

УДК 547.963.3

БИОХИМИЯ

А. Л. МАЗИН, Г. Е. СУЛИМОВА, Д. Х. КАДЫРОВА, Б. Ф. ВАНЮШИН,
академик А. Н. БЕЛОЗЕРСКИЙПИРИМИДИНОВЫЕ БЛОКИ В ДНК НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ
РАСТЕНИЙ

Несмотря на отсутствие методов, позволяющих определять полную нуклеотидную последовательность ДНК, мы можем судить о принципах ее строения по частоте появления определенных пиримидиновых фрагментов, высвобождающихся в результате специфического кислотного гидролиза ДНК⁽¹⁾. Сведения о характере распределения пиримидиновых блоков крайне скудны и ограничиваются лишь ДНК ржи⁽²⁾ и пшеницы⁽³⁾. Между тем сравнительно многочисленные результаты определения степени сблоченности пиримидинов в ДНК разнообразных животных и микроорганизмов свидетельствуют о значительной вариабельности этой характеристики первичной структуры ДНК^(4, 5).

В настоящей работе нам представлялось интересным изучить характер распределения пиримидиновых изоплитов* в ДНК некоторых покрытосеменных растений и выяснить, какое положение по этому признаку они занимают среди других исследованных организмов. В частности, нам казалось интересным выяснить, существуют ли какие-либо характерные особенности распределения пиримидинов в ДНК высших растений (покрытосеменных) и насколько, по степени сблоченности пиримидинов, ДНК этих организмов близки ДНК других эукариотов (например, животных) и отличны от ДНК прокариотов (бактерий и других).

В качестве источника ДНК были использованы свежие ткани (преимущественно листья) однодольных и двудольных растений (табл. 1). Растительный материал тщательно растирали в ступке при температуре жидкого азота, к полученной массе прибавляли раствор, содержащий 0,15 М NaCl, 0,05 М ЭДТА и 2% додецилсульфат натрия pH 8,5. Концентрацию NaCl доводили до 1 М и смесь инкубировали 15 мин. при 60°. Затем смесь депротеинизировали хлороформом и проводили дальнейшую очистку ДНК общепринятыми методами⁽⁶⁾. Гидролиз ДНК до пиримидиновых последовательностей состава $\text{pir}_n\text{P}_{n+1}$ проводили в 66% муравьиной кислоте, содержащей 2% дифениламина, в течение 18 час. при 37° по методу Бартона⁽¹⁾. Разделение пиримидиновых олигонуклеотидов в соответствии с их длиной на фракции изоплитов осуществляли с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-Сефадексе А-25 в условиях, подробно описанных нами ранее⁽⁷⁾.

Как видно из табл. 1, ДНК всех изученных нами растений довольно близки между собой по частоте встречаемости одноименных пиримидиновых изоплитов. Содержание моно- и динуклеотидов в ДНК изученных высших растений приблизительно одинаково, а количество других изоплитов постепенно уменьшается по мере увеличения их длины. Преобладающее количество пиримидинов (около 80%) в полинуклеотидных цепях ДНК изученных растений встречается в виде блоков, состоящих из двух и более соседствующих друг с другом остатков.

* Изоплиты — группы олигонуклеотидов, одинаковые по числу нуклеотидных остатков (от греческого *isos* — равный, *plitos* — число).

Таблица 1

Частота встречаемости разных пиримидиновых изоэлитов в ДНК высших растений ($M \pm m$)

Виды растений	Содержание пиримидиновых изоэлитов в ДНК, мол. %							β	ГЦ, %	Число опытов
	моно-	ди-	три-	тетра-	пента-	гекса-	гепта- ≥ окта-			
Кл. Dicotyledoneae										
1. <i>Brassica oleracea</i> v. <i>botrytis</i> ****	9,91 ± 0,20	10,70 ± 0,07	7,67 ± 0,12	6,39 ± 0,02	4,47 ± 0,13	3,52 ± 0,03	2,01 ± 0,14	5,33 ± 0,24	4,52 ± 0,02	45,2
2. <i>Leucanthemum vulgare</i> *	11,08 ± 0,06	10,83 ± 0,05	9,28 ± 0,02	6,62 ± 0,01	4,40 ± 0,08	2,78 ± 0,05	1,70 ± 0,01	3,31 ± 0,14	4,76 ± 0,05	—
3. <i>Lamium album</i> *	10,66 ± 0,23	10,71 ± 0,07	8,85 ± 0,01	6,41 ± 0,38	3,97 ± 0,15	2,24 ± 0,07	—	7,16 ± 0,22	1,77 ± 0,04	37,7
4. <i>Medicago sativa</i> ***	11,44 ± 0,36	10,71 ± 0,01	9,70 ± 0,26	6,68 ± 0,38	4,35 ± 0,71	1,93 ± 0,05	—	5,17 ± 0,18	1,82 ± 0,08	36,2
Кл. Monocotyledoneae										
5. <i>Convallaria majalis</i> *	11,77 ± 0,69	10,51 ± 0,19	8,40 ± 0,09	6,65 ± 0,25	5,12 ± 0,55	2,95 ± 0,11	—	4,60 ± 0,13	1,72 ± 0,13	43,7
6. <i>Triticum vulgare</i> **	11,36 ± 0,15	11,00 ± 0,15	8,11 ± 0,16	6,39 ± 0,01	4,22 ± 0,07	3,14 ± 0,03	1,87 ± 0,04	3,88 ± 0,19	1,90 ± 0,02	44,4
Статистическое распределение	12,75	12,38	9,38	6,19	3,83	2,27	1,31	1,87	2,32	

* Листья. ** Зародки семян. *** Проростки. **** Соцветия.

Характер распределения нуклеотидов в ДНК высших растений заметно отличается от беспорядочного. Так, например, количество сблоченных полипиримидиновых фрагментов (изоплитов, содержащих в цепи восемь и более нуклеотидных остатков) в ДНК высших растений встречается в 3—4 раза чаще, чем при случайном распределении (табл. 1). Степень сблоченности пиримидинов (величина β) также достоверно меньше, чем при статистическом распределении.

По нашим данным, показатель сблоченности пиримидинов (β) варьирует в ДНК изученных видов растений от 1,52 до 1,90. Столь же высокой степенью сблоченности пиримидинов обладают ДНК высших хордовых животных. Так, например, вариабельность показателя β для ДНК млекопитающих, птиц и рептилий составляет 1,58—1,94 (⁵). Таким образом в силу такой близости по степени сблоченности пиримидинов и с учетом известного сходства между ДНК цветковых растений и хордовых по составу оснований, вероятно, можно говорить о едином плане строения генетического материала у этих высших организмов — представителей растительного и животного царства. Высшие растения, так же как и животные, довольно резко отличаются от бактерий по степени сблоченности пиримидинов в ДНК. Как известно, бактериальные ДНК обладают низкой степенью сблоченности пиримидинов. Кроме того в большинстве бактериальных ДНК количество дипиримидиновых последовательностей (пур — пир — пир — пир) заметно преобладает над содержанием монопиримидиновых фрагментов (пур — пир — пур) (^{5, 8}). Для животных и, как мы видим, растительных ДНК характерным является более или менее постепенное убывание количества нуклеотидного материала в изоплитах по мере увеличения их длины. Все это указывает на то, что ДНК высших организмов обладают совсем иным планом строения нуклеотидной последовательности, чем ДНК прокариотов (бактерий). Именно этим, по-видимому, и объясняется тот факт, что ни одна из животных ДНК не может гибридизоваться с ДНК бактериального происхождения (⁹). Полученные нами данные по степени сблоченности пиримидинов указывают на то, что аналогичным образом должны вести себя и ДНК высших растений.

Как видно из табл. 1, определение степени сблоченности пиримидинов в ряде случаев позволяет выявить достоверные отличия между такими ДНК, которые весьма сходны по составу оснований. Так, например, у однодольных различия по степени сблоченности пиримидинов выявляются у ДНК ландыша и пшеницы. Тем самым сведения о характере распределения пиримидинов могут оказаться весьма полезными для выяснения степени генетического родства разных организмов и решения некоторых вопросов систематики.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
13 II 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ K. Burton, G. B. Petersen, *Biochem. J.*, 75, 17 (1960). ² H. S. Shapiro, E. Chargaff, *Biochim. et biophys. acta*, 39, 68 (1960). ³ Б. Ф. Ванюшин, Л. В. Машарина, А. Н. Белозерский, *ДАН*, 147, 958 (1962). ⁴ А. Л. Мазин, Б. Ф. Ванюшин, Г. Е. Сулимова, *Биохимия*, 34, 1202 (1969). ⁵ А. Л. Мазин, Б. Ф. Ванюшин, *Молек. биол.*, 3, 846 (1969). ⁶ J. Margur, *J. Mol. Biol.*, 3, 208 (1964). ⁷ А. Л. Мазин, Б. Ф. Ванюшин, *Биохимия*, 32, 377 (1967). ⁸ Б. Ф. Ванюшин, Е. П. Дедиева и др., *Научн. докл. высш. школы, Биол. науки*, № 12, 82 (1970). ⁹ W. H.oyer, B. J. McCarthy, E. T. Bolton, *Science*, 144, 959 (1964).