

Р. А. ЗАХАРЯН, Ф. М. СААКЯН, А. А. ГАЛОЯН

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НОВООБРАЗОВАННОЙ РНК
В РИБОНУКЛЕОПРОТЕИДНЫХ ЧАСТИЦАХ
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО ЭКСТРАКТА ГИПОТАЛАМУСА МОЗГА
КРЫСЫ В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНА**

(Представлено академиком А. С. Спириным 12 III 1976)

Совместное применение седиментационного анализа путем центрифугирования в градиенте концентрации сахарозы и применение плотностного анализа центрифугированием в градиенте плотности CsCl до равновесия позволяет обнаружить, разделить и охарактеризовать различные типы рибонуклеопротеидных частиц. В цитоплазматических экстрактах клеток эукариотов таким способом выявляются рибосомы и их субчастица, полирибосомы, информосомы и так называемые «45S частицы» (ссылки см. в ⁽¹⁾).

В данной работе, используя два упомянутых метода, мы проанализировали распределение новообразованной РНК в рибонуклеопротеидных частицах цитоплазматических экстрактов гипоталамуса мозга — одного из главных участков нейрогуморальной регуляции эндокринных функций организма. Мы исследовали также влияние, которое оказывает дексаметазон (синтетический аналог глюкокортизона) на включение новообразованной РНК в РНП-частицы разного типа.

В экспериментах использовали гипоталамусы шести контрольных крыс. Опытным крысам вводили внутривенно по 0,5 мл раствора дексаметазона из расчета 80 мкг на 100 г веса; контрольным — равный объем физиологического раствора. Через 3,5 часа всем крысам вводили внутривенно по 200 мкг ³H-уридина в 0,5 мл физиологического раствора, после чего повторяли внутривенную инъекцию того же количества дексаметазона (в опыте) и физиологического раствора (в контроле).

По истечении 6 час. с момента последнего введения дексаметазона животных обезглавливали. Выделенные из мозга гипоталамусы гомогенизировали при 0° в стандартном буфере следующего состава: триэтанол-амин, оттитрованный HCl до pH 7,8, 0,01 M; MgCl₂ 0,001 M; KCl 0,01 M. Гомогенат дважды центрифугировали при 15 000 g 15 мин. Надосадочную жидкость (цитоплазматический экстракт) использовали для проведения седиментационного анализа центрифугированием в градиенте концентрации сахарозы (15—30%) и для определения плавучей плотности меченых компонентов центрифугированием в преформированном градиенте плотности CsCl после фиксации формальдегидом как описано в ⁽²⁾.

Распределение контрольного и опытного образцов цитоплазматического экстракта гипоталамуса по фракциям сахарозного градиента после центрифугирования показано на рис. 1 (седиментация велась справа налево). Положение пика монорибосом показано стрелками. Новообразованная (радиоактивная) РНК распределяется как слева от монорибосом в зоне распределения полирибосом, так и справа от них в пострибосомной зоне — зоне распределения свободных информосом.

В опыте с дексаметазоном (рис. 1б) общий характер седиментационного распределения меченой РНК сходен с контрольными (рис. 1а). Однако наблюдается некоторое уменьшение доли радиоактивной РНК в пострибосомной зоне.

После центрифугирования меченых цитоплазматических экстрактов в градиенте плотности CsCl в присутствии формальдегида вся радиоактивная РНК в контроле (рис. 2а) распределяется только в двух зонах градиента: одна с плотностью 1,49 г/см³ и другая — с плотностью 1,42 г/см³. Распределение радиоактивности в первой зоне совпадает с распределением материала, поглощающего при 260 нм в этой зоне и представляет собой, очевидно, меченые полирибосомы. Второй радиоактивный компонент почти не содержит материала, поглощающего при 260 нм. Величина его плавучей

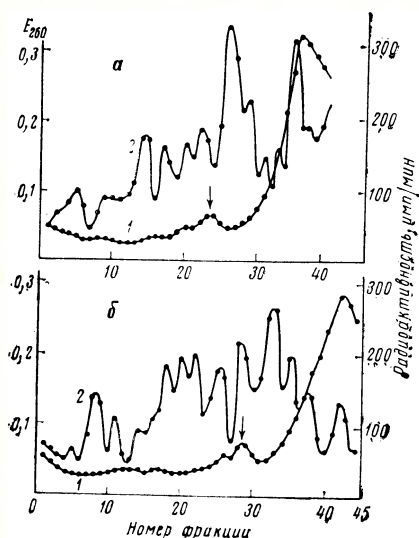


Рис. 1

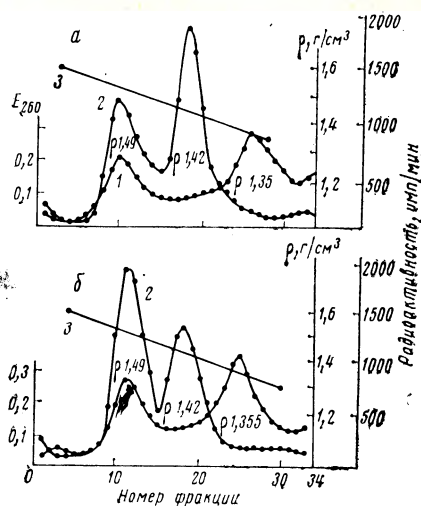


Рис. 2

Рис. 1. Седиментационное распределение в градиенте концентрации сахаразы компонентов цитоплазматического экстракта гипоталамуса мозга крыс, меченных ³H-уридином. а — контроль, б — после инъекции дексаметазона. 1 — оптическое поглощение при 260 нм, 2 — радиоактивность

Рис. 2. Плотностное распределение в градиенте CsCl компонентов цитоплазматического экстракта гипоталамуса мозга крыс, меченных ³H-уридином. а — контроль, б — после инъекции дексаметазона. 1 — оптическое поглощение при 260 нм, 2 — радиоактивность, 3 — плотность CsCl

плотности (1,42 г/см³) близка к плотности, характеризующей основной компонент информосом из других источников (1,4 г/см³, соотношение РНК : белок 1:3). Около 40% радиоактивности в контроле обнаруживается в полирибосомах и около 60% — в информосомах.

Введение дексаметазона крысам (рис. 2б) не изменяет ни числа радиоактивных компонентов, обнаруживаемых в градиенте CsCl, ни абсолютных значений их плотностей. Однако соотношение между радиоактивностями двух плотностных компонентов заметно отличается от контрольного; 60% радиоактивной РНК обнаруживается в полирибосомах и 40% — в информосомах. Указанные соотношения радиоактивности (40:60 — в контроле и 60:40 — в опыте) хорошо воспроизводились как в контрольных экспериментах (четыре независимых опыта), так и в опытных (три независимых опыта).

По современным представлениям, гормональная регуляция глюкокортикоидами в клетках тканей «мишеней» осуществляется в комплексе со специфическим рецептором (³, ⁴) через регуляцию транскрипции РНК и коррелирует с изменением уровня ацетилирования гистонов (⁵) и метилирования ДНК (⁶, ⁷). Как показали наши предыдущие исследования, дексаметазон оказывает влияние на содержание обнаруживаемой нами цитоплазматической ДНК полушариев мозга и гипоталамуса и на скорость

синтеза РНК гипоталамо-гипофизарной системы (⁶, ⁷, ⁸), при этом коэффициент специфичности ГЦ/АУ во фракциях РНК хромосома-ядрышкового аппарата клеток мозга, в том числе гипоталамуса, под влиянием дексаметазона повышается (⁸, ⁹).

Настоящими исследованиями установлено, что под влиянием дексаметазона увеличивается относительное содержание новообразованной РНК в полирибосомах и, соответственно, снижается ее относительное содержание в свободных информосомах цитоплазматических экстрактов.

Изменение относительного содержания меченой РНК в двух типах частиц может быть объяснено двояким способом: 1) усилением поступления новосинтезированной рибосомальной РНК в полирибосомы клеток гипоталамуса опытных животных; 2) усилением поступления новообразованной информационной РНК в полирибосомы и снижением ее относительного содержания в свободных информосомах.

Авторы выражают глубокую благодарность акад. А. С. Спирину и Л. П. Овчинникову за постоянное внимание к работе и обсуждение результатов.

Институт биохимии
Академии наук АрмССР
Ереван

Поступило
2 II 1976

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. П. Овчинников, А. С. Спирин, Усп. совр. биол., т. 71, 3 (1971). ² Н. В. Белицына, Л. П. Овчинников и др., Молек. биол., т. 2, 727 (1968). ³ B. S. McEwen, L. Plapinger, Nature, v. 226, 263 (1979). ⁴ B. S. McEwen, L. M. Weiss, L. E. Schwartz, Brain Res., v. 17, 471 (1979). ⁵ V. G. Allfrey, A. O. Podo et al., Histones and their Role in Transfer of Genetic Information, 1966, p. 59. ⁶ Р. А. Захарян, А. А. Галоян, Вopr. биохим. мозга, т. 8, 131 (1973). ⁷ В. Т. Галфаян, В. К. Васильев и др., ДАН, т. 212, 992 (1973). ⁸ А. А. Галоян, Р. А. Захарян и др., Докл. АН АрмССР, т. 6, 5, 308 (1973). ⁹ Р. А. Захарян, Ф. М. Саакян, А. А. Галоян, Матер. I Всесоюз. конфер. по нейроэндокринологии, 1974, стр. 62.