

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

ЭФФЕКТЫ ИСКУССТВЕННОЙ РНКАЗЫ DL<sub>4</sub>12  
НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ\*

EFFECTS OF ARTIFICIAL RNASE DL<sub>4</sub>12 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. Zadvornyykh, 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 DL<sub>4</sub>12 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 DL<sub>4</sub>12 on gram-positive and gram-negative bacteria.

Цель исследования — изучить эффекты искусственной РНказы DL<sub>4</sub>12 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 DL<sub>4</sub>12 (концентрация 0,01 мМ) в течение 15 мин. Действие соединения DL<sub>4</sub>12 на бактерии останавливали добавлением 25%-го раствора глутаральдегида (1 : 100), суспензию центрифугировали (10 мин), осадки фиксировали по методу Райтера — Келленбергера (1 % OsO<sub>4</sub> 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 DL<sub>4</sub>12 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 PPP визуализируется слой пептидогликанов; 3) внутренняя мембрана.

В зависимости от вида бактерии и ее строения морфологический эффект соединения DL<sub>4</sub>12 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 мембраны; образование в PPP слоистых включений, предположительно сформированных внутренней мембраной. Особенности *A. baumannii*: между внешней мембраной и слоем пептидогликанов в PPP выявляется рыхлый материал средней электронной плотности; на всей поверхности внешней мембраны 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 DL<sub>4</sub>12: 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 DL<sub>4</sub>12 повреждать ключевые структуры бактериальной клетки. Полученные данные говорят о широком спектре действия соединения DL<sub>4</sub>12 и могут быть использованы для разработки новых антибактериальных соединений на его основе.