

Н. Г. ШУШЕ

ДЕЙСТВИЕ 2,4-ДИНИТРОФЕНОЛА НА МЕТАБОЛИЗМ РНК В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 23 II 1970)

Метаболизм РНК в самых различных клетках удобно исследовать путем изучения судьбы предварительно меченой РНК, для чего необходимо предотвратить дальнейшее включение в клетки меченого предшественника и возможность использования для синтеза РНК продуктов распада меченой РНК. Обычно для подобных целей используют актиномицин D, подавляющий ДНК-зависимый синтез РНК⁽¹⁾. Гро с сотрудниками для изучения регуляции метаболического распада РНК в клетках *Escherichia coli*, нечувствительных к действию актиномицина, использовали

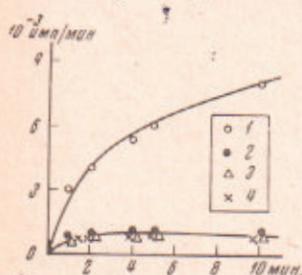


Рис. 1

Рис. 1. Включение 2-C^{14} -уридина в клетки *V. coagulans* в присутствии ДНФ и актиномицина. 1 — контроль; 2 — 10^{-3} М ДНФ; 3 — 10 $\mu\text{г/мл}$ актиномицина; 4 — 10^{-3} М ДНФ и 10 $\mu\text{г/мл}$ актиномицина

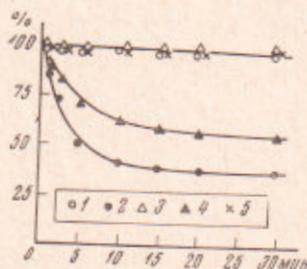


Рис. 2

Рис. 2. Распад предварительно меченой РНК клеток *V. coagulans* в присутствии ДНФ и актиномицина. 1, 3 — распад в присутствии 10^{-3} М ДНФ РНК из клеток, меченных 3 и 10 мин.; 2, 4 — распад в присутствии 10 $\mu\text{г/мл}$ актиномицина РНК из клеток, меченных 3 и 10 мин.; 5 — распад в присутствии актиномицина и ДНФ, клетки метили 5 мин.

ДНФ полностью ингибирует синтез РНК, распада быстро обменивающейся фракции РНК в присутствии ДНФ не происходит. Актиномицин в присутствии ДНФ также не вызывает распада лабильной РНК в животных клетках⁽⁷⁾.

В настоящей работе было изучено действие ДНФ на метаболизм РНК в бактериальных клетках, чувствительных к актиномицину. Мы пытались также понять причину противоречий, наблюдавшихся в опытах на бактериальных и животных клетках.

Работа проводилась на клетках *E. coli*, штамм В⁽⁸⁾, и на клетках *Bacillus coagulans*, штамм 165⁽⁹⁾. Клетки *V. coagulans* были выбраны в связи с тем, что синтез РНК в них чувствителен к действию актиномицина. В качестве меченых предшественников использовали 2-C^{14} -уридин (у. а. 50 мС/г) и гидролизат меченого C^{14} белка хлореллы (у. а. 2 мС/г). В работе использовался актиномицин D фирмы Serva, ФРГ. Радиоактивность просчитывали после отмывки проб 5% хлорной кислотой на газопроточном счетчике с малым фоном.

ли 2,4-динитрофенола (ДНФ) — агент, разобщающий дыхание и окислительное фосфорилирование⁽²⁻⁴⁾. Оказалось, что в клетках *E. coli* в присутствии ДНФ наблюдаются метаболические процессы, аналогичные тем, которые происходят в клетках, чувствительных к актиномицину^(5, 6). При изучении действия ДНФ на метаболизм РНК в животных клетках нами было показано, что, в отличие от бактериальных клеток, несмотря на то, что

На рис. 1 представлены результаты, показывающие включение меченого уридина в РНК клеток *V. coagulans* в присутствии ДНФ, актиномицина и смеси этих двух ингибиторов. Видно, что 10^{-3} М ДНФ, 10 μ /мл актиномицина и их смесь в тех же концентрациях полностью подавляют включение меченого предшественника в РНК клеток *V. coagulans*.

Характер действия ДНФ и актиномицина на метаболизм меченой РНК в клетках *V. coagulans* оказался полностью идентичным действию этих агентов на судьбу РНК в животных клетках (7, 8). Клетки *V. coagulans* инкубировали в течение 3 и 10 мин. в среде 2-С¹⁴-уридином, после чего в среду добавляли 10^{-3} М ДНФ 10 μ /мл актиномицина или же смесь этих двух ингибиторов в указанных концентрациях. Добавление актиномицина, как это происходит во всех клетках, чувствительных к этому ингибитору, приводит к выявлению фракции быстро обменивающейся РНК, которая в присутствии актиномицина распадается до кислотоустойчивых продуктов (кривая 2 и 4 на рис. 2). Количество распадающейся меченой РНК зависит от времени инкубации, как это было уже показано для других бактериальных клеток (3, 6). Если же ингибитором синтеза РНК служил ДНФ, то распад меченой РНК не наблюдался (кривые 1 и 3). Подобным действием обладала и смесь ДНФ и актиномицина (кривая 5).

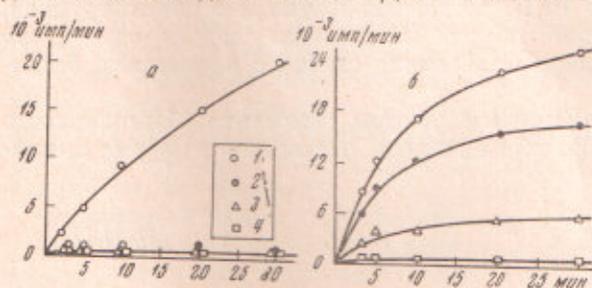


Рис. 3

Рис. 3. Действие различных концентраций ДНФ на синтез РНК (а) и белков (б) в клетках *E. coli*. 1 — контроль; 2 — $5 \cdot 10^{-4}$ М ДНФ; 3 — 10^{-3} М ДНФ; 4 — $5 \cdot 10^{-3}$ М ДНФ

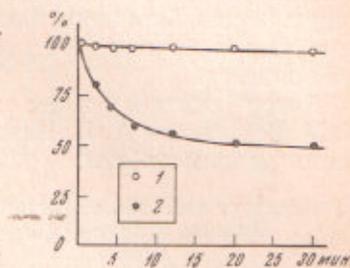


Рис. 4

Рис. 4. Распад предварительно меченой РНК в клетках *E. coli* в присутствии $5 \cdot 10^{-3}$ М ДНФ (1) и $5 \cdot 10^{-4}$ М ДНФ (2)

Приведенные данные показывают, что действие ДНФ на синтез и распад РНК в клетках *V. coagulans* ничем не отличается от действия его на клетки животных: добавление ДНФ полностью ингибирует синтез РНК и не приводит к распаду предварительно меченой РНК; в присутствии ДНФ и актиномицина распад РНК также не происходит.

По логике событий следовало ожидать, что ДНФ будет подобным образом действовать и на другие бактериальные клетки, если они окажутся чувствительными к нему. Но, как уже говорилось выше, в работах Гро и др. (2-4) не было обнаружено задержки распада меченой РНК в присутствии ДНФ. В поисках причин этого расхождения нами также было изучено действие ДНФ на синтез и распад РНК в клетках *E. coli*. Кроме того, изучалось влияние ДНФ на синтез белков в этих же клетках. Результаты этих экспериментов приведены на рис. 3 и 4.

Рис. 3 иллюстрирует действие различных концентраций ДНФ на включение меченых предшественников синтеза РНК и белков в клетки *E. coli*. Видно, что все использованные концентрации ингибитора приводят к полному и быстрому подавлению синтеза РНК (рис. 3 а). Синтез белков оказался менее чувствительным к действию ДНФ: полное ингибирование наступает при концентрации $5 \cdot 10^{-3}$ М (рис. 3 б). Влияние ДНФ на распад предварительно меченой РНК показано на рис. 4. В присутствии ДНФ в концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М, когда синтез РНК подавлен полностью, но синтез

белков продолжается, распад меченой РНК не затрагивается, как это следует из кривой 2. Увеличение концентрации ДНФ до $5 \cdot 10^{-3}$ M, когда полностью ингибируется как синтез белка, так и синтез РНК, приводит к задержке метаболического распада РНК (кривая 1). Полученные данные показывают, что причиной несоответствия результатов Гро с сотрудниками для клеток *E. coli* и наших для клеток животных и *V. coagulans* может являться тот факт, что у Гро и др. использованная ими концентрация ДНФ не ингибировала полностью синтез белков, не вызывая тем самым и задержки распада РНК. Действительно, как это следует из работ Гро с сотрудниками, ДНФ использовался в концентрациях, которые не приводили к полному ингибированию синтеза белков; включение метки в белки уменьшалось синхронно с распадом РНК (2-4).

Таким образом, у бактерий, так же как и у животных клеток, процессы метаболизма РНК зависят от целостности механизмов энергетического обмена. На это указывает и тот факт, что перенос бактерий в анаэробные условия, также нарушающий энергетический обмен бактериальных клеток (5, 6), дает те же метаболические эффекты, что и ДНФ. Кроме того, судя по предварительным результатам, другие ингибиторы энергетического метаболизма (азид, олигомицин, моноиоацетат и др.) также приводят к изменениям в метаболизме РНК, когда используются в концентрациях, нарушающих биоэнергетический обмен. Из данных следует также, что процесс метаболического распада РНК тесно связан с процессами белкового синтеза.

Автор считает своим приятным долгом выразить благодарность Л. М. Волковой и А. П. Калюжной за помощь, оказанную во время выполнения данной работы.

Институт химической физики
Академии наук СССР
Москва

Поступило
16 II 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Е. Рейх, И. Голдберг, В кн. Нуклеиновые кислоты, М., 1966, стр. 301.
² Ф. Гро, Ш. Наоно и др., — В кн. Информационные макромолекулы, М., 1965, стр. 301. ³ Ф. Гро, Д. Дж. Дуберт и др., В кн. Синтез и структура нуклеиновых кислот, М., 1966, стр. 291. ⁴ R. Soffer, F. Gros, *Biochim. et biophys. acta*, 87, 423 (1964). ⁵ D. P. Fan, A. Higa, C. Levinthal, *J. Mol. Biol.*, 8, 210 (1964).
⁶ Ц. Левинталь, Д. Фен и др., В кн. Синтез и структура нуклеиновых кислот, М., 1966, стр. 234. ⁷ Л. М. Волкова, Н. Г. Шуппе, *ДАН*, 186, 225 (1969).
⁸ Л. А. Плугина, Н. Г. Шуппе и др., *ДАН*, 188, 934 (1969). ⁹ А. П. Калюжная, Г. Н. Зайцева, Р. Ф. Головачева, *Микробиология*, 38, 842 (1969).