рорганических соединений, Изд. АН СССР, 1962, стр. 24.
[3] Quin, L. D. and Dysart, M. R., *J. Org. Chem.*, **27**, 1012 (1962).
[4] Swilder, R., Plapinger, R. E. and Steinberg, G.M., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3271 (1959).
[5] Brock, F. H., *J. Org. Chem.*, **22**, 1114 (1957).
[6] 蔣明謙、戴萃辰，化学学报，**28**，275 (1962)。
[7] Gordy, W., *J. Chem. Phys.*, **7**, 93 (1939); *ibid*, **8**, 170 (1940).
[8] Кабачник, М. М., Мастюкова, Т. А., ЖОХ, **32**, 267 (1962); **33**, 382 (1963); *Tetrahedron*, **17**, 239 (1962).
[9] Blumenthal, E. and Herbert, J. B. M., *Trans. Faraday Soc.*, **41**, 611 (1945).

蓖麻蚕絲腺組織內核糖核酸的代謝

呂家鴻　顧健人*　王珮瑜　朱瑩书

（中国科学院实驗生物研究所）

众所周知，蛋白質合成必須有核糖核酸(RNA)的存在。許多有关誘导酶形成的实驗[1,2,3]还指出蛋白質合成不仅要有 RNA 作为样板，而且还需要同时有 RNA 的形成或更新。在我們以前的报告中[4]曾观察到蓖麻蚕在五龄初期，絲腺組織內的 RNA 大量增加，但自第四天后則开始下降，^{32}P 参入 RNA 的效率亦以第四天为最高，以后随即迅速降低，然而 ^{14}C-甘氨酸参入絲蛋白的速度却在第四天至上簇前一段期間最为旺盛。这一結果似乎表明絲蛋白合成和 RNA 的更新并非亦步亦趋，这显然与蛋白質合成要依賴于 RNA 的观点，有一定的分歧。本文的目的是为了探討这种分歧的由来以及如何解释蚕体的这种分歧。

实驗所用的材料均系申蓝純种五龄期的蓖麻蚕，飼育于室溫（20—22℃）。絲腺內总 RNA 含量按照 Schneider[5] 方法用 Orcinol 反应測定。根据 Kirby (1956)[6], Matsuzaki (1963)[7] 及 Sibatani (1962)[8]等人的方法加以改进，从絲腺組織制备三种不同的 RNA：小分子 RNA (*L*-RNA)，大分子 RNA (*H*-RNA) 和酚不能释离的 RNA (*P*-RNA)。^{32}P 則由蚕体背部注射，每蚕注射量为 5μc，在注射后 1/2、1、2 小时分批取出絲腺，制成各种 RNA，測定其放射性。各种 RNA 的鹼基組成，則用紙电泳和柱层析分离測定。观察各种 RNA 的功能时，則以絲腺溫育于含有 ^{14}C-甘氨酸的 Robinson 溫育液內，加以不同的 RNA，溫育于 30℃，維持 60 分鈡，然后用 0.7*N* 过氯酸停止反应制成蛋白，測定其放射性。

实驗結果指出总 RNA 含量在五龄第四天后有显著下降(表 1)。但比較各种不同 RNA 的百分比

表 1　五龄蚕絲腺內总 RNAP 在含量上的变化

发　育　日　期	RNAP (μg/每蚕絲腺)
第　一　天	39.02
第　二　天	162.00
第　三　天	400.64
第　四　天	711.00
第　五　天	378.84
第　六　天	271.74

时，則見在第三天初 *P*-RNA 只占总 RNA 量的 11.41%；第四天末增至 32.90%；而至上簇前更升至 41.90%。然而 *H*-RNA 的情况却完全相反，它的含量逐日下降，由第三天初的 47.36% 降至上

* 上海肿瘤研究所来本所的进修生。

簇前的 14.29%。至于 *L*-RNA，变化并不显著(表 2)。在絕对量方面第六天末的 *P*-RNA 約为第三天初的 5 倍，而 *H*-RNA 只及第三天初的一半。由此可知絲腺內 RNA 不仅在量上而且在質上都有显著的改变。

表 2　三种 RNA 在总量百分比上的变化
(总量=100%)

絲腺材料	*H*-RNA	*L*-RNA	*P*-RNA
五龄第三天初	47.36%	41.22%	11.41%
,, 第四天末	19.90%	47.20%	32.90%
,, 第六天末	14.29%	43.81%	41.90%

从 ^{32}P 的同位素实驗中观察到 *P*-RNA 的比放射性为最高，*H*-RNA 的为最低，而 *L*-RNA 介乎其間(图 1)。比較不同日期 ^{32}P 参入 RNA 的效率，发現在第四天后日見下降，到結茧前其参入效率只是第四天时的 1/7 左右(表 3)。这与我們以前报告的相符[4]。

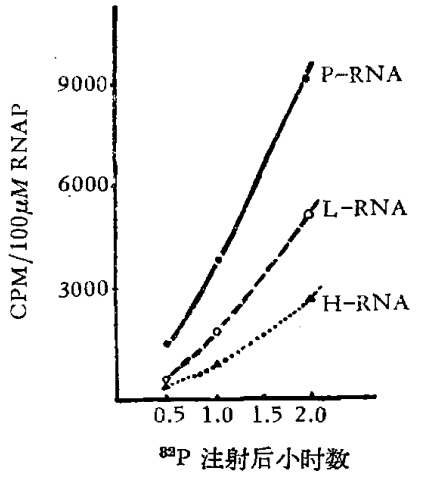


图 1　^{32}P 参入五龄第四天絲腺 RNA 的时間曲綫

表 3　^{32}P 参入絲腺 RNA 的变化(cpm/100μM RNAP)

絲腺材料	*H*-RNA	*L*-RNA	*P*-RNA
五龄第四天末	2895	4976	8922
,, 第六天初	544	1187	4098
,, 第六天末	411	755	1258

分析各种 RNA 的碱基組成，*L*-RNA 和 *H*-RNA 都是标准的 G—C 型，它們的 G + C/A + U 比值分别为 1.51 和 1.31，但 *P*-RNA 則有过渡到 A—U 型的趋势，它的 G + C/A + U 为 1.08，而絲腺 DNA 內 G + C/A + T 为 0.64。这表明 *P*-RNA 的碱基組成更接近于 DNA 的类型(表 4)。

表 4　三种 RNA 和 DNA 的碱基組成(%)

組　別	C	A	G	U(T)	G + C/A+U(T)
L-RNA	26.53	19.90	33.61	19.95	1.51
H-RNA	23.90	22.82	32.72	20.55	1.31
P-RNA	22.82	23.74	29.05	24.37	1.08
DNA	19.79	31.58	19.16	29.47	0.64

在观察各种 RNA 的功能时，发現 *P*-RNA 对促进 ^{14}C-甘氨酸参入絲蛋白有显著作用，*L*-RNA 也有微小促进，而 *H*-RNA 則无明显影响。有趣的是，*P*-RNA 和 *L*-RNA 合并作用高于它們单独的作用，*P*-RNA，*L*-RNA 和 *H*-RNA 的合并作用又高于 *P*-RNA 和 *L*-RNA 的作用(表 5)。

表 5　三种 RNA 对 ^{14}C-甘氨酸参入的促进作用

組　別	絲蛋白比放射性(cpm/毫克蛋白)	促进百分数
对照	609	—
+*P*-RNA(41.5μgRNAP)	740	+21.5%
+*L*-RNA(45μgRNAP)	652	+ 7.0%
+*H*-RNA(43.8μgRNAP)	573	− 5.0%
+*P*-RNA + *L*-RNA	792	+ 30%
+*P*-RNA + *L*-RNA + *H*-RNA	869	+ 43%

如将絲腺先与 100μg RNase 在 30℃ 預溫 30 分鈡，而后洗去 RNase，再加 ^{14}C-甘氨酸溫育，則見发育期不同的絲腺对 RNase 的敏感性不同。第四天的絲腺經 RNase 預溫后，^{14}C-甘氨酸参入絲蛋白受到 62%的抑制，而第六天的絲腺經同样处理只表現 14%的抑制(表 6)，說明第六天絲腺內的 RNA，对 RNase 具有相当强的抗性，卽 *P*-RNA 不易受 RNase 的作用，这与 Hoagland 等(1963)[9]在鼠肝 X-Fraction 中見到的情况类似。在我們以往的工作中曾見到五龄初期絲腺內总 RNA 无力恢复 RNase 的抑制作用，Takeyama 等(1958)[10]在家蚕絲腺上也报告絲腺总 RNA 不能恢复 RNase 的損害，但現在用 *P*-RNA 或三种 RNA 之和却有部分恢复的功能(表 6)。

表 6　RNase 的作用和 RNA 的恢复作用

組　　別	第四天絲腺(cpm/毫克蛋白)	第六天絲腺(cpm/毫克蛋白)
完整絲腺	405	570
經 100μgRNase 处理后	154	488
再加 *P*-RNA	246	536
L-RNA	223	472
H-RNA	163	480
P-RNA + *L*-RNA + *H*-RNA	270	531

以上这些結果表明絲腺內的 RNA 是完全处于代謝动态之中，总 RNA 在接近上簇期虽有显著下降，但并不影响絲蛋白的合成。根据此时 *P*-RNA 的增高及 *P*-RNA 对 ^{14}C-甘氨酸参入的促进，足見絲蛋白合成更依賴于 *P*-RNA 的存在，但三种 RNA 的合并作用高于任何一种 RNA，則又說明絲蛋白合成要依賴于这些 RNA 在含量上有适当的配合。

絲腺是昆虫合成和分泌絲蛋白的器官，昆虫在幼虫期攝取营养的过程中带来了大量游离氨基酸，为了保証正常的发育，过多的游离氨基酸必須由体液中排除，而絲腺正是消除这些游离氨基酸的一种分泌器官，所以它的发生和消亡总是适应身体的需要。当蚕上簇結茧以后，絲腺的任务完成，絲腺的結构也随之消失。五龄期是絲腺任务最繁重的时期，但同时也是接近它消亡的时期，所以在上簇前絲腺內溶酶体系的活动必然加强，RNase 的活力也必然增高，这就造成 *H*-RNA 的大量降解，使絲腺內总 RNA 減少。然而此时身体要求絲腺合成絲蛋白的任务更高，因而就增多对 RNase 抗力較强的 *P*-RNA 来解决这种生理上的矛盾。自然，这种 *P*-RNA 必需具备有合成"絲"蛋白的訊息。事实上，根据 *P*-RNA 的分离方法和它的碱基組成，有理由認为这种 RNA 是密切与染色体結合的 RNA[11-14]，再根据它标記的迅速和它促进标記氨基酸的参入，推测它可能具有传递訊息的功能[15-17]。

最后应該提到的一点是，既然在五龄后期 *P*-RNA 有淨的增多，但比較 ^{32}P 参入 *P*-RNA 的效率却远低于五龄初期(表 3)，我們認为这是由于 *H*-RNA 在此时有大量降解，增高了絲腺內核苷酸的含量，以致 ^{32}P 受到愈来愈大的稀释作用的結果。

[1] Pardee A. B., *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S.*, **40**, 263 (1954).
[2] Gale E. F., Folkes J. P., *Biochem. J.*, **59**, 675 (1955).
[3] Spiegelman S., Halvorson H. O., Ben-Ishai R., *Symposium no Amino Acid Metabolism*, The Johns flopkins Press, Baltimore, p. 124 (1955).
[4] 呂家鴻、王珮瑜，实驗生物学报，**8**，301—322 (1963)。
[5] Schneider W. S., *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 (1945).
[6] Kirby S., *Biochem. J.*, **64**, 405 (1956).
[7] Matsuzaki K., *J. Biochem.*, **53**, 326 (1963).
[8] Sibatani A., De Kloet S. R., Allfrey V. G., Mirsky A. E; *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S.*, **48**, 471 (1962).
[9] Hoagland M. S., Askonas B. A., *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S.*, **49**, 130 (1963).
[10] Takeyama S., Ito. H., Miura. Y., *Biochim. Biophys. Acta.*, **30**, 323 (1958).
[11] Jacob F., Monod J., *J. Mol. Biol.*, **3**, 318 (1961).
[12] Gros F., Hiatt H., Gilbert W., Kurland C. G., *Nature*, **190**, 581 (1961).
[13] Volkin E., *Fed. Proc.*, **2**, 112 (1962).
[14] Georgiev G. P., Mantieva V. L., *Biochim. Biophys. Acta.*, **61**, 153 (1962).
[15] Hiatt H. H., *J. Miol. Biol.*, **5**, 217 (1962).
[16] Harris H., Fisher H. W., *Proc. Roy. Soc. Ser. B.*, **157**, 177 (1963).
[17] Barondes S. M., Dingnam C. W., Sporn M. B., *Nature*, **196**, 145 (1962).