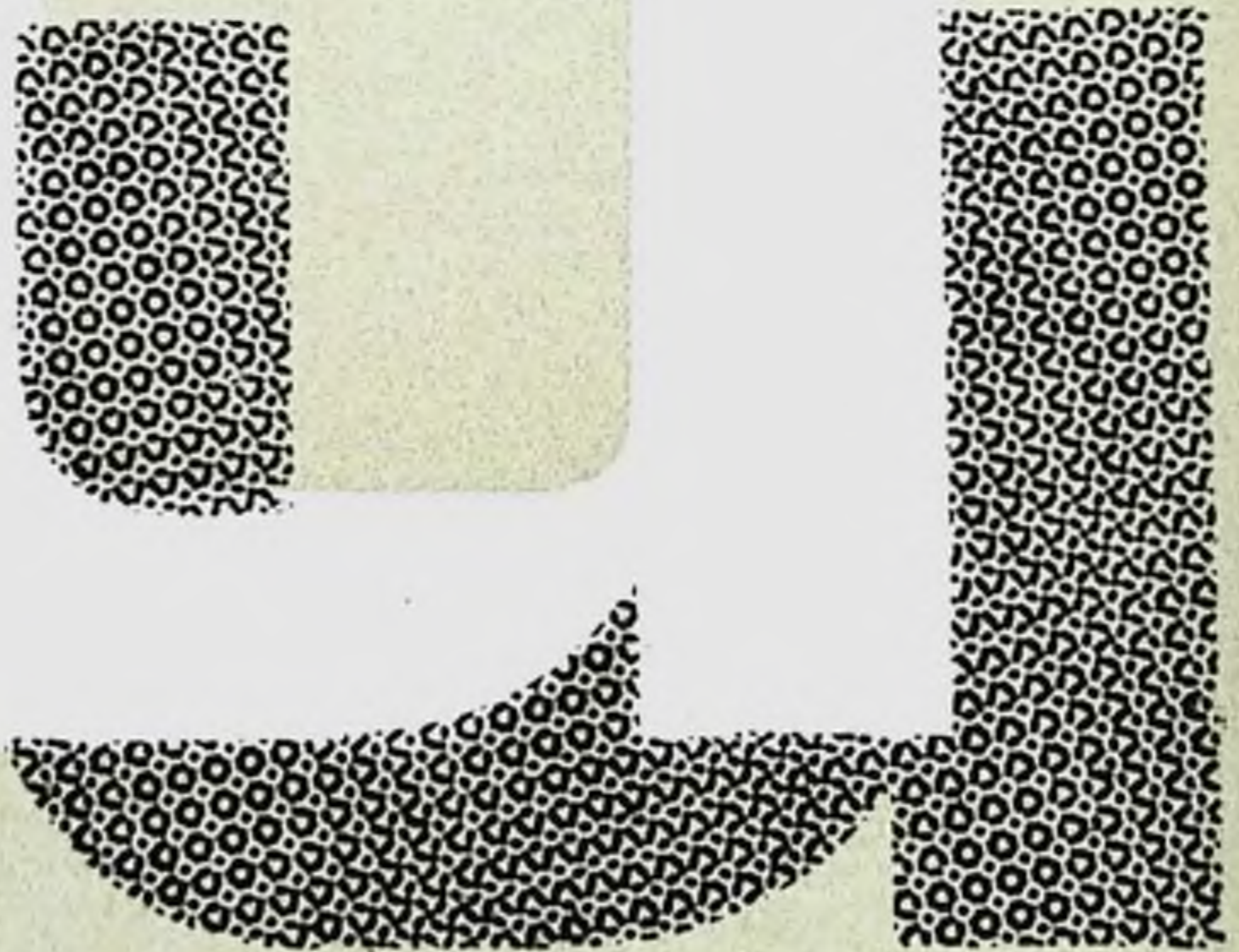


612.3
A 985

И. П. АШМАРИН, Л. А. КЛЮЧАРЕВ

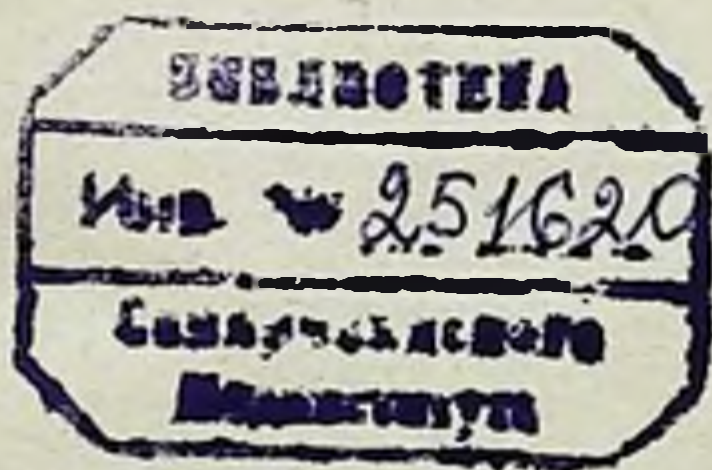
ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БЕЛКА



И. П. АШМАРИН, Л. А. КЛЮЧАРЕВ

612.3
A 985

Ингибиторы синтеза белка



ЛЕНИНГРАД „МЕДИЦИНА“
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ 1976

и.и.

РЕФЕРАТ

Ингибиторы биосинтеза белка приобретают все большее значение и как инструмент в научных исследованиях, и как средство для решения труднейших практических задач современной биологии и медицины. Многие достижения молекулярной биологии связаны с применением этих агентов, позволяющих избирательно воздействовать на различные звенья механизма синтеза макромолекул. Большое число антибиотиков, получивших широкое признание в медицине, также являются ингибиторами синтеза белка.

В настоящей монографии рассматриваются как природные, так и некоторые синтетические ингибиторы, действующие на рибосомные системы синтеза белка и на процессы, непосредственно их обеспечивающие, — матричный синтез РНК, а также реакции образования аминоациладенилатов и аминоацилирования транспортных РНК. Все материалы систематизированы в соответствии с последовательностью реализации генетической информации при построении молекул белка.

Книга предназначена для биологов разных специальностей, а также медицинских работников, интересующихся вопросами биосинтеза белка в норме и при патологии. Кроме того, книга может быть использована в качестве пособия для преподавателей, аспирантов и студентов старших курсов биологических факультетов и медицинских институтов.

Книга содержит 3 рисунка, 6 таблиц. Библиография — 340 названий.

ВВЕДЕНИЕ

Ингибиторы биосинтеза белков приобретают все большее значение и как инструмент в научных исследованиях, и как средство для решения труднейших практических задач современной биологии и медицины. Многие достижения молекулярной биологии связаны с применением этих агентов, позволяющих избирательно воздействовать на различные звенья механизма синтеза белков. В то же время многие антибиотики, получившие широкое признание в медицине, относятся к ингибиторам того же типа. Более того, перспективы развития ряда областей биологии и медицины тесно связаны с поисками, изучением, использованием новых ингибиторов синтеза белка. Достаточно назвать экспериментальную онкологию. Однако в силу разнородности указанных агентов по природе и механизму действия, а также в связи с бурным развитием этой области исследований, литература по данной проблеме должным образом не обобщалась.

Значительные трудности возникают при определении разумных границ темы. Все процессы жизнедеятельности в большей или меньшей мере, непосредственно или косвенно, связаны с синтезом белков, занимающих особое положение в ряду других компонентов живой материи. Поэтому общий перечень воздействий, изменяющих интенсивность синтеза белков, чрезвычайно велик и не может а priori иметь строго очерченных границ.

В настоящей монографии рассматриваются ингибиторы, действующие на рибосомные системы синтеза белка и на основные системы, непосредственно обеспечивающие этот процесс, — матричный синтез РНК, а также реакции образования аминокислот и аминокислотирования транспортных РНК. Из рассмотрения исключены все ингибиторы биосинтеза аминокислот и значительная часть ингибиторов синтеза оснований нуклеиновых кислот, так как это чрезмерно

расширило бы тему. Все материалы систематизированы по последовательности приложения различных ингибиторов в цепи процессов, определяющих реализацию генетической информации при построении молекул белка (ДНК \rightarrow РНК \rightarrow белок).

Первая глава является популярным обзором основных этапов синтеза белков. Кроме того, в начале глав II и IV приводится более детальное описание соответствующих этапов.

Во второй главе описаны факторы, подавляющие транскрипцию вследствие воздействия на РНК-полимеразу или обратимого блокирования матрицы. Агенты, которые необратимо повреждают или модифицируют матрицу, охарактеризованы в гл. III. Четвертая глава посвящена нарушениям биосинтеза, обусловленным повреждением механизмов трансляции, а также синтеза аминоксил-тРНК и тРНК.

При написании книги авторы исходили из того, что ею будет пользоваться читатель, знакомый с основными достижениями в области молекулярной биологии и хорошо ориентирующийся в современных представлениях о синтезе макромолекул. Поэтому, учитывая ограниченный объем монографии, сведения о реализации генетической информации на различных этапах биосинтеза сведены к общему обзору и вводным разделам глав II и IV.

Авторы надеются, что книга будет полезной для биологов разных специальностей, а также медицинских работников, интересующихся вопросами синтеза белка в норме и патологии. Кроме того, книга может быть использована в качестве пособия для преподавателей, аспирантов и студентов старших курсов биологических факультетов и медицинских институтов.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

(для веществ, обозначения которых либо не унифицированы,
либо унифицированы сравнительно недавно)

| Новая между- народная транскрипция символа | Полное наименование и синонимы |
|---|--|
| | Внерибосомные белковые факторы трансляции |
| | <i>а) у бактерий:</i> |
| IF-1 | Один из факторов присоединения фмет-тРНК (A, F1, F) |
| IF-2 | ГТФ-аза инициации и фактор присоединения фмет-тРНК (C, F ₂ , FIII) |
| IF-3 | Фактор присоединения мРНК к 30 S-субчастице (B, FII, F3), видимо, является одновременно фактором диссоциации рибосом (RF-3) |
| EF-T _u | Лабильный фактор присоединения Аа-тРНК на стадии элонгации (T _u , S ₃ , F1, T _c , F) |
| EF-T _s | Стабильный фактор присоединения Аа-тРНК на стадии элонгации (S _i , TI, F ₁ , T _c , T _s) |
| EF-G | Транслоказный фактор (G, FII, S ₂) |
| RFI | Фактор терминации, узнающий кодоны УАА и УАУ (R, R1) |
| RFII | Фактор терминации, узнающий кодоны УАА и УГА (R2) |
| RF-3 | Фактор диссоциации рибосом (видимо, идентичен F ₃ , α, S, DF) |
| | <i>б) у эукариотов:</i> |
| M1, M2, M3 ¹ | Факторы, близкие к IF-1, IF-2, IF-3 факторам бактерий |
| EF-1 | Эквивалент факторов EF-T _u и EF-T _s бактерий (трансфераза I, TI) |
| EF-2 | Эквивалент фактора EF-G у бактерий (трансфераза II, TII) |
| R | Эквивалент факторов RFI и RFII бактерий (S) |
| | Транспортные РНК и их производные |
| тРНК | Транспортная РНК (sRNA, tRNA и др.) |
| Аа-тРНК | Аминоацилтранспортная РНК (Аа-sRNA, Аа-tRNA и др.) |

¹ Пока новых международных обозначений факторов инициации, отличных от указанных выше для прокариотов, не установлено.

| Новая международная транскрипция символа | Полное наименование и синонимы |
|--|--|
| Пп-тРНК | Пептидилтранспортная РНК (Pp-tRNA, P-tRNA и др.) |
| цРНК | Цитоплазматическая РНК (сRNA) |
| рРНК | Рибосомальная РНК (rRNA) |
| мРНК | Информационная (мессенджер) РНК |

ПОПУЛЯРНЫЙ ОБЗОР
ОСНОВНЫХ ЭТАПОВ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ
И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ
ИНГИБИТОРОВ

Поскольку настоящее руководство рассчитано не только на биохимиков, но также на научных работников — медиков, имеющих менее специализированную подготовку, целесообразно начать с популярного обзора основных механизмов и этапов синтеза белков. Разумеется, такой обзор не может заменить необходимой подготовки по соответствующим разделам биохимии. Однако он может помочь восстановлению в памяти ряда основных понятий и терминов, без которых восприятие последующих разделов было бы сильно затруднено. Кроме того, такой обзор необходим для обоснования функциональной классификации ингибиторов.

Уникальные свойства каждого белка обусловлены последовательностью аминокислотных остатков в полипептидных цепочках, из которых он состоит. В свою очередь последовательность аминокислотных остатков определяется последовательностью нуклеотидов в линейной молекуле вещества наследственности — дезоксирибонуклеиновой кислоте — ДНК (у некоторых вирусов — рибонуклеиновой кислоте — РНК). Каждой аминокислоте соответствует определенное сочетание нуклеотидов по три, — так называемый триплет. В природе существует универсальный для всех живых существ «словарь», код, согласно которому каждая аминокислота соответствует строго определенным триплетам (одному или нескольким). Триплеты эти называют также кодонами. Последовательность триплетов в молекуле ДНК, соответствующая полной последовательности аминокислот в данном полипептиде, образует цистрон (или ген, хотя этот термин не столь однозначен, как цистрон). Такой же принцип лежит в основе не только определения очередности аминокислот, но и для функционального отделения цистронов друг от друга. Так, существуют кодоны,

используемые как сигнал для завершения синтеза данной полипептидной цепочки. Наконец, некоторые из кодонов, в зависимости от их положения — в начале или в середине цистрона, выполняют двойную функцию: в первом случае служат сигналом для начала сборки полипептида, а во втором — лишь кодируют определенную аминокислоту.

Само по себе вещество наследственности — ДНК — существует либо в виде единичных молекул очень большой длины, связанных обычно с белком, либо образует линейный набор таких молекул. Естественно, эти соединения малоподвижны. Кроме того, ДНК тщательно оберегается различными системами от повреждений, ибо она заключает в себе наиболее ценную информацию, отобранную в течение всей предшествующей эволюции. Поэтому вещество наследственности, как правило, не принимает непосредственного участия в синтезе полипептидов (исключением являются лишь РНК некоторых вирусов). Существует биохимический механизм, с помощью которого на шаблоне ДНК синтезируются РНК, представляющие собой молекулярные отпечатки относительно небольших участков последней, включающих один цистрон или группу цистронов. Эти РНК, так называемые мессенджер-РНК (мРНК), обладают большей подвижностью и уже непосредственно участвуют в синтезе полипептидов. Синтез мРНК является, таким образом, первым этапом в процессе синтеза белка. Его называют транскрипцией, так как он представляет собой как бы переписывание последовательности нуклеотидов в одном или нескольких цистронах ДНК в виде мРНК. Схематически этот этап и все последующие представлены на рис. 1.

У бактерий мРНК сразу после синтеза, а часто еще в процессе синтеза, взаимодействует с рибосомами клетки, на которых и происходит собственно сборка полипептидов. У более сложно организованных живых существ, хромосомы которых отделены от цитоплазмы клетки мембраной ядра, мРНК совершает сложную миграцию от места ее образования на хромосоме через нуклеоплазму, ядерную мембрану и часть цитоплазмы к рибосомам (в ядре рибосом нет). При

этом она претерпевает, во-первых, частичную фрагментацию, — видимо до мРНК, соответствующих единичным цистронам, и комплексируется с гомополирибонуклеотидами (поли А) и белками, защищающими

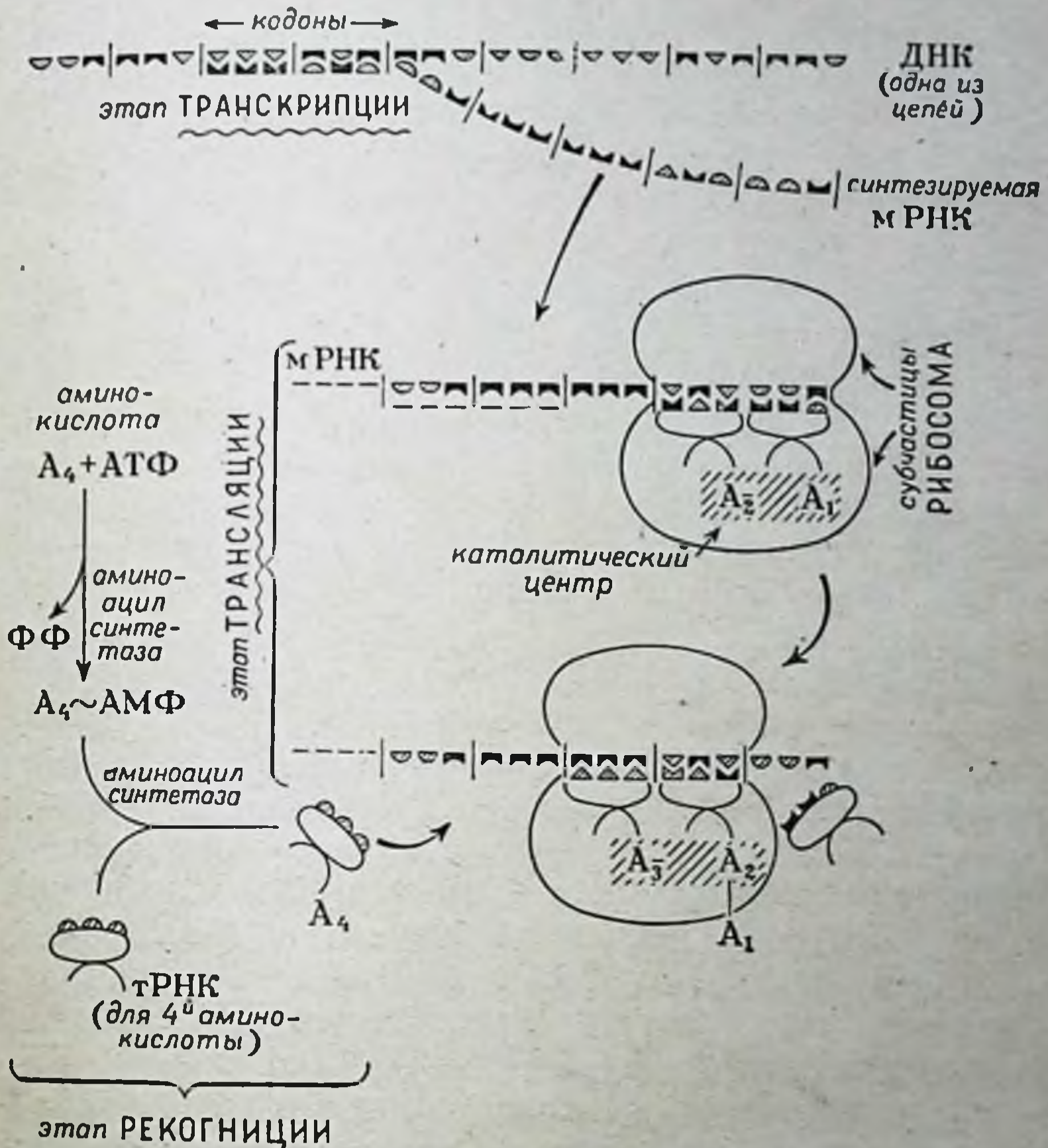


Рис. 1. Основные этапы синтеза белка (этап рекогниции иллюстрирован лишь применительно к синтезу четвертой Аа-тРНК). (Остальные пояснения — см. текст).

ее на пути к рибосомам от расщепления нуклеазами и облегчающими ее проникновение через мембрану. Процессы миграции мРНК пока изучены недостаточно.

С момента встречи мРНК с рибосомами начинается этап трансляции, т. е. своеобразного перевода нуклеотидных кодовых обозначений последовательности

аминокислот в реальную первичную структуру полипептида. Для осуществления этого этапа необходима прежде всего специальная система, позволяющая каждой аминокислоте, во-первых, узнать свой триплет (кодон) на мРНК, и, во-вторых, обеспечивающая каждый аминокислотный остаток необходимым запасом энергии для замыкания пептидной связи. Первой цели служат относительно низкомолекулярные транспортные РНК — тРНК и ферменты, катализирующие их соединение с аминокислотами. Каждая из тРНК содержит, с одной стороны, триплет, являющийся молекулярным отпечатком того или иного кодона мРНК (антикодон). Благодаря ему тРНК взаимодействует только с определенным кодоном мРНК. С другой стороны, каждая тРНК обладает такими особенностями структуры, которые позволяют ей присоединять только аминокислоту, соответствующую упомянутому кодону. При этом узнавание аминокислотой своей тРНК происходит не непосредственно, а через упомянутые выше ферменты — аминоацилсинтетазы, молекулы которых имеют два участка, — один, специфически связывающий данную аминокислоту, а другой, связывающий тРНК, специализированную на данной аминокислоте. Число различных тРНК и аминоацилсинтетаз обеспечивает (даже с определенным превышением) все многообразие аминокислот и кодонов. Этап узнавания аминокислотой своей тРНК называют *рекогницией*. Образующийся в результате комплекс аминокислоты со своей тРНК называют *аминоацилтранспортной РНК — Аа-тРНК*.

Вторая задача — «зарядка» аминокислотного остатка энергией, необходимой для замыкания пептидной связи, — решается еще до образования комплекса с тРНК — за счет энергии АТФ. Эта реакция катализируется тем же ферментом — аминоацилсинтетазой, причем возникает богатое энергией промежуточное соединение — аминокислоты с остатком АМФ. На место остатка АМФ становится затем тРНК, причем запас энергии сохраняется.

Вернемся теперь к моменту, когда произошла встреча мРНК с органеллами клетки, где происходит синтез полипептидов, — рибосомами; мРНК присоеди-

няется к одной из двух субчастиц этой органеллы своим начальным участком, где расположен кодон, сигнализирующий начало синтеза полипептида. Далее, с участием второй субчастицы рибосомы, к этому кодону присоединяется Аа-тРНК, несущая первую аминокислоту. Первой аминокислотой полипептида всегда служит формильное производное метионина (в последующем, после завершения синтеза полипептида, оно нередко отщепляется). Затем мРНК на рибосоме смещается на один триплет, и ко второму кодону присоединяется соответствующая ему следующая Аа-тРНК. Между оказавшимися в непосредственной близости остатками двух аминокислот замыкается пептидная связь. Последняя реакция катализируется ферментом, «вмонтированным» во вторую субчастицу рибосомы. После замыкания пептидной связи вновь следует перемещение (транслокация) мРНК на один триплет. При этом отщепляется «отработанная» тРНК, принеся первая аминокислоту, и присоединяется новая Аа-тРНК, несущая очередную — третью аминокислоту. Теперь на каталитическом центре рибосомы, в непосредственной близости, оказываются второй аминокислотный остаток уже синтезированного дипептида и принесенная третья аминокислота. Вновь происходит замыкание пептидной связи и наращивание полипептида. Далее весь этот цикл реакций многократно повторяется до момента, когда в активную область рибосомы вступает конечный триплет мРНК, который не кодирует какой-либо аминокислоты, а сигнализирует лишь окончание процесса. Такова в самом общем виде схема основного этапа синтеза белка, названная выше трансляцией. Кроме рис. 1, этапы рекогниции и трансляции иллюстрируются также схемой 3 в главе IV.

Изложенная схема позволяет понять принципы функциональной классификации ингибиторов синтеза белков. Глубокие различия в молекулярных механизмах описанных выше этапов синтеза находят выражение в том, что ингибиторы транскрипции, как правило, неэффективны или малоэффективны в качестве ингибиторов трансляции или рекогниции. Так же точно из весьма многочисленных ингибиторов трансляции (к настоящему времени изучены многие сотни

соединений) можно назвать лишь единичные, которые способны к существенному подавлению транскрипции или рекогниции. Что касается ядов рекогниции, число их пока невелико. Однако и они достаточно специфичны. Подчеркивая строгость такой функциональной классификации ингибиторов, не следует забывать, что имеются в виду *первичные, прямые* их эффекты. За первичным подавлением того или иного этапа может следовать опосредованное воздействие на любой другой этап. Так, избирательное подавление транскрипции приведет, по мере распада ранее синтезированной мРНК, к затуханию трансляции. Избирательное же подавление трансляции приведет к подавлению синтеза белковых факторов транскрипции и через более или менее длительный период времени затормозит этот этап. Поэтому в анализе механизмов действия и в классификации ингибиторов биосинтеза белка особое значение имеет дифференциация первичных и вторичных эффектов.

Функциональная классификация ингибиторов синтеза белка пока представляется более стройной, нежели химическая, в силу недостаточности наших знаний о связи между структурой и механизмом их действия. Нельзя, однако, сказать, что деление по особенностям структуры противоречит функциональному делению. Напротив, зная структуру нового ингибитора, можно нередко делать обоснованные предположения об этапе, который является объектом подавления. Так, очень характерна структура интеркалирующих агентов, аналогов Аа-тРНК типа пуромицина и ряда других. Однако до установления строгого соответствия структуры и эффекта большинства агентов еще далеко, а следовательно, химическая классификация пока встречает значительные трудности.

Помимо общего деления ингибиторов синтеза белка на яды транскрипции, трансляции и рекогниции, существует более тонкое деление в пределах каждой из этих групп, основанное опять-таки на последовательности реакций, составляющих каждый этап. Оно обосновывается в начальных разделах каждой из последующих глав.

ПОДАВЛЕНИЕ СИНТЕЗА И ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ РНК БЕЗ НАРУШЕНИЯ ЦЕЛОСТИ МАТРИЦЫ

Выше было приведено описание основных этапов синтеза белков, которое служит основанием для общей функциональной классификации ингибиторов. Каждый этап синтеза в свою очередь делится на ряд стадий и отдельных реакций. Молекулярные механизмы последних таковы, что существует немало ингибиторов, которые избирательно или, по крайней мере, преимущественно подавляют ту или иную стадию. Собственно, само выявление некоторых стадий в значительной мере является результатом ингибиторного анализа. Поэтому возможна не только общая функциональная классификация ингибиторов по этапам синтеза, но и более тонкая — по отдельным стадиям и реакциям каждого этапа. Поскольку в первых двух главах описываются ингибиторы, которые в конечном счете подавляют транскрипцию, рассмотрим кратко основные стадии этого процесса и соответствующее деление ингибиторов.

Синтез полноценной мРНК требует прежде всего неповрежденной двуцепочечной ДНК-матрицы. Матричный синтез РНК возможен и на одноцепочечной денатурированной ДНК, но в последнем случае он протекает неупорядоченно: нет четкой фиксации начальных и конечных точек синтеза и отсутствует избирательность в отношении транскрипции только одной из комплементарных цепей ДНК. Требование общей двуцепочечности матричной ДНК сочетается с тем обстоятельством, что на небольшом участке, где функционирует энзим синтеза и находится часть новообразованной мРНК, цепи временно расходятся, — образуется, по-видимому, участок локальной денатурации. Непрерывность матрицы, отсутствие искажений структуры тех или иных ее участков, отсутствие ковалентных сшивок между цепями, — все это, таким образом, обязательные условия нормального протекания транскрипции. Большая группа ингибиторов действует, по

врежда матрицу, т. е. нарушая ковалентные связи между нуклеотидами и в самих нуклеотидах, модифицируя их функциональные группы, образуя с ними прочные комплексы, вызывая выпадение или разрушение значительных участков цепи и т. п. В отличие от других ингибиторов транскрипции, механизмы действия которых характеризуются, так сказать, большой деликатностью, агенты, грубо воздействующие на ДНК, не обладают избирательностью. Они рассматриваются особо в главе III. В главе II рассматриваются все ингибиторы транскрипции, не повреждающие матрицу, независимо от того, действуют ли они прямо на энзим или же обратимо соединяются с матрицей, создавая препятствие на пути движения энзима.

Первая стадия транскрипции состоит в присоединении энзима — РНК-полимеразы к ДНК-матрице. *In vivo* и в некоторых системах *in vitro* присоединение осуществляется преимущественно к участкам ДНК, богатым пиримидиновыми блоками. Сейчас установлено также, что существует особое сродство ряда РНК-полимераз к определенным последовательностям пиримидиновых нуклеотидов. В самой молекуле РНК-полимеразы за связывание с энзимом ответственны лишь некоторые субъединицы. Здесь необходимо отметить, что большинство изученных РНК-полимераз обладает сложной четвертичной структурой. В частности, РНК-полимераза кишечной палочки состоит, во-первых, из четырех видов прочно связанных друг с другом субъединиц — α , β , β' и ω , которые образуют так называемый корэнзим, или минимальный энзим, и, во-вторых, из одной (или нескольких) легко отделяемых субъединиц типа σ . В неспецифическом взаимодействии с матрицей участвуют субъединицы минимального энзима — β и β' . Что касается σ -субъединиц, то они определяют повышенное сродство РНК-полимеразы к начальным, промоторным участкам оперонов. Эта стадия транскрипции избирательно подавляется, например, гепарином. Присоединение к данной матрице может быть заторможено также конкуренцией других полидезоксирибонуклеотидов за энзим.

Вторая стадия транскрипции — инициация — состоит из связывания первого и второго нуклеозидтри-

фосфатов с энзимом и замыкания первого фосфодиэстерного мостика. При этом за счет второго нуклеозидтрифосфата отщепляется пирофосфат. Трифосфатная же группировка первого нуклеотида остается неизменной. По-видимому, особенность стартового соединения (нуклеозидтрифосфат, а не полинуклеотид) и своеобразие первого динуклеотида обуславливают четкую обособленность стадии инициации от последующих реакций наращивания полипептида. Это выражается в существовании ингибиторов, строго избирательных к стадии инициации. Таков, например, рифампицин. Заметим, что, в отличие от стадии присоединения, инициация либо не происходит, либо протекает замедленно в отсутствие σ -единицы энзима.

Третья стадия транскрипции — элонгация — состоит в многократном повторении реакций присоединения к энзиму новых нуклеозидтрифосфатов, комплементарных очередному нуклеотиду ДНК-матрицы, и образования новой фосфодиэстерной связи с 3'-ОН-группой наращиваемого полинуклеотида. При этом опять-таки отщепляется пирофосфат. Каждая такая реакция сопровождается перемещением энзима вдоль матрицы на дистанцию одного нуклеотида, — так называемой транслокацией. Равновесие этой реакции сильно смещено в сторону синтеза. Поэтому подавление ее простым повышением концентрации конечных продуктов, в том числе пирофосфата, малоэффективно. Элонгация подавляется целым рядом ингибиторов, воздействующих непосредственно на энзим. Однако, в отличие от специфических ингибиторов инициации, известные агенты этого типа менее избирательны. Так, антибиотик стрептолидигин, несмотря на близость к специфическому яду инициации — рифамицину, тормозит и элонгацию, и инициацию. Подавление элонгации возможно и путем создания препятствий на пути перемещения энзима. Ряд обстоятельно изученных агентов, например актиномицин D, действует именно таким образом, вступая в прочное соединение с матрицей. Возможен, наконец, «обман» энзима при посредстве аналогов нуклеозидтрифосфатов, либо связывающихся с энзимом, но неспособных к дальнейшей реакции, либо образующих очередной фосфодиэстерный мостик, но не обладающих 3'-ОН-груп-

пой, которая обеспечила бы возможность дальнейшей полимеризации.

Четвертая, заключительная стадия транскрипции — терминация — состоит в прекращении элонгации и отделении готовой РНК от матрицы. Она относительно мало изучена. По-видимому, в конце транскрибируемого участка на ДНК имеется какая-то характерная область с «сигнальной» структурой. Кроме того, для терминации необходим фактор белковой природы — р, взаимодействующий с полимеразой. Ингибиторы этой стадии пока не описаны.

После завершения транскрипции в ядрах эукариотов РНК претерпевает еще ряд посттранскрипционных превращений, которые необходимы для обеспечения миграции РНК в цитоплазму, защиты ее на этом пути от деградации и, возможно, для определения срока существования той или иной мРНК в цитоплазме. К ним относится присоединение к 3'-концу гомополинуклеотида — поли А (синтезируемого в ядре отдельно), отщепление с 5'-конца тех участков РНК, которые соответствуют регуляторным участкам оперона и не нужны для трансляции на рибосомах, и, наконец, комплексование с определенными белками (информоферы — в ядре, белки информосом — в цитоплазме). Примером достаточно специфичного ингибитора синтеза поли А является кордицепин.

Как уже упоминалось, особенный интерес представляют ингибиторы, способные тормозить транскрипцию, не вызывая повреждений и необратимых деформаций ДНК-матрицы. Именно к ним относится большинство ядов, обладающих высокой избирательностью к отдельным стадиям и реакциям транскрипции. Их описание и является задачей настоящей главы. В связи с избирательностью этой группы ингибиторов их распределение по параграфам соответствует изложенным выше стадиям транскрипции.

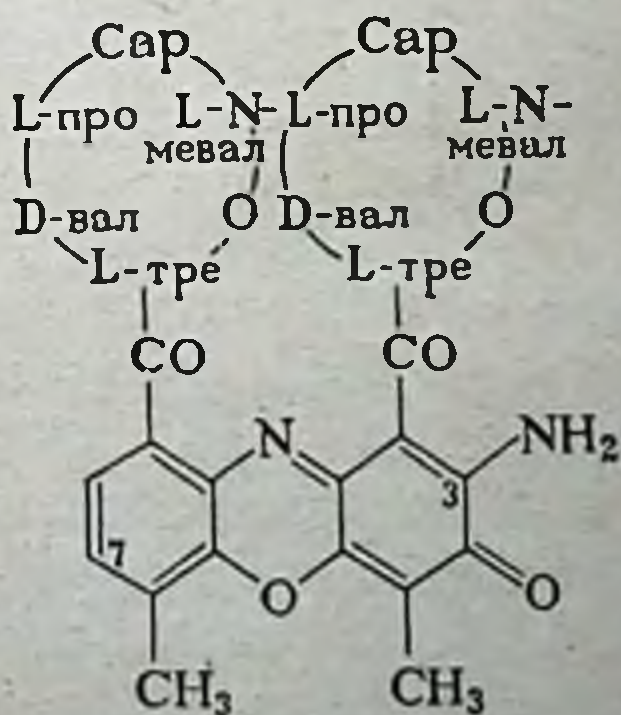
АНТИБИОТИКИ, БЛОКИРУЮЩИЕ МАТРИЦУ

Наиболее изученным антибиотиком этой группы является актиномицин D. Благодаря высокой специфичности, универсальности по отношению к раз-

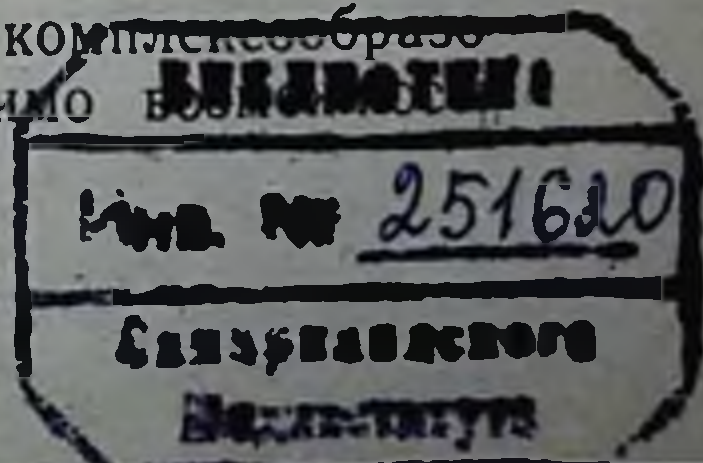
ным объектам, достаточной изученности механизма действия, этот антибиотик стал одним из важнейших средств ингибиторного анализа. Трудно назвать другой ингибитор транскрипции и биосинтеза белка, который бы оказался столь полезным в молекулярно-биологических исследованиях.

Актиномицин D — представитель высокотоксичных антибиотиков хромопептидной природы. Данные о механизме его действия обобщены Reich и сотр. (1967), Ю. О. Сазыкиным (1968), Goldberg, Friedman (1971) и мн. др. Согласно этим данным, актиномицин образует комплексы с ДНК как *in vitro*, так и *in vivo*. При этом оказывается, что биспиральная конформация является важным фактором, определяющим взаимодействие антибиотика с ДНК. Односпиральная ДНК, ДНК, денатурированная нагреванием, и апиримидиновая ДНК, не имеющие упорядоченной пространственной структуры, обладают меньшим сродством к актиномицину и хуже связывают его.

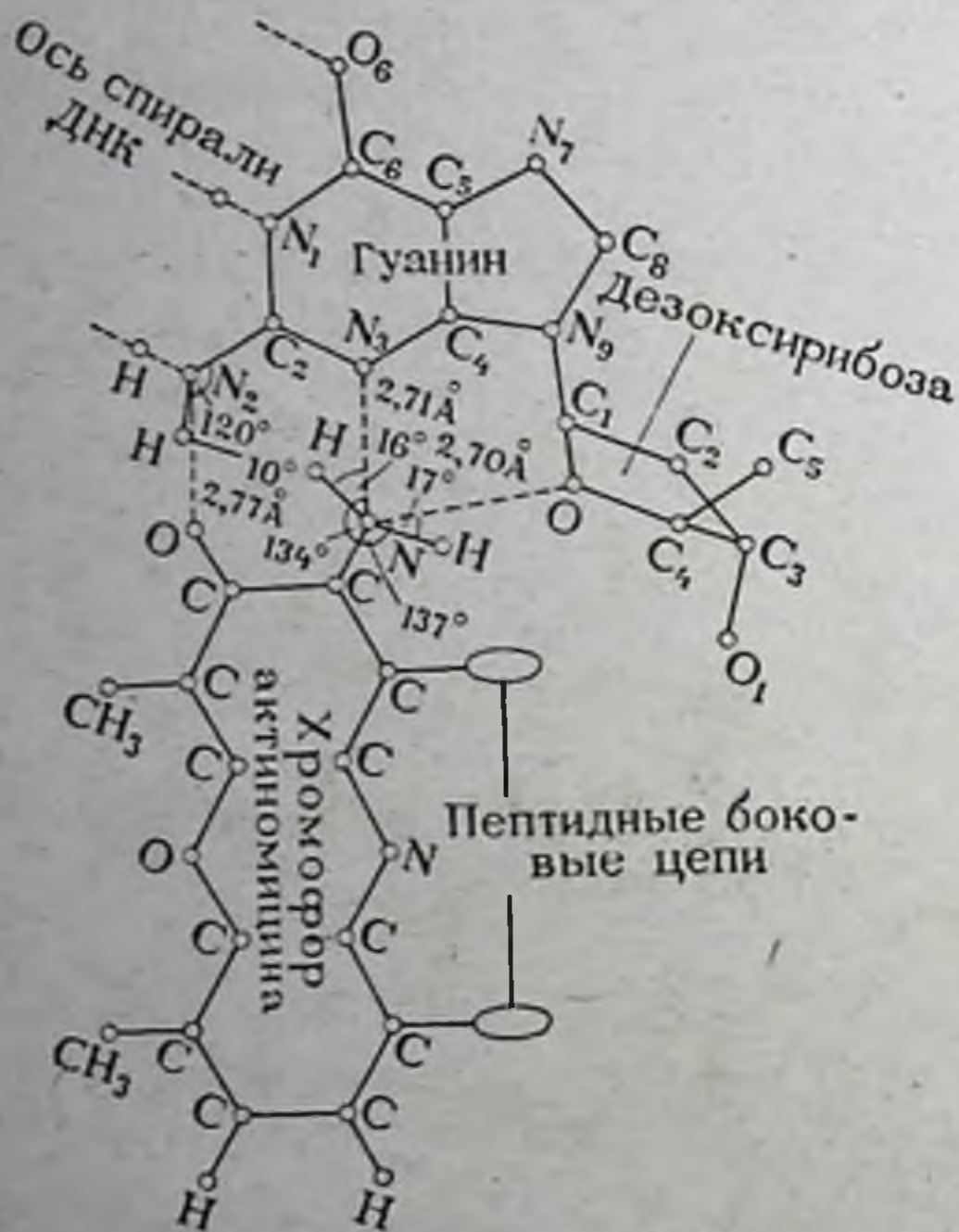
Функциональными группами актиномицина, необходимыми для связывания с ДНК и, следовательно, для проявления его биологической активности, являются аминокислотные группы хромофора, невосстановленный хиноидный кислород и интактные циклические пентапептидные лактоны. Считается, что определенные конформационные свойства пентапептидов — одно из основных условий активности антибиотика. Химическая структура актиномицина допускает его взаимодействие с ДНК по типу интеркаляции.



В целом высокоспецифическое комплексобразование актиномицина с ДНК, помимо



образования связей между отдельными функциональными группами, происходит в результате уникального сочетания стереохимических свойств ДНК и антибиотика (Jain, Sobel, 1972). Актиномицин D располагается в малой борозде молекулы ДНК и образует водородную связь между карбоксильной группой феноксазинового кольца и 2-аминогруппой гуанина одной из цепей. В то же время его циклическая пентапептидная группа образует такого же типа связи с остатками ортофосфата противоположной цепи. В результате на пути движения РНК-полимеразы образуется барьер.



Непосредственно с РНК-полимеразой актиномицин D не взаимодействует и началу транскрипции практически не препятствует, так как вероятность его связывания с небольшим участком, где происходит инициация, гораздо меньше, чем с тем или иным участком в зоне элонгации. Поэтому результатом действия актиномицина D является обычно образование незавершенных, укороченных молекул РНК (Ю. О. Сазыкин, 1968; Goldberg, Friedman, 1971, и др.).

Некоторая специфичность взаимодействия актиномицина D с ДНК определяется, видимо, не только сродством к остаткам гуанина. Какую-то роль играет и набор соседних оснований, ибо ряд синтетических полимеров, содержащих до 33% ГЦ пар, плохо связывает антибиотик. Имеются указания на необходимость чередования гуанина с цитозином и даже более сложных нуклеотидных последовательностей (Wells, Lagson, 1970). В общем, однако, корреляция эффективности актиномицина с долей ГЦ-пар в ДНК выражена достаточно четко и обуславливает важную закономерность его действия на синтез разных типов РНК. Так, синтез рибосомальных РНК, транскрибируемых с участков ДНК, особенно богатых ГЦ-парами, подавляется уже при концентрациях антибиотика порядка 0,1—1 мкг/мл. Подавление же синтеза мРНК, которые, особенно в тканях высших организмов, синтезируются на участках ДНК, относительно богатых АТ-парами, наступает лишь при концентрациях 1—10 мкг/мл. Что же касается синтеза транспортной РНК, то хотя она транскрибируется с участков ДНК ГЦ-типа, сказываются небольшие размеры ее молекул. Вероятность «рассечения» актиномицином всех или даже большинства цистронов тРНК оказывается незначительной. В результате концентрации антибиотика, подавляющие синтез всех других типов РНК, лишь относительно неглубоко ингибируют синтез тРНК.

Актиномицин D ингибирует также редупликацию ДНК. Однако концентрации антибиотика, почти полностью подавляющие транскрипцию, снижают синтез ДНК лишь на 5—10%. Высокие концентрации актиномицина D могут прямо тормозить синтез ДНК в результате изменения ее физико-химических свойств. Однако действие антибиотика может быть и опосредованным. Еще Baserga и др. (1965) показали, что асцитные клетки опухоли Эрлиха в фазе G проходят чувствительный к актиномицину этап развития. Подавление его антибиотиком предотвращает вступление клеток в фазу синтеза ДНК. Активность тимидинкиназы и ДНК-полимеразы при этом не затрагивается, но подавляется синтез рибосомальной РНК. Авторы пришли к выводу, что при прохождении клетками цикла развития синтез РНК необходим для инициации,

а не для продолжения синтеза ДНК. Это подтверждается последними исследованиями Lagk (1972) и многих других, показавших, что обязательным начальным этапом синтеза ДНК *in vivo* является образование небольшого (до 100 нуклеотидных остатков) отрезка РНК, входящего в состав новой цепи ДНК и лишь на заключительных стадиях процесса, заменяемого на эквивалентный отрезок ДНК (Okazaki и др., 1973).

Детальнее рассмотрим, как сказывается угнетение транскрипции актиномицином на биосинтезе белков. Было установлено, что актиномицин быстро угнетает в бактериях синтез не только РНК, но и белка. Очевидно, что быстрое торможение синтеза белка при контакте микроорганизмов с антибиотиком связано с нестабильностью мРНК микробов, продолжительность полужизни которых измеряется минутами или десятками минут. Небольшую разницу в скорости торможения антибиотиком синтеза РНК и белка удалось зафиксировать, используя меченые предшественники РНК и белка. Информационные нуклеиновые кислоты клеток животных более стабильны, поэтому в них значительно больше выражено разобщающее действие актиномицинов на синтез белка и мРНК. В целом чувствительность синтеза белков к актиномицину резко варьирует в зависимости от срока жизни различных мРНК. Сроки полужизни мРНК животных варьируют от нескольких часов до многих десятков часов и даже многих суток (Miller, 1964; В. И. Мазуров, 1966; Neu и др., 1966. и др.). Актиномицин D является пока незаменимым средством для характеристики продолжительности жизни мРНК различных белков. В качестве примера можно привести одну из ранних работ, в которой установлена различная чувствительность к актиномицину ферментов глюкозидазы и пенициллиназы у *Bac. cereus* и *Bac. subtilis* в зависимости от вида микроорганизма и его физиологического состояния (Pollock, 1963). Вместе с тем, объясняя различия в чувствительности к актиномицину синтеза разных белков, нельзя исключить, что он неодинаково связывается с различными генами и регуляторными зонами, расположенными вдоль цепи ДНК.

В некоторых случаях стабильность матриц мРНК, а следовательно, и чувствительность синтеза данного белка к актиномицину, может меняться в зависимости от условий существования клеток. Так, описано повышение стабильности части мРНК при инкубировании лимфоцитов человека *in vitro* (Kay, 1967).

Singer и Penman (1972) описали повышение стабильности мРНК в клетках HeLa под влиянием самого актиномицина. Авторы считают, что в данном случае повреждение синтеза белка связано с невозможностью инициации трансляции.

Все это показывает, что продолжительность жизни мРНК не всегда может быть определена по скорости подавления синтеза белка актиномицином, хотя его следует считать одним из важнейших «инструментов» при решении этой задачи.

Экспериментируя с актиномицином, особенно на сложных объектах с развитыми системами мембран, следует все время иметь в виду возможность влияния на результаты опосредованных эффектов антибиотика. Заметим, например, что подавление синтеза белка при длительных экспозициях может быть следствием изменения всасываемости аминокислот. Положение может еще больше усложняться, если учесть, что угнетение актиномицином всасывания является дифференцированным. Yamad и др. (1967) нашли, что больше подавляется всасывание кислых, затем нейтральных и в меньшей мере основных аминокислот.

Высокая избирательность действия актиномицина D и в то же время универсальность подавления им транскрипции в самых различных живых существах позволили использовать его как инструмент для решения целого ряда других задач молекулярной биологии. Прежде всего он оказался неоценим при необходимости быстро дифференцировать синтез РНК на матрице ДНК от нематричного синтеза РНК или синтеза РНК на матрице РНК. Так, достройка акцепторного ЦЦА-конца тРНК протекает без матрицы и не подавляется актиномицином. Так же точно не ингибируется им и активность полинуклеотидфосфорилазы. Не тормозит актиномицин и синтез генетических вирусных РНК, да и вирусов в целом, в тех случаях, когда он протекает на РНК-матрице. Исключение

представляют реовирусы, РНК которых является двуспиральной, а также вирус гриппа, на начальных стадиях размножения которого актиномицин D оказывает опосредованный эффект через клетку. Поэтому актиномицин используют для предварительной идентификации и установления природы вирусов. В качестве примера можно привести изучение вируса молочной дегидразы (LDV) (Du Buу, Johnson, 1970) и изучение вируса мозаики цветной капусты (Tezuka и др., 1971).

Исторически оказался очень важным еще один особый случай воздействия актиномицина D на размножение вирусов. Так, когда онкогенные РНК-вирусы образуют ДНК-эквивалент своей РНК, включаемый временно в хромосому хозяина и служащий затем матрицей для синтеза дочерней вирусной РНК, актиномицин подавляет размножение вируса на конечных этапах. На феномене подавления им размножения РНК-содержащего вируса саркомы Рауса в трансформированных клетках основаны были отчасти первые работы Темп (1964) о механизмах развития канцерогенных вирусов, заверившиеся открытием обратимых транскриптаз.

Помимо достаточно очевидных феноменов, связанных с природой нуклеиновых кислот вирусов, актиномицин D позволил исследовать и ряд тонких взаимоотношений вирусов с инфицируемой клеткой. В культуре клеток куриных фибробластов и клеток L актиномицин подавляет синтез интерферона, индуцированный соответственно вирусами Чикунгунья и болезни Ньюкасла, если антибиотик вносить в среду в момент заражения клеток или в течение первых часов после этого. Анализ полученных результатов показывает, что синтез интерферона протекает по типу синтеза индуцированных ферментов. Тот факт, что актиномицин не препятствует образованию интерферона через 6 ч после заражения клеток, свидетельствует о том, что основная масса интерфероновой мРНК транслируется в течение первых 6 ч и остается относительно стабильной (Wagner, 1964). Именно эти данные утвердили представление о том, что синтез интерферона осуществляется под генетическим контролем ДНК клеток.

Полное блокирование высокими концентрациями актиномицина D ДНК-зависимого синтеза РНК в клетках животных позволило выявить ряд весьма интересных процессов, которые не могли быть зарегистрированы без помощи ингибитора такого типа. Так, Desai и др. (1969) нашли, что в изолированных ядрах лейкомиических клеток человека, возможно, существует РНК-реплицирующая система, которая устойчива к действию актиномицина. Высокие концентрации антибиотика (0,25—0,5 мкг/мл) угнетали в изолированных ядрах даже синтез ДНК, но не затрагивали значительную долю синтеза РНК и белка. Существование такого рода систем связывают предположительно с системами иммуногенеза.

Stern и Friedman (1970) показали, что в клетках животных в присутствии актиномицина D может синтезироваться небольшое количество РНК с необычными свойствами. Она является резистентной к РНК-азам, не метилируется и проявляет полидисперсность при анализе в градиенте плотности сахарозы. Резистентная к РНК-азе фракция обладает свойствами двутяжевой РНК, хотя нуклеотидный состав ее не подтверждает возможности образования обычной спиральной структуры. Функции этой РНК пока неясны.

Важной областью использования актиномицина D в исследовательской практике явилась эмбриохимия. В частности, его применение содействовало выявлению цикличности функций генома по ходу эмбриогенеза. Эти исследования, осуществленные главным образом на эмбрионах амфибий, рыб, иглокожих, опубликованы А. С. Спириным и сотр. (1964), Гроссом (Gross, 1967), Браше (Brachet, 1967) и др. Главным в них является феномен глубокого подавления синтеза РНК на отдельных стадиях эмбриогенеза, не сказывающийся на синтезе белка и протекании определенной стадии в целом. Это привело к возникновению представлений о существовании и особой роли в эмбриогенезе долгоживущих мРНК, «заготовленных впрок» и до определенного момента не используемых для трансляции.

В последние годы аналогичные данные получены и на других объектах. Так, например, Tasca и Hillman (1970) при изучении синтеза РНК и белка на ранних этапах развития эмбриона мыши показали, что на ста-

дии дробления синтез РНК может быть блокирован умеренными дозами актиномицина D без подавления синтеза белка.

В настоящее время исследователей, изучающих механизмы регуляции биосинтеза белка, особенно привлекают отдельные ситуации, когда отмечаются парадоксальные эффекты актиномицина, т. е. когда вместо подавления он вызывает активацию синтеза отдельных белков. Эти явления, наблюдаемые при гормональной индукции синтеза ряда ферментов (Tomkins и др., 1969; Gaggen и др., 1964), в процессе иммуногенеза (Ambrose, 1969) и в эмбриогенезе (В. А. Исаченков, Г. В. Нестайко, 1971) послужили одним из оснований гипотезы о существовании лабильных внутренних репрессоров, действующих, вероятно, на посттранскрипционном уровне (например, связывающих мРНК), или об изменении соотношений в стабильности различных мРНК и репрессоров по ходу эмбриогенеза.

Действие актиномицина D в какой-то мере является обратимым. Schluederberg и др. (1971) изучали восстановление синтеза РНК после удаления антибиотика из клеток млекопитающих. Через 2 ч после освобождения от антибиотика клеток почки зеленой мартышки, делящихся в монослое, синтез РНК даже превосходил контрольные скорости биосинтеза. Увеличение синтеза было связано с дозой актиномицина. Эффект снятия подавления зависел от температуры.

Итак, синтез белка может быть подавлен в результате задержки транскрипции на матрице ДНК при связывании последней с актиномицином D. Из-за нарушения транскрипции снижается содержание мРНК, необходимых для синтеза белка. В первую очередь угнетается биосинтез белков, кодируемых короткоживущими мРНК (большинство бактериальных белков). В животных клетках продолжительность синтеза белков в условиях блока транскрипции значительно варьирует. По мере разрушения ранее синтезированных мРНК в присутствии актиномицина проявляются различные признаки подавления биосинтеза белков. Они выражаются также в прекращении синтеза индуцированных ферментов, в угнетении общего биосинтеза белков, в нарушении циклического развития клеток, в проявлении морфологических изменений и т. д.

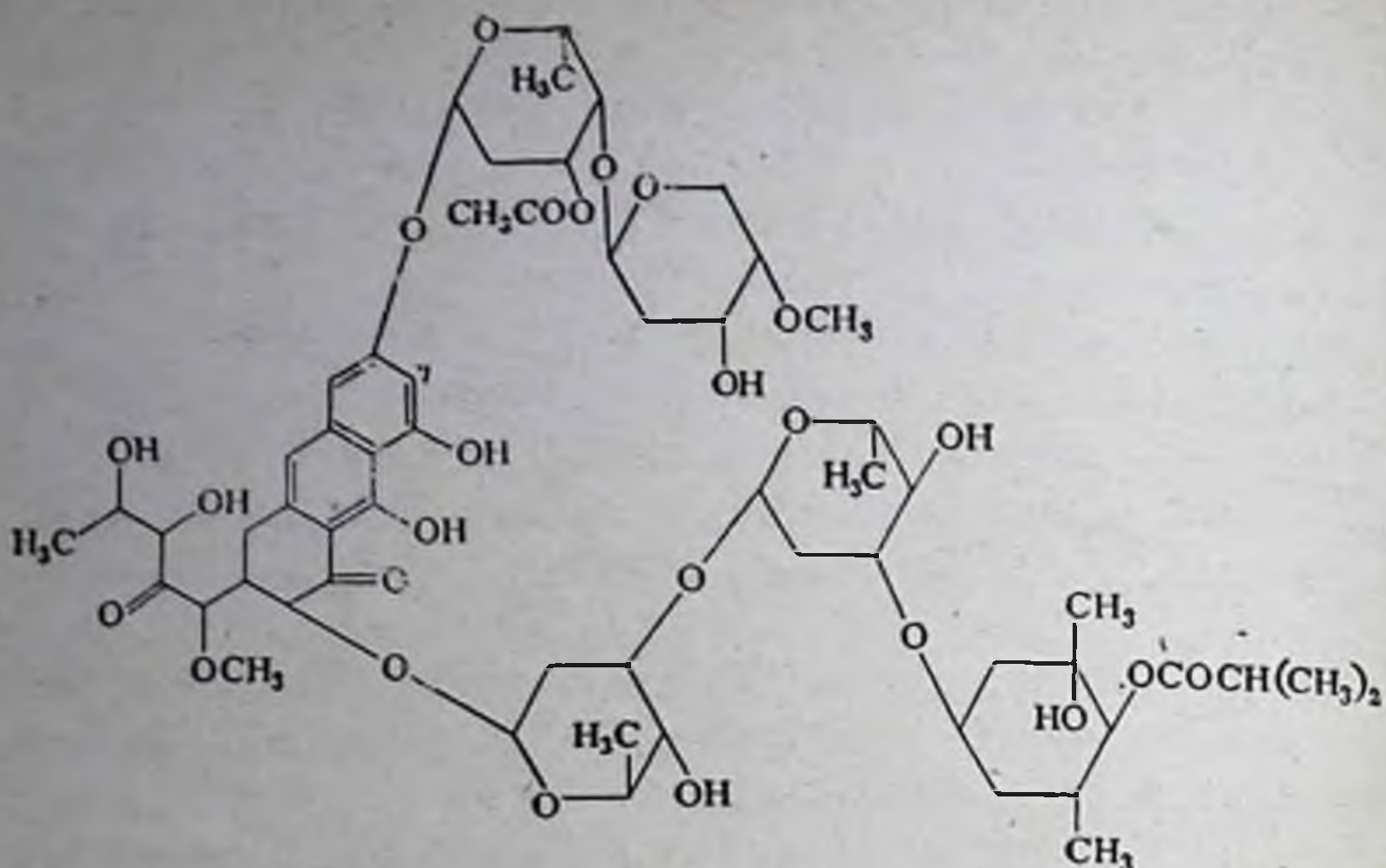
Под влиянием актиномицина подавляется синтез антител, образование интерферона, белков ДНК-содержащих вирусов, а в особых случаях — белков некоторых РНК-вирусов. Изменяется физиологическое состояние клеток и тканей.

Широкого применения в медицинской практике актиномицин D не нашел из-за токсичности. Использование же антибиотика в лабораторной практике и прежде всего при изучении механизмов и регуляции синтеза макромолекул оказалось чрезвычайно плодотворным.

Известен целый ряд других антибиотиков, близких к актиномицину D по механизму действия. К ним относится антибактериальный агент — мирацил D (1-диэтиламиноэтил-амино-4-метил-10-триаксантенон), который, соединяясь с ДНК, целиком блокирует синтез РНК. Синтез белка и ДНК угнетается частично. Через 8 мин после добавления около 10 мкг/мл мирацила D (60 мкМ) к культуре клеток *E. coli* включение C^{14} -лейцина в белок и H^3 -тимидина в ДНК снижаются более чем наполовину. При концентрации антибиотика 0,15 мМ наблюдается полное подавление размножения клеток. Мирацил D блокирует индукцию β -галактозидазы. Действие антибиотика на транскрипцию является достаточно избирательным, — он угнетает действие очищенной РНК-полимеразы *E. coli* *in vitro*, но не подавляет включения аминокислот в бесклеточной системе (Weinstein и др., 1967). Мирацил D эффективен при лечении шистозомиазиса у людей. Описана его способность продлевать жизнь мышей с трансплантированными опухолями.

Действие мирацила D *in vivo* предотвращается одновременным добавлением к культуре бактериальных клеток спермина. По-видимому, при этом блокируется поглощение антибиотика клетками. Предполагается также дополнительное действие спермина на образование комплекса мирацил — ДНК.

Связываясь с ДНК, угнетают функцию РНК-полимеразы три близких по химической структуре антибиотика — хромомидин, оливомидин и митрамидин. Они обладают противоопухолевой и антибактериальной активностью.



Оливомицин

Хромомицин продуцируется одним из штаммов *Streptomyces griseus*. Он представляет собой набор близких по структуре соединений. Наиболее изучен из них хромомицин А₃. В концентрации порядка 0,1—5,0 мкг/мл он подавляет рост грамположительных бактерий. Минимальная подавляющая концентрация для опухолевых клеток *in vitro* составляет 0,1 мкг/мл. Антибиотическое действие хромомицина обусловлено избирательным подавлением транскрипции. Взаимодействие хромомицина с ДНК изучено довольно обстоятельно спектрофотометрическими методами. Установлено снижение плотности и изменение скорости седиментации ДНК в присутствии хромомицина. Антибиотик связывается с ДНК лишь в том случае, если она содержит гуанин. Количество хромомицина, связанного с ДНК, возрастает при повышении содержания в ней гуанина. Показано, что для связывания хромомицина с ДНК необходимо также присутствие ионов Mg²⁺. Денатурированная ДНК слабее связывает хромомицин, чем нативная, а РНК не взаимодействует с антибиотиком.

Другой антибиотик этой подгруппы — оливомицин — образуется штаммом *Streptomyces oliveticuli* и является комплексом близких по структуре веществ, главное из которых получило название оливомицин I. Он был выделен и изучен Г. Ф. Гаузе (1967) и его

сопр. По структуре он, видимо, родствен хромомицинам.

Оливомицин в концентрации порядка 0,05—0,5 мкг/мл подавляет рост грамположительных бактерий. *In vitro* он тормозит размножение раковых клеток и пролиферацию клеток амниона человека (1 мкг/мл).

Рядом исследователей показано, что оливомицин в бактериальных и животных клетках избирательно угнетает синтез РНК. Так, в концентрации 0,3 мкг/мл он полностью останавливает в стафилококках синтез РНК и незначительно тормозит синтез ДНК и белка, а в культуре *Vac. megaterium* 0,8 мкг/мл антибиотика за 64 мин угнетали синтез РНК на 70%, синтез ДНК на 10% и совершенно не затрагивали синтеза белка. Устойчивость грамположительных бактерий к антибиотику, очевидно, связана с непроницаемостью для него их клеточной оболочки, так как в протопластах *E. coli* оливомицин (1 мкг/мл) значительно подавляет включение в РНК меченого урацила. Избирательное подавление синтеза РНК происходит и в опухолевых клетках. Было показано, наконец, что в концентрации 1 мкг/мл оливомицин подавляет синтез РНК из рибонуклеозидтрифосфатов в РНК-полимеразной системе *in vitro*, полученной из ядер асцитных клеток карциномы Эрлиха. Аналогичные результаты были получены при использовании в качестве матрицы для синтеза РНК препаратов ДНК из фага T2, *S. aureus*, *E. coli* и *Micrococcus lysodeikticus*.

Антибиотическое действие оливомицина обусловлено образованием комплекса с ДНК. В частности, степень подавления транскрипции *in vitro* уменьшается с увеличением концентрации ДНК. Вместе с тем, нельзя безоговорочно уподоблять действие оливомицина актиномицину D и даже хромомицину. Основное отличие состоит в отмеченном выше отсутствии или незначительности подавления синтеза белка в бактериальных системах, несмотря на довольно глубокое торможение синтеза РНК. По-видимому, оливомицин тормозит *in vivo* лишь образование долгоживущих бактериальных РНК.

Менее изучен антибиотик митрамицин. Он образуется культурой *Streptomyces* sp., имеет

эмпирическую формулу, близкую к хромомицину. Хромофор молекулы митрамицина близок к таковому хромомицина и отличается от хромофорной группы оливомицина. Антибиотик подавляет рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий (0,05 мкг/мл). В концентрации 0,1 мкг/мл убивает клетки HeLa. По сравнению с оливомицином обладает большей токсичностью. Механизм действия митрамицина подобен таковому оливомицина. Он избирательно подавляет в клетках синтез РНК и лишь незначительно действует на синтез ДНК.

Связывается с ДНК и затрудняет ее использование в качестве матрицы для синтеза РНК еще один антибиотик — н о г а л а м и ц и н. Этот цитотоксический антибиотик образуется культурой *Streptomyces nogalater* var. *nogalater*. Некоторые химические и биологические свойства его приводятся в статье Вhууап (1967). В концентрации 0,6 мкг/мл ногаламицин подавляет в клетках КВ синтез РНК и ДНК на 70 и 30%, а синтез белка — лишь незначительно. По последнему признаку он, следовательно, ближе к оливомицину, чем к актиномицину D.

Изменение спектра поглощения при взаимодействии ногаламицина с ДНК, невозможность извлечь его экстракцией этилацетатом из смеси с ДНК и, наконец, повышение температуры плавления ДНК под действием антибиотика свидетельствуют о том, что ногаламицин образует прочный комплекс с ДНК. Полагают, что при взаимодействии ногаламицина с ДНК возможна интеркаляция. В отличие от актиномицина, который взаимодействует с гуаниловыми нуклеотидами, ногаламицин связывается с АТ парами ДНК.

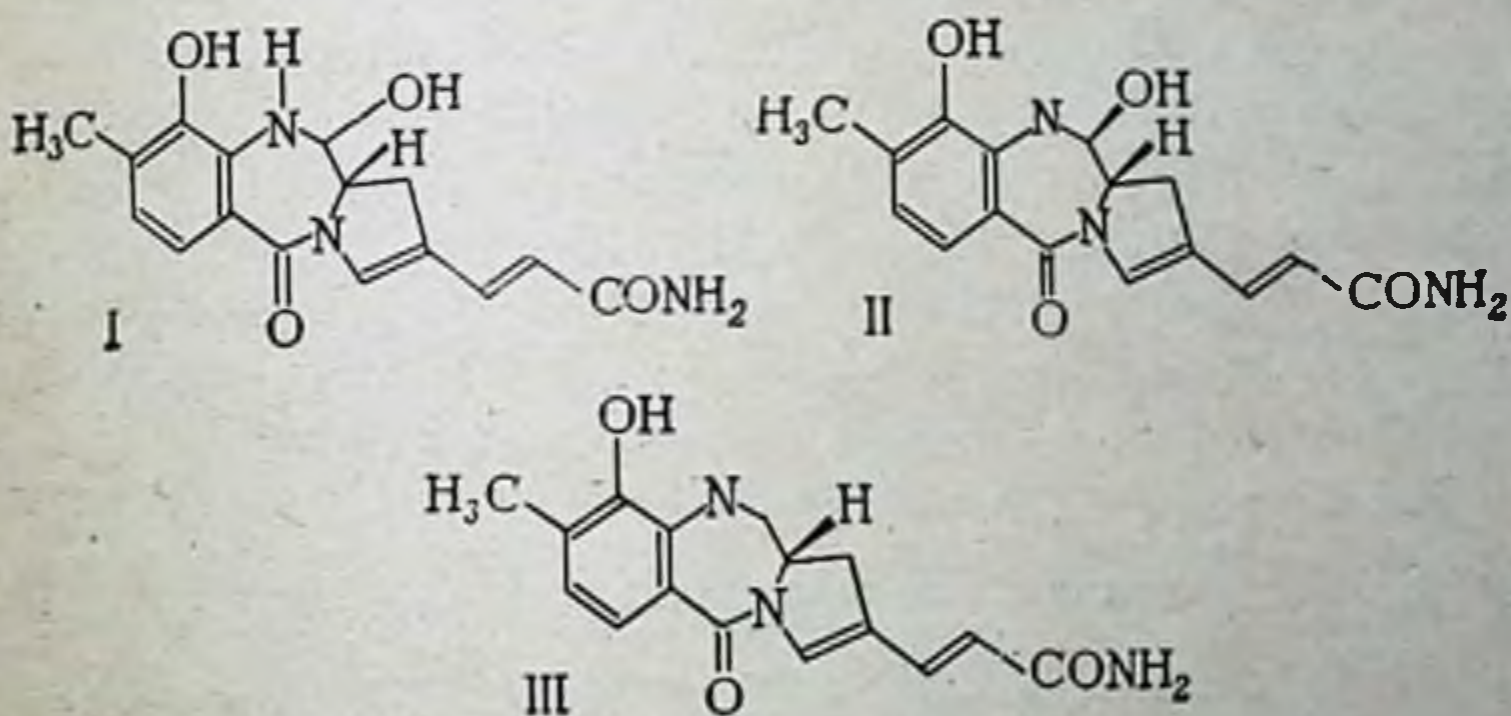
Ellet и Rhode (1970) показали, что в концентрации около 0,13 мкг/мл ногаламицин вызывает подавление синтеза всех нуклеиновых кислот, причем по степени ингибирования они располагаются в следующем порядке:

ДНК < ДНК-подобная РНК < тРНК < 5SPHK < рРНК

Селективность действия в отношении рРНК довольно выражена. Влияние антибиотика на синтез белка является, несомненно, опосредованным и, как уже указывалось, незначительным.

Матричную функцию ДНК нарушает также глобимицин — антибиотик пептидной природы. Образую комплекс с ДНК в бактериальных клетках, он нарушает процесс транскрипции, что в последующем приводит к блоку синтеза ДНК и деления клеток. В клетках регенерирующей печени крысы его эффект зависит от фазы клеточного цикла. Результатом первичного блока транскрипции в начале и середине фазы G_1 является задержка вступления клеток в фазу S. Блок транскрипции в конце фаз G_1 и S задерживает вступление клеток в митоз (Р. П. Алехина и др., 1972). Пока нет данных, позволяющих дать однозначную оценку степени подавления глобимицином синтеза РНК и белка в различных условиях.

Относительно ограничены пока данные о подавлении РНК-полимеразной реакции противоопухолевым антибиотиком антрамицином (I) и его производными (II и III). Как выяснилось, активность РНК-по-

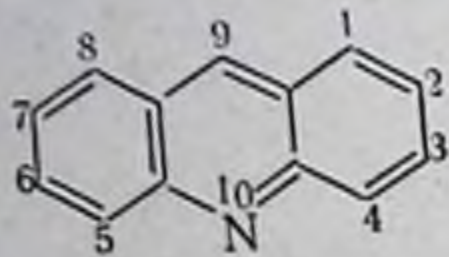


лимеразы из *E. coli* подавляется более чем на 75% при концентрациях антрамицина порядка 10^{-4} M. С подавлением синтеза РНК связан стерилизующий эффект антрамицина на некоторых насекомых (Hogwitz и др., 1971).

Полагают, что антрамицин подавляет транскрипцию в результате связывания антибиотика с матрицей ДНК.

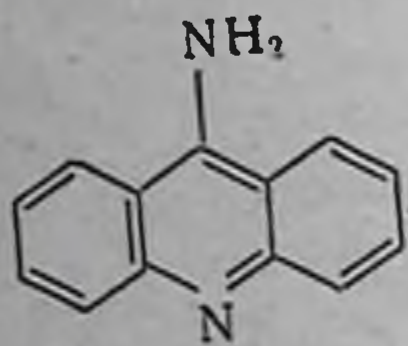
Среди веществ, нарушающих матричную функцию ДНК, особого рассмотрения заслуживают такие интеркалирующие агенты как соединения акридинового ряда. Эти соединения известны

как мутагены. Однако здесь (как и применительно к другим мутагенам) нас интересуют не столько изменения ДНК с исходом в мутацию, сколько вообще все изменения, хотя бы временно тормозящие или искажающие транскрипцию. Структурные формулы наиболее известных в этом плане производных акридина приведены ниже.

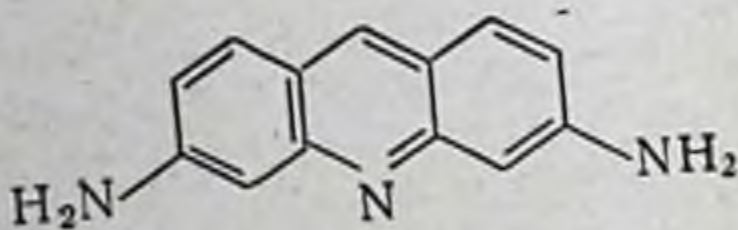


Акридин

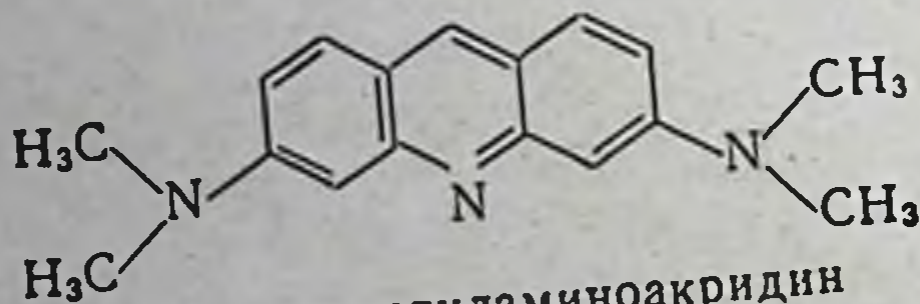
Аминоакридины без углеводородных замещений



9-аминоакридин

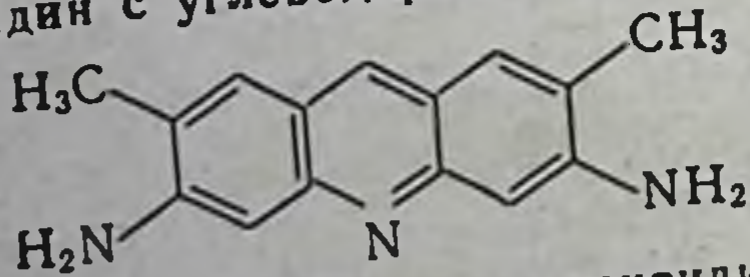


3,6-диаминоакридин
(профлавин)



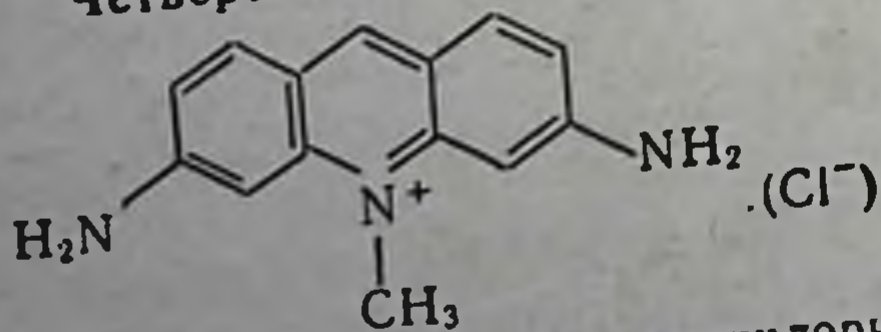
3,6-бис-диметиламиноакридин
(акридин оранжевый)

Аминоакридин с углеводородными замещениями



3,6-диамино-2,7-диметилакридин
(акридин желтый)

Четвертичный аминоакридин



3,6-диамино-N-метилакридинхлорид
(акрифлавин или очищенный трипрофлавин)

Повреждение матричных свойств ДНК связано, как правило, со вставкой (интеркаляцией) молекул производных акридина между основаниями нуклеиновой кислоты. Такое предположение подтверждается разнообразными физико-химическими тестами. Так, существенным аргументом в пользу интеркаляционного механизма связывания ДНК с акрифлавином (при высокой ионной силе раствора) служит увеличение оптической анизотропии и характеристической вязкости макромолекулы с ростом D/P. Это может быть только результатом возрастания термодинамической жесткости цепи ДНК (Э. В. Фрисман, 1972). Вместе с тем, допускается, что при малых значениях ионной силы существуют два типа связывания ДНК с красителем. В области больших значений D/P преимущественную роль играет внешнее связывание фосфатных групп и соответственно уменьшение характеристической вязкости. Не исключается взаимодействие производных акридина и с РНК (Snyder и др., 1971).

Наиболее полно изучено влияние на синтез РНК и ДНК только что упомянутого четвертичного аминокридина — а к р и ф л а в и н а. Исследовалось его действие на включение меченых предшественников (H^3 -тимидина, H^3 -уридина и C^{14} -фенилаланина) в ДНК, РНК и белки клеток печени. Синтез ДНК затрагивается в первую очередь и снижается почти на 40% уже при получасовой экспозиции с 2,5 мкг/мл красителя. В целом подавление синтеза зависит как от концентрации, так и от экспозиции. Изменения внутриклеточного синтеза РНК варьируют. Синтез ядрышковой и цитоплазматической РНК снижается с увеличением экспозиции, хотя не так быстро, как синтез ДНК. Однако к 2,5 мкг/мл акрифлавина при коротких экспозициях синтез РНК в безъядрышковой области ядра оказывается резистентным. Синтез белка в ответ на обработку акрифлавином снижается во всех участках обработанных клеток (Vose и др., 1966).

Интересно, что переход клеток в S-фазу цикла развития делает их более устойчивым к воздействию красителя. При этом процент меченых ядер не изменяется даже при 6-часовом действии акрифлавина.

Синтез РНК при действии акрифлавина варьирует в опытах на различных клеточных линиях. Так, в

одной из исследованных линий наблюдалось подавление синтеза РНК, а в другой, при той же обработке, имело место повышение синтеза РНК. Различия в ответе связывают с различным происхождением и неодинаковой степенью малигнизации клеточных линий. Вместе с тем, различия в степени подавления синтеза макромолекул косвенно подтверждают, что основным объектом первичного действия акрифлавина является ДНК.

Подробно изучено взаимодействие с нуклеиновыми кислотами других диаминопроизводных акридина. Хорошо известно, что профлавин, связываясь с ДНК, вызывает возникновение мутаций со сдвигом рамки РНК, синтезированная в присутствии профлавина, обладает некоторыми особенностями в составе и последовательности оснований. Профлавин подавляет частично ДНК-зависимый синтез РНК, тормозя, по-видимому, движение полимеразы вдоль матрицы при элонгации (Steinham, Willen, 1968). Однако подавление синтеза РНК *in vivo* не является полным. Частично профлавин тормозит и образование белка. Взаимодействуя как с ДНК, так и РНК, профлавин затрудняет *in vitro* (и в отдельных случаях *in vivo*) размножение некоторых вирусов, в том числе РНК-содержащих. Этим он существенно отличается от актиномицина, который, связываясь лишь с ДНК, не задерживает размножения большинства РНК-содержащих вирусов. При этом эффективны небольшие концентрации профлавина (около 5 мкг/мл среды). О влиянии профлавина на синтез рРНК будет дополнительно сказано ниже — в гл. IV.

Влияние диаминопроизводных акридина на синтез белка в амниотических клетках (штамм FL) уточнялось А. В. Зелениным, Е. А. Ляпуновой (1964). Ауторадиографическим методом при использовании концентраций акридинового оранжевого от 0,1 до 6,0 мкг/мл было показано, что он заметно влияет на синтез белка и практически подавляет его через несколько минут после начала действия. Подавление синтеза белка находилось в полном соответствии с подавлением митотической активности клеток. Поэтому первое предположение авторов сводилось к тому, что действие красителя связано с угнетением синтеза

мРНК. Однако известно, что даже актиномицин D, который на ряде объектов почти полностью прекращает синтез клеточной РНК, через 6—10 ч после введения угнетает синтез белка только на 60—70%. Обработка же акридином оранжевым подавляет включение радиоактивной метки в белок уже к 15-й минуте после начала опыта. Исходному предположению авторов противоречили также наблюдения за включением меченых тритием урацила и тимидина в клетки, обработанные акридиновым оранжевым. Даже через 48 ч после обработки красителем скорость синтеза уменьшалась только на 75%. В этой связи авторы считают более вероятным, что подавление синтеза белка имеет место на других стадиях и может быть связано с инактивацией транспортных РНК, что подтверждается наблюдениями других исследователей. Вместе с тем, акридиновый оранжевый в короткий срок угнетает синтез ДНК. Последний эффект, очевидно, не зависит от прямого подавления синтеза белка и является результатом непосредственного воздействия акридинового оранжевого на ДНК.

В отличие от других производных для акридинового оранжевого особенно характерно присоединение не только по типу интеркаляции. Он может прикрепляться к спирали ДНК снаружи. Этот второй тип связывания обусловлен, по-видимому, присоединением положительно заряженного азота кольца к отрицательно заряженным фосфатным группам дезоксирибозы, что определенным образом сказывается на свойствах молекулы ДНК в целом. Так, Roth и Kocher (1971) наблюдали, что акридиновый оранжевый увеличивает поглощение разрушенными и цельными лимфоцитами человека меченого актиномицина D, а также увеличивает способность последнего снижать вес селезенки мышей. Авторы допускают возможность, что, взаимодействуя с ДНК по второму типу, краситель вызывает стерические изменения, сопровождающиеся дополнительным смещением гуаниновых остатков. В свою очередь это способствует образованию конфигурации, необходимой для связывания актиномицина.

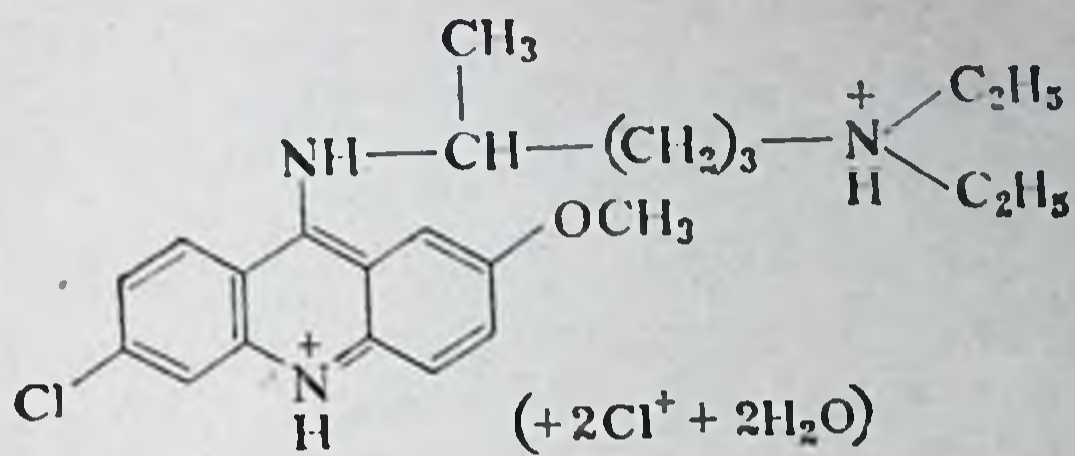
При сравнительном изучении акридинового оранжевого и акрифлавина Vose и др. (1968) отмечают, что ответ клеток на действие этих агентов

характеризуется существенными различиями. Акрифлавин угнетает синтез как ДНК, так и РНК, тогда как акридиновый оранжевый, правда лишь в определенных условиях (в концентрации 1,25 мкг/мл), даже стимулирует синтез РНК, подавляя в течение 6 ч синтез ДНК на 50%.

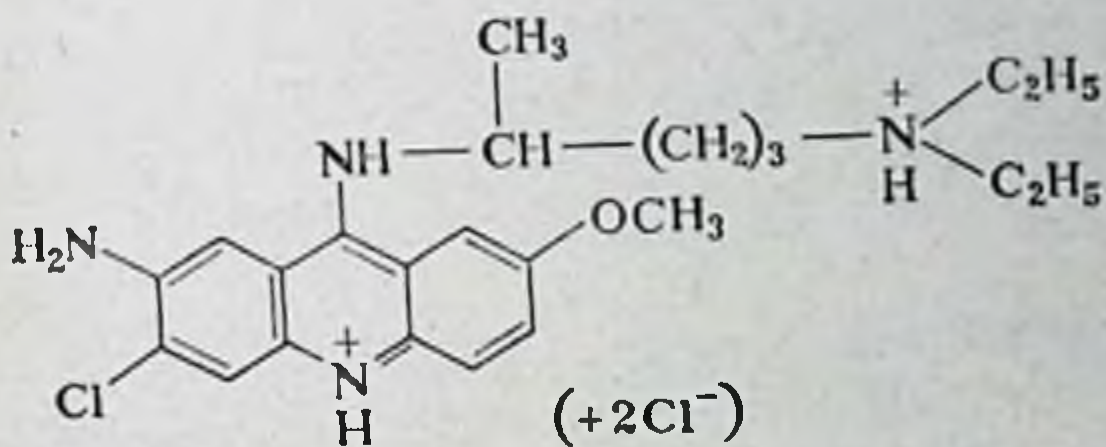
Ранее предполагалось, что производные акридина с замещенными аминогруппами мешают включению предшественников в РНК. Данные Bose и др. (1968) не подтверждают этого. Начальное же стимулирование синтеза РНК, по-видимому, может быть вторичным эффектом, сопровождающим подавление синтеза белка (так же, как это наблюдается, например, при обработке клеток гидроксиламином). Таким образом, небольшие различия в структуре акридинового оранжевого и акрифлавина ведут к существенным различиям в их действии, причем пока очень трудно дифференцировать первичные и вторичные эффекты.

Из производных акридина можно выделить особую группу соединений, обладающих *противомалярийной активностью*. К ним относятся хинакрин (акрихин), аминоакрихин и др. Указанные соединения подавляют жизнеспособность простейших с помощью различных механизмов и в том числе путем взаимодействия с нуклеиновыми кислотами по типу интеркаляции. Так, хинакрин подавляет деление клеток *Tetrahymena pyriformis*, угнетает синтез ДНК, РНК и белка. Степень подавления зависит от концентрации. При 15 мкг/мл препарата, когда максимально заторможено деление клеток, синтез ДНК подавлен полностью, а синтез РНК и белка угнетается соответственно на 70 и 50%. На основании этих данных Chou и Ramapathan (1968) считают, что первичным действием хинакрин является подавление синтеза ДНК, а другие эффекты являются вторичными.

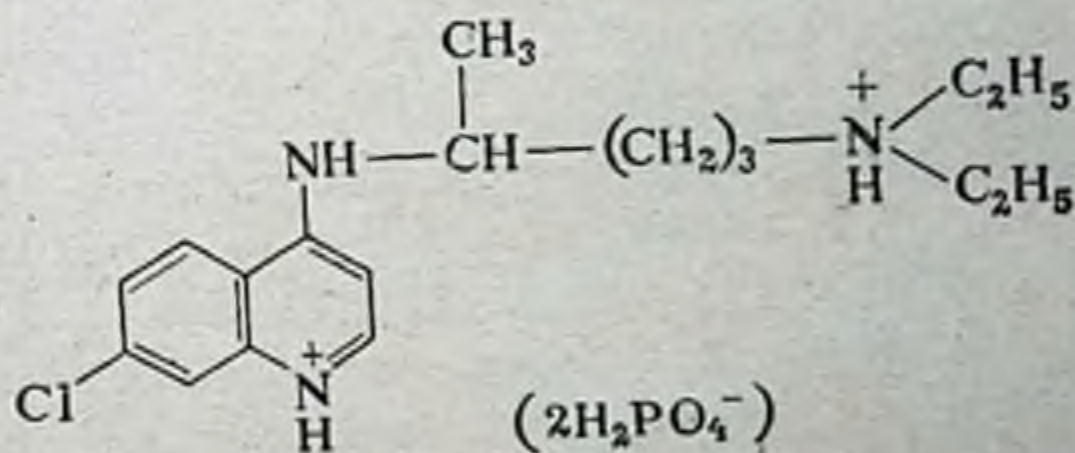
Как известно, противомалярийной активностью обладают также хинин и производные хинолина. Наиболее типичным представителем последних является хлорохин. Это соединение подавляет энзиматическую деполимеризацию ДНК, уменьшает ее трансформирующую (в отношении бактерий) активность, подавляет матричную функцию ДНК в ДНК-зависимых ДНК- и РНК-полимеразных реакциях. Все



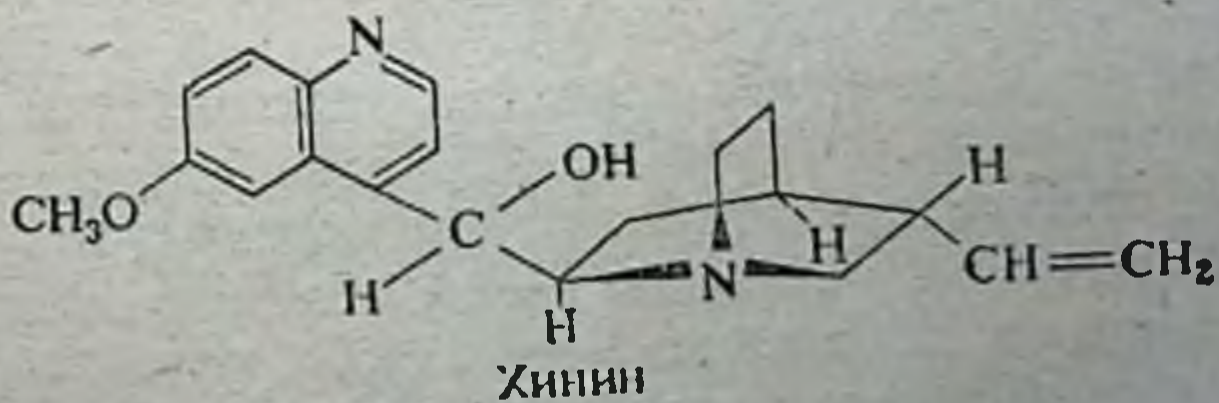
Акрихин (хинакрин)



Аминоакрихин



Хлорохин



Хинин

это свидетельствует о первичном характере действия хлорохина и других противомаларийных веществ на ДНК клеток простейших. Исследования различных авторов свидетельствуют о неодинаковом характере взаимодействия противомаларийных соединений с молекулами нуклеиновых кислот. Образование комплекса ДНК и хлорохина происходит с участием аминогрупп гуанина; хинакрин образует комплексы в любых участках ДНК. Естественно предположить также взаимодействие перечисленных соединений с ДНК по типу интеркаляции.

В некоторых случаях производные хинолина могут вступать в конкурентные отношения с ДНК-полимеразой клеток. Так, подавление функции ДНК-полимеразы *M. luteus* гидроксигированным и 8-аминохинолином, а также хлорохином заметно снижается при увеличении концентрации фермента (Whichard и др., 1972).

Хлорохин известен как фактор, подавляющий в клетках репарацию повреждений ДНК, вызванных γ -лучами и алкилирующими агентами. В этой связи хлорохин и другие соединения, связывающиеся с ДНК, изучаются как агенты, повышающие чувствительность злокачественных клеток к противоопухолевым средствам (Gaudin и др., 1972).

Недавние исследования Conklin и Chou (1970) показали, что антималярийные агенты (хинин, хлорохин, примахин и хинакрин) оказывают значительное влияние на проницаемость клеточных мембран, подавляя поглощение аминокислот клетками бактерий и простейших и последующее включение аминокислот в белки. Поэтому биосинтез белка, по мнению авторов, тормозится в основном за счет задержки поступления аминокислот в клетки.

Каковы бы ни были результаты последующих исследований механизмов действий этой группы соединений, очевидно, что они не обладают избирательностью по отношению к тем или иным системам клетки и, следовательно, неперспективны в качестве средств ингибиторного анализа *in vivo*. Это, однако, не снижает к ним интереса как к лекарственным средствам, а также агентам для воздействия на ДНК в особых условиях опыта.

Интеркаляцией в ДНК ядер, а также в митохондриальную ДНК объясняется действие бромида этидия — известного противотрипаносомного агента. При этом повреждается синтез всех видов РНК. Не исключена возможность взаимодействия этидия со спирализованными участками некоторых РНК. Этим, по-видимому, обусловлена способность бромида этидия действовать не только на синтез РНК, но и на ее посттранскрипционные превращения. Последний эффект подробнее рассматривается в предпоследнем параграфе настоящей главы.

По-видимому, интеркалирующим действием могут обладать производные нафтохинона. Изучение действия одного из них (2-амино-1,4-нафтохинонимина) было проведено Okada (1969) на опухолевых клетках Эрлиха. Сравнение действия препарата в клетках и бесклеточной системе подтвердило, что аминонафтохинонимин первичное действие оказывает на синтез ДНК, а подавление синтеза РНК и белка представляет собой вторичное явление.

Заключая рассмотрение последней группы интеркалирующих агентов, следует отметить, что большинство из них, в отличие от ряда описанных выше антибиотиков типа актиномицина D и ему подобных, не обладают высокой специфичностью и действуют не только на матричную активность ДНК. Это несколько ограничивает их использование в исследовательских целях. Однако интерес к ним велик в связи с широким и довольно успешным применением в медицине. Сфера их применения в этой области возрастает. Недавно описано, в частности, использование хлорохина и некоторых акридиновых производных как противовирусных агентов и иммунодепрессантов. В свою очередь это стимулирует дальнейшее изучение механизмов их действия.

АНТИБИОТИКИ, НЕПОСРЕДСТВЕННО ПОДАВЛЯЮЩИЕ ФУНКЦИЮ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ

Лучше других из этой группы антибиотиков изучены рифамицины. Это пять близкородственных антибиотиков, продуцируемых одним из штаммов *Streptomyces* (*S. mediterranei*).

Из них рифамицин В выделен в кристаллическом виде. Неочищенная смесь всех антибиотиков называется рифамициновым комплексом, который нестабилен и не обладает постоянством состава.

При аэрации раствора рифамицина В происходит образование рифамицина S, обладающего большей ак-

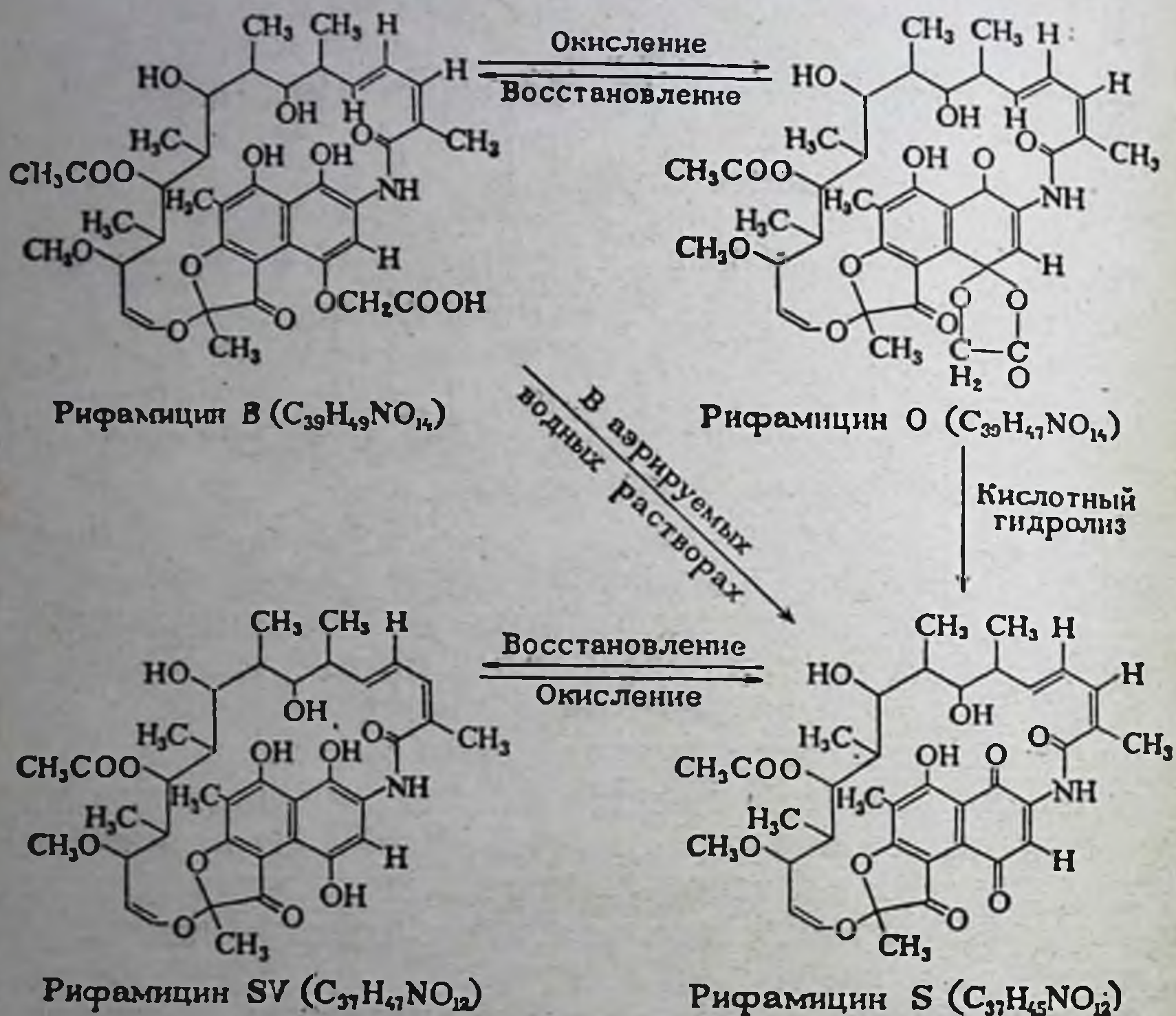


Схема 1.

Структура рифамицинов В, О, S и SV и соотношения между ними (Frontali, Тессе, 1967).

тивностью. Промежуточным продуктом окисления при этом является рифамицин О, который и гидролизуется до рифамицина S. Наконец, существует рифамицин SV — восстановленная форма рифамицина S. Как видно из схемы 1, рифамицины принципиально отличаются по структуре от антибиотиков других групп. В результате замещения карбоксила рифамицина получены производные природных рифамицинов, которые обладают большей активностью. Примером полу-

синтетического производного является широко используемый в исследованиях и лечебной практике рифампицин, продукт конденсации 3-формилрифамицина SV и 1-амино, 4-метилпиперазина (схема 2). К на-

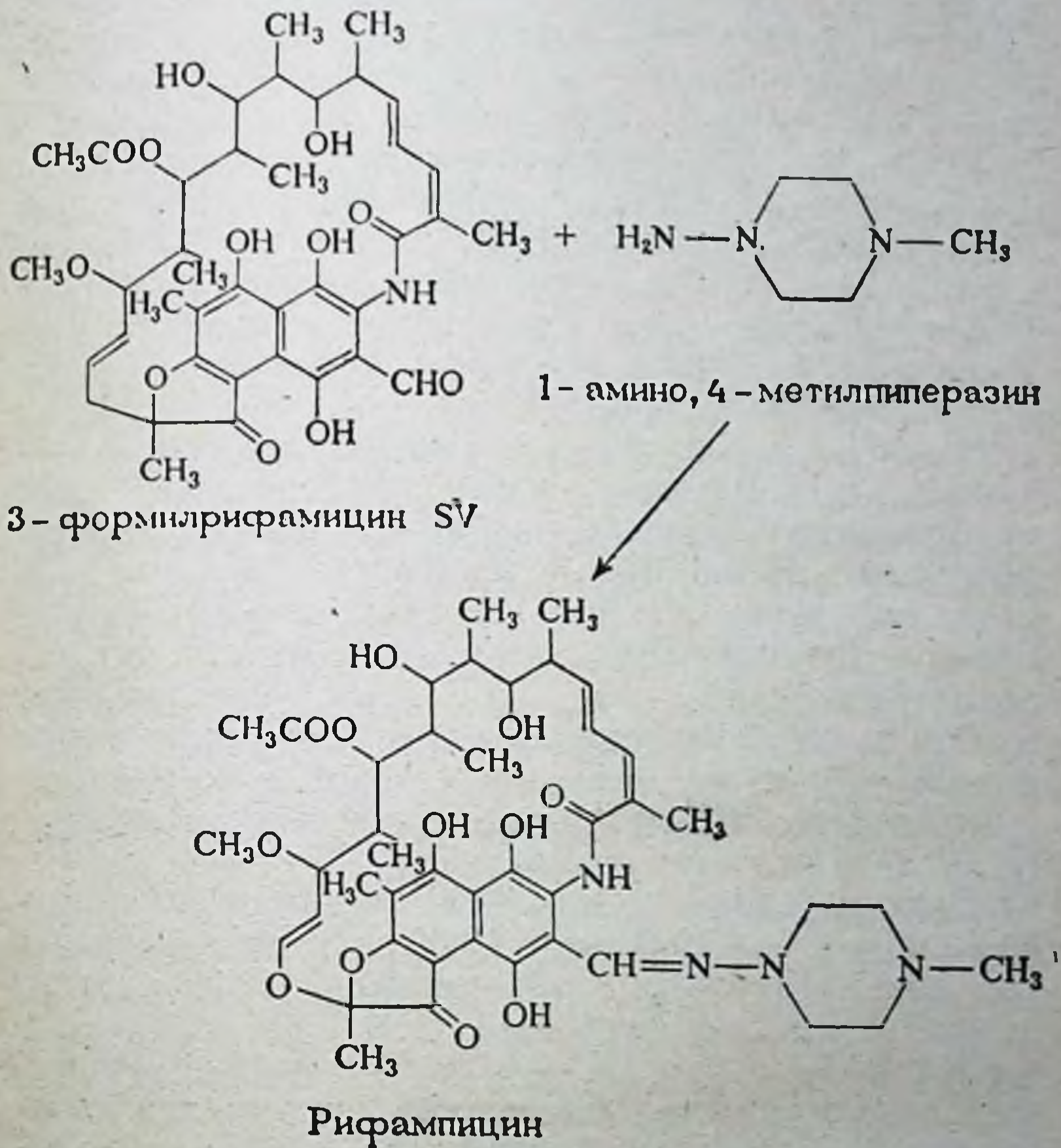


Схема 2.

Образование рифампицина (Follett, Pennington, 1971).

стоящему времени число известных полусинтетических производных рифамицина достигло 150.

Первая сводка о структуре и действии рифамицинов на бактериальные клетки и бесклеточные системы представлена Frontali и Тессе (1967). В последующем появилось также немало данных об антивирусном действии рифамицинов, правда, преимущественно *in vitro*.

Начальные исследования способа действия рифамицинов показали, что рифамицин В и его дериваты уменьшают включение в РНК меченого урацила и в меньшей мере меченых аминокислот в белки грамположительных бактерий. С другой стороны, даже высокие дозы антибиотика не тормозили синтеза полифенилаланина, направляемого полиуридилловой кислотой в экстрактах *E. coli*. Эти наблюдения свидетельствовали о прямом действии рифамицинов на синтез РНК. Hartmann и др. (1967) изучили влияние этих соединений на ДНК-зависимую РНК-полимеразу в реакции синтеза РНК *in vitro*. Заметный ингибиторный эффект был обнаружен при использовании в качестве матрицы ДНК из тимуса теленка и синтетических полидезоксирибонуклеотидов. В присутствии 0,25 мкг/мл рифамицина наблюдалось включение лишь 18% нуклеотидов по сравнению с контролем. Среди дериватов рифамицин SV оказался наиболее активным. Концентрация порядка 0,014 мкг/мл (2×10^{-8} М) была достаточной, чтобы подавить реакцию на 50%. В отличие от актиномицина и хромомицина рифамицины вообще не подавляли синтеза ДНК. Этим подчеркивалась их особая специфичность, а, с другой стороны, отсюда следовало предположение, что рифамицины не блокируют синтеза РНК путем взаимодействия с матрицей, на которой работает полимеразы.

Другим указанием на прямое взаимодействие рифамицина с бактериальной РНК-полимеразой явился тот факт, что влияние рифамицинов на фермент не зависит от состава матричной ДНК.

Вскоре Wehrli и др. (1969) обнаружили, что рифампицин и другие производные рифамицина образуют очень стабильный комплекс с бактериальной РНК-полимеразой (с одной молекулой фермента связываются 1,5—6 молекул рифамицина). Прямые доказательства связывания рифампицина с РНК-полимеразой были получены di Maigo и др. (1969), использовавшими меченый по углероду антибиотик. Связывания не наблюдалось, если испытывалась полимеразы резистентных к антибиотику клеток.

Как указывалось, транскрипция ДНК проходит следующие этапы: 1) связывание фермента с ДНК; 2) образование комплекса инициации при введении

нуклеозидтрифосфатов; 3) последующая поликонденсация рибонуклеотидов на матрице ДНК — элонгация и 4) терминация — завершение синтеза с освобождением образовавшейся РНК. Sippel и Hartmann (1968) не обнаруживали действия рифамицина на синтез РНК, если антибиотик добавлялся после начала реакции. Авторы получили доказательства, что рифамицин действует до образования комплекса инициации. Предварительная инкубация комплекса ДНК-фермент с пуриновыми нуклеотидами значительно уменьшала активность ингибитора. Вовсе не обнаруживался эффект рифамицина, когда он добавлялся после начала поликонденсации. Эти наблюдения получили развитие в ряде последующих работ. В частности, исследования Mosteller и Janofsky (1970) показали, что рифамицин блокирует транскрипцию оперона триптофана в регуляторно-конститутивных и derepressированных культурах *E. coli*, причем молекулы РНК-полимеразы, которые иницируют транскрипцию оперона до добавления ингибитора, завершают транскрипцию оперона до конца. Во время репрессии молекулы РНК-полимеразы находятся в резистентной к рифамицину форме. Таким образом, было подтверждено заключение, что рифамицин подавляет инициацию транскрипции, но не тормозит наращивания инициированных цепей мРНК.

Далее последовало выяснение деталей взаимодействия рифамицинов с РНК-полимеразой. Как уже указывалось (стр. 14), последняя может быть разделена на два основных компонента. Один из них — «кор-энзим» (неполный энзим, «внутренний» фермент) обладает РНК-полимеразной активностью на матрице многих ДНК, но не способен выбирать начальную точку синтеза — в области промоторов оперонов. Дополнение энзима вторым компонентом — σ -фактором — сообщает ему высокое сродство к немногим участкам ДНК, по-видимому, промоторам. Более подробное изучение «кор-энзима» *E. coli* показало, что он состоит из двух субъединиц α с молекулярным весом 40 000, двух более крупных субчастиц β и β' — по 155—165 000 и одной-двух ω -субъединиц — по 9000. Рифамицины подавляют именно функции «кор-энзима» (di Maigo и др., 1969). Последний оказался чувствителен к антибиотику и в комплексе с σ -фактором. Далее

удалось доказать, что рифампицин подавляет связывание комплексом ДНК—РНК — полимеразы первого рибонуклеозидтрифосфата. Подавление, по-видимому, носит конкурентный характер — за счет присоединения к ферменту в том же участке «кор-энзима» на β -субъединице. Эти данные были подтверждены другими авторами (Reid, Spreyer, 1970).

Наконец, были предприняты исследования для уточнения зависимости эффекта рифамицинов от тонких особенностей структуры этих антибиотиков. Изучалось взаимодействие РНК-полимеразы с различными дериватами рифамицина (Wehrli, Staehelin, 1969). Было показано, что частью молекулы, ответственной за образование комплекса с полимеразой, является макроциклическое кольцо. Небольшие модификации, окисление или насыщение двойных связей, изменяют форму кольца таким образом, что нарушается оптимальное взаимодействие с акцепторным участком фермента. Изменения в других частях молекулы незначительно влияют на связывание антибиотика с ферментом, однако они могут затрагивать его способность проникновения в интактные бактериальные клетки.

Действие рифамицинов не ограничено подавлением ДНК-зависимой РНК-полимеразы, но распространяется и на обратную транскриптазу, т. е. РНК-зависимую полимеразу, характерную для канцерогенных РНК-вирусов (Вгосктап и др., 1971). Это особенно интересно в связи с нечувствительностью или малой чувствительностью к рифамицинам ДНК-зависимых ДНК-полимераз. Подавление последних наблюдается только при относительно высоких концентрациях, да и то при использовании лишь некоторых производных рифамицина (Busiello и др., 1973).

Рифамицины подавляют не только матричный синтез РНК, но и ее посттранскрипционные превращения. Этот эффект рассматривается особо в предпоследнем параграфе настоящей главы.

Важной особенностью рифамицинов, определяющей возможность их широкого применения для лечения инфекционных болезней, является их неактивность в отношении ядерных РНК-полимераз животных, по крайней мере в концентрациях до 10 мкг/мл. Лишь в кон-

центрациях 25—50 мкг/мл некоторые производные рифамицина проявляют способность ингибировать часть ядерных транскриптаз (Busiello и др., 1973). Более чувствительны к рифамицинам РНК-полимеразы митохондрий. Этот факт обычно используется как один из аргументов за гипотезу об эволюционном происхождении митохондрий из бактерий. Однако для подавления митохондриальной РНК-полимеразы требуются, в общем, более высокие концентрации антибиотика, чем для ингибирования бактериальных транскриптаз.

Сложившимся представлениям о высокой специфичности рифамицина не противоречат и последние данные о способности некоторых его производных угнетать трансляцию, так как этот эффект наблюдается при очень значительных концентрациях антибиотика — 100 и более мкг/мл. При этом подавляется, в частности, индукция тирозинаминотрансферазы в клетках крысиной гепатомы и снижается включение в клетки меченых аминокислот (Grossman, Vostor, 1973).

Очевидно, именно с подавлением РНК-полимеразы связан бактерицидный эффект рифамицинов. Это заключение основывается на следующих наблюдениях: 1) существует корреляция между концентрациями антибиотика, которые блокируют *in vivo* включение в РНК меченого урацила, и бактерицидными концентрациями; 2) потеря жизнеспособности немедленно следует за блоком синтеза РНК и 3) восстановление подавленного синтеза РНК происходит совместно с восстановлением утраченной жизнеспособности (Lapcini и др., 1969). Спектр антибиотического действия рифамицинов является очень широким. Помимо бактерицидного эффекта в отношении грамположительных бактерий описано подавление рифамицином различных микобактерий (Logian, Finland, 1969). В настоящее время рифамицины широко и с успехом применяются для лечения различных форм туберкулеза и инфекций, вызываемых нейссериями (в том числе при носительстве *Neisseria meningitidis*).

Чувствительны к этому антибиотику и простейшие, в том числе токсоплазмы при размножении их в клеточных культурах (Remington и др., 1970). Активны препараты рифампицина в отношении возбудителя ма-

лярии грызунов (Alger и др., 1970). С другой стороны, РНК-полимеразы тетрагимены (Byfield и др., 1970), ядерные РНК-полимеразы дрожжей и ряда других одноклеточных эукариотов оказались нечувствительными к антибиотику. Устойчивы к рифамицину и все изученные ядерные РНК-полимеразы млекопитающих. В то же время, как уже упоминалось, митохондриальные РНК-полимеразы проявляют, как правило, некоторую чувствительность к рифамицинам, хотя и гораздо меньшую, чем энзимы бактерий.

Весьма обширна литература, касающаяся антивирусной активности рифамицинов и их производных. Краткая сводка данных по этому вопросу приводится в статье Т. Я. Гончарской и С. М. Навашина (1971). Антибиотики этой группы подавляют размножение ДНК-содержащих вирусов (группы осповакцины, аденовирусов, герпеса простого). Чувствителен к рифампицину возбудитель трахомы. При этом отмечается, что для ингибирования репродукции вирусов осповакцины и герпеса требуются значительно большие концентрации антибиотика, чем для подавления размножения бактерий.

Наиболее изучено антивирусное действие рифамицинов и их производных на возбудители группы осповакцины. Рифампицин подавляет репликацию вируса вакцины в инфицированных клетках *in vitro* при добавлении его в количестве 100 мкг/мл немедленно после инфекции или в конце латентного периода. Как оказалось, в присутствии антибиотика в течение 8 ч заметно подавляется трансляция поздних вирусных мРНК. Соответственно снижается скорость синтеза позднего вирусного белка. Есть данные и о торможении синтеза специфической вирусной РНК-полимеразы. Наконец, особенно выражено нарушение стадии сборки вирионов. Рифампицин, видимо, не затрагивает синтеза ранней вирусной мРНК и ее взаимодействия с рибосомами. Неспособность непосредственно подавлять *in vitro* активность специфических для вирусов группы осповакцины РНК-полимераз показывает, что характер антивирусной активности рифампицина отличается от его антимикробной активности. Zakaу-Rones, Becker (1970), используя вирус фибромы Шопа и несколько производных рифамицина SV, на-

шли, что противовирусная активность антибиотика связана с гидразоновой частью цепи рифамицинов. Follett и Pennington (1971) привели веские доказательства в пользу того, что противовирусное действие рифампицина не связано с аминometилпиперазиновой частью молекулы.

Имеются данные о подавлении рифамицинами РНК-содержащих канцерогенных вирусов, видимо, за счет ингибирования обратной транскриптазы (Вгоскман и др., 1971). Найдены производные рифамицина, наиболее активные в этом отношении (Ggeen и др., 1972).

Противовирусные свойства рифамицинов широко используются в лабораториях при изучении механизма размножения вирусов. Однако для терапии вирусных болезней, в отличие от болезней бактериальной этиологии, они малоперспективны.

Действие рифамицина изучалось также на бактериях, близких по глубине внутриклеточного паразитизма к вирусам, в том числе *Chlamidomonas reinhardtii*. *In vivo* и *in vitro* было показано, что находящаяся в хлоропластах ДНК-зависимая РНК-полимераза подавляется антибиотиком, тогда как ядерная полимеразы не затрагивается. Подавление РНК-полимеразы хлоропластов приводит далее к исчезновению в хлоропластах рибосом. При продолжении роста в присутствии рифампицина теряется способность к фотосинтезу, но клеточное деление и репликация хлоропластов не затрагиваются.

На этом основании считают, что гены рРНК этой органеллы находятся в ДНК хлоропластов, но в то же время эта ДНК не содержит генов ДНК-полимеразы (Surzyski, 1969).

Интересно, что рифампицин увеличивает чувствительность клеток *E. coli* к действию ионизирующей радиации. При этом значительно возрастает деградация ДНК клеток (Pollard, Weller, 1969). Видимо, этот эффект обусловлен нарушением действия систем репарации ДНК.

Существует еще одна группа антибиотиков-стрептоварицинов, близких по структуре к рифамицинам и также подавляющих активность бактериальной ДНК-зависимой РНК-полимеразы за счет поврежде-

ния инициации транскрипции (Mizuno и др., 1968). Широко используемый в настоящее время препарат стрептоварицина, как оказалось, состоит из семи компонентов. Два главных из них — А и В — и один, содержащийся в меньшем количестве, — С — были идентифицированы как собственно стрептоварицины. 2 мкг/мл препарата стрептоварицина подавляют РНК-полимеразную реакцию *in vitro* на 60%. Естественно, что в целых бактериальных клетках ингибируется не только синтез РНК, но и синтез белка (Yamazaki и др., 1968). На РНК-полимеразу клеток млекопитающих (асцитной карциномы Эрлиха) стрептоварицин не действует.

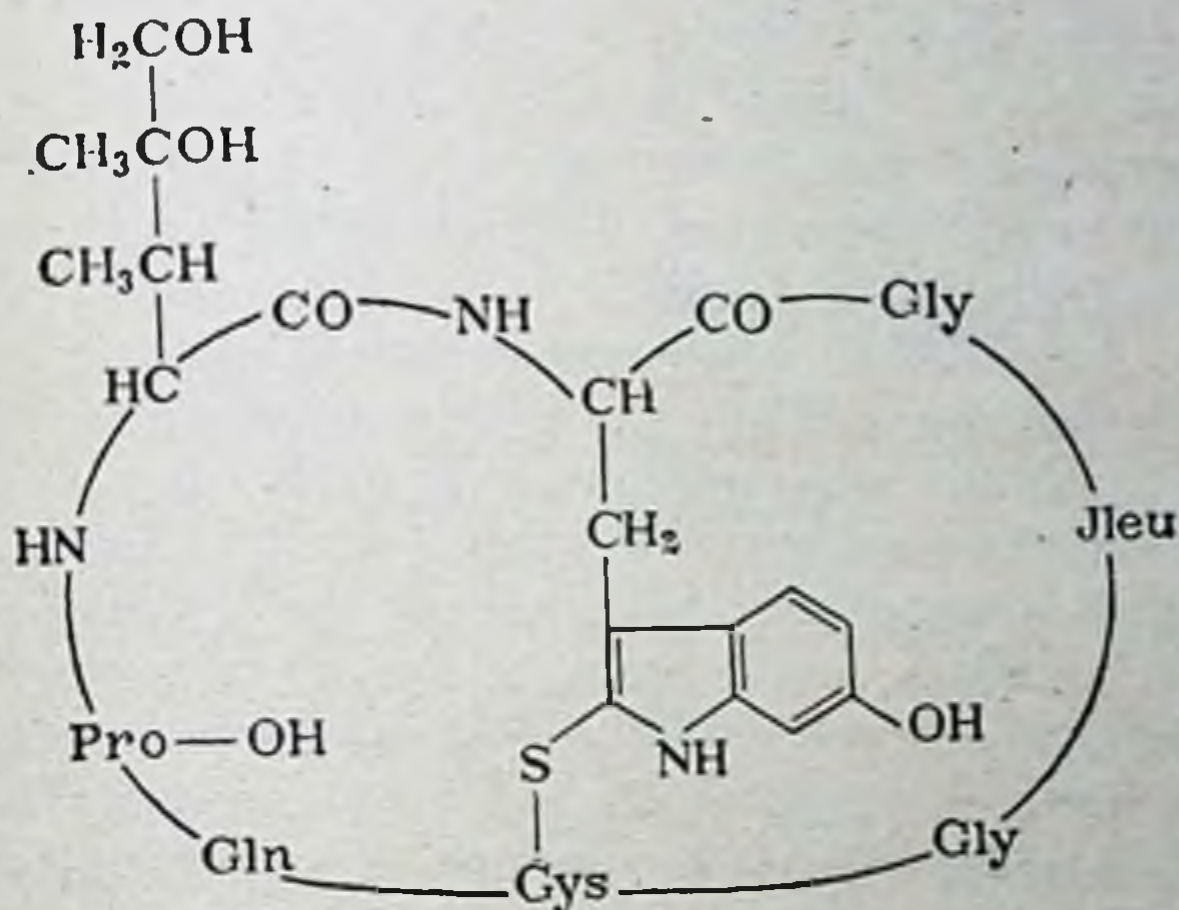
В стрептоварициночувствительных штаммах антибиотик подавляет синтез не только мРНК, но также транспортной и рибосомальной.

Вгоскман и др. (1971) сообщили, что стрептоварицины являются довольно мощными ингибиторами обратной транскриптазы вируса мышинной лейкемии. Эти данные согласуются с упомянутыми выше данными о подавлении N-диметилрифампицином и в меньшей мере рифампицином и стрептолидигином РНК-зависимой ДНК-полимеразы, содержащейся в лимфобластах больных лейкемией. Рифампицин и два его производных подавляют размножение вируса саркомы Молоней и трансформацию клеток. Calvin и др. (1971) также относят этот эффект за счет подавления функции РНК-зависимой ДНК-полимеразы. Таким образом, в этом семействе антибиотиков найдены уже довольно многочисленные ингибиторы, подавляющие функцию РНК-зависимой ДНК-полимеразы онкогенных РНК-вирусов.

Заслуживает внимания действие еще одного родственного вышеописанным антибиотика — стрептолидигина, опять-таки подавляющего функцию РНК-полимераз (Schlief, 1969). В отличие от рифамицинов и стрептоварицинов, стрептолидигин угнетает не только инициацию, но и элонгацию цепи РНК с помощью РНК-полимеразы *E. coli* и *B. megaterium*. Мутанты бактерий, резистентные к стрептолидигину, обладают измененной полимеразой. При этом меняется структура «кор-энзима».

Большой интерес представляют сообщения о выявлении специфических ингибиторов РНК-полимеразы вируса гриппа (Oxford, 1973). Им оказался аналог цистаминна — селеноцистамин. Значительное подавление активности в опытах *in vitro* отмечено при концентрации 3 мкмоль.

Функцию некоторых РНК-полимераз животных клеток подавляет токсин гриба *Amanita phalloides* — α -аманитин, представляющий собой бициклический полипептид. Инъекция α -аманитина мышам сни-



жает *in vivo* включение C^{14} -оротовой кислоты в РНК печени. В ядрах печени мышей, отравленных α -аманитином, значительно подавляется РНК-полимераза, наиболее активная при высоких значениях ионной силы и стимулируемая Mn^{2+} и сульфатом аммония. Токсин подавляет ту же РНК-полимеразу и *in vitro*. Напротив, РНК-полимераза, наиболее активная при низкой ионной силе и стимулируемая Mg^{2+} , а не Mn^{2+} , лишь слегка затрагивается α -аманитином при добавлении его *in vitro* или введении животным (Stirpe, Fiume, 1967, и др.).

При хроматографическом анализе РНК-полимераз *Blastocladiella emersoni* с помощью ДЕАЕ-целлюлозы были получены три фракции фермента. РНК-полимераза I представляет собой ядрышковый фермент. РНК-полимераза II оказалась нуклеоплазматическим ферментом, а III — митохондриальным. Изучение

каждой из этих фракций в отдельности показало, что α -амантин специфически подавляет полимеразу II, энзим I подавлялся циклогексимидом, а III-рифампицином (Horgen, Griffin, 1971).

Мы не останавливаемся здесь подробно на феномене подавления животной полимеразы I циклогексимидом. Этот эффект проявляется при концентрациях последнего, в десятки-сотни раз превышающих те, которые достаточны для подавления им трансляции. Поэтому подробно циклогексимид и близкие к нему агенты рассматриваются в гл. IV. По той же причине в действии его *in vivo* на первый план выступает торможение трансляции. Однако на субклеточном уровне использование циклогексимидов для дифференцированного подавления разных РНК-полимераз представляет существенный интерес.

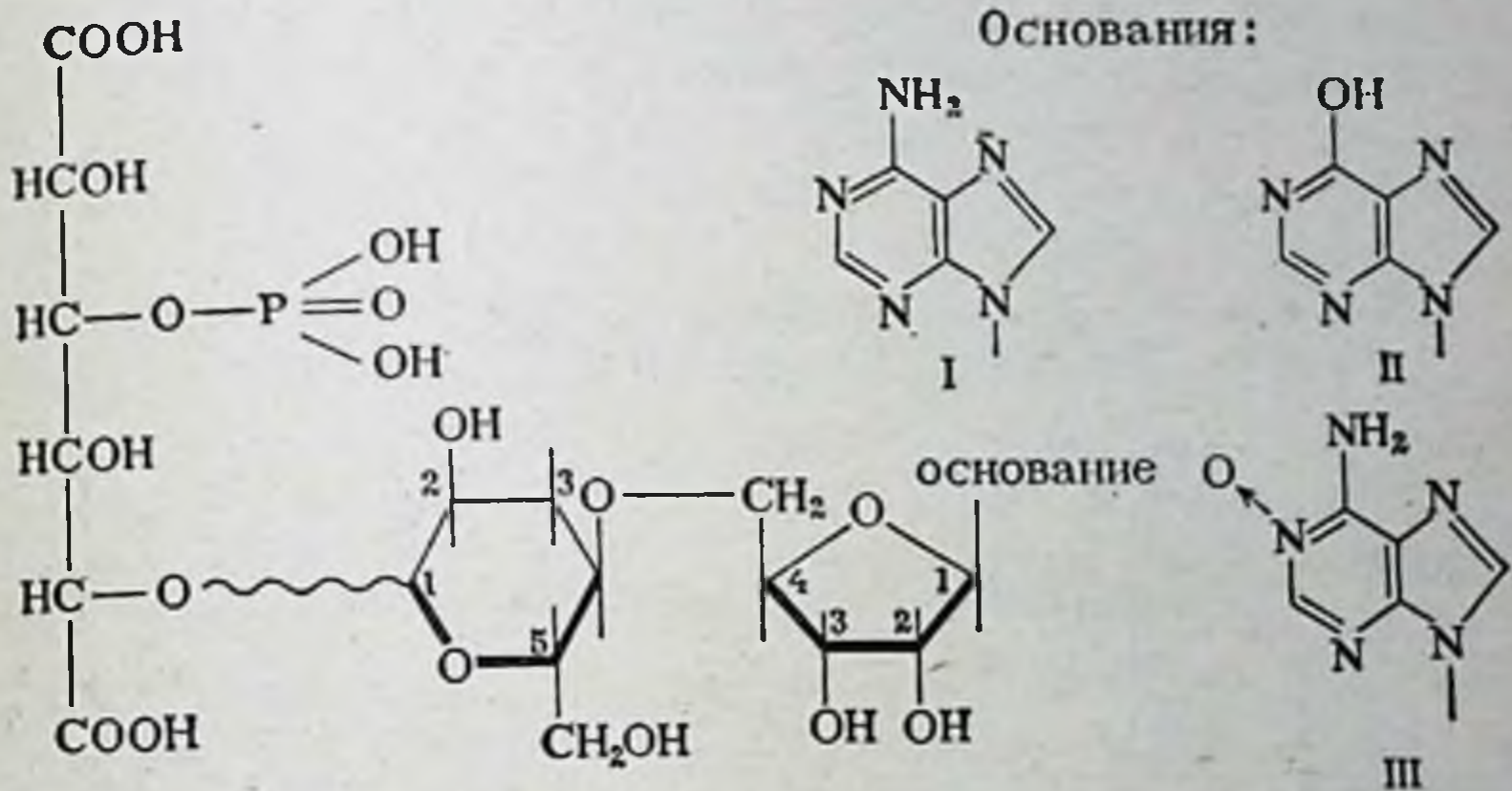
Таким образом, открытие и исследование рифамицинов, стрептоварицинов, стрептолидигина и α -амантина вооружило исследователей мощными специфическими ингибиторами РНК-полимераз. Очень важно, что их специфичность распространяется даже на отдельные формы полимераз. Помимо полезности для решения исследовательских задач, агенты этой группы оказались в ряду наиболее эффективных антибактериальных антибиотиков и представляются перспективными в качестве основы для создания новых противоопухолевых и противовирусных агентов.

ТОРМОЖЕНИЕ СИНТЕЗА РНК И БЕЛКА АНАЛОГАМИ ОСНОВАНИЙ, НУКЛЕОЗИДОВ И НУКЛЕОТИДОВ

Рассматривая аналоги оснований, нуклеозидов и нуклеотидов как ингибиторы синтеза белка, действующие через подавление синтеза РНК, необходимо помнить, что механизмы их действия многообразны. Один и тот же аналог нередко тормозит синтез РНК, одновременно воздействуя на разные этапы процесса. Аналоги могут блокировать фермент или, включаясь в нарастающую цепь РНК, обрывать ее синтез. Включение аналогов в РНК может искажать содержащуюся в ней информацию, что сказывается затем при трансляции. Наконец, аналоги оснований могут повреждать системы синтеза природных оснований и нуклеотидов.

АНАЛОГИ НУКЛЕОЗИДОВ
И НУКЛЕОТИДОВ, ПРЕИМУЩЕСТВЕННО
ТОРМОЗЯЩИЕ ТРАНСКРИПЦИЮ

К такому прежде всего относятся аналоги, которые блокируют нуклеозидтрифосфатсвязывающий центр РНК-полимеразы. В качестве первого примера можно привести действие инсектицидного токсина *Bacillus thuringiensis*.

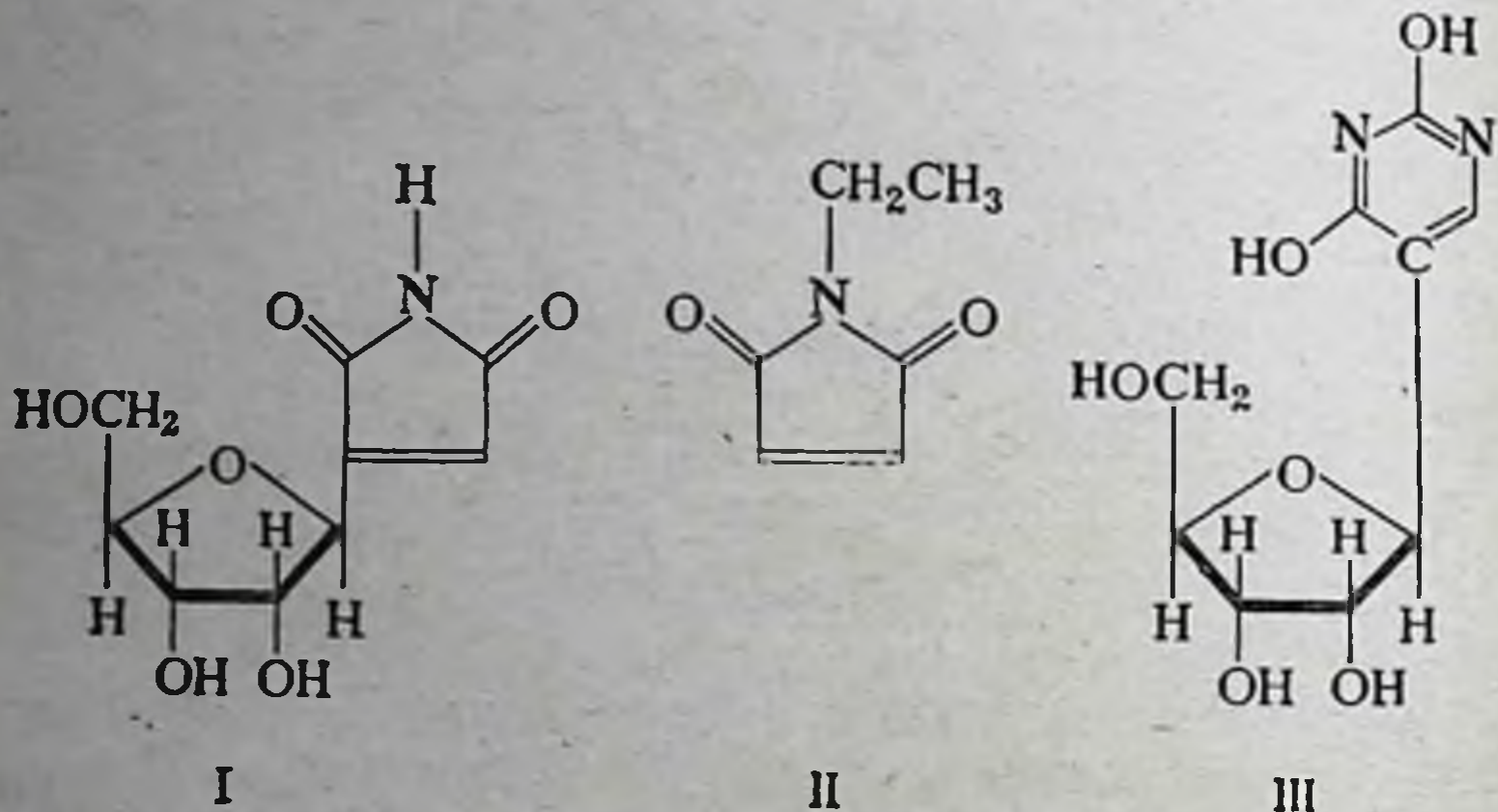


В состав экзотоксина, образуемого *Bac. thuringiensis*, входят аденин, D-рибоза и D-глюкоза, связанные необычной эфирной связью, и фосфорилированная аллариновая кислота. Как оказалось, экзотоксин действует не только на насекомых, но также на млекопитающих (LD_{50} для мышей составляет 16 $\mu\text{кг}/\text{г}$ веса), особенно если препарат вводится парентерально. В желудочно-кишечном тракте возможно энзиматическое фосфорилирование токсина. Физиологическая активность для животных и насекомых связана с подавлением синтеза РНК. Экзотоксин подавляет действие ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Sebesta и Hogska (1970) показали, что токсин действует преимущественно на этапе элонгации. Он конкурирует с АТФ (только с АТФ) за связывание с комплексом фермент — матрица. Если аденин (I) в молекуле экзотоксина заменить на гипоксантин (II), то образующийся ингибитор конкурирует с ГТФ. Окисление азота аденина (III) в экзотоксине приводит к значительной потере ингибирующей активности. Результаты согласуются с правилами спаривания

оснований и свидетельствуют о существовании самостоятельных участков связывания для АТФ и ГТФ в комплексе ДНК-фермент. Таким образом, экзотоксин действует как конкурентный аналог АТФ, замедляя реакцию полимеризации.

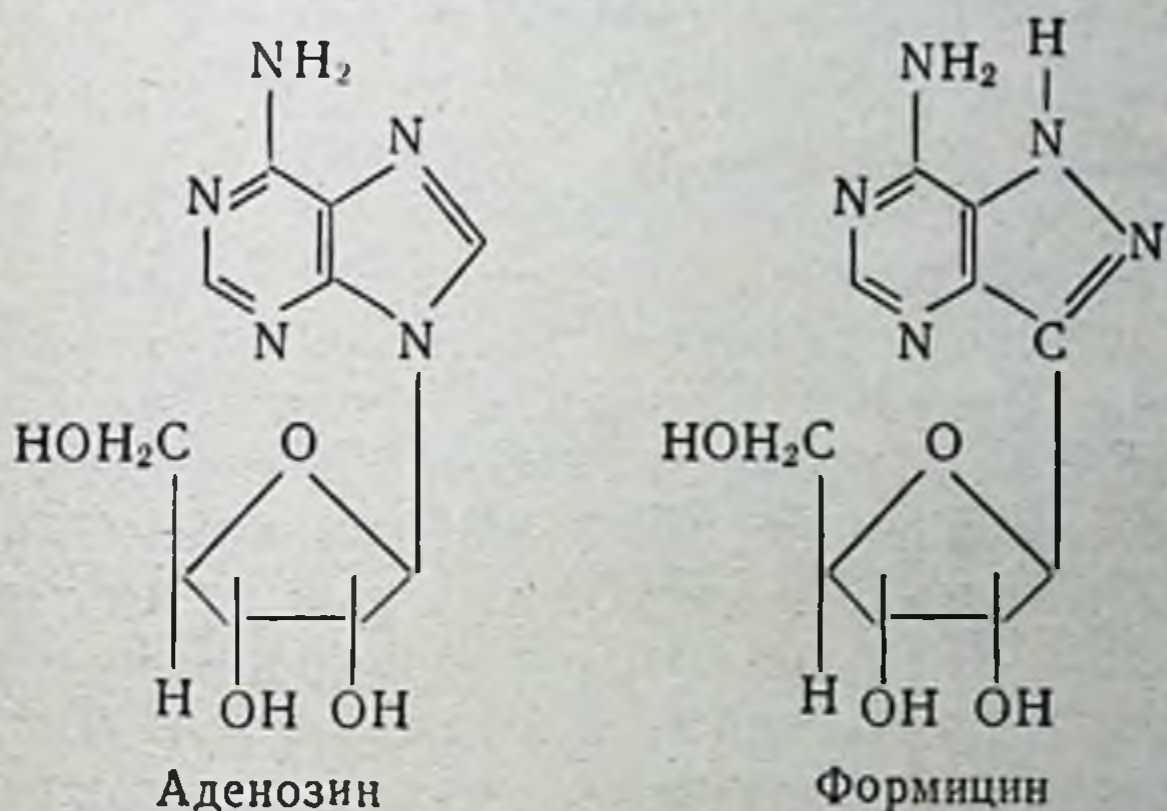
Высокоэффективными ингибиторами являются и некоторые другие аналоги нуклеотидов. Так, из культуры *Streptomyces showdoensis* выделен антибиотик шовдомицин (I), являющийся по своей структуре 2-β-D-рибофуранозилмалеимидом. Он подавляет вклю-



чение азотистых оснований и аминокислот в РНК и белок *E.coli* в довольно низких концентрациях (0,2—1,6 мкг/мл). Активен против асцитных клеток опухоли Эрлиха и клеток HeLa. Ингибирующее действие шовдомицина снимается добавлением к среде какого-либо нуклеозида или сульфгидрильного соединения (меркаптоэтанола). Снятие эффекта шовдомицина нуклеозидами зависит от характера связи основания и рибозы. Так, псевдоуридин (III), в отличие от обычных нуклеозидов, не устраняет действия антибиотика. По-видимому, шовдомицин оказывает на РНК-полимеразу двойное действие. С одной стороны, его структурное подобие нуклеозидам позволяет предполагать конкурентное ингибирование соответствующего центра, а с другой стороны, малеимидный компонент взаимодействует, вероятно, с сульфгидрильными группами. Этим можно объяснить снятие подавления меркаптоэтанола. Такое толкование механизма действия шовдоми-

цина подтверждается данными об особенностях действия *N*-этилмалеимида (II). Он также подавляет включение азотистых оснований и аминокислот в нуклеиновые кислоты и белки бактерий. Однако ингибирующее действие *N*-этилмалеимида не устраняется добавлением нуклеозидов, поскольку структурного подобия в этом случае нет (Komatsu, Tanaka, 1968).

Описан еще один антибиотик, структурный аналог аденозина — **формин**. Формин и его производные тормозят, хотя и не полностью, синтез РНК и белка, заменяя соответствующие аденозиновые субстраты во многих энзиматических реакциях. Он взаимодействует с ферментами синтеза нуклеотидов, РНК-полимеразой, полинуклеотидфосфорилазой, аминоацил-тРНК-синтетазой, пирофосфорилазой тРНК. Интерес-



но, что молекулы РНК, включившие формин, способны участвовать во многих реакциях, не искажая их. Так, молекулы тРНК, несущие концевой форминовый нуклеотид, легко аминоацилируются и переносят аминокислоты в полипептиды (Ward и др., 1969). Рибополинуклеотиды, содержащие формин, могут функционировать как мРНК на рибосомах (Икенага и др., 1969). Оказалось, что поли(Ф, Ц) стимулировала связывание S^{14} -гистидил-тРНК с рибосомами лишь на 50% менее эффективно, чем поли(А, Ц); а связывание S^{14} -треонил-тРНК проходило в той же степени, что и с поли(А, Ц). При синтезе полипептидов *in vitro* в бесклеточной системе, полученной из *E. coli*, поли(Ф, Ц) стимулирует синтез поли(гис-тре), а поли(Ф, Г)

синтез поли(арг-глу). Ошибок трансляции при этом не наблюдается.

В последнее время появились предположения, что формицин образует комплексы с полиадениловыми концевыми фрагментами мРНК животных и РНК онкорнавирусов (Davies, 1973). Этот его эффект подробнее рассматривается при описании ингибиторов посттранскрипционных превращений РНК в предпоследнем параграфе настоящей главы.

Активными ингибиторами синтеза РНК, ДНК и белка являются аналоги нуклеозидов, содержащие в своем составе арабинозу. Так, цитозинарабинозид подавляет синтез, взаимодействуя с полимеразой. Кроме того, входя в состав растущей полинуклеотидной цепочки, он тормозит ее дальнейший рост в силу особенностей пространственной ориентации 3'-ОН-группы. Вмешивается он и в синтез дезоксицитидиновых нуклеотидов, подавляя восстановление ЦДФ. С этим, видимо, связано то, что в культуре фибробластов хомяка цитозинарабинозид на определенных стадиях развития клеток вызывает разрывы хроматид (Benedict, Kagon, 1971). Подобные эффекты присущи и ряду других нуклеозидов с отсутствующей или иначе расположенной 3'-ОН-группой. К ним относятся 3'-дезоксиаденозин (кордицепин), а также 2', 3'-дидезоксиаденозин, арабинозил-меркаптопурин и др. В большей или меньшей мере все эти соединения тормозят матричный синтез РНК. 3'-дезоксцитидин интересен тем, что он избирательно подавляет синтез нуклеолярной РНК, не затрагивая образование мРНК (Abelson, Reptaп, 1972).

3'-дезоксиаденозин обладает особенно выраженным действием на синтез полиаденилового компонента мРНК. Подробнее этот его эффект рассматривается в следующем параграфе.

АНАЛОГИ ОСНОВАНИЙ,
НУКЛЕОЗИДОВ И НУКЛЕОТИДОВ,
ВКЛЮЧАЮЩИЕСЯ В РНК
И ИСКАЖАЮЩИЕ ИНФОРМАЦИЮ

Искажение состава мРНК и последующего ее считывания при трансляции вызывают многие азапроизводные оснований, нуклеозидов и нуклеотидов. Так,

8-азагуанин подавляет синтез белка в клетках HeLa, включаясь в мРНК. Измененная таким образом мРНК входит в полисомы. При этом существенно снижается количество синтезируемого белка в расчете на одну полисому. В ретикулоцитах кролика, где образование РНК не происходит, азагуанин не подавляет и синтез белка. Исследование с *Vaccinia* также свидетельствует о том, что торможение синтеза белка азагуанином обусловлено модификацией мРНК. Продолжая указанные исследования, Zimmerman (1968) показал, что результатом включения азагуанина в мРНК является блок одной или большого числа реакций образования пептидной связи. У *Neurospora crassa* подавление синтеза белка 8-азагуанином сопровождается накоплением ряда олигопептидов. Следовательно, включаясь в мРНК, 8-азагуанин предотвращает завершение синтеза некоторых полипептидных цепей.

Было также показано, что синтетический полинуклеотид, содержащий этот аналог — поли(У-азаГ), — менее эффективно стимулирует включение некоторых аминокислот по сравнению с поли(У-Г).

В нормальной или регенерирующей печени крысы 8-азагуанин вызывает превращение части полирибосом в функционально неактивные мономеры и димеры. Однако некоторые полирибосомы сохраняются. Было сделано предположение, что в этом случае 8-азагуанин нарушает не только транслируемость мРНК, но и ее способность соединяться с рибосомами.

8-азагуанин проявляет определенную селективность действия. В *E. coli* он подавляет индукцию тирозин-аминотрансферазы и не угнетает индукции пирролазы триптофана. Kwan и Webb (1970) показали, что после дачи 8-азагуанина крысам с удаленными надпочечниками скорость включения C^{14} -лейцина в растворимый белок печени экспоненциально снижается. Однако процесс включения многих других аминокислот остается нечувствительным к действию аналога.

Необходимо, однако, отметить, что не все данные литературы укладываются в представленную картину действия 8-азагуанина. К. А. Перевощикова и др. (1968), изучая его влияние на синтез нуклеиновых кислот и белка в клетках асцитной опухоли Эрлиха

мышей и печени крыс, на фоне значительного подавления синтеза нуклеиновых кислот не зарегистрировали изменений синтеза белка. При этом авторы подчеркивают, что действие азагуанина на синтез нуклеиновых кислот не связано с влиянием аналога на синтез ядерных белков.

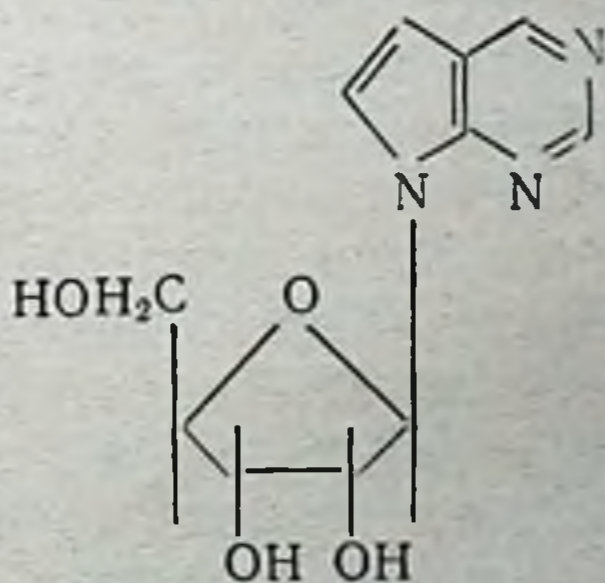
Действие на синтез белка 5-азацитидина изучалось Doskocil и др. (1967). Найдено, что сразу после добавления азацитидина к культуре *E. coli* индуцированный синтез β -галактозидазы снижается, а через 12 мин полностью останавливается. Введение в среду цитидина или уридина восстанавливает синтез фермента. Общий синтез белка угнетается до 6% от контроля. Синтез РНК подавляется лишь слегка, синтез ДНК не затрагивается. В культуре, содержащей 5-азацитидин, наблюдается несбалансированный рост, возникающий в результате подавления синтеза белка, прекращения деления клеток и продолжающегося синтеза ДНК. Авторы пришли к заключению, что 5-азацитидин подавляет синтез белка, оказывая влияние на функцию некоторой части РНК. Позднее Doskocil и Sogm (1970) установили, что сам по себе 5-азацитидин, несмотря на интенсивное включение в РНК, является слабым ингибитором синтеза белка. Однако *E. coli* обладает выраженной цитидиндезаминазной активностью, а дезаминирование 5-азацитидина в 5-азауридин является наиболее существенным для проявления ингибирующего действия. По расчетам авторов способность 5-азацитидина образовывать водородные связи не должна отличаться от цитозина, так что 5-азацитидин должен включаться в мРНК вместо цитозина и может быть признан как таковой правильным антикодоном тРНК. С другой стороны, в 5-азаурациле легко гидратируется двойная связь (5, 6) с последующим разрывом кольца и образованием *N*-формилбиурета. Если эта реакция при включении 5-азауридина каким-либо образом ускоряется, активность мРНК должна быть нарушена. Поэтому выраженное подавление синтеза белка в обычных штаммах кишечной палочки связывают с дезаминированием азацитидина и образованием азауридина, а устойчивость штаммов, дефицитных в отношении дезаминазы цитидина, объясняют тем, что сам 5-азацитидин является

слабым ингибитором синтеза белка, хотя он интенсивно включается в РНК.

Таким образом, применительно к бактериям, обладающим высокоактивной цитидиндезаминазной системой, 5-азацитидин можно отнести к категории нуклеозидных аналогов, искажающих информационное содержание мРНК.

Казалось бы, более простым должен быть механизм действия азауридина, коль скоро его образование рассматривается выше как промежуточный этап в механизме действия азацитидина. Однако ведущим в подавлении 6-азауридином синтеза РНК является нарушение не транскрипции или трансляции, а образования исходных рибонуклеотидов. В частности, после фосфорилирования он подавляет декарбоксилазу оротовой кислоты. Рассмотрение такого рода эффектов выходит за рамки задач настоящей книги.

Здесь целесообразно упомянуть также один из механизмов действия другого, относительно сложного соединения, 7-деазанебуларина. Этот флуоресцирующий пурииннуклеозидный аналог, включаясь в РНК, нарушает специфичность последующего связывания аминоксил-тРНК с мРНК и, таким образом, может искажать трансляцию (Grunberg и др., 1972).



Искажения состава синтезируемой РНК могут вызывать и некоторые галоидопроизводные оснований. Р. А. Андерсон (1968) наблюдал угнетение включения S^{35} -метионина в белки мозга и печени крысы под влиянием 5-фторурацила. Вероятно, его включение в РНК вызывает ошибочное считывание информации. Аргументом за это может служить фенотипическое изменение амбер-мутанта щелочной фосфатазы

E. coli. Под влиянием 5-фторурацила происходит включение глутаминового остатка на месте амбер-кодона. Этот результат расценивается как следствие ошибочного спаривания 5-фторурацила как цитозина (Rosen и др., 1969).

В дрожжах 5-фторурацил подавляет синтез белка в значительно меньшей степени, чем синтез РНК. Так, при концентрации 200 мкг/мл, угнетающей синтез РНК на 90%, происходит выраженный синтез β -глюкозидазы. Анализ показал, что во вновь синтезированной РНК 75% урацила замещены на 5-фторурацил. Эти данные не соответствуют ранее полученным результатам на *E. coli*, где фторурацил в меньших дозах вызывал изменение некоторых вновь синтезированных ферментов. Анализируя причины неравноценного ответа на введение фторурацила, Strijker (1969) указывает, что различие между урацилом и фторурацилом в способности к спариванию с другими основаниями может проявляться как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции. В процессе транскрипции часть 5-фторурацила замещает во вновь синтезированной мРНК не урацил, а цитозин. Некоторые из этих ошибок могут исправляться при спаривании оснований с антикодоном тРНК, хотя могут возникать и новые ошибки, если молекулы 5-фторурацила, заменявшие урацил, считаются как цитозин. Картина еще больше усложняется, если происходит включение 5-фторурацила в антикодон тРНК. Незначительное угнетение синтеза индуцированных ферментов в дрожжах автор объясняет невысокой вероятностью ошибок считывания при включении фторурацила в мРНК. Последнее предположение подтверждается данными о том, что полифторуридиловая кислота кодирует полифенилаланин с меньшим числом ошибок, чем это делает полиуридиловая кислота. Вирус табачной мозаики и полиовирус, в РНК которых 5% урацила замещено фторурацилом, имеют нормальные белковые оболочки. С другой стороны, включение 5-фторурацила в тРНК дрожжей столь значительно, что вновь синтезированные тРНК не являются активными и могут препятствовать синтезу белка.

Б. С. Утешев и др. (1970) наблюдали, что 5-фторурацил в опытах на мышах *in vitro* угнетал первич-

ный иммунологический ответ на растворимые и корпускулярные антигены. Далее выяснилось, что *in vitro* он снижает число антителообразующих клеток. Авторы считают, что в использованной экспериментальной модели, возможно, происходит синтез глобулинов со сниженным аффинитетом. Уменьшение числа антителообразующих клеток в сравнительно поздние сроки объясняется тем, что период полужизни мРНК в таких клетках исчисляется несколькими днями.

Korfsmeier (1970) с помощью радиоавтографии изучал влияние 5-фторурацила на синтез белка опухолевыми и нормальными тканями в культуре. Установлено снижение синтеза в культуре эпителия нормальной кожи и аденокарциномы.

Австралийские исследователи Smith и Forbes (1970) подвели итоги изучения действия на синтез белка тиопуринов. Фармакологическое значение тиопуринов заключается в их способности подавлять иммунологические реакции организма и рост некоторых злокачественных клеток. В опытах с периферическими лимфоцитами человека выяснилось, что азатиопурин, 6-меркаптопурин и 6-тиогуанин существенно подавляют синтез белка. Максимум подавления наблюдается при концентрациях препаратов около 60 мкг/л среды. Пока, однако, механизм ингибирующего действия этих соединений мало исследован в эксперименте.

Анализируя материалы по аналогам оснований и нуклеозидов, следует еще раз подчеркнуть, что большинство из них, помимо действия на транскрипцию, оказывает влияние на процессы синтеза нормальных оснований и нуклеозидов. В этом смысле действие большинства из них неспецифично.

В заключение параграфа следует подчеркнуть возрастающий интерес к аналогам нуклеозидов в практическом плане. Особого упоминания заслуживает положительный опыт применения цитозинарабинозида и азопроизводных нуклеозидов при лечении вирусных заболеваний у людей (герпес, оспа), а также некоторые успехи в экспериментах по торможению ими опухолевого роста.

ИНГИБИТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ, НУКЛЕАЗЫ, ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ

В этом разделе необходимо прежде всего остановиться на особой категории агентов, входящих в системы естественной регуляции активности генома. Из большого числа компонентов самой клетки, так или иначе влияющих на интенсивность транскрипции, наиболее определенной представляется роль специфических белковых репрессоров. Другие вещества или системы либо относятся к категории активаторов генома (цАМФ, системы ацетилирования, фосфорилирования и других модификаций гистонов, гипотетическая РНК-активатор и т. п.), либо действие их *in vivo* менее определено. К последней категории относятся гистоны, рассматриваемые несколько позже. Белковые же репрессоры Лас-оперона кишечной палочки, λ -фага и, очевидно, многие другие, пока не изученные столь обстоятельно, имеют узкую и вполне определенную специализацию и не превзойдены по специфичности.

Здесь нет необходимости обращаться к истории вопроса и рассматривать формирование гипотезы Жакоба и Моно, важнейшим элементом которой было предположение о существовании репрессора, являющегося аллостерическим полимером, способным специфически взаимодействовать и с операторным участком ДНК, и с индуктором. Гипотеза эта в настоящее время полностью подтверждена в опытах *in vitro* на системе из фрагментов ДНК, содержащих Лас-оперон, РНК-полимеразы, очищенного репрессора, предшественников синтеза РНК, фактора терминации транскрипции (ρ) и комплекса цАМФ с белком — рецептором цАМФ. Очищенный Лас-репрессор представляет собой белок с молекулярным весом около 200 000, состоящий из субъединиц — по 40 000 — и с изоточкой в слабокислой области рН. Он не содержит небелковых компонентов и в том числе нуклеиновой кислоты, что является ярким примером способности некоторых белков к высокоспецифическому узнаванию определенных участков ДНК. Способность же Лас-репрессора связываться только с оператором Лас-оперона, а не с каким-либо другим участком ДНК, можно счи-

гать доказанной (Gilbert, Miller-Hill, 1967; Bretscher, 1968, и др.). Для блокирования оператора достаточно одной молекулы репрессора. В то же время сродство репрессора к оператору падает в сотни раз, когда последний соединяется с индуктором (β -галактозидом или некоторыми другими), благодаря аллостерическому эффекту последнего. При взаимодействии Lac-репрессора с оператором образование соответствующей мРНК прекращается и останавливается синтез энзимов Lac-оперона, так как бактериальная мРНК очень лабильна *in vivo* и, после прекращения транскрипции, ранее образовавшаяся мРНК быстро распадается. Сейчас не вызывает сомнений, что механизм специфической регуляции такого типа имеет очень широкое распространение. Однако в силу огромных технических трудностей выделения и углубленного изучения специфических белковых репрессоров не следует рассчитывать на слишком быстрое расширение этих данных (достаточно указать, что одна клетка кишечной палочки содержит лишь 10—20 молекул Lac-репрессора). Из числа других репрессоров такого типа следует упомянуть еще репрессор λ -фага кишечной палочки, тормозящий автономную редупликацию его хромосомы тогда, когда она включается в хромосому клетки-хозяина. По механизму действия и степени специфичности он очень близок к Lac-репрессору. По природе он также напоминает его, будучи кислым белком, состоящим из субъединиц с молекулярным весом 26—28 000 (Ptashane, 1967). Есть основания относить к белкам-репрессорам этого типа и белок оболочки ряда РНК-содержащих колифагов, тормозящий репликацию фаговой хромосомы после образования необходимого количества новой вирусной РНК (Stavis, August, 1970).

Пока нет полных данных о структуре Lac- и λ -репрессоров, которые определяют их замечательные свойства. обстоятельное изучение этих белков и других природных репрессоров в сочетании с исследованиями механизмов регуляции в целом приведет со временем к возможности тонкого управления функциями генома. Правда, не следует переоценивать легкость этого пути, тем более, что даже обладание набором специфических белковых репрессоров отдельных опе-

ронов или генов еще не означает возможности использования их при введении в организм извне.

Другой группой ингибиторов транскрипции белковой природы, которые, как полагают, являются компонентами системы регуляции генома высших организмов, служат **г и с т о н ы** и **п р о т а м и н ы** — катионные белки хроматина.

Широко исследовано подавление транскрипции ДНК гистонами. Наибольшая степень подавления наблюдается при соотношении гистон: ДНК, близком к единице. Напротив, при очень малых концентрациях описана даже некоторая активация транскрипции (Konishi, Koide, 1971). Ведущим в процессе подавления считают обычно блокирование матрицы путем электростатического связывания ДНК с катионными группами этих основных белков. В результате уменьшается как число точек инициации, так и, особенно, возможность движения РНК-полимеразы вдоль цепи ДНК (Г. П. Георгиев, 1971; В. А. Поспелов и др., 1971). В меньшей мере эффект связан с прямым действием гистонов на РНК-полимеразу (Spelsberg и др., 1969). Данные о преимуществах тех или иных фракций гистонов в этом эффекте противоречивы. Видимо, по действию на матрицу более эффективны гистоны, богатые лизином, а по влиянию на РНК-полимеразу очень богатые аргинином. Подавление транскрипции, хорошо воспроизводимое в бесклеточных системах, не является ведущим механизмом в эффектах гистонов, воздействующих на клетки и ткани извне. В последнем случае определяющим становится их действие на проницаемость мембран (И. П. Ашмарин и др., 1972).

По-видимому, функцию ингибиторов транскрипции и трансляции могут выполнять нуклеазы. Очевидно, этим обусловлено показанное Р. И. Салгаником и его сотрудниками подавляющее действие нуклеаз на целый ряд вирусов. Помимо влияния на процесс размножения, Т. А. Баталина (1970) установила ингибирующее действие панкреатической РНК-азы на синтез РНК, индуцированный вирусами. Противовирусное действие препаратов РНК-азы связано только с ее ферментативной активностью. Химическая инактивация фермента лишает РНК-азу способности гидролизовать РНК и подавлять размножение вирусов. Воз-

можно, что вирусспецифические нуклеиновые кислоты столь чувствительны к действию нуклеаз потому, что более доступны для действия ферментов в процессе их репликации.

Обладая более выраженным сродством к РНК-полимеразе по сравнению с нативной ДНК, синтез РНК на природной матрице подавляют различные полинуклеотиды. Такие конкурентные взаимодействия в клетках, возможно, играют физиологическую регуляторную роль (В. Г. Никифоров, О. Б. Астауров, 1971). РНК-полимераза может образовывать комплексы также с полианионами ненуклеотидной природы. Поэтому такие соединения, как полиэтиленсульфонат и гепарин, могут в отдельных ситуациях подавлять синтез РНК и белка (Chambon и др., 1967; Walter и др., 1967).

Особенно интересны в этом плане идеи Спигельмана, который установил конкурентные отношения РНК колифага Q β и фрагмента этой РНК за фаговую РНК-полимеразу. Фрагмент РНК (кодирующий только состав самой РНК-полимеразы вируса) обладал при этом преимуществом более чем на порядок. Спигельман полагает, что поиски и создание полинуклеотидов, способных конкурировать с вирусными РНК за связь с полимеразами, могут быть плодотворными путем создания новых антивирусных агентов.

Можно привести и другой пример конкурентных взаимоотношений между полинуклеотидными матрицами. Abgell (1972) описал подавление активности ДНК-полимераз онкорнавирусов птиц, мышей и приматов, а также некоторых клеточных ДНК-полимераз с помощью полиуридиловой кислоты.

ИНГИБИТОРЫ ПОСТТРАНСКРИПЦИОННЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ РНК

В начале настоящей главы уже упоминалось, что после завершения матричного синтеза РНК в ядрах эукариотов претерпевает еще ряд превращений. Они состоят, во-первых, в отсечении с 5'-конца тех частей РНК, которые транскрибированы на регуляторных, акцепторных участках оперонов и не несут информации

о первичной структуре того или иного белка. Существует ряд антибиотиков, которые, наряду с другими эффектами, способны тормозить и эту группу реакций. Особенно характерным является этот эффект для тойокамицина, представляющего собой аналог аденина. В отличие от последнего 7-м атомом кольца тойокамицина является не азот, а углерод, который связан также с группой CN (Hemelin и др., 1973). В частности, он тормозит образование рибосомальных РНК из гигантской молекулы — предшественника (45S). Такой же способностью обладают бромид этидия и рифамицины, уже охарактеризованные выше (Snyder и др., 1971; Busiello и др., 1973). Механизмы этого эффекта пока неясны. Высказывались предположения о действии на эндонуклеазы, специализированные на расщеплении предшественников, или о комплексовании со спирализованными участками РНК (последнее применительно к бромиду этидия). Возможны также и не прямые эффекты — через подавление синтеза каких-то факторов, необходимых для посттранскрипционных превращений РНК.

Вторая группа реакций, следующих за транскрипцией в ядре эукариотов, состоит в присоединении к 3'-концу РНК полиаденилата, который необходим как один из факторов, обеспечивающих транспорт мРНК к рибосомам и, возможно, определяющий продолжительность функционирования той или иной мРНК. Довольно специфично подавляет процесс синтеза полиаденилата 3'-дезоксиаденозин. Уже через 10—15 мин после введения 3'-дезоксиаденозина выход мРНК в цитоплазму практически прекращается, хотя синтез компонентов мРНК, комплементарных соответствующим цистронам, существенно не подавляется.

В результате 3'-дезоксиаденозин нашел широкое применение при ингибиторном анализе процессов миграции мРНК у эукариотов (Jelnek и др., 1973; Sarkar и др., 1973; О. В. Подобед и др., 1973).

Davies (1973) высказал предположение, что один из механизмов действия формицина, описанного в предыдущем параграфе, состоит в комплексовании с полиаденилатным компонентом мРНК. Такой комплекс может возникать за счет образования форми-

цином четырех водородных связей, двух за счет 6-кетогруппы и по одной за счет 1- и 7-аминогрупп.

Наконец, подавление синтеза полиаденилата является одним из эффектов бромида этидия (Jelnek и др., 1973).

Этим пока исчерпываются сведения об ингибиторах посттранскрипционных превращений РНК. Последние оказались в сфере интенсивного изучения лишь недавно. Поэтому в ближайшее время можно ожидать быстрого расширения перечня этих агентов и, главное, уточнения механизмов их действия.

МАЛОИЗУЧЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ

Перечень ингибиторов синтеза белка, действующих на уровне транскрипции, но не повреждающих матрицу, этим не исчерпывается. Из числа агентов либо относительно малоизученных, либо имеющих очень ограниченную сферу применения, следует также назвать антибиотик канханомидин, гуанозинтетрафосфат (а также гуанозинпентафосфат) и уже упомянутый в начале главы полиамин животного происхождения — гепарин. Первый интересен двойственным механизмом действия. Судя по всем накопленным данным, он ингибирует транскрипцию, воздействуя и на ДНК-матрицу, и на РНК-полимеразу (Goldberg, Friedman, 1971). Хотя для целей ингибиторного анализа такая двойственность невыгодна, в практических аспектах она может представлять интерес. Агенты второго типа — гуанозинтетрафосфат и гуанозинпентафосфат — оказались ингибиторами транскрипции стабильных РНК. Однако на синтез белка в целом они оказывают сложное действие. В ряде модельных систем, особенно в присутствии циклического АМФ, гуанозинтетрафосфат способен активировать белковый синтез (De Crombrughe и др., 1971, 1973). Вряд ли эти последние вещества, относящиеся к категории трудно проникающих или вовсе не проникающих через мембраны, получают применение более широкое, чем в исследовательской практике. Что касается гепарина, то он

обладает в модельных системах, состоящих из ДНК-матрицы и РНК-полимеразы, высокой специфичностью как ингибитор связывания полимеразы, с матрицей (Neuhoff и др., 1970). Однако даже такое усложнение системы, как использование в качестве матрицы хроматина, а не ДНК, уже может быть источником весьма сложных для трактовки эффектов из-за взаимодействия гепарина как полианиона с гистонами. Еще больше осложнений возникает при попытках рассматривать механизм действия гепарина на уровне клетки или организма. Помимо этой краткой характеристики особенностей действия канханомицина, гуанозинтетрафосфата и гепарина, в табл. 1 приводится дополнительный список ингибиторов, механизм действия которых изучен недостаточно, хотя известно, что местом их приложения является синтез РНК (причем можно полагать, что не происходит повреждения матрицы).

* * *

Таким образом, угнетение синтеза белка путем нарушения передачи информации на уровне транскрипции может быть вызвано рядом факторов. Актиномицин D и другие хромопептидные антибиотики, мирацил D, ногаламицин, производные акридина и хинолина тормозят транскрипцию в результате образования комплексов с ДНК, затрудняющих функцию РНК-полимеразы. Другие антибиотики — рифамицины, стрептоварицины, стрептолидигин, а также некоторые токсины, гепарин и другие соединения, взаимодействуют непосредственно с РНК-полимеразой или влияют на функцию комплекса фермент-матрица. Наконец, эффективными ингибиторами синтеза белка являются аналоги оснований, рибонуклеозидов и рибонуклеотидов. Включаясь при транскрипции в синтезируемые полирибонуклеотиды или блокируя соответствующие центры РНК-полимеразы, они или тормозят транскрипцию, или в дальнейшем влияют на функцию РНК всех видов. В табл. 4 (стр. 172 «Заключения») сопоставлены объекты действия и специфичность различных ингибиторов транскрипции.

Результатом действия всех перечисленных факторов является обрыв или снижение скорости синтеза

Вещества, угнетающие синтез белков через подавление синтеза РНК

| Вещества | Объект исследования | Место действия (предположительно) | Источник |
|---|---|--|--|
| Гербициды — диносиб и оксинил Растительный гормон — абсцизиновая кислота Токсичный пигмент, — лютеоскларин (Panicum islapdicum) Алкалоиды барвинка — винкристин, винбластин, колхицин Пирролизидиновый алкалоид, — ласокарпин или его метаболит Алкалоиды, аналоги морфина — леворфанол и левалорфан Спирты 2-фенилэтиловый, р-метоксифенилэтиловый Сахара — d-глюкозамин d-маннозамин d-галактозамин d-манноза Полианионный краситель — конго красный | Гипоктили сон Семена ясени Опухолевые клетки » Печень крысы E. coli, клетки HeLa Бактерии Опухоли крыс и мышей | РНК-полимераза Синтез мРНК РНК-полимераза » » мРНК (модификация) Синтез ДНК и РНК То же РНК-полимераза | Mogelard и др. (1969) Villiers (1968) Цепо и др., (1967) Wagpecke, Seeber (1968) Reddy и др. (1968); Fraysinet, Moulo (1969) Simon, Van Praag (1964); Noteboom, Mueller (1966) Khafagy, Lambouy (1966) Bekesi и др. (1969) Краков (1965) |

РНК. образование незавершенных молекул мРНК или синтез РНК с измененными свойствами. В итоге все это сказывается на синтезе индивидуальных белков или биосинтезе белка в целом. Проявление конечного эффекта зависит в основном от сроков жизни тех мРНК, синтез которых повреждается в процессе транскрипции. Известно немало примеров, когда глубокое подавление синтеза РНК в тканях животных наиболее эффективными из перечисленных агентов не сказывается или мало сказывается на интенсивности образования ряда ферментов, а иногда и на общем синтезе белка в данной клетке (примером могут служить ретикулоциты). Кроме того, оценивая эффекты отдельных ингибиторов транскрипции, надо иметь в виду возможность большего или меньшего их сродства к отдельным участкам генома. Здесь еще очень далеко до специфичности, но, тем не менее, для высокодифференцированных тканей можно представить себе ситуации с преимущественным подавлением биосинтеза лишь некоторых мРНК и белков.

Сопоставляя продуктивность поисков ингибиторов трансляции и транскрипции, легко заметить относительную неблагодарность последних. Причина этого состоит, по-видимому, в том, что эволюция отбирала в первую очередь наиболее быстродействующие антибиотики, непосредственно подавляющие белоксинтезирующую систему. Последняя к тому же меньше защищена от внешних воздействий. Кроме того, изыскание и изучение ингибиторов транскрипции будет протекать быстрее, когда будет достигнут хотя бы такой же уровень познания механизмов функционирования хромосом, который достигнут в настоящее время в отношении рибосом.

Большое значение имеют находки ингибиторов этого типа, специфичных в отношении основных групп живых существ и разных РНК-полимераз одного организма. Так, рифампицин и близкие к нему агенты наиболее эффективны в отношении РНК-полимераз бактерий и митохондрий, но не подавляют другие РНК-полимеразы эукариотов. Найдены ингибиторы, специфичные для трех типов РНК-полимераз одной и той же клетки, — рифампицин, α -аманитин и циклогексимид. Все это позволяет надеяться на отыскание

в течение ближайшего десятилетия целого набора ингибиторов транскрипции, которые позволяют избирательно тормозить этот процесс на любых стадиях в любых объектах.

Глава III

УГНЕТЕНИЕ БИОСИНТЕЗА БЕЛКОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИЯХ, ПОВРЕЖДАЮЩИХ ДНК

Для целей ингибиторного анализа процессов синтеза белка, требующего высокой избирательности агентов, наиболее интересны соединения, описанные в предыдущей главе. Они привлекательны также обратимостью большей части эффектов. Однако определенный интерес представляют и более «грубые» агенты, повреждающие и (или) необратимо деформирующие матрицу. В некоторых ситуациях они также пригодны для ингибиторного анализа. Однако особенно велико их значение в плане поисков и разработки противораковых агентов.

Прежде чем обратиться в настоящей главе к детальному рассмотрению таких ингибиторов, необходимо четко установить и степень общности, и отличия этой группы соединений от мутагенов. Некоторые из мутагенов непосредственно подавляют транскрипцию, повреждая или блокируя ДНК, причем далеко не все их реакции с ДНК имеют следствием образование мутации. Другие же оказывают влияние на синтез белка лишь в результате становления мутации, а не в момент взаимодействия. Более того, влияния эти далеко не всегда следует относить к категории подавления. Часто это более или менее сложное искажение биосинтеза. Таким образом, понятия „мутаген” и „ингибитор синтеза белка” не находятся друг с другом в жесткой связи. Поэтому, обращаясь к соединениям, известным как мутагены, мы рассматриваем лишь их непосредственные ингибирующие эффекты, причем безотносительно к вопросу о наследуемости возникающих при этом изменений матрицы.

Равным образом нам представлялось нецелесообразным анализировать повреждения ДНК, вызываемые инфекционными агентами и, в частности, такими внутриклеточными паразитами, как вирусы. Характер этих последних воздействий представляется слишком сложным, чтобы рассматривать их в рамках подавления транскрипции.

НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА РНК И БЕЛКА ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ ДНК УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМИ ЛУЧАМИ

При изучении влияния *ультрафиолетового излучения* на обмен макромолекул в бактериальных и животных клетках многократно отмечалось, что при определенных дозах заметно подавляется синтез ДНК, тогда как интенсивность синтеза РНК и белка в ближайшее после облучения время не изменяется. В других работах регистрировалось быстрое подавление синтеза РНК, которое частично восстанавливалось вскоре после облучения, и медленное, но необратимое подавление синтеза ДНК. В некоторых случаях отмечалась определенная резистентность синтеза белка. Такое расхождение данных связано с различиями в условиях опыта, времени наблюдения, а также состоянием бактериальных и клеточных культур.

Последствия ультрафиолетового повреждения матричных свойств ДНК наиболее четко оценили Michalke и Vermeer (1969). Авторы использовали клетки кишечной палочки с различной чувствительностью к ультрафиолету. Клетки облучали дозами от 500 до 10 000 эрг/мм^2 , после чего измеряли синтез РНК и изучали седиментационное распределение РНК, синтезированной после облучения. В результате было установлено, что на местах повреждения ДНК синтез молекул РНК прерывается, и РНК-полимераза освобождается. Доза в 1000 эрг/мм^2 вызывает на 1000 пар оснований примерно одно повреждение, ограничивающее транскрипцию. С увеличением дозы облучения уменьшается и частота инициации синтеза цепей РНК и число молекул, образованных в единицу времени. Это уменьшение, как полагают авторы, может быть вызвано необратимым связыванием РНК-поли-

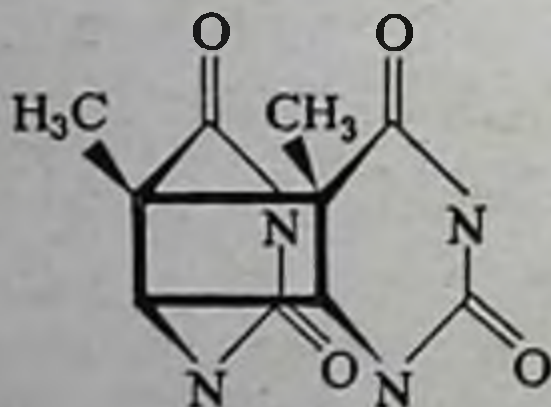
меразы или задержкой освобождения ее молекул. Большая часть фрагментов и некоторые цельные молекулы рРНК, синтезированные после ультрафиолетового облучения, разрушаются в течение 45 мин после синтеза. По-видимому, кроме повреждений ДНК, обрывающих элонгацию и подавляющих инициацию, ультрафиолет повышает какими-то путями лабильность вновь синтезированных РНК.

Изучение синтеза белка в тех же клетках было проведено после облучения дозами от 250 до 5000 эрг/мм². Включение меченого С¹⁴-лейцина в белок заметно снижается при облучении дозой 1000 эрг/мм² и выше. Облученные клетки, наряду с обычными белками, синтезируют ненормальные, укороченные полипептидные цепи. Этот синтез, по-видимому, осуществляется с помощью укороченных молекул мРНК, которые образуются в результате преждевременного завершения транскрипции на месте ультрафиолетовых повреждений в ДНК. Число полипептидных цепей, синтезированных в единицу времени после облучения, также уменьшается, что соответствует уменьшенной скорости синтеза мРНК. Хроматографическое изучение некоторых индивидуальных белков - (щелочной фосфатазы и β-галактозидазы) показало, что после облучения синтезируются ненормальные, несколько гетерогенные молекулы ферментов, дающие при хроматографии размытые пики по активности вместо однородного пика, характерного для нормы (Brunschede, Bremer, 1969).

Чтобы выяснить, в какой мере дефекты транскрипции связаны именно с повреждением ДНК, а не других систем, Saenger и др. (1970) изучили влияние на синтез РНК *in vitro* и *in vivo* ультрафиолетового облучения как ДНК фага T₄, так и целого бактериофага. Оценивались следующие реакции и параметры: связывание РНК-полимеразы с матрицей ДНК, инициация цепей РНК, скорость синтеза РНК, длина синтезируемых цепей РНК, освобождение РНК-полимеразы из ДНК, завершенность и точность транскрипции матрицы. И в этих опытах основным в действии ультрафиолетового облучения являлось снижение скорости синтеза РНК, а также образование более

коротких цепей РНК. Синтез цепей РНК заканчивается на поврежденных участках ДНК и не возобновляется между местом повреждения матрицы и следующим участком инициации. Снижение в связывании РНК-полимеразы с ДНК не наблюдалось, тогда как инициация цепей РНК замедляется. РНК-полимераза освобождается из комплекса с облученной матрицей, но связана с ней по времени в процессе транскрипции несколько дольше, чем с необлученной матрицей. Расчет показал, что повреждения облученной ДНК в начальной области хромосомы фага T_4 в 2% случаев подавляют инициацию транскрипции, а в остальных случаях нарушают элонгацию. Около 40% из этих повреждений ведут к инактивации фага.

Современные данные о молекулярных механизмах действия ультрафиолетового облучения на нуклеиновые кислоты показывают, что ведущими процессами можно считать образование димеров тимина и в меньшей мере — урацила, цитозина и смешанных пиримидиновых димеров. Димеры образуются, как правило, между соседними основаниями, принадлежащими к одной и той же цепи. Образование димеров за счет оснований разных цепей является редким событием. Димеры, судя по всем накопленным данным, представляют собой цис-изомеры.



Димер тимина

Применение кинетического формальдегидного метода к облученной ультрафиолетом ДНК фага T_2 и *E. coli* привело Ю. С. Лазуркина и М. Д. Франк-Каменецкого (1972) к заключению, что тиминовые димеры располагаются вдоль молекулы ДНК не случайным образом, а образуют группы (в среднем по 6 димеров), обуславливающие один дефект вторичной структуры. Образование таких групп происходит

даже при малых дозах облучения, когда повреждение двойной спирали отдалены несколькими тысячами пар оснований. Авторы полагают, что электронное возбуждение, мигрирующее по молекуле ДНК на большие расстояния (около 10^3 — 10^4 пар нуклеотидов), реализуется в фотодимеры преимущественно вблизи концов спиральных участков. Возможность такой миграции возбуждения обусловлена регулярной упаковкой оснований внутри двойной спирали ДНК, образующей одномерный молекулярный кристалл. Теоретически рассчитанная зависимость степени группировки тиминовых димеров от дозы облучения подтверждена экспериментально.

Наряду с образованием димеров, происходит и ряд других процессов, вклад которых в повреждения ДНК ультрафиолетовым излучением несколько меньше: 1) ряд реакций окисления оснований (в том числе окислительное дезаминирование); 2) гидратация цитозина и урацила; 3) разрывы ряда ковалентных связей в остатках дезоксирибозы, а также разрывы водородных связей; 4) внутримолекулярные сшивки нитей ДНК и сшивки нитей ДНК с белками. Большая часть образующихся фотопродуктов, как и димеризация тимина, затрудняет или обрывает транскрипцию.

Данные, полученные Markovitz (1972) *in vitro*, свидетельствуют о том, что ультрафиолетовое облучение индуцирует образование ненормально стабильного комплекса ДНК с ДНК-полимеразой. Образование комплекса пропорционально дозе ультрафиолета и концентрации фермента при данной концентрации ДНК или искусственного полимера поли (dA — dT).

Заключая рассмотрение действия ультрафиолетового излучения на матричные свойства ДНК, транскрипцию и синтез белка, следует обратить внимание на то, что обобщаемые материалы получены исключительно в опытах на прокариотах. Многоклеточные эукариоты малопригодны в такого рода исследованиях не столько в силу сложности, сколько из-за непроникающего характера ультрафиолетового излучения. Как мы увидим далее, при изучении эффектов многих из проникающих ионизирующих излучений сложилось во многом обратное положение.

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА МАТРИЧНЫЕ СВОЙСТВА ДНК И СВЯЗАННЫЕ С ЭТИМ НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА БЕЛКА

Ионизирующая радиация при действии на живые клетки вызывает различного рода повреждения, обусловленные возникновением и протеканием ряда так называемых начальных процессов. А. М. Кузин (1970) условно делит эти начальные процессы на три этапа.

Первый включает взаимодействие проникших в клетку ионизирующих частиц или фотонов с молекулами и надмолекулярными структурами, образование ионов и возбужденных молекул, появление вторичных излучений.

Второй этап составляют радиационно-химические реакции возбужденных молекул, а также изменения молекулярных и надмолекулярных структур клетки.

Третий этап заключается в сопряжении радиационно-химических реакций и вызванных ими изменений с организацией обменных процессов и, далее, в реорганизации или частичной дезорганизации последних.

Очевидно, что в рамках настоящей монографии нас интересуют, в конечном итоге, некоторые процессы, протекающие на втором и третьем этапах. Обобщение литературы, проведенное А. М. Кузиным (1970), показывает, что под влиянием радиационно-химических процессов происходит распад непрочных связей, стабилизирующих четвертичные структуры таких высокополимерных соединений, как белки и нуклеопротеиды. Ведущее место в этих реакциях занимают разрывы водородных связей и дисульфидных мостиков. В результате происходит диссоциация нуклеопротеидов, освобождение нуклеиновых кислот. Изменяется конформация белков-ферментов. Имеют место также разрывы линейных полинуклеотидных цепей.

В настоящем разделе будут рассмотрены прежде всего последствия радиационно-химических реакций, ведущих к повреждению линейной структуры ДНК. По-видимому, особенно часто происходит окислительный радиолиз кольца дезоксирибозы между 3- и 4-уг-

леродными атомами с образованием промежуточных веществ и последующим их гидролизом в пострационационный период (А. М. Кузин, 1970). Радиационно-химические реакции вызывают также дезаминирование аденина, образование гидроперекиси тимина и аналогичные изменения других оснований. Заметим, что в отличие от эффектов ультрафиолетового излучения для ионизирующих излучений образование пиримидиновых димеров не является ведущим механизмом повреждения ДНК. Целый ряд излучений, особенно нейтронные, вызывают, помимо повреждения отдельных нуклеотидов или относительно небольших групп нуклеотидов, разрушение, перемещение или исключение больших участков хромосом. Очевидно, нет нужды подробно останавливаться на том, что столь грубые изменения часто исключают транскрипцию существенной доли хроматина и последующий синтез соответствующих белков после деградации ранее синтезированных мРНК.

Перечисленные тонкие повреждения ДНК также сказываются на проявлении ее основных функций. Следствием повреждения ДНК в делящихся клетках является прекращение деления. В неделящихся клетках те же повреждения вызывают нарушение транскрипции и трансляции. Подавляется синтез многих ферментов и других специфических белков. Изменяются основные метаболические функции клеток, что вызывает укорочение их жизни, нарушает способность к адаптации и даже ведет к злокачественному перерождению.

Повреждение ДНК — является одной из первопричин, приводящих к нарушению синтеза белка после облучения клеток. Данные литературы, касающиеся изменений суммарного синтеза белка в результате действия на клетки γ -лучей и других видов ионизирующей радиации, особенно многочисленны. Часто они являются противоречивыми и трудно сопоставимыми. Однако сложность анализа указанных данных можно понять, если учесть, что влияние ионизирующего облучения на синтез белков во многом зависит от функционального состояния клеток, тканей и организма в целом. Было показано, например, что инактивация излучениями ядерных структур у эмбрионов.

амфибий и рыб не прекращает их развития до определенной стадии, в связи с периодичностью функционирования ядер (А. А. Нейфах, 1964). Значительно различается ответ на облучение нормальных и регенерирующих тканей в связи с высокой радиочувствительностью определенных фаз в цикле деления клеток. Анализ радиационных нарушений белоксинтезирующей системы клеток осложняется наличием вторичных ее повреждений. И. И. Иванов и В. В. Рудаков (1968) считают, например, что позднее проявление угнетения синтеза белка в молочной железе связано прежде всего с гибелью и распадом клеток и субклеточных структур железы в период выраженной лучевой болезни. Позднее указанные авторы пришли к заключению, что время и характер проявления лучевых повреждений во многом зависят также от продолжительности жизни уже синтезированных макромолекул, участвующих в синтезе специфических белков (И. И. Иванов, В. В. Рудаков, 1971). Все это объясняет волнообразные изменения общего синтеза белка при действии радиации. Тщательный анализ экспериментальных данных, полученных в последние годы, показывает, что можно все же выделить и проанализировать нарушения синтеза белка, возникающие в результате прямого действия ионизирующей радиации на матричные свойства ДНК.

Особое место среди этих данных занимают результаты исследований по изучению *in vitro* влияния γ -лучей на матричную активность ДНК при транскрипции в сопоставлении с влиянием нуклеаз (ДНК-азы I и II, Goddard и др., 1970). Было показано, что облучение водных растворов ДНК в аэробных условиях приводит к увеличению способности ДНК связывать РНК-полимеразу, но, несмотря на это, одновременно снижается матричная активность в отношении синтеза РНК. Авторы объясняют это образованием в ДНК под влиянием облучения новых участков связывания РНК-полимеразы, из которых лишь часть являются пригодными для нормальной инициации синтеза РНК. Удобной моделью для изучения этих вопросов служат синтетические полинуклеотиды. В том же плане выполнена работа Hagen и др. (1970), которые изучали энзиматический синтез РНК на матрице ДНК,

облученной γ - и ультрафиолетовыми лучами. Они подтвердили, что высокие дозы γ -лучей создают новые участки связывания полимера, которые, вместе с тем, могут быть неэффективными в отношении синтеза РНК. Изложенные в предыдущем параграфе опыты, выполненные с ДНК, облученной ультрафиолетом, вполне согласуются с результатами этих экспериментов (см. выше Вгунсчеде, Вгемер, 1969).

Здесь следует подчеркнуть, что к оценке данных, полученных *in vitro*, надо подходить осторожно. А. Н. Писаревский (1969) указывает, что изучение первичной стадии радиационного эффекта как лишь на молекулярном уровне, так и отдельно на клеточном уровне не может дать убедительных результатов. Как правило, первичные эффекты на молекулярном уровне по своей сути являются радиационно-химическими и требуют использования доз, на 2—3 порядка превышающих биологически действенные. В реальных же системах (клетках) ДНК находится в виде специфических комплексов с белком. Эти комплексы существуют в конденсированном состоянии и представляют собой сложнейшие надмолекулярные образования. Поэтому первичное действие радиации должно затрагивать эти надмолекулярные системы. В этой связи автор доказывает необходимость использовать для изучения первичного эффекта радиации модель хромосомы в виде ориентированной четвертичной структуры ДНП. При использовании такой модели удалось показать, что при облучении раствора ДНП даже малыми дозами (десятки рад) происходит глубокое нарушение структуры ДНП, которое связано, по-видимому, с изменением слабых межмолекулярных воздействий. Однако здесь следует заметить, что нарушение структуры ДНП и в этом случае может быть следствием тонких повреждений самой ДНК.

С учетом результатов, полученных *in vitro*, рассмотрим данные о нарушении синтеза белка в облученных клетках. Прежде всего отметим, что для бактерий характерна относительно высокая радиорезистентность, и бактериальные клетки, по-видимому, нельзя считать удачной моделью для изучения влияния ионизирующей радиации на синтез белка.

Поэтому в большей мере для этой цели использовались клетки высших организмов.

О возможности повреждения механизма биосинтеза белка на уровне трансляции мы подробнее будем говорить ниже. Однако исследования Tobeу и др. (1969) свидетельствуют о том, что облученная клетка сохраняет трансляцию функционально активных белков, если она направляется чужеродной мРНК (например, вирусной). Уже эти данные позволяют предполагать, что регистрируемые нарушения синтеза белка под влиянием ионизирующей радиации могут быть результатом именно изменения процесса транскрипции или повреждения матричной структуры ДНК. Вероятность последнего подтверждается радиационным повреждением макромолекулярной структуры ДНК *in vivo*. Прямые данные о радиационном повреждении матричной функции ДНК в отношении ДНК- и РНК-полимераз *in vivo* были представлены Naggington еще в 1964 г. В частности, затравочная активность в отношении ДНК-полимеразы была значительно снижена у ДНК, выделенной из облученных лимфобластов.

Изучение синтеза белка в условиях общего облучения организма в некоторых случаях также свидетельствует о возможном нарушении матричных свойств ДНК. Однако такой точки зрения придерживаются не все авторы. John и Miller (1968) исследовали влияние рентгеновского облучения на синтез некоторых белков плазмы в изолированной перфузируемой печени крыс. Авторами было показано, что через час после облучения (900 и 2000 R) сывороточный альбумин синтезируется с обычной скоростью, а через 4—6 дней (после 900 R) его синтез уменьшается на 25%. Синтез фибриногена и α -глобулопротеида, наоборот, увеличивается. Эти данные внешне совпадают с ранее описанными. Однако, если считать, что период полужизни мРНК для альбумина и фибриногена крыс составляет несколько менее трех часов, то заключение о прямом действии на ДНК или на транскрипцию становится сомнительным. Приходится предполагать более сложные эффекты каких-то других регуляторных механизмов. Результаты других исследователей в большей мере свидетельствуют

о радиационном повреждении *in vivo* матричных свойств ДНК. Так, например, Агиуата и др. (1970) изучали влияние рентгеновского облучения на включение аминокислот в белки нормальной и регенерирующей печени крысы. Прослеживалось включение C^{14} -лейцина и C^{14} -лизина в ядерные и цитоплазматические белки. Показано, что облучение препятствует включению меченого лизина (но не лейцина) в изолированные ядра и ядерные белки регенерирующей печени. Подчеркивается, что микросомы и рибосомы, полученные из регенерирующих органов облученных и необлученных животных, были одинаково эффективны в отношении включения аминокислот в белки. Ядерная РНК, выделенная горячим фенолом из облученных или необлученных регенерирующих органов, стимулирует включение аминокислот *in vitro* в одинаковой степени независимо от источника ее получения. Обсуждая результаты исследований, авторы приходят к заключению, что изменение синтеза белка, вызванное рентгеновским облучением, обусловливается снижением образования ядерной РНК и, возможно, в том числе специфических типов мРНК. На известную специфичность эффекта указывают данные о неодинаковом влиянии на включение лизина и лейцина. Они позволяют думать о повреждениях либо мРНК, контролирующих синтез отдельных аминоксилсинтетаз, либо энзимов, необходимых для формирования отдельных тРНК из предшественников.

Трактовка всех данных, полученных *in vivo*, осложняется тем, что в этих условиях особенно велика вероятность опосредованных влияний на транскрипцию. Так, Г. С. Календо и др. (1969) высказали предположение, что при облучении нарушение синтеза РНК и белка может быть результатом непосредственного блокирования матрицы ДНК радиотоксинами. Авторами исследовалось влияние различных концентраций радиотоксинов на обмен ядерных РНК и белка в клетках культуры HeLa методом авторадиографии. Как оказалось, большие концентрации радиотоксинов угнетают белковый и нуклеиновый обмен. При этом в большей степени подавляется синтез короткоживущей фракции РНК.

Косвенным доказательством радиационного повреждения матричных свойств ДНК служат многочисленные данные об изменении первичной структуры индивидуальных белков, синтезированных в организме облученных животных. Достоверные изменения аминокислотного состава и первичной структуры сывроточного альбумина, гемоглобина и миоглобина после облучения животных сублетальными и летальными дозами были показаны, например, Б. Ф. Сухомлиновым и сотр. (1969, 1972). Изменение первичной структуры белков, синтезируемых в облученном организме, сопровождается, естественно, изменением их физико-химических свойств и функциональной активности. Так, в разгар лучевой болезни наряду с изменением концентрации происходит изменение функциональных и некоторых физико-химических свойств фибриногена (К. В. Гордеева, Л. А. Ключарев, 1960; Т. К. Джаракьян и др., 1960; Ю. Т. Пономарев, 1965).

Данные о составе белков плазмы крови облученных животных свидетельствуют о неодинаковой радиочувствительности синтеза индивидуальных белков (табл. 2). Это также подтверждает вероятность лучевых повреждений матрицы ДНК.

Таблица 2

Содержание белка во фракциях плазмы крови здоровых собак и в разгаре острой лучевой болезни
(Т. К. Джаракьян и др., 1960)

| Фракции (по Кону) | Содержание белка (г %) в плазме собак | | |
|--|---------------------------------------|--|---|
| | здоровых (средние 14 опытов) | при лучевой болезни II степени (средние 13 опытов) | при лучевой болезни III степени (средние 18 опытов) |
| I | 0,56 | 0,77 | 1,35 |
| II+III | 0,67 | 1,85 | 1,55 |
| IV—I | 0,4 | 0,41 | 0,38 |
| IV—4 | 0,7 | 0,65 | 0,72 |
| V | 2,54 | 2,16 | 1,92 |
| Суммарное со- держание белка . . . | 5,87 | 5,84 | 5,92 |

В ряде случаев нарушение синтеза белка в облученных клетках четко проявляется во времени в зависимости от количества и срока жизни уже синтезированных мРНК. Этим объясняется поздняя задержка синтеза белка при облучении лактирующей молочной железы (И. И. Иванов, В. В. Рудаков, 1971). Kirshmann и Bonotto (1970) изучали синтез белка в облученных растениях *Acetobularia* и *Phascoglossum*. Дозы γ -лучей, ингибирующие синтез хлорофилла или нуклеиновых кислот, слабо влияли или вовсе не оказывали действия на общий синтез белков. По-видимому, в клетках исследуемых растений имеются долгоживущие молекулы мРНК, обеспечивающие синтез ряда белков в облученных клетках на существовавших до облучения рибосомах.

Однако чрезвычайная сложность изменений синтеза белков в облученных организмах не должна создавать впечатления хаотических процессов. Нарушения синтеза индивидуальных белков при лучевых поражениях отличаются видовой однотипностью, удовлетворительной воспроизводимостью и регулярностью проявления по срокам.

В целом можно утверждать, что при действии на клетки ионизирующей радиации, как и в случае ультрафиолетового облучения, возможны нарушения синтеза белка в результате повреждения матричных свойств ДНК. Очевидны, однако, и существенные отличия в действии ионизирующих излучений. В опытах *in vivo* на первый план выходят не общее подавление транскрипции и синтеза белковых молекул, а именно тонкие нарушения образования некоторых мРНК и полноценных белков. При испытании *in vitro* тех доз, которые сопоставимы с вызывающими тяжелые расстройства *in vivo*, также не удастся наблюдать картин, близких к наблюдаемым после ультрафиолетового облучения по распространенности и глубине нарушений матричной функции ДНК. Строго говоря, в отличие от ультрафиолетового, ионизирующие излучения можно включать в перечень ингибиторов биосинтеза белка лишь с большими оговорками. Они плохо сопоставимы с другими строго специализированными ингибиторами.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК ХИМИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ

СИНТЕТИЧЕСКИЕ (НЕПРИРОДНЫЕ) АЛКИЛИРУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Изменение и повреждение матричных свойств ДНК может быть обусловлено действием различных алкилирующих агентов.

Алкилирующие соединения наиболее популярны в качестве мощных мутагенов сложного механизма действия и экспериментальных противоопухолевых средств. В основе этого лежит их способность в малых концентрациях относительно избирательно взаимодействовать с ДНК и вызывать разнообразные ее повреждения. Казалось бы, среди них должно быть немало агентов, значительно нарушающих транскрипцию в силу изменения матрицы. Это, однако, не так. Действие алкилирующих агентов на транскрипцию и на синтез белка, как правило, значительно уступает их мутагенной или цитостатической эффективности. Поэтому мы ограничимся лишь отдельными примерами этих агентов из не очень многочисленных работ, в которых действие их на транскрипцию и синтез белка исследовалось обстоятельно.

Типичными алкилирующими соединениями, первично действующими на ДНК, являются широко известные супермутагены: *N*-нитрозопроизводные мочевины, уретана и гуанидина. Л. Б. Горбачевой и др. (1968) *in vivo* (на мышах с солидной гепатомой) и *in vitro* (на асцитных клетках лейкемии) показано, например, что наиболее чувствителен к действию нитрозопропилмочевины (НПМ) синтез ДНК. При тех же дозах препарата наблюдается, напротив, активация включения меченых предшественников РНК. Лишь при увеличении дозы или экспозиции развивается устойчивое торможение синтеза РНК. Отмечается и подавление синтеза белка (по включению меченых аминокислот), которое, вероятнее всего, носит опосредованный характер, так как оно проявляется только при высоких дозах и длительном действии НПМ. Первичность повреждения ДНК подтверждается изменением матрич-

ных свойств в опытах с выделением ее из клеток асцитной карциномы Эрлиха, обработанных НПМ *in vivo*. ДНК из карциномы животных, получивших НПМ в дозах 50 и 200 мг/кг, значительно эффективнее в качестве матрицы *in vitro* по тесту включения C^{14} -урацила в РНК. Авторы предполагают, что НПМ вызывает однотипные нарушения — образование модифицированных участков в молекуле ДНК, часть которых служит новыми местами иницирования транскрипции.

Нитрозометилмочевина при суточной дозе 20 мг/кг вызывает устойчивую регрессию лейкемических клеток L 1210. При этом скорость биосинтеза белков в сохранившихся клетках не изменяется (Г. В. Кукушкина и др., 1972). Следовательно, синтез белка угнетается лишь при глубоком повреждении ДНК клеток этим агентом.

Из других алкилирующих соединений, первично действующих на ДНК клеток, следует отметить бисдиоксопиперазины. Эти соединения подавляют рост многих экспериментальных опухолей крыс и мышей. Greighton и Vignie (1970) изучали влияние бисдиоксопиперазинпропана (ICRF 159) и бисдиоксопиперазинбутана (ICRF 193) на синтез макромолекул в фибробластах эмбрионов мышей. Препараты оказались мощными ингибиторами синтеза ДНК и оказывали сравнительно небольшое влияние на синтез РНК и белка. Их действие напоминало таковое радиомиметических токсинов. Структура этих соединений показывает, что они действуют как моно- и бифункциональные алкилирующие агенты. Подавление синтеза белка, вызываемое бисдиоксопиперазинами, является, очевидно, вторичным эффектом.

Первичным действием на синтез ДНК обладают также диазокетоны. Так, например, 1,4-бисдиазоацетилбутан (БДБ) при действии на *E. coli* сильнее всего подавляет синтез ДНК, затем РНК, и менее чувствителен к нему синтез белка. Другой диазокетон 1,2-бисдиазоацетилэтан (БДЭ) вызывает в *E. coli* полную задержку включения в ДНК тимина при концентрации порядка 7 мг/мл (6×10^2 М). В клетках животных этим диазокетоном сильнее всего ингибируется синтез ДНК; синтез РНК и белка менее

размножения клеток. Тем не менее, углубленное изучение огромного числа алкилирующих агентов, применяемых сейчас в исследовательской и лечебной практике, позволяет надеяться на выявление среди них и более избирательных ингибиторов транскрипции.

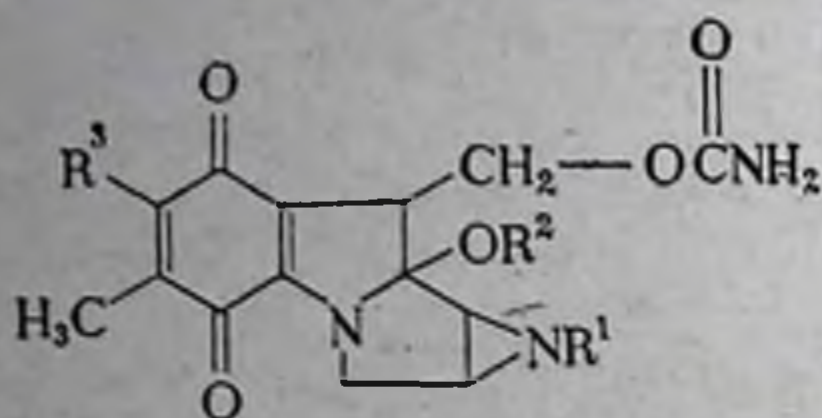
ПРИРОДНЫЕ АЛКИЛИРУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ (АНТИБИОТИКИ)

Хорошо известно, что антибиотики митомицины и близкие к ним по структуре порфирамицины угнетают синтез ДНК и подавляют размножение клеток. Те и другие составляют группу бактерицидных и цитотоксических антибиотиков, вырабатываемых несколькими видами *Streptomyces*. Вначале предполагалось, что антибиотическое действие митомицинов связано с образованием сшивок в двухтяжевых структурах ДНК. Позднее было показано, что митомицин действует как монофункциональный агент, алкилируя только одну нить ДНК. Резюмируя анализ литературы по этому вопросу, Szybalski и Iyer (1967) признают возможным как тот, так и другой механизм действия митомицинов. При этом подчеркивается, что эффект от монофункционального алкилирования можно ожидать скорее всего у организмов с недостаточно выраженными репаративными процессами.

Антибиотики этой группы — довольно стабильные соединения в их естественном окисленном состоянии. Высоко реактивными алкилирующими агентами они становятся только после химического или ферментативного восстановления. В восстановленной форме они способны образовывать ковалентные связи с нуклеиновыми кислотами, белками и другими молекулами.

Алкилирование ДНК восстановленными митомицинами приводит к развитию вторичных процессов. Одним из них является подавление репликации ДНК из-за стерических нарушений, обусловленных возникновением в ДНК новых ковалентных связей. В некоторых случаях происходит распад ДНК в результате

удаления алкилированных участков. Позднее наступает подавление синтеза РНК как следствие нарушения целостности ДНК. Таким образом, имеет место глубокое повреждение матричной функции ДНК. Очевидно, что нарушение синтеза белка при действии митомицинов является результатом всех предшествующих событий. Наиболее четко это показано в работе Coles и Cross (1965). Изучая кинетику по-



Природная окисленная форма митомицинов и порфирамицинов

| Препарат \ Радикалы | R ¹ | R ² | R ³ |
|------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| Митомицин А | H | CH ₃ | H ₃ CO |
| N-метилмитомицин А | CH ₃ | CH ₃ | H ₃ CO |
| Митомицин В | CH ₃ | H | H ₃ CO |
| Митомицин С | H | CH ₃ | H ₂ N |
| Порфирамицин (N-метил-митомицин С) | CH ₃ | CH ₃ | H ₂ N |
| 7-оксипорфирамицин | CH ₃ | CH ₃ | HO |

давления синтеза ДНК, РНК и белка (пенициллиназы), эти авторы показали, что первичное действие митомицина направлено на ДНК, а подавление синтеза мРНК и соответствующих ферментов является собой вторичный эффект.

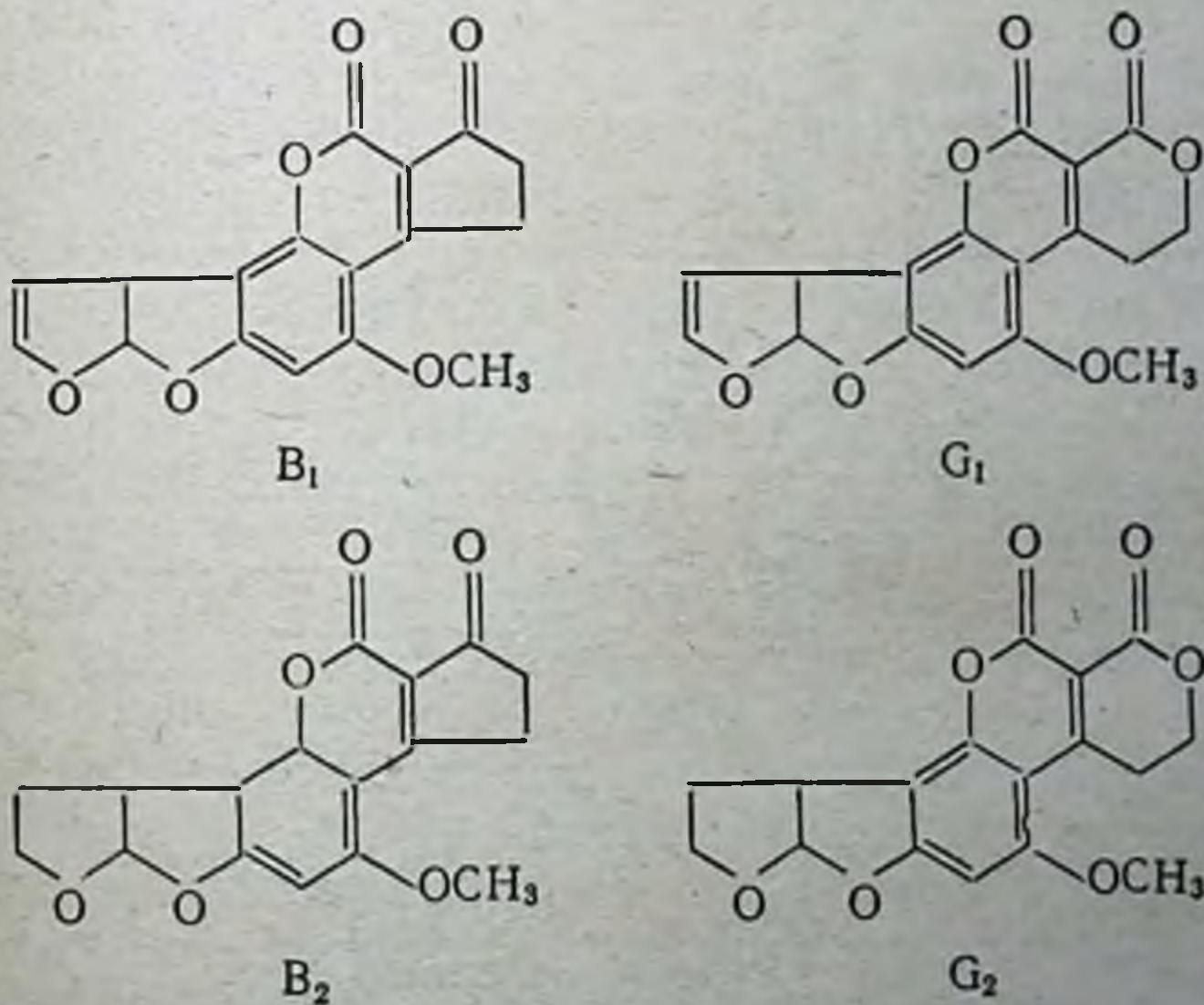
Вместе с тем, нарушения синтеза белка, будучи вторичными по отношению к ДНК, могут в свою очередь усугублять подавление обмена ДНК. Такие данные получил Smith-Kielland (1967), прослеживая включение меченого тимидина в аргининотиминовый ауксотроф *E. coli*.

Повреждения ДНК при воздействии митомицинов могут оказать влияние на взаимодействие клеток с вирусными возбудителями. Rapp и Vanderslice

(1965) показали, что с помощью митомицина С повышается репликация вирулентного и аттенуированного штаммов РНК-содержащего вируса кори в культуре клеток. Наблюдается больший выход вируса, образование более крупных бляшек. Укорачивается латентный период. Авторы считают, что действие митомицина не связано с репрессией образования интерферона, так как другие ингибиторы (актиномицин D, дезоксиуридин и цитозинарабинозид) никак не влияют на размножение вируса. Более вероятно, что усиление репродукции вируса является результатом сложного влияния антибиотика на обмен клеток.

НЕКОТОРЫЕ ТОКСИНЫ И АЛКАЛОИДЫ

Как ингибиторы синтеза белка внимание исследователей привлекли токсины, вырабатываемые штаммами *Aspergillus flavus* — афлатоксины. Изменения в обмене веществ, вызываемые афлатоксинами,



Структура афлатоксинов

изучались в разнообразных системах. Ранним проявлением действия токсинов является подавление синтеза ДНК и митоза клеток. Этот эффект удаётся

регистривать в культуре клеток в течение первых нескольких часов после воздействия афлатоксина на клетки. Подавление синтеза ДНК и деления клеток ведет к их переживанию в стадии покоя, что удается учесть количественно. Такое проявление свойств афлатоксинов, а также их способность индуцировать бактериофаги в лизогенных бактериях позволили предположить, что афлатоксин действует на биологические системы подобно алкилирующим агентам. Однако, в отличие от вышеописанных алкилирующих агентов, действие афлатоксинов на интенсивность синтеза белков выявляется в большей мере.

Исследовалось влияние афлатоксина В на скорость включения C^{14} -лейцина в белки срезов печени крыс и утят. При добавлении афлатоксина в среду инкубирования в зависимости от концентрации наблюдалось частичное или полное подавление включения аминокислоты. Показано также, что афлатоксин подавляет включение меченых аминокислот в белки печени *in vivo* (Wogan, 1966).

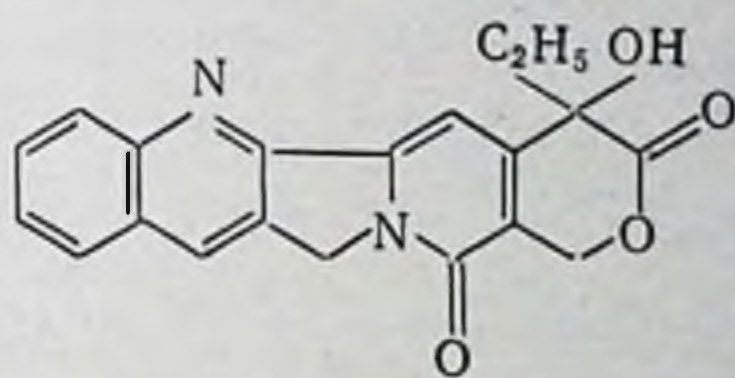
То обстоятельство, что подавление транскрипции и синтеза белка афлатоксинами строго опосредовано через их взаимодействие с матрицей, продемонстрировано Clifford и др. (1967). При измерении эффекта афлатоксинов B_1 , G_1 и G_2 на синтез РНК и белка в срезах печени крысы оказалось, что степень ингибирования пропорциональна величине спектрального сдвига, наблюдаемого при взаимодействии с ДНК. Показано, кроме того, что в печени крыс, отравленных афлатоксином B_1 , угнетается активность РНК-полимеразы ядрышек.

Позднее была изучена кинетика взаимодействия афлатоксина B_1 с полинуклеотидами. Установлена специфичность взаимодействия токсина с аминогруппами аденина и, возможно, гуанина. Высказано предположение, что взаимодействие афлатоксина с ДНК приводит к образованию неполных или измененных мРНК. Возможность прямого воздействия на полимеразу считается маловероятной (King, Nicholson, 1969).

Исследовалось влияние токсина на индуцируемый синтез отдельных белков. Оказалось, что афлатоксин угнетает индукцию гидрокортизоном и триптофаном

синтеза пирролазы триптофана. При введении крысам 1 мг/кг веса афлатоксина В и гидрокортизона увеличения активности фермента не наблюдалось, тогда как в контроле (при введении одного гидрокортизона) она увеличивалась в четыре раза. В меньшей мере афлатоксин подавлял индукцию фермента триптофаном (Wogan, 1966).

К агентам, повреждающим матрицу ДНК, относятся алкалоид, экстрагируемый из дерева *Camptotheca acuminata*, — камптотецин. Это гетероциклическое соединение подавляет в клетках HeLa синтез



нуклеиновых кислот, а на синтез белка действует опосредованно. Его эффект связывали с разрывами матрицы ДНК. Позднее была установлена выраженная специфичность в действии камптотецина. Оказалось, что он угнетает синтез РНК только в ядрах клеток и не затрагивает синтеза митохондриальной РНК. Более того, выяснилось, что камптотецин избирательно подавляет образование высокомолекулярных рибосомальных и информационных нуклеиновых кислот, оставляя незатронутым синтез РНК с низким молекулярным весом (4S и 5S РНК). Это может быть связано с повреждением ДНК или терминацией синтеза РНК в определенных участках матрицы. Показано, что камптотецин подавляет развитие аденовирусов (Abelson, Penman, 1972).

Завершая рассмотрение действия на синтез РНК и белка агентов, повреждающих матрицу, следует подчеркнуть, что среди них практически нет ингибиторов, сочетающих достаточную мощность с избирательностью действия. Большую или меньшую избирательность отдельных агентов этой группы можно отметить лишь в отношении подавления синтеза ДНК. Некоторые из них (ионизирующие излучения) могут быть относимы к категории ингибиторов синтеза белка лишь с большими оговорками. Все это

ограничивает возможности использования описанных в данной главе соединений для ингибиторного анализа тогда, когда целью является изучение механизмов и регуляции белкового синтеза. Тем не менее, практическая значимость большинства таких агентов является постоянным стимулом для дальнейшего всестороннего исследования их действия на транскрипцию.

Глава IV

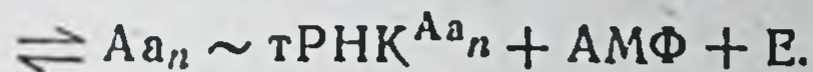
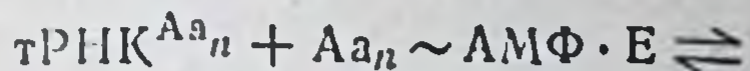
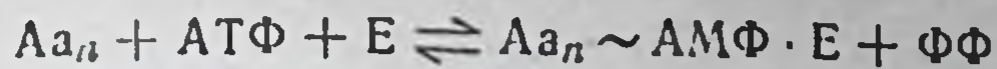
ПОДАВЛЕНИЕ ТРАНСЛЯЦИИ И РЕКОГНИЦИИ

Этапы рекогниции и трансляции, кратко охарактеризованные в начале книги, в свою очередь делятся на ряд стадий и реакций. Так же, как и в случае транскрипции, особенности молекулярных механизмов этих стадий таковы, что возможно избирательное или хотя бы преимущественное подавление каждой из них. Поэтому существует классификация большинства известных ингибиторов рекогниции и трансляции по стадиям, являющимся преимущественным объектом действия. Кратко рассмотрим основные стадии этих этапов и приведем наиболее характерные примеры соответствующих ингибиторов.

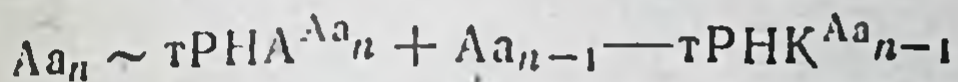
Рекогниция начинается с взаимодействия энзимов — аминокислотсинтетаз с аминокислотами и источником энергии АТФ. Каждой аминокислоте соответствует одна или несколько специфических аминокислотсинтетаз. В результате реакции образуется соединение аминокислоты с адениловой кислотой — аминокислотаденилат, который в свою очередь остается связанным с энзимом. При этом от АТФ отщепляется пирофосфат, а освобождающаяся в результате энергия аккумулируется в аминокислотаденилате (схема 3).

Следующая стадия состоит во взаимодействии образовавшегося комплекса энзим — аминокислотаденилат с соответствующей тРНК. Здесь именно проявляется наиболее деликатная функция аминокислотсинтетаз, состоящая в сведении носителя определенного

I. Стадия подготовки аминокислот к трансляции, рекогниция:



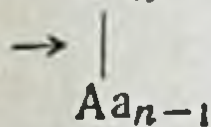
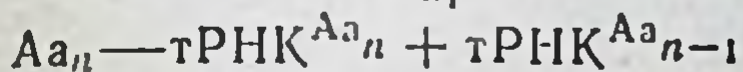
II. Стадия включения аминокислот в строящийся полипептид-трансляция:



|
Aa_{n-2}

⋮
Aa₂

|
Aa₁



|
Aa_{n-2}

⋮
Aa₂

|
Aa₁

рибосома, мРНК

2ГТФ

2ГДФ

Схема 3. Общая схема реакций биосинтеза полипептида
(Aa — аминокислоты; E — аминоацилсинтетаза;
ФФ — пирофосфат).

антикодона, способного найти комплементарный кодон на мРНК, со «своей» аминокислотой. Такая двойная специфичность аминоацилсинтетаз находит выражение в наличии у них двух активных центров — для связывания тРНК и аминокислоты (аминоациладенилата). В результате присоединения тРНК и ее реакции с аминоациладенилатом происходит переход аминокислотного остатка на тРНК и освобождение адениловой кислоты. Образовавшаяся аминоацил-тРНК (Aa-тРНК) освобождается и от связи с энзимом. Энергия, ранее аккумулярованная в аминоациладенилате, не растрачивается, а переходит в Aa-тРНК.

Все реакции рекогниции особенно тесно переплетаются друг с другом, так как происходят на одной и той же белковой молекуле энзима. Поэтому целый

ряд ингибиторов действует в равной мере и на первую, и на вторую реакции процесса. Есть основания полагать, что ряд аналогов природных аминокислот и такой агент, как салициловая кислота, тормозят именно присоединение нормальной аминокислоты к своему центру и синтез аминоациладенилата. Эта стадия, в отличие от последующей, требует присутствия ионов магния и поэтому избирательно подавляется агентами, связывающими последний или конкурирующими с ним. С другой стороны, целый ряд агентов, повреждающих тРНК (излучения, включение в их состав аналогов оснований и др.), тормозит вторую стадию рекогниции, нарушая либо способность тРНК взаимодействовать с энзимом, либо способность реагировать с аминокислотным остатком.

Аминоацил-тРНК готова к следующему этапу — трансляции. Исключением является только Аа-тРНК, необходимая для синтеза на рибосоме первого, начального дипептида. Первой аминокислотой всегда служит формильное производное метионина. Поэтому часть метионил-тРНК подвергается формилированию с участием специальных энзимов и системы фолиевой кислоты. Для этой реакции также найден избирательный ингибитор — малые концентрации гидроксил-аминна.

Трансляция, т. е. собственно синтез полипептидных цепочек на рибосомах делится на три стадии — инициации, элонгации и терминации.

Стадия инициации начинается с присоединения концевой области мРНК к малой субчастице рибосомы (30S-субчастица, рис. 2). Реакция эта стимулируется внерибосомными белковыми факторами — IF_3 и IF_2 ; необходимо также присутствие ионов магния. По-видимому, одна из функций IF_3 состоит в обеспечении связывания с рибосомой не любой области мРНК, а концевой участка, где расположен кодон формилметионина — неременной первой аминокислоты строящегося полипептида. Реакция связывания мРНК избирательно подавляется, например, ауринтрикарбоксилловой кислотой.

К кодону формилметионина присоединяется своим антикодоном формилметионил-тРНК. Эта реакция требует неременного участия уже упомянутого бел-

Далее в процесс вступает большая субчастица рибосомы (50S-субчастица). По ходу присоединения к малой субчастице происходит вытеснение фактора IF_2 и расщепление одной молекулы ГТФ. В образовавшейся полной рибосоме формилметионил-тРНК оказывается в П-участке.

С этого момента начинается следующая стадия трансляции — элонгация¹. К следующему кодону мРНК, находящемуся в А-центре, присоединяется соответствующая Аа-тРНК. Эта реакция является довольно сложной, видимо, потому, что к этому моменту уже произошло объединение большой и малой субчастиц рибосомы, и доступ к А-центру оказывается затрудненным — он располагается в зоне контакта субчастиц. Опять-таки в обычных условиях участником реакции является ГТФ. Он образует комплекс с белковым фактором элонгации $EF-T_u$ и Аа-тРНК. В составе этого комплекса Аа-тРНК «входит» в рибосому, связывается с А-центром, ГТФ расщепляется и в виде соединения ГДФ- $EF-T_u$ выводится из рибосомы. Еще один белковый фактор элонгации $EF-T_s$ служит для регенерации ГДФ. Примерами довольно избирательных ингибиторов связывания Аа-тРНК в процессе элонгации могут служить тетрациклиновые и аминогликозидные антибиотики.

После присоединения Аа-тРНК к кодону в А-центре принесенный ею аминокислотный остаток оказывается в непосредственной близости от остатка формилметионина. Они располагаются на каталитическом центре большой субчастицы рибосомы, обеспечивающем замыкание пептидной связи между аминокислотой принесенной аминокислоты и остатком карбоксила формилметионина. Энергия, необходимая для образования пептидной связи, черпается из Аа-тРНК, где она была аккумулирована еще на этапе рекогниции. При замыкании пептидной связи формилметиониновый остаток теряет связь со своей тРНК и входит в состав дипептида, сохраняющего связь с той тРНК, антикодон которой еще находится в А-центре. В то

¹ Определение границы между элонгацией и инициацией не является однозначным. Некоторые авторы включают в инициацию образование первой пептидной связи.

же время остаток формилметионина сохраняет связь с большой субчастицей в ее так называемом П-участке. Далее следует механохимическая реакция, основой которой является то обстоятельство, что П- и А-участки расположены на разных субчастицах и смещены друг относительно друга. Благодаря этому при раздвигании субчастиц возникает косая тяга, смещающая мРНК еще на один триплет. Эта реакция — транслокация — совершается (в обычных условиях) при расщеплении еще одной молекулы ГТФ, что обеспечивается в свою очередь белковым вне ribосомным фактором EF-G. При перемещении мРНК происходит освобождение «отработанной» формилметиониловой тРНК, а тРНК, несущая дипептид, занимает положение, аналогичное тому, которое занимала к началу элонгации ф-мет-тРНК. Теперь к очередному кодону присоединяется следующая Аа-тРНК, и цикл реакций элонгации повторяется. Заметим, что при синтезе пептидной связи происходит перенос именно пептидила (или формилметионила) на аминогруппу очередной аминокислоты, а не наоборот. Процесс переноса пептидила — транспептидация — и транслокация поясняются также более подробной схемой на рис. 3. Все реакции на стадии элонгации стимулируются ионами магния. Примерами избирательных ядов транспептидации и транслокации могут служить хлорамфеникол и фусидовая кислота соответственно. Реакции элонгации повторяются до тех пор, пока в А-центр малой субчастицы не входит кодон мРНК, сигнализирующий конец синтеза полипептида. Тогда присоединяются специальные белковые факторы терминации — RF_1 или RF_2 , — обеспечивающие отделение готового полипептида. Реакция ускоряется еще одним белковым фактором — RF_3 . Наконец, происходит диссоциация субчастиц рибосомы (с участием уже знакомого нам фактора IF_3) и освобождение мРНК. Имеются сообщения, что и освобождение мРНК требует участия специального вне ribосомного белкового фактора. Теперь система готова к новому циклу реакций трансляции. Пока нет надежных данных о существовании высокоспецифичных ингибиторов терминации, хотя отмечают некоторую

избирательность в отношении этой стадии таких антибиотиков, как амицетин.

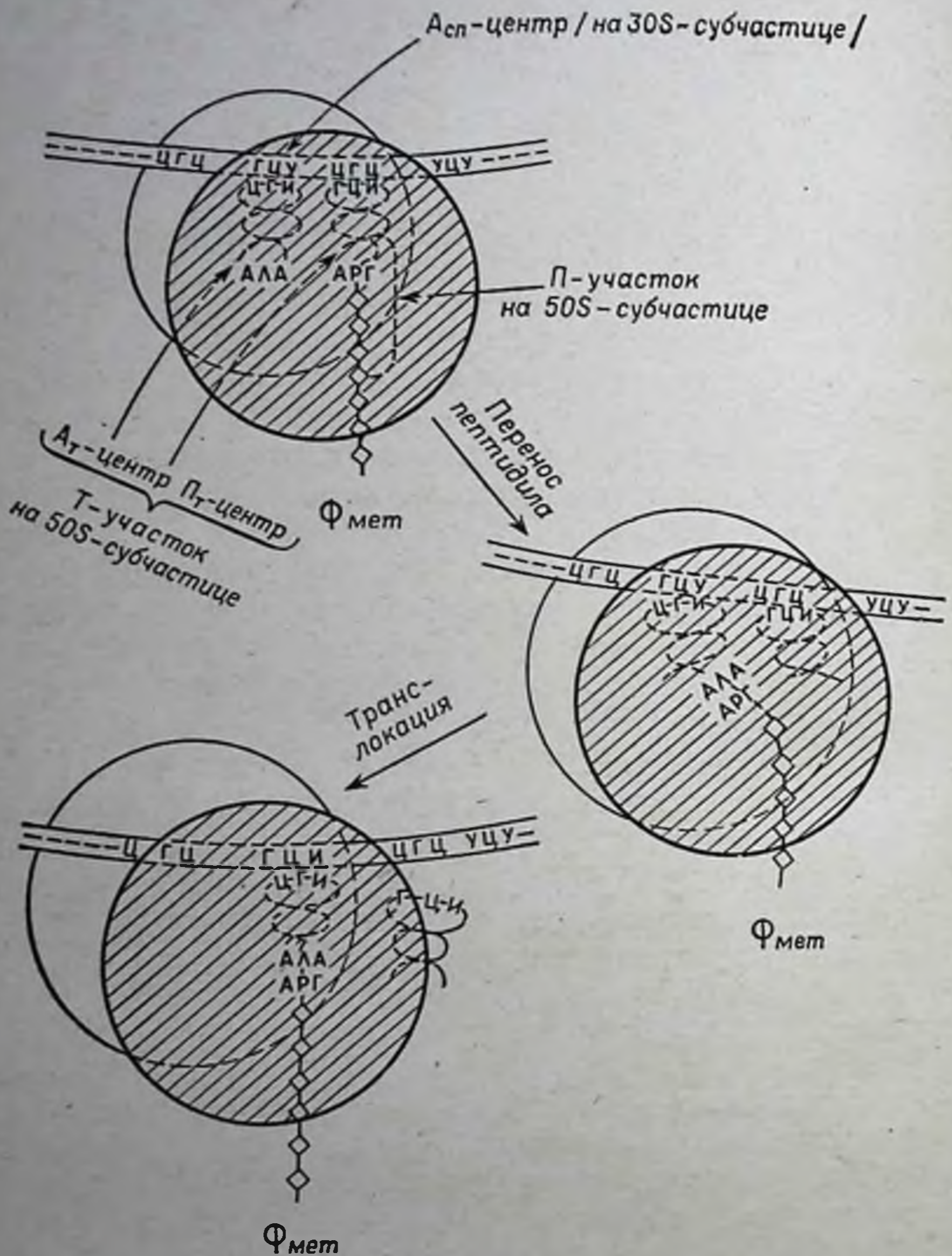


Рис. 3. Реакции переноса пептидила и транслокации пептидил-тРНК на рибосоме.

Заметим в заключение, что формилметионин, всегда являющийся первой аминокислотой в начале синтеза полипептида, как правило, отщепляется или, по

крайней мере, деформируется в готовом полипептиде.

Вопрос о роли расщепления ГТФ при трансляции является весьма дискуссионным. Соблазнительному предположению о том, что ГТФ служит источником энергии, противоречат данные о так называемой неэнзиматической трансляции (Л. П. Гаврилова, А. С. Спирин, 1973), совершающейся в условиях, когда исключено участие ГТФ.

По ходу трансляции к освобождающейся начальной области мРНК могут присоединяться все новые и новые рибосомы — так, что на одной и той же молекуле мРНК образуется целый белоксинтезирующий конвейер. Такую систему называют полирибосомой, или полисомой.

Изложенная схема трансляции основана на результатах исследования биосинтеза белка у бактерий. У эукариотов она имеет ряд отличий, состоящих в особенностях рибосом и внерибосомных белковых факторов. Отличия эти непринципиальные, но, тем не менее, они оказываются достаточными, чтобы большинство известных ингибиторов трансляции у прокариотов было неэффективно в отношении эукариотов. Ядов, универсальных для обеих групп живых существ, как мы увидим далее, относительно немного.

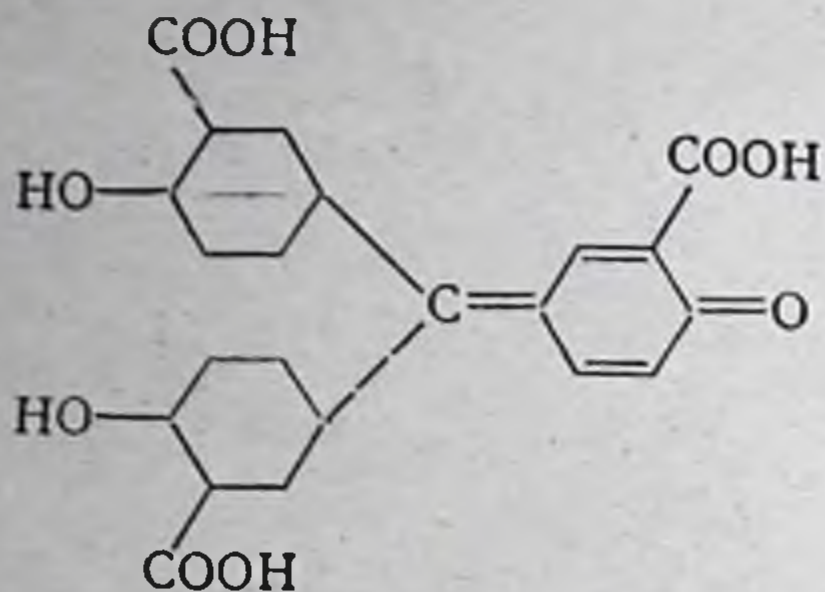
Теперь обратимся к подробному описанию ингибиторов трансляции и рекогниции. При этом мы начнем с ингибиторов трансляции как наиболее изученных, практически важных и многочисленных.

ИНГИБИТОРЫ ИНИЦИАЦИИ

К ним относятся вещества, угнетающие образование комплекса инициации и последующие реакции взаимодействия с комплексом большой субчастицы.

В процессе изыскания противовирусных препаратов Grollman и Stewart (1968) нашли, что трифенилметановые красители и в том числе ауринтрикарбоновая кислота (АТК) предотвращают прикрепление мРНК фагов f_2 и Q_{β} к рибосомам *E. coli*,

ингибируя тем самым синтез вирусных полипептидов. Анализируя данные литературы и результаты своих



опытов, авторы заключили, что АТК не конкурирует с мРНК за участки связывания на рибосомах — действие ее скорее связано с аллостерическим эффектом. Увеличение скорости осаждения рибосом, обработанных АТК, по-видимому, отражает конформационные изменения в рибосомах, вызванные аллостерической модификацией. Считается маловероятным также, что АТК взаимодействует с внерибосомными белковыми факторами инициации, так как меченая H^3 -ауринтрикарбоновая кислота связывается с рибосомами, отмытыми от свободного фактора инициации, и подавляет синтез полифенилаланина на таких частицах (напомним, что синтез последнего не требует участия ряда внерибосомных факторов).

Последующее изучение действия АТК на синтез полипептидов в экстрактах *E. coli*, направляемый полиуридиловой кислотой и природной мРНК (фага R17), показало, что этот агент подавляет и другие этапы трансляции, однако этап инициации наиболее чувствителен (Siegelman, Arigion, 1971). Те же результаты были получены при использовании бесклеточной белоксинтезирующей системы из ретикулоцитов кролика. Синтез белка подавляется уже при концентрациях АТК порядка 50—100 $\mu\text{г}/\text{мл}$ (0,1—0,2M), которые не оказывают или оказывают незначительный эффект на скорость или степень наращивания полипептидных цепей. При этом угнетение синтеза сопровождается последующим освобождением рибосом и завершенных пептидов из полирибосом (Stewart и др., 1971).

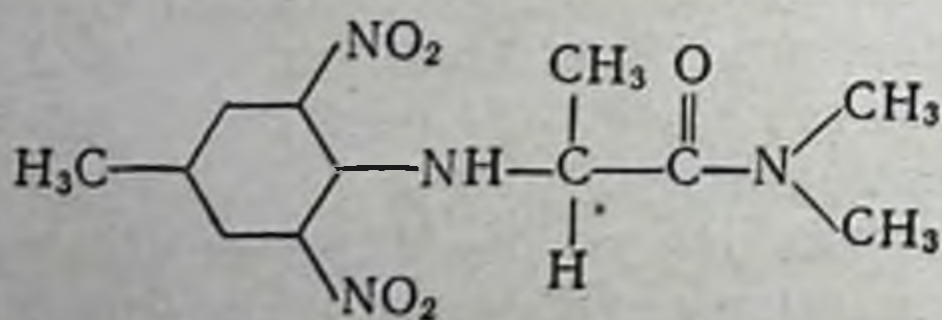
Мощным ингибитором образования комплекса инициации является противоопухолевый антибиотик пактамицин, получаемый из культур *Streptomyces raptus*. Он подавляет размножение различных грамотрицательных и грамположительных бактерий и угнетает рост злокачественных опухолей у грызунов. Следовательно, он взаимодействует как с рибосомами 70S, так и 80S типа. Краткая характеристика химических свойств и биологической активности пактамицина представлена Вхуан (1967). В концентрации 0,1 мкг/мл антибиотик подавляет в суспензии клеток KB синтез белка на 94%, синтез ДНК на 39% и синтез РНК на 18%. Видимо, последние два эффекта являются вторичными. Пактамицин активен также в бесклеточной системе синтеза белка. Было установлено, что он связывается с 30S-субъединицами *E. coli* и влияет на структуру комплекса инициации, вызывая его распад при низких концентрациях ионов Mg^{2+} . Далее оказалось, что подавление синтеза полипептида, иницированного в бесклеточной системе *N*-ацетилфенилаланил — тРНК, выражено больше, когда антибиотик вводится до начала биосинтеза белка (Cohen и др., 1969). Эти данные и позволили предположить, что антибиотик затрагивает в основном инициацию. В подтверждение этого Stewart-Blair и др. (1971) показали, что низкие концентрации пактамицина вызывают быструю диссоциацию полирибосом в лизатах ретикулоцитов кроликов с одновременным освобождением завершенных цепей гемоглобина. Установлено, наконец, что в присутствии пактамицина образуется неполноценный комплекс инициации (40S-субъединица-мРНК-фмет-тРНК), который не способен соединяться с 60S-субъединицами рибосом (Карреп и др., 1973). Все же нельзя переоценивать специфичность пактамицина как ингибитора инициации в любых системах. Изучая трансляцию РНК-фага R17, Tai и др. (1973) показали, что в такой тест-системе пактамицин подавляет элонгацию столь же энергично, как и инициацию.

Пактамицин все шире используется в экспериментальных исследованиях. В частности, он успешно применялся при изучении генной последовательности полиовируса (Summers, Maizel, 1971).

Высокоспецифичным ингибитором инициации оказался гаррингтонин-алкалоид из *Serphalotaxus* (Grollman, Huang, 1973). Он совсем не затрагивает элонгацию. В отличие от ауринтрикарбоксилата, он не препятствует присоединению мРНК к малой субчастице рибосомы. Очевидно, объектом его действия являются другие реакции на стадии инициации. Гаррингтонин интересен также тем, что является ингибитором лишь для эукариотов (клетки HeLa, ретикулоциты), но не для бактерий. С методической точки зрения важно отметить его способность проникать через клеточные мембраны.

В последние годы все большее внимание привлекает как ингибитор образования инициаторного комплекса казугамицин, рассматриваемый более подробно вместе с другими аминогликозидными антибиотиками. В отличие от пактамицина он проявил наибольшую специфичность именно в модельной системе с РНК фага R17, в то время как при исследовании на ряде других моделей он подавлял и элонгацию (Tai и др., 1973).

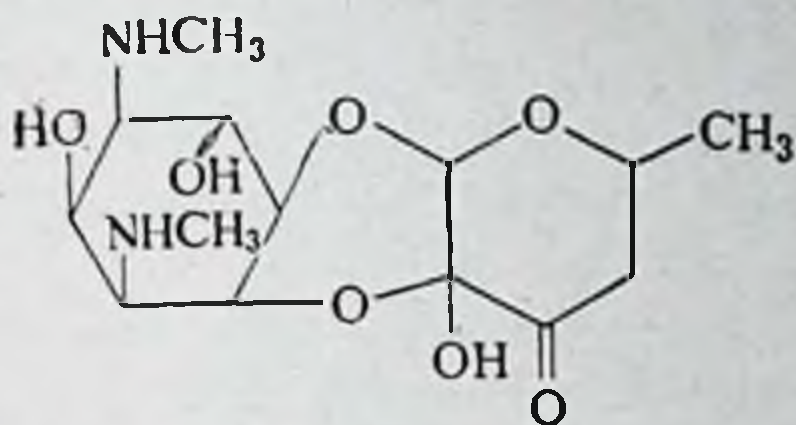
Ингибиторами инициации у эукариотов оказались трихотеценовые токсины грибов — веррукарин А, ниваленол и токсин Т-2 (Cundliffe и др., 1974; Shindler, 1974), а также 2-(4-метил-2,6-динитроанилин)-*N*-метилпропионамид (МДМП). Последний в концентрации выше 5×10^{-5} М подавляет синтез пептидов *in vitro* более чем на 95%.



Как было выяснено (Weeks, Bacter, 1972), МДМП предотвращает инициацию пептидной цепи путем специфического блокирования взаимодействия 60S-рибосомальных субъединиц с комплексом 40S-субъединица-мРНК-мет-тРНК.

Заведомо менее избирательным является подавление образования комплекса инициации рядом других агентов. Так, на взаимодействие мРНК с бактериаль-

ной рибосомой оказывает влияние один из аминогликозидных антибиотиков — спектиномицин. На этом уровне он подавляет синтез белка, не нарушая



Спектиномицин

самого процесса считывания информации. Генетическая детерминанта устойчивости к спектиномицину ассоциирована с 30S-субъединицами рибосом и находится в хромосоме рядом с локусом устойчивости к стрептомицину (Jacoby, Gogini, 1967). Anderson и др. (1967) указывают, что на рибосомах *E. coli* спектиномицин подавляет синтез белка обратимо. Его действие находится в поразительной зависимости от нуклеотидного состава мРНК. Подавление отсутствует полностью при использовании в качестве мРНК полиуридиловой или полиадениловой кислоты. Оно увеличивается с возрастанием содержания в синтетических полимерах ГЦ пар. Наиболее эффективен антибиотик при использовании полиинозиновой кислоты. Позднее Anderson (1969) картировал локус резистентности рибосом к спектиномицину в хромосоме *E. coli* и отметил существование нескольких фенотипических выражений резистентности к антибиотику. Затем путем разъединения рибосом из чувствительных и резистентных штаммов на мономолекулярные компоненты и последующей реконструкции был идентифицирован рибосомальный белок, ответственный за восприимчивость к спектиномицину. Мутация в отношении устойчивости к спектиномицину значительно видоизменяет этот белок. Это доказано с помощью хроматографического анализа рибосом нескольких независимых спектиноустойчивых мутантов (Vollen, Herzog, 1970):

Описано подавление реакции присоединения мРНК некоторыми алифатическими альдегидами — глицеральдегидом, α, β -дигидрооксимасляным

син снижает связывание H^3 -меченой РНК фага R17 с рибосомами *E. coli*. Ниже будет изложен иной возможный механизм действия дифтерийного токсина на биосинтез белка. Механизм, описанный здесь, по-видимому, имеет второстепенное значение.

Взаимодействие мРНК с рибосомами может быть нарушено за счет синтетических полианионов, таких, как поливинилсульфат и полидекстрансульфат. Первый из них, связываясь с рибосомами в участке, где прикрепляется мРНК, образует полисомоподобные структуры (Shinozawa и др., 1968). Добавление декстрансульфата к комплексу рибосома — полиуридиловая кислота приводит к частичному освобождению последней, что обусловлено большим (примерно в 4 раза) сродством декстрансульфата к 30S-субъединицам рибосом. Естественно, декстрансульфат подавляет и синтез полифенилаланина, направляемый полиуридиловой кислотой (Miyazawa и др., 1967).

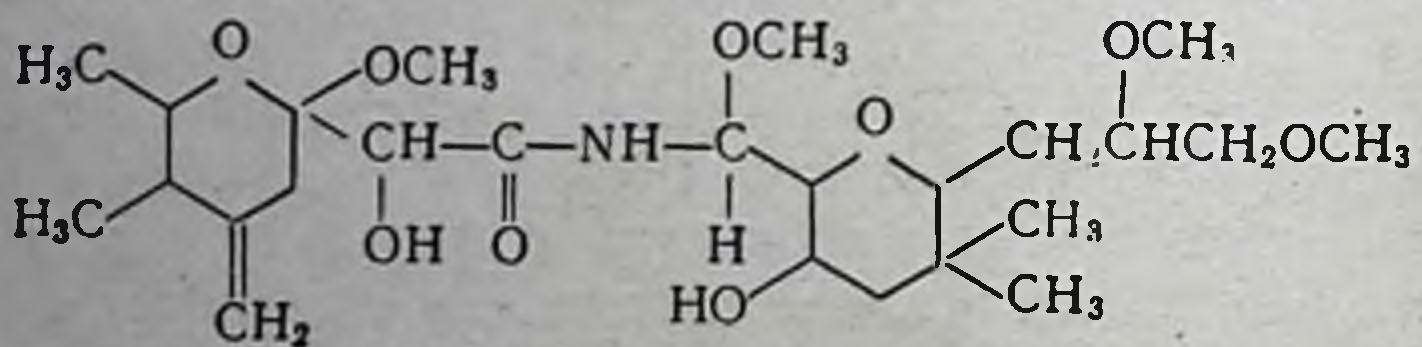
Наконец, недавно было выяснено, что синтез глобина в лизатах ретикулоцитов, а также трансляция РНК вируса энцефаломиокардита и мРНК глобина мышей в экстрактах асцитических клеток Кребса II может быть подавлена двуцепочечной РНК (Robertson, Mathews, 1973). Изучение механизма действия двуцепочечной РНК показало, что она инактивирует в лизатах ретикулоцитов IF-3 фактор, необходимый для связывания 30S-субчастиц с мРНК и для диссоциации рибосом в конце цикла. По-видимому, двуцепочечная РНК образует с IF-3 прочный комплекс (Kaempfer, Kaufman, 1973).

К относительно неспецифичным ингибиторам инициации можно отнести и ряд широко используемых антибактериальных антибиотиков, тормозящих присоединение аминоацил-тРНК на всех стадиях трансляции. К ним относятся антибиотики тетрациклинового ряда, эдеин и аминогликозидные антибиотики (стрептомицин, неомицин, канамицин и др.). Все они нарушают связывание аминоацил-тРНК с рибосомой не только при инициации трансляции, но также в последующих реакциях наращивания полипептидной цепи, т. е. на стадии элонгации. Поэтому подробно механизм действия этих антибиотиков будет рассмотрен ниже.

Ингибитором связывания аминоксил-тРНК (в том числе формилметионил-тРНК) с рибосомами является фтористый натрий. В бесклеточной системе из ретикулоцитов NaF в концентрации 0,02M подавляет направляемое полиуридиловой кислотой и неэнзиматическое связывание, и зависимое от ГТФ энзиматическое связывание Аа-тРНК с рибосомами (Ravel и др., 1966).

С. А. Богатырева и А. С. Спирин (1971), изучая влияние одно- и двухвалентных катионов на специфическое связывание аминоксил-тРНК с рибосомной 30S-субчастицей, нашли, что катионы Ni^{2+} и Zn^{2+} даже в малой концентрации (0,0001 M) на фоне значительной концентрации Mg^{2+} практически нацело ингибируют специфическое связывание фенилаланил-тРНК с рибосомной 30S-субъединицей. Можно полагать, что этот эффект распространяется и на формилметионил-тРНК.

Особое положение среди ингибиторов инициации занимает педерин — вещество, экстрагируемое из насекомых *Paederus fuscipes*. При инкубировании ретикулоцитов с низкими концентрациями педерина



Педерин

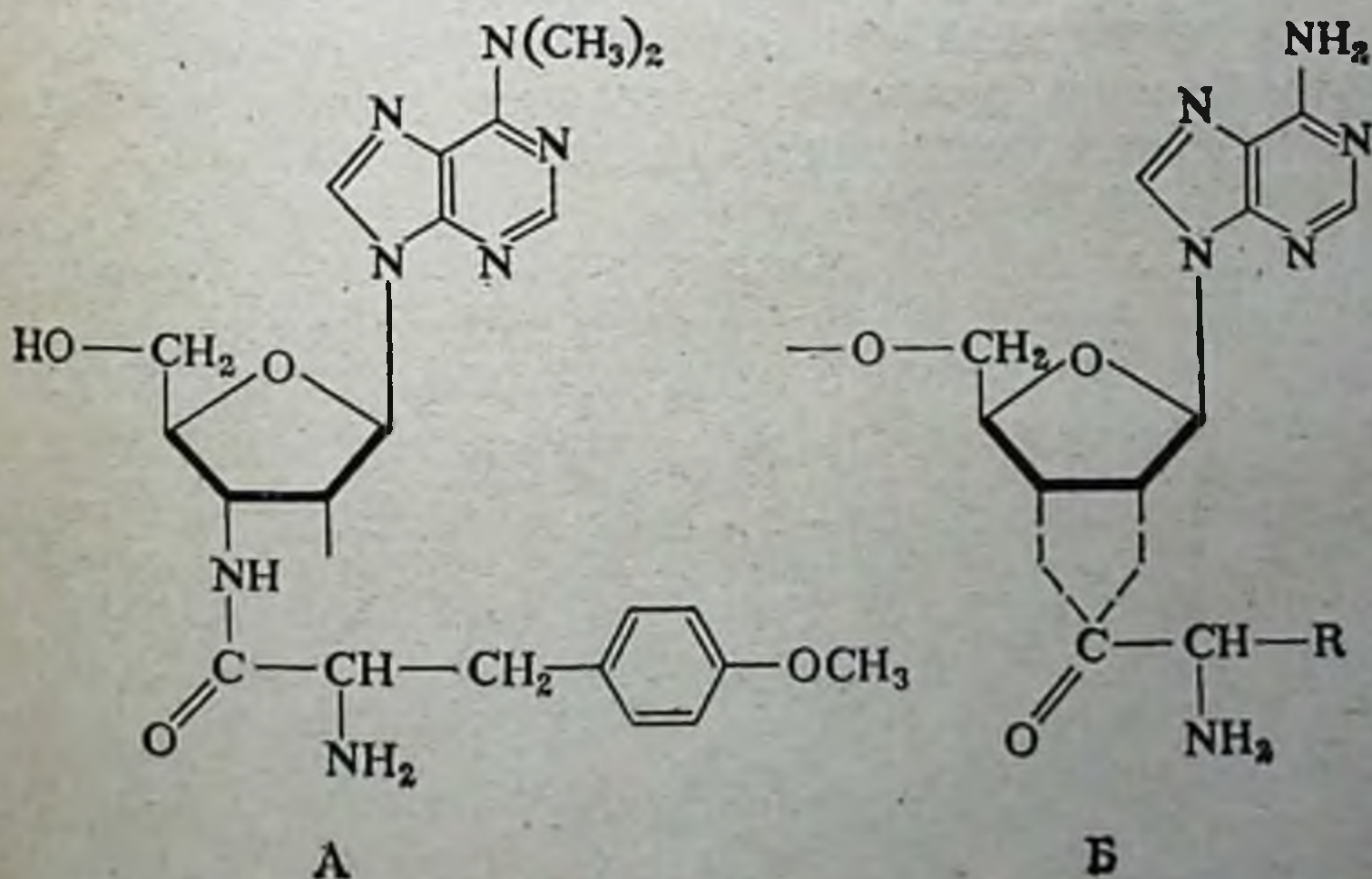
(0,01—0,02 мкг/мл) происходит дезагрегация полисом. При более высоких концентрациях синтез белка ингибируется без сопутствующего разрушения полисом. Выяснение причин этого явления (изучение пурамициновой реакции и образования *N*-формилметионилпурамицина в бесклеточной системе в присутствии педерина) привело в свое время к предположению, что педерин угнетает транслокацию как инициаторной тРНК, так и новообразованной пептидил-тРНК. Однако в настоящее время считают, что фмет-тРНК сразу занимает при инициации П-участок. Поэтому особенности механизма действия педерина на ини-

циацию еще требуют уточнения, но дезагрегация полисом, вызываемая педерином, скорее всего связана с нарушением соотношения между скоростью инициации и скоростью элонгации в процессе синтеза белка. При низких концентрациях педерина подавляется преимущественно инициация (Jacobs-Logeпа и др., 1971).

Наконец, имеются отдельные указания на то, что к ингибиторам инициации относится и этионин, который одновременно ингибирует и реакции подготовки аминокислот к трансляции (см. стр. 158).

ИНГИБИТОРЫ ЭЛОНГАЦИИ

Собственно трансляция каждого последующего кодона мРНК, как уже указывалось, складывается из присоединения к рибосоме аминоацил-тРНК, соответствующей данному кодону, переноса пептидила с уже существующей пептидил-тРНК на поступившую аминоацил-тРНК с образованием новой пептидной связи (транспептидации) и перемещения (транслокации) вновь образовавшейся пептидил-тРНК и соответствующего кодона мРНК из акцепторного участка (А-центра) рибосомы в ее донорный участок (П-центр).



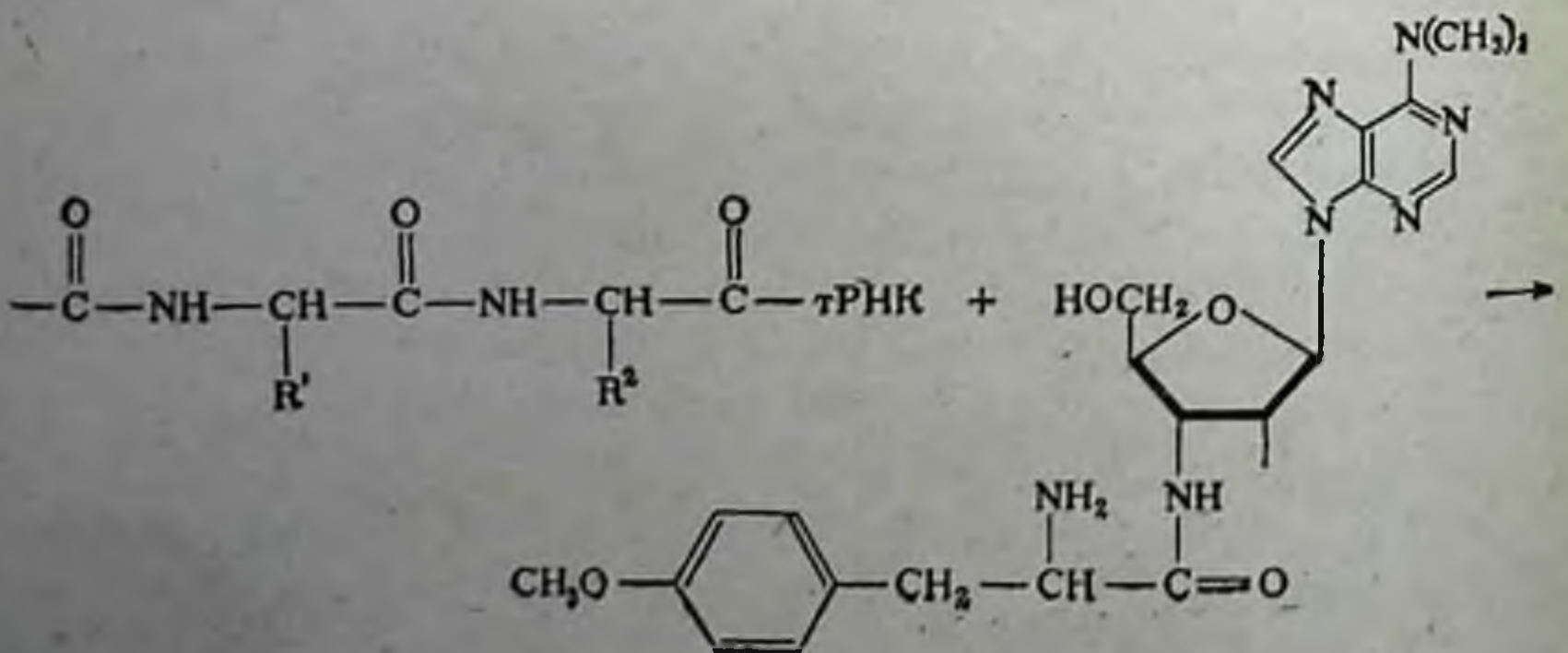
Очевидно, что эффективным ингибитором элонгации прежде всего может быть какой-либо структурный аналог аминоксил-тРНК. Таким аналогом аминоксил-тРНК является хорошо изученный антибиотик пурамицин. Он выделен из культуральной жидкости *Streptomyces alboniger*.

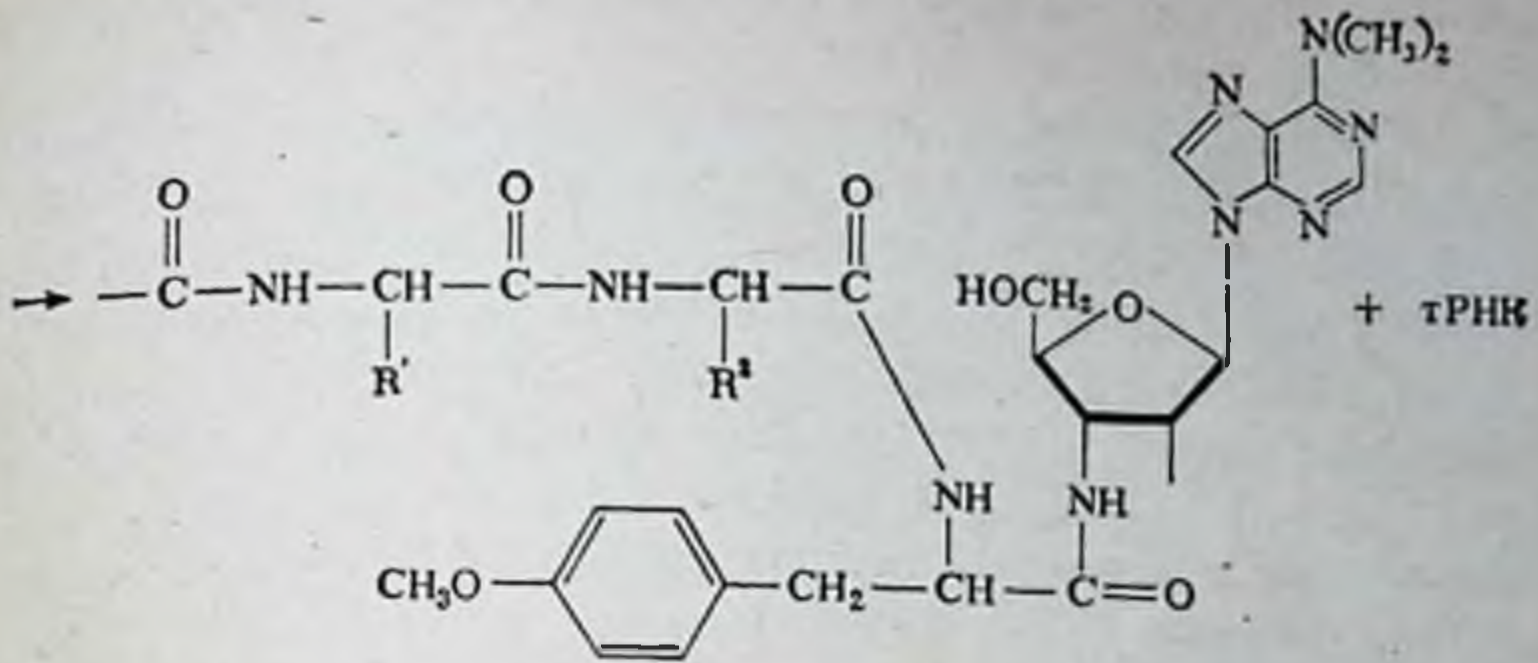
Пурамицин является аналогом 3'-концевой аминокислированной группировки аминоксил-тРНК, а точнее аналогом аминоксиладенозинового ее фрагмента (см. соответственно формулы А и Б на стр. 103).

Изучение механизма его действия подтвердило, что пурамицин функционирует как конкурентный аналог аминоксил-тРНК. Он подменяет в трансляции очередную аминоксил-тРНК, в результате чего переброска С-конца нарастающей пептидной цепи от пептидил-тРНК происходит не на очередную аминоксил-тРНК, а на аминоксильный остаток пурамицина.

Образовавшийся пептидил-пурамицин не может удерживаться в пептидил-тРНК-связывающем участке 50S-субчастиц и покидает рибосому. Синтез данного полипептида прекращается.

Антибиотик по существу не подавляет ни связывания аминоксил-тРНК с комплексом мРНК-рибосома, ни процесса образования пептидной связи, ни транслокации пептидил-тРНК. Замещая аминоксил-тРНК, он приводит лишь к образованию пептидил-пурамицина и освобождению рибосом. Поэтому его нельзя назвать истинным ингибитором ни одной из перечисленных реакций, а следует характеризовать как ингибитор элонгации в целом.





Способность пуромицина к образованию пептидной связи была использована для изучения некоторых вопросов, связанных с функционированием рибосом. С его помощью было установлено, например, что образование пептидной связи в рибосоме может происходить без участия ГТФ и факторов переноса, а катализируется самой рибосомой. Далее, поскольку пептидил-пуромицин образуется и в том случае, если антибиотик добавляется к изолированным 50 S-субчастицам с пептидил-тРНК, был сделан вывод о том, что пептидил-трансферазный или «пептид-синтетазный» каталитический центр в рибосоме (Т-центр) располагается на 50 S-субчастице.

По способности пуромицина взаимодействовать с формилметионил-тРНК и отсутствию такой реакции с обычной аминоксил-тРНК можно было судить, что инициаторная тРНК занимает в рибосоме не аминоксил-тРНК-связывающий участок на 30 S-субчастице (А-центр), а пептидил-тРНК-связывающий участок на 50 S-субъединице (П-центр). При обработке пуромицином рибосом в условиях удаления факторов переноса или источников энергии, т. е. когда трансляция приостановлена, освобождается только часть пептидил-тРНК в комплексе с пуромицином. Другая часть нарастающих пептидов остается в рибосомах. Это наблюдение явилось одним из первых доказательств существования двух различных состояний рибосом в процессе функционирования. Эти и другие данные, касающиеся механизма действия пуромицина и пуромициновой реакции как модели образования пептидной связи, суммированы в ряде обзорных

работ (Nathans, 1967; А. С. Спирин, Л. П. Гаврилова, 1971, и др.).

По сравнению с другими антибиотиками пурамицин обладает необычно широким спектром действия. Он подавляет рост самых различных организмов (бактерий, простейших, высших растений и животных), что свидетельствует о принципиально одинаковом для всех организмов механизме синтеза белка на уровне трансляции. Чувствительность различных организмов и клеток к пурамицину колеблется в пределах концентраций антибиотика от 2 до 200 мкг/мл (0,005—0,5 мМ).

Среди бактерий к антибиотику более чувствительны грамположительные организмы. Это связано с различиями в проницаемости клеточных оболочек.

Пурамицин считают скорее бактериостатическим, чем бактерицидным антибиотиком. Так, в концентрации 500 мкг/мл он подавляет размножение *E. coli*, однако при этом не происходит уменьшения числа жизнеспособных клеток в течение 2 ч. Вместе с тем, как аналог аденозина, пурамицин или аминонуклеозидная часть его молекулы могут непосредственно влиять на обмен и функцию нуклеотидов. Описан также распад гликогена при действии пурамицина и его аналогов, который не связан с подавлением синтеза белка. Эти и другие наблюдения, обобщенные Nathans (1967), позволяют понять токсический эффект пурамицина, который препятствует использованию антибиотика для лечения инфекционных заболеваний или злокачественных опухолей у человека и животных.

Дальнейшее изучение влияния пурамицина на клетки и живые организмы в целом проходило по следующим основным направлениям. Прежде всего выяснялись последствия прекращения трансляции под влиянием пурамицина на клеточном уровне. Вместе с тем, с помощью пурамицина уточнялся механизм синтеза белка и секреции молекул на субклеточном уровне (Redman, Sebatini, 1966). Подробно изучалась судьба рибосом в клетках после подавления биосинтеза белка пурамицином, в частности на ретикулоцитах (Jacobs-Logena и др., 1970). Рибосомы не покидают полисомы немедленно после освобожде-

ния образовавшихся молекул пептидил-пурамицина. Короткая инкубация с пурамицином не изменяет полирибосомального профиля в ретикулоцитах. С другой стороны, продолжительная инкубация с пурамицином вызывает дезагрегацию полирибосом. Это свидетельствует о том, что после освобождения растущих полипептидных цепей рибосомы продолжают движение вдоль мРНК и, в конечном счете, покидают ее. Инициация синтеза новых пептидов, по-видимому, может иметь место на внутренних участках глобулиновой мРНК после преждевременной терминации синтеза пурамицином, так как другие ингибиторы синтеза белка (циклогексимид и спарсомин) при добавлении после пурамицина предотвращают разрушение полирибосом. В связи с этим, чтобы оценить, происходит ли изменение аминокислотной последовательности во вновь синтезируемых пептидах за счет смещения «рамки» в процессе синтеза глобулиновых молекул, авторы подвергли анализу пептиды, которые синтезировались после реинициации белкового синтеза с внутренних участков мРНК. Чтобы проанализировать пептидные цепи, иницированные только на внутренних участках мРНК, в качестве ингибитора нормальной инициации был использован NaF. Выделенные неполноценные глобулиновые цепи заметно агрегируют и являются нестабильными. Этим они отличаются от нормально иницированных цепей, незавершенных и освобожденных из рибосом под влиянием пурамицина. Найденные различия в стабильности свидетельствуют о различиях в первичной структуре и подтверждают предположение авторов.

В определенных условиях пурамицин может быть использован для получения биологически активных рибосомальных субъединиц. Blolel и Sabatini (1971) обрабатывали полирибосомы печени пурамицином при 0° и высокой ионной силе. Это освобождало большую часть возникших полипептидных цепей без диссоциации полирибосом, которые сохраняли мРНК и тРНК, но не были способны продолжать трансляцию мРНК. Полисомы нагревали затем до 37°. При этом они полностью диссоциировали на субъединицы. Точно такая же обработка полирибосом без пурамицина ведет лишь к частичной их диссоциации.

С помощью пурамицина проведен сравнительный анализ трансляции на бактериальных и животных рибосомах (Shafritz и др., 1971).

Изучались также некоторые условия, влияющие на освобождение белка из рибосом печени под влиянием пурамицина. Оказалось, что высокие концентрации моновалентных ионов, обуславливая конформационную пластичность рибосом, значительно увеличивают степень освобождения меченых полипептидов. Освобождение полипептидов стимулировалось также клеточным соком, который обладает каталитической активностью в отношении реакции между растущими полипептидами и пурамицином (Hultin, 1966). Идея о возможных конформационных изменениях рибосом под влиянием измененных условий среды и связанной с ними различной чувствительности клеток к антибиотикам, в частности к пурамицину, поддерживается Н. Л. Клячко и О. Н. Кулаевой (1969). С такими конформационными изменениями рибосом авторы связывают различия в возрастной чувствительности синтеза белка к пурамицину в листьях растений и в бесклеточных системах из листьев разного возраста. Установлена большая устойчивость белкового синтеза к пурамицину для рибосом, выделенных из более старых листьев.

Широко используется пурамицин для изучения функции клеточных структур и макромолекул, входящих в их состав. С помощью пурамицина было установлено, что быстро обменивающийся остаточный белок ядер клеток млекопитающих, тесно связанный с ДНК в интерфазе, синтезируется по общепринятому механизму (Deisseroth, 1969).

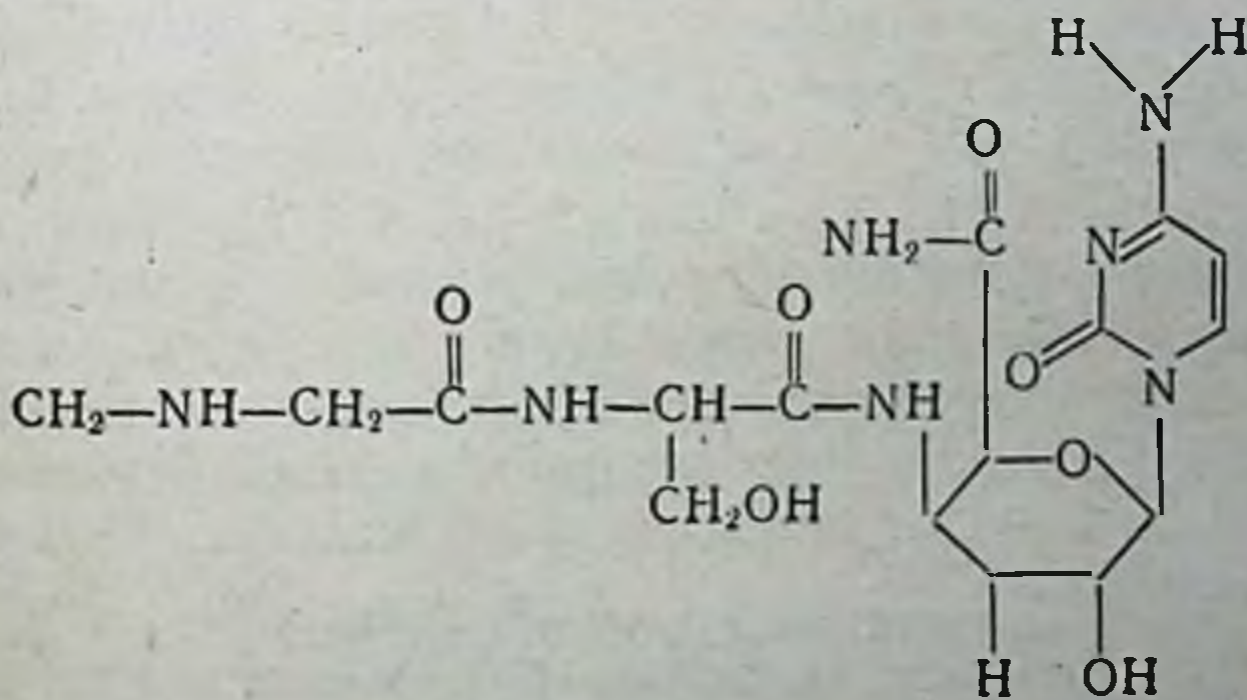
Weinstock (1970) установил цитотоксический эффект пурамицина на аппарат Гольджи панкреатических ацинарных клеток, гематоцитов и амелобластов. И. А. Алов и др. (1971) описали изменения митотического режима клеток после блокады синтеза белков пурамицином.

Антибиотик широко используется также для изучения ряда биохимических процессов высшей степени сложности. Flexner и др. (1971) изучали влияние пурамицина на сохранение памяти у мышей в процессе обучения прохождению лабиринта. Было пока-

зано, что проявление памяти подавляется пурамицином, введенным через один или более дней после обучения. На основании анализа условий, обеспечивающих достижение указанного эффекта, авторы пришли к заключению, что блокирование памяти у мышей пурамицином обусловлено устойчивостью образующегося в синапсах пептидил-пурамицина и что молекулы пептидил-пурамицина продолжительное время сохраняются в субклеточных фракциях синапсом (нервных окончаниях).

Очевидно, что пурамицин, благодаря полному выяснению механизма его действия, может быть использован для изучения других разнообразных физиологических процессов, связанных с синтезом специфических белков. Однако в организме пурамицин или его аминонуклеозид частично подавляет также синтез РНК, нарушая обмен нуклеозидов. Это обстоятельство несколько затрудняет однозначное толкование эффектов, вызываемых пурамицином, если нет прямых доказательств того, что угнетение белкового синтеза действительно является первопричиной изучаемого явления (Nathans, 1967).

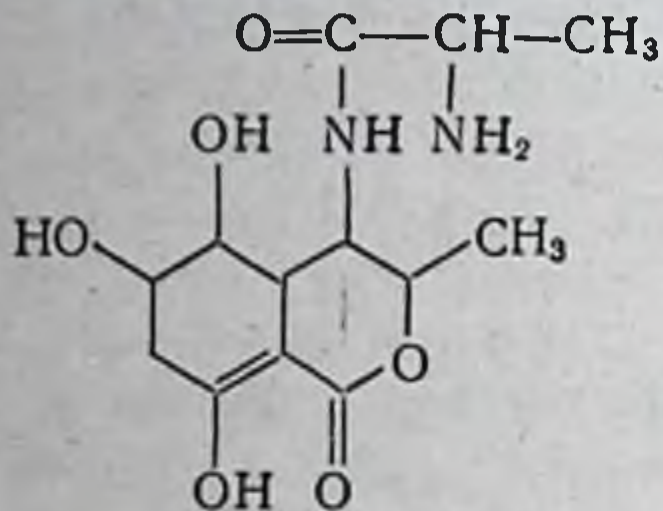
Как конкурентный ингибитор при переносе пептидила на аминоксил-тРНК действует антибиотик гугеротин, также являющийся аналогом Аа-тРНК. Он угнетает и движение рибосом вдоль мРНК.



Гугеротин — водорастворимый антибиотик основного характера — образуется в культурах *Streptomyces gougerotii*. Он обладает широким спектром действия. Однако вследствие низкой антибиотической активности (эффективные концентрации в отношении боль-

шинства микроорганизмов составляют 0,2—0,8 мг/мл), а также из-за токсичности практическое применение гугеротина весьма ограничено (Clagk, 1967).

Возможно, сходным механизмом действия за счет конкуренции с аминоксил-тРНК обладает и антибиотик актиноболин, являющийся производным L-аланина. Он имеет широкий спектр действия.



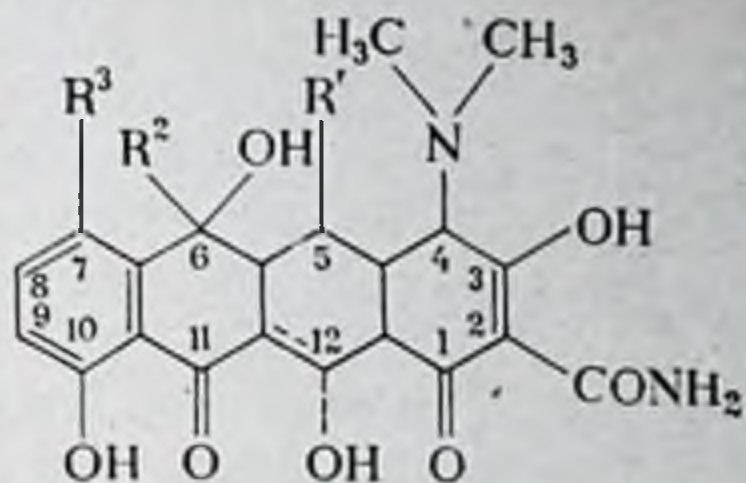
У *E. coli* актиноболин подавляет синтез белка и РНК и вызывает образование нитевидных форм, в клетках мышинной аденокарциномы подавляет синтез белка, ДНК и, в меньшей мере, синтез РНК. В бесклеточной системе того же происхождения он угнетает включение аминокислот. При этом актиноболин не угнетает синтеза аминоксил-тРНК, не вызывает преждевременного освобождения пептидов из функционирующих полисом и не предотвращает этого процесса, если он вызван пурамицином. Вместе с тем, он подавляет связывание C^{14} -фенилаланил-тРНК с комплексом рибосома-полиуридиловая кислота, что и свидетельствует о конкурентном действии по отношению к Аа-тРНК (Smithers и др., 1969).

Если пурамицин, гугеротин и актиноболин можно считать ингибиторами элонгации в целом, то действие других антибиотиков следует рассматривать в связи с подавлением отдельных этапов и реакций элонгации.

ИНГИБИТОРЫ ПРИСОЕДИНЕНИЯ К РИБОСОМАМ АМИНОАЦИЛ-ТРНК

Первым этапом элонгации является присоединение к комплексу мРНК-рибосома аминоксил-тРНК, соответствующей очередному кодону. Наиболее распространенными антибиотиками, подавляющими этот этап трансляции, являются в настоящее время тет-

рациклины. Установлено, что они блокируют А-центр специфического связывания аминоктил-тРНК на 30 S-субчастице. При этом ассоциация рибосом



| R ¹ | R ² | R ³ | |
|----------------|-----------------|----------------|------------------------|
| H | CH ₃ | H | тетрациклин |
| OH | CH ₃ | H | окситетрациклин |
| H | CH ₃ | Cl | хлортетрациклин |
| H | H | Cl | диметилхлортетрациклин |

с мРНК не нарушается. Уже связанные с рибосомами аминоктил-тРНК тетрациклинами не вытесняются. Антибиотики эффективны в концентрации 0,1—50 мкг/мл (10^{-4} — 10^{-5} М). При больших концентрациях тетрациклинов они, возможно, взаимодействуют и с пептидил-трансферазным (Т) центром, подавляя тем самым трансферазную реакцию. Это подтверждается тем, что пурамицин в присутствии 0,5 мг/мл (10^{-3} М) тетрациклина освобождает лишь половину пептидов, связанных с тРНК в рибосомах (Laskin, 1967; А. С. Спирин, Л. П. Гаврилова, 1971, и др.). Синтез РНК тетрациклинами не подавляется (А. И. Гуревич и др., 1969).

Если стадия, на которой тетрациклины взаимодействуют с функционирующими рибосомами, может считаться установленной, то природа этого взаимодействия продолжает уточняться. Last (1969) изучал присоединение тетрациклина, меченного тритием, к рибосомам *E. coli*, используя метод ультрафильтрации. Было показано влияние на это связывание таких условий, как рН, температура среды и ионная сила. Автор пришел к заключению, что ковалентных связей между антибиотиками и рибосомами не образуется. Очевидно, что такое связывание обусловлено электростатическим взаимодействием между тетрациклином и каким-то компонентом (возможно РНК) рибосомы.

Sammagata и др. (1970) установили корреляцию эффективности тетрациклинов в отношении культур *E. coli in vitro* с видом замещений активных групп в D-кольце.

Тетрациклины являются антибиотиками чрезвычайно широкого спектра действия. Они подавляют рост бактерий, риккетсий, микоплазм и некоторых простейших. В большинстве случаев эффективные концентрации для бактерий составляют 0,1—10,0 мкг/мл среды. В клетках животных действие антибиотиков проявляется при значительно больших дозах (около 50—500 мкг/мл для опытов *in vitro*). Описано влияние тетрациклинов на широкий круг обменных реакций как у микроорганизмов, так и в клетках животных. Все эти данные суммированы Laskin (1967). Однако концентрации антибиотиков, вызывающие, например, нарушение окислительных процессов, значительно выше, чем концентрации, необходимые для подавления роста бактерий. Все вышесказанное свидетельствует, что главной мишенью тетрациклинов *in vivo* является биосинтез белка, который происходит на уровне рибосом.

Так как бесклеточные белоксинтезирующие системы, выделенные из резистентных к тетрациклинам бактерий, оказываются чувствительными к антибиотикам, считается общепринятым, что снижение проницаемости оболочки у резистентных клеток является наиболее вероятной причиной резистентности. Sompolinsky и др. (1970) показали, что устойчивость к тетрациклину *S. aureus* связана с экстрахромосомной генетической единицей. Чувствительный штамм активно концентрирует тетрациклин из питательной среды с помощью транспортной системы, которая зависит от источников энергии. Резистентная культура аккумулировала антибиотик в значительно меньшей степени. Inoue и др. (1970) нашли, что индукция резистентности к тетрациклину у тех же микроорганизмов отсутствует, когда синтез белка бактерий подавляется хлорамфениколом или актиномицином D, а также при гистидиновом голодании соответствующих ауксотрофов.

Полипептидные антибиотики с основными свойствами — эдеины, так же как и тетрациклины, по-

соответствует их действию *in vivo* (Szer, Kugylo-Bo-gowska, 1972).

Эденн А обратимо угнетает и синтез ДНК, что также не связано с его поликатионной структурой. Этот эффект проявляется при концентрации антибиотика, в 100 раз меньшей, чем это требуется для подавления синтеза белка (Kugylo-Bo-gowska, Szer, 1972).

Действие, подобное тетрациклиновым антибиотикам, оказывают *in vitro* олигонуклеотиды, содержащие последовательность оснований Т — Ψ — Ц — Г или Г — Т — Ψ — Ц, характерную для «псевдоуридиновой» петли тРНК. На этом основании высказывалось предположение об особой роли этого компонента во взаимодействии тРНК с рибосомой (Gauss и др., 1971).

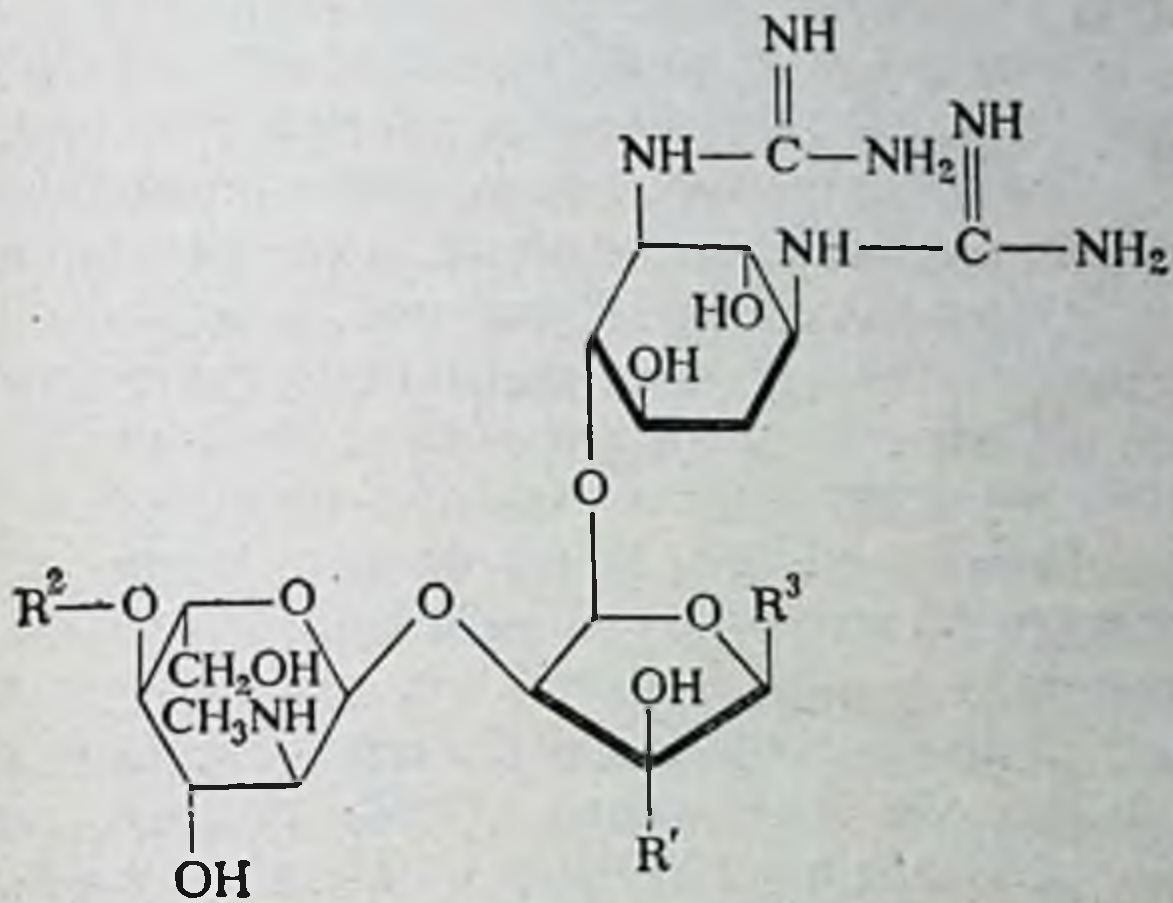
В бесклеточной системе синтез белка угнетается поливиниладенином, поливинилурацилом и соответствующими винильными кополимерами. Reynolds и др. (1972) установили, что указанные полимеры ингибируют связывание аминокцил-тРНК с рибосомами.

Неэнзиматическое связывание аминокцил-тРНК с рибосомами клеток животных подавляется противоопухолевым антибиотиком феномицином. При действии на клетки HeLa он подавляет синтез белка, не затрагивая синтеза РНК и ДНК. В концентрации 100 мкг/мл он угнетает включение меченого лейцина в белок примерно на 50%. Значительно подавляет антибиотик неэнзиматическое присоединение лизил-тРНК к рибосомам *in vitro*, связанным с полиадениловой кислотой или с природной мРНК (Nishimiga, 1968). Подавляется также синтез белка в рибосомальных системах печени крыс и ретикулоцитов кроликов, содержащих нативные мРНК. Есть указания, что в этом случае он действует и на транспептидацию. По своей структуре феномицин является основным полипептидом. Активность его в отношении бактериальных систем незначительна.

Особенно подробного рассмотрения заслуживает влияние на процесс взаимодействия аминокцил-тРНК с рибосомами стрептомицина и других аминоглицозидных антибиотиков.

Стрептомицин выделен из культуры *Streptomyces griseus*. Он обладает невысокой токсичностью и имеет

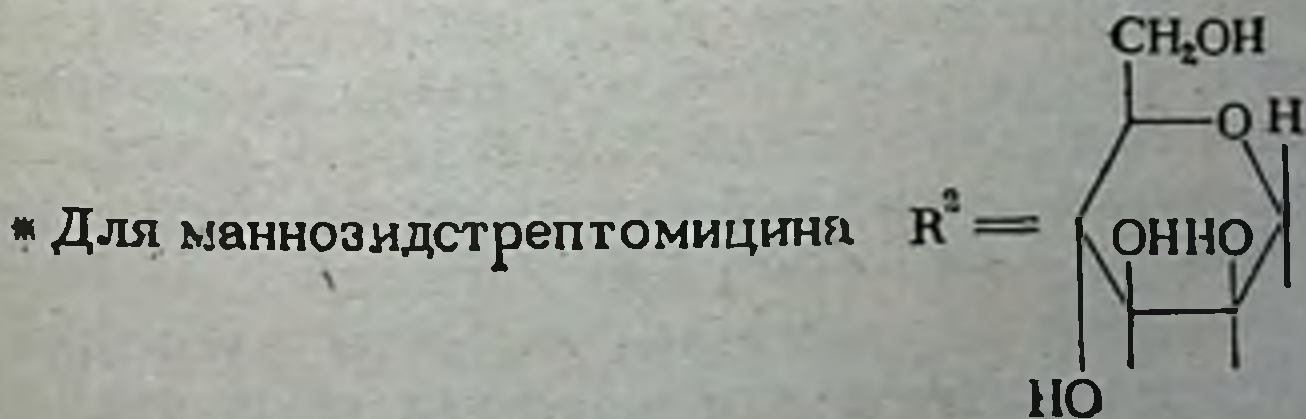
широкий спектр действия. Различные бактерии, в том числе туберкулезные палочки, чувствительны к концентрациям антибиотика порядка 1—10 мкг/мл. Молекула антибиотика состоит из стрептидина, представляющего собой инозит с двумя гуанидиновыми группировками, и стрептобиозамина — дисахарида с метил-аминогруппой. Jacoby и Cogini (1967) рассмат-



| | R ¹ | R ² | R ³ |
|----------------------|--------------------|----------------|--------------------|
| Стрептомицин | CHO | H | CH ₃ |
| Дигидрострептомицин | CH ₂ OH | H | CH ₃ |
| Маннозидстрептомицин | CHO | * | CH ₂ |
| Оксистрептомицин | CHO | H | CH ₂ OH |

ривают стрептидин как замещенный стрептамин, чтобы подчеркнуть наличие у стрептомицина и других аминогликозидных антибиотиков общих химических структур.

Механизм действия стрептомицина интенсивно изучался во многих лабораториях. Многочисленная литература по этому вопросу суммирована в ряде обзоров.



А. С. Спирин и Л. П. Гаврилова (1971), обобщая данные последних лет, подчеркивают, что, взаимодействуя с 30 S-субчастицами рибосом, стрептомицин вызывает некоторое уменьшение сродства А-центра 30 S-субъединиц к аминоацил-тРНК. С другой стороны, этот процесс сопровождается возникновением неспецифического связывания аминоацил-тРНК, которые не соответствуют кодону, находящемуся в А-центре 30 S-субчастицы. В результате возникают ошибочные включения аминокислот в строящийся полипептид. Оба эффекта, по-видимому, являются следствием не каких-то локальных изменений, а результатом искажения конформации 30 S-субчастиц в целом. Pestka (1967) считает, что феномен ошибочного считывания информации под влиянием стрептомицина может быть объяснен неправильным считыванием одного основания в триплетном кодоне. Чаще ошибка происходит за счет 5'-концевого или внутреннего основания триплета.

С помощью стрептомицина уточнялась роль конформации рибосом в процессе распознавания и связывания антикодона аминоацил-тРНК кодоном мРНК (Sherman и Simpson, 1969). Как оказалось, высокие концентрации антибиотика действительно изменяют конформацию рибосом, что приводит к значительному подавлению синтеза пептидов и неправильному считыванию кодонов. Vogel и др. (1970) показали, что 30 S-рибосомальные субъединицы в зависимости от состава могут существовать в активной и неактивной форме. В активном состоянии 30 S-субчастицы в присутствии полиуридилловой кислоты могут без участия других факторов связывать на холоду фенилаланил-тРНК. Было высказано предположение, что активные и неактивные 30 S-субчастицы различаются по конформации. Оказалось, кроме того, что только в активной форме 30 S-субчастицы могут связывать на холоду дигидрострептомицин. Связывание протекает очень быстро. Вместе с тем, если неактивные рибосомы инкубируются с дигидрострептомицином в активирующей среде при повышенной температуре, антибиотик тоже связывается 30 S-субчастицами, но более медленно. При этом лимитирующим скорость связывания этапом является превращение рибосом в активную форму, а не связывание антибиотика. Полиуридило-

вая кислота заметно увеличивает скорость активации рибосом, но не влияет на связывание дигидрострептомицина. Таким образом, конформационные изменения рибосом определяют их взаимодействие с антибиотиком, а, с другой стороны, обуславливают проявление его биологического эффекта.

Интенсивно изучался вопрос о белковых компонентах 30 S-субчастицы, ответственных за связывание стрептомицина и ряда других аминогликозидных антибиотиков. С помощью хроматографического разделения рибосомальных белков на колонке с карбоксиметилцеллюлозой и реконструкции функционально активных рибосом из белков чувствительных и резистентных штаммов Masukawa (1969) выделил и идентифицировал только один компонент (P10), ответственный за чувствительность рибосом к стрептомицину и канамицину. Ozaki и др. (1969) также выделили белок, контролируемый в *E. coli* локусом чувствительности к стрептомицину (*str*). Не противоречат этим данным и результаты Chang и Flaks (1970), которые последовательно удаляли из 30 S-субъединиц белки путем обработки трипсином и показали, что уменьшение способности связывать стрептомицин коррелирует с удалением лишь одного или двух белков. Таким образом, мишенью при действии стрептомицина на рибосомы служат один-два рибосомальных белка.

Изучение природы возникновения резистентности бактерий к стрептомицину оказалось интересным не только с точки зрения выявления взаимодействующих с антибиотиком белков 30 S-субчастиц. Известны мутанты *E. coli*, различающиеся по степени устойчивости к стрептомицину. Природа рибосомной мутации, по видимому, качественно определяет спектр возможного нарушения считывания мРНК (Jacoby, Gogini, 1967). Устойчивость к высоким концентрациям стрептомицина может быть результатом многоступенчатого процесса. Весьма любопытным является изучение природы возникающей у бактерий стрептомицинозависимости. Birge и Kugland (1969) сравнили рибосомальные белки 30 S-субъединиц чувствительных и зависимых от стрептомицина штаммов *E. coli*. При этом был идентифицирован отдельный белок, который является функционально измененным в рибосомах, зависимых

от стрептомицина. Этот белок является тем же (30 S-15), который функционально изменен в рибосомах, резистентных к стрептомицину.

Исследованиями в лаборатории Gogini (Zimmermann и др., 1971; Vjage, Gogini, 1971) показано, что мутация *E. coli* в гене *str*, который кодирует структуру рибосомального белка, затрагивает реакцию бактерий на несколько антибиотиков, а не только на один стрептомицин. Более того, найдено, что мутация во втором рибосомальном гене *gam* может погашать фенотипическое выражение стрептомицинозависимости. По мнению авторов, *gam*-мутации и добавление антибиотика вызывают преодоление зависимости от антибиотика в одинаковой степени и по одной и той же причине. По-видимому, введение генетического или фенотипического фактора одинаково вызывает трансляционную двусмысленность.

Устойчивость бактерий к стрептомицину может быть обусловлена также внехромосомным фактором, который одновременно ответствен за устойчивость к некоторым другим антибиотикам. Однако механизм такой устойчивости отличается от механизма резистентности, обусловленной хромосомным локусом *str*. Рибосомы, выделенные из бактерий, содержащих R-фактор резистентности, *in vitro* оказываются чувствительными к антибиотику. Эписомные факторы резистентности, по-видимому, обеспечивают устойчивость к стрептомицину либо за счет фермента, разрушающего антибиотик, либо за счет изменения проницаемости оболочки бактерий. Ozanne и др. (1969) описали резистентность *E. coli* к стрептомицину, определяемую фосфорилированием 3'-ОН группы 2-дезоксигуано-2-метиламиноглюкопиранозильной части антибиотика. В этой работе приводится также сводка литературных данных о возможном механизме инактивации других аминогликозидных антибиотиков.

Все изложенное выше свидетельствует о ведущем значении действия стрептомицина на А-центр 30 S-субчастицы. Остается, однако, не совсем ясным, влияет ли он преимущественно на элонгацию или на инициацию. Функция рибосом *E. coli* подавляется стрептомицином в большей мере при трансляции экзогенной мРНК, чем эндогенной. Luzzatto и др. (1969) исполь-

зовали три вида мРНК: эндогенную клеточную РНК, экстрагированную клеточную РНК и РНК фага R17. Синтез белка, направляемый экстрагированной клеточной РНК, подавлялся в 3—4 раза больше, чем синтез, направляемый эндогенной РНК. С РНК фага R17 наблюдалось почти полное угнетение синтеза на стадии инициации. Более выраженное угнетение функции экзогенной мРНК связано, вероятно, с тем, что она должна иницировать *in vitro* новые полипептидные цепи. Modolell и Davis (1970) предполагают, что антибиотик освобождает формилметионил-тРНК из преформированного комплекса инициации (30 S-субчастица-мРНК-фмет-тРНК). Эти данные согласуются с представлением, что в целых клетках стрептомицин блокирует рибосомы на ранней стадии синтеза белка. Вместе с тем, чрезвычайно выраженная способность стрептомицина подавлять синтез на стадии элонгации также не вызывает сомнений. При добавлении антибиотика к экстракту из *E. coli*, активно синтезирующему полипептиды на матрице РНК фага MS2, полное подавление синтеза наступает в течение меньшего времени, чем то, которое требуется для включения двух аминокислот на одну активную рибосому (Modolell и Davis, 1968). Бактериостатическая доза антибиотика вызывает *in vitro* почти мгновенную остановку наращивания полипептидных цепей. Таким образом, пока нет оснований отдавать предпочтение эффекту стрептомицина на стадии инициации или элонгации. Видимо, в различных ситуациях могут лишь меняться соотношения между ними.

Представления о механизме действия стрептомицина еще больше усложняются в связи с указаниями о взаимодействии его не только с А-, но и с П-центром. Упомянутые уже данные Modolell и Davis (1970) об освобождении формилметионил-тРНК из преформированного комплекса инициации трудно истолковать иначе, чем свидетельство воздействия и на П-центр. Авторы, описав разрушение белоксинтезирующих комплексов, предположили, что стрептомицин создает какое-то искажение А- и П-центров рибосом, которое усиливает диссоциацию рибосом с пептидил-тРНК. Интересно, что вызываемое стрептомицином освобождение формилметионил-тРНК частично

подавляется тетрациклином. Это позволяет предположить, что искажение стрептомицином П-центра может обусловить искусственный перенос указанной тРНК перед ее освобождением в А-центр (Lelong и др., 1971).

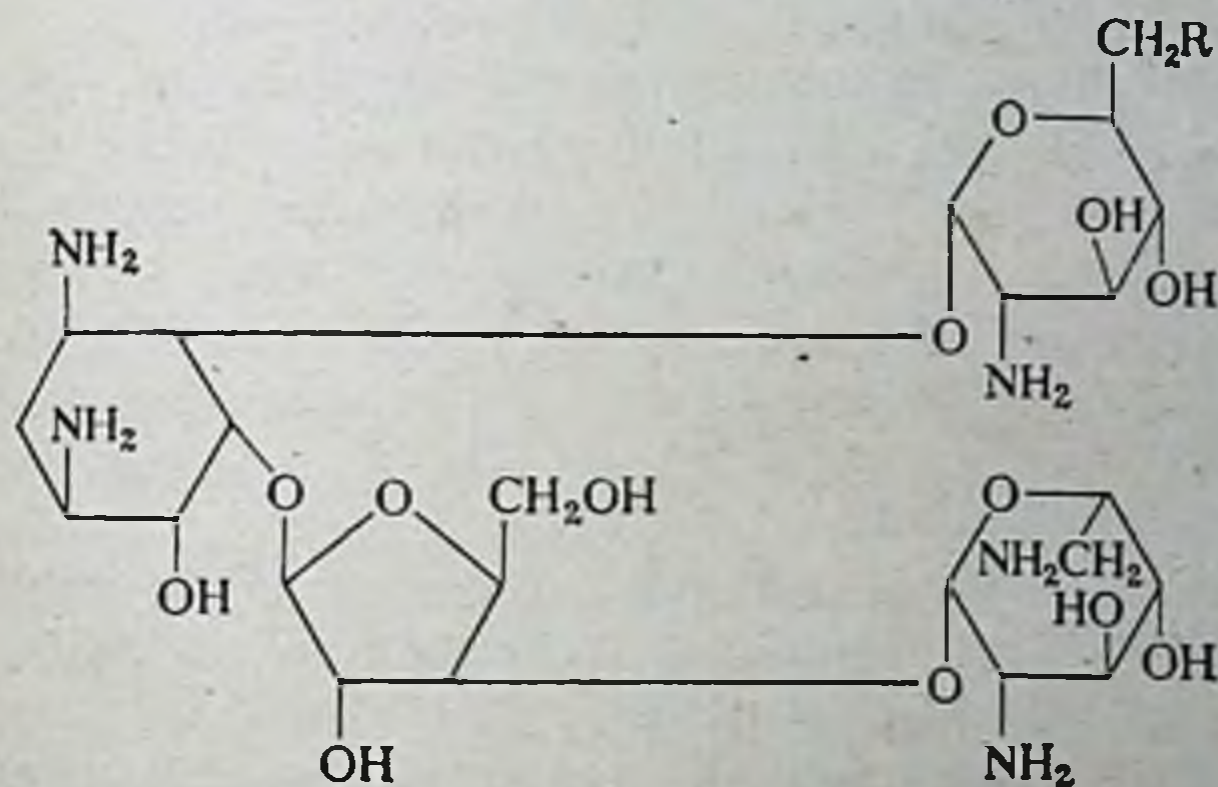
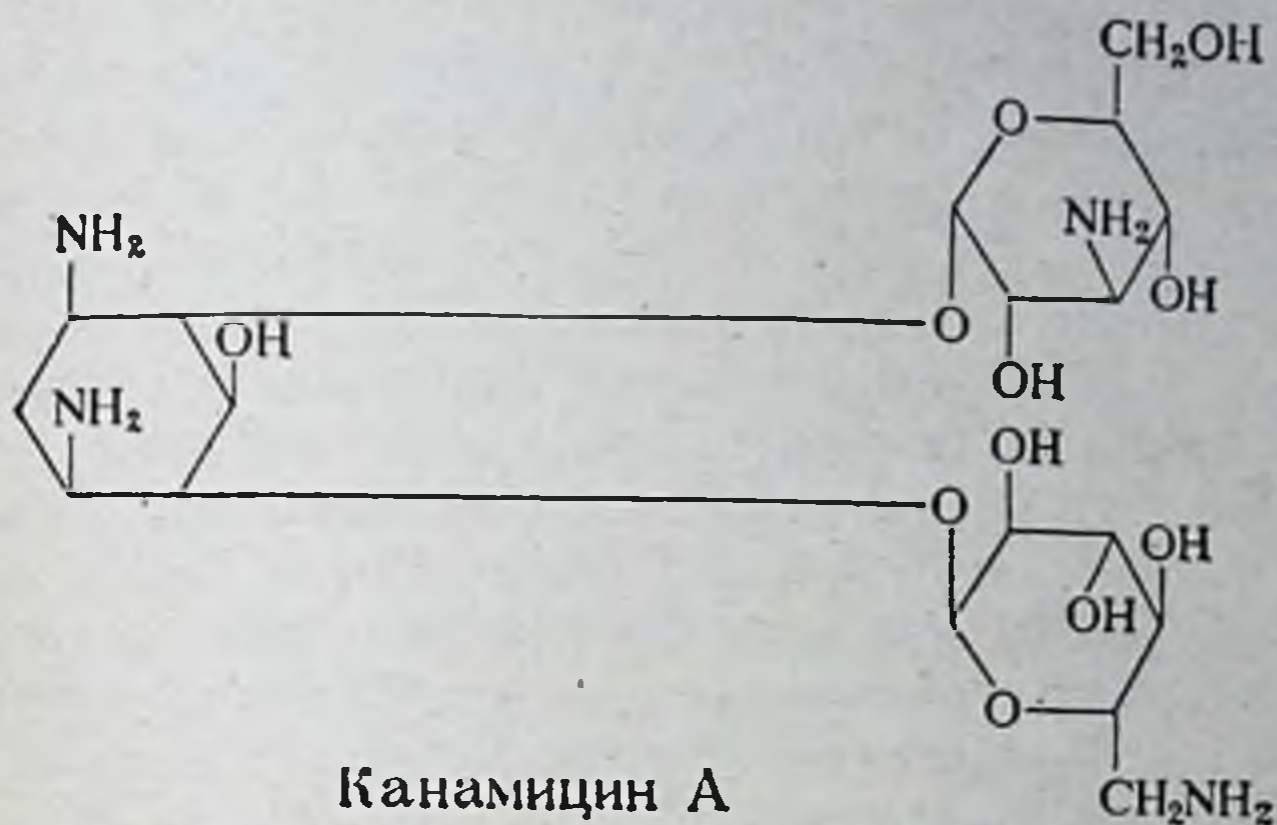
Наконец, описано третье проявление действия аминогликозидных антибиотиков, связь которого с искажением А-центра и предполагаемым влиянием на П-центр не является очевидной. Аминогликозидные антибиотики, по данным Е. Б. Лишневской и др. (1971), в концентрации 0,6 мг/мл (10^{-3} М) стабилизируют ассоциацию рибосомных субчастиц. Эта стабилизация, очевидно, обусловлена усилением собственной связи субъединиц друг с другом, а не увеличением стабилизирующего эффекта аминоацил-тРНК, пептидил-тРНК или каких-либо других компонентов, находящихся в рибосомах. Разные аминогликозидные антибиотики неравноценны в этом отношении. Стрептомицин находится на одном из первых мест, а спектиномицин — на последнем.

С этим эффектом, нарушающим взаимную подвижность субчастиц, можно связать вторичное действие стрептомицина и ряда других агентов этого типа на процесс транслокации.

Стрептомицин и другие аминогликозидные антибиотики либо вообще не действуют на синтез белка в клетках высших организмов, либо оказывают лишь незначительное влияние. Нельзя, однако, пройти мимо некоторых тонких эффектов. Так, оказалось, что стрептомицин каким-то образом изменяет антитела, синтезируемые *in vitro* клетками селезенки и лимфатических узлов кроликов, иммунизированных РНК фага MS2. Антитела, синтезированные в присутствии антибиотика, изменяли свою нейтрализующую активность в отношении фага MS2 (Kueger, 1966). Watkins и Kueger (1970) связывают это явление с уменьшением авидности антител. Видимо, стрептомицин оказывает свое действие на синтез антител, либо изменяя антигенные свойства фага путем связывания с ним, либо искажая чтение информации, содержащейся в соответствующих мРНК.

Что касается других аминогликозидных антибиотиков, то все они (канамицин, неомицин, паромомицин, блуэнзомицин и др.) подавляют

трансляцию, воздействуя на 30 S-субчастицу, по-видимому, подобно стрептомицину. Все эти антибиотики вызывают, хотя и в разной степени, ошибки при счи-



тывании генетического кода (Jacoby, Gogini, 1967) и повышают прочность связи между субчастицами рибосом. В наименьшей степени последний эффект присущ спектиномицину. Своеобразие спектиномицина состоит, по-видимому, и в том, что он оказывает влияние на взаимодействие мРНК с рибосомой.

В последние годы уточнялся механизм действия некоторых антибиотиков этой группы. Оказалось, что чувствительность к канамицину определяет тот же белковый рибосомальный компонент (P10), который ответствен за чувствительность рибосом по

отношению к стрептомицину (Masukawa, 1969). Генетический анализ (Momose, Luigi, 1971) также показал, что продукт гена *str A* является мишенью действия не только стрептомицина.

Suzuki и др. (1970) изучали корреляцию, которая существует между ингибирующим действием канамицина на синтез белка и возникающим под его влиянием ошибочным считыванием генетической информации. Оценивалось также взаимодействие канамицина с другими ингибиторами синтеза белка. Оказалось, что канамицин блокирует диссоциацию рибосом, вызванную бутанолом, подавляет пуромициновую реакцию и вызывает остановку движения рибосом вдоль матрицы мРНК. На этом основании было сделано заключение, что канамицин является ингибитором не только связывания аминоксил-тРНК, но и дальнейших реакций элонгации.

Недавно Machiyama (1971) описал новый аминокликозидный антибиотик — ливидомицин А, который по механизму действия не отличается от других антибиотиков этой группы. Он тормозит синтез полифенилаланина в бесклеточной системе, вызывает ошибки трансляции, но не затрагивает ацетилфенилаланил-пуромициновой реакции, а также не влияет на активность EF-T- и EF-G-факторов, связанную с ГТФ-азной реакцией.

Аминокликозидом является также антибиотик казугамицин, который содержит D-инозитоловый остаток и необычную амидиновую группу. Как и спектиномицин, он не содержит стрептамина или дезокси-стрептаминового остатка. От других аминокликозидных антибиотиков он отличается еще тем, что более эффективен против грамположительных, чем против грамотрицательных микроорганизмов. Возможно, это связано с проницаемостью бактериальных стенок. В бесклеточных системах было показано, что казугамицин снижает связывание аминоксил-тРНК с 70 S-рибосомами в присутствии полинуклеотидов (Weisblum, Davis, 1968). Относительно высокая концентрация антибиотика (640 мкг/мл) подавляла синтез полипептида в экстрактах *E. coli* на 90%. Интересные данные, которые позволяют рассчитывать на скорое раскрытие механизма действия казугамицина, опубли-

кованы недавно Helseg и др. (1971). При изучении нуклеотидного состава 16S РНК из рибосом устойчивого и чувствительного штаммов были найдены различия в составе фрагмента, близкого к концу молекулы 16S РНК. РНК чувствительного штамма содержала в этом фрагменте метилированное основание. По-видимому, в результате мутации, ответственной за резистентность к казугамицину, затрагивается ген, который кодирует синтез фермента, метилирующего 16S РНК. Столь тонкое отличие в структуре 16S РНК приводит к тому, что казугамицин не может взаимодействовать с мутантными рибосомами.

Ранее мы уже рассматривали данные о способности казугамицина в некоторых системах довольно специфично подавлять инициацию.

Описан еще один антибиотик — кирромицин, подавляющий синтез белка, по-видимому, на стадии элонгации при взаимодействии с 30S-субчастицами. Кирромицин образуется культурой *Streptomyces collinus*. Он угнетает рост некоторых бактерий, например *Bac. brevis*, но не активен против *E. coli*. Он интенсивно угнетает синтез полифенилаланина и в бесклеточной системе из *Bac. brevis*. К нему чувствительна также белоксинтезирующая бесклеточная система из *E. coli*. Следовательно, устойчивость к нему культуры *E. coli* определяется какими-то другими факторами. В опытах *in vitro* оказалось, что комбинация 30S-субъединиц, обработанных кирромицином, и 50S-нативных субъединиц синтезировала полипептиды медленнее, чем комбинация 50S-субъединиц, обработанных антибиотиком, и 30S-нативных субъединиц. Это обстоятельство, а также снижение ингибиторного эффекта при добавлении избытка 30S-субъединиц показывает, что кирромицин угнетает трансляцию, взаимодействуя преимущественно или только с малыми субъединицами.

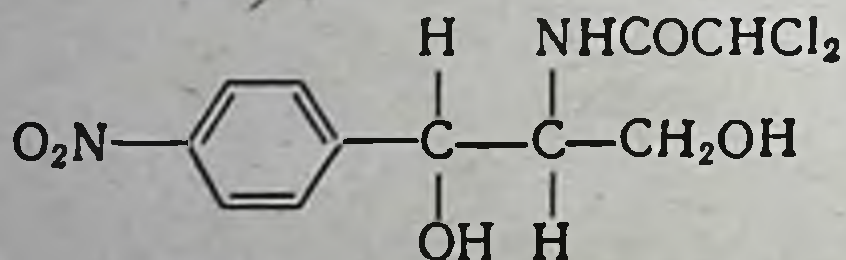
Итак, влияние аминогликозидных антибиотиков на трансляцию является очень сложным. Они могут не только ослаблять связывание аминоацил-тРНК с А-центром рибосомы, но и допускать возможность неспецифического ошибочного присоединения аминоацил-тРНК к «чужим» кодонам. Этот эффект стрептомицина и других аминогликозидных антибиотиков

связан с изменением конформации рибосом. Меняется третичная структура и взаимное расположение рибосомальных субчастиц, что выражается в ненормальной прочной их ассоциации. Есть указания на взаимодействие стрептомицина не только с А-центром, но и с П-участком. Первичные эффекты аминогликозидных антибиотиков проявляются как на стадии элонгации, так и инициации. Механизм действия аминогликозидных антибиотиков определяет возможность получения стрептомицинозависимых мутантов бактерий, неспособных к трансляции в отсутствие антибиотика.

ИНГИБИТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ
(ТРАНСПЕПТИДАЦИИ)

Из этой группы антибиотиков первым следует назвать хлорамфеникол. Он образуется культурой *Streptomyces venezuelae*. Необычным в его структуре является присутствие нитрогруппы.

Ряд исследователей (Г. Н. Телеснина и др., 1968; Ringrose, Lambert, 1973, и др.) оценили значение структурных элементов хлорамфеникола в его действии. Изучалось влияние на рост *E. coli* и на биосинтез белка в бесклеточной системе хлорамфеникола и его аналогов с разными N-ацильными группами, с различными замещениями в ацильной части молекулы,



Хлорамфеникол

незамещенного аминокдиола и, наконец, некоторых продуктов замещения нитрогруппы. Анализ результатов позволил предположить, что ацильная часть молекулы в большей мере сказывается на проникновении антибиотика в клетки или его превращениях до взаимодействия с рибосомами. В частности, аминокильные аналоги практически неспособны подавлять рост бактерий, но довольно эффективны в бесклеточной системе. Винильные, изопропильные и циклопро-

пильные аналоги и многие другие более сложные производные этого типа менее активны, чем хлорамфеникол, в отношении обеих тест-систем. Наконец, найдены сложные производные, например продукт замещения хлорметильной группы на 5-нитро-2-фурилвинил, которые мало влияют на трансляцию в бесклеточной системе, но тем не менее обладают выраженным бактериостатическим действием. Есть основания полагать, что последние принципиально отличаются по механизму действия от хлорамфеникола. Непосредственное же участие в подавлении трансляции принимает, очевидно, нитрофенильная часть молекулы хлорамфеникола.

Нитрогруппа может быть замещена $\text{CH}_3\text{—SO}_2$ -группой без значительного снижения и бактериостатической активности и способности ингибировать синтез в бесклеточной системе. Это производное — т и а м ф е н и к о л — нашел, наряду с хлорамфениколом, применение в клинической практике.

Хлорамфеникол — антибиотик с очень широким спектром действия. Однако он более эффективен в отношении бактериальных рибосом. Он подавляет рост большинства бактерий, риккетсий и возбудителей группы лимфогранулемы—пситтакоза. Чаще всего минимальные эффективные концентрации составляют 0,1—10 $\mu\text{г}/\text{мл}$. Проявлению его биологических свойств и механизму действия на синтез белка посвящены многочисленные оригинальные работы, которые обобщены в ряде обзоров. Наиболее полно представления о действии антибиотика изложены Нанп (1967) и Ю. О. Сазыкиным (1968). Хлорамфеникол взаимодействует с 50 S-субчастицами рибосом, но связывается с ними лабильно. Он ингибирует только образование пептидной связи, в том числе реакцию пурамицина с пептидил-тРНК. Было выдвинуто предположение, что это происходит в результате блокирования пептидил-трансферазного (пептид-синтетазного) центра на 50 S-субчастице рибосом.

Для уточнения механизма, с помощью которого хлорамфеникол подавляет синтез белка, Weber и De Moss (1969) исследовали влияние антибиотика на кинетику вызванного пурамицином освобождения пептидов из пептидил-тРНК. В опытах были использованы

отмытые рибосомы *E. coli*, содержащие синтезируемые полипептиды, в которые до этого *in vivo* включались радиоактивные аминокислоты. При инкубировании таких рибосом в присутствии 10 мкг/мл пурамицина примерно четвертая часть меченого полипептидного вещества освобождалась из пептидил-тРНК. Эта пурамицинзависимая реакция считается эквивалентной пептидил-трансферазной реакции. Хлорамфеникол (100 мкг/мл) подавляет пурамициновое освобождение пептидов на 50%. Следовательно, некоторые пептидные цепи, находящиеся в активных рибосомах, взаимодействуют с пурамицином даже в присутствии хлорамфеникола. Добавление супернатантной фракции и ГТФ увеличивало освобождение полипептидов под влиянием пурамицина. Это дополнительное образование пептидил-пурамицина подавлялось хлорамфениколом полностью. Пептидильные остатки на отмытых рибосомах из клеток, обработанных хлорамфениколом, не освобождались пурамицином в присутствии хлорамфеникола и медленно взаимодействовали с пурамицином, если хлорамфеникол отсутствовал. Чувствительность этого последнего процесса к хлорамфениколу опять-таки повышалась после предварительной инкубации с ГТФ и супернатантной фракцией. На основании перечисленных данных авторы пришли к заключению, что хлорамфеникол подавляет не только перенос пептидила, но угнетает какую-то другую предшествующую реакцию. Этому соответствует и заключение Pestka (1969), который показал, что хлорамфеникол угнетает синтез белка, препятствуя связыванию аминоацильного конца Аа-тРНК с рибосомами.

Таким образом, хлорамфеникол специфически связывается с 50 S-субъединицами рибосом и подавляет прикрепление к ним аминоацильного конца Аа-тРНК, угнетая тем самым транспептидацию. Однако он может также оказывать прямое действие на перенос пептидила.

На активность хлорамфеникола оказывает некоторое влияние и первичная структура мРНК, на матрице которой идет синтез белка. Комплексы рибосом с природными мРНК более чувствительны к антибиотику, чем такие же комплексы с синтетическими полинуклеотидами. Цитидиловая кислота в составе поли-

нуклеотидов повышает чувствительность этих комплексов.

Длительная обработка *E. coli* хлорамфениколом не только подавляет синтез белка, но и глубоко повреждает белоксинтезирующую систему клеток. Рибосомы, выделенные из клеток после действия антибиотика в течение 90 мин, лишены на 12—14% белка и проявляют сниженное сродство к РНК фага MS2 и формилметионил-тРНК. Угнетается синтез белка, направляемый РНК фага. Анализ показал, что эти рибосомы дефектны либо сами по себе, либо в препарате снижено содержание факторов инициации IF-2 и IF-3. Справедливо, по-видимому, последнее, так как добавление факторов IF-2 и IF-3 полностью восстанавливало активность рибосом (Yong, Nacada, 1971).

В этой связи следует напомнить о ряде работ, посвященных «хлорамфениколовым частицам», которые возникают в бактериальных клетках в результате разобщения антибиотиком синтеза белка и РНК и накопления рибосомальной РНК. Главные из этих работ рассмотрены Напп (1967). К этому можно добавить, что при взаимодействии с «хлорамфениколовыми частицами» структурного белка из рибосом интактных клеток происходит образование частиц, практически ничем не отличающихся от нормальных рибосом (М. И. Лерман и др., 1967). Yoshida и Osawa (1968) показали, что белки, входящие в состав «хлорамфениколовых частиц», не синтезируются после воздействия антибиотика, а черпаются из предшествующих запасов белка в клетке. Возможно, что большая часть этих белков соединяется с образующейся рРНК в процессе получения клеточных экстрактов. Lefkovits и Di Girolamo (1969) предположили, что вновь синтезированная рРНК, подобно синтетическим полианионам *in vitro*, может снимать белки с предшествующих рибосом, обуславливая разнообразие «хлорамфениколовых частиц». Авторы наблюдали, что через 15—30 мин инкубации бактериальных клеток с хлорамфениколом происходит выраженное уменьшение числа предшествующих 30S- и 50S-субъединиц и появление «хлорамфениколовых частиц», содержащих РНК, синтезированную до добавления хлорамфеникола.

Как известно, содержание аминокислот в среде играет определенную роль в регулировании биосинтеза бактериальной РНК. Обычные штаммы *E. coli* (gel^+) прекращают синтез рРНК и тРНК, если они лишены необходимых аминокислот. Существуют, однако, мутантные штаммы, которые продолжают синтез рРНК во время аминокислотного голодания (gel^-). Оказалось, что высокие концентрации хлорамфеникола (до 0,2 г/л), значительно подавляющие синтез белка, снижают потребность в аминокислотах как стимуляторах синтеза РНК. Кроме того, когда бактерии выращиваются в обогащенной среде, общая скорость синтеза РНК при добавлении хлорамфеникола практически не затрагивается. При добавлении антибиотика к культурам, растущим в глюкозо-солевой среде, она почти удваивается. В этой связи изучались изменения скорости синтеза всех видов РНК, вызываемые антибиотиком. При этом было установлено, что синтез мРНК в бактериях не координирует жестко с синтезом рРНК и тРНК. В подавленных антибиотиком культурах устанавливаются новые устойчивые состояния синтеза различных фракций РНК, отличающихся от существующих в обычных культурах. Продолжение этих исследований (Midgley, Gray, 1971) показало, что частичная стабилизация мРНК и ее накопление в обычных культурах, а также увеличение скорости синтеза мРНК при добавлении хлорамфеникола к культурам, растущим в лимитирующей среде, является результатом нарушения процессов, координирующих транскрипцию и трансляцию, и, в частности, «обратных связей», существующих между трансляцией и транскрипцией.

Этим не исчерпываются косвенные влияния хлорамфеникола на белоксинтезирующие системы клетки. Хроматографически было обнаружено изменение свойств РНК, образованных в клетках *E. coli* после обработки хлорамфениколом. В присутствии антибиотика в этих клетках синтезируется РНК низкого молекулярного веса, которая подобна 5 S рибосомальной РНК, но не связывается с рибосомами. Образцы олигонуклеотидов, полученные после расщепления РНК-азой 5 S РНК и подобной ей РНК, синтезированной в присутствии хлорамфеникола, отличаются

только последовательностью оснований 5'-терминальных олигонуклеотидов. Дальнейшее изучение свойств 5S РНК, образованной в присутствии хлорамфеникола, показало, что 5'-терминальные цепи этой РНК немного длиннее, чем 5'-конец нормальной 5S РНК и, вероятно, представляют собой формы, предшествующие зрелой 5S РНК (Jordan и др., 1971).

Хлорамфеникол никак не влияет на ассоциацию и диссоциацию бактериальных рибосом (Н. Б. Горкина, В. И. Мазуров, 1970). В то же время есть указание, что к антибиотику более чувствительны рибосомы, связанные с мембранами эндоплазматического ретикулума. Считается, что такие рибосомы, как правило, вовлечены в синтез секреторных белков. Синтез белка связанными рибосомами селезенки подавляется 30 мкг/мл (10^{-4} М) хлорамфеникола на 80—90%, в то время как синтез белка свободными рибосомами значительно более устойчив к антибиотику (Nogman, Ehit, 1966).

Клетки млекопитающих гораздо менее чувствительны к хлорамфениколу. Zelkowitz и др. (1968) сравнивали влияние антибиотика на синтез белка в ретикулоцитах кролика и в чувствительных клетках *E. coli*. Было установлено, что синтез белка в ретикулоцитах и приготовленных из них бесклеточных системах резистентен к хлорамфениколу. Хлорамфеникол не затрагивает прикрепления мРНК к рибосомам ретикулоцитов, а сам не связывается с рибосомами.

Однако гемopoэтическая и иммунная системы являются все же чувствительными к терапевтическим концентрациям хлорамфеникола. Подавление кроветворения и некоторые другие проявления токсичности являются довольно распространенными побочными эффектами при использовании его как лекарства. Хлорамфеникол подавляет индуцированный синтез антител *in vivo* и *in vitro*. Считалось, что эффект обусловлен непосредственным подавлением синтеза глобулинов. Hartman и др. (1969) изучали влияние хлорамфеникола на клетки миеломы мышей. Через 36 ч после введения в среду антибиотик подавлял синтез глобулина на 50%. Однако при снижении общего количества синтезированного белка скорость синтеза на клетку не меняется. Поэтому наблюдаемое

снижение синтеза авторы рассматривают как подавление клеточной пролиферации, вызванное хлорамфениколом. К. Е. Гладкова и др. (1969) также связывают действие хлорамфеникола на антителообразование с влиянием антибиотика на число клеток, синтезирующих антитела.

Подавление хлорамфениколом и его аналогами иммунного ответа у кроликов было продемонстрировано Weisberger и Daniel (1969). Наиболее эффективные аналоги были испытаны с положительным эффектом на больных с системной эритематозной волчанкой — заболеванием, при котором подавление аутоиммунных реакций является средством лечения.

Не действует или незначительно действует хлорамфеникол на биосинтез белка в клетках ряда других высших организмов. Он не блокирует синтез таких белков шелка, как серицин и фиброин, но концентрация свободных аминокислот в большинстве случаев резко уменьшается как в целой шелкоотделительной железе шелкопряда, так и в ее отделах (С. М. Клунова, Ю. Б. Филиппович, 1968). Возможно, это связано со своеобразием механизмов образования этих белков шелка. Полагают, что в этом случае хлорамфеникол угнетает лишь синтез ферментов обмена аминокислот.

Отдельно следует рассмотреть влияние хлорамфеникола на биосинтез белка в хлоропластах и митохондриях. К этому побуждает относительная автономия этих органелл и близость их по многим показателям к бактериям. В частности, рибосомы хлоропластов и митохондрий по размерам либо приближаются к бактериальным, либо меньше последних (O'Veien и др., 1971).

Хлорамфеникол способен подавлять синтез белков в хлоропластах и фотосинтетическую активность листьев (М. К. Николаева и др., 1967). При этом определенная часть белков хлоропластов, вероятно ферментов, участвующих в реакциях фотосинтеза, обладает более высокой чувствительностью к антибиотику. Lloyd и др. (1970) наблюдали при действии хлорамфеникола снижение активности сукциноксидазы и оксидазы НАД-Н₂ в изолированных митохондриях *Polytomella sessa*, а также снижение в них содержа-

ния цитохромов ($a + a_3$) и активности цитохромоксидазы.

Изучение влияния хлорамфеникола на регенерирующую печень крысы после частичной гепатэктомии показало, что в активно растущей ткани печени антибиотик специфически подавляет синтез митохондриальных цитохромов и цитохромоксидазы (De Vries, Kroon, 1970). В некоторых клетках печени наблюдалась интенсивная цитоплазматическая вакуолизация, набухание митохондрий и уменьшение в них количества гребней. На основании данных, полученных в эксперименте и описанных в литературе, Firkin и Linpane (1969) считают, что хлорамфеникол характеризуется, по крайней мере, тремя группами эффектов в клетках высокоорганизованных организмов: довольно специфическим ингибирующим действием на синтез некоторых цитохромов (которое является отражением его действия на митохондриальную белоксинтезирующую систему), действием на клеточную ультраструктуру и прямым подавляющим действием на клеточное дыхание. Последнее наблюдается только при относительно высоких концентрациях антибиотика.

Определенный интерес представляет сравнение чувствительности белоксинтезирующих систем митохондрий и бактерий. Freetan (1970) показал, что чувствительность кишечной палочки к аналогам антибиотика даже в среде, предназначенной для митохондрий, превосходит чувствительность последних. Это не исключает всякого рода суждений об их подобии, а также предположений о том, что эволюционно митохондрии произошли от бактерий, но указывает на опасность слишком прямолинейных сопоставлений.

Влияние хлорамфеникола на биохимические процессы, не связанные непосредственно с синтезом белка, в большинстве случаев все же объясняется торможением синтеза специфических ферментов. Сжатая сводка работ в этом плане содержится в статье Miller и Paschinger (1970). Здесь же авторы показали, что активный транспорт веществ в *Chlorella fusca* может быть поврежден при подавлении синтеза белка хлорамфениколом и другими ингибиторами белкового синтеза. Описана хлорамфениколовая модификация

фагоцитоза за счет подавления НАДН оксидазы лейкоцитов (Kaplan и Finch, 1970). Приводятся данные о подавлении хлорамфениколом в *E. coli* синтеза ДНК бактериофага (Ray, 1970). Нарушение дыхания в дрожжах, вызываемое хлорамфениколом у чувствительных к охлаждению мутантов, опять-таки связано с подавлением митохондриального синтеза белка (Weislogel, Butow, 1970).

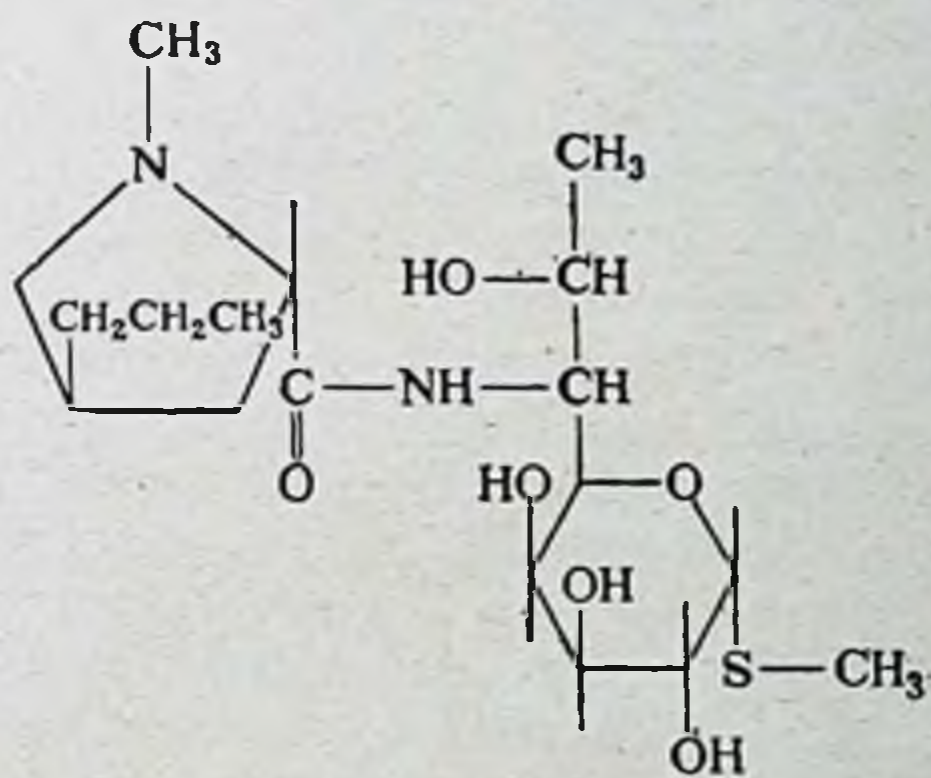
Устойчивость бактерий к хлорамфениколу развивается в результате мутаций и имеет довольно сложную полигенную природу. Иногда устойчивость к антибиотику передается при помощи эписом. Один из биохимических механизмов, обуславливающих устойчивость, сводится к изменению проницаемости оболочек бактерий. Другой механизм заключается в приобретении способности разрушать или модифицировать антибиотик. К обобщениям Halin (1967) и Ю. О. Сазыкина (1968) на эту тему можно добавить, что в случае *Staphylococcus epidermidis* резистентность к антибиотику связана с наличием фермента ацетилтрансферазы хлорамфеникола (Shaw и др., 1970).

Интерференция с хлорамфениколом других антибиотиков широко использовалась для оценки места действия последних. Chang и др. (1969) приводят данные о том, что связывание хлорамфеникола подавляется в порядке снижения эффективности вернамицином А (стрептограмин типа А), вернамицином В (стрептограмин типа В), амицетином, бластицидином и спарсомицином. На этом основании авторы считают, что местом действия перечисленных антибиотиков являются 50 S-субъединицы рибосом. Фусидовая кислота, рифамицин, пактамицин и боттромицин не подавляют связывания хлорамфеникола. Не интерферируют с хлорамфениколом также виомицин, капреомицин и тиострептон.

Итак, хлорамфеникол угнетает синтез белка, непосредственно нарушая образование пептидных связей. Это его действие сопровождается рядом вторичных влияний на обмен веществ. К ним относятся разобщение синтеза белка и нуклеиновых кислот, образование хлорамфениколовых частиц или дефектных рибосом и, наконец, повреждение различных

обменных процессов, зависящих от функции отдельных ферментов, синтез которых тормозится хлорамфениколом особенно интенсивно.

Близким по механизму действия к хлорамфениколу является антибиотик линкомицин. Он вырабатывается культурой *Streptomyces lincolnesis* var. *lincolnesis*. К нему чувствительны многие бактерии, особенно грамположительные. Эффективные концентрации для них, а также для микоплазм, как правило, не превышают 1 мкг/мл. Даже в значительно больших дозах линкомицин не действует на дрожжевые клетки и не влияет в концентрации 40 мкг/мл (10^{-4} М) на синтез белка в бесклеточной системе из ретикулоцитов кролика. Его химическая структура представлена ниже. Данные, касающиеся механизма действия лин-



Линкомицин

комицина, суммированы в обзоре Chang и Weisblum (1967). Анализ этих данных показывает, что линкомицин взаимодействует с 50 S-субъединицами рибосом и является конкурентным антагонистом по отношению к хлорамфениколу и эритромицину. Связывание его с рибосомами носит обратимый характер. Обобщая последние данные, касающиеся механизма действия линкомицина, А. С. Спирин и Л. П. Гаврилова (1971) предполагают, что антибиотик взаимодействует с аминокилсвязывающим центром пептидил-трансферного участка рибосомы так, что мешает связыванию 3'-концевого фрагмента аминокил-тРНК. Таким

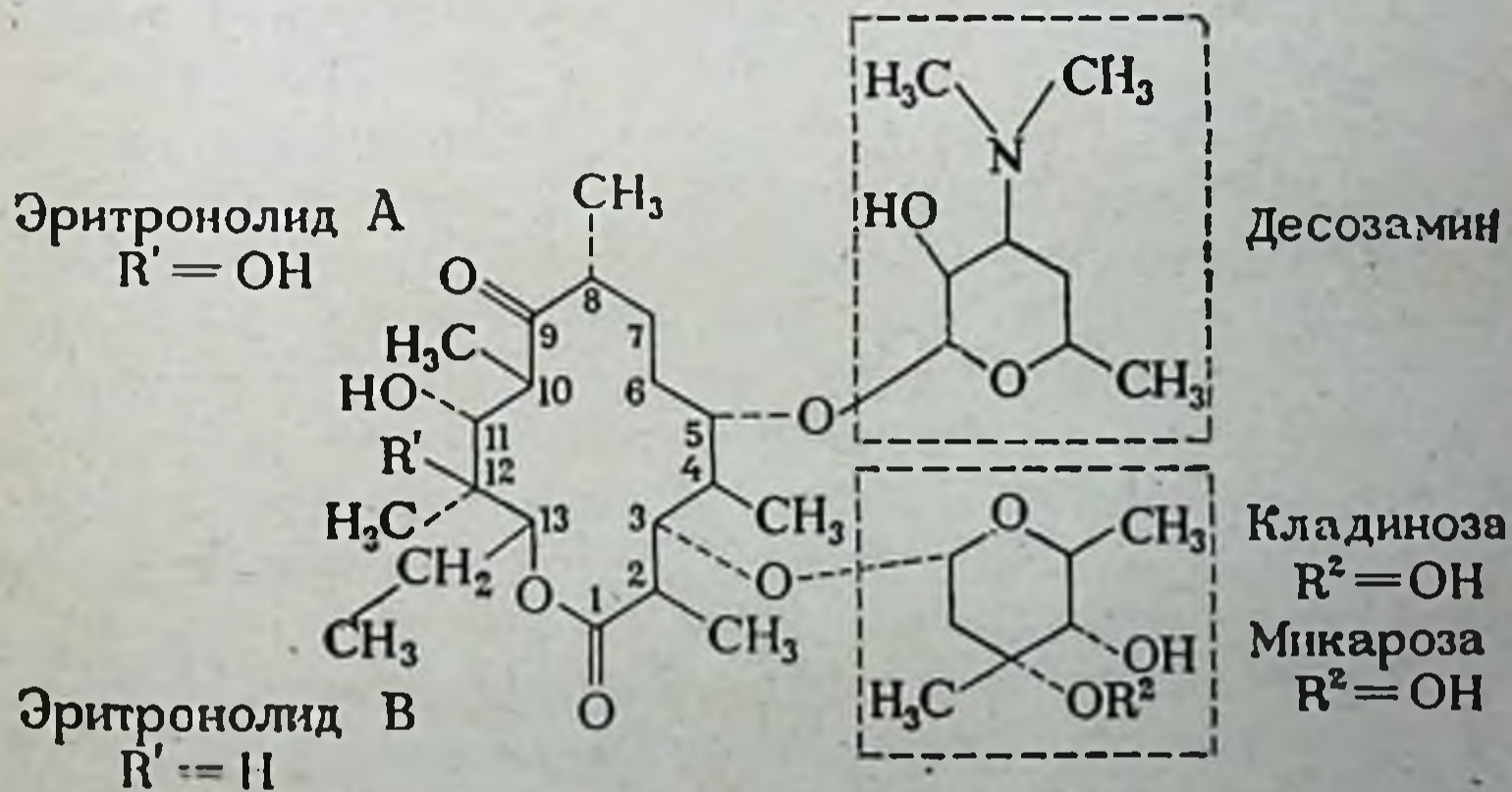
образом, линкомицин очень близок по механизму действия к хлорамфениколу.

Довольно обстоятельно исследовался механизм действия еще одного антибиотика — спарсомицина, также угнетающего образование пептидной связи. Спарсомицин — серусодержащий антибиотик с эмпирической формулой $C_{31}H_{21}N_3O_6S_2$ — выделен из культуры *Streptomyces sparsogenes*. Он подавляет синтез белка в клетках KB эпидермоидной карциномы человека, в белоксинтезирующих системах из печени и мозга крыс, а также в *E. coli*. Следовательно, он является подобно пуромицину в какой-то мере универсальным, эффективным как в отношении про-, так и эукариотов. Изучение его свойств в бесклеточных системах из *E. coli* и ретикулоцитов кроликов показало, что антибиотик предотвращает включение активированных аминокислот в полипептидные цепи. При синтезе белка *in vitro* он подавляет разрушение полисом. Спарсомицин ингибирует также индуцированное пуромицином освобождение незаконченных полипептидных цепей. Эти и ряд других данных позволили предположить, что спарсомицин подавляет образование пептидных связей. Неггер и др. (1969) отметили, что спарсомицин стабилизирует связь пептидил-тРНК с П-участком. В частности, он увеличивает ферментативное связывание *N*-ацетилфенилаланил-тРНК (аналога пептидил-тРНК) с рибосомами. Это действие может быть обусловлено изменением структуры П-участка рибосомы или противодействием транслокации. Монго и др. (1969) также пришли к заключению, что спарсомицин подавляет синтез белка, индуцируя образование инертного комплекса между пептидил-тРНК и 50 S-рибосомальной субъединицей. Позднее было установлено, что для образования стабильного комплекса *N*-ацетилфенилаланил-тРНК и рибосомы со спарсомицином наличие мРНК в рибосомах не обязательно. Находясь в таком комплексе, ацетилфенилаланил-тРНК оказывается защищенной от нуклеофильного воздействия гидроксиламина (Jimenez и др., 1970). Анализируя приведенные данные, А. С. Спирин и Л. П. Гаврилова (1971) допускают, что большая молекула спарсомицина, присоединенная к аминокислотсвязывающему центру П-участка

рибосомы, простирается вплоть до пептидильсвязывающего центра и перекрывает сам донорный субстрат, что вызывает закрепление последнего на рибосоме. Такой стабилизированный комплекс не способен к образованию пептидной связи между донорным и акцепторным субстратом (в том числе пурамицином). Недавно Haggis и Pestka (1973), используя аналоги акцепторных концов Аа-тРНК и Пп-тРНК — ЦАЦА (^{14}C) — фенилаланил и ЦАЦА (^{14}C) — ацетилфенилаланил, получили новые данные в пользу фиксации спарсомицином пептидил-тРНК, а также показали его способность нарушать взаимодействие рибосом с аминоксильным концом Аа-тРНК.

Место связывания спарсомицина частично перекрывается местом связывания хлорамфеникола (Tada, Trakatellis, 1970). Интересно также, что спарсомицин взаимодействует с белоксинтезирующей системой в присутствии супернатантных факторов только после того, как пептидил-тРНК прореагирует с пептидилтрансферазой.

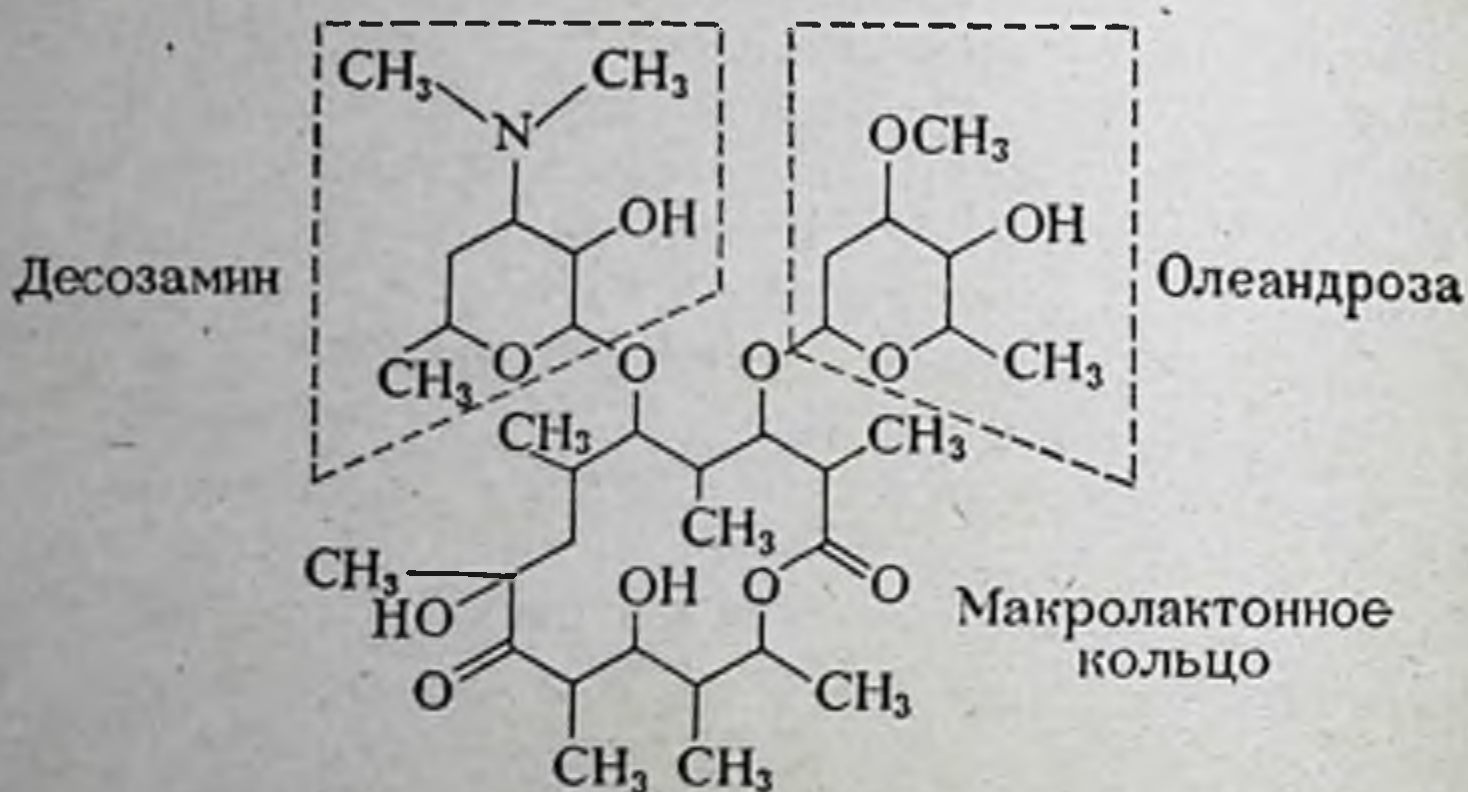
К ингибиторам образования пептидной связи следует отнести, далее, антибиотики из группы макролидов. К ним относятся такие распространенные в лечебной практике антибиотики, как эритромицин и олеандомицин, а также карбомицин, ниддамицин, спирамицин, тилозин и др.



| | | |
|---------------|-------------------|---------------------|
| Эритромицин А | $R^1 = \text{OH}$ | $R^2 = \text{CH}_3$ |
| Эритромицин В | $R^1 = \text{H}$ | $R^2 = \text{CH}_3$ |
| Эритромицин С | $R^1 = \text{OH}$ | $R^2 = \text{H}$ |

Для всех макролидов характерно наличие макролактонного кольца, кетогрупп и аминосахаров, связанных с агликоном гликозидными связями. Наиболее типичным представителем этой группы является эритромицин, который вырабатывается культурой *Streptomyces erythreus* и обладает преимущественно бактериостатическими свойствами. Он подавляет рост большинства грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий в концентрациях от 0,1 до 10 мкг/мл. По сравнению с другими макролидами эритромицин обладает меньшей токсичностью.

Что касается олеандомицина, то по своим свойствам и структуре он близок к эритромицину. Олеандомицин вырабатывается культурой *Streptomyces antibioticus*. Лактонное кольцо его построено из 14 ато-



мов и мало отличается от соответствующего кольца эритромицина. Молекула олеандомицина содержит нейтральный сахар олеандрозу и остаток аминосахара десозамина. По спектру антибактериального действия олеандомицин идентичен эритромицину и другим макролидам. В отношении большинства грамположительных бактерий он активен в концентрации от 0,3 до 3 мкг/мл. Как и эритромицин, он малотоксичен.

В бесклеточной системе из *E. coli* изучено подавление этими макролидами трансляции не только на природных, но и на различных синтетических РНК. В частности, в концентрации около 100 мкг/мл ($1,5 \cdot 10^{-4}$ М) олеандомицин подавлял на 14% синтез полифенилаланина, направляемый полиуридилевой

кислотой, на 45% — синтез полилизина на матрице полиадениловой кислоты и на 84% — синтез полипролина на полицитидиловой кислоте (Vazques, 1966).

Представления о механизме действия эритромицина, олеандомицина и других макролидов претерпели определенную эволюцию. В ряде исследований было исключено действие макролидов на активацию аминокислот, образование аминоацил-тРНК, прикрепление мРНК к рибосомам и ассоциацию рибосом. После того, как было показано, что макролиды связываются только с 50 S-субчастицей, стало возможным исключить и подавление присоединения Аа-тРНК к А-центру 30 S-субчастицы (Hahn, 1967; Ennis, 1966, и др.). Выбор же между следующими процессами — транспептидации и транслокации — оказался очень трудным. Наряду с подавлением элонгации высокомолекулярных полипептидов, эритромицин не тормозил образование ди- и трилизиновых пептидов (Тапака и Тэгаока, 1968; Pestka, 1971, и др.). Эти и другие аналогичные наблюдения с эритромицином и олеандомицином склонили многих исследователей к представлению о действии их не на перенос пептидила, а на транслокацию. В то же время другие макролиды не проявили таких особенностей действия на синтез полипептидов разного размера. Возникшие противоречия нашли разрешение лишь недавно, в результате всестороннего изучения механизмов взаимодействия макролидов с 50 S-субчастицей и действия на синтез олигопептидов различной природы.

Изучение количественных характеристик взаимодействия эритромицина с 50 S-субчастицей в присутствии различных катионов проделала Мао и Wiegand (1967), а также ряд других авторов. Всеми использованными методами было показано, что эритромицин специфически присоединяется к 50 S-субъединицам рибосом — 1 молекула антибиотика на субъединицу. Связывание требует наличия ионов NH_4^+ или K^+ . Ионы Mg^{2+} лишь слегка подавляют это связывание. Скорость связывания возрастает с увеличением температуры. Константы ассоциации комплекса эритромицин — рибосома, определенные мембранной фильтрацией и равновесным диализом, — $4,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ и $2,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ соответственно — свидетельствуют

о его стабильности. Однако ковалентные связи при этом не образуются. Комплекс диссоциирует при анализе. Эритромицин может быть экстрагирован из комплекса органическими растворителями.

Связывание эритромицина с рибосомами *E. coli* при различных концентрациях одновалентных катионов было исследовано далее Тагаока (1970). При определенной концентрации K^+ или NH_4^+ рибосомы приобретают необходимую для связывания эритромицина конформацию. В свою очередь связывание эритромицина вызывает дальнейшее изменение конформации рибосом. Неоптимальные концентрации K^+ или NH_4^+ , по данным Тагаока и Такака (1971), могут даже вызвать заметную стимуляцию эритромицином синтеза *N*-ацетилфенилаланил-пуромицина. Этот эффект наблюдается в условиях таких низких концентраций K^+ или NH_4^+ , при которых пуромициновая реакция едва заметна.

С помощью производных эритромицина были выявлены группы его молекулы, необходимые для образования комплекса. Эстерификация эритромицина в 2'-позиции десозамина приводит к потере его активности, нарушая его способность прикрепляться к бактериальным рибосомам (*S. aureus*, Tagdrew и др., 1969). Показано также, что в связывании эритромицина участвуют как азотистые основания рибосомальной РНК, так и белки рибосом. Авторы этих исследований (Мао, Putterman, 1969) предположили, что специфические группы эритромицина образуют водородные связи с первичными аминогруппами и азотом кольца оснований нуклеотидов, а белок стабилизирует комплекс, образуя гидрофобные связи с гидрофобной областью эритромицина.

Эритромицин и олеандомицин подавляют синтез белка в большей степени в щелочных растворах, чем в кислых. Мао и Wiegand (1968) показали, что макролиды с низкой константой диссоциации (карбомидин, ниддамицин) нарушают взаимодействие с рибосомами как аминоацил-тРНК, так и пептидил-тРНК. Макролиды с высоким pK (эритромицин, олеандомицин) нарушают лишь связывание пептидил-тРНК. Именно эти наблюдения, свидетельствующие

о большей «деликатности» воздействия эритромицина и олеандомицина, послужили одним из ключей для разрешения отмеченного выше противоречия между представлениями, складывавшимися относительно механизмов действия эритромицина и олеандомицина, с одной стороны, и всех остальных известных макролидов, с другой. Уже упоминалось, что первые надежно подавляли синтез только относительно крупных полипептидов, не менее, чем трипептидов, что и явилось основанием для предположения, что они подавляют не столько образование пептидной связи, сколько транслокацию. Однако в результате обширных исследований последних лет сложились достаточно обоснованные представления о том, что эритромицин и олеандомицин не являются исключением и, подобно другим макролидам, действуют только на этапе образования новой пептидной связи, изменяя активность пептидилтрансферазы (Мао, Robishaw, 1971). Их своеобразие определяется тем, что они ингибируют перенос на Аа-тРНК лишь тех пептидилов, которые характеризуются повышенной гидрофобностью второго аминокислотного остатка и относительно большим размером его боковой цепи. Этим объясняются упомянутые сообщения об отсутствии подавляющего действия эритромицина на перенос некоторых пептидилов. Однако даже такое избирательное действие оказывается достаточным для надежного подавления трансляции в целом. Интересно также, что перенос на Аа-тРНК не пептидила, а остатка аминокислоты, т. е. реакция образования первой пептидной связи — не только не подавляется, но даже стимулируется эритромицином. Это свидетельствует о еще большей избирательности, — ингибируется только элонгация, но не инициация.

Характер изменений, наступающих в пептидилтрансферазном центре под действием макролидов, пока не выяснен. Мао и Robishaw считают, что весь сложный комплекс накопленных данных о действии эритромицина на перенос пептидных остатков различного размера и состава можно объяснить следующим образом. Пептидил связывается с донорным участком 50 S-субчастицы двумя радикалами: боковой цепью 1-й аминокислоты (считая от тРНК) и боковой цепью 2-й аминокислоты. Эритромицин так меняет

конформацию донорного участка, что влияет на взаимодействие с 1-й цепью благоприятно, но заведомо неблагоприятно — на взаимодействие со 2-й, если последняя гидрофобна по природе и обладает относительно большим размером. Поэтому перенос остатка аминокислоты стимулируется, а перенос пептидила при определенных свойствах второго остатка подавляется. Можно полагать, что такая избирательность действия эритромицина со временем послужит важным подспорьем при ингибиторном анализе процессов синтеза белка.

Что же касается иного механизма действия других макролидов, то он, по-видимому, обусловлен их более грубым и распространенным действием на пептидил-трансферазный центр, вызывающим нарушение взаимодействия не только с пептидиллом, но и с аминоацилом.

В ряде работ подчеркивается определенное сходство в действии хлорамфеникола, линкомицина и эритромицина, что опять-таки согласуется с изложенными выше представлениями об объекте действия последнего.

Вместе с тем, отмечают и существенные различия в действии перечисленных антибиотиков. Тегаока и др. (1969, 1970) провели сравнительное изучение влияния этих антибиотиков на синтез полилизина в бесклеточной системе из *E. coli*. Было показано, что эритромицин имеет более высокое сродство с рибосомами *E. coli*, чем линкомицин и хлорамфеникол. Взаимодействие эритромицина с рибосомами не подавлялось добавлением линкомицина или хлорамфеникола, тогда как эритромицин подавляет присоединение хлорамфеникола и линкомицина к чувствительным рибосомам.

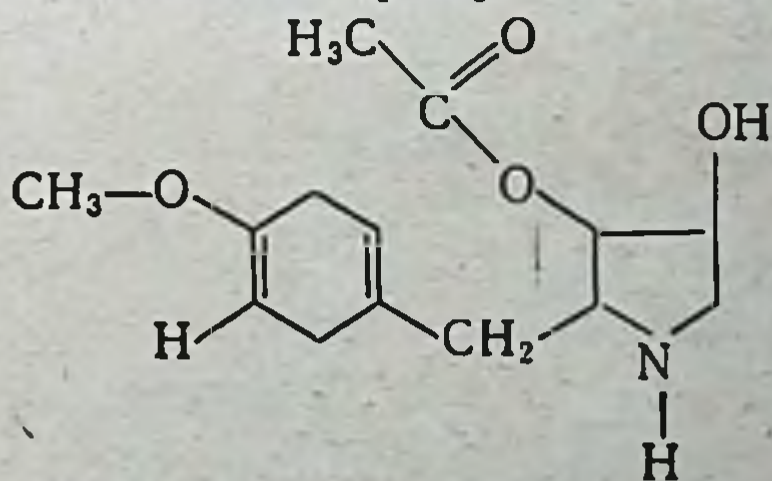
При добавлении хлорамфеникола в бесклеточную систему синтез полилизина подавляется и накопление небольших лизиновых пептидов, как это имеет место в случае с эритромицином, не наблюдается. При одновременном добавлении эритромицина и хлорамфеникола предпочтительно выявляется эффект, характерный для эритромицина. Наконец, реакция между *N*-ацетилфенилаланил-тРНК и пурамицином в рибосоме подавляется хлорамфениколом, но не эритроми-

цином. В то же время ингибирующее действие хлорамфеникола в этой системе полностью устраняется эритромицином. По-видимому, в результате связывания эритромицина происходит изменение конформации рибосом и последующее освобождение из рибосом хлорамфеникола.

Развитие резистентности бактерий к эритромицину и другим макролидам при повторных воздействиях на ряд генераций связано, по-видимому, с некоторыми изменениями в структуре 50 S-субрибосомальных частиц, что сказывается на взаимодействии антибиотика с реакциями синтеза белка (Wilhelm, Cogsoan, 1967). Lai и Weisblum (1971) сообщили о наличии *N*-диметилладенина в 23S РНК рибосом устойчивого к эритромицину штамма *S. aureus*.

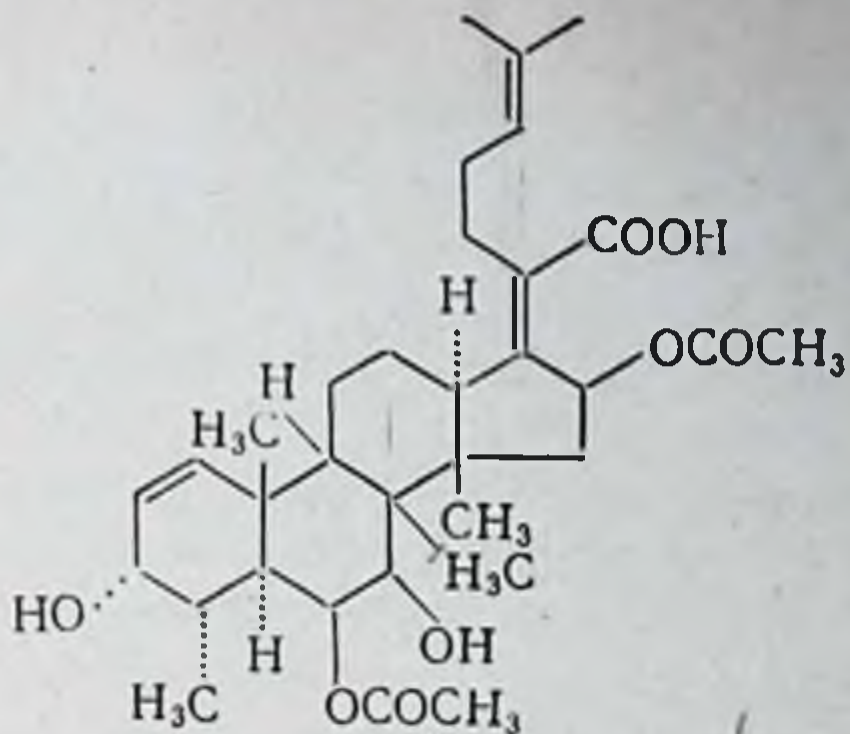
Важно, что эритромицин и олеандомицин в комбинации с антибиотиками другого механизма действия (особенно с тетрациклином) обладают синергическим эффектом. Это дает возможность использовать их для борьбы со штаммами бактерий, устойчивыми к одному из антибиотиков, и для уменьшения вероятности возникновения устойчивости к антибиотикам.

Относительно малоактивен в отношении бактерий, но зато высокоэффективен в отношении эукариотов (клетки HeLa и их экстракты, ретикулоциты и дрожжи) анизомидин. Ранее его относили к ингибиторам транслокации. В присутствии анизомидина нарастающий пептид остается прикрепленным к полисомам.



Анизомидин

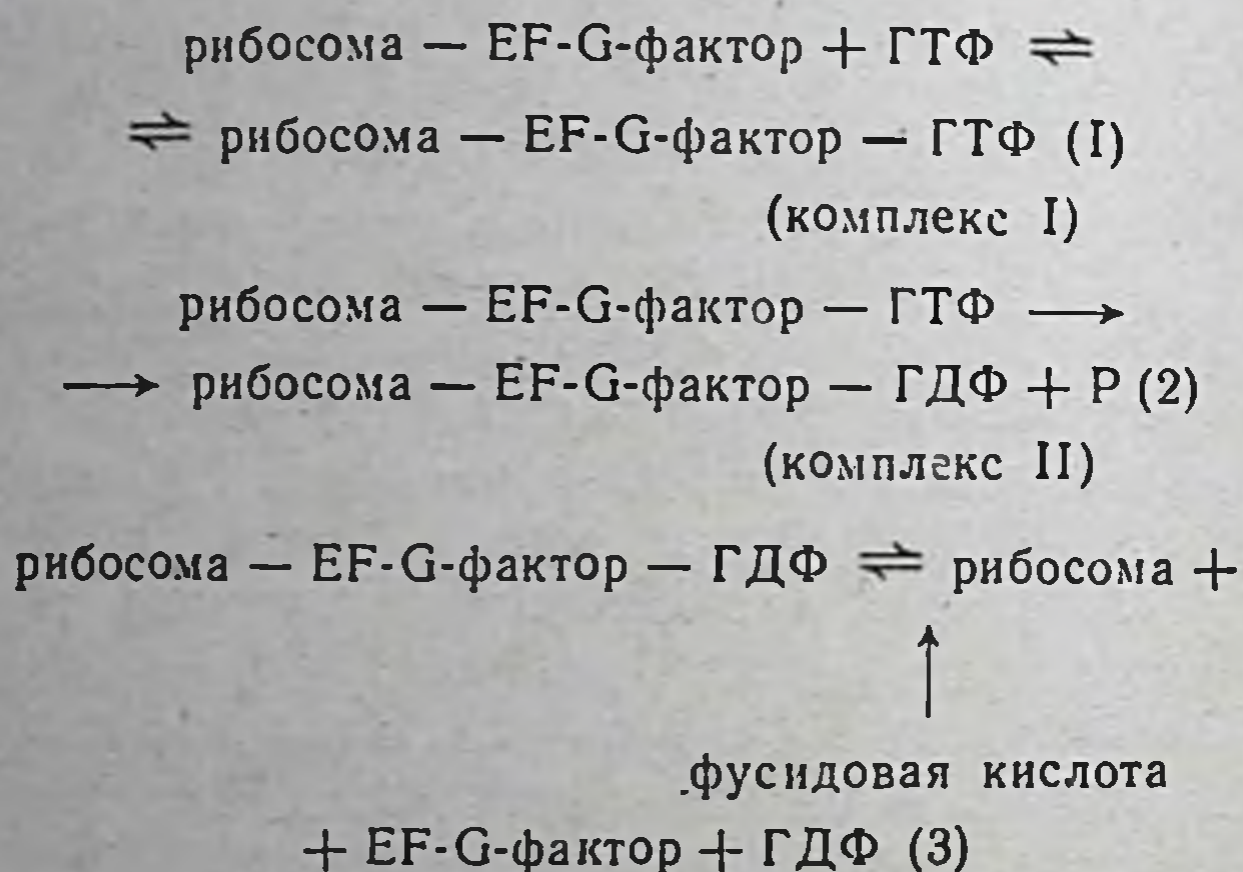
Однако изучение его влияния на пурамициновую реакцию и опыты по синтезу олигопептидов на изолированных больших субчастицах рибосом привели к заключению, что первичным объектом его действия является реакция образования пептидной связи (Grollman, Huang, 1973).



Цефалоспорин P₁

(1967). Так как фусидовая кислота в бесклеточных системах из *E. coli* *in vitro* не влияла на образование полисом, а также на образование аминоацил-тРНК и их связывание с полисомами, был сделан вывод, что подавление роста грамположительных бактерий происходит на более поздних стадиях трансляции. Выдвигалось предположение, что фусидовая кислота угнетает полимеризацию аминокислот на этапе, который следует за образованием комплекса мРНК-рибосома-аминоацил-тРНК. Вскоре, однако, Pestka (1968) пришел к заключению, что фусидовая кислота специфически подавляет процесс транслокации. В опытах *in vitro* она угнетает синтез трифенилаланина и более крупных пептидов, но не подавляет образования дипептида, т. е. не затрагивает активности пептидилтрансферазы. Дальнейшие исследования подтвердили это заключение и уточнили механизм действия антибиотика. Тапака и др. (1968) первыми показали, что стероидные антибиотики подавляют ГТФ-азную активность EF-G-фактора рибосом. В их опытах подавление синтеза полипептидов фусидовой кислотой устранялось EF-G-фактором, но не избытком EF-T-фактора или рибосом. Фусидовая кислота в отсутствие ГТФ и EF-G-фактора не влияла существенным образом на пурамицинозависимое освобождение из рибосом полипептидов. Но пурамициновая реакция, усиленная ГТФ и EF-G-фактором, подавлялась антибиотиком. Далее было показано, что подавление транслокации коррелирует с угнетением ГТФ-азной активности EF-G-фак-

тора (Такака и др., 1969). Другая группа исследователей (Bodley и др., 1969), уточняя механизм действия фусидовой кислоты на EF-G-фактор, установила, что в концентрации 500 мкг/мл (10^{-3} М) она не угнетает образование комплекса рибосома — EF-G-фактор — ГДФ, который возникает как промежуточный продукт реакции при расщеплении ГТФ. При молярном избытке рибосом и EF-G-фактора фусидовая кислота не затрагивает ни скорости, ни степени гидролиза ГТФ. Более того, в присутствии фусидовой кислоты указанный комплекс как бы стабилизируется. На основании этих данных Bodley и др. (1970) предположили следующую схему гидролиза ГТФ и влияния на нее фусидовой кислоты:



Ко всему вышеизложенному следует добавить, что в более высоких концентрациях (5×10^{-3} М) фусидовая кислота подавляет не только активность фактора EF-G, но угнетает также инициацию. Это было установлено Sala и Cifeggi (1970), которые нашли, что антибиотик тормозит модельную реакцию инициации, т. е. АУГ-зависимый синтез N-формилметионилпурамицина в бесклеточной системе. Более того, было показано, что фусидовая кислота действует также на этапе, предшествующем образованию первой пептидной связи, и что подавление может быть частично устранено избытком фактора инициации IF-1, но не за счет избытка фактора IF-2 или рибосом,

Подавление синтеза белка фусидовой кислотой в клетках млекопитающих происходит по тому же механизму, что и в бактериальных клетках. С помощью белоксинтезирующей системы из ретикулоцитов Тапака и др. (1969, 1970), Malkin и Liptmann (1969) наблюдали подавление фусидовой кислотой ГТФ-азной активности фактора EF-T2 и связанного с ним синтеза белка, а также пурамициновой реакции, усиленной ГТФ и фактором T2.

Резистентность к фусидовой кислоте, возникающая у микроорганизмов, по данным Pheip и др. (1967), может быть обусловлена как изменением проницаемости клеточных стенок, так и чувствительности белоксинтезирующих систем бактерий к антибиотику.

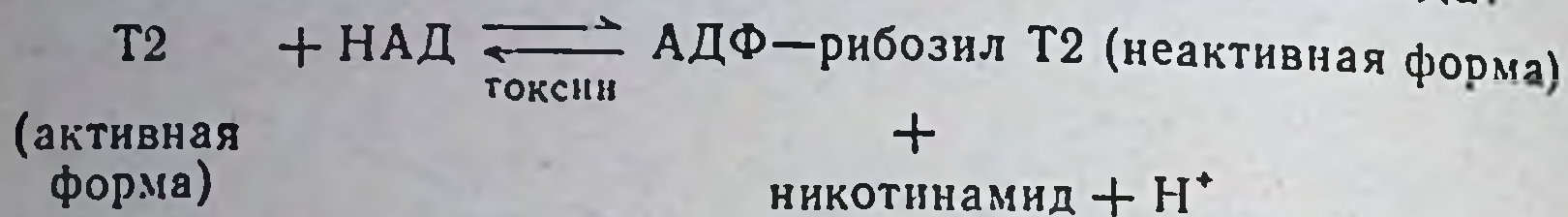
Другие антибактериальные стероидные антибиотики (гельволовая кислота и цефалоспорины P₁) близки к фусидовой кислоте по химической структуре и по антибиотическим спектрам. Их активность отличается, видимо, лишь в количественном отношении (Нагвеу и др., 1967).

Таким образом, стероидные антибиотики угнетают синтез белка, преимущественно у бактерий, препятствуя переносу новой пептидил-тРНК из А-центра в П-центр рибосом. Наиболее изучен механизм действия фусидовой кислоты, которая блокирует диссоциацию промежуточного комплекса рибосома — EF-G-фактор — ГДФ, угнетая, таким образом, ГТФ-азную активность фактора. В белоксинтезирующих системах эукариотов механизм действия фусидовой кислоты аналогичен. В более высоких концентрациях фусидовая кислота может угнетать инициацию трансляции, взаимодействуя с фактором IF-1.

Фусидовая кислота и ее аналоги пока еще не нашли широкого применения в клинической практике, но исследуются как перспективные антибактериальные и даже противовирусные агенты (последние — благодаря их активности в отношении трансляции в клетках эукариотов). Наибольшее применение фусидовая кислота нашла в исследовательской практике.

Кроме фусидовой кислоты, на внерибосомальный фактор транслокации направлено действие дифтерийного токсина. В клетках эукариотов дифте-

рийный токсин в присутствии НАД специфично подавляет трансферазный фактор EF-T2, когда он не связан с рибосомами. При использовании НАД с пометкой в различных частях ее молекулы было показано, что токсин катализирует образование ковалентной связи между рибозо-5-дифосфатным концом НАД и фактором EF-T2 с освобождением никотинамида:



Согласно Tasuku и др. (1971), эта реакция обратима.

Механизмы транслокации, связанные не с EF-T2 или EF-G-факторами, а с самой 50 S-субъединицей, являются объектом действия пептидного антибиотика бриамицина (тиострептона). Его структура описана Anderson и др. (1970), эмпирическая формула — $\text{C}_{69}\text{H}_{84}\text{N}_{18}\text{O}_{18}\text{S}_5$. Он подавляет, в частности, включение C_{14} -лейцина в интактные клетки *Vac. megaterium* и включение C^{14} -фенилаланина, направляемое в экстрактах из *E. coli* полиуридилевой кислотой. Белоксинтезирующая активность экстрактов, предварительно обработанных тиострептоном, а затем отдиализованных, может быть восстановлена путем пополнения этих экстрактов 50 S-, но не 30 S-субъединицами. Это и свидетельствует о том, что антибиотик взаимодействует с 50 S-частицами рибосом. В дальнейших исследованиях было показано, что тиострептон влияет на реакцию гидролиза ГТФ 50 S-частицами, которая осуществляется в 70S-рибосомах с участием EF-G-фактора. Тиострептон угнетает эту реакцию, подавляя образование комплекса рибосома — EF-G-фактор — ГТФ (Weisblum, Demohn, 1970). Будучи отличен от фусидовой кислоты тем, что действие его направлено на саму рибосому, а не на внерибосомный фактор, он способен к торможению как «энзиматической», так и «неэнзиматической» транслокации (Pestka, Brof, 1971).

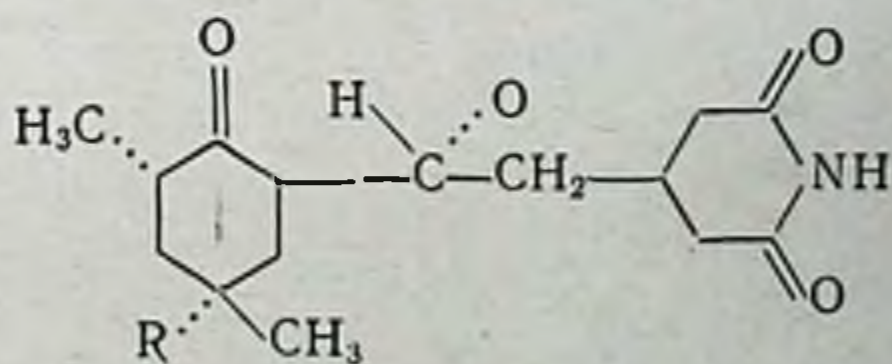
Защитить рибосомы от инактивации тиострептоном можно за счет предварительного связывания рибосом с EF-G-фактором и ГДФ. Это объясняют особенностью стерического взаимодействия всех этих веществ с рибосомами, — участки их связывания на

50 S-субчастице очень близки друг к другу или совпадают (Highland и др., 1971).

Данные Саппон, Вигнс (1971) свидетельствуют о том, что тиострептон может угнетать также присоединение к рибосомам аминоксил-тРНК, хотя это его действие не является ведущим в подавлении трансляции.

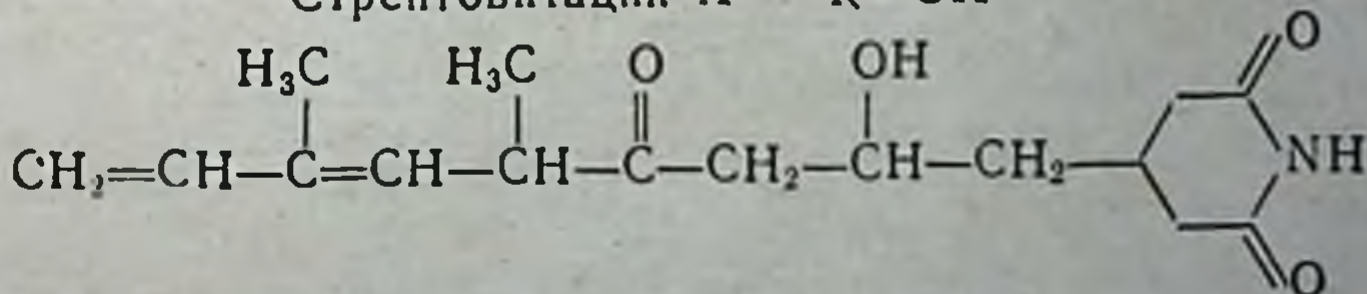
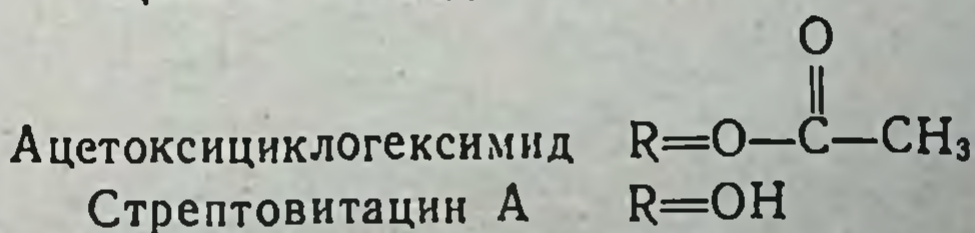
К агентам, угнетающим синтез белка путем нарушения транслокации, относятся глутаримидные антибиотики. Они обладают широким спектром действия, подавляя рост и синтез белка организмов с рибосомами типа 80 S, т. е. эукариотов — патогенных грибов, дрожжей и простейших. Вместе с тем, они неактивны в отношении бактерий.

Глутаримидные антибиотики выделяются из культур различных актиномицетов. Все они содержат β -(2-оксиэтил)-глутаримидную часть молекулы, связанную с циклическим или ациклическим кетоном. Более других изучен циклогексимид (актидион), представляющий собой β -[2(3,5-диметил-2-оксоциклогексил)-2-оксиэтил]-глутаримид. В концентрации 0,5—1 мкг/мл он угнетает на 80—90% синтез белка в дрожжевых и животных клетках, а его производное — ацетоксициклогексимид — в концентрации 5 мкг/мл подавляет включение аминокислот в белки печени и клетки асцитных опухолей у мышей на 95—96%.



Циклогексимид

R=H



Стрептимидон

Количественная оценка ингибирующего эффекта циклогексимида в отношении синтеза белка *in vivo* дана Yeh и Shils (1969). Изучалось влияние циклогексимида на включение C^{14} -лейцина в белки различных тканей крысы. Оказалось, что доза 0,25 мг/кг вызывает подавление синтеза белка в большинстве тканей. Установлены зависимость эффекта *in vivo* от дозы и время максимального его проявления.

В меньшей мере циклогексимид затрагивает синтез белка в митохондриях, что особенно заметно при изучении синтеза белка в изолированных органеллах (Ashwell, Work, 1968). Очевидно, это связано с тем, что рибосомы митохондрий высших животных относятся к классу 55 или 70S, т. е. ближе к бактериальным.

Резистентность к циклогексимиду амёб Hankins и Hainton (1971) объясняют тем, что их рибосомы по структуре и функции напоминают таковые прокариотов.

Первые исследования механизма действия антибиотика позволили предположить, что он угнетает одну или несколько реакций инициации и элонгации. Кроме того, было показано, что циклогексимид подавляет как разрушение, так и сборку (восстановление) полирибосом. Все эти данные были обобщены Sisleg и Siegel (1967), а затем Obrig и др. (1971). Сравнительная оценка действия циклогексимида и других антибиотиков (фусидовой кислоты и спарсомицина) на включение меченых аминокислот в бесклеточную белоксинтезирующую систему из ретикулоцитов кроликов и на пуромидиновую реакцию (McKeehan, Hardesty, 1969; Obrig и др., 1971), изучение влияния на эффект циклогексимида сульфгидрильных соединений (Valiga и др., 1969, 1970) и ряд других работ по уточнению объектов действия антибиотика (Rao, Grollman, 1967, и др.) показали, что в основе подавления как инициации, так и элонгации лежит взаимодействие с 60S-рибосомальными субъединицами. Инициация блокируется при более низких концентрациях, чем элонгация, так как сродство к рибосоме меньше, если донорный участок занят тРНК. Антибиотики угнетают наращивание полипептидных цепей, подавляя перемещение пептидил-тРНК из А-участка в П-участок рибо-

сом путем задержки освобождения деацилированной тРНК из донорного участка. При этом недостроенная полипептидная цепь остается фиксированной на рибосоме, транслокация не совершается.

Таким образом, чувствительным к циклогексимиду является донорный участок 60S-субъединиц, т. е. пептидил-тРНК-связывающий центр трансферазного участка рибосом, причем антибиотик блокирует транслокацию пептидил-тРНК.

Не следует переоценивать единодушие исследователей в отношении того, что циклогексимид преимущественно подавляет транслокацию. Можно привести немало примеров исследований, в которых делается заключение о повреждении им пептидил-трансферазного центра. Приведенные выше данные не позволяют полностью исключить этот механизм. Однако, если повреждение пептидил-трансферазного центра циклогексимидом действительно происходит, то нет оснований считать его ведущим в подавлении этим антибиотиком трансляции.

Циклогексимид оказывает прямое действие не только на рибосомальный синтез белка. В предыдущем разделе отмечалось его действие на ядрышковую РНК-полимеразу, правда в гораздо больших концентрациях, нежели те, которые достаточны для подавления трансляции. В дрожжах антибиотик ингибирует синтез низкомолекулярной рРНК в большей мере, чем высокомолекулярной (Hendricks и др., 1969). Однако в клетках *Sphaerelia sorghi* антибиотик подавляет синтез белка и ДНК, но увеличивает содержание РНК. Изменения пропорциональны концентрации антибиотика (Chinnadurai, 1970). Наконец, в присутствии циклогексимида в *Neurospora crassa* накапливается высокомолекулярный предшественник рибосомальной РНК с несколько измененными свойствами (Viau, Davis, 1970). Перечисленные данные свидетельствуют, что повреждение синтеза нуклеиновых кислот под действием циклогексимида может носить характер как первичного, так и вторичного процесса и проявляется в зависимости от условий опыта.

Как эффективный ингибитор синтеза белка циклогексимид был испытан в отношении различных вирусных возбудителей. Fridman и Grimley (1969) описали

повреждение циклогексимидом сборки вируса леса Семлики при его выращивании в культуре клеток. По мнению авторов, это происходит из-за уменьшения синтеза основного белка, необходимого для образования вирусного нуклеоида. Moss и Filler (1970) нашли, что циклогексимид вызывает в определенной стадии инфицирования клеток необратимое повреждение репродукции вируса вакцины. Это происходит только за счет подавления синтеза специфических белков, необходимых для трансляции вирусной нуклеиновой кислоты. Антибиотик подавляет также накопление вируса Tobacco rattle в дисках листьев *Nicotiana clevelandi* (Harrison, Crockett, 1971). Эти данные иллюстрируют возможности использования циклогексимидов для изучения механизмов репликации вирусов.

Описаны неэффективные попытки использования циклогексимидов как противоракового агента. Применение антибиотика в практической медицине невозможно из-за его высокой токсичности. В этом отношении более перспективны, вероятно, некоторые другие глутаримидные антибиотики. Для попыток практического применения они еще недостаточно изучены.

С помощью антибиотика изучался синтез клеточных стенок (Elogza, Sentandreu, 1969) и клеточное деление (Агога и др., 1970). Показано его антимитотическое действие. Использовался циклогексимид и для ингибиторного анализа процесса эмбриогенеза (Klion-sky, Wigglesworth, 1970, и др.).

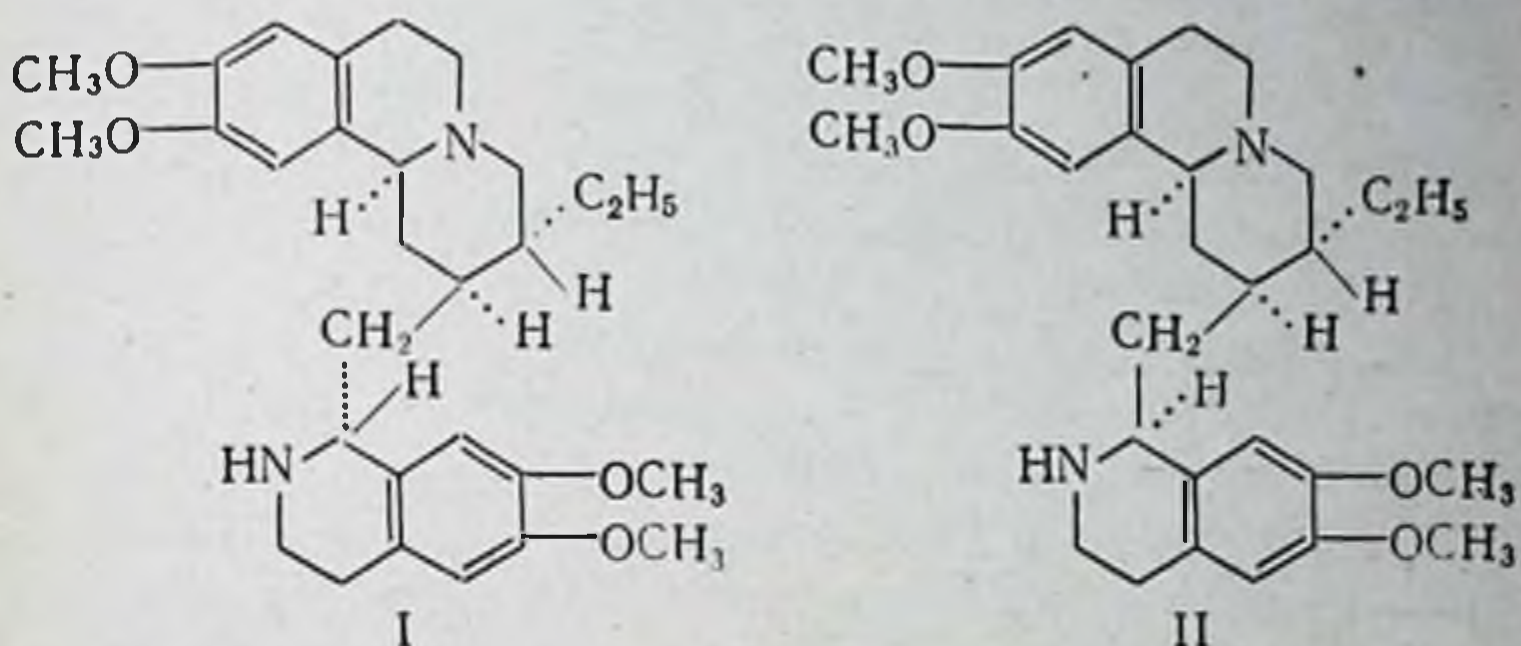
Отмечалось влияние циклогексимидов на энергетический обмен в клетках (Sisler, Siegel, 1967). MacDonald и Ellis (1969) показали, что обмен веществ в растениях может быть поврежден циклогексимидом не только путем подавления синтеза белка. По-видимому, он способен непосредственно затрагивать процессы дыхания и обмен ионов в тканях растений.

Циклогексимид применялся также для выяснения роли биосинтеза белка клеток мозга в формировании сохранения памяти. Опыты с использованием антибиотика велись на членистоногих, рыбах, млекопитающих и других объектах (Segal и др., 1971).

Все изложенное свидетельствует о том, что циклогексимид и другие глутаримидные антибиотики (актифенол, стрептимидон, стрептовитацин и др.) привлека-

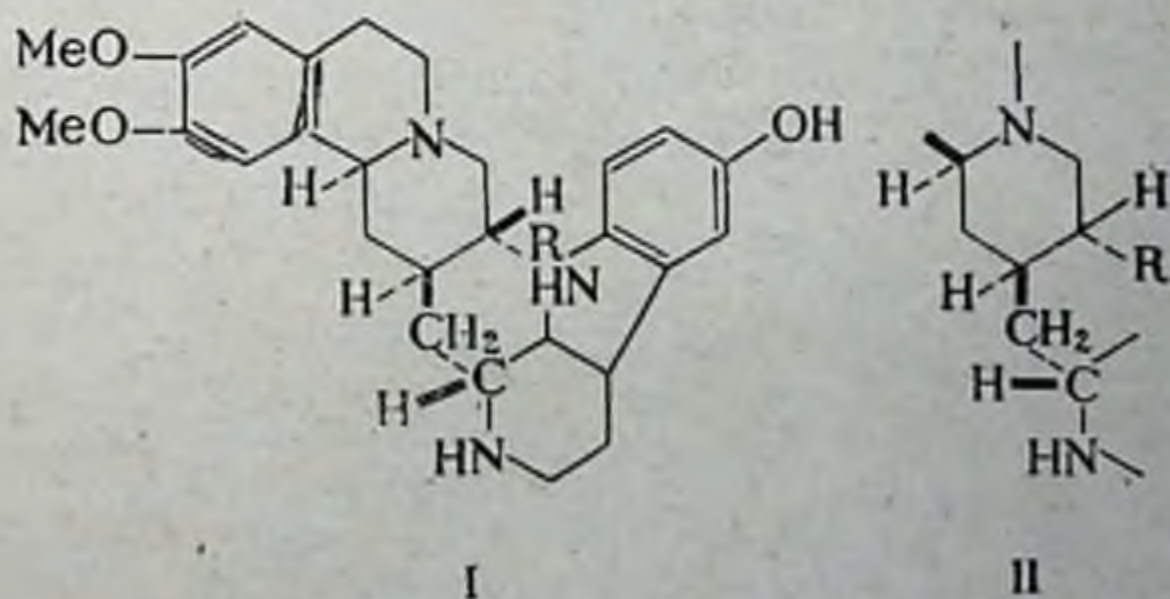
ли серьезное внимание исследователей как инструмент ингибиторного анализа.

По характеру действия к циклогексимиду и другим глутаримидным антибиотикам приближаются некоторые алкалоиды. Grollman (1968) обнаружил определенную связь между эффектом этих алкалоидов и их структурой. К ним относятся прежде всего алкалоид ипекакуаны эметин (I). Его изомер (II) не



обладает биологической активностью. В концентрации около $0,5 \text{ мкг/мл}$ (10^{-6} М) эметин вызывает полное торможение синтеза белка в клетках HeLa. Он предотвращает разрушение полисом, индуцированное пурамицином, но не влияет при этом на освобождение нарастающего пептида. Последний эффект заставляет полагать, что эметин тормозит только часть механизмов транслокации — те, от которых непосредственно зависит перемещение мРНК (Grollman, Huang, 1973).

Другой алкалоид — тубулозин — обладает амебицидной активностью и, очевидно, близок по механизму действия к эметину (Grollman, 1967).



I — тубулозин, II — его активная часть.

К ингибиторам транслокации относили ранее анизомицин. Сейчас, однако, больше оснований считать его ингибитором образования пептидной связи. Поэтому он рассмотрен в предыдущем параграфе.

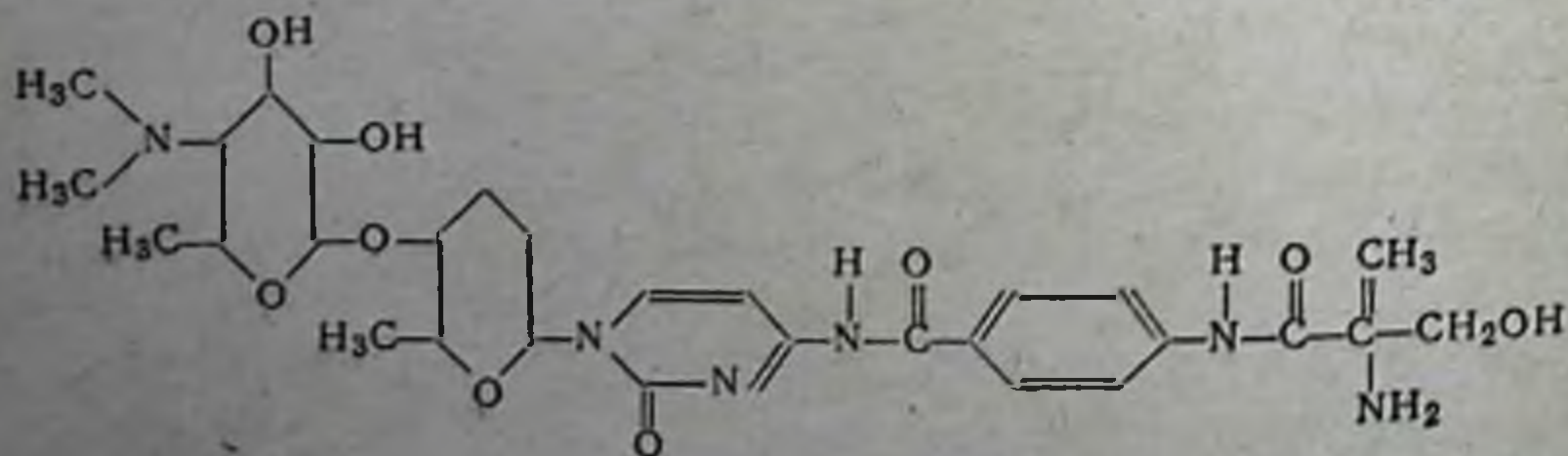
Недавно семейство антибиотиков — ингибиторов транслокации, действующих на рибосому, а не на вне-рибосомные факторы, пополнилось еще двумя агентами — сномицином А и микрококцином. Первый очень близок по механизму действия к тиостреп-тону и подавляет транслокацию, взаимодействуя с акцепторным участком. Второй также подавляет транслокацию, но не оказывает влияния на гидролиз ГТФ (Pestka, Brot, 1971; Watanabe, 1972).

Оценивая в целом различные ингибиторы транслокации, следует отдать предпочтение с точки зрения специфичности фусидовой кислоте и тиострептону, хотя «репутация» у этих агентов не безупречна — есть указания об их прямом воздействии на другие стадии процесса трансляции. Несколько менее уверенным является отнесение глутаримидных антибиотиков к категории столь же специфичных ингибиторов транслокации.

ИНГИБИТОРЫ ТЕРМИНАЦИИ

Многие из описанных выше агентов способны подавлять и процесс терминации. К ним относятся спарсомицин, хлорамфеникол, тетрациклин, некоторые из аминогликозидных антибиотиков, линкомицин и др. Однако эти эффекты нельзя считать главными в механизме действия перечисленных агентов. Имеются отдельные указания, что подавление терминации является ведущим в механизме действия амицетина.

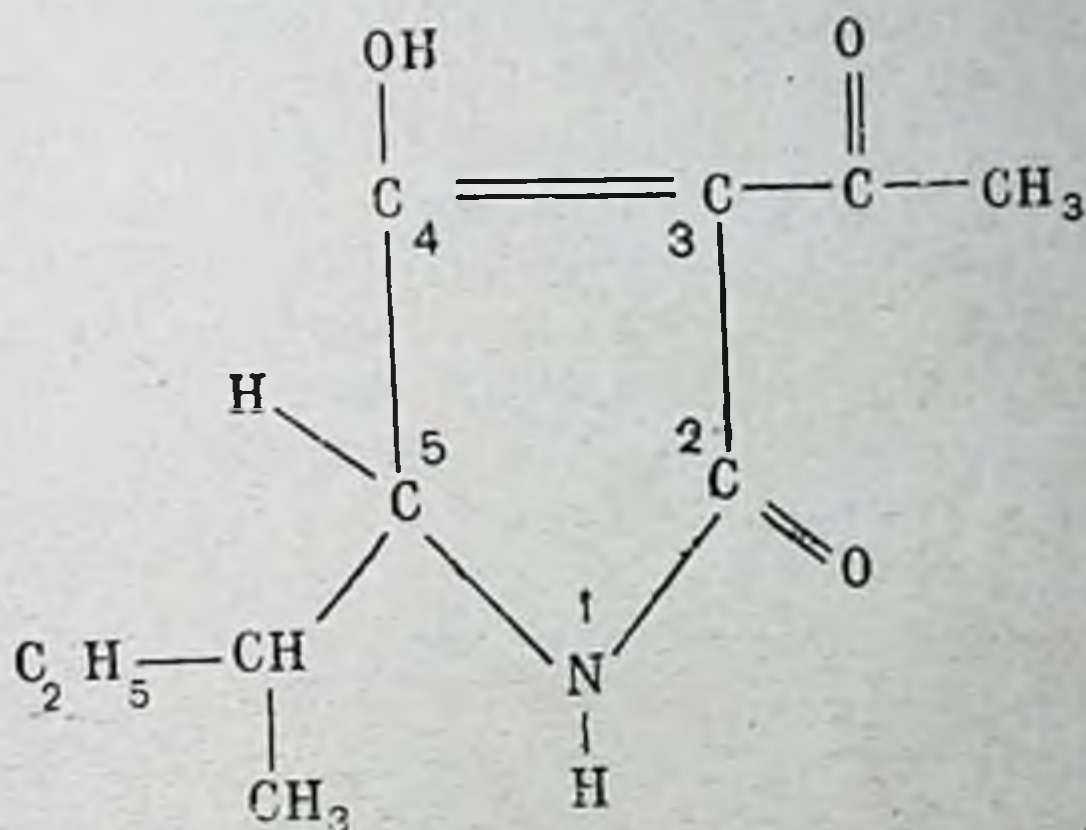
Этот антибиотик образуется культурами *Streptomyces vinaceus*, *S. fasciculatus* и *S. plicatus* и является



Амицетин

по структуре замещенным цитозином. В концентрации порядка 1—20 мкг/мл он подавляет рост многих грамположительных бактерий и не эффективен в отношении грамотрицательных. Обобщая данные литературы, Gottlieb (1967) указывает, что именно наличие аминоацильных групп на обоих концах молекулы определяет связывание амицетина с рибосомами.

Возможно, к ингибиторам терминации следует отнести тетуазоновую кислоту, которая подавляет отделение новообразованных белков от микросом. Этот антибиотик (3-ацетил-фторобутил-тетрамовая кислота) является продуктом обмена *Alternaria*



tenuis Auct. Он подавляет рост различных опухолей человека и животных. Так, в дозе 0,25 мг тетуазоновая кислота угнетает размножение клеток аденокарциномы человека, развивающейся на куриных эмбрионах. В концентрации 0,3М она подавляет на 70—80% включение C^{14} -лейцина в ферритин и гемоглобин. В сравнительно высоких концентрациях обладает противовирусным действием, но неактивна в отношении многих бактерий (Shigeuра, 1967).

МАЛОИЗУЧЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТРАНСЛЯЦИИ

Известен еще ряд веществ, угнетающих трансляцию, механизм действия которых мало изучен. Так, из фильтрата культуры *Streptomyces mauvescens*

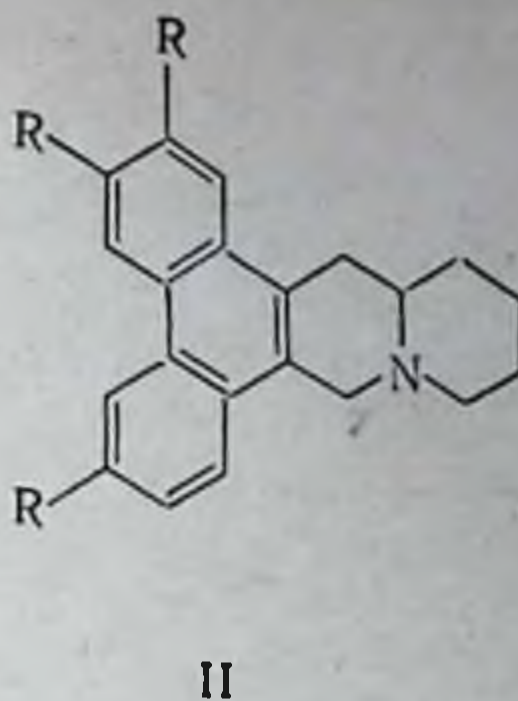
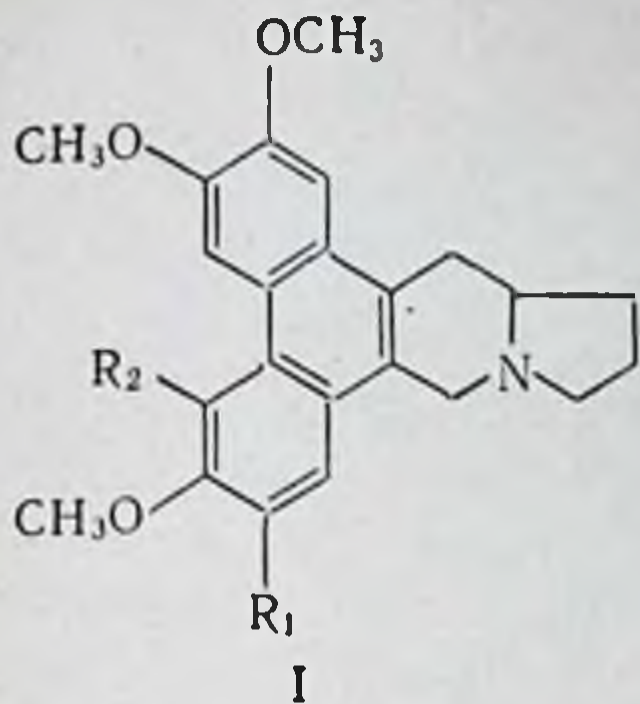
выделен полипептидный антибиотик — эномицин с молекулярным весом 11 000. Он обладает противоопухолевой, но не антибактериальной активностью. Ежедневная инъекция мышам 0,5—1,0 мкг антибиотика подавляет рост карциномы Эрлиха и саркомы мышей. В бесклеточной системе из опухолевых клеток эномицин подавляет синтез белка и эндогенной мРНК в концентрации ниже 10^{-8} М. Он не затрагивает перенос аминокислот на тРНК, но подавляет включение их в белок на 80S-рибосомах (Mizuno и др., 1967).

Штамм *Fusarium nivale* (Fn-2B), выделенный в Японии из поврежденной пшеницы, образует микотоксины ниваленон, фузаренон и фузаренон-Х. Эти соединения также оказались довольно мощными ингибиторами синтеза белка. Более подробное изучение свойств последнего позволило установить, что в L-клетках мышинных фибробластов фузаренон-Х в концентрации 2—3 мкг/мл вызывает быструю дезагрегацию полирибосом. Эффект частично подавляется предварительной обработкой клеток циклогексимидом. Возможно, это наблюдение послужит ключом к оценке механизма действия фузаренона-Х (Ohtsubo и др., 1972).

Мощными ингибиторами трансляции являются абрин — белок, находящийся в семенах *Abrus precatorius* L., и рицин — белок, содержащийся в семенах другого растения — *Ricinus communis* L. Оба белка токсичны. Место их действия опять-таки не уточнено (Olsnes, Pihl, 1972).

Интенсивно изучается механизм действия фенантреновых алкалоидов — тилофорина, тилокребрин и криптоплеврина. Указанные соединения подавляют включение лейцина в белок клеток асцитической опухоли Эрлиха на 50% при концентрации соответственно 2×10^{-6} , 2×10^{-7} и 2×10^{-8} М, но не подавляют включения урацила в РНК даже при концентрации 10^{-5} М.

Криптоплеврин угнетает включение лейцина в белки, синтезируемые в бесклеточной системе из клеток Эрлиха и других клеток эукариотов, но не действует на синтез белка в *E. coli* (Donaldson и др., 1968). В последнее время появились указания на то, что



Тилофорин: $R_1 = -OCH_3$
 $R_2 = -H$
 Тилокребрин: $R_1 = -H$
 $R_2 = -OCH_3$

Криптолеврин: $R = -OCH_3$
 Фенантро (9, 10-β) хинолизидин
 $R = -H$

криптолеврин подавляет реакцию перечоса пептидила (Pestka и др., 1972).

Тилокребрин, по-видимому, очень близок по характеру действия на трансляцию в клетках эукариотов к циклогексимиду (Grollman, Huang, 1973). Его сходство с циклогексимидом выражается, в частности, в способности тормозить не только трансляцию, но и РНК-полимеразную активность. Отмечены, однако, и некоторые отличия от циклогексимиды. Так, тилокребрин ни при каких условиях не тормозит инициацию и не подавляет связывания свободной тРНК.

ИНГИБИТОРЫ, НЕ ОБЛАДАЮЩИЕ ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ НА КАКУЮ-ЛИБО ОДНУ СТАДИЮ ТРАНСЛЯЦИИ

Ингибиторы, описываемые в предыдущих разделах, далеко не всегда являются строго специфичными в отношении той или иной стадии трансляции. Как правило, однако, удается выделить стадию, на которую преимущественно направлено действие ингибитора. Даже в отношении такого многообразного по проявлениям действия антибиотика, как стрептомицин, можно указать главную поражаемую им реакцию — связывание Аа-тРНК. Существуют, вместе с

тем, яды трансляции, которые заведомо нельзя считать преимущественными ингибиторами какой-либо одной стадии. Пока к этой категории следует отнести различные аналоги ГТФ-, в частности гуанилил-5-метилендифосфонат и гуанозин-5-фосфогипофосфат (Рету и др., 1970; Упо и др., 1971). Они не расщепляются ГТФ-азными системами трансляции, а последние функционируют и при инициации, и при элонгации (в реакциях присоединения Аа-тРНК и транслокации), и, наконец, при терминации. Поэтому аналоги ГТФ относятся к ингибиторам ряда стадий трансляции. Однако такая неизбирательность в отношении стадий процесса с лихвой окупается определенностью механизма действия. В исследовательской практике применение гуанилил-5-метилендифосфоната уже сыграло определенную роль в изучении «неэнзиматической» трансляции Л. П. Гавриловой и А. С. Спириным (1973), а также в ряде работ по исследованию инициации. В то же время нет оснований ожидать использования этих веществ как антибиотиков или противораковых агентов, хотя бы потому, что проницаемость соединений этого типа через клеточные мембраны и другие барьерные системы организма очень ограничена.

* * *

Заключая обзор ингибиторов трансляции в целом, следует напомнить, что различные этапы этого процесса могут быть заторможены не только в результате прямого подавления, но также вследствие нарушения или искажения образования рибосом и многочисленных внерибосомных факторов трансляции. Большинство последних имеют белковую природу и нарушение их синтеза может протекать по механизмам, общим для всех белков. Что же касается рибосом, то примером вторичного повреждения могут быть уже рассматривавшиеся выше «хлорамфениколовые частицы».

В табл. 4 (стр. 172 «Заключения») представлены результаты попытки суммировать и схематизировать данные об объектах действия, а также подавляемых этапах и реакциях для большинства ядов трансляции. Разумеется, при этом трудно отразить всю сложность

и подчас противоречивость действительной картины. Тем не менее, очевидна возможность с большей или меньшей избирательностью подавить любую стадию трансляции у прокариотов. Применительно к эукариотам такие возможности пока гораздо уже. Далее, в разделе «Заключение» мы вновь обратимся к оценке ведущихся поисков и разработок ингибиторов трансляции. Здесь заметим только, что всего лишь пять лет назад объем суммирующей таблицы, подобной табл. 4, был бы значительно меньшим, а в начале настоящего десятилетия ее составление не имело бы смысла, ибо и набор ингибиторов, и знания об этапах трансляции были очень ограничены. Экстраполируя этот процесс на будущее, можно с уверенностью предсказать в течение 5—10 лет создание полного набора высокоспецифичных ингибиторов всех стадий трансляции и для про-, и для эукариотов.

НАРУШЕНИЯ СИНТЕЗА БЕЛКА, СВЯЗАННЫЕ С ПОДАВЛЕНИЕМ ОБРАЗОВАНИЯ И ФУНКЦИИ АМИНОАЦИЛ-ТРНК

ИНГИБИТОРЫ АМИНОАЦИЛ-ТРНК-СИНТЕТАЗ

При наличии необходимого количества полноценных природных аминокислот и транспортных РНК синтез белка может быть подавлен за счет блокирования или нарушения образования ферментов, обуславливающих синтез аминоксил-тРНК (аминоацил-тРНК-синтетаз). Некоторое подавление этих энзимов в модельных системах отмечают даже при введении природных аминокислот, не входящих в состав белка. Так, снижение активности аргинил-тРНК-синтетазы кишечной палочки под влиянием орнитина и цитрулина отметили Yem и Williams (1971). К более или менее эффективным ингибиторам аминоксилсинтетаз относятся и многие аналоги природных аминокислот. Обычно, будучи не вполне адекватными субстратами, они ведут к неполному, неглубокому торможению аминоксилсинтетаз, в результате чего некоторое количество аналога включается и в Аа-тРНК, и в строящиеся полипептиды. В свою очередь это может вести к образованию различных неполноценных

белков, среди которых могут быть РНК-полимеразы, рибосомальные и внерибосомные факторы трансляции и, наконец, сами аминокилсинтетазы. Это определяет ряд вторичных нарушений синтеза белка.

Такие аналоги, как 5-метилтриптофан, трифторпроизводные норвалина, метилглюцистенна и лейцина, непосредственно подавляют синтез белка, действуя, по-видимому, преимущественно на аминокилсинтетазу.

Аналоги пролина (азетидин-2-карбоновая кислота, цис-фторпролин и цис-оксипролин) угнетают на 50—60% включение меченого C^{14} -пролина в белки как в бесклеточной системе, так и в интактных клетках хрящевой ткани куриного эмбриона (Т. В. Замараева, В. И. Мазуров, 1972). Этот эффект, вероятно, связан с конкурентным блокированием аминокилсинтетаз, так как включение в белки других аминокислот аналогами не затрагивается. К этой же категории следует отнести и антибиотик фураномицин [α -амино(2,5-дигидро-5-метил)-фуран-2-уксусная кислота], продуцируемый культурой *Streptomyces L-803*. Он подавляет синтез белка в бесклеточных системах и рост некоторых бактерий за счет конкурентного взаимодействия с изолейцил-тРНК-синтетазой (Тапака и др., 1969).

На несколько более поздней стадии проявляется действие 2-метилгистидина. Полагают, что он, присоединяясь к растущей полипептидной цепи на рибосоме, предотвращает взаимодействие со следующей Аа-тРНК и обрывает синтез (Schlesinger, Schlesinger, 1969). Аналогичным действием обладает, вероятно, L-о-метилтреонин (Del Monte, Kazazian, 1971).

Для многих других аналогов аминокислот характерно не столько торможение аминокилсинтетаз, сколько вторичные повреждения белоксинтезирующих систем. К ним относятся этионин — аналог метионина, канаванин — аналог аргинина, фторфенилаланин, аллоизолейпин, β -3-тиенилаланин, циклогексеналанин и др. Так, погибающие от канаванина клетки *E. coli* не способны поддерживать рост бактериофага. Как оказалось, потеря способности репродуцировать вирус прямо связана с синтезом белков хозяина, содержащих канава-

нин. Инфицированные фагом, погибающие от канаванина клетки, не образуют индуцированную фагом мРНК, в результате чего синтез белка и ДНК не происходит. Дальнейшие исследования показали, что система трансляции в убитых канаванином клетках остается интактной, и низкий уровень мРНК в них, по-видимому, связан с торможением транскрипции. Электронномикроскопическое изучение последствий действия канаванина показывает обширное разрушение нуклеоида. Включение аналога в связанный с мембраной клеток белок нарушает организацию и нормальное функционирование генома.

Аналогичные наблюдения имеются и в отношении эукариотов. Наге (1969) описал обратимое подавление *L*-канаванином синтеза ДНК в клетках мышей и хомяков при их культивировании *in vitro*. При этом выявлялось также угнетение синтеза белка и РНК. Им представлен ряд доказательств в пользу того, что подавление синтеза ДНК является результатом синтеза неполноценного канаванин — белка, необходимого для синтеза ДНК, а не последствием общего неспецифического торможения синтеза РНК или белка. В митохондриях *L*-канаванин (10 мкг/мл) ингибирует синтез белков и гликопротеидов на 40—60% (Winston, Vosmann, 1971).

Дальнейшее уточнение механизма действия *L*-канаванина показало, что он вызывает в *E. coli* репрессию образования трех видов мРНК, в которых транслируются соответствующие ферменты синтеза аргинина. Этот процесс сопровождается накоплением в клетках канаванил-тРНК^{арг}. На этом основании полагают, что в осуществлении сигнала репрессии играет роль аргинил-тРНК-синтетаза (Faanes, Roger, 1972). Эти представления подтверждаются и опытами с *Chlamydomonas reinhardtii*. Угнетение канаванином синтеза РНК проявляется быстро, а включение аминокислот в белки и синтез ДНК подавляются лишь после некоторого лаг-периода (McMahon, Langstroth, 1972).

Ранее полагали, что причиной подавления синтеза белка в печени животных под влиянием этионаина может быть нарушение активации аминокислот в результате снижения содержания АТФ за счет образования *S*-аденозилэтионина. Однако исследования

Glaser и Mager (1972), а также М. П. Явич (1971) свидетельствуют о том, что под влиянием этионина повреждается в основном этап инициации в синтезе полипептидной цепи. При этом резко замедляется присоединение рибосом к инициаторному участку мРНК (О. Ю. Абакумова и др., 1972).

β -3-тиенилаланин подавляет синтез антител, угнетая синтез РНК. Прежде всего повреждается синтез мРНК (La Via и др., 1972).

Наконец, действие такого аминокислотного аналога, как противоопухолевый агент — пеницилламин (β -меркаптовалин), относят за счет восстановления дисульфидных групп различных ферментов и других белков. Избыток L-валина не снижает действия этой аминокислоты (Tisman и др., 1972). Вероятно, его эффект не связан прямо с вмешательством в активацию аминокислот или трансляцию.

Все эти первичные и вторичные влияния аналогов природных аминокислот на синтез белка сопровождаются обычно довольно интенсивным подавлением роста ряда бактерий. Эффективные концентрации аналогов первого типа, непосредственно действующих на аминоацилсинтетазу, составляют, как правило, 1—5 мкг/мл. Описаны также отдельные эксперименты по подавлению ими опухолевого роста. Так, по данным Reppert и Anker (1964), трифторлейцин облегчает течение лейкемии у мышей. В целом, однако, ингибиторы этого типа не получили пока практического применения и даже не вышли на уровень широких экспериментально-терапевтических испытаний, так как они не выдерживают пока конкуренции с ингибиторами других стадий биосинтеза либо по токсичности, либо по эффективности.

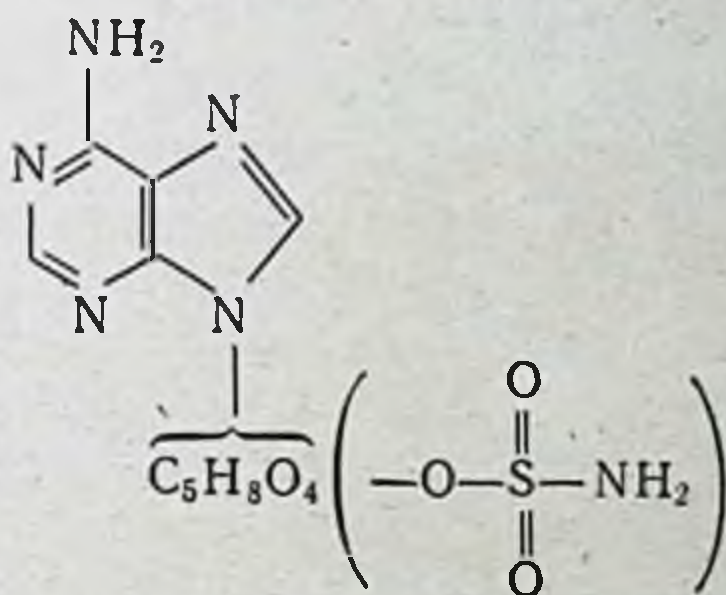
Весьма специфическим ингибитором одной из тРНК-синтетаз является антибиотик боррелидин. Он подавляет размножение кишечной палочки и ряда других бактерий, угнетая энзиматическую активность именно треонил-тРНК-синтетазы. С помощью боррелидина были показаны регуляторные функции треонил-тРНК-синтетазы (Nass и др., 1969).

Особую группу прямых ингибиторов аминоацилсинтетаз, интенсивно изучаемую в последнее время, образуют аминокислоты — аналоги

аминоациладенилатов, в которых остаток аминокислоты замещен на остаток соответствующего аминок спирта: метионинол - АМФ, валинол - АМФ, изолейцинол - АМФ и др. (Cassio и др., 1967; Cho-usterman и др., 1968). В модельных системах, по край-ней мере, они весьма эффективны.

Снижение каталитической активности аминоацил-синтетаз наблюдается после ионизирующего облуче-ния организма, хотя при воздействии *in vitro* измене-ний не отмечено (К. П. Хансон и др., 1972).

Угнетать синтез аминоацил-тРНК способны также некоторые аналоги нуклеозидов. Наиболее токсичный нуклеозид, найденный в природе — нуклеоцидин — по своей структуре является 5-О-сульфамоил-4-С-фтор-аденозином. В небольших концентрациях — около



Нуклеоцидин

2 мкг/мл (5×10^{-6} М) — он резко подавляет рост и синтез белка у *E. coli*. Его ингибиторное действие в бесклеточной системе удается значительно снизить за счет введения в среду преформированных амино-ацил-тРНК. Следовательно, именно их синтез подав-ляется нуклеоцидином.

Образование аминоацил-тРНК и белка может быть подавлено препаратами салициловой кислоты. Было отмечено, что салицилат в концентрации 0,3 М и выше подавляет включение меченого лейцина в бел-ки диафрагмы крысы и в бесклеточной системе из пе-чени крыс. Этот эффект не зависит от разобщающего действия агента на окислительное фосфорилирование. Было обнаружено также, что салицилат в концент-рации 2,5 мг/мл (15 мМ) подавляет включение C^{14} -треонина в глюкопротеиновую фракцию слизистой

толстого кишечника овец. В связи с нарушением функции желудочно-кишечного тракта при даче салицилата Rainsford и Smith (1969) изучили влияние салицилата на биосинтез белка *in vitro* в соскобах слизистой желудка свиньи и человека. В обоих случаях включение меченых аминокислот в белки слизистой было подавлено. Угнетение синтеза нарастало с увеличением времени инкубации и концентрации салицилата. Bugleigh и Smith (1970) исследовали место действия этого агента. Определялось влияние салицилата на две основные стадии биосинтеза белка *in vitro*. Оказалось, что 1,4 мг/мл салицилата не затрагивают перенос меченой аминокислоты из лейцил-тРНК в полирибосомную фракцию печени крысы. Влияние на аминоксил-тРНК-синтетазную реакцию оценивалось по интенсивности обмена АТФ-пирофосфат и образования различных аминоксил-тРНК, содержащих меченые аминокислоты. В концентрации около 100 мкг/мл и выше салицилат подавляет реакцию обмена АТФ-пирофосфат, протекающую в условиях эквимольного содержания всех 20 аминокислот и при наличии отдельных аминокислот. Однако образование аминоксил-тРНК затрагивается в различной степени в зависимости от вида аминокислоты. Наиболее чувствительными аминокислотами являются глутаминовая, аспарагиновая и гистидин. Высокие концентрации салицилата подавляют включение цистеина, метионина, треонина и триптофана, но не лейцина и других аминокислот.

Известно, что образование аминоксил-тРНК *in vitro* стимулируется ацетатом магния и спермином. Высокие концентрации солей, содержащих одновалентные катионы, в этих условиях подавляют образование аминоксил-тРНК. Takeda и Igarashi (1970) считают, что ингибирующий эффект таких солевых растворов на образование аминоксил-тРНК может быть обусловлен подавлением связывания спермина с РНК.

Пожалуй, одним из наиболее интересных ядов, подавляющих образование белка посредством ингибирования синтеза аминоксил-тРНК, является гидроксилламин. Вообще, он способен оказывать влияние на различные стадии процесса, но в малых концентрациях ($< 10^{-3}$ М) он тормозит преимущественно синтез

фмет-тРНК, т. е. ключевой аминокцил-тРНК, без которой невозможна инициация трансляции. Происходит это в результате реакции гидроксиламина с 5,10-метилентетрагидрофолиатом, от которого зависит формилирование метионил-тРНК (Nixon, Bertino, 1970). Торможение инициации трансляции таким путем близко к одному из предполагаемых путей регуляции синтеза белка *in vivo*, так как подавление процесса на стадии инициации более экономично, чем на последующих стадиях.

Существуют и другие специфические ингибиторы синтеза аминокцил-тРНК — пока, к сожалению, малоизученные. Parthier (1968) нашел, что диализуемое термостабильное вещество из семян гороха (*Pisum sativum*) подавляет синтез аминокцил-тРНК в бесклеточной системе из печени крысы или *E. coli*, а также (в меньшей степени) перенос этой тРНК к синтезирующимся полипептидам. Фракция, ингибирующая аминокцилирование тРНК, была выделена из *B. steatothermophilus*, а затем из *B. subtilis*. В последнем случае ингибирующая фракция была получена из препаратов тРНК *B. subtilis*. Однако Migita и др. (1969) считают, что ингибирующее действие этой фракции связано с эффектом растворения, которое предотвращает полное осаждение аминокцил-тРНК трихлоруксусной кислотой при количественной оценке процесса аминокцилирования.

ПОДАВЛЕНИЕ ИЛИ ИЗВРАЩЕНИЕ СИНТЕЗА ТРАНСПОРТНЫХ РНК

Все агенты, подавляющие транскрипцию, в большей или меньшей мере тормозят синтез тРНК. Естественно, однако, что на синтезе белка влияние такого торможения сказывается, как правило, гораздо позже и в меньшей степени, чем подавление синтеза мРНК или подавление трансляции, так как клетка располагает некоторым запасом тРНК (либо как таковых, либо в виде предшественников тРНК). Таким же, в общем, должно быть действие на синтез белка агентов, тормозящих посттранскрипционное формирование тРНК из синтезированных на матрице предшественников. Правда, в этом случае можно иногда

ожидать более избирательного подавления синтеза индивидуальных тРНК, которые могут оказаться лимитирующими при синтезе тех или иных белков. Описано нарушение синтеза тРНК при подавлении метилирования оснований (урацила) в РНК этого вида. Известно, что в этом процессе участвует витамин В₁₂. Его дефицит вызывает снижение скорости метилирования тРНК в тканях крысы (Venkataratnam и др., 1967). Включение в тРНК бактерий 5-фторурацила также снижало уровень ее метилирования (Baliga и др., 1969). Моогс (1970) показал, что подавление метилаз бактериальных тРНК S-аденозилэтионином ведет к искажению нормального роста бактерий.

Низкомолекулярный ингибитор метилазы тРНК был обнаружен в ткани печени здоровых крыс. Этот ингибитор, как оказалось, отсутствует в клетках высокозлокачественной карциномы крыс. Было установлено, что таким ингибитором является никотинамид. Он способен подавлять активность метилазы тРНК, выделенной из клеток опухоли человека, растущих в культуре (линия КВ). Несколько структурных аналогов никотинамида, например тионикотинамид, 6-аминоникотинамид и пиридин-3-карбоксальдегид, также способны подавлять фермент из клеток КВ. Наконец, оказалось, что никотинамид угнетает активность метилазы из различных злокачественных образований человека, но не оказывает действия на ферменты нормальных тканей, окружающих опухоли (Vish и др., 1972).

Менее определенный характер носят данные об изменениях тРНК при лучевой болезни. Можно полагать, что при этом сказывается опять-таки не прямое воздействие на структуру тРНК, лучевая болезнь возникает при дозах облучения, слишком незначительных для прямого эффекта. Вероятно, искажается либо стадия матричного синтеза предшественников тРНК, либо последующее «дозревание» тРНК (специфическое метилирование, отсечение части нуклеотидов и т. п.).

И. П. Москаленко и др. (1969) отметили изменение акцепторной активности транспортных РНК при лучевом поражении организма. В их опытах при облучении животных акцепторная активность аргининовой тРНК в печени оказалась увеличенной, а в селе-

зенке — подавленной. Активность лейциновых тРНК не менялась.

Позднее Е. М. Чаговец (1972) в перекрестных опытах с использованием тРНК и аминоксил-тРНК-синтетаз из тканей нормальных и облученных животных показал, что образование Аа-тРНК нарушается в одних случаях из-за повреждения акцепторной функции отдельных тРНК, а в других — связано с изменением активности ферментов.

К категории вторичных нарушений следует, видимо, относить и изменения акцепторной активности тРНК, и активности аминоксил-тРНК-синтетаз в проростках хлопчатника, выращенных из облученных (6,25 и 50 кр) семян. Разные дозы облучения оказывают на тРНК и фермент неодинаковое действие, тРНК оказались более устойчивыми, чем соответствующие ферменты (Я. Каркузиев и др., 1970).

Завершая раздел об ингибиторах стадии аминокислирования тРНК и синтеза тРНК, следует отметить, что пока число найденных и основательно изученных агентов этого типа относительно невелико. Почти полное отсутствие среди них высокоэффективных и перспективных для применения в клинике антибиотиков и ингибиторов злокачественного роста не способствует развитию этого направления. Однако высокая специфичность аминоксилсинтетаз и способность некоторых аминоксил-тРНК быть ключевыми факторами при синтезе белков позволяет полагать, что здесь предстоит плодотворное развитие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чтобы по достоинству оценить и обобщить богатства, накопленные в области изыскания и изучения ингибиторов синтеза белка и перспективы развития этой области знания, следует еще раз обратиться к целям, которые преследуют при этом научные работники различных специальностей. Идеалом исследователей, связанных преимущественно с фундаментальными работами, является, во-первых, создание набора агентов, позволяющих с высокой избирательностью подавить любой этап синтеза белка. Во-вторых, в таком

идеальном наборе агентов должны быть ингибиторы, специализированные не только на том или ином этапе синтеза, но и на определенных больших группах живых существ или даже клеток одного и того же организма. В то же время для теоретика интересны и некоторые ингибиторы-универсалы, подавляющие синтез белка у любых живых существ. В-третьих, механизм действия каждого ингибитора должен быть известным, ибо в противном случае вполне сознательное использование их для ингибиторного анализа будет ограничено. Интересы исследователей, связанных преимущественно с практикой, включает все изложенное выше. Однако те из них, которые имеют задачей лечение или профилактику инфекционных и опухолевых болезней человека, с особой остротой обращаются ко второму требованию, формулируя его несколько иначе: агент не должен подавлять синтез белка в нормальных клетках и тканях человеческого организма. Отпадает какой-либо практический интерес к универсальным ингибиторам биосинтеза белка у всех живых существ. Так же точно первое требование — об избирательности действия на тот или иной этап синтеза белка — приобретает другой акцент: нежелательно сопутствующее действие на другие системы организма. Последние две формулировки входят как составные элементы в требования безвредности лечебного или профилактического средства. Наконец, исследователь-теоретик, сколь бы глубоким ни было понимание им сложности организма в целом, всегда тяготеет (в силу закономерностей процесса познания) к решению задач на модельных системах. Применительно к созданию практически полезных ингибиторов синтеза белка это означает недоучет, во-первых, системы опосредованных эффектов, возникающих в целом организме и, во-вторых, препятствий на пути проникновения агента к области его специфического действия. Крайним выражением возникающих при этом опасностей являются многочисленные случаи, когда ингибитор, высокоэффективный и специфичный в модельных экспериментах, оказывается не только не эффективным при переходе к основному объекту, но даже вызывает действие, обратное ожидаемому. Кратко суммируем теперь основные требования к ин-

гибиторам синтеза белка, которые учитывают как преимущественные интересы теоретиков, так и практиков, имеющих непосредственной целью создание противомикробных и противоопухолевых средств:

1. Избирательность подавления того или иного этапа транскрипции, трансляции или синтеза аминокислотных РНК. Отсутствие действия на другие процессы, протекающие в живой клетке или организме.

2. Специфичность по отношению к большим группам живых существ, клеток, органелл и в первую очередь:

- а) прокариотам или эукариотам;
- б) нормальным или опухолевым клеткам;
- в) вирусам (системам синтеза, индуцируемыми вирусным геномом) или клеткам, зараженным вирусами.

3. Нетоксичность для человека или для другого живого существа, применительно к которому предполагается лечебное или профилактическое использование данного агента. Отсутствие побочных эффектов.

4. Определенность механизма действия.

5. Способность проникать через клеточные мембраны и не инактивироваться во вне- и внутриклеточных средах организма.

В этот перечень не включено пока пожелание об избирательном подавлении синтеза индивидуальных белков или групп белков. Хотя в принципе постановка такой задачи возможна, причем имеются единичные примеры решения, ее сложность в целом такова, что преждевременным представляется введение этого требования в перечень, предусматривающий исследования ближайших лет.

Попытаемся, далее, оценить описанные в настоящей монографии агенты с точки зрения перечисленных требований.

Сейчас можно назвать ингибиторы, высокоспецифичные для каждой из основных стадий синтеза белка и процессов, которые его непосредственно обеспечивают. В табл. 3 суммированы основные характеристики объектов и места действия наиболее изученных ядов транскрипции и посттранскрипционных превращений РНК. Так, транскрипция в целом специфично подавляется актиномицином D, рифамицинами,

стрептоварицином, α -аманитином, гепарином. По-видимому, приближаются к ним по специфичности (в рамках процесса транскрипции в целом) хромомицины, оливомицин, канханомидин и некоторые менее изученные агенты. Заведомо ограничены по специфичности известные сейчас агенты, повреждающие или деформирующие матрицу, — производные акридина, хинолина, алкилирующие агенты, излучения. Довольно специфично действие на посттранскрипционные превращения мРНК кордицепина. Однако приложение даже к наиболее строгим ингибиторам транскрипции остальных сформулированных требований сразу снимает ощущение близости к обладанию идеальным набором ингибиторов этой стадии. В частности, актиномицин *D* хорошо отвечает требованиям 1, 4 и 5, несмотря на наличие отдельных оговорок в отношении действия на другие процессы, протекающие в клетке. Однако это агент, универсальный в отношении различных живых существ. С точки зрения исследователя-теоретика такая особенность может быть преимуществом, но с точки зрения практика это почти полностью исключает его лечебное применение, ибо лежит в основе относительно высокой токсичности для человека. Понятно, что этот замечательный агент составил эпоху именно в области ингибиторного анализа, но не в практической медицине.

Исключительный интерес представляют рифамицины и стрептоварицины. Они в значительной мере соответствуют перечисленным требованиям. Заметим, что эти агенты охватывают лишь одну стадию — инициацию транскрипции — и только по отношению к прокариотам. Если же обратимся к другим стадиям и объектам, то существующие агенты недостаточно избирательны либо в отношении той или иной стадии процесса, либо в отношении группы живых объектов, или же они неудовлетворительны по признакам токсичности. Так, α -аманитин — весьма избирательный яд в отношении ядрышковой РНК-полимеразы эукариотов — не перспективен как лечебный агент в силу токсичности. Вообще неизвестны пока нетоксичные и специфичные ингибиторы инициации и элонгации при синтезе РНК у эукариотов. Циклогексимид, подавляющий в относительно больших концентрациях нук-

леоплазматические РНК-полимеразы, заведомо неспецифичен вне модельных систем, так как является еще более эффективным ядом трансляции и обладает значительной токсичностью. Аналоги нуклеозидов, как правило, оказываются неспецифичными, хотя бы из-за разнообразных воздействий не только на транскрипцию, но и на синтез самих нуклеозидов. Совсем неизвестны ингибиторы терминации матричного синтеза РНК. Таким образом, располагая такими замечательными ингибиторами транскрипции, как рифамицины, стрептоварицин, актиномицин *D* и α -аманитин, нужно считать, что их создание — это прежде всего доказательство принципиальной возможности разработки полного набора ингибиторов всех стадий транскрипции, которые соответствовали бы всем перечисленным выше требованиям. Сколь бы ни были значительны результаты исследований, в которых они использовались, современное состояние следует оценивать скорее как бедность, но с твердыми надеждами на обеспеченность в ближайшем будущем.

В плане далеких перспектив исключительный интерес представляют поиски и изучение ингибиторов транскрипции, способных к высшей избирательности действия, — блокированию отдельных оперонов или даже генов. Еще недавно даже правомочность постановки такой задачи была весьма дискуссионной. Сейчас произошла «материализация» λ -репрессора и λ -репрессора и доказана тем самым возможность строго специфического узнавания определенного локуса ДНК не только другой нуклеиновой кислотой, но и белком — полимером иной природы. Непосредственное применение репрессоров такого типа не только в исследовательской, но и в лечебной практике пока представляется нереальным. Создание же практически применимых ингибиторов транскрипции отдельных оперонов или генов выходит из области принципиальной возможности в область первичных экспериментов.

Гораздо многочисленнее набор довольно специфичных ингибиторов трансляции. Характеристика избирательности их действия иллюстрируется табл. 4. Среди них есть и весьма избирательные агенты для большинства этапов и реакций трансляции. К ним в первую очередь можно отнести пурамицин,

Особенности основных представителей ингибиторов транскрипции и посттранскрипционных превращений РНК (+ — достоверный и интенсивный эффект; (+) — незначительный и малодостоверный эффект)

170

| Агент | Живые существа — объекты действия | | | Стадия, место и характер действия | | | | | | | | токсичность, болезнетворное действие | | |
|---|-----------------------------------|----------------|----------|--|--------------------------|---------------------------------------|-----------|-----------|------------|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--|-----|
| | эукариоты | прокариоты | | повреждение или деформация ДНК-матрицы | блокирование ДНК-матрицы | РНК-полимераза, собственно синтез РНК | | | | | | | | |
| | | синтез вирусов | бактерии | | | связывание энзима с матрицей | инициация | элонгация | терминация | посттранскрипционное дробление РНК | присоединение полиадезилата | | | |
| Акридины, хинолины | + | (±) | + | + | (+) | | | | | | | | | (+) |
| Актиномицин Д, хромомицины, оливомицины | + | (+) | + | | + | | | | | | | | | + |
| Рифамицины, стрептоварицины | (+)* | (+)** | + | | | | + | | | | | + | | |
| Стрептолидигин | | (+) | + | | | | + | + | | | | | | |
| α-амантин | +*** | | | | | | + | + | | | | | | + |

171

| | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|---|---|---|--|--|-----|-----|-----|--|--|-----|---|-----|
| Канханомидин | + | | + | | | | (+) | (+) | (+) | | | | | (+) |
| Гепарин | | | + | | | | + | | | | | | | + |
| Циклогексимид | +**** | | | | | | | + | + | | | | | + |
| Аналоги нуклеозидов (токсин <i>B. thuringiensis</i> , шовдомицин, цитозинарабинозид, азагуанин, азауридин и др.) | | | | | | | (+) | + | + | | | | | (+) |
| Этидидиум бромид, 3'-дезоксаденозин | | | | | | | | (+) | (+) | | | (+) | + | |
| Тойокамицин | | | | | | | | | | | | + | | + |
| Ультрафиолетовое излучение | + | + | + | + | | | | | | | | | | + |
| Ионизирующие излучения | + | + | + | + | | | | | | | | | | + |
| Камптотецин | + | + | + | + | | | | | | | | | | + |

* Митохондрии.
 ** Прямая и обратная транскриптаза.
 *** Ядрышковая РНК-полимераза.
 **** Нуклеоплазматическая РНК-полимераза.

Таблица 5

Избирательность действия ядов трансляции в отношении рибосом различного происхождения (+ четкое подавление, ± сомнительный или слабый эффект, — нет эффекта, отсутствие знака — нет данных)

| Ингибитор | Рибосомы | | |
|--|--------------------|-----------------------|-------------------------|
| | бактери- альные | митохондри- альные | цитоплазма- тические |
| Ауритрикарбоксилат | + | | + |
| Пактамицин | + | | |
| Педерин | | | + |
| Полидекстрансульфат | + | | + |
| Пуромицин | + | | + |
| Гугеротин | + | | + |
| Актиноболлин | + | | + |
| Тетрациклины | + | + | ± |
| Эдеин | + | | + |
| Феномицин | | | + |
| Стрептомицин | + | ± | — |
| Канамицин | + | ± | — |
| Неомицин | + | + | ± |
| Стрептограмин А | + | | — |
| Хлорамфеникол | + | + | ± |
| Линкомицин | + | + | — |
| Эритромицин | + | + | — |
| Олеандомицин | + | + | — |
| Карбомицин | + | | — |
| Спарсомицин | + | + | + |
| Спиромицин | + | | — |
| Боттромицин А ₂ | + | | + |
| Циклогексимид | — | — | + |
| Активфенол | | | + |
| Стрептимидон | | | + |
| Стрептовитацин | | | + |
| Эметин | | | + |
| Анизомицин | | | + |
| Фусидовая кислота | + | | + |
| Амицетин | + | + | ± |
| Тенуазоновая кислота | | | + |
| Эномицин | | | + |
| Алкалоиды тилофора (тило- форин, тилокребрин, криптоплеврин) | | | + |
| Нуклеоцидин | + | | + |

ауринтрикарбоксилат, фусидовую кислоту, пактамицин, линкомицин и, в меньшей мере, тетрациклины, хлорамфеникол, тиострептон. Довольно многообразны эффекты аминогликозидных антибиотиков. Возможно, в основе их действия находится несколько относительно самостоятельных механизмов. Несколько двусмысленны данные о механизмах действия некоторых макролидов — транспептидация и (или) транслокация. Токсичен и обладает параллельным действием на другую систему (РНК-полимеразу I) циклогексимид. Таким образом, хотя возможность избирательного подавления в эксперименте разных стадий трансляции гораздо шире, чем в случае транскрипции, не следует переоценивать специфичность большинства соответствующих агентов. Надо также учитывать, что по мере углубления наших знаний о ядах трансляции часть из них может быть перенесена в категорию менее специфичных, а некоторые, напротив, приобретут репутацию более строгих ингибиторов. Главным же дефектом существующего набора ингибиторов трансляции является сравнительная немногочисленность агентов, способных тормозить синтез белка у эукариотов. Более подробно это иллюстрируется табл. 5. В свою очередь этот дефект ограничивает базу для создания ядов трансляции, эффективных в отношении опухолевых клеток и клеток, инфицированных вирусами. Это важно и в теоретическом плане, подсказывая пути для выяснения тонких различий в белоксинтезирующих системах эу- и прокариотов (Battaner, Vazquez, 1971).

Табл. 3—5 могут служить пособием для первичного выбора средств ингибиторного анализа того или иного процесса. Окончательный же выбор ингибиторов требует, разумеется, обращения к соответствующим разделам текста настоящей книги и, в некоторых случаях, к первоисточникам. Большое значение имеет также использование оптимальных концентраций ингибиторов. Они очень широко варьируют для разных объектов. При переходе к новому объекту, как правило, приходится уточнять в эксперименте подавляющие концентрации. К сожалению, известно очень немного работ, где эксперименты по сравнительной оценке эффективности различных ингибиторов синтеза белка проводились бы в заведомо одинаковых

условиях. Особенно мало таких данных для антибиотиков, эффективных в отношении эукариотов. Приведем в качестве примера концентрации 20 антибиотиков, вызывающие в бесклеточной системе 50% подавление синтеза полифенилаланина рибосомами дрожжей (табл. 6).

Таблица 6

Эффективность ингибиторов синтеза полифенилаланина рибосомами дрожжей (Battaner, Vazquez, 1971)

| Ингибитор | Концентрация (mM), дающая 50% подавление |
|--------------------------------------|---|
| Амицетин | 1—5 |
| Анизомицин | 10^{-3} |
| Ауринтрикарбоновая кислота | $5 \times 10^{-3} - 10^{-2}$ |
| Бластицидин | 5×10^{-3} |
| Боттروмицин A ₂ | 1 |
| Циклогексимид | 10^{-3} |
| Полидекстрансульфат | $5 \times 10^{-3} - 10^{-4}$ |
| Эденин | 10^{-2} |
| Эметин | 1 |
| Спарсомицин | 10^{-2} |
| Эномицин (МВ неизвестен) | 10—50 мкг/мл |
| Фусидовая кислота | 10^{-1} |
| Гугеротин | 10^{-2} |
| Пактамицин | 1 |
| Тетрациклин | $5 \times 10^{-2} - 10^{-1}$ |
| Тенуазоновая кислота | 3×10^{-1} |
| Криптоплеврин | 10^{-3} |
| Тилофорин | 10^{-3} |
| Тилокребрин | 10^{-3} |

Наконец, весьма ограничен пока набор ингибиторов процессов подготовки аминокислот к трансляции. Трудно объяснить, почему почти все известные агенты, относящиеся к этой категории, особенно далеки от практического применения. Противоопухолевые эффекты некоторых аналогов аминокислот (в частности, галоидопроизводных), отмеченные уже более 5—10 лет назад, не нашли выхода в широкий эксперимент, а тем более в клинические исследования. Между тем, высокая и своеобразная специфичность ами-

ноацилсинтетаза позволяет считать весьма перспективными поиски в этой области. Хорошим примером является использование боррелидина как специфического ингибитора треонил-тРНК-синтетазы для решения ряда вопросов о регуляторных функциях этого энзима.

Прежде чем обратиться к наиболее общим заключениям, необходимо остановиться на причинах многообразия проявлений действия ядов синтеза белка. Анализируя проявления действия ингибиторов синтеза белка *in vivo* и в сложных системах *in vitro*, очень трудно предсказать конечный эффект даже для тех из них, механизм действия и специфичность которых наиболее очевидны. Парадоксальные эффекты наиболее изученных ингибиторов представляют для исследователя особый интерес. Так, их эффективность во многом зависит от функционального состояния клеток в целом и белоксинтезирующей системы в частности.

Рассматривая механизм действия актиномицина D, мы отмечали данные о парадоксальном влиянии актиномицина на синтез белка в процессе развития головастика и на синтез аминотрансферазы в клетках гепатомы. Актиномицин стимулирует синтез белка, подавляя, по-видимому, синтез быстрообменивающегося репрессора. Было показано также, что лучевая инактивация ядерных структур у эмбрионов многих животных не прекращает развития до определенной стадии в связи с периодичностью функционирования ядер. Значительно различается ответ на облучение нормальных и регенерирующих тканей в связи с высокой радиочувствительностью определенных фаз в цикле деления клеток: Такой агент, как афлатоксин, не вызывает тотального подавления белкового синтеза в клетках регенерирующей печени. Очевидно, своеобразие конечных эффектов ингибиторов определяется неодинаковой чувствительностью к яду отдельных звеньев обмена.

Быстрота подавления синтеза белка тем или иным ингибитором находится в тесной зависимости от механизма его действия. Быстрее всего синтез белка может быть блокирован ядами трансляции. В данном случае можно говорить об истинных ингибиторах синтеза белка. Действие всех ингибиторов трансляции не

зависит от срока жизни информационных РНК. Однако проявление эффекта ядов трансляции в отношении индивидуальных белков может быть замедлено в случае высокой продолжительности жизни белковых молекул, синтезированных до введения ингибитора.

Очень быстрым может быть эффект ингибиторов транскрипции короткоживущих мРНК. Чрезвычайно замедленными, напротив, являются феномены подавления синтеза ряда белков во многих животных тканях, где образуются долгоживущие мРНК. В некоторых таких тканях и клетках действие ингибитора транскрипции на синтез белка может вообще не наступить. Неожиданным, например, представляется тот факт, что оливомицин, высокоэффективный ингибитор синтеза РНК, во многих случаях не оказывает заметного влияния на синтез белка. Разумеется, на быстроте проявления эффекта этих ингибиторов сказывается также различная стабильность образующихся белков.

На эффективность некоторых ингибиторов может оказывать своеобразное влияние природа мРНК, участвующей в синтезе белка. Так, аминогликозидный антибиотик спектиномицин препятствует взаимодействию мРНК с бактериальной рибосомой в зависимости от нуклеотидного состава мРНК. Напомним также, что подавление полностью отсутствует при использовании в качестве мРНК полиуридиловой или полиадениловой кислоты. Оно увеличивается с возрастанием содержания в матрице ГЦ-пар. Наиболее эффективен антибиотик при использовании полиинозиновой кислоты. Частота ошибок считывания мРНК под влиянием стрептомицина находится в зависимости от нуклеотидного состава транслируемой РНК. Комплексы рибосом с природными мРНК более чувствительны к хлорамфениколу, чем такие же комплексы с синтетическими полинуклеотидами. Повышенное же содержание цитидиловой кислоты повышает чувствительность этих комплексов к антибиотику.

Еще более расширяет перечень возможных факторов, исключаящих строгую однотипность эффектов *in vivo*, неизбежная, хотя и достаточно грубая, тенденция к взаимодействию ингибиторов транскрипции с различными по нуклеотидному составу участками ДНК.

Таким образом, неодинаковая чувствительность к повреждениям различных участков генома, неодинаковая стабильность компонентов белоксинтезирующей системы и функционально активных белков должны индивидуализировать сроки и степень проявления нарушений синтеза отдельных белков в клетках и организме в целом даже при использовании наиболее специфичных и «надежных» ингибиторов.

Рассматривая механизмы действия ингибиторов синтеза белка, мы стремились, как правило, упомянуть возможные причины возникновения резистентности клеток к индивидуальным ингибиторам. Наиболее полно литература по этому вопросу обобщена Ю. О. Сазыкиным (1972). Анализируя биохимические механизмы резистентности микроорганизмов к ингибиторам белкового синтеза, автор, по существу, делит их на хромосомные и эписомные. Первые ведут к изменениям макромолекулярных компонентов в системах трансляции и транскрипции. Так, мутации могут приводить к такому изменению структуры рибосом, которое делает их нечувствительными к различным антибиотикам (аминогликозидам, макролидам и др.). Молекулярный механизм устойчивости к рифамицинам связан с изменениями свойств РНК-полимераз. Эписомные же факторы резистентности создают прежде всего возможность энзиматической инактивации ингибиторов белкового синтеза. Так, в бактериальных клетках благодаря внехромосомным факторам может происходить фосфорилирование, аденилирование или ацетилирование ряда антибиотиков. Эписомы могут влиять и на проницаемость клеточных оболочек (например, в случае резистентности клеток к тетрациклину). Устойчивость клеток за счет изменения проницаемости мембран может быть, однако, и хромосомного происхождения.

Мы попытались обобщить в настоящей монографии современные данные об изыскании и изучении ингибиторов синтеза белка. Развитие этой области является одним из лучших примеров сочетания интересов теории и практики, взаимодействия сугубо эмпирических поисков с исследованиями фундаментальных закономерностей молекулярной биологии. Разнообразные ингибиторы синтеза белка уже составили

эпоху в медицине и в то же время ингибиторный анализ стал одним из важнейших инструментов биохимии. Однако поступательное движение науки характеризуется тем, что каждая решенная задача порождает еще более сложную. В области практики решена задача борьбы с многими тягчайшими бактериальными инфекциями, но на место ее встала проблема подавления особенно коварных лекарственно устойчивых бактерий, порожденных самой эрой антибиотиков и новейших химиотерапевтических агентов. На первый план вышли также проблемы борьбы с вирусными болезнями и раком. Здесь еще менее, чем когда-либо, можно уповать на чисто эмпирический путь. Важнейшим элементом успеха должно быть создание такого набора ингибиторов синтеза нуклеиновых кислот и белка, который обеспечил бы высокоспецифичное подавление любого заданного этапа синтеза с высокой избирательностью в отношении отдельных групп живых существ и тканей организма, а также с возможностью преимущественного подавления синтеза отдельных групп белков. Сколь сложной ни является эта задача, можно с уверенностью утверждать, что она будет решена уже в обозримом будущем. Темп развития этой области таков, что даже за время, пока печатается настоящая монография, арсенал ингибиторов синтеза белка несомненно существенно пополнится.

* * *

В заключение авторы должны поделиться с читателем тревогой, которую испытывает каждый, кто берется за написание книги по столь бурно развивающейся проблеме. За период технической подготовки книги к изданию, да еще с учетом многомесячного разрыва между появлением большинства новых публикаций и ознакомлением с ними авторов книги, образовалось почти двухлетнее отставание от «переднего края науки». Лишь в незначительной мере это отставание можно компенсировать отдельными вставками по ходу редактирования, ибо более глубокая ревизия текста в этот период уже недопустима.

В основном отставание определяется появлением большого числа новых антибиотиков из уже известных классов этих соединений или, в гораздо меньшей мере, — открытием принципиально новых ингибиторов. Поэтому мы надеемся, что читатель, ознакомившись со структурой и основным содержанием книги, сможет во многих случаях самостоятельно оценить вероятное место большинства новых препаратов в процессах синтеза белка. Чтобы обеспечить постоянную систематизацию данных о наиболее важных новых препаратах, мы рекомендуем вести и постепенно пополнять сводные таблицы типа тех, которые приведены в тексте при обобщении данных об ингибиторах транскрипции и трансляции.

ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Абакумова О. Ю., Иванов Д. А., Угарова Т. Ю., Шелехова В. Г., Лерман М. Н. Характеристика рибосомного материала клеток печени крыс, отравленных этионином. Получение и свойства активных рибосомных субъединиц из одиночных рибосом, накапливающихся при действии этионина. — Биохимия, 1973, в. 1, с. 35.
- Алехина Р. П., Белоусова А. К., Ремезова М. И. Действие противоопухолевого антибиотика глобимицина на процесс транскрипции в клетках регенерирующей печени крысы. — Биохимия, 1972, в. 4, с. 813.
- Андерсон Р. А. Влияние 5-фторурацила на включение метионина- S^{35} в белки мозга и печени крыс. — В сб.: Некоторые актуальные вопросы биологии и медицины. М., 1968, с. 78.
- Ашмарин И. П., Ждан-Пушкина С. М., Кокряков В. И., Семедов А. Ш., Антонова С. Н. Антибактериальные и антивирусные функции основных белков клетки и перспективы их практического использования. — Изв. АН СССР, 1972, № 4, с. 502.
- Баталина Т. А. Изучение действия панкреатической РНКазы на размножение некоторых РНК-содержащих вирусов. Автореф. дисс. канд. Новосибирск, 1970.
- Бибилова М. В., Гаузе Г. Ф., Кочеткова Г. В. О подавлении синтеза белка и стимуляции синтеза РНК при воздействии некоторых антибиотиков на мутантов *Bacillus subtilis*. — Антибиотики, 1969, № 6, с. 486.
- Богатырева С. А., Спирин А. С. Влияние различных одно- и двухвалентных катионов на специфическое связывание аминоксил-тРНК с рибосомной 30S субчастицей. — Докл. АН СССР, 1971, № 3, с. 722.
- Гаврилова Л. П., Спирин А. С. «Неэнзиматическая» трансляция. — Журн. эвол. биох. физиол., 1973, № 9, с. 3.
- Гаузе Г. Ф. Хромомицин, оливомицин и митрамицин. — В кн.: Механизм действия антибиотиков. Пер. с англ. М., 1969.
- Георгиев Г. П. Структура и матричная активность хроматина. — Усп. совр. генетики, 1971, № 3, с. 28.
- Гладкова К. Е., Утешев Б. С., Пинегин Б. В., Лебедев В. В. Влияние хлорамфеникола на антителообразование. — Бюлл. exper. биол. и мед., 1969, № 11, с. 73.
- Гончарская Т. Я., Навашин С. М. Влияние рифампицина на репродукцию ДНК-содержащих вирусов в клетках культуры ткани. — Антибиотики, 1971, № 4, с. 295.
- Гордеева К. В., Ключарев Л. А. Изменение функциональных свойств фибриногена при лучевой болезни. — Труды ВМА им. С. М. Кирова, т. 116. Л., 1960, с. 103.

- Гуревич А. И., Киселева О. А., Колосов М. Н., Шемякин М. М. Влияние тетрациклина на биосинтез белка и нуклеиновых кислот у *Escherichia coli*. — Биохимия, 1969, № 2, с. 404.
- Джаракьян Т. К., Мозжухин А. С., Косяков К. С., Чалисов И. А., Бутомо Н. В. Геморрагический синдром острой лучевой болезни Л., 1960.
- Замараева Т. В., Мазуров В. И. Синтез белков в микросомной системе из куриных эмбрионов в присутствии различных аналогов пролина. — Вопр мед химии, 1972, № 4, с. 430.
- Зеленин А. В. Взаимодействие аминопроизводных акридина с клеткой. М., 1971.
- Иванов И. И., Рудаков В. В. О возможной интерпретации данных опытов по влиянию ионизирующей радиации на белоксинтезирующие системы (синтез белков молока в лактирующей молочной железе). — Докл. АН СССР, 1971, № 3, с. 731.
- Исаченков В. А., Нестайко Г. В. Влияние актиномицина D и этнониина на включение C^{14} -аминокислот в процессе развития головастиков *Rana terrestris*. — Докл. АН СССР, 1971, № 2, с. 465.
- Каракузиев Я., Ибрагимов А. П., Туйчибаев М. У. Действие радиации на активность аминокцил-тРНК-синтетаз и тРНК хлопчатника. — Радиобиология, 1970, № 6, с. 815.
- Клунова С. М., Филиппович Ю. Б. Влияние хлорамфеникола на биосинтез белков шелка и фонд свободных аминокислот в шелкоотделительной железе тутового шелкопряда. Научн. докл. высшей школы, биол. науки, 1968, № 12, с. 53.
- Клячко Н. Л., Кулаева О. Н. Влияние пурамицина на синтез белка в бесклеточной системе из листьев разного возраста. — Докл. АН СССР, 1969, № 3, с. 709.
- Комолова Г. С., Трифонов Э. Н., Егоров И. А. Повреждения структуры ДНК в тканях γ -облученных животных. — Докл. АН СССР, 1973, № 1, с. 248.
- Кузин А. М. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии. М., 1970.
- Кукушкина Г. В., Соколова И. С., Островская Л. А., Горбачева Л. Б. Влияние нитрозометилмочевины (НММ) на кинетику роста и биосинтез белка в клетках лейкемии L 1210. — Изв. АН СССР, 1972, в. 5, с. 731.
- Лерман М. И., Зиммерман Р. А., Гаврилова Л. П., Спирин А. С. Самосборка рибосомоподобных частиц *in vitro* из «хлоромидетиновых» частиц и определенной фракции рибосомального белка. — Молек. биол., 1967, т. 1, с. 12.
- Лишневская Е. Б., Гельфанд В. И., Спирин А. С. Действие аминогликозидных антибиотиков и спермидина на стабильность ассоциации рибосомных субчастиц. — Докл. АН СССР, 1971, № 3, с. 712.
- (Нейфах А. А.) Neufakh A. A. Radiation investigation of nucleocytoplasmic interrelations in morphogenesis and biochemical differentiation. — Nature, 1964, v. 201, p. 880.
- Никифоров В. Г., Астаурова О. Б. Матричный синтез рибонуклеиновых кислот РНК-полимеразой. — В кн.: Молекулярные основы биосинтеза белков. М., 1971.

- Перевощикова К. А., Лошкарева Н. П., Збарский И. Б. Влияние 8-азагуанина на синтез нуклеиновых кислот и белков в клетках асцитного рака Эрлиха мышей и печени крыс. — *Вопр. мед. химии*, 1968, № 3, с. 283.
- Писаревский А. Н. Особенности действия ионизирующей радиации на надмолекулярную структуру нуклеопротеида. — *Вестн. Белорусского ун-та*, 1969, сер. 1, № 1, с. 45.
- Подобед О. В., Лейтин В. Л., Брыкина Е. В., Мантьева В. Л., Лерман М. И. Влияние кордицепина на синтез ядерных и цитоплазматических Д-РНК в клетках печени в рака Эрлиха мышей. — *Молек. биол.*, 1973, в. 3, с. 343.
- Плугина Л. А., Орлова Ж. И., Гуманов Л. А. О механизме действия diazoacetones. — *Докл. АН СССР*, 1972, 204, № 6, с. 1489.
- Поспелов В. А., Кнорре В. Л., Салганик Р. И. Действие гистонов на транскрипцию полирибо- и полидезоксирибонуклеотидов. — *Молек. биол.*, 1971, № 6, с. 840.
- Сазыкин Ю. О. Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. М., 1968.
- Сазыкин Ю. О. Биохимические механизмы резистентности к ингибиторам белкового синтеза. *Итоги науки и техники. Биохимия*, т. 7. М., 1972.
- Спирин А. С., Телицина Н. В., Айтхожин М. А. Информационная РНК в раннем эмбриогенезе. — *Журн. общ. биол.*, 1964, № 5, с. 321.
- Спирин А. С., Гаврилова Л. П. Рибосома. М., 1971.
- Сухомлинов Б. Ф., Здравко Б. И. Аминокислотный состав и дактилографический анализ гемоглобинов морских свинок, облученных в дозе 600 р. — *Радиобиология*, 1972, № 3, с. 431.
- Телеснина Г. Н., Новикова М. А., Колосов М. Н., Шемьякин М. М. Значение структурных элементов хлорамфеникола для молекулярного механизма его действия. — *Биохимия*, 1968, т. 33, с. 595.
- Утешев Б. С., Пянегин Б. В., Бабичев В. А., Торчинский Г. А. Исследование иммунодепрессивных свойств 5-фторурацила в культуре лимфоидных клеток. — *Докл. АН СССР*, 1970, № 4, с. 969.
- Чаговец Е. М. Исследование акцепторной активности транспортных РНК и аминоксил-тРНК-синтетаз печени и селезенки облученных крыс. — *Радиобиология*, 1972, № 2, с. 285.
- Явич М. П. Повреждение белоксинтезирующей системы в клетках печени крысы при действии этионина. — *Биохимия*, 1971, № 6, с. 1137.
- Abelson H. T., Penman S. Selective interruption of high molecular weight RNA synthesis in HeLa cells by camptothecin. — *Nature New Biol.*, 1972, 237, 144.
- Abelson H. T., Penman S. Messenger RNA formation: resistance to inhibition by 3-deoxycytidine. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 277, p. 129.
- Abrell J. W. DNA polymerases from RNA tumor viruses and human cells: inhibition by polyuridylic acid. — *Science*, 1972, v. 177, p. 1111.
- Albert A. *The acridines*. London, 1966.

- Alger N. E. a. oth. Inhibition of rodent malaria in mice by rifampicin. — *Nature*, 1970, v. 227, p. 381.
- Ambrose C. T. Regulation of the secondary antibody response in vitro. — *J. Exp. Med.*, 1969, v. 130, p. 1003.
- Anderson B., Hodgkin D. C., Viswamitra M. A. The structure of thiostrepton. — *Nature*, 1970, v. 225, p. 233.
- Anderson P. Sensitivity and resistance to spectinomycin in *Escherichia coli*. — *J. Bact.*, 1969, v. 100, p. 939.
- Aoki I., Ikemura T., Fukutome H., Kawade Y. Ultra-violet inactivation of the functions of phenylalanine and lysine transfer RNA's of *Escherichia coli*. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 179, p. 308.
- Ariyama K., Fausto M., Tamvakopoulos E., Van Laucker J. L. Effect of x-radiation on amino acid incorporation into regenerating liver proteins. — *Radiat. res.*, 1970, v. 42, p. 528.
- Baliga B. S., Pronczuk A. W., Munro H. N. Mechanism of cycloheximide inhibition of protein synthesis in a cell-free system prepared from rat liver. — *J. Biol. Chem.*, 1969, v. 244, p. 4480.
- Baliga B. S., Cohen S. A., Munro H. N. Effects of cycloheximide on the reaction of puromycin with polysome bound peptidyl-tRNA. — *FEBS Letters*, 1970, v. 8, p. 249.
- Baliga S., Heudler S., Srinivasan P. R. Incorporation of 5-fluorouracil into the transfer RNA of *Escherichia coli* K₁₂W₆ and its effect of the methylation of uracil. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 186, p. 25.
- Bazil G. W., Grose J. D. Effect of 6-(p-hydroxyphenyl)azouracil on *B. subtilis* DNA polymerases. — *Nature, New Biol.*, 1972, v. 240, p. 82.
- Battaner E., Vazquez D. Inhibitors of protein synthesis by ribosomes of the 80S type. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, v. 254, p. 316.
- Bekesi J. G., Bekesi E., Winzler R. J. Inhibitory effect of d-glycosamine and other sugars on the biosynthesis of protein ribonucleic acid, and deoxyribonucleic acid in normal and neoplastic tissues. — *J. Biol. Chem.*, 1969, v. 244, p. 3766.
- Benedict W. F., Karon M. Chromatid breakage: cytosine arabinoside-induced lesions inhibited by ultraviolet irradiation. — *Science*, 1971, v. 171, p. 680.
- Bhuyan B. K. Edein and pactamycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 169.
- Bhuyan B. K. Nogalamycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 173.
- Birge E. A., Kurland C. G. Altered ribosomal protein in streptomycin-dependent *Escherichia coli*. — *Science*, 1969, v. 166, p. 1282.
- Bjare U., Gorini L. Drug dependence reversed by a ribosomal ambiguity, ram, in *Escherichia coli*. — *J. Molec. Biol.*, 1971, v. 57, p. 423.
- Bloliel G., Sabatini D. Dissociation of mammalian polyribosomes into subunits by puromycin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 390.
- Bodley J. W., Zieve F. J., Lin L., Zieve S. T. Formation of the ribosome-Gfactor-GDP complex in the presence of fusidic acid. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1969, v. 37, p. 437.

- Bodley J. W., Zieve F. J., Lin L., Zieve S. T. Studies of translocation. — *J. Biol. Chem.*, 1970, v. 245, p. 5656.
- Bollen A., Herzog A. The ribosomal protein altered in spectinomycin resistant *Escherichia coli*. — *FEBS Letters*, 1970, v. 6, p. 69.
- Borghetti A. F., Giglioni B., Ottolenghi S., Guidotti G. G. Effect of aliphatic aldehydes on protein synthesis in cell-free systems. — *Biochem. J.*, 1970, v. 117, p. 67.
- Bose S., Gothoskar B. P., Coutinho W. G., Ranadive K. J. Studies on biological macromolecules. — *Curr. Mod. Biol.*, 1968, v. 2, p. 21.
- Brachet J. Behaviour of nucleic acids during early development. — Brussel, 1967.
- Bretscher M. S. How repressor molecules function. — *Nature*, 1968, v. 217, p. 509.
- Brockman W. W., Carter W. A., Li Littl, Reusser F., Nichol F. R. Streptovaricins inhibit RNA dependent DNA polymerase present in an oncogenic RNA virus. — *Nature*, 1971, v. 230, p. 249.
- Brunschede H., Bremer H. Protein synthesis in *Escherichia coli* after irradiation with ultraviolet light. — *J. Molec. Biol.*, 1969, v. 41, p. 25.
- Buch L. a. oth. Inhibition of transfer ribonucleic methylase activity from several human tumors by nicotinamide and nicotinamide analogs. — *Biochemie*, 1972, v. 11, p. 393.
- Burleigh M., Smith M. J. H. The site of the inhibitory action of salicylate on protein biosynthesis in vitro. — *Biochem. J.*, 1970, v. 117, p. 68.
- Busiello E., Girolamo Di A., Girolamo Di M., Fischer-Fantuzzi L., Vesco C. Multiple effects of rifamycin derivatives on animal-cell metabolism of macromolecules. — *Eur. J. Biochem.*, 1973, v. 35, p. 251.
- Byfield J. E., Lee Y. C., Bennet L. R. Similarity of tetrahymena and mammalian RNA polymerases based on rifampicin resistance. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 204, p. 610.
- Calvin M., Joss U. R., Hackett A. J., Owens R. B. Effect of rifampicin and two its derivatives on cell infected with Moloney sarcoma virus. — *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, 1971, v. 68, p. 1441.
- Camarata A., Suh Jen Yau, Collett J. H., Martin A. N. Correlation of the potencies of tetracyclines in vitro with a D-ring substituent index. — *Molec. Pharmacol.*, 1970, v. 6, p. 61.
- Cannon M., Burns K. Modes of action of erythromycin and thiostrepton as inhibitors of protein synthesis. — *FEBS Letters*, 1971, v. 18, p. 1.
- Carbon J. A., Curry J. B. Genetically and chemically derived missense suppressor transfer RNA with altered enzymic aminoacylation rates. — *J. Molec. Biol.*, 1968, v. 38, p. 201.
- Cassio D., Lemoine F., Waller J. P., Sandrin E., Boissonnas A. Selective inhibition of aminoacyl ribonucleic acid synthetases by aminoalkyl adenylates. — *Biochemistry*, 1967, v. 6, p. 827.

- Chambon P., Ramuz M., Mandel P., Doly J. Inhibition of RNA polymerase by sodium polyethylene sulphate. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1967, v. 149, p. 584.
- Chang F. N., Weisblum B. Lincomycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 440.
- Chang F. N., Flaks J. G. Topography of the Escherichia coli 30S ribosomal subunit and streptomycin binding. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1970, v. 67, p. 1321.
- Chinnadurai G. Effect of cycloheximide on nucleic acid protein synthesis in *Sphacelia sorghi*. — *Currad. Sci.*, 1970, v. 39, p. 165.
- Chou S. C., Ramanathan S. Quinacrine: site of inhibition of synchronized cell division in *Tetrahymena*. — *Life Sci.*, 1968, v. 7, p. 1053.
- Chousterman S., Sonino F., Stone N., Shapeville F. La tyrosyl tRNA synthetase de *Escherichia coli*. — *Europ. J. Bioch.*, 1968, v. 6, p. 8.
- Clark J. M. Gougerotin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 278.
- Clifford J. I., Rees K. R., Stevens M. E. M. The effect of the aflatoxins B₁, G₁ and G₂ on protein and nucleic acid synthesis in rat liver. — *Biochem. J.*, 1967, v. 103, p. 258.
- Cohen L. B., Goldberg I. H., Herner A. E. Inhibition by pactamycin of the initiation of protein synthesis. — *Biochemistry*, 1969, v. 8, p. 1327.
- Coles N. W., Cross R. The effect of mitomycin C on the induced synthesis of penicillinase in *staphylococcus aureus*. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1965, v. 20, p. 366.
- Conklin K. A., Chou S. C. Antimalarials: effect on in vivo and in vitro protein synthesis. — *Science*, 1970, v. 170, p. 1213.
- Creighton A. M., Birnie G. D. Biochemical studies on growth-inhibitory bisdioxopiperazines. — *Intern. J. Cancer*, 1970, v. 5, p. 47.
- Cundliffe E. a. oth. Mechanism of inhibition of eucariotic protein synthesis by trchothecene fungal toxins. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974, v. 71, p. 30.
- Davies R. J. H. Complex formation between polyadenylic acid and formycin B. — *J. Molec. Biol.*, 1973, v. 73, p. 317.
- De Crombrughe B., Pastan I., Shaw W. V., Rosner J. L. Stimulation by cyclic AMP and ppGpp of chloramphenicol acetyl transferase sythesis. — *Nature, New Biol.*, 1973, v. 241, p. 237.
- De Vries H., Kroon A. M. On the effect of chloramphenicol and oxytetracycline on the biogenesis of mammalian mitochondria. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 204, p. 531.
- Del Monte M. A., Kazazian H. H. Unequal synthesis of globin chains after extended incubation of rabbit reticulocytes with L-methylthreonine. — *J. Molec. Biol.*, 1971, v. 56, p. 429.
- Deisseroth A. Effect of puromycin and cortisol pretreatment on the uptake of (C¹⁴) leucine into the globulins, whol histones and residual protein of the rat-liver nucleus. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 186, p. 392.
- Desai L. S., Takakusu A., McCoy T. A., Cohen J. L., Foley G. E. Human leukemia cells. Actinomycin D-resistant

- biosynthesis of RNA by isolated nuclei. — *Exp. Cell. Res.*, 1969, v. 58, p. 388.
- Donaldson G. R., Atkinson M. R., Murray A. W. Inhibition of protein synthesis in Ehrlich ascites-tumor cells by the phenanthrene alkaloids tylophorine, tylocrebrine and cryptopleurine. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1968, v. 31, p. 104.
- Doskocil J., Sorm F. The effects of 5-azacytidine and 5-azauridine on protein synthesis in *E. coli*. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1970, v. 38, p. 569.
- DuBuy H. G., Johnson M. L. Effect of actinomycin D on lactic dehydrogenase virus multiplication in mouse macrophages. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1970, v. 133, p. 1023.
- Ellem K. A. O., Rhode S. L. Selective inhibition of ribosomal RNA synthesis in HeLa cells by nogalamycin, a dA: dT binding antibiotic. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 209, p. 415.
- Elorza M. V., Sentandreu R. Effect of cycloheximide on yeast cell wall synthesis. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1969, v. 36, p. 741.
- Ennis H. L. Inhibition of protein synthesis by polypeptide antibiotics. — *Molec. Pharmacol.*, 1966, v. 2, p. 444.
- Ennis H. L., Duffy K. E. Vernamycin A inhibits the non-enzymatic fMet-tRNA binding to ribosomes. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 281, p. 93.
- Faaner R., Rogers P. Repression of enzymes of arginine biosynthesis by L-canavanine in arginyl-transfer ribonucleic acid synthetase mutants of *Escherichia coli*. — *J. Bact.*, 1972, v. 112, p. 102.
- Flexner L. B., Gambetti P., Flexner J. B., Roberts R. B. Studies on memory: distribution of peptidylpuromycin in subcellular fractions of mouse brain. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 26.
- Flickinger C. J. Ribosomal aggregates in amebae exposed to the protein synthesis inhibitor emetine. — *Exp. Cell. Res.*, 1972, v. 74, p. 541.
- Follett E. A. C. and others. Antiviral effect of constituent parts of the rifampicin molecule. — *Nature*, 1971, v. 230, p. 117.
- Frayssinet C., Moule J. Effect of Lasiocarpine on Transcription in Liver Cells. — *Nature*, 1969, v. 223, p. 1269.
- Freeman K. B. Inhibition of mitochondrial and bacterial protein synthesis by chloramphenicol. — *Canad. J. Biochem.*, 1970, v. 48, p. 479.
- Fridman R. M., Grimley P. M. Inhibition of arbovirus assembly by cycloheximide. — *J. Virol.*, 1969, v. 4, p. 292.
- Frontali L., Tecce G. Rifamycins. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 415.
- Garren L. D., Howell R. R., Tomkins G. M., Crocco R. M. A paradoxical effect of actinomycin D: the mechanism of regulation of enzyme synthesis by hydrocortisone. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1964, v. 52, p. 1121.
- Gaudin D., Gregg R. S., Yielding K. L. Inhibition of DNA repair replication by DNA binding drugs which sensitize cells to alkylating agents and x-rays. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1972, v. 141, p. 543.

- Gauss D. H., Haar V. D., Maelicke A., Grammer F. Recent results of tRNA research. — *Ann. Rev. Bioch.*, 1971, v. 40, p. 1045.
- Glaser G., Mager J. Biochemical studies on the mechanism of action of liver poisons. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 261, p. 487.
- Goddard J. P., Weiss J. J., Wheeler C. M. Studies on RNA synthesis primed by damaged templates. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 199, p. 126.
- Goldberg I. H., Friedman P. A. Antibiotics and nucleic acids. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1971, v. 40, p. 772.
- Gottlieb D. Amycetin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 703.
- Gray W. J. H., Midgley J. E. M. The control of ribonucleic acid synthesis in bacteria. — *Biochem J.*, 1971, v. 122, p. 161.
- Green M., Bragdon J., Rankin A. 3-cyclic amine derivatives of rifamycin: strong inhibitors of DNA polymerase activity of RNA tumor viruses. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, v. 69, p. 1294.
- Grollman A. P. Structural basis for the inhibition of protein biosynthesis: mode of action of tubulosine. — *Science*, 1967, v. 157, p. 84.
- Grollman A. P., Huang M. T. Inhibitors of protein synthesis in eukaryotes: tools in cell research. — *Fed. Proc.*, 1973, v. 32, p. 1673.
- Grollman A. P., Stewart M. L. Inhibition of the attachment of messenger ribonucleic acid to ribosomes. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1968, v. 61, p. 719.
- Grossman A., Boctor A. Post-transcriptional inhibition of protein synthesis by rifampicin in rat hepatoma cells. — *Life sci.*, 1973, v. 12, part 11, p. 289.
- Grunberg D., Ward D. C., Reich E. 7-Deazanebularin. — *J. Biol. Chem.*, 1972, v. 247, p. 720.
- Guidotti G. G., Loreti L., Ciaranfi E. Studies on the antitumor activity of aliphatic aldehydes. — *Europ. J. Cancer*, 1965, v. 1, p. 23.
- Hagen U., Ullrich M., Petersen E. E., Werner E., Kröger H. Enzymatic RNA synthesis on irradiated DNA. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 199, p. 115.
- Hahn F. E. Erythromycin and oleandomycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 378.
- Hamelin R., Larsen C. J., Tavitian. Effects of actinomycin D, toyocamycin and cycloheximide on the synthesis of low-molecular-weight nuclear RNAs in HeLa cells. — *Eur. J. Biochem.*, 1973, v. 35, p. 350.
- Hamilton L. D., Fuller W., Reich E. X-ray diffraction and molecular model building studies of the interaction of actinomycin with nucleic acids. — *Nature*, 1963, v. 198, p. 538.
- Hare J. D. Reversible inhibition of DNA synthesis by the arginine analogue canavanine in hamster and mouse cells in vitro. — *Exp. Cell. Res.*, 1969, v. 58, p. 170.
- Harrington H. Effect of x-irradiation on the priming activity of DNA. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1964, v. 51, p. 59.
- Harris R., Pestka S. Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes, XXIV. Effects of antibio-

- tics on binding of aminoacyl oligonucleotides to ribosomes. — *J. Biol. Chem.*, 1973, v. 248, p. 1168.
- Harrison B. D., Crockatt A. A. Effects of cycloheximide on the accumulation of tobacco rattle virus in leaf discs of *Nicotiana clevelandii*. — *J. Gen. Virol.*, 1971, v. 12, p. 183.
- Hartman B. K., Pettengill O. S., Sorenson G. D. Chloramphenicol: effects on mouse myeloma cells in tissue culture. — *Science*, 1969, v. 165, p. 297.
- Harvey C. L., Sih C. J., Knight S. G. Fusidic acid. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 404.
- Helser T. L., Davies J. E., Dahlberg. Change in methylation of 16S ribosomal RNA associated with mutation to kasugamycin resistance in *Escherichia coli*. — *Nature, New Biol.*, 1971, v. 233, p. 12.
- Hendricks D. V., Andreadis B. A. G., DeKloet S. R. Effects of cycloheximide and 5-fluorouracil on formation of low-molecular-weight ribonucleic acid in yeast. — *J. Bact.*, 1969, v. 97, p. 743.
- Herner A. E., Goldberg I. H., Cohen L. B. Stabilization of N-acetylphenylalanyl transfer ribonucleic acid binding to ribosomes by sparsomycin. — *Biochemistry*, 1969, v. 8, p. 1335.
- Horgen P. A., Griffin D. H. Specific inhibitors of the three RNA polymerases from the aquatic fungus *Blastocladiella emersonii*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 338.
- Horwitz S. B., Chang S. C., Grollman A. P., Borkovec A. B. Chemosterilant action of anthramycin: A proposed mechanism. — *Science*, 1971, v. 174, p. 159.
- Igarashi K., Ishitsuka H., Kaji A. Comparative studies on the mechanism of action of lincomycin, streptomycin, and erythromycin. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1969, v. 37, p. 499.
- Ikehara M., Murano K., Harada F., Nishimura S. Protein synthesis directed by ribopolynucleotide containing formycin. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 174, p. 696.
- Inone M., Hashimoto H., Mitsuhashi S. Mechanism of tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus*. — *J. Antibiot.*, 1970, v. 23, p. 68.
- Jacobs-Lorena M., Brega A., Baglioni C. Inhibition of protein synthesis in reticulocytes by antibiotics. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1971, v. 240, p. 263.
- Jacoby G. A., Gorini L. Streptomycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 726.
- Jelinek W. a. oth. Further evidence on the nuclear origin and transfer to cytoplasm of polyadenylic acid sequences in mammalian cell RNA. — *J. Molec. Biol.*, 1973, v. 75, p. 515.
- Jimenez A., Monro R. E., Vazquez D. Interaction of Ac-Phe-tRNA with *E. coli* ribosomal subunits. I. Sparsomycin-induced formation of a complex containing 50S and 30S subunits but not mRNA. — *FEBS Letters*, 1970, v. 7, p. 103.
- John D. W., Miller L. L. Effect of whole body x-irradiation of rats on net synthesis of albumin, fibrinogen, α_1 -acid glycoprotein, and α_2 -globulin (acute phase globulin) by isolated, perfused rat liver. — *J. Biol. Chem.*, 1968, v. 243, p. 268.

- Jordan B. R., Forget B. C., Monier R. A low molecular weight ribonucleic acid synthesized by *Escherichia coli* in the presence of chloramphenicol. — *J. Molec. Biol.*, 1971, v. 55, p. 407.
- Kaempfer R., Kaufman J. Inhibition of cellular protein synthesis by double-stranded RNA: inactivation of an initiation factor (IF-3). — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, v. 70, p. 1222.
- Kaplan S. S., Finch S. Studies on the mechanism of chloramphenicol impairment of human leukocyte function. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1970, v. 134, p. 287.
- Kappen L. S., Suzuki H., Goldberg I. H. Inhibition of reticulocyte peptide-chain initiation by pactamycin: accumulation of inactive ribosomal initiation complexes. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, v. 70, p. 22.
- Khafagy E. Z. I., Lambouy J. P. Inhibition of protein, RNA and DNA synthesis in *Escherichia coli* by p-methoxyphenethyl alcohol. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1966, v. 123, p. 646.
- King A. M. Q., Nicholson B. H. The interaction of aflatoxin B₁ with polynucleotides and its effect on ribonucleic acid polymerase. — *Biochem. J.*, 1969, v. 114, p. 679.
- Kirchmann R. J., Bonotto S. Protein synthesis in irradiated *Acetabularia* and *Phascolus*. Improving Plant Protein Nucl. Techniq. Vienna, 1970, p. 411.
- Komatsu Y., Tanaka K. Mechanism of action showdomycin. — *Agric. Biol. Chem.*, 1968, v. 32, p. 1021.
- Konishi G., Koide S. S. Stimulation of RNA polymerase activity by histones, polyamino acids and polypeptide hormones. — *Experientia*, 1971, v. 27, p. 262.
- Krakov J. S. *Azotobacter vinelandii* ribonucleic acid polymerase. I. Inhibition by congo red. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, v. 95, p. 532.
- Krueger G. Properties of antibodies synthesized by cells in vitro in the presence and absence of streptomycin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1966, v. 55, p. 1206.
- Kurylo-Borwska Z., Szer W. Inhibition of bacterial DNA synthesis by edeine. Effect on *Escherichia coli* mutants lacking DNA polymerase I. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 287, p. 236.
- Kwan S. W., Webb T. E. Differential sensitivity of the protein-synthesizing system of rat liver to 8-azaguanine. — *Life Sci.*, 1970, v. 9, p. 975.
- La Via M. F., Leavitt T., Page S. K. Effect of β -3-thienylalanine on antibody synthesis. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1972, v. 139, p. 399.
- Lai C. J., Weisblum. Altered methylation of ribosomal RNA in an erythromycin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 856.
- Lancini G., Pallanza R., Silvestri L. G. Relationships between bacterial effect and inhibition of ribonucleic acid nucleotidyltransferase by rifampicin in *Escherichia coli* K-12. — *J. Bact.*, 1969, v. 97, p. 761.
- Lark K. G. Evidence for direct involvement of RNA in the initiation of DNA-replication in *Escherichia coli* 15 T⁻. — *J. Molec. Biol.*, 1972, v. 64, p. 47.

- Laskin A. Tetracyclines. — Antibiotics, v. 1. Berlin, 1967, p. 331.
- Last J. A. Studies on the binding of tetracycline to ribosomes. — Biochim. Biophys. Acta, 1969, v. 195, p. 506.
- Lelong J. C., Cousin M. A., Gros D., Grunberg-Magnago M., Gros F. Streptomycin induced release of fmet-tRNA from ribosomal initiation complex. — Biochem. Biophys. Res. Comm., 1971, v. 42, p. 530.
- Lelkovits J., DiGirolamo M. Properties of ribonucleoprotein particles in chloramphenicol treated cells of *Escherichia coli* B. — Biochim. Biophys. Acta, 1969, v. 174, p. 561.
- Lorian V. L., Finland M. In vitro Effect of Rifampin on *Mycobacteria*. — Appl. Microbiol., 1969, v. 17, p. 202.
- Lucas-Lenard J., Lipmann F. Protein biosynthesis. — Ann. Rev. Biochem., 1971; v. 40, p. 409.
- Luzzatto L., Apirion D., Schlessinger D. Streptomycin action: greater inhibition of *Escherichia coli* ribosome function with exogenous than with endogenous messenger ribonucleic acid. — J. Bact., 1969, v. 99, p. 206.
- MacDonald I. R., Ellis R. J. Does cycloheximide inhibit protein synthesis specifically in plant tissues? — Nature, 1969, v. 222, p. 791.
- Machiyama N. Mechanism of action of lividomycin A, a new aminoglycosidic antibiotic. — J. Antibiot., 1971, v. 24, p. 706.
- Malkin M., Lipmann F. Fusidic acid: Inhibition of factor T₂ in reticulocyte protein synthesis. — Science, 1969, v. 164, p. 71.
- Mao J. C. H., Robishaw E. E. Erythromycin, a peptidyltransferase effector. — Biochem., 1972, v. 11, p. 4864.
- Markovitz A. Ultraviolet light-induced stable complexes of DNA and DNA polymerase. — Biochim. Biophys. Acta, 1972, v. 281, p. 522.
- Masukawa H. Localization of sensitivity to kanamycin and streptomycin in 30S ribosomal proteins of *Escherichia coli*. — J. Antibiot., 1969, v. 22, p. 612.
- Mauro E., et al. Rifampicin sensitivity of the components of DNA-dependent RNA polymerase. — Nature, 1969, v. 222, p. 533.
- McKeehan W., Hardesty B. The mechanism of cycloheximide inhibition of protein synthesis in rabbit reticulocytes. — Biochem. Biophys. Res. Comm., 1969, v. 36, p. 625.
- McMahon, Langstroth P. The effects of canavanine and arginine starvation on macromolecular synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. — J. Gen. Microbiol., 1972, v. 73, p. 239.
- Michalke H., Bremer H. RNA synthesis in *Escherichia coli* after irradiation with ultraviolet light. — J. Molec. Biol. 1969, v. 41, p. 1.
- Migita L. K., Hsu Y. P., Doi R. H. Pseudo-inhibitor of aminoacyl transfer RNA formation from *Bacillus subtilis*. — Biochim. Biophys. Acta, 1969, v. 195, p. 50.
- Miyazawa F., Olijnyk O. R., Tilley C. J., Tamaoki T. Interaction between dextran sulfate and *Escherichia coli* ribosomes. — Biochim. Biophys. Acta, 1967, v. 145, p. 96.
- Mizuno S., Nitta K., Umezawa H. Mode of action of enomycin an antitumor antibiotic of high molecular weight. — J. Biochem., 1967, v. 61, p. 373.

- Mizuno S., Yamazaki H., Nitta K., Umezawa H. Inhibition of DNA-dependent RNA polymerase reaction of *Escherichia coli* by an antimicrobial antibiotic, streptovaricin. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, v. 157, p. 322.
- Modolell J., Davis B. D. Breakdown by streptomycin of initiation complexes formed on ribosomes of *Escherichia coli*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1970, v. 67, p. 1148.
- Momose H., Luigi G. Genetic analysis of streptomycin dependence in *Escherichia coli*. — *Genetics*, 1971, v. 67, p. 19.
- Monro R. E., Celma M. L., Vazquez D. Action of sparsomycin on ribosome-catalyzed peptidyl transfer. — *Nature*, 1969, v. 222, p. 356.
- Moore B. G. Differential inhibition of bacterial tRNA methylases by S-adenosylethionine and other adenine derivatives. — *Canad. J. Biochem.*, 1970, v. 48, p. 702.
- Moreland D. E., Malhotra S. S., Gruenhagen R. D., Shokrah E. H. Effects of herbicides on RNA and protein syntheses. — *Weed. Sci.*, 1969, v. 17, p. 556.
- Moshkowitz A., Goldblum N., Heller E. Studies on the antiviral effect of rifampicin in volunteers. — *Nature*, 1971, v. 229, p. 422.
- Moss B., Filler R. Irreversible Effects of Cycloheximide During the Early Period of Vaccinia Virus Replication. — *J. Virol.*, 1970, v. 5, p. 99.
- Mosteller R. D., Yanofsky C. Transcription of the tryptophan operon in *Escherichia coli*: rifampicin as an inhibitor of initiation. — *J. Molec. Biol.*, 1970, v. 48, p. 525.
- Müller E., Paschinger N. Action of inhibitors of protein synthesis on active transport. — *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 1970, v. 161, p. 476.
- Nass G., Poralla K., Zähler H. Effect of the antibiotic borrelidin on the regulation of threonine biosynthetic enzymes in *E. coli*. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1969, v. 34, p. 84.
- Nathans D. Puromycin. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 259.
- Neuhoff V., Schill W. B., Sternbach H. Micro-analysis of pure deoxyribonucleic acid dependent ribonucleic acid polymerase from *Escherichia coli*. Action of heparin and rifampicin on structure and function. — *Biochem. J.*, 1970, v. 117, p. 623.
- Neville M. M., Brown N. C. Inhibition of discrete bacterial DNA polymerase by 6-(p-hydroxyphenylazo)-uracil and 6-(p-hydroxyphenylazo)-isocytosine. — *Nature, New Biol.*, 1972, v. 240, p. 80.
- Nievel J. G., Dawson W. Microsomal protein synthesis in the isolated perfused liver during actinomycin blockade of RNA synthesis. — *Nature*, 1967, v. 216, p. 818.
- Nishimura T. Mechanism of action of phenomycin a tumor-inhibitory polypeptide. — *J. Antibiot.*, 1968, v. 21, p. 110.
- Nixon P. F., Bertino J. R. Inhibition of peptide chain initiation in *Escherichia coli* by hydroxylamine. Reaction of hydroxylamine with folate coenzymes. — *Biochemistry*, 1970, v. 9, p. 4833.
- Noteboom W. D., Mueller G. C. Inhibition of protein and RNA synthesis in HeLa cells by levallorphan and levorphanol. — *Molec. Pharmacol.*, 1966, v. 2, p. 534.

- O'Brien T. W. The general occurrence of 55S ribosomes in mammalian liver mitochondria. — *J. Biol. Chem.*, 1971, v. 246, p. 3409.
- Obrig T. G. a. oth. The mechanism by which cycloheximide and related glutarimide antibiotics, inhibit peptide synthesis on reticulocyte ribosomes. — *J. Biol. Chem.*, 1971, v. 246, p. 174.
- Ohtsubo K., Kaden P., Mittermayer C. Polyribosomal breakdown in mouse fibroblasts (L-cells) by fusarenon-X, a toxic principle isolated from *Fusarium nivale*. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 287, p. 520.
- Olsnes S., Pihl A. Inhibition of peptide chain elongation. — *Nature*, 1972, v. 238, p. 459.
- Oxford J. S. An inhibitor of the particle associated RNA-dependent RNA polymerase of influenza A and B viruses. — *J. gen. Virol.*, 1973, v. 18, p. 11.
- Ozaki M., Mizushima S., Nomura M. Identification and functional characterization of the protein controlled by the streptomycin-resistant locus in *E. coli*. — *Nature*, 1969, v. 222, p. 333.
- Ozanne B. a. oth. Aminoglycoside antibiotics: inactivation by phosphorylation in *Escherichia coli* carrying R factors. — *J. Bact.*, 1969, v. 100, p. 1144.
- Parthier B. Specific inhibitor of aminoacyl transfer RNA synthesis from pea seedlings. — *Naturwissenschaften*, 1968, Bd. 55, S. 653.
- Pestka S. Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. V. On the function of a soluble transfer factor in protein synthesis. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1968, v. 61, p. 726.
- Pestka S. Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1969, v. 64, p. 709.
- Pestka S. Inhibitors of ribosome functions. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1971, v. 40, p. 697.
- Pestka S., Hintikka H. Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. — *J. Biol. Chem.*, 1971, v. 246, p. 7723.
- Pestka S., Rosenfeld H., Harris R., Hintikka H. Studies on transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. XXI. Effect of antibiotics on peptidyl-puromycin synthesis by mammalian polyribosomes. — *J. Biol. Chem.*, 1972, v. 247, p. 6895.
- Pollard E. C., Weller P. K. Effect of rifampicin on the radiation sensitivity of several strains of *Escherichia coli*. — *Nature*, 1969, v. 222, p. 1173.
- Prehn K., Tybring L., Forchhammer J. Fusidic acid and derivatives. Inhibition of protein synthesis in cell-free systems from *Escherichia coli* and *Bacillus stearothermophilus*. — *Acta path. microbiol. Scand.*, 1967, v. 71, p. 135.
- Rainsford K. D., Smith M. J. H. Inhibition of protein biosynthesis by salicylate in gastric-mucosal scrapings of pig and man in vitro. — *Biochem. J.*, 1969, v. 111, p. 37.
- Rao S. S., Grollman A. P. Cycloheximide resistance in yeast a property of the 60S ribosomal subunit. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1967, v. 29, p. 696.

- Ravel J. M., Mosteller R. D., Hardesty B. NaF inhibition of the initial binding of aminoacyl-sRNA to reticulocyte ribosomes. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1966, v. 56, p. 701.
- Ray D. S. Replication of bacteriophage M13. — J. Molec. Biol., 1970, v. 53, p. 239.
- Reddy J., Harris G., Svoboda D. Inhibition by lasiocarpine of RNA synthesis, RNA polymerase and induction of tryptophan pyrrolase activity. — Nature, 1968, v. 217, p. 659.
- Reich E., Cerami A., Ward D. C. Actinomycin. — Antibiotics, v. 1. Berlin, 1967, p. 714.
- Reid P., Speyer J. Rifampicin inhibition of ribonucleic acid and protein synthesis in normal and ethylenediaminetetraacetic acid-treated *Escherichia coli*. — J. Bact., 1970, v. 104, p. 376.
- Remington J. S., Yagura T., Robinson W. S. The effect of rifampin on *Toxoplasma gonidii*. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1970, v. 135, p. 167.
- Remy P. a. oth. Analogues of Nucleoside Polyphosphates. — J. Molec. Biol., 1970, v. 48, p. 173.
- Rennert O. M., Anker H. S. Effect of 5', 5', 5'-trifluoroleucine on a number of mouse leukaemias. — Nature, 1964, v. 203, p. 1258.
- Reynolds F., Grunberg D., Pitha J., Pitha P. M. Inhibition of cell-free protein synthesis by poly (9-vinyladenine), poly-(1-vinyluracil), and the corresponding vinyl copolymers. — Biochemistry, 1972, v. 11, p. 3261.
- Ringrose P. S., Lambert R. W. The action of novel chloramphenicol analogues on prokariotic and eucaryotic systems. — Biochim. Biophys. Acta, 1973, v. 299, p. 374.
- Robertson H. D., Mathews M. B. Double-stranded RNA as an inhibitor of protein synthesis and as a substrate for a nuclease in extracts of Krebs II ascites cells. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, v. 70, p. 225.
- Rosen B., Rothman F., Weigert M. G. Miscoding caused by 5-fluorouracil. — J. Molec. Biol., 1969, v. 44, p. 363.
- Roth E. F., Kochen J. Acridine orange potentiation of actinomycin D uptake and activity. — Science, 1971, v. 174, p. 696.
- Rusconi A. Different binding sites in DNA for actinomycin and daunomycin. — Biochim. Biophys. Acta, 1966, v. 123, p. 561.
- Sala F., Ciferri O. Inhibition of peptide chain initiation in *Escherichia coli* by fusidic acid. — Biochim. Biophys. Acta, 1970, v. 224, p. 199.
- Sarin P. S., Johns H. E. UV induced conformational changes in transfer RNA. — Photochem. Photobiol., 1968, v. 7, p. 203.
- Sarkar P. K., Goldman B., Moscona A. A. Involvement of poly-A in selective gene expression: suppression of enzyme induction in neural retina by inhibitors of poly-A synthesis. — Bioch. Biophys. Res. Comm., 1973, v. 50, p. 308.
- Sauerbier W., Millette R. L., Hackett P. B. The effect of ultraviolet irradiation on the transcription of T4 DNA. — Biochim. Biophys. Acta, 1970, v. 209, p. 368.
- Schachtele C. F., Rogers P. Mechanism of canavanine death in *Escherichia coli*. — J. Molec. Biol., 1968, v. 34, p. 843.
- Schindler D. Two classes of inhibitors of peptidyl transferase activity in eukaryotes. — Nature, 1974, v. 249, p. 38.

- Schleiff R. Isolation and characterization of a streptolydigin resistant RNA polymerase. — *Nature*, 1969, v. 223, p. 1068.
- Schlesinger S., Schlesinger M. J. The effect of amino acid analogues on alkaline phosphatase formation in *Escherichia coli* K-12. — *J. Biol. Chem.*, 1969, v. 244, p. 3803.
- Schluederberg A., Hendel R. C., Chavanich S. Actinomycin D: renewed RNA synthesis after removal from mammalian cells. — *Science*, 1971, v. 172, p. 577.
- Sebesta K., Horská K. Mechanism of inhibition of DNA — dependent RNA polymerase by exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 209, p. 357.
- Segal D. S., Squire L. R., Baronides S. H. Cycloheximide: its effects on activity are dissociable from its effects on memory. — *Science*, 1971, v. 172, p. 82.
- Shafritz D. A., Laycock D. G., Anderson F. Puromycin-peptide bond formation with reticulocyte initiator factors M_1 and M_2 . — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 496.
- Shaw W. V., Bentley D. W., Sands L. Mechanism of chloramphenicol resistance in *Staphylococcus epidermidis*. — *J. Bact.*, 1970, v. 104, p. 1095.
- Sherman M. I., Simpsons M. V. The role of ribosomal conformation in protein biosynthesis: the streptomycin — ribosome interaction. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1969, v. 64, p. 1388.
- Shigeura H. T. Tenuazonic acid. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 360.
- Shinozawa T. a. oth. Gnteraction of polyvinyl sulfate with ribosomes. — *J. Mol. Biol.*, 1968, v. 36, p. 305.
- Siegelman F., Apirion D. Aurintricarboxylic acid, a preferential inhibitor of initiation of protein synthesis. — *J. Bact.*, 1971, v. 105, p. 902.
- Simon E. J., Van Praag D. Inhibition of RNA synthesis in *Escherichia coli* by levorphanol. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1964, v. 51, p. 877.
- Singer R. H., Penman S. Stability of HeLa cell mRNA in actinomycin. — *Nature*, 1972, v. 240, p. 100.
- Sippel A., Hartmann G. Mode of action of rifamycin on the RNA polymerase reaction. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, v. 157, p. 218.
- Sisler H. D., Siegel M. R. Cycloheximide. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 283.
- Smithers D., Bennet L. L., Struck R. F. Inhibition of protein synthesis in mammalian cells by actinobolin. — *Molec. Pharmacol.*, 1969, v. 5, p. 433.
- Smith J. L., Forbes I. J. Inhibition of protein synthesis in human lymphocytes by thiopurines. — *Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1970, v. 48, p. 267.
- Snyder A. L., Kann H. E., Kohn K. W. Inhibition of the processing of ribosomal precursor RNA by intercalating agents. — *J. Molec. Biol.*, 1971, v. 58, p. 555.
- Sompolinsky D. a. oth. Mechanism of tetracycline resistance in *Staphylococcus aureus*. — *J. Gen. Microbiol.*, 1970, v. 62, p. 351.
- Spelsberg T. C. a. oth. Inhibition of RNA polimerase activity by arginine-rich histones. — *Experientia*, 1969, v. 25, p. 129.

- Stenram U., Willen R. Effects of proflavine on ultrastructure and RNA and protein synthesis in the liver of rats. — *Exp. Cell. Res.*, 1968, v. 50, p. 505.
- Stewart M. L., Grollman A. P., Huang Mon-Tuan. Aurintricarboxylic acid inhibitor of initiation of protein synthesis. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 97.
- Stewart-Blair M. L., Janowitz I. S., Goldberg I. H. Inhibition of synthesis of new globin chains in reticulocyte lysates by pactamycin. — *Biochemistry*, 1971, v. 10, p. 4198.
- Stirpe F., Fiumo L. Studies on the pathogenesis of liver necrosis by α -amanitin. Effect of α -amanitin on ribonucleic acid synthesis and on ribonucleic acid polymerase in mouse liver nuclei. — *Biochem. J.*, 1967, v. 105, p. 779.
- Strijkert P. J., The effect of 5-fluorouracil on induced enzyme synthesis in yeast. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 182, p. 262.
- Summers D. F., Maizel J. V. Determination of the gene sequence of poliovirus with pactamycin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 2852.
- Surzycki S. J. Genetic function of the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardi*: effect of rifampin on chloroplast DNA — dependent RNA polymerase. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1969, v. 63, p. 1327.
- Suzuiki J., Kunitomo T., Hori M. Effect of kanamycin on protein synthesis: inhibition of elongation of peptide chains. — *J. Antibiot.*, 1970, v. 23, p. 99.
- Szer W., Kurylo-Borowska Z. Interactions of edeine with bacterial ribosomal subunits. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, v. 259, p. 357.
- Szybalski W., Iyer V. N. Mitomycins and porphyromycins. — *Antibiotics*, v. 1. Berlin, 1967, p. 211.
- Tada K., Trakattellis A. C. Mechanism of action of sparsomycin on protein synthesis. *Antimicrob. Agents and Chemother.* — *Proc. 10th Intersci. Conf.*, v. III. Chicago, 1970, p. 227.
- Tai Ph.-Ch., Wallace B. J., Davis B. D. Action of aurintricarboxylate, kasugamycin, pactamycin. — *Biochem.*, 1973, v. 12, p. 616.
- Takeda Y., Igarashi K. Polyamines and protein synthesis. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 204, p. 406.
- Tanaka K., Teraoka H. Effect of erythromycin on polylysine synthesis directed by poly (adenylic acid) in an *Escherichia coli* cell-free system. — *J. Biochem.*, 1968, v. 64, p. 635.
- Tanaka K., Tamaki M., Watanabe S. Effect of furanomycin on the synthesis of isoleucyl-tRNA. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 195, p. 244.
- Tanaka N., Kinoshita T., Masukawa H. Mechanism of inhibition of protein synthesis by fusidic acid and related steroidal antibiotics. — *J. Biochem.*, 1969, v. 65, 459.
- Tanaka N., Nishimura T., Kinoshita T. Inhibition by fusidic acid of transferase II in reticulocyte protein synthesis. — *J. Biochem.*, 1970, v. 67, p. 459.
- Tanaka J., Kaji H. The role of ribosomal protein for the binding of dihydrostreptomycin to ribosomes. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1968, v. 32, p. 313.

- Tardrew P. L., Mao J. C. H., Kenney D. Antibacterial activity of 2'-Esters of Erythromycin. — *Appl. Microbiol.*, 1969, v. 18, p. 159.
- Tasca R. J., Hillman N. Effects of actinomycin D and cycloheximide on RNA and protein synthesis in cleavage stage mouse embryos. — *Nature*, 1970, v. 225, p. 1022.
- Tasuku H., Nishizuka Y., Kato I., Hayaishi O. Adenosine diphosphate ribosylation of aminoacyl transferase II and inhibition of protein synthesis by diphtheria toxin. — *J. Biol. Chem.*, 1971, v. 246, p. 4251.
- Taussig A., Ronnen E. The effect of chloramphenicol on the induction of cyanase in *Escherichia coli*. — *Canad. J. Biochem.*, 1970, v. 48, p. 790.
- Teraoka H., Tanaka K., Tamaki M. Comparative study of the effects of chloramphenicol, erythromycin and lincomycin on polylysine synthesis in an *Escherichia coli* cell-free system. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 174, p. 776.
- Teraoka H. Reversible change in the ability of *Escherichia coli* ribosomes to bind to erythromycin. — *J. Molec. Biol.*, 1970, v. 48, p. 511.
- Teraoka H. Reversal of inhibitory action of chloramphenicol on the ribosomal peptidyl transfer reaction by erythromycin. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 213, p. 535.
- Teraoka H., Tanaka K. An alteration in ribosome function caused by equimolar binding of erythromycin. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, v. 232, p. 509.
- Tezuka N., Taniguchi T., Matsui C. Inhibition of cauliflower mosaic virus multiplication by actinomycin D. — *Virology*, 1971, v. 43, p. 717.
- Tisman G., Herbert V., Go T., Brenner L. Inhibition by penicillamine of DNA and protein synthesis by human bone marrow. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1972, v. 139, p. 355.
- Tobey R. A., Petersen D. F., Walters R. A. Synthesis of functional proteins in x-irradiated mammalian cells. — *Nature*, 1969, v. 221, p. 191.
- Trakatellis A. C. Effect of sparsomycin on protein synthesis in the mouse liver. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1968, v. 59, p. 854.
- Tsugawa A., Ohsumi Y., Koto J. Inhibitory effect of diphtheria toxin on amino acid incorporation in *Escherichia coli* cell-free system. — *J. Bact.*, 1970, v. 104, p. 152.
- Ueno Y., Ueno I., Ito K., Tatsuno T. Impairments of RNA synthesis in Ehrlich ascites tumor by luteoskyrin, a hepatotoxic pigment of *Penicillium islandicum* Sopp. — *Experientia*, 1967, v. 23, p. 1001.
- Uno H., Oyabu S., Ontsuka E., Ikehara M. The effect of guanosine 5'-triphosphate analogues on protein synthesis. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, v. 228, p. 282.
- Vazquez D. Antibiotics affecting chloramphenicol uptake by bacteria. Their effect on amino acid incorporation in cell free system. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1966, v. 114, p. 289.
- Venkataraman S., Walerych W., Johnson B. C. Methylation of tRNA: effect of vitamin B₁₂ deficiency in rat. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1967, v. 124, p. 204.

- Vian J. P., Davis F. F. Effect of cycloheximide on the synthesis and modification of ribosomal RNA in *Neurospora crassa*. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, v. 209, p. 190.
- Villiers T. A. An autoradiographic study of the effect of the plant hormone abscisic acid on nucleic acid and protein metabolism. — *Planta*, 1968, v. 82, p. 342.
- Vogel Z., Vogel T., Zamir A., Elson D. Ribosome activation and the binding of dihydrostreptomycin: effect of polynucleotides and temperature on activation. — *J. Molec. Biol.*, 1970, v. 54, p. 379.
- Wade A., Yamamoto Y., Fukutome H., Kawade Y. Ultraviolet inactivation of amino acid acceptance of transfer RNA. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, v. 161, p. 469.
- Wagner R. R. Inhibition of interferon biosynthesis by actinomycin D. — *Nature*, 1964, v. 204, p. 49.
- Walter G., Zillig W., Palm P., Fuchs E. Initiation of DNA-dependent RNA synthesis and the effect of heparin on RNA polymerase. — *Europ. J. Biochem.*, 1967, v. 3, p. 194.
- Ward D. C., Cerami A., Reich E., Acs G., Altwerger L. Biochemical studies of the nucleoside analogue, formycin. — *J. Biol. Chem.*, 1969, v. 244, p. 3243.
- Warnecke P., Seeber S. Точки приложения алкалоидов барвинка в обмене белков и нуклеиновых кислот. — *Z. Krebsforsch.*, 1968, Bd. 71, S. 361.
- Weeks D. P., Baxter R. Specific inhibition of peptide — chain initiation by 2-(4-methyl-2,6-dinitroanilino)-N-methylpropionamide. — *Biochemistry*, 1972, v. 11, p. 3060.
- Watanabe S. Interaction of siomycin with the acceptor site of *Escherichia coli* ribosomes. — *J. Molec. Biol.*, 1972, v. 67, p. 443.
- Watkins A. L., Krueger R. G. Antibody synthesis in vitro: the antigenic reactivity of antibodies to coliphage MS-2 synthesized in the presence and absence of streptomycin. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1970, v. 133, p. 750.
- Weber M. J., DeMoss J. A. Inhibition of the peptide bond synthesizing cycle by chloramphenicol. — *J. Bact.*, 1969, v. 97, p. 1099.
- Wehrli W., Stachelin M. The rifamycins-relation of chemical structure and action on RNA polymerase. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, v. 182, p. 24.
- Weinstein I. B., Carchman R., Margner E., Hirschberg E. Miracil D: effects on nucleic acid synthesis, protein synthesis, and enzyme induction in *Escherichia coli*. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1967, v. 142, p. 440.
- Weisberger A. S., Daniel T. M. Suppression of antibody synthesis by chloramphenicol analogs. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1969, v. 131, p. 570.
- Weisblum B., Davies J. Antibiotic inhibitors of the bacterial ribosome. — *Bacteriol. Rev.*, 1968, v. 32, p. 493.
- Weisblum B., Demohn V. Thiostrepton, an inhibitor of 50S ribosome subunit function. — *J. Bact.* 1970, v. 101, p. 1073.
- Weisblum B., Demohn V. Inhibition by thiostrepton of the formation of a ribosome-bound guanine nucleotide complex. — *FEBS Letters*, 1970, v. 11, p. 149.

- Weislogel P. O., Butow R. A. Low temperature and chloramphenicol induction of respiratory deficiency in a cold-sensitive mutant of *saccharomyces cerevisiae*. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1970, v. 67, p. 52.
- Wells R. D., Larson J. E. Binding of actinomycin D to DNA and DNA model polymers. — J. Molec. Biol., 1970, v. 49, p. 319.
- Whitchard L. P., Washington M. E., Holbrook D. J. The inhibition in vitro of bacterial DNA polymerases and RNA polymerase by antimalarial 8-aminoquinolines and by chloroquine. — Biochim. Biophys. Acta, 1972, v. 287, p. 52.
- Wilhelm J. M., Corcoran J. W. Antibiotic glycosides. VI. Definition of the 50S ribosomal subunit of *Bacillus subtilis* 168 as a major determinant of sensitivity to erythromycin A. — Biochemistry, 1967, v. 6, p. 2578.
- Winston R. A., Bosmann H. B. Protein and glycoprotein synthesis in rat liver mitochondria and rat intraneural mitochondria and protein synthesis in rat liver microsomes in the presence of L-canavanine. — Chem. Biol. Interact., 1971, v. 3, p. 131.
- Wolff H., Zähler H. Kirromycin an inhibitor of the 30S ribosomal subunits function. — FEBS Letters, 1972, v. 21, p. 347.
- Wogan G. N. Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. — Bact. Rev., 1966, v. 30, p. 460.
- Yeh S. D. J., Shils M. E. Quantitative aspects of cycloheximide inhibition of amino acid incorporation. — Biochem. Pharmacol., 1969, v. 18, p. 1919.
- Yem D. W., Williams L. S. Inhibition of arginyl-transfer ribonucleic acid synthetase activity of *Escherichia coli* by arginine biosynthetic precursors. — J. Bact., 1971, v. 107, p. 589.
- Yong R. M., Nacada D. Defective ribosomes in chloramphenicol-treated *Escherichia coli*. — J. Molec. Biol., 1971, v. 57, p. 457.
- Yoshida K., Osawa S. Origin of the protein component of chloramphenicol particles in *Escherichia coli*. — J. Molec. Biol., 1968, v. 33, p. 559.
- Yura T., Igarashi K. RNA polymerase mutants of *Escherichia coli*. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1968, v. 61, p. 1313.
- Zakay-Rones Z., Becker Y. Anti-poxvirus activity of rifampicin associated with hydrazone side chain. — Nature, 1970, v. 226, p. 1162.
- Zelkowitz L., Arimura G. K., Yunis A. A. Chloramphenicol and protein synthesis in mammalian cells. — J. Lab. Clin. Med., 1968, v. 71, p. 596.
- Zimmerman E. F. Azaguanine inhibition of protein synthesis. — Biochim. Biophys. Acta, 1968, v. 157, p. 378.
- Zimmermann R. A., Rosset R., Gorini L. Nature of phenotypic masking exhibited by drug-dependent streptomycin A mutants of *Escherichia coli*. — J. Molec. Biol., 1971, v. 57, p. 403.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА БЕЛКА, РАССМАТРИВАЕМЫХ В МОНОГРАФИИ

а) Групповые названия:

- Алифатические альдегиды 99, 100
- Алкалоиды 85—88, 151, 174
- Алкилирующие природные соединения 36, 83—85
- Алкилирующие синтетические (неприродные) соединения 36, 80—83, 168
- Аминоалкиладенилаты 160
- Аминогликозидные антибиотики 92, 99, 101, 114—124, 152, 173, 175, 178, 179
- Аналоги аминокислот 90, 157, 176
- Аналоги ГТФ 156, 173
- Аналоги нуклеозидов 15, 48—57, 64, 85, 106, 161, 169, 171
- Аналоги нуклеотидов 48—57, 64
- Аналоги оснований 48—57, 62, 64, 90
- Афлатоксины 85
- Бисдиоксопиперазины 81
- Гистоны 58, 60, 64
- Глутаримидные антибиотики 147—152, 173
- Диазокетоны 81
- Интеркалирующие агенты 17—37
- Ионизирующая радиация 36, 45, 71, 72—79, 90, 164, 171
- Макролиды 135—142, 173, 175, 179
- N*-нитрозопроизводные мочевины, уретана, гуанина 80
- Нуклеазы 60, 74
- Олигонуклеотиды 114
- Основные белки 58, 60, 64, 150
- Полинуклеотиды 61, 178
- Производные акридина 30—37, 64, 168, 170
- Производные нафтохинона 37
- Производные хинолина 34—37, 64, 168, 170
- Протамины 60
- Противомаларийные средства 34—36
- Рифамицины 19, 37—45, 62, 64, 132, 167—170, 179
- Сахара 65

Спирты 65
Стероидные антибиотики 142—145
Стрептоварицины 45, 46, 48, 64, 168, 169
Тетрациклины 92, 101, 110—112, 120, 141, 152, 172,
174—176, 179
Тиопурины 57
Трифторпроизводные аминокислот 158, 160
Ультрафиолетовое излучение 68—71, 73, 75, 79, 90,
171
Фенантроновые алкалоиды 154
Эденны 112—114

б) Соединения:

Абрин 154
Абсцизиновая кислота 65
S-аденозилэтионин 159, 164
8-азагуанин 53, 54, 171
5-азацитидин 54, 55
Азатиопурин 57
6-азауридин 55, 171
Азетидин-2-карбоновая кислота 158
Акридиновый оранжевый 30, 32—34
Акрифлавин 30—34
Акрихин (хинакрин) 34—36
Актиноболин 110, 174
Актидион (циклогексимид) 48, 66, 107, 147—151, 154,
155, 168, 171, 173—176
Актиномицин D 15—25, 33, 40, 64, 85, 112, 167—170,
177
Актифенол 150, 174
Аллоизолейцин 158
Алтиомицин 142
 α -аманитин 47, 48, 66, 168—170
Аминоакрихин 34, 35
Аминонафтохинонимин 37
6-аминоникотинамид 164
8-аминохинолин 36
Амицетин 94, 132, 152, 153, 173, 174, 176
Анизомицин 141, 152, 174, 176
Антрамицин 29
Арабинозил-меркаптопуриин 52

Ауринтрикарбоновая кислота 90, 95, 98, 172, 174—
176
Афлатоксин В₁; В₂; G₁; G₂ 86, 87, 177
Бластицидин 132, 142, 176
Блуэнизомидин 120
Боррелидин 160, 177
Боттромидин 132, 142, 174, 176
Бриамидин (тиострептон) 146, 147
Валинол-АМФ 161
Вернамидин А (стрептограмин А) 132
Вернамидин В (стрептограмин В) 132, 142
Веррукарин А 98
Винбластин 65
Винкристин 65
Вномидин 132
Гаррингтонин 98, 172
Гельволовая кислота 145
Гепарин 14, 61, 63, 64, 168, 171
Гидроксиламин 34, 90, 134, 162, 163
Глобимидин 29
Гризеовиридин 142
Гуанилил-5-метилендифосфонат 156
Гуанозинтетрафосфат 63, 64
Гуанозин-5-фосфогипофосфат 156
Гугеротин 109, 110, 142, 174, 176
Двучепочечная РНК 101
7-деазанебуларин 55
3'-дезоксиаденозин 52, 62, 171
3'-дезокситидин 52
2',3'-дидезоксиаденозин 52
Диносиб 65
Дифтерийный токсин 100, 101, 145, 146, 173
Изолейцинол-АМФ 161
Казугамицин 98, 122, 123
Камптотецин 87, 171
Канаванин 158, 159
Канамидин 101, 117, 120—122, 173, 174
Канханомидин 63, 64, 168, 171
Капреомидин 132
Карбомицин 135, 138, 142, 174
Кирромицин 123
Колхицин 65
Конго красный 65

Кордицепин 16, 52, 168
Криптоплеврин 154, 155, 174, 176
Ласнокарпин 65
Левалорфан 65
Леворфанол 65
Ливидомицин 122
Линкомицин 133, 140, 152, 173—175
Лютеоскирин 65
 β -меркаптовалин 160
6-меркаптопурин 57
2-метилгистидин 158
2-(4-метил-2,6-динитроанилин)-*N*-метил-пропионамид
(МДМП) 98
L-*O*-метилтреонин 158
5-метилтриптофан 158
Метионилол—АМФ 161
p-метоксифенилэтиловый спирт 65
Микрококцин 152, 173
Мирацил D 25, 64
Митомицин 83—85
Митрамицин 25, 27, 28
Мономицин (паромомицин) 120, 121
Неомицин 101, 120, 121, 173, 174
Ниваленол 98
Ниваленон 154
Ниддамицин 135, 138
Никотинамид 164
N-нитрозометилмочевина 81
N-нитропропилмочевина 80
Ногаламицин 28, 64
Нуклеоцидин 161, 174
Оксинил 65
Окситетрациклин 111
Олеандомицин 135—139, 141, 173, 174
Оливомицин 25—27, 168, 170, 178
Пактамицин 91, 97, 132, 172, 174—176
Паромомицин (мономицин) 120, 121
Педерин 102, 103, 174
Пеницилламин (β -меркаптовалин) 160
Пиридин-3-карбоксальдегид 164
Поливиниладенин 114
Поливинилсульфат 101
Поливинилурацил 114

Полидекстрансульфат 101, 174, 176
Полнэтиленсульфонат 61
Порфирамицин 83, 84
Примахин 36
Профлавин 32
Пуромицин 102, 104—111, 122, 125, 126, 134, 138,
141, 143—145, 148, 151, 169, 173, 174
Рамицин (фусидовая кислота) 93, 132, 142—146,
148—152, 173—176
Рифамицин S; O; SV; B 38
Рифампицин 39, 44—46, 48, 66
Рицин 154
РНК двуцепочечная 21, 101
Салициловая кислота 90, 161, 162
Селеноцистамин 47
Синергистин А (РА-114А) 142
Сиомицин А 152, 173
Спарсомицин 107, 132, 134, 135, 148, 152, 173, 174,
176
Спектиномицин 99, 120, 121, 178
Спирамицин 111, 135, 174
Стрептимидон 147, 151, 174
Стрептоварицин А; В; С 46, 168, 170
Стрептовитацин 147, 151, 174
Стрептограмин А (вернамицин А) 132, 173, 174
Стрептограмин В (вернамицин В) 132
Стрептолидигин 15, 46, 48, 64, 170
Стрептомицин 99, 101, 114—124, 155, 173, 174, 178
Тенуазоновая кислота 153, 174, 176
 β -2-тиенилаланин 158, 160
Тиамфенкол 125
Тилозин 135
Тилокребрин 154, 155, 174, 176
Тилофорин 154, 155, 174, 176
6-тиогуанин 57
Тионикотинамид 164
Тиострептон (бриамицин) 132, 146, 147, 152, 173,
175
Токсин *Bac. thuringiensis* 49, 171
Токсин Т-2 98
Тойокамицин 62, 171
Трифторлейцин 160
Триходермин 142

Трихотецены 98
Тубулозин 151
Феномицин 114, 174
Фенилэтиловый спирт 65
Формицин 51, 52, 62
Фтористый натрий 98, 102, 107
5-фторурацил 55—57, 164
Фторфенилаланин 158
Фузаренон 154
Фураномицин 158
Фусидовая кислота (фузидин, раммицин) 93, 132,
142—146, 148, 152, 173—176
Хинакрин (акрихин) 34—36
Хинин 34—36
Хинолин гидроксированный 36, 64
Хлорамфеникол 93, 112, 124, 125—135, 140, 141, 152,
173—175, 178
Хлорохин 35—37
Хлортетрациклин 111
Хромомицин 25—27, 40, 168, 170
Цефалоспорины Р₁ 145
Циклогексеналанин 158
Циклогексимид (актидион) 48, 66, 107, 147—151, 154,
155, 168, 171, 173—176
Цис-оксипролин 158
Цис-фторпролин 158
Цитозинарабинозид 52, 57, 85, 171
Шовдомицин 50, 171
Эдени А₁ 101, 113—114, 172, 174, 176
Эметин 151, 173, 174, 176
Эномицин 54, 174, 176
Эритромицин 133, 135—141, 173, 174
Этидий бромид 37, 62, 63, 171
N-этилмалеимид 51
Этионин 103, 158—160
ПА-114А (синергистин А) 142

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|-----|
| Введение | 3 |
| Условные обозначения (для веществ, обозначения которых либо не унифицированы, либо унифицированы сравнительно недавно) | 5 |
| <i>Глава I.</i> Популярный обзор основных этапов биосинтеза белков и функциональная классификация ингибиторов | 7 |
| <i>Глава II.</i> Подавление синтеза и посттранскрипционных превращений РНК без нарушения целостности матрицы . | 13 |
| Антибиотики, блокирующие матрицу | 16 |
| Антибиотики, непосредственно подавляющие функцию РНК-полимеразы | 37 |
| Торможение синтеза РНК и белка аналогами оснований, нуклеозидов и нуклеотидов | 48 |
| Аналоги нуклеозидов и нуклеотидов, преимущественно тормозящие транскрипцию | 49 |
| Аналоги основания, нуклеозидов и нуклеотидов, включающиеся в РНК и искажающие информацию | 52 |
| Ингибиторы транскрипции белковой природы, нуклеазы, полинуклеотиды | 58 |
| Ингибиторы посттранскрипционных превращений РНК . | 61 |
| Малоизученные ингибиторы транскрипции | 63 |
| <i>Глава III.</i> Угнетение биосинтеза белков при воздействиях, повреждающих ДНК | 67 |
| Нарушения синтеза РНК и белка при повреждении ДНК ультрафиолетовыми лучами | 68 |
| Влияние ионизирующей радиации на матричные свойства ДНК и связанные с этим нарушения синтеза белка | 72 |
| Повреждение ДНК химическими агентами | 80 |
| Синтетические (неприродные) алкилирующие соединения | 80 |
| Природные алкилирующие соединения (антибиотики) | 83 |
| Некоторые токсины и алкалоиды | 85 |
| <i>Глава IV.</i> Подавление трансляции и рекогниции | 88 |
| Ингибиторы инициации | 95 |
| Ингибиторы элонгации | 103 |
| Ингибиторы присоединения к рибосомам аминокислот-РНК | 110 |
| Ингибиторы образования пептидной связи (транспептидации) | 124 |
| Ингибиторы транслокации | 142 |

| | |
|---|-----|
| Ингибиторы терминации | 152 |
| Малонзученные ингибиторы трансляции | 153 |
| Ингибиторы, не обладающие преимущественным действием на какую-либо одну стадию трансляции | 155 |
| Нарушения синтеза белка, связанные с подавлением образования и функции аминоктил-тРНК | 157 |
| Ингибиторы аминоктил-тРНК-синтетаз | 157 |
| Подавление или извращение синтеза транспортных РНК | 163 |
| Заключение | 165 |
| Основная литература | 182 |
| Алфавитный указатель ингибиторов синтеза белка, рассматриваемых в монографии | 201 |

Игорь Петрович Ашмарин
Лев Александрович Ключарев

ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БЕЛКА

37

Редактор Б. Ф. Коровкин
Обложка художника Ю. Г. Колотвина
Художественный редактор А. И. Приймак
Технический редактор Э. П. Выборнова
Корректор Р. И. Гольдина

Сдано в набор 28/X 1974 г. Подписано к печати 21/IV 1975 г. Формат бумаги 84x108¹/₁₆. Печ. л. 6,6. Бум. л. 3,25. Уч.-изд. л. 10,77. Усл. л. 10,92. М-26670. ЛН-71. Тираж 7000 экз. Заказ № 411. Цена 1 р. 23 к.
Бумага типографская № 3

Ленинград «Медицина», Ленинградское отделение.
192104, Ленинград, ул. Некрасова, д. 10.

Ордена Трудового Красного Знамени Ленинградская типография № 2
имени Евгении Соколовой Союзполиграфпрома
при Государственном комитете Совета Министров СССР
по делам издательств, полиграфии и книжной торговли.
198052, Ленинград, Л-52, Измайловский проспект, 29

1 р. 23 к.

МЕДИЦИНА 1975 .