

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-125

ЭФФЕКТЫ ИСКУССТВЕННОЙ РНКАЗЫ DL₄12 НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ^{*}

EFFECTS OF ARTIFICIAL RNASE DL₄12 ON GRAM-POSITIVE AND GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Е. С. Рябова, А. В. Тупицына, А. В. Бардашева, А. Е. Григорьева, Д. А. Задворных, Е. И. Рябчикова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

E. S. Ryabova, A. V. Tupitsyna, A. V. Bardasheva, A. E. Grigor'eva, D. A. Zadvornykh, E. I. Ryabchikova

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

✉ e.ryabova@alumni.nsu.ru

Аннотация

Проблема устойчивости бактерий к существующим антибиотикам является актуальной для медицины, что определяет важность разработки соединений с новыми механизмами действия. В данном исследовании показаны эффекты искусственной РНКазы DL₄12 на грамположительные и грамотрицательные бактерии.

Abstract

The problem of bacterial resistance to existing antibiotics is relevant for medicine, which determines the importance of developing compounds with new mechanisms of action. This study shows the effect of artificial RNase DL₄12 on gram-positive and gram-negative bacteria.

Цель исследования — изучить эффекты искусственной РНКазы DL₄12 на грамположительные (грам+) и грамотрицательные (грам-) бактерии с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Объекты исследования: грам+ *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus* и грам- *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella enterica*.

Суспензии бактерий инкубировали с соединением DL₄12 (концентрация 0,01 мМ) в течение 15 мин. Действие соединения DL₄12 на бактерии останавливали добавлением 25%-го раствора глутаральдегида (1 : 100), суспензию центрифугировали (10 мин), осадки фиксировали по методу Райтера — Келленбергера (1 % OsO₄ на 0,2 М цитратном буфере pH 6, в течение ночи при 22 °C; осадки промывали цитратным буфером и пост-фиксировали 0,5%-м раствором уранила ацетата pH 3 в течение 2 ч). Полученные осадки обезвоживали, заливали в эпоксидную смолу. Ультратонкие (70–80 нм) срезы готовили на ультрамикротоме Leica EM UC7, контрастировали растворами уранила ацетата и цитрата свинца. Срезы изучали в ПЭМ JEM 1400 (Jeol, Япония). Цифровые изображения получали с помощью камеры Veleta (EM SIS) с пакетом программ iTEM версии 5.2 (EM SIS).

Взаимодействие искусственной РНКазы DL₄12 с бактериальной клеткой начинается с контакта с оболочкой. Оболочка грам+ бактерий: 1) клеточная стенка; 2) промежуточный слой; 3) цитоплазматическая мембрана (ЦПМ). Оболочка грам- бактерий: 1) внешняя мембрана; 2) периплазматическое пространство (ППП), у *A. baumannii* в ППП визуализируется слой пептидогликанов; 3) внутренняя мембрана.

В зависимости от вида бактерии и ее строения морфологический эффект соединения DL₄12 различен. Грам+ *S. aureus*: разрыхление клеточной стенки; увеличение ширины промежуточного слоя; появление рыхлого вещества в промежуточном слое; фрагментация ЦПМ; образование слоистых включений по периферии ЦПМ. Грам+ *E. faecalis*: резкое снижение контрастности промежуточного слоя; ЦПМ более структурирована; образование слоистых включений по периферии ЦПМ.

Грам- *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *S. enterica*: выравнивание складок внешней мембранны; образование в ППП слоистых включений, предположительно сформированных внутренней мембраной. Особенности *A. baumannii*: между внешней мембраной и слоем пептидогликанов в ППП выявляется рыхлый материал средней электронной плотности; на всей поверхности внешней мембранны появляются скопления материала средней электронной плотности разной формы, формируя «опушку».

^{*} Исследование выполнено в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 125012300656-5.

© Е. С. Рябова, А. В. Тупицына, А. В. Бардашева, А. Е. Григорьева, Д. А. Задворных, Е. И. Рябчикова, 2025

Изменения цитоплазмы под воздействием РНКазы DL₄12: у всех бактерий наблюдается гомогенная цитоплазма; рибосомы исчезают. Изменения нуклеоида: у всех бактерий регистрируется компактизация нуклеоида; меняется взаимное расположение нитей ДНК.

Таким образом, выявленные ультраструктурные изменения подтверждают способность искусственной РНКазы DL₄12 повреждать ключевые структуры бактериальной клетки. Полученные данные говорят о широком спектре действия соединения DL₄12 и могут быть использованы для разработки новых антибактериальных соединений на его основе.