Доклады Академии наук СССР
1971. Том 201, № 2

УДК 575.172.1+575.172

ГЕНЕТИКА

И. А. РАПОПОРТ, Е. А. ИВАНИЦКАЯ, Ю. Л. НИКИФОРОВ,
М. М. БЕКНАЗАРЬЯНЦ

ВЫЗВАННЫЕ КОБАЛЬТОМ НОВЫЕ ПУФЫ И ВЛИЯНИЕ КОБАЛЬТА НА ФЕРМЕНТЫ

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 1 II 1971)

В настоящем сообщении в дополнении к ранее рассмотренным механизмам ([2], [3]) возникновения новых пуфов и ингибирования, затронут еще один модификационный эффект — стимуляция.

Было исследовано действие $CoCl_3$ (в концентрации $1{,}02 \cdot 10^{-3}$ мол/л), введенного в питательную среду, на образование дополнительных пуфов в политенных хромосомах слюнных желез дикой линии Д-32 D. melanogaster. Использованная микродоза не угнетала основные процессы жизнедеятельности. Изучались препараты слюнных желез личинок конца 3 стадии. Величина пуфов определялась так же, как в работе ([2]).

На гистограмме (рис. 1) представлены данные о пуфовой активности всех хромосом. В результате исследования 70 препаратов с 5 ядрами в каждом было обнаружено, что возникшие вновь пуфы составляют 3%, пуфы с усиленной синтетической активностью 4% и подавлено 8% пуфов.

2L-хромосома. Под влиянием $CoCl_3$ в левом плече 2 хромосомы появляется новый пуф 35B — 2 типа, встречающийся у 20% личинок, и редкий пуф 34D — 1 типа. Депрессия наблюдается в проксимальном участке хромосомы, пуфы 38A и 39F уменьшились от 2 до 1 типа.

2R-хромосома. В эксперименте активируются пуфы 42AE, 43A, 47B — от 1 до 3 типа.

3L-хромосома. В левом плече 3 хромосомы отмечена некоторая депрессия пуфов 71CE, 72CD, 74EF, 75AB и 78D. Наличие в одной хромосоме депрессии на протяжении $^1/_5$ длины вызывает вопрос о причинах разлитого депрессионного эффекта, тем более что в половой хромосоме, например, депрессия отсутствует совсем. Неравномерное распределение депрессированных участков в 3L-хромосоме выходит за рамки зависимости от одного оперона и представляет пример однозначной пуфовой реакции на весьма большом отрезке политенной хромосомы.

3R-хромосома. Правое плечо 3 хромосомы характеризуется возникновением в 40% препаратов двух специфических новых пуфов: 87A и 87B — 2 типа. Увеличена активность пуфов 83C и 93D, а также 82C, 82EF, *слившихся в один сложный пуф*. Угнетена синтетическая активность пуфов 90BC, 95F, 96E, 98F, 99B — от исходного 3 до 1 типа.

В мужских и женских половых хромосомах не были отмечены новые пуфы и почти не замечалось депрессии или усиления.

Под действием кобальта возникли статистически достоверные новые пуфы 35B, 87A, 87B и реже встречающийся 34D. Увеличилась синтетическая активность пуфов 21E, 42AE, 43A, 47B, 82C, 82EF, 83C и 93D. Более всего депрессирована 3R, в которой не возникли новые пуфы, но пуфы 71CDE, 72CD, 74EF, 75AB, 78D очень уменьшены. Угнетена активность пуфов проксимальных участков в 2L и 3R (38A, 39FF, 90BC, 95∓, 96E, 97F, 98∓ и 99B), но депрессированные отрезки короче, чем в 3L.

Ниже приведен перечень ферментов, которые, по литературным данным, чувствительны к кобальту. Разнообразие кобальтсодержащих соедине-

ний в организме указывает на многочисленные функции этого элемента. В клетке кобальт может находиться в витамине B_{12}, кобамидных коэнзимах и в виде ионов Co, которые могут служить компонентами каталитически активных центров в ферментах. Они образуют комплексные соединения металл — белок, причем Co прочнее связывается с атомами N и S, чем с O. При достаточно высокой концентрации ионы Co оказывают ингибирующее действие, при снижении концентрации ферменты активируются. В концентрации меньше 10^{-3} мол/л Co активирует глицинглицилдипептидазу ([4]), а в присутствии гистидина ионы Co в исходной или меньшей концентрации активируют пирофосфатазу ([5]), и аденозинтрифосфатазу ([6]). Незначительные концентрации ионов Co активируют щелочную фосфатазу.

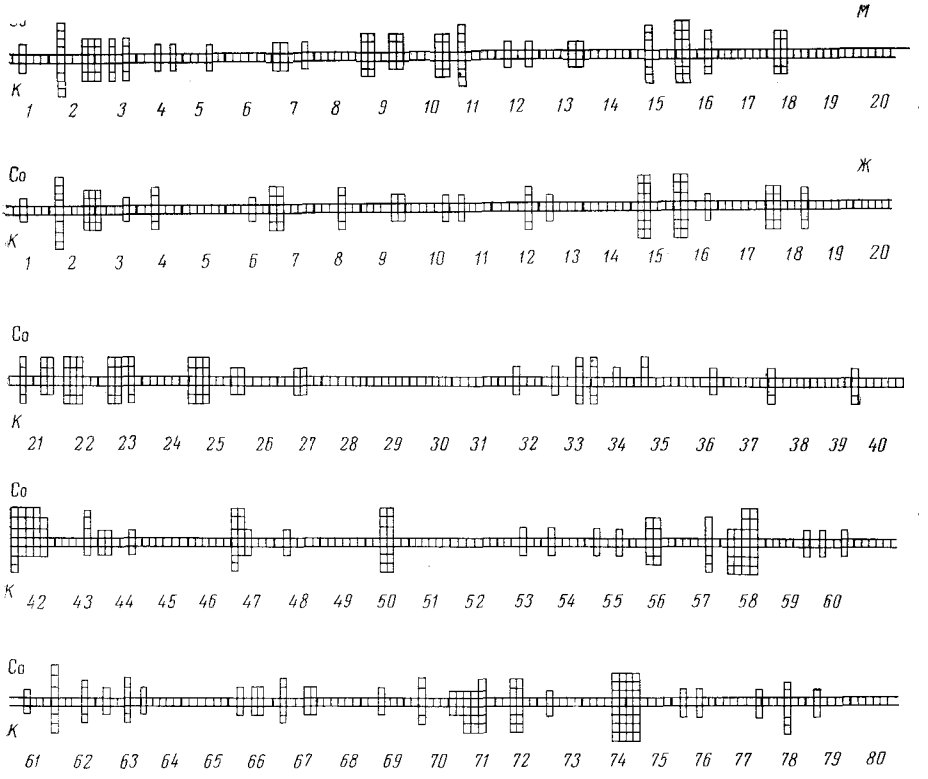

Рис. 1

В предыдущих работах ([1]) было показано, что введение некоторых соединений Co в питательную среду приводило к появлению морфоза темной окраски тела. В связи с этим отмечено, что добавление Co^{3+} ускоряет окисление тирозина, не влияя на последующую энзиматическую реакцию окисления допа-хинон ([8]). Другие авторы ([9]) указывают на возможность образования комплексов кобальт + допа-меланин. В результате соединения Co с меланином и белком усиливается меланизация. Co оказывает стимулирующее действие на активность определенных дегидрогеназ, вызывает стимуляцию альдолаз ([1]). В концентрации более 10^{-3} мол/л Co оказывает на дрожжевую глицилглициндипептидазу ([4]) уже ингибирующий эффект. Авторы предполагают образование фермент-субстратных комплексов — нативных соединений фермент — кобальт. Ингибирующее действие кобальт оказывает на кислую ([11]) и щелочную ([12]) фосфатазы. Co редуцирует активность мукопротеиназ ([13]), образуя комплекс $(Co(NH_3)_5H_2O)^{3+}$, инактивируя ингибитор гиалуронидазы. При добавлении Co^{3+} в культуре фибробластов дермы почечной ткани крысы уменьшается дыхание, увели-

чивается гликолиз, возникает избыток гиалуроновой кислоты и нарушается обмен мукополисахаридов ([14]).

Введение кобальта инактивирует гистидиндиаминазу печени ([15]). Есть данные об ингибировании кобальтом пролигаз и карнозиназы животных. Ионы Co в концентрации 5,9 ÷ 17,7 γ/мл ингибировали внутриклеточную рибонуклеазу в культуре протистов ([16]).

У Staphylococcus aureus и Escherichia coli ионы Co ингибировали рибонуклеазу. Внутривенное введение 0,02 *N* раствора $CoCl_3 \cdot 6H_2O$ понижало активность каталазы в крови кроликов ([17]), а гистидиндиаминаза печени кролика инактивируется под влиянием ионов Co в концентрации $3{,}3 \cdot 10^{-4}$ мол/л. В ряде работ ([18], [19]) было показано, что Co^{3+} является ингибитором ядерных энзимов и блокирует митоз.

Рассмотренные данные дают возможность объяснить универсальную зависимость реакции фермента от дозировки физиологически активных веществ, которые в малой концентрации активируют, в значительной концентрации ингибируют, а в большой — смертельны. До сих пор объяснение этих градаций отсутствует. Угнетение активности фермента наблюдается лишь при достаточно высокой концентрации соответствующих соединений кобальта, а при снижении этой концентрации фермент активируется. Экспериментальные данные показывают, что одна и та же концентрация вызывает в разных точках гигантских хромосом появление новых пуфов и подавляет или усиливает нормальные пуфы. Первый эффект отличается от двух других включением обратной связи ([2]), а второй и третий обусловлены некомпенсированной реакцией различных пуфов на известную концентрацию Co^{3+}.

Диапазон подавления или активации различных ферментов под влиянием Co^{3+}, описанный в литературе, совпадает в целом с характером различных изменений большого количества пуфов в политенных хромосомах дрозофилы. В свою очередь диапазон ионных концентраций, вызывающих появление новых пуфов у дрозофилы, близок или совпадает с диапазоном концентраций, вызывающих ингибирование ферментов в клетках. Следует считать важным критерием тот факт, что диапазон активирующих концентраций почти не перекрывается ингибирующими концентрациями.

Одни и те же активные вещества при малой концентрации активируют действие ферментов, при большой концентрации — угнетают, а при еще больших могут убивать организм. В большинстве случаев это вещества, имеющие сродство с ферментами или подферментами. В нормальных условиях контакт с естественным субстратом или, реже, с другим ферментом, развертывает проферментную форму до фермента. При этом сказывается функционально выгодная конфигурация или структура фермента.

Кроме совпадения эта проекция обнаруживает важные различия, среди которых ярче других выступает несходство проявления стимуляции и ингибирования. В энзимологии это чисто количественные переходы, как и при внешней оценке цитологических событий увеличения и уменьшения пуфов в гигантских хромосомах. В модификационном проявлении генетических признаков стимуляция дает себя знать как не связанное с известным геном положительное изменение, а ингибирование — как модификационная копия известной или новой генной мутации. Таким образом, в модификационном аспекте стимуляция выражается как усиление выражения общей нормы, а ингибирование — как изменение признака. По-видимому там и здесь фигурирует избирательное сродство между ферментом и физиологически или фармакологически активным веществом, но при стимуляции оно ведет к переходу фермента от проферментного состояния к действенному, а при ингибировании — к блокированию действующего фермента. Возможно, что стимуляция еще помогает иногда регенерировать ранее функционировавший фермент.

При стимуляции активный внешний химический агент дублирует свойства субстрата ферментативного действия, т. е. нормальный аллостериче-

ский сдвиг смещается во времени. При ингибировании наступает уже аномальный сдвиг в ферментативной конфигурации, при которой внешний химический агент использует уже отрицательно свое сродство с ферментом.

В целом по генетическим данным действие физиологически активного агента является непрерывным процессом, в котором стимуляция сначала нарастает от нуля до максимума, а затем постепенно спадает и сменяется ингибированием. Высота максимума стимуляции зависит от концентрации. Ингибирование имеет только одну ветвь, которая обрывается, если фермент жизненно необходим, на уровне отрицательного пика. Этот момент совпадает со сменой максимальной фенокопии гибелью организма ([1]).

Как видим, в объяснении важного и универсального биологического явления генетические и энзимологические данные сопряжены; в некоторых пунктах они совпадают, а в остальных восполняют неизвестное. В частности, нередко значительный размах модификационной стимуляции объясняется одновременной активацией немалой доли всех ферментов, пропорционально частоте активированных пуфов. Есть другое не менее важное расхождение между энзимологическими и генетическими картинами. Стимуляция вызывается тем же агентом, который вызывает ингибирование и это заставляет ожидать в генетической системе проявления стимуляции по единичному признаку. Между тем, в генетическом опыте с тем же веществом наблюдается общая стимуляция, не сводящаяся к стимуляции одной или нескольких ферментативных реакций, контролирующих единичные признаки.

Поступило
1 II 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] И. А. Рапопорт, Тр. инст. цитол., гистол. и эмбриол., **2**, в. 2 (1948). [2] Ю. Л. Никифоров, М. Н. Сахарова и др., ДАН, **194**, № 2, 441 (1970). [3] И. А. Рапопорт, М. Н. Сахарова и др., ДАН, **194**, № 3, 701 (1970). [4] A. Niski, J. Biochim., **45**, 12, 991 (1958). [5] L. Oginshy Evelin, J. Bacteriol., **70**, 1, 92 (1955). [6] Zeller E. Albert, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **63**, 3, 450 (1948). [7] C. Kind, Alberto Mary, J. Cell and Comp. Physiol., **39**, 1, 153 (1952). [8] Kertesz Denis, Biochim. et biophys. acta, **9**, 2, 170 (1952). [9] I. M. Bowness, Biochim. J., **53**, 4, 620 (1953). [10] S. Ghatak, Enzymologia, **19**, 4, 237 (1958). [11] B. Robert, J. Histochem. and Cytochem., 5, 2, 135 (1957). [12] B. Hoo Fstee, Arch. Biochem. and Biophys., **59**, 2, 352 (1955). [13] B. Nathews Martin, Arch. Biochem. and Biophys., **35**, 1, 93 (1952). [14] Daniel Mary, Exp. Cell. Res., **24**, 1, 88 (1961). [15] J. Koizumi, Biochem., **43**, 3, 345 (1956). [16] S. Roth Hay, Exp. Cell Res., **10**, 1, 146 (1956). [17] Wesley Ines, Arch. Intern. Physiol., **60**, 1, 1 (1952). [18] R. Herich, Chromosoma, **17**, 194 (1965). [19] K. Heath, Exp. Cell Res., **6**, 311 (1954).