
Пролин	9,8	11,7	11,9	13,7	10,5	12,2	9,3	10,0
Глицин	5,4	4,6	7,3	6,7	7,2	6,8	6,8	7,2
Аланин	4,2	1,5	4,3	4,5	4,9	4,2	4,3	4,5
Цистин	+	+	+	+	+	+	+	+
Валин	5,6	6,2	7,4	8,3	7,1	7,3	5,5	5,5
Метонин	0,5	0,3	0,9	0,3	0,4	0,4	0,7	0,4
Изолейцин	3,0	4,6	4,6	6,4	6,0	4,3	3,2	3,0
Лейцин	5,6	9,9	4,9	7,2	3,0	8,2	6,7	8,0
Тирозин	3,0	6,9	5,0	3,0	4,4	2,6	3,1	4,0
Фенилаланин	3,0	4,7	4,5	4,3	4,5	4,0	3,6	4,0

Щелочерастворимая фракция (глютенины). По нашим данным (табл. 4) отмечено высокое содержание лизина в глютеинах у культурных видов *T. durum* — 3,4% и *T. aestivum* — 3,3%. У этих же видов наблюдается также и высокое содержание аргинина (3,8 — 5,6%), гистидина (1,4—3,1%) и пролина (9,8—11,9%). Среди амфидиплоидов по содержанию аминокислот опять выделяются полигеномный гибрид (Горгидзе) и амфидиплоид $2n=56$ (Писарева).

Таким образом, подытоживая результаты наших исследований, можно отметить, что пшенично-ржаные амфидиплоиды по аминокислотному составу белка занимают промежуточное положение между родительскими формами. Наши данные совпадают с результатами некоторых исследователей [13, 10]. В наших исследованиях во всех белковых фракциях амфидиплоиды по лизину превосходят пшеницу (кроме *T. durum*), но уступают ржи. Высокое содержание лизина в зерновках амфидиплоидов обязано участию в их происхождении генома ржи.

Результаты наших исследований дают полное основание считать, что пшенично-ржаные гибриды являются перспективными по содержанию в зерне полноценного белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брежнев Д. Д. Вестник с/х науки, 3, 18—19, 1974.
2. Горгидзе А. Д. Филогенетика инициальных видов культурной пшеницы и основные пути эволюции рода *Triticum* L., Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1973, 73—75.
3. Губанова Л. Г., Ерошенко Т. Т. Вестник с/х науки, 9, 14—18, 1975.
4. Кретович В. Л. Основы биохимии растений, «Высшая школа», М., 1961, 43—62.
5. Мойса И. И. Бюллетень ВИР, 37, 15—20, 1974.
6. Методы белкового и аминокислотного анализа растений (методические указания), ВИР им. Н. И. Вавилова, Ленинград, 1973, 13—30.
7. Павлов А. Н. Накопление белка в зерне пшеницы и кукурузы, «Наука», М., 1967, 38—65.
8. Писарев В. Е., Жилкина М. Д. Селекция и семеноводство, 4, 52—53, 1963.
9. Тютюрев С. Л., Чмелева З. В., Мойса И. И., Дорофеев В. Ф. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции, 52, 1, 222—242, 1973.
10. Chen C., Bushuk W. Canadian J. Plant Science, 50, 1, 4550, 1970.
11. Kiss A. J. Pflanzenzucht, 55, 10—14, 1966.
12. Larter E. H. Institute Review, 23, 2, 10—14, 1968.
13. Zillinsky F., N. Borlaug N. Res. Bull., 17, 52—60, 1971.

ხორბალ-ჰევის გვართაშორისი ჰიბრიდებისა და საწყისი ფორმების მარცვლის ცილურ ფრაქციანთა ამინომჟავური შემადგენლობა

ზ. გოლდენბერგი, ა. გორბიძე, მ. ხაჩიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიოქიმიის
ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ხორბალ-ჰევის გვართაშორისი ჰიბრიდებისა და საწყისი ფორმების მარცვლიდან გამოყოფილია ალბუმინების, გლობულინების, გლუტელინებისა და გლიადინის ფრაქციები. შესწავლილია მათი ამინომჟავური შემადგენლობა.

შეუცვლელი ამინომჟავების, კერძოდ, ლიზინის მაღალი შემცველობით გამოირჩევა ალბუმინების ფრაქცია.

გამოვლენილია როგორც ხორბლის სახეობების, ისე გვართაშორისი ჰიბრიდების თავისებურებანი ამინომჟავური შემადგენლობას მხრივ.

შესწავლილი ნიმუშებიდან მარცვალში სრულფასოვანი ცილის შემცველობის მხრივ ყველაზე პერსპექტიული აღმოჩნდა პოლიგენომური ხორბალ-ჰევის ჰიბრიდი (გორგძე), ამფიდიპლოიდი 2n-56 (პისარევი), აგრეთვე კულტურული სახეობები *T. durum* და *T. aestivum*.

AMINO ACID COMPOSITION OF SEED PROTEIN FRACTION OF INTERGENERIC WHEAT-RYE HYBRIDS AND OF THE INITIAL FORMS



Z. V. GOLDENBERG, A. D. GORGIDZE, O. T. KHACHIDZE

Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR, Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

From the seeds of intergeneric wheat-rye hybrids and of the initial forms protein fractions: albumine, globuline, gluteline and gliadine were isolated and their amino acid composition studied.

By a high content of irreplaceable amino acids, viz. of lysin, albumine was distinguished.

A variable amino acid composition of different species of wheat and intergeneric hybrids was revealed.

Of the examined samples, by the content of valuable protein, the most long-ranged appeared to be polygenomic intergeneric wheat-rye hybrid (Gorgidze), amphydiploid $2n = 56$ (Pisarev) and also culture species: *T. aestivum* and *T. durum*.

УДК 547.96

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ, КОНЦЕНТРАЦИИ АТФ, ИОННОЙ СИЛЫ И pH СРЕДЫ НА СУПЕРПРЕЦИПИТАЦИЮ И АТФазную АКТИВНОСТЬ СИНТЕТИЧЕСКОГО АКТОМИОЗИНА ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТОЙ МЫШЦЫ КАРПА

Л. Г. Ломидзе, Н. А. Гачечиладзе, М. М. Заалишвили

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 3.2.1977

Изучалась зависимость скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина поперечно-полосатой мышцы карпа от температуры, концентрации АТФ, ионной силы и pH. Показано, что максимумы скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции находятся соответственно в интервале температур 20—30°C и 25—30°C. Скорости суперпреципитации и АТФазной реакции возрастают с увеличением концентрации АТФ до $10^{-3}M$. Скорость суперпреципитации достигает максимума при pH 7,5, а скорость АТФазной реакции — при pH 8. Оптимумы скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина карпа находятся при ионной силе 0,05.

Свойства синтетического актомиозина мышц теплокровных животных, в частности кролика, достаточно хорошо изучены [3, 5, 7, 9]. С точки зрения сравнительного аспекта определенное значение имеет изучение физико-химических свойств белков мышц животных, стоящих на разных ступенях развития. Изучение белков мышц хладнокровных животных (рыб) и их сравнение с аналогичными белками мышц теплокровных животных представляет также определенный интерес.

По данным Дж. Конелла [6] миозин А рыбы обладает такой же вязкостью, электрофоретической подвижностью и коэффициентами диффузии и седиментации, что и миозин кролика и лягушки, но в отличие от него быстро агрегируется и имеет более слабую чувствительность к АТФ. Японскими учеными было показано, что электрофоретическая подвижность актина карпа идентична подвижности актина кролика, но в отличие от него обладает меньшей способностью к полимеризации. Этот актин в соединении с миозином А рыбы образует актомиозиновый комплекс, который обладает аденозинтрифосфатазной активностью и способностью суперпреципитации [11].

Так как кинетика данных процессов до сих пор детально не исследовалась, в данной работе мы задались целью изучить зависимость скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина карпа от температуры, концентрации АТФ, ионной силы и pH.

МЕТОДИКА

Получение миозина А хладнокровных животных (в отличие от теплокровных животных) затруднено тем, что при применении обыч-

ных методов, в частности метода Перри [10], из мышц рыбы экстрагируется не миозин, а актомиозин. При получении миозина А из свежеразрезанных мышц рыбы мы в основном пользовались методом Перри с некоторой модификацией: для уменьшения количества экстрагируемого актомиозина экстракцию миозина А производили 3-кратным объемом раствора, содержащим $2,10^{-3}M$ цистеин, $10^{-3}M$



Рис. 1. Электрофореграмма препарата актина, выделенного из мышц карпа по методу Спудича

$MgCl_2$, $10^{-3}M$ АТФ, $0,15 M$ KH_2PO_4 , $0,13 M$ KCl при pH 7, в течение пяти минут. Все последующие процедуры производились по методу Перри. Для окончательного удаления примесей актина разбавленный раствор белка ($2-3$ мг/мл белка) на конечной стадии обрабатывали $5,10^{-3}M$ АТФ и $10^{-3}M$ $MgCl_2$, центрифугировали $150000 g$ в течение 3 часов [6]. Супернатант осаждали добавлением 15-кратного объема холодной дистиллированной воды. Осадок растворяли в равном объеме $1,2 M$ KCl и для удаления нерастворимых частиц центрифугировали в течение двух часов при $25000 g$.

Ацетоновый порошок получали по модифицированному методу Штрауба [5]. Модификация заключалась в значительном сокращении времени обработки солевым раствором и ацетоном. Из порошка Г-актина получали по методу Спудича и Вота [13]. В отличие от метода Рисса и Янга [11], этот метод позволяет получать чистый актин высокой концентрации без гель-фильтрации на сефадексе. Чистота препарата проверялась электрофорезом (рис. 1). Электрофорез производили по методу Ю. К. Лаэмли [8]. Полученный Г-актин полимеризовался в Г-актин в присутствии $0,01 M$ KCl и $1 mM$ $MgCl_2$ [12].

Для получения синтетического актомиозина миозин А и полимеризованный F-актин смешивали в соотношении 3:1 при ионной силе 0,6. Для снижения ионной силы до той величины, при которой производились измерения, раствор актомиозина диализировали против стократного объема $0,05 M$ KCl . Полученную суспензию перед экспериментом гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе. В опытах использовалась динатриевая соль АТФ. Измерение скоростей суперпреципитации и АТФазной активности производилось с помощью специальной установки [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

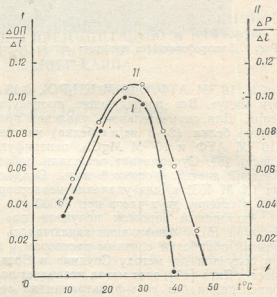
На рис. 2 дана зависимость скоростей суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина карпа от температуры при постоянной концентрации Mg-АТФ ($2,10^{-3}M$).

На рисунке видно, что скорость суперпреципитации при $6^{\circ}C$ начинает возрастать и достигает максимума в интервале $20-30^{\circ}C$ ($\frac{\Delta OI}{\Delta t} = 0,10$); при последующем повышении температуры скорость суперпреципитации быстро падает, а при $42^{\circ}C$ доходит до нуля. Скорость АТФазной реакции достигает максимума в интервале $25-30^{\circ}C$ ($\frac{\Delta P}{\Delta t} = 0,11$); ее максимум чуть выше максимума скорости суперпреципитации. При $48^{\circ}C$ скорость АТФазной реакции приближается к нулю. Скорость су-

перепреципитации синтетического актомиозина, начиная с 30°C быстрее, чем скорость АТФазной реакции.

Если сравнить зависимость скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина из скелетных мышц кролика [2] и поперечно-полосатых мышц рыбы от температуры, увидим целый ряд различий.

Рис. 2. Зависимость скоростей суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина карпа от температуры. Реакционная среда (10 мл): $2 \cdot 10^{-4}$ М $MgCl_2$, $2 \cdot 10^{-4}$ М АТФ, 5 мг актомиозина, рН 7,5. На оси ординат — слева — скорость суперпреципитации $\left(\frac{\Delta OP}{\Delta t} \text{ в } \lg'_{10} \%/c\right)$, справа — скорость АТФазной реакции $\left(\frac{\Delta P}{\Delta t} \text{ в } \frac{мкгР}{c}\right)$



При низкой температуре (5°C) скорость суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина рыбы более высокая, чем актомиозина кролика; кроме того, максимумы скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина рыбы значительно уклоняются в сторону низких температур. Максимумы скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина кролика и рыбы расположены соответственно в интервалах 30—45 и 40—45°C; 20—30 и 25—30°C. При более высоких температурах, начиная с 30—35°C и выше (в отличие от синтетического актомиозина кролика), происходит резкое падение скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина рыбы. Указанное выше различие зависимости максимумов скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции рыбы и кролика от температуры, возможно, обусловлено тем, что рыбы являются представителями хладнокровных животных.

На рис. 3 показана зависимость скоростей суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина от концентрации АТФ. На рисунке видно, что скорости суперпреципитации и АТФазной реакции также, как в случае кролика, возрастают с увеличением концентрации АТФ до 10^{-3} М [1]. При большей концентрации в результате растворения белка они существенно уменьшаются. При концентрации меньшей, чем 10^{-5} М АТФ, скорости суперпреципитации и АТФазной реакции доходят до нуля.

На рис. 4 дана зависимость скорости суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) от ионной силы при постоянной концентрации Mg-АТФ ($2 \cdot 10^{-4}$ М). Как показано на рисунке, скорость суперпреципитации при 0,01 М КСl имеет минимальное значение, после чего начинает возрастать и достигает максимума при 0,05 М КСl. При после-

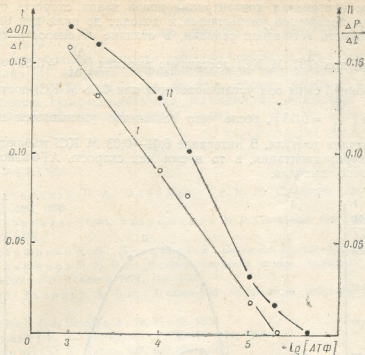


Рис. 3. Зависимость скоростей суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина карпа от концентрации АТФ ($2,10^{-4}$ М $MgCl_2$, 0,05 М KCl , рН 7,5, температура $25^\circ C$). Условия и обозначения те же, что на рис. 2

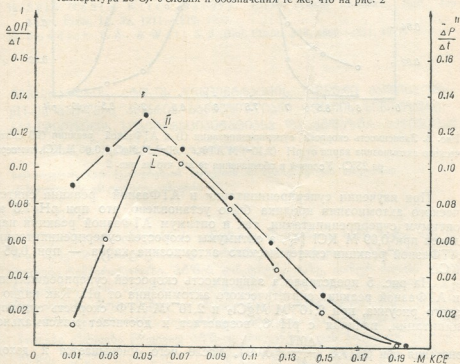


Рис. 4. Зависимость скоростей суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина карпа от ионной силы ($2,10^{-4}$ М АТФ, $2,10^{-4}$ М $MgCl_2$, рН 7,5, температура $25^\circ C$). Условия и обозначения те же, что на рис. 2

дующем повышении концентрации ионов калия скорость суперпреципитации постепенно уменьшается и доходит до нуля при 0,2М КСl.

Скорость АТФазной реакции, в отличие от скорости суперпреципитации, при 0,01 М КСl достаточно высокая $\left(\frac{\Delta P}{\Delta t} = 0,09\right)$. С повышением ионной силы она увеличивается и при 0,05 М КСl достигает максимума $\left(\frac{\Delta P}{\Delta t} = 0,13\right)$, после чего постепенно уменьшается и при 0,2 М КСl доходит до нуля. В интервале 0,01—0,03 М КСl наблюдается слабая суперпреципитация, в то время как скорость АТФазной реакции достаточно высокая.

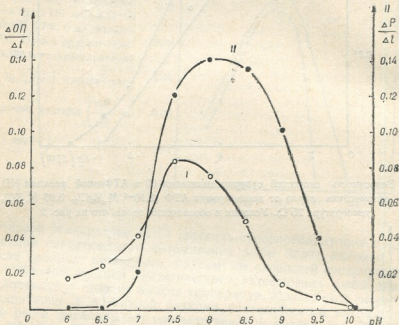


Рис. 5. Зависимость скорости суперпреципитации (I) и АТФазной реакции (II) синтетического актомиозина карпа от рН ($2 \cdot 10^{-4}$ М АТФ, $2 \cdot 10^{-4}$ М $MgCl_2$, 0,05 М КСl, температура 25°C). Условия и обозначения те же, что на рис. 2

При изучении суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина кролика было установлено, что при рН 7,5 как оптимум суперпреципитации, так и оптимум АТФазной реакции находятся при 0,09 М КСl [4], а оптимумы скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина карпа — при 0,05 М КСl.

На рис. 5 представлена зависимость скоростей суперпреципитации и АТФазной реакции синтетического актомиозина от рН. Как видно из этого рисунка, при $2 \cdot 10^{-4}$ М $MgCl_2$ и $2 \cdot 10^{-4}$ М АТФ скорость суперпреципитации, начиная с рН 6, возрастает и достигает максимального значения при рН 7,5 $\left(\frac{\Delta OP}{\Delta t} = 0,09\right)$, после чего уменьшается и доходит до нуля при рН 10. Скорость АТФазной реакции достигает максимума

при pH 8 ($\frac{\Delta P}{\Delta t} = 0,14$). Нетрудно заметить, что скорость ферментативной реакции больше скорости суперпреципитации. При последующем увеличении pH скорость АТФазной реакции уменьшается и при pH 10 сходит на нет. При pH 9 она все еще остается высокой, в то время как скорость суперпреципитации, по-видимому, вследствие изменения заряда белковой системы, сходит на нет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гачечиладзе Н. А., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, **59**, 3, 693—696, 1970.
2. Гачечиладзе Н. А., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, **66**, 3, 673—676, 1972.
3. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В. Биохимия, **24**, 616—619, 1959.
4. Заалишвили М. М. В кн.: Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецნიერება», Тбилиси, 1971, 143—150.
5. Сент-Дьердьи А. В кн.: О мышечной деятельности, «Медгиз», М., 1947, 63—74.
6. Connel J. J. Biochem. J., **70**, 81—83, 1958.
7. Hayashi F. J. Gen. Physiol., **1**, 50, 119—124, 1967.
8. Laemmli U. K. Nature, **227**, 680—683, 1970.
9. Maryama K., Watanabe S. J. Biol. Chem., **237**, 3437—3441, 1962.
10. Perry S. V. Methods in Enzymology, **11**, 583—588, 1955.
11. Rees M. K., Young M. J. Biol. Chem., **242**, 4449—4455, 1967.
12. Seki Nobio, Kitao Masary. «Нихон суисан гаккайси. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish», **11**, 39, 1211—1219, 1973.
13. Spudich Y. A., & Watt S. J. Biol. Chem., **246**, 4866—4871, 1971.


ტიმპერატურის, ატმ-ის კონცენტრაციის, იონური ძალისა და pH-ის გავლენა კობრის განივზოლიანი კუნთის სინთეზური აქტომიოზინის სუპერპრეციპიტაციისა და ატმზაზურ აქტივობაზე

ლ. ლომიძე, ნ. ბაჩილაძე, მ. ჯალოშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შეისწავლებოდა კობრის განივზოლიანი კუნთის სინთეზური აქტომიოზინის სუპერპრეციპიტაციისა და ატმზაზური რეაქციის სიჩქარეთა დამოკიდებულება ტემპერატურაზე, ატმის კონცენტრაციაზე, იონურ ძალასა და pH-ზე. ნაჩვენებია, რომ სუპერპრეციპიტაციისა და ატმზაზური რეაქციის სიჩქარეთა მაქსიმუმები მოთავსებულია შესაბამისად ტემპერატურების ინტერვალში 20—30°C და 25—30°C. სუპერპრეციპიტაციისა და ატმზაზური რეაქციის სიჩქარეები იზრდება წრფივად ატმ-ის კონცენტრაციის ზრდასთან ერთად— 10^{-3} M-დე, სუპერპრეციპიტაციის სიჩქარე მაქსიმუმს აღწევს pH 7,5-ზე, ხოლო ატმზაზური რეაქციის სიჩქარე — pH 8-ზე. კობრის განივზოლიანი კუნთის სინთეზური აქტომიოზინის სუპერპრეციპიტაციისა და ატმზაზური რეაქციის სიჩქარეთა ოპტიმუმები მოთავსებულია 0,05 იონურ ძალაზე.



THE INFLUENCE OF TEMPERATURE, ATP CONCENTRATION, IONIC STRENGTH AND pH ON THE SUPERPRECIPITATION AND ATPase ACTIVITY OF SYNTHETIC ACTOMYOSIN FROM STRIATE MUSCLE

L. G. LOMIDZE, N. A. GACHECHILADZE, M. M. ZAALISHVILI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

Study has been made of the dependance of superprecipitation rate and the rate of ATPase reaction of synthetic actomyosin from carp striate muscle upon the temperature, ATP concentration, ionic strength and pH. The maximum rate of superprecipitation and ATPase reaction was shown to range 20–30°C and 25–30°C, respectively. The rate of superprecipitation and ATPase reaction increased with the increase of ATP concentration up to 10^{-3} M. The superprecipitation rate reached the maximum at pH—7.5 and the rate of ATPase reaction—at pH 3. The optimum rate of superprecipitation and ATPase reaction of carp synthetic actomyosin was at 0.05 ionic strength.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются не опубликованные в других изданиях, завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утверждённым редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редакции, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале будет помещаться краткая хроника о проведённых в республике научно-организационных мероприятиях.

2. **Объём рукописи экспериментальных и итоговых работ**, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать **12 страниц** машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и полем 3 см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. **Объём обзорной статьи—24 страницы, краткого сообщения** со списком литературы и кратким резюме на английском языке (не более 6 строк)—до **4 страниц** машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

Резюме на английском и грузинском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.

3. **Рукопись** (в двух экземплярах) должна быть тщательно проверена, иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии в двух экземплярах. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК) по таблицам Универсальной десятичной классификации, справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилии авторов, название учреждения, где выполнена работа, и **краткая аннотация** (не более 0,5 стр.).

Статья должна быть подписана авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилию авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.

4. Введение должно содержать краткое изложение сути рассматриваемой проблемы и задачи исследования. Описание методики должно быть кратким, но позволяющим читателю самостоятельно оценить соответствие техники и методических приемов, использованных при выполнении работы. Описание результатов и их обсуждение должны ограничиваться рассмотрением и оценкой важнейших фактов, полученных в экспериментах. В конце статьи выводы печатать не следует.

5. К статье и краткому сообщению следует приложить **реферат** на русском языке для реферативного журнала СССР (не более 1000 знаков), оформленный следующим образом: УДК, раздел биологии, инициалы и фамилии авторов, заглавие, название журнала. В конце реферата следует указать количество таблиц, рисунков, библиографические сведения. После реферата слева в квадратных скобках нужно указать научное учреждение, в котором выполнена работа. Реферат должен быть подписан автором.

6. **Иллюстрации** — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на кальке или белой чертежной бумаге — следует представлять в двух экземплярах (с надписанным конверте). Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены карандашом. На обороте иллюстрации следует обозначить карандашом ее номер, фамилию автора и сокращенное название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.

7. **Фамилии цитируемых авторов** следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в оригинальной — в списке литературы. **Список литературы** составляется по алфавиту. В начале списка необходимо приводить литературу грузинским или русским шрифтом, а затем латинским. После порядкового номера (в тексте статьи он ставится в квадратные скобки) следует давать фамилию и инициалы авторов, название издания, затем: для **периодических изданий** — том, страницы (от и до), год; для **непериодических** — название издательства, место, год издания и страницы.

8. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.

9. Публикации статей производится в порядке очередности их поступления, за исключением работ, заказанных редакцией.

10. **Корректуры** статей даются авторам для проверки, правки и визирования. Изменения и дополнения в тексте корректур не допускаются, за исключением исправления ошибок и спелаток. Выправленные корректуры возвращаются в редакцию в трехдневный срок. При задержке корректур редакция публикует статьи по первоначальным текстам.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

6. 145/115



Цена 70 коп.

76 204