

Katedra i Zakład Chemii Fizjologicznej. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: doc. dr Tomasz Borkowski

Katedra i III Klinika Chorób Wewnętrznych. Wydział Lekarski.

Akademia Medyczna w Lublinie

Kierownik: doc. dr Witold Szewczykowski

Władysława Krystyna SIKORSKA

Kwasy nukleinowe w mitochondriach mózgu królika

Нуклеиновые кислоты в митохондриях мозга кролика

Nucleic Acids in the Mitochondria of Rabbit Brain

Pierwsze sugestie na temat możliwości istnienia pozajądrowego DNA pochodzą z r. 1956, kiedy to Chevremont (9) zaobserwował dodatnią reakcję Feulgena w obrębie cytoplazmy fibroblastów embrionów kurzych. W następnych latach dostarczono dowodów, że DNA stwierdzany w mitochondriach nie jest pochodzenia jądrowego (4, 5, 7, 22, 27). W ślad za badaniami nad mitochondrialnym DNA poszły próby izolacji i charakterystyki RNA mitochondrialnego (1, 11, 20, 31). Prace te prowadzono głównie na organizmach jednokomórkowych lub tkankach o dużej homogenności morfologicznej.

Na uwagę zasługują mitochondria tkanki nerwowej. Stwierdzono, że są one czułym wskaźnikiem stanu funkcjonalnego komórki (30) i wykazują charakterystyczną lokalizację (33). W dużej liczbie są nagromadzone w obrębie synaps i zakończeń nerwowych, niejednokrotnie w znacznej odległości od ciała komórki, co nasuwa przypuszczenie dodatkowej roli tych elementów w tkance nerwowej. Jak sądzą niektórzy autorzy (8), mitochondria te mogą syntetyzować białka strukturalne pęcherzyków synaptycznych. Poza tym doświadczenia przeprowadzone przez Klee i Sokoloff'a (19) wskazują na udział mitochondriów komórek glejowych w procesie syntezy proteolipidów podczas wzrostu i rozwoju mózgu.

Celem niniejszej pracy było uzyskanie czystych kwasów nukleinowych z frakcji mitochondrialnej tkanki mózgowej królika oraz określenie niektórych właściwości mitochondrialnego RNA.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

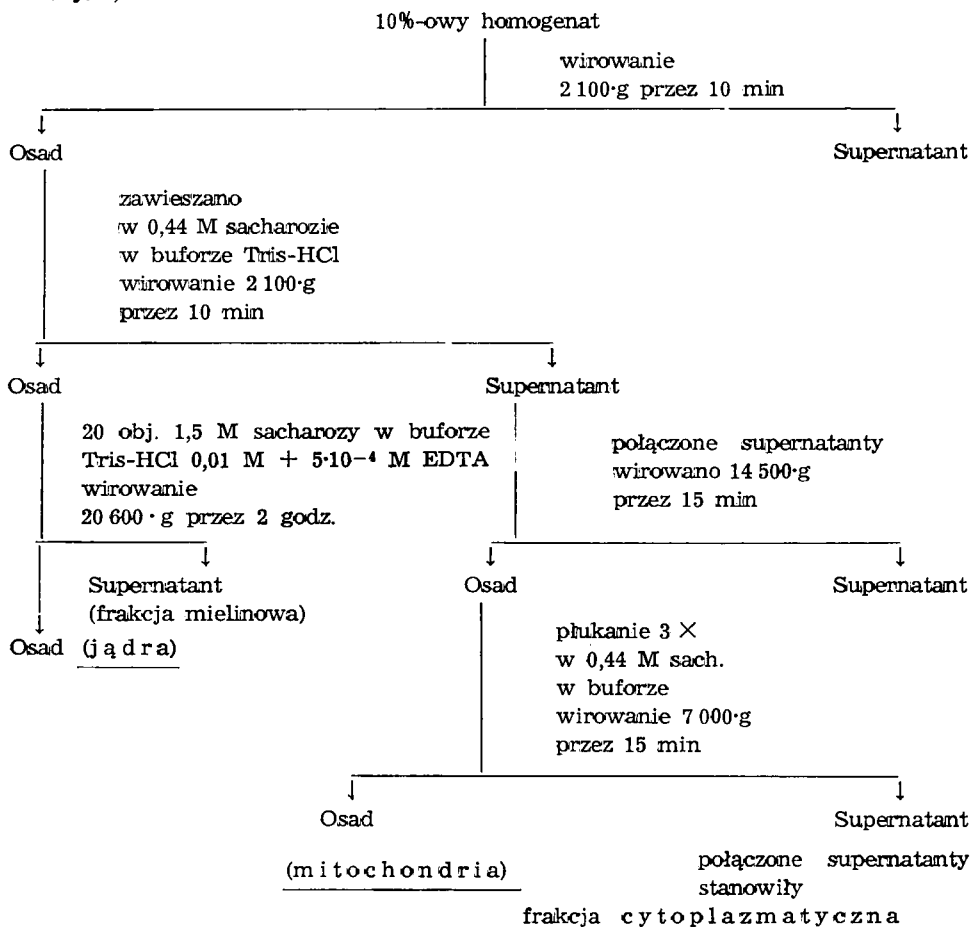
Do doświadczeń użyto królików ciężaru około 2 kg, obojga płci. Przeciętna masa czterech mózgów króliczych wahała się od 40 do 46 g. Zwierzęta zabijano przez dekapitację, a wypreparowane mózgi starannie oczyszczano z opon i splotów naczyniowych. Z tkanki mózgowej sporządzano 10% homogenat w 0,44 M sacharozie w buforze Tris-HCl 0,01 M o pH 7,2 z dodatkiem $5 \cdot 10^{-4}$ M EDTA. Mitochondria

preparowano metodą różnicowego wirowania (21). Z osadu po pierwszym wirowaniu homogenatu tkanki otrzymywano jądra komórkowe (2). Supernatant pozostały po osadzeniu jąder i mitochondriów zawierał płyn cytoplazmatyczny i rybosomy. Stanowił on „frakcję cytoplazmatyczną”. Do frakcji cytoplazmatycznej dodawano NaCl do stężenia 0,1 M i zadawano 2 objętościami 96% etanolu. Wytrącony osad użyto do ekstrakcji kwasów nukleinowych. Otrzymywanie poszczególnych frakcji subcelularnych przedstawiono na załączonym schemacie nr 1.

Przy ekstrakcji kwasów nukleinowych starano się dobrać metodę dającą możliwie najwyższą wydajność czystych kwasów nukleinowych z preparatów mitochondrialnych. Zastosowano więc technikę dwukrotnej ekstrakcji fenolem przy zmiennych stężeniach chlorku sodu i pH środowiska według załączonego schematu nr 2.

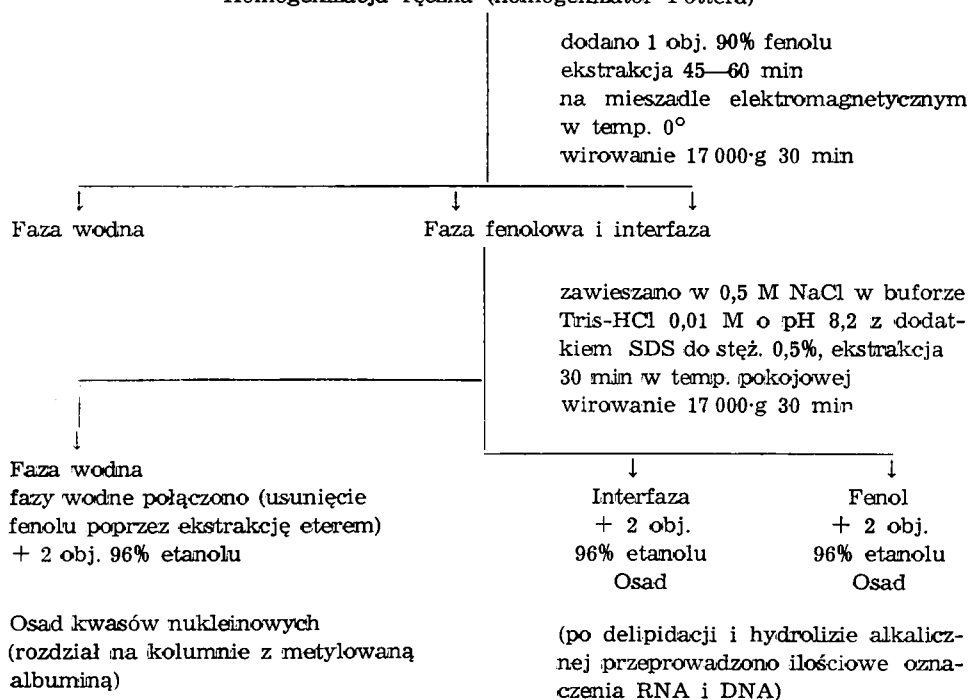
Schemat nr 1. Otrzymywanie jąder, mitochondriów i frakcji cytoplazmatycznej

Tkanina mózgowa zawieszona w 0,44 M sacharozie w buforze Tris-HCl 0,01 M z dodatkiem $5 \cdot 10^{-4}$ M EDTA. Homogenizacja 3 min. (homogenizator typu Potter-Elvehjem).



Schemat nr 2. Ekstrakcja kwasów nukleinowych

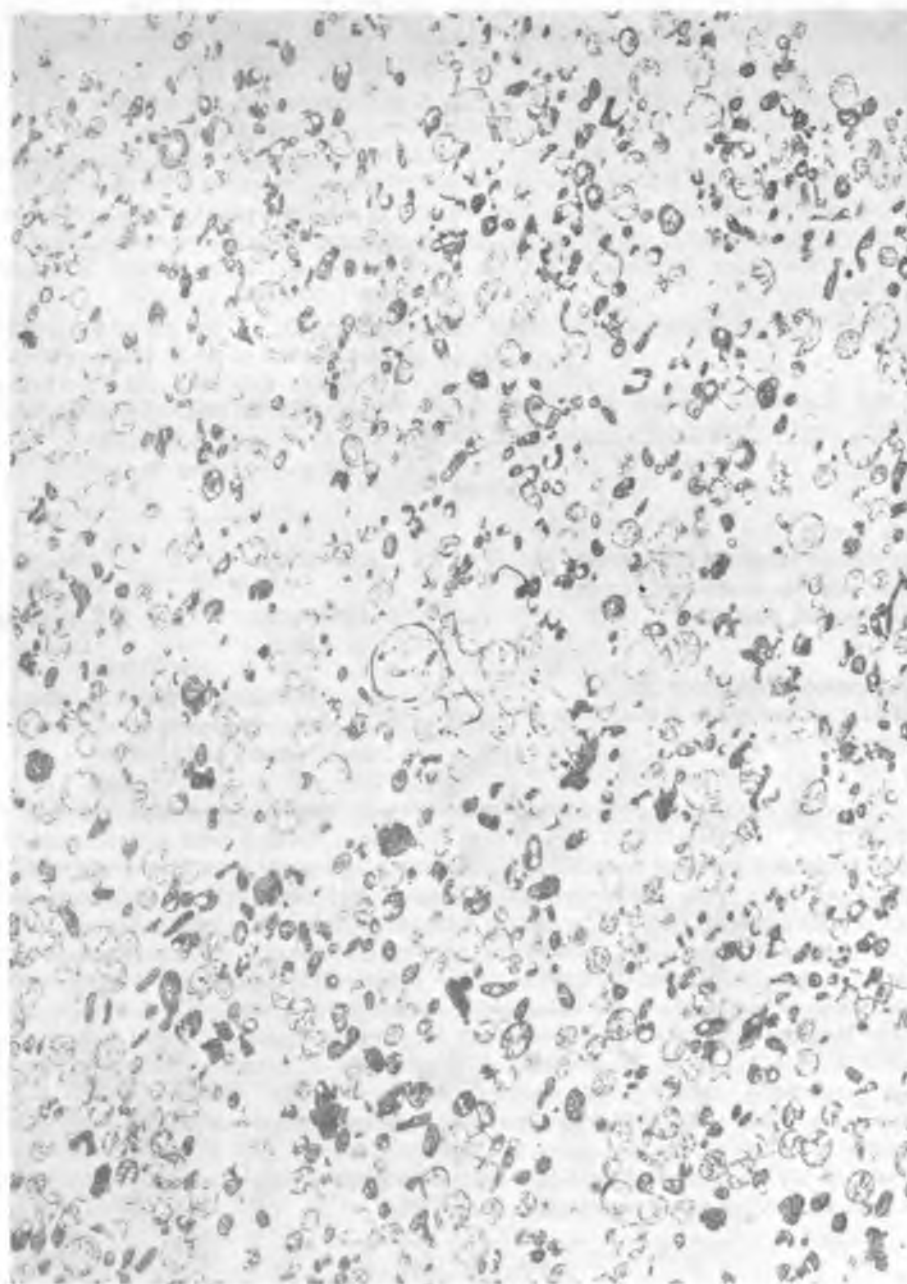
Osad analizowanej frakcji subcelularnej zawieszano w 0,14 M NaCl w buforze Tris-HCl 0,01 M o pH 7,2 z dodatkiem $5 \cdot 10^{-4}$ M EDTA i SDS do stężenia 2%
Homogenizacja ręczna (homogenizator Pottera)



Pierwsza ekstrakcja prowadzona była w warunkach korzystnych głównie dla izolacji RNA, a dodatek SDS jako silnego inhibitora RN-azy miał na celu zapobieganie degradacji kwasów nukleinowych podczas preparatyki oraz ułatwienie rozbitcia kompleksu kwas rybonukleinowy-białko. Przy drugiej ekstrakcji zwiększono stężenie NaCl i zastosowano bufor o wyższym pH, co pozwala na lepszą izolację DNA. W identycznych warunkach prowadzono ekstrakcję kwasów nukleinowych z jąder i „frakcji cytoplazmatycznej”. Czyste kwasy nukleinowe zawarte we frakcji wodnej poddawano chromatografii na kolumnie z metylovaną albuminą (24). Elucję z kolumny kwasów nukleinowych prowadzono ciągłym gradientem chlorku sodu w roztworze Tris-HCl 0,01 M. W uzyskanych z rozdziału chromatograficznego frakcjach RNA oznaczono składy nukleotydowe według metody opisanej przez Katz i Comba (17). Ilość RNA określano na podstawie oznaczeń fosforu całkowitego metodą Hursta (16), rybozy w reakcji orcyonolowej (25) i pomiaru absorpcji światła w UV (32). Ekstrakcję DNA oraz oznaczenia ilościowe dokonywano w warunkach opisanych we wcześniejszej pracy (3).

WYNIKI BADAŃ

Heterogenność morfologiczna tkanki mózgowej stwarza dodatkowe trudności w uzyskiwaniu czystych preparatów mitochondrialnych.



Ryc. 1. Obraz preparatu mitochondrialnego w mikroskopie elektronowym
The picture of mitochondrial preparation under an electronic microscope

Koniecznym było więc wprowadzenie odpowiedniego kryterium celem określenia ich stopnia czystości. Wielokrotnie w poszczególnych eksperymentach część materiału przeznaczano do zdjęć w mikroskopie elektronowym. Większość uzyskiwanych preparatów wykazywała całkowitą homogenność morfologiczną. Niektóre tylko były zanieczyszczone pojedynczymi fragmentami mielinowymi, jak to obrazuje załączona ryc. 1.

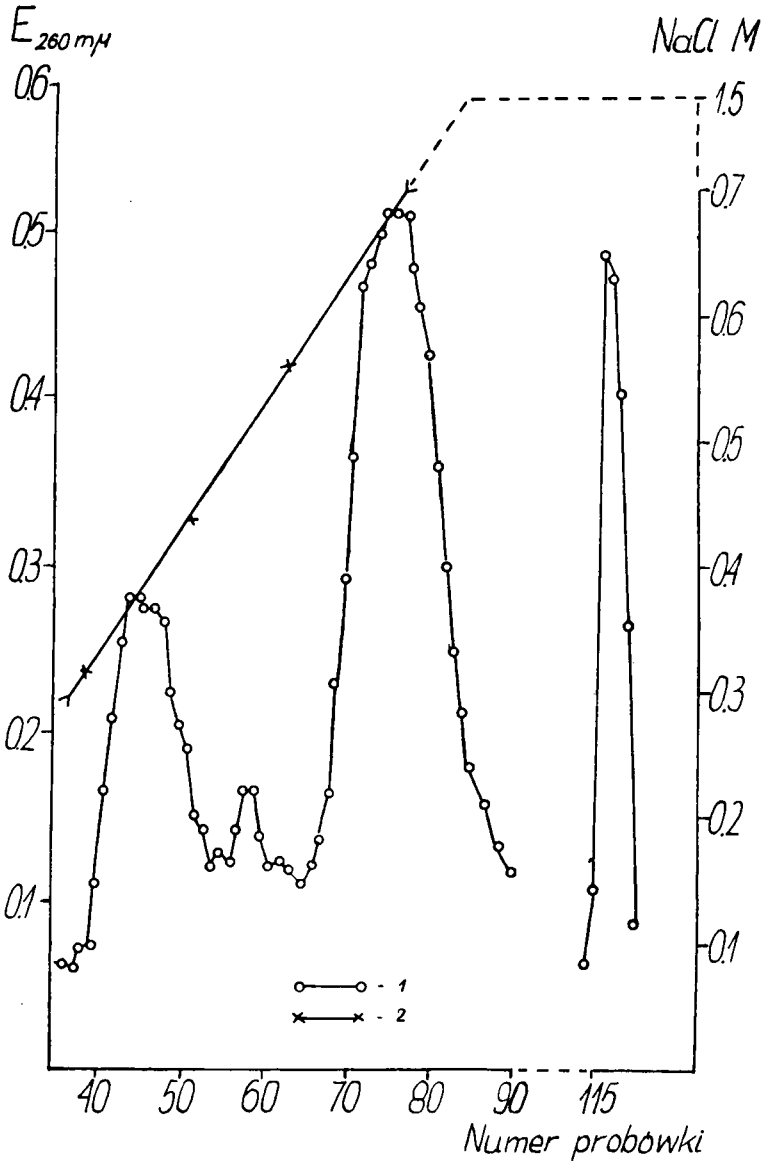
W zastosowanych warunkach ekstrakcji uzyskiwano z preparatów mitochondrialnych około 84% RNA i 46,6% DNA. Reszta kwasów nukleinowych pozostawała w interfazie i fazie fenolowej. Rozdział kwasów nukleinowych z poszczególnych frakcji subcelularnych ilustrują wykresy sporządzone z pomiaru absorpcji światła w 260 nm. Krzywe rozdziału kwasów nukleinowych z preparatów mitochondrialnych w kilkunastu doświadczeniach miały ten sam charakter, a jedną z nich przedstawiono poniżej na ryc. 2. Na każdym wykresie stwierdzono obecność czterech szczytów absorpcji, występujących przy różnym stężeniu chlorku sodowego. Pierwszy szczyt pojawiał się przy stężeniu 0,25 M NaCl i odpowiadał produktom częściowej degradacji kwasów nukleinowych.

Tab. 1. Procentowy rozkład poszczególnych typów RNA z preparatów mitochondrialnych uzyskanych w wyniku rozdziału na kolumnie z metylovaną albuminą
Per cent distribution of individual RNA types of mitochondrial preparations obtained from separation on the methylated albumin kieselguhr column

Nr doświadczenia	Frakcja RNA eluująca się 0,4 M NaCl (s-RNA) %	Frakcja RNA eluująca się 0,68 M NaCl (r-RNA) %	Frakcja RNA eluująca się 1,5 M NaCl w 0,2 n NH ₄ OH %	$\frac{s-RNA}{r-RNA}$
1	33,5	53,6	12,9	0,62
2	35,1	45,7	19,2	0,76
3	29,6	58,6	11,8	0,50
4	21,7	66,2	12,1	0,32
5	36,9	50,0	13,1	0,73
6	28,2	54,0	17,8	0,52

Na przedstawionym wykresie frakcja ta nie została uwzględniona. Drugi szczyt krzywej przypadał na frakcję kwasów nukleinowych eluującą się około 0,4 M NaCl. Następne szczyty absorpcji, to frakcja kwasów nukleinowych eluująca się 0,52 M i 0,68 M NaCl. Na podstawie przeprowadzonych oznaczeń ilościowych metodami kolorymetrycznymi stwierdzono, że frakcja eluująca się 0,52 M NaCl posiada głównie DNA obok niewiel-

kich ilości RNA. Pozostałe frakcje zawierały wyłącznie RNA. Zaobserwowano ponadto, że w zastosowanych warunkach chromatografii nie wpływa z kolumny całość naniesionych kwasów nukleinowych. Wobec tego

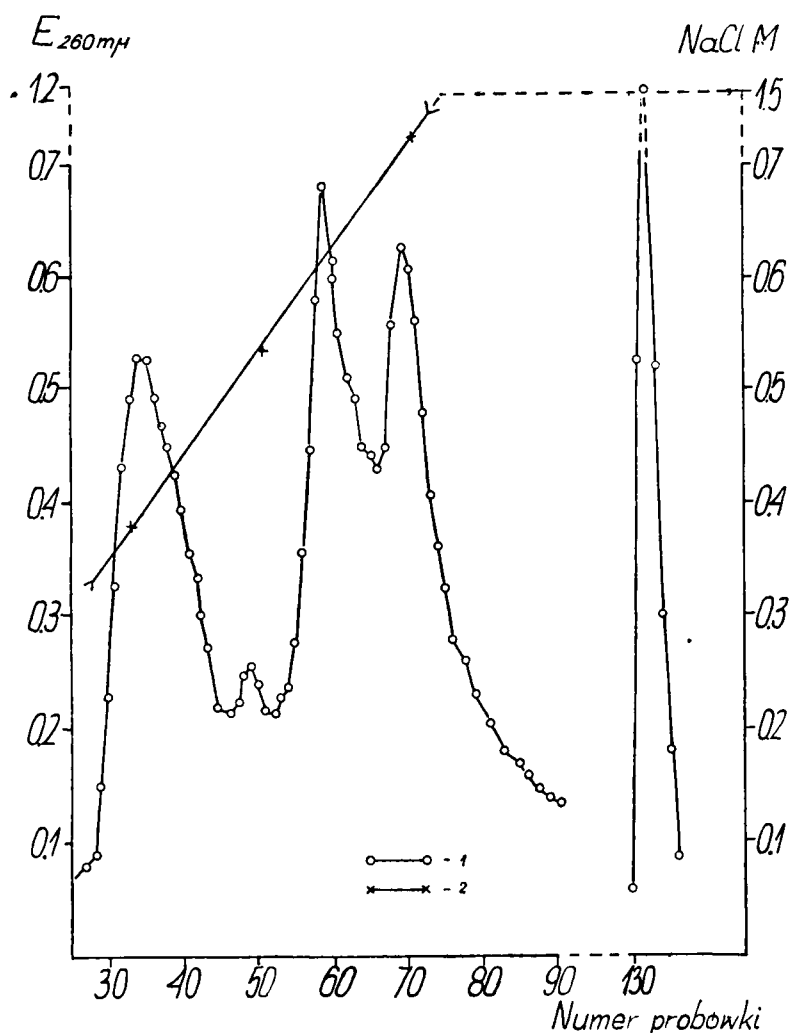


Ryc. 2. Chromatograficzny rozdział kwasów nukleinowych preparatów mitochondrialnych na kolumnie z metylowaną albuminą; 1 — ekstynkcje przy 260 nm, 2 — stężenie NaCl w molach

Chromatographic separation of nucleic acids of the mitochondrial preparations on the methylated albumin kieselguhr column; 1 — extinction at 260 nm, 2 — concentration of NaCl in moles

w końcowej fazie chromatografii zastosowano elucję bardziej stężonym roztworem NaCl w roztworze amoniakalnym (1,5 M NaCl w 0,2 n NH_4OH) (28), uzyskując dodatkową frakcję RNA. Procentowy rozkład poszczególnych typów RNA uzyskanych w wyniku rozdzielania na kolumnie został zestawiony w tabeli 1.

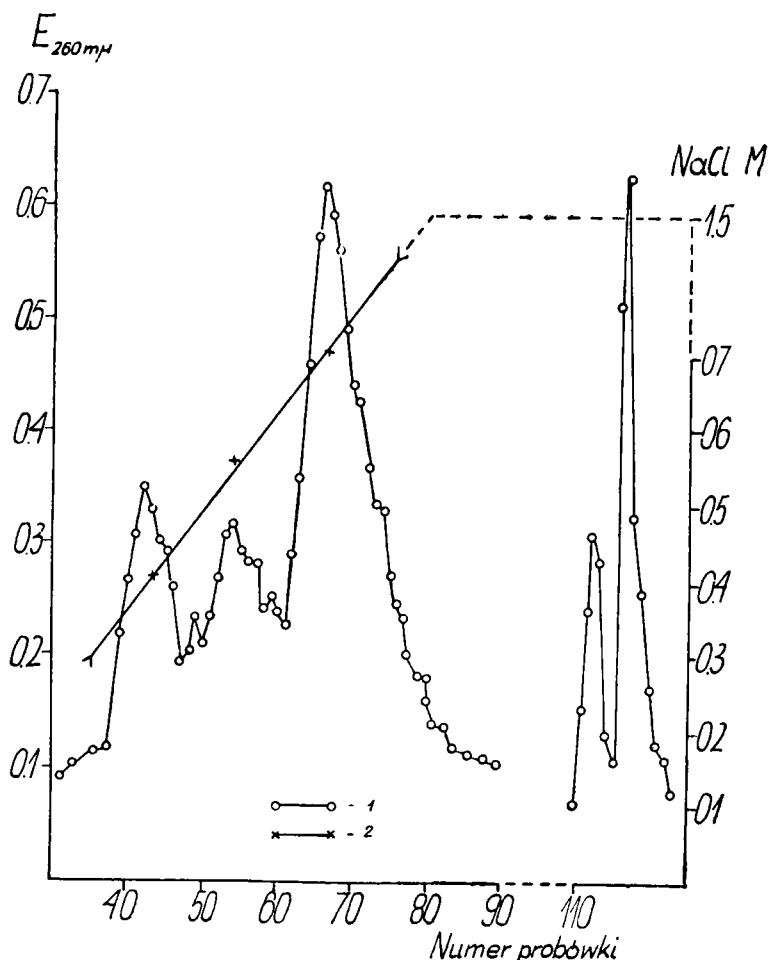
Z przedstawionych danych z sześciu kolejnych doświadczeń wynika, że frakcja kwasów nukleinowych wpływająca z kolumny przy stężeniu



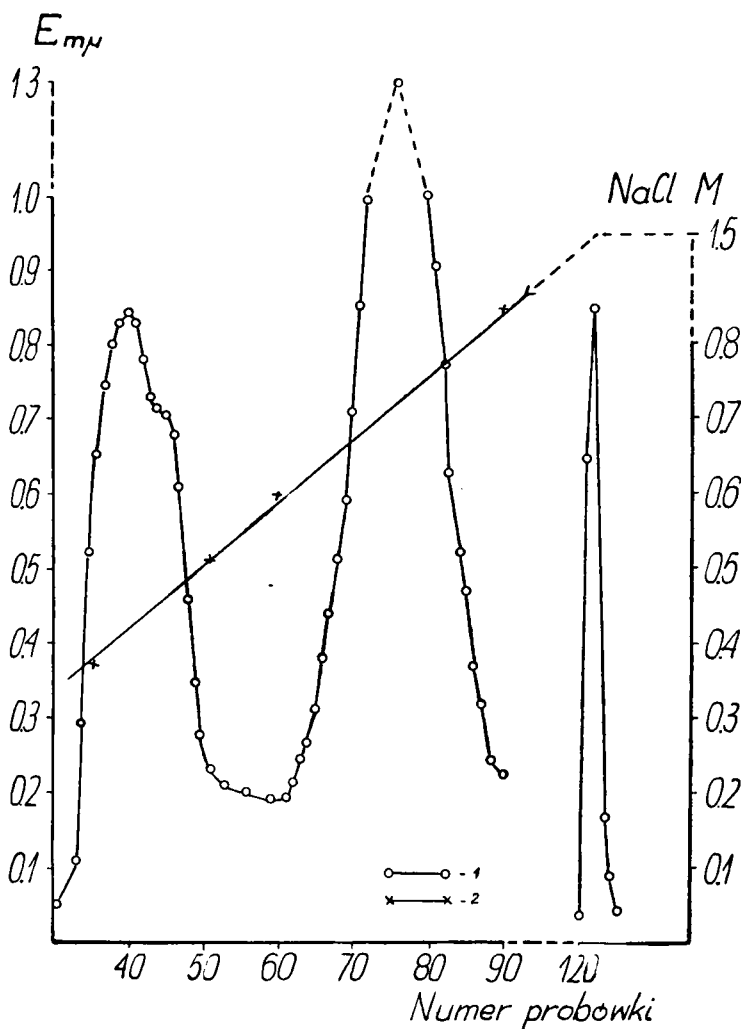
Ryc. 3. Chromatograficzny rozdział kwasów nukleinowych preparatów mitochondrialnych na kolumnie z metylowaną albuminą; objaśnienia patrz ryc. 2
 Chromatographic separation of nucleic acids of the mitochondrial preparations on the methylated albumin kieselguhr column; for explanation see Fig. 2

chlorku sodu 0,4 M stanowiła od 21,7 do 36,9%, a eluująca się 0,68 M NaCl od 45,7 do 66,2%. Stosunek obydwu typów RNA wahał się od 0,32 do 0,76. W jednym przypadku na kilkanaście przeprowadzonych doświadczeń przebieg krzywej rozdziału kwasów nukleinowych był nieco odmienny (ryc. 3). Stwierdzono bowiem obecność dodatkowej frakcji RNA eluującej się 0,73 M NaCl.

Równolegle prowadzono również analizę chromatograficzną kwasów nukleinowych otrzymywanych z jąder i „frakcji cytoplazmatycznej”.



Ryc. 4. Chromatograficzny rozdział kwasów nukleinowych z jąder komórkowych na kolumnie z metylowaną albuminą. Do analizy użyto preparat kwasów nukleinowych, z którego wstępnie usunięto nadmiar DNA; objaśnienia patrz ryc. 2
 Chromatographic separation of nucleic acids from cellular nuclei on the methylated albumin kieselguhr column. The preparation of nucleic acids with removed surplus of DNA was used for analysis; for explanation see Fig. 2



Ryc. 5. Chromatograficzny rozdział kwasów nukleinowych frakcji cytoplazmatycznej na kolumnie z metylowaną albuminą; objaśnienia patrz ryc. 2

Chromatographic separation of nucleic acids of cytoplasmatic fraction on the methylated albumin kieselguhr column; for explanation see Fig. 2

W preparatach kwasów nukleinowych otrzymanych z jąder komórkowych przeważającą ilość stanowił DNA. Analiza chromatograficzna tych preparatów wykazywała brak rozdziału pomiędzy DNA i frakcjami RNA. Dlatego też używano preparatów kwasów nukleinowych, z których nadmiar DNA był wstępnie usuwany. W tym celu do fazy otrzymanej po ekstrakcji fenolowej dodawano 1 objętość etanolu. Tworzące się włókna DNA usuwano przez nawinięcie na szklaną bagietkę. Następnie doda-

wano drugą objętość etanolu i wówczas precypitował zawarty w roztworze RNA. Tak otrzymane preparaty kwasów nukleinowych z jąder podczas analizy chromatograficznej dawały dobry rozdział poszczególnych frakcji (ryc. 4). Jak wynika z przedstawionego wykresu, otrzymano trzy szczyty krzywej odpowiadające obecności DNA (przy stężeniu 0,52 M NaCl) oraz dwóm frakcjom RNA (przy stężeniu 0,4 i 0,68 M NaCl). Dodatkowa frakcja eluowana z kolumny 1,5 M NaCl w roztworze amoniaku zawierała obok RNA również niewielkie ilości DNA. Przy podobnych stężeniach chlorku sodu wypływały z kolumny chromatograficznej poszczególne typy RNA „frakcji cytoplazmatycznej” (ryc. 5). Nie wykazano natomiast obecności frakcji odpowiadającej charakterystyką chromatograficzną DNA.

Celem ustalenia bliższej charakterystyki poszczególnych typów RNA uzyskanych po rozdziale chromatograficznym, wykonano oznaczenia ich składu nukleotydowego. Wyniki zestawiono kolejno w tabelach. Wartości zestawione w tabelach są średnimi arytmetycznymi z kilku doświadczeń, obok których podano błąd średniej.

Tab. 2. Skład nukleotydowy poszczególnych typów RNA mitochondrialnego otrzymanych w wyniku rozdziału na kolumnie z metylowaną albuminą
Nucleotide composition of individual types of the mitochondrial RNA obtained from separation on the methylated albumin kieselguhr column

Frakcje RNA eluujące się:	Skład nukleotydowy w procentach molowych				$\frac{G+C}{A+U}$	$\frac{G+A}{U+C}$
	UMP	GMP	CMP	AMP		
0,4 M NaCl	24,7±0,76	31,6±0,57	23,5±0,47	20,0±0,76	$\pm 1,23$ $\pm 0,024$	$\pm 1,06$ $\pm 0,037$
0,68 M NaCl	21,6±0,8	35,1±0,45	26,0±0,7	17,2±0,55	$\pm 1,58$ $\pm 0,050$	$\pm 1,1$ $\pm 0,02$
1,5 M NaCl w 0,2 n NH ₄ OH	20,8±0,14	33,0±0,14	25,8±0,8	20,3±0,9	$\pm 1,43$ $\pm 0,048$	$\pm 1,13$ $\pm 0,038$

Jak wynika z załączonej tabeli 2, najwyższą wartość nukleotydów guanilowych i cytydylowych posiada frakcja RNA eluowana z kolumny 0,68 M NaCl. Stosunek GC/AU tej frakcji wynosi 1,58, zaś GA/UC równy 1,0. Kwas rybonukleinowy wypływający z kolumny przy stężeniu 0,4 M NaCl posiada skład nukleotydowy charakterystyczny dla s-RNA. Zawiera on mniej zasad GC w porównaniu z pierwszym typem RNA. Stosunek GC/AU tej frakcji wynosi 1,23. Trzecia i ostatnia frakcja

wypływająca z kolumny przy 1,5 M NaCl w roztworze amoniaku posiada skład nukleotydowy pośredni pomiędzy dwoma powyżej opisanymi typami RNA. Stosunek GC/AU tej frakcji wynosi 1,43.

Tab. 3. Skład nukleotydowy poszczególnych typów RNA „frakcji cytoplazmatycznej” otrzymanych w wyniku rozdziału na kolumnie z metylowaną albuminą
Nucleotide composition of individual RNA types of cytoplasmatic fraction obtained from separation on the methylated albumin kieselguhr column

Frakcje RNA eluujące się:	Skład nukleotydowy w procentach molowych				$\frac{G+C}{A+U}$	$\frac{G+A}{U+C}$
	UMP	GMP	CMP	AMP		
0,4 M NaCl	23,8	31,7	26,3	16,9	1,44	0,99
0,68 M NaCl	19,1	36,5	27,2	17,0	1,77	1,15
1,5 M NaCl w 0,2 n NH ₄ OH	—	—	—	—	—	—

Tabela 3 przedstawia składy nukleotydowe frakcji cytoplazmatycznej. Frakcję cytoplazmatyczną w przeprowadzonych eksperymentach stanowił płyn cytoplazmatyczny i rybosomy. Wobec tego otrzymane z chromatografii kolumnowej dwa typy RNA eluujące się odpowiednio 0,4 i 0,68 M NaCl stanowi s-RNA i r-RNA.

Wyniki dotyczące składu nukleotydowego różnych typów RNA otrzymanych z jąder komórkowych zostały przedstawione w tabeli 4. Jak wynika z przedstawionych danych poszczególne typy RNA różnią się od siebie składem nukleotydowym. Wprawdzie RNA eluowany z kolumny 0,4 M NaCl ma zbliżony współczynnik GC/AU do frakcji eluującej się

Tab. 4. Skład nukleotydowy poszczególnych typów RNA jądrowego otrzymanych w wyniku rozdziału na kolumnie z metylowaną albuminą
Nucleotide composition of individual types of nuclear RNA obtained from separation on the methylated albumin kieselguhr column

Frakcje RNA eluujące się:	Skład nukleotydowy w procentach molowych				$\frac{G+C}{A+U}$	$\frac{G+A}{U+C}$
	UMP	GMP	CMP	AMP		
0,4 M NaCl	24,0	34,0	26,0	17,2	1,52	1,04
0,68 M NaCl	18,9	31,2	30,2	19,0	1,59	1,03
1,5 M NaCl w 0,2 n NH ₄ OH	26,7	32,6	20,5	20,7	1,16	1,12

0,68 M NaCl, jednakże zawartość nukleotydów urydylowych i cytydylowych jest wyraźnie różna. Bardzo charakterystyczny skład nukleotydowy posiada frakcja RNA eluowana z kolumny 1,5 M NaCl w 0,2 NH₄OH. Na uwagę zasługuje współczynnik GC/AU i GA/UC o wartościach zbliżonych do jedności.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Metodę izolacji RNA z tkanek zwierzęcych przy pomocy fenolu podał w 1956 r. Kirby (18). Warunki do otrzymania DNA są jednak różne od tych, jakie są wymagane dla RNA. Procentowy odzysk poszczególnych typów RNA, a także i DNA podczas ekstrakcji zależy jest od warunków ekstrakcji: temperatury (12, 13, 14, 26), pH (6, 13) i stężenia NaCl w roztworach ekstrakcyjnych (29). Mając na uwadze powyższe doniesienia w niniejszej pracy zastosowano kombinowaną metodę ekstrakcji kwasów nukleinowych, w wyniku której uzyskiwano z preparatów mitochondrialnych w czystej postaci 84,0% RNA i 46,6% DNA. Kwasy nukleinowe rozdzielano chromatograficznie na kolumnie z metylowaną albuminą. Jak wiadomo metoda ta pozwala na oddzielenie s-RNA, r-RNA i DNA (1, 10, 31). Każdy bowiem z tych typów RNA oraz DNA posiada różny profil elucji z kolumny. Istotnie stwierdzono, że kwasy nukleinowe z preparatów mitochondrialnych tkanki mózgowej królika rozdzielają się na kolumnie dając kilka frakcji: przy 0,4 M NaCl, 0,52 M NaCl oraz 0,68 M NaCl. Przy tych stężeniach NaCl wpływały frakcje RNA i DNA preparatów jądrowych oraz s-RNA i r-RNA frakcji cytoplazmatycznej tkanki mózgowej. Z powyższych danych wynika, że mitochondria tkanki mózgowej zawierają obok DNA podobne typy RNA jak pozostałe wyżej wymienione frakcje subcelularne. Za tym także przemawiałyby charakterystyczne składy nukleotydowe (1, 15, 23, 34).

W mitochondriach komórek wątrobowych s-RNA stanowi około 10% całości RNA mitochondriów (1). W mitochondriach komórek mózgowych frakcja RNA eluująca się 0,4 M NaCl i odpowiadająca s-RNA stanowiła duży odsetek. Stosunek s-RNA do r-RNA wahał się w granicach od 0,32 do 0,76. Zaobserwowano, że podczas preparatyki w większym stopniu ulega degradacji wysokomolekularny RNA niż s-RNA, co może powodować znaczne wahania w proporcji obydwu typów RNA. Jednakże tak znamienne wysoka zawartość s-RNA w preparatach mitochondrialnych tkanki mózgowej w porównaniu z tkanką wątrobową stanowi dość istotną różnicę. Nie wydaje się, aby ten fakt można było przypisać adsorpcji cząstek s-RNA na powierzchni mitochondriów z płynu cytoplazmatycznego. Wielokrotne płukanie mitochondriów zmniejsza taką możliwość. Nie tłumaczy tego faktu stwierdzane nieznaczne zanieczyszcze-

nie frakcją mielinową preparatów mitochondrialnych. Podczas rozdzielania chromatograficznego kwasów nukleinowych pozostaje na kolumnie 12 do 19% RNA. Ten typ RNA eluuje się z kolumny dopiero 1,5 M NaCl w roztworze amoniaku i ma odmienny skład nukleotydowy od s-RNA i r-RNA. Przy rozdzielaniu chromatograficznym kwasów nukleinowych z preparatów mitochondrialnych w jednym przypadku stwierdzono obecność dodatkowej frakcji RNA eluującej się 0,73 M NaCl (ryc. 3). Ponieważ przy tym stężeniu chlorku sodu wypływa rybosomalny RNA, należy przypuszczać, że uzyskano rozdział r-RNA z dwóch podjednostek rybosomu.

PIŚMIENNICTWO

1. Borkowski T., Borkowska I., Sikorska K., Kulesza S.: *Biuletin De l'académie Polonaise Des Sciences* 15, 511—516, 1967.
2. Borkowski T., Harth S., Mardell R., Mandel P.: *Nature* 192, 456—457, 1961.
3. Borkowski T., Sikorska K.: *Acta Biochimica Polonica* 11, 451—458, 1964.
4. Borst P., Van Bruggen E. F. J., Ruttenberg G. J. C. M., Kroon A. M.: *Biochim. Biophys. Acta* 149, 156—172, 1967.
5. Borst P., Ruttenberg G. J. C. M.: *Biochim. Biophys. Acta* 114, 645—647, 1966.
6. Brawerman G., Gold L., Eisenstadt J.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 50, 630—638, 1963.
7. Van Bruggen E. F. J., Borst P., Ruttenberg G. J. C. M., Gruber M., Kroon A. M.: *Biochim. Biophys. Acta* 119, 437—439, 1966.
8. Campbell M. K., Mahler H. R.: *Biochemistry* 5, 1174—1184, 1966.
9. Chevremont M.: *Biochem. J.* 85, 25P—26P, 1962.
10. Comb D. G., Brown R., Katz S.: *J. Mol. Biol.* 8, 781—800, 1964.
11. Elajew N. R.: *Biochimija* 31, 234—240, 1966.
12. Georgiev G. P., Lerman M. I.: *Biochim. Biophys. Acta* 91, 678—680, 1964.
13. Georgiev G. P., Mantieva V. L.: *Biochim. Biophys. Acta* 61, 153—154, 1962.
14. Georgiev G. P., Samarina O. P., Lerman M. I., Smirnow M. N., Severtzov A. N.: *Nature* 200, 1291—1294, 1963.
15. Hirsch C. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 123, 246—252, 1966.
16. Hurst R. O.: *Canadian Journal of Biochemistry* 42, 287—292, 1964.
17. Katz S., Comb D. G.: *J. Biol. Chem.* 238, 3065—3067, 1963.
18. Kirby K. S.: *Biochem. J.* 64, 405—408, 1956.
19. Klee C. B., Sokoloff L.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 53, 1014—1021, 1965.
20. Küntzel H., Noll H.: *Nature* 215, 1340—1345, 1967.
21. Løvtrup S., Zelander T.: *Experimental Cell Research* 27, 468—471, 1962.
22. Luck D. J. L., Reich E.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 52, 931—938, 1964.
23. Mahler H. R., Moore W. J., Thompson R. J.: *J. Biol. Chem.* 241, 1283—1289, 1966.
24. Mandell J., Hershey A. D.: *Anal. Biochem.* 1, 66—77, 1960.
25. Mejsbaum W.: *Z. Physiol. Chem.* 258, 117—121, 1939.

26. Morrison W. W., Cmer R. H.: *Biochim. Biophys. Acta* **138**, 649—651, 1967.
27. Nass S., Nass M. M. K., Hennix U.: *Biochim. Biophys. Acta* **95**, 426—435, 1965.
28. Smith G. M., Burton K.: *Biochem. J.* **98**, 229—241, 1966.
29. Stansley P. G., Sees P.: *Biochim. Biophys. Acta* **95**, 671—674, 1965.
30. Szabadasz A. L., Zelkina G. J., Agracziowa I. D.: *Doklady Akademii Nauk S.S.S.R.* **145**, 657—660, 1962.
31. Suyama Y.: *Biochemistry* **6**, 2829—2839, 1967.
32. Tsanev R., Markov G. G.: *Biochim. Biophys. Acta* **42**, 442—452, 1960.
33. Weiss P., Pillai A.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **54**, 48—56, 1965.
34. Yoshikawa M., Fukada T., Kawade Y.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **15**, 22—26, 1964.

Otrzymano 7 IV 1970.

РЕЗЮМЕ

Чистые нуклеиновые кислоты из мозговых митохондрий кролика подвергали хроматографическому анализу на колонне с метилированным альбумином. На основе выплывающего профиля колонны и составных нуклеотидовых частей констатировано присутствие в митохондриях вместе с ДНК подобных типов РНК как в клеточных ядрах и цитоплазме: s-РНК, r-РНК и третьей фракции РНК, вымытой из колонны хлористым натрием высокой концентрации.

SUMMARY

Nucleic acids of the mitochondria of a rabbit brain were analyzed on the methylated albumin kieselguhr column. On the basis of elution profile from the column and of nucleotide compositions, besides DNA, the presence of RNA types similar to those of nuclei and cytoplasm was found in mitochondria: s-RNA, r-RNA and the third RNA fraction eluted with the high concentration of sodium chloride from the column.