

С. Д. ТАПТЫКОВА, Л. В. КАЛАКУЦКИЙ

**ОБРАТИМОЕ СНЯТИЕ СВЕТОМ ИНГИБИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ
ПОЛИЕНОвого АНТИБИОТИКА НА АКТИНОМИЦЕТ-ПРОДУЦЕНТ**

(Представлено академиком А. А. Имшенецким 28 X 1974)

К числу антибиотиков, механизм действия которых на клетки чувствительных к ним микроорганизмов (грибов и дрожжей) изучен наиболее глубоко, относятся антибиотики — полиены. Считается, что полиены избирательно повреждают проницаемость цитоплазматической мембраны указанных организмов (^{1, 2}). Известно также, что многие полиены теряют свою антибиотическую активность после освещения их растворов (^{1, 2}).

Изучение действия полиенов на продуцирующие их актиномицеты начинается (^{3, 4}), причем продемонстрирована, в частности, возможность 3—5-кратного подавления активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при добавлении нистатина к культуре активного продуцента этого антибиотика. С нашей точки зрения, формирование представлений о возможной регулирующей роли антибиотиков (⁵) в процессах первичного и вторичного обмена образующих их организмов могло бы сильно способствовать получению сведений не только о подавлении антибиотиком того или иного звена обмена в клетке продуцента, но и о возможности обратимого снятия такого действия под влиянием факторов, которые могут воздействовать на клетку в процессе ее развития в природе.

Реальность последнего демонстрируется в настоящей работе, где использовался «фруктозный» вариант *Actinomyces roseoflavus* var. *roseofungini*, синтезирующий в значительном количестве (⁶) пентаеновый антибиотик розеофунгин (⁷).

Культуру варианта (любезно предоставленную Е. Т. Никитиной) выращивали как описано (⁸) в течение двух (экспоненциальная фаза) или трех (стационарная фаза) суток. В качестве источников искусственного освещения использовали ксеноновую лампу, имитирующую солнечный свет, и лампу накаливания ($2,5-3 \cdot 10^5$ эрг/см²·сек), люминесцентную лампу синего света ($4-5 \cdot 10^4$ эрг/см²·сек). опыты проводили в камерах фитотрона Института физиологии растений Академии наук СССР. Различные участки спектра выделяли с помощью стеклянных светофильтров СС-5, ЗС1, ОС-14 и СЗС-14, КС-19. Источником освещения служила ксеноновая лампа. Интенсивность освещения в опытах с фильтрами была одинаковой и соответствовала $1-2 \cdot 10^4$ эрг/см²·сек.

В клетках актиномицета определяли активность глюкозотрифенилтетразолийхлоридредуктазного комплекса (⁸), в спиртовых экстрактах из клеток варианта — антибиотическую активность методом серийных разведений с использованием в качестве тест-культуры *Candida guilliermondii* и спектрофотометрически при $\lambda=360$ нм находили содержание пигмента. Регистрацию спектров проводили на спектрофотометре Specord UV VIS.

В предыдущем исследовании с окрашенным («белым») и окрашенным («желтым») вариантами *A. roseoflavus* var. *roseofungini* было показано, что активность изучавшегося ферментного комплекса последнего резко падает при первых визуально наблюдаемых признаках появления в колониях желтоокрашенного антибиотика; это падение во всех исследованных случаях коррелировало с утратой суспензиями клеток дыхания, обнару-

Действие света на исследуемую культуру актиномицета

Время освещения, мин.	Количество пигмента ед. оп. пл. на 1 мг биомассы в 10 мл экстракта		Антибиотическая активность, ед. разведения на 1 мг биомассы		Активность ТТХ-редуктазного комплекса, мкг формазана на 1 мг сухой биомассы **	
	1	2	1	2	эндогенная	экзогенная (глюкоза)
					1	1
Белый свет						
0 *	0,780	1,5	88	580	0	0
15	0,610	1,8	65	1250	0	1,25
30	0,360	1,6	34	625	0,8	3,8
60	0,240	1,36	18	524	4,5	8,0
Синий свет						
0	0,720	1,25	68	150	0	0
15	0,310	1,5	20	270	0	4,25
30	0,140	1,2	10	270	8,0	9,0
60	0,102	1,4	8	160	2,5	14,0

* — Контроль.

** — Через 18 час. активность равнялась 0. 1 — После освещения, 2 — через 18 час.

живаемого манометрически (⁸). Восстановление активности ферментного комплекса удалось впервые наблюдать при освещении культуры актиномицета ярким солнечным светом. Аналогичные данные были получены при освещении культур белым и синим светом (табл. 1). Оказалось, что эффект освещения белым светом большой интенсивности может быть пол-

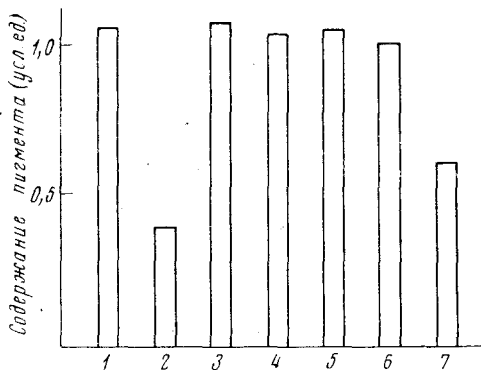


Рис. 1. Эффективность различных участков спектра в обесцвечивании культуры актиномицета. 1 — Контроль, без освещения; 2-5 — освещение через светофильтры с различными областями пропускания: 370-500, 480-570, 580-740, 700-2800 нм соответственно. Интенсивность освещения 1-2·10⁴ эрг/см²·сек; 6 — освещение белым светом той же интенсивности; 7 — освещение белым светом с интенсивностью 2,5·10⁵ эрг/см²·сек; 2-7 — время экспозиции 60 мин.

ностью отнесен к действию сине-фиолетовой части спектра (рис. 1). В зависимости от продолжительности времени освещения пропорционально падало количество пигмента, которое могло быть определено по величине поглощения при $\lambda=360$ нм в спиртовых экстрактах клеток. Этому падению соответствовало подобное же снижение величины, связанной с клетками антибиотической активности.

Одновременно в суспензиях клеток, подвергшихся освещению, могла быть обнаруживаема активность изучавшегося ферментного комплекса. Ее величина была прямо пропорциональна времени освещения и обратно пропорциональна количеству, обнаруживаемому в клетках после освещения пигмента — антибиотика. Последующая инкубация освещенной культуры в темноте (18 час. при 27°) приводила к восстановлению титруемой антибиотической активности и пигментации клеток актиномицета до уров-

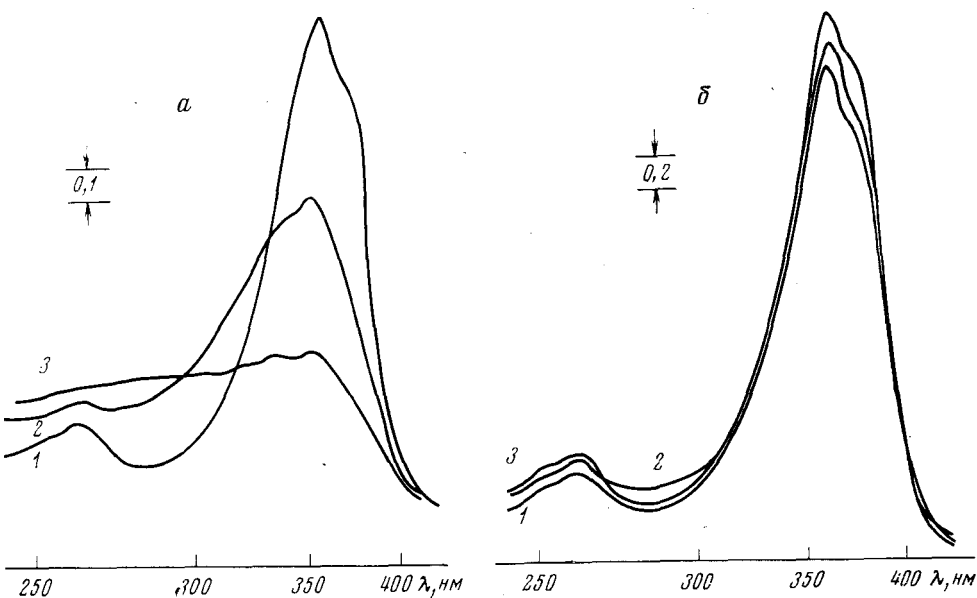


Рис. 2. Ультрафиолетовые спектры экстрактов из освещенных (а) и подвергнутых темновой инкубации (б) клеток. 1 — Контроль, без освещения, 2 — после 15 мин. освещения, 3 — после 60 мин. освещения

ня, наблюдавшегося в контрольной (неосвещенной) культуре, а также одновременному исчезновению определяемой активности трифенилтетразолийхлоридредуктазного комплекса. Репарация вызванных светом изменений в темноте происходила полностью в случае, если освещению подвергались двухсуточные культуры, и лишь частично, если освещению подвергались трехсуточные.

Были получены сведения, говорящие о том, что именно в молекуле полиенового антибиотика при освещении клеток актиномицета происходят изменения, связанные со всем описанным комплексом физиологических последствий. Помимо изменения окраски (обесцвечивания) клеток, (как следствие — и их экстрактов), изменения антибиотической активности последних, а также близости максимумов абсорбции растворов антибиотика с областью длин волн наиболее эффективного освещения, об этом говорят и данные (рис. 2) спектральной характеристики экстрактов клеток, подвергшихся освещению и последующей инкубации в темноте. Как видно, при освещении клеток характерный спектр антибиотика розеофунгина⁽⁷⁾ меняется не только в количественном, но и в качественном отношении. После темновой инкубации клеток этот спектр приобретает обычный вид у двухсуточных культур, но остается измененным у трехсуточных.

Заметим, что, изложенные в настоящем сообщении опыты были проведены с культурой дедифференцированного мутанта актиномицета. Следующее из них представление об антибиотике, действие которого особенно отвечает представлению о регулирующей роли в связи с его обратимостью, не может быть полностью отнесено к исходной культуре актиномицета. В этом случае необходимы дальнейшие исследования. Отметим, однако, что реакция представителей Actinomycetales на видимый свет, по последним данным, оказалась гораздо шире⁽⁸⁾, чем предполагалось ранее.

Таким образом, нами показано следующее. 1. При освещении клеток актиномицета может быть снято подавление активности эндогенного и экзогенного (глюкоза) трифенилтетразолийхлоридредуктазного комплекса, существующее при накоплении антибиотика в клетке. 2. При последующей инкубации клеток в темноте блокировка энзиматической активности

возобновляется, а уровень связанной с клетками антибиотической активности восстанавливается. Изменениям антибиотической активности при освещении и темновой инкубации соответствуют изменения в спектрах у.-ф. поглощения этанольных экстрактов клеток.

В заключение авторы приносят искреннюю благодарность Н. Н. Протасовой, Л. А. Соколовой и М. В. Добровольскому за консультации и практическую помощь, оказанные при выполнении настоящей работы.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
28 X 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. О. Сазыкин, Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов, «Наука», 1968, стр. 85. ² J. M. T. Hamilton-Miller, *Bact. Rev.*, v. 37, № 2, 166 (1973).
³ Е. Г. Торопова, Н. С. Егоров, А. А. Бильтрикова, *Антибиотики*, № 7, 658 (1970).
⁴ Е. Г. Торопова, Б. С. Нугуманов, Н. С. Егоров, *Антибиотики*, № 3, 223 (1974).
⁵ A. L. Demain, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 235, 601 (1974). ⁶ Е. Т. Никитина, Г. Г. Казакова, Л. В. Калакуцкий, *ДАН*, т. 196, № 2, 448 (1971). ⁷ Л. А. Велугина, *Антибиотики*, № 11, 992 (1968). ⁸ С. Д. Таптыкова, Е. П. Феофилова, *Микробиология*, т. 43, в. 6, 1090 (1974). ⁹ Y. Kouyama, Y. Yazawa *et al.*, *Japan J. Microbiol.*, v. 18, № 1 49 (1974).