

УДК 577.1

Н. Г. АЗАРЯН, И. Г. БУНИАТЯН, А. Ц. ХУДОЯН

АКТИВАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ПРОКАРИОТ В ПРИСУТСТВИИ ДВУСПИРАЛЬНОЙ РНК

Проведено исследование влияния двуспиральной РНК (дс-РНК) на процессы генетической трансформации и конъюгации в широком диапазоне грамотрицательных бактериальных видов. Показано, что дс-РНК в присутствии CaCl_2 в концентрациях 10 мкг/мл и 1 мМ соответственно эффективно увеличивает частоту генетического обмена. При этом дс-РНК и CaCl_2 в указанных концентрациях самостоятельно не вызывают подобного эффекта.

Олигонуклеотиды, к которым относится и двуспиральная РНК (дс-РНК), являются мембраноактивными соединениями, взаимодействующими с ферментными системами клетки, с ее генетическим аппаратом. Они генерируют трансмембранные сигналы индукции интерлейкинов и интерферонов, регулируют генную активность и ингибируют экспрессию онкогенов и вирусных генов [1, 2]. Большое значение при этом имеет нуклеотидный состав: дс-РНК А-У типа менее токсична и более эффективна в оказываемом терапевтическом действии по сравнению с дс-РНК Г-Ц типа [3]. Двуспиральная РНК увеличивает амплитуду колебаний мембранного потенциала, энергия которого обеспечивает перенос нуклеиновых кислот через клеточную мембрану [4]. Такой перенос происходит при проникновении экзогенной ДНК в клетку в процессе генетической трансформации и при переходе ДНК из донорной клетки в реципиентную при их непосредственном контакте в процессе конъюгации.

Целью настоящей работы явилось изучение воздействия дс-РНК А-У и Г-Ц типов на эффективность генетической трансформации и конъюгации в широком круге грамотрицательных бактерий.

При трансформации *E. coli* и *P. putida* ДНК плазмид рBR322 и Sal соответственно контрольная компетентность клеток достигалась их обработкой 0,1 М CaCl_2 [5]. Конъюгационные скрещивания проводили по описанной методике [6] с использованием плазмид Р-1 группы несовместимости (Inc Р-1), характеризующихся уникальной способностью передаваться в филогенетически отдаленные грамотрицательные бактериальные роды и стабильно в них наследоваться [7].

Частота трансформации рВR322 в *E. coli* HB 101 г м⁻¹ в присутствии дс-РНК обоих типов и CaCl₂ в концентрациях 10мкг/мл и 1мМ соответственно возрастала в 100–500 раз по сравнению с таковой в присутствии 0,1М CaCl₂. Эта концентрация ионов Ca²⁺ обеспечивала трансформацию плазмиды Sal в *P. putida* 277 с очень низкой частотой – 10⁻⁷, а при обработке клеток 10мкг/мл дс-РНК и 1мМ CaCl₂ она возрастала более чем в 10 раз – 4×10⁻⁶. Ни 10мкг/мл дс-РНК, ни 1мМ CaCl₂ по отдельности не вызывали такого эффекта.

В конъюгационных скрещиваниях Inc P-1 плазмид RP4, R906 и R702 из донора *E. coli* под влиянием Са-дс-РНК в используемых при трансформации концентрациях передавались в бактерии *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. putida*, *P. mirabilis* с возросшей в 5–20 раз частотой по сравнению со скрещиваниями в отсутствие Са-дс-РНК. Это совпадает с данными, приведенными нами ранее при внутривидовых конъюгационных скрещиваниях [8].

Полученные результаты свидетельствуют об универсальности механизмов действия дс-РНК обоих типов на мембранные структуры различных бактериальных родов. Возможно, активации процесса переноса ДНК способствует увеличение не только мембранного потенциала, но и концентрации цАМФ в клетке вследствие непосредственного влияния дс-РНК на аденилатциклазные системы, что, вероятно, стимулирует транскрипцию различных генов, кодирующих белки и ферменты, обеспечивающие перенос ДНК.

Кафедра генетики и цитологии

Поступило 13.04.2004

ЛИТЕРАТУРА

1. Johnson A.G. – J. of Biol. Response Modifiers, 1985, v. 4, p. 481–485.
2. Brodsky J., Strayer D. et al. – J. of Biol. Response Modifiers, 1989, v. 8, p. 147–154.
3. Berlinger Ch., Sakagovi H. et al. – J. Clin. Invest., 1995, v. 95, p. 1814–1823.
4. Айрапетян С.Н., Захарян Р.А., Рычков Г.Г. и др. – ДАН АН Арм ССР, 1983, т. 77, с. 228.
5. Dagert M., Ehrlich S. – Gene, 1979, v. 6, p. 23–29.
6. Datta N., Hedges R.W. et al. – J. Bakteriol., 1971, v. 108, p. 1244–1249.
7. Wise J. et al. – Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, v. 70, p. 471–474.
8. Захарян Р.А., Азарян Н.Г., Арутюнян Д.Г. – ДАН СССР, 1986, т. 288, с. 1251–1253.

Ն. Գ. ԱԶԱՐՅԱՆ, Ի. Գ. ԲՈՒՆԻԱՏՅԱՆ, Ա. Յ. ԽՈՒՂՈՅԱՆ

ՊՐՈԿԱՐԻՈՏՆԵՐՈՒՄ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՓՈԽԱՆԱԿՄԱՆ
ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎԱՑՈՒՄԸ ԵՐԿՊԱՐՈՒՅՐ ՌՆԹ-Ի
ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել է երկպարույր ՌՆԹ-ի (եպ-ՌՆԹ) ազդեցությունը գրամբացասական բակտերիաների տեսակների լայն շրջանակում գե-

ճեռիկական տրանսֆորմացիայի և կոնյուգացիայի վրա: Ցույց է տրվել, որ եպ-Ռ-ՆԹ-ի ($10\mu\text{g}/\text{ml}$) և CaCl_2 -ի (1mM) առկայության դեպքում էֆեկտիվորեն բարձրանում է գենետիկական փոխանակման հաճախականությունը: Եպ-Ռ-ՆԹ-ն և CaCl_2 -ը առանձին-առանձին նշված կոնցենտրացիաներում չեն առաջացնում նման էֆեկտ:

N. G. AZARYAN, I. G. BUNIATYAN, A. Ts. KHUDOYAN

ACTIVATION OF GENETIC PROCESSES IN PROKARYOTES IN THE PRESENCE OF DOUBLE-STRAND RNA

Summary

The study of the influence of double-strand RNA (ds-RNA) on genetic transformation and conjugation processes has been carried out in a wide range of gramnegative bacterial species. It has been shown that ds-RNA in the presence of CaCl_2 in $10\mu\text{g}/\text{ml}$ and 1mM concentrations respectively efficiently increases the frequency of genetic exchange. The above mentioned concentrations of only ds-RNA or CaCl_2 separately don't cause the same effect.