

О ВЛИЯНИИ ГОМОЛОГИЧНОГО ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕО- ПРОТЕИДА НА СИНТЕЗИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ГАММАГЛОБУЛИНОВ В ПЕРИОД ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ АРЕАКТИВНОСТИ

Ю. ПАВЕЛ,

кандидат ветеринарных наук

До настоящего времени не удалось окончательно выяснить, какую роль играет ДНК в синтезе белка. Опубликованные в последнее время данные (Spiegelman, 1956 и др.) дают основание предполагать, что ДНК не связана непосредственно с синтезом белка.

На возможную шаблонную функцию ДНК в отношении РНК указывают исследования с синтетическими полинуклеотидами (Rich, 1959 и др.). В некоторой степени подтверждают это предположение и исследования Айчаса и Винсента (Yčas, Vincent, 1960), по которым нуклеотидный состав одной фракции РНК близок к ДНК. По их мнению, эта фракция может представлять собой первичный продукт ДНК, будучи таким образом посредником генетической информации ДНК. Прямым доказательством участия ДНК в протеосинтезе считали данные, показывающие, что присутствие ДНК необходимо для инкорпорации аминокислот в белок (Gale, 1956; Gale, Folkes, 1954; Mirsky, 1956 и др.). Однако новейшие данные показывают, что в этом случае мы имеем дело с энергетической функцией ДНК. Так, Ольфрей и Мирский (Allfrey, Mirsky, 1957) продемонстрировали, что в ядрах ДНК, обедненных обработкой дезоксирибонуклеазой, инкорпорацию аминокислот могут восстанавливать гетерологичная ДНК, денатурированная ДНК, РНК, а также полинуклеотиды. При этом было установлено, что этот эффект основывается на восстановлении синтеза АТФ.

По В. С. Тонгуру (1959), ДНК влияет на синтез белка через обмен веществ. Передача информации между ДНК и РНК носит обратимый характер, причем этим свойством обладает и молекула белка. Вызванные у бактерий явления трансформации и трансдукции ясно указывают на информационную функцию ДНК (Avery, MacLeod, McCarty, 1944; Starlinger, Kaudewitz, 1956 и др.). Эти данные позволяют считать, что ДНК связана с синтезом белка, давая для этого необходимую генетическую информацию. По-видимому, реализация информации ДНК требует присутствия определенных структур, т. е. происходит на определенном уровне организованности. Например, удалось показать организующую роль ДНК в протеосинтезе только на уровне организма, клетки и «протопласта». Новейшие исследования не подтверждают признанную схему синтеза белка: ДНК → РНК → белок, а показывают, что образование РНК и белка не зависит непосредственно от синтеза ДНК (Т. Okazaki, R. Okazaki, 1959). Так, выявлено, что синтез РНК и белка предшествует синтезу ДНК (Sisken, 1959 и др.). По-видимому, вышеизложенная схема биосинтеза белка является упрощенной. В некоторой степени на это указывает и работа А. С. Спирина, А. Н. Белозерского и сотрудников (1957), на основе которой нуклеотидный состав большей части РНК не коррелируется с ДНК. Также Браше (Brachet, 1960) в своей недавно опубликованной статье высказывает мысль, что вышеизложенная схема синтеза белка упрощена.

Исследования адаптативного протеосинтеза также показывают, что так называемые гены не единственные факторы, определяющие синтез белка. Так, Шпигельман (Spiegelman, 1956) приходит к выводу, что гены контролируют не синтез

белка, а его возможность, причем по Моно с сотрудниками (Jacob Monod, 1959) реализацию этой возможности определяют специфические вещества.

Влияние экзогенной ДНК и ее белкового комплекса (ДНП) на уровне животного организма изучено мало, если не считать противоречивых данных по трансформации (Benoit и др., 1957; Peggy Walker, 1958 и др.). Приведенные ниже данные тоже указывают на связь ДНК с синтезом белка. Так, Хюер и Мийк и другие (Hewer, Meek, 1958 и др.) сообщают, что гетерологичная ДНК вызывала у мышей малигнизацию некоторых тканей. По данным Е. М. Лейкиной (1959), гетерологичный ДНП вызывает увеличение веса регенерирующей печени.

На непосредственное участие ДНП в синтезе белка указывают Штерцль и Грубешова (Šterzl, Hrubešová, 1956). Названные авторы вызывали у неспособных к синтезу иммуноглобулинов реципиентов продукцию антител введением гомологичного ДНП, изолированного из селезенки синтезоспособного организма.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы было выяснить, возможно ли в период постнатальной иммунологической ареактивности вызвать у крольчат способность к синтезу гаммаглобулинов путем введения ДНП, выделенного из селезенки синтезоспособных кроликов.

Материал и методика

В качестве доноров для передачи синтезирующей способности как гаммаглобулинов, так и иммуноглобулинов были использованы кролики породы венский голубой в возрасте от 3 месяцев до 1 года. Реципиентами служили 5-дневные крольчата той же породы, так как, по данным Штерцля, Ржига и Трика (Šterzl, Ríha, Trnka, 1958), крольчата в первые две недели жизни не способны к синтезу гаммаглобулинов.

ДНП изолировали по несколько модифицированной методике Швандера и Зигнера (Schwander, Signer, 1950). Препарат вводили реципиентам внутрибрюшинно на 5-й день жизни в количестве 0,4 мл. Кровь брали из сердца путем пункции на 10-й и 14-й день жизни. Общий белок определяли рефрактометрически. Белок сыворотки фракционировали методом электрофореза на бумаге.

В целях передачи синтезирующей способности иммуноглобулинов, взрослому кролику в ушную вену вводили вакцину* кишечной палочки *Escherichia coli* O 111 в количестве $2 \cdot 10^9$ микробов. Через 48 часов животное обескровили, из селезенки выделили ДНП, который вводили в брюшную полость 5-дневных крольчат. Наличие антител определяли путем реакции бактериальной агглютинации (начиная с разведения 1:5).

Результаты исследований

Результаты исследования влияния гомологичного ДНП на белковый состав сыворотки крови новорожденных крольчат представлены в таблице (стр. 238). Исследованию подвергались крольчата, родившиеся как в осенне-зимний период (пометы №№ 9—20), так и родившиеся в апреле (пометы №№ 22—26). Отмеченное в таблице у весенних крольчат понижение относительного количества гаммаглобулинов (на 14-й день жизни), по-видимому, объясняется уменьшением количества гаммаглобулинов в молоке крольчих. В момент введения ДНП, т. е. в возрасте 5 дней, средний вес весенних крольчат как в опытной, так и в контрольной группе равнялся 94 ± 3 г, а осенних — соответственно 100 ± 4 и 95 ± 3 г. Анализ данных показал, что между показателями групп Д и К нет существенных различий. Таким образом, в период иммунологической ареактивности ДНП не вызывает способности к синтезу гаммаглобулинов, как не вызывает и каких бы то ни было изменений в синтезе белков, отражающихся на сывороточных белках.

* Эта часть работы проведена работником Таллинского научно-исследовательского института эпидемиологии, микробиологии и гигиены Х. Д. Лыйвом.

Фракции сывороточных белков у крольчат

№№ поместов	Возраст, дней	Группа*	Содержание белка, %	Содержание, относительных %			Вес на 10-й день жизни, г	
				альбуминов	глобулинов			
					α	β		γ
	10	Д(15)	5,06±0,23	53,0±1,3	20,5±0,7	11,5±0,9	15,0±0,9	171±7
		К(16)	5,02±0,18	52,0±1,5	20,0±0,7	11,4±0,7	16,6±0,7	175±8
22— —26	14	Д(15)	5,62±0,24	53,5±1,0	20,2±0,6	15,1±0,7	11,2±0,8	224±9
		К(16)	5,62±0,24	53,6±1,0	20,9±1,0	15,4±1,2	10,1±1,0	228±9
9— —20	14	Д(27)	4,54±0,17	59,3±0,9	16,5±0,5	12,0±0,6	12,2±0,6	205±10
		К(47)	4,71±0,13	57,1±0,9	16,3±0,4	13,6±0,5	13,0±0,6	195±7

* В скобках указано число исследованных особей.

Д — крольчата, получавшие ДНП.

К — контрольная группа.

Так как изолированные препараты содержали разное количество N и P (150—912 γ N в 1 мл), то исследовали также влияние препаратов с относительно высоким содержанием P (75—100 γ P в 1 мл). Оказалось, что и такие препараты не вызывают существенных изменений в белковом составе сыворотки крови.

На восьми животных исследовали возможность передачи способности к синтезу иммуноглобулинов. У реципиентов, получивших ДНП, определяли бактериальные агглютинины на 10-й и 14-й день жизни, т. е. тогда, когда ожидалась максимальная их концентрация. Полученные результаты показали, что ДНП не связана непосредственно с синтезом иммуноглобулинов.

Обсуждение результатов

Полученные отрицательные результаты по передаче способности к синтезу гаммаглобулинов путем введения гомологичного ДНП позволяют предполагать, что неспособность к синтезу глобулинов в постнатальный период обусловлена недостаточной метаболической активностью мезенхимальных клеток. Тот факт, что экзогенный ДНП не организовал синтеза гаммаглобулинов еще не подтверждает, что ДНП не принимает непосредственного участия в синтезе белка. Так, можно полагать, что для реализации информационной функции кроме модифицированного антигеном нуклеопротеида необходимы и катализаторы, которые отсутствуют в организме новорожденного кролика.

Также не отмечено связи между ДНП и синтезом циркулирующих иммуноглобулинов. Так, ДНП, выделенный из селезенки после стимуляции взрослого кролика бактериальным антигеном, не вызвал образования антител у реципиентов. Наши результаты не подтверждают гипотезы Шуйта и Оуэна (Schweef, Owen, 1957), согласно которой модифицированная антигеном ДНК дает необходимую информацию для синтеза иммуноглобулинов. Опираясь на гипотезу Силарда (Szilard, 1960), можно предполагать, что неспособность новорожденного кролика к синтезу антител связана с отсутствием (недостаточным количеством) некоего катализатора (катализаторов) в транзиторных клетках. Возможно, что эти катализаторы возникают в следующий период онтогенеза под влиянием белков, выработанных другими органами.

Принимая во внимание вышесказанное, на основании полученных нами данных невозможно сделать вывод о том, что ДНП не дает информации о синтезе белка.

ЛИТЕРАТУРА

- Лейкина Е. М., 1959. Сравнительное фракционирование дезоксирибонуклеопротеидов нормальной и регенерирующей печени. Первая конференция по нуклеиновым кислотам и нуклеопротеидам. Тезисы докладов. Москва, стр. 24. — Спирин А. С., Белозерский А. Н., Шугаева Н. В., Ванюшин Б. Ф., 1957. Изучение видовой специфичности нуклеиновых кислот у бактерий. Биохимия, 22, 4, 744—754. — Телль Х. И., 1960. Личное сообщение. — Тонгур В. С., 1959. Взаимосвязи синтезов белка и нуклеиновых кислот. Первая конференция по нуклеиновым кислотам и нуклеопротеидам. Тезисы докладов. Москва, стр. 48—50.
- Allfrey, V. G., Mirsky, A. E., 1957. The Role of Deoxyribonucleic Acid and Other Polynucleotides in ATP Synthesis by Isolated Cell Nuclei. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 43, 7, 589—598. — Avery, O. T., MacLeod, C. M., McCarty, M., 1944. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. Induction of Transformation by a Deoxyribonucleic Acid Fraction Isolated from Pneumococcus type III. J. Exptl. Med. 79, 2, 137—158. — Benoit, J., Leroy, P., Vendrely, C., Vendrely, R., 1957. Des mutations somatiques dirigées sont-elles possibles chez les Oiseaux. Compt. rend. Acad. Sci., 244, 18, 2320—2321. — Brachet, J., 1960. Ribonucleic Acids and the Synthesis of Cellular Proteins. Nature. 186, 4720, 194—199. — Gale, E. F., 1956. Experiments in Protein Synthesis. Scient. Amer., 194, 3, 42—46. — Gale, E. F., Folkes, J. P., 1954. Effect of Nucleic Acids on Protein Synthesis and Amino-Acid Incorporation in Disrupted Staphylococcal Cells. Nature. 173, 4417, 1223—1227. — Hewer, T. F., Meek, E. S., 1958. Intestinal Carcinoma in Mice Following Injection of Herring-Sperm Deoxyribonucleic Acid. Nature, 181, 4614, 990—991. — Jacob, F., Monod, J., 1959. Gènes de structure et gènes de régulation dans la biosynthèse des protéines. Compt. rend. Acad. Sci., 249, 14, 1282—1284. — Mirsky, A. E., 1956. Some Biochemical Aspects of the Cell Nucleus. Proc. Third Internat. Congr. Biochem., Brussels 1955, Acad. Press Inc., New York, 349—353. — Okazaki, T., Okazaki, R., 1959. Studies of Deoxyribonucleic Acid Synthesis and Cell Growth in the Deoxyriboside Requiring Bacteria, *Laetobacillus acidophilus*. II Deoxyribonucleic Acid Synthesis in Relation to Ribonucleic Acid and Protein Synthesis. Biochim. et biophys. acta, 35, 2, 435—445. — Perry, T. L., Walker, D., 1958. Failure of Deoxyribonucleic Acid to Effect Somatic Transformation in the Rat. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 99, 3, 717—720. — Rich, A., 1959. The Bearing of Structural Studies on Relationship Between DNA and RNA. A Symposium on Molecular Biology (ed. by Zirkle R. E.), Univ. Chicago Press, Illinois, 47—69. — Schwander, H., Signer, R., 1950. Darstellung von hochmolekularem Natrium-thymonucleinat aus Kalbthymus. Helv. chim. acta, 33, 6, 1521—1526. — Schweet, R. S., Owen, R. D., 1957. Concepts of Protein Synthesis in Relation to Antibody Formation. J. Cellular and Compar. Physiol., 50, suppl. 1, 199—228. — Siskens, J. E., 1959. The Synthesis of Nucleic Acid and Proteins in the Nuclei of Tradescantia Root Tips. Exptl. Cell Res., 16, 3, 602—614. — Spiegelman, S., 1956. The Present Status of the Induced Synthesis of Enzymes. Proc. Third Internat. Congr. Biochem., Brussels 1955, Acad. Press Inc., New York, 185—195. — Starlinger, P., Kaudewitz, F., 1956. Ein pseudoallel — spezifischer Suppressor bei *Salmonella typhimurium*. Z. Naturforsch., 11 b, 6, 317—329. — Szilard, L., 1960. The Molecular Basis of Antibody Formation. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 46, 3, 293—302. — Šterzl, J., Hrubešová, M., 1956. The Transfer of Antibody Formation by Means of Nucleoprotein Fractions to Non-Immune Recipients. Folia biol. (Českosl.), 2, 1, 21—27. — Šterzl, J., Riha, I., Trnka, Z., 1958. Formation of «Normal» and Immune γ -Globulin in Newborn Rabbit. Intern. Congr. Biochem., Abstracts IV, Section 16, Wien, 195. — Yčas M., Vincent, W. S., 1960. A Ribonucleic Acid Fraction From Yeast Related in Composition to Deoxyribonucleic Acid. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 46, 6, 804—811.

**HOMOLOOGILISE DESOKSÜRIBONUKLEOPROTEIIDI MÕJUST
 Г-ГЛОБУЛИINIDE SÜNTEESIVÕIMELE IMMUNOLOOGILISE
 AREAKTIIVSUSE PERIOODIL**

Ü. Pavel,
 veterinaariakandidaat

Resümee

Uuriti γ -globuliinide ja antikehade sünteesivõime esilekutsumise võimalust immunoloogilise areaktiivsuse perioodil homoloogilise desoksüribonukleoproteiididega (DNP). Doonoritena kasutati kolmekuuseid ja vanemaid viini sinist tõugu küülikuid, retsipientidena sama tõu viie päeva vanuseid isendeid. Normaalse küüliku põrnast isoleeritud DNP ei kutsunud esile ei γ -globuliinide ega ka teiste vereseerumi valgufraktsioonide suhtelise hulga olulist suurenemist. *Escherichia coli* O 111 rakkudega stimuleeritud täiskasvanud küüliku põrnast isoleeritud (48 tundi pärast stimuleerimist) DNP ei kutsunud esile O-aglutiniinide moodustumist küülikupoegadel. Vaadeldakse DNP võimalikku osa adaptatiivses proteosünteesis.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
 Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse
 10. X 1960

**ON THE EFFECT OF HOMOLOGICAL DESOXYRIBONUCLEOPROTEIN ON
 THE ABILITY TO SYNTHESIZE GAMMA GLOBULINS DURING THE
 PERIOD OF IMMUNOLOGICAL AREACTIVITY**

Ü. Pavel

Summary

Tests were made on the possibility of calling forth an ability to synthesize gamma globulins and antibodies during the period of immunological areactivity, with the use of homological desoxyribonucleoprotein (DNP). As donors three-month-old and older Vienna blue rabbits were used, as recipients — five-day-old specimens of the same breed. DNP isolated from the spleen of a normal rabbit did not cause any marked increase in the relative amount of gamma globulins or other protein fractions of the blood serum. DNP isolated (48 hours after stimulating) from the spleen of an adult rabbit stimulated with cells of *Escherichia coli* O 111 did not call forth any formation of O-agglutinines in the young rabbits. The author discusses the part on DNP, which it may play in the adaptative proteosynthesis.

*Academy of Sciences of the Estonian S. S. R.,
 Institute of Experimental Biology*

Received
 Oct. 10th, 1960