

Член-корреспондент АН СССР В. Л. РЫЖКОВ

### ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ И БЛИЗКИХ К НИМ СОЕДИНЕНИЙ НА РЕПРОДУКЦИЮ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

Существует довольно большая литература о способности аминокислот и их аналогов подавлять размножение бактерий, а также действие некоторых ферментов. Первые сведения о способности аминокислот влиять на размножение вируса табачной мозаики (ВТМ) имеются в работах автора с сотрудниками (<sup>1, 2</sup>). В последнее время появились некоторые данные о том, что аминокислоты и их аналоги могут подавлять размножение вирусов вакцины и мышинного полиомиелита (<sup>3</sup>).

В настоящей работе изучалось влияние большей части известных натуральных аминокислот и их оптических изомеров, а также некоторых других соединений на репродукцию ВТМ. Большая часть названных соединений испытывалась уже описанным нами раньше методом подавления (<sup>1, 2</sup>). Сущность его сводится к тому, что вирусом инокулируются изолированные листья *Nicotiana glutinosa*, после чего они наполовину погружаются в испытываемые растворы, в то время как контрольные листья таким же образом погружаются в воду. Названное растение реагирует на ВТМ местными некрозами, которые развиваются на 3—4-й день после инокуляции. О подавлении ВТМ судят по числу некрозов путем сравнения числа некрозов на приблизительно равных площадях листа, погруженных в раствор и находящихся над раствором. Эффект вещества выражается индексом подавления, которым обозначается отношение между числом некрозов над жидкостью и числом некрозов на поверхности, погруженной в жидкость, выраженное в процентах.

Для более детального изучения соединений, оказавшихся в предварительных опытах подавителями некротической реакции, применялся также метод накопления. В этом случае инокулировались изолированные листья *Nicotiana tabacum*, которые в отличие от листьев *N. glutinosa* не развивают местных некрозов и в которых происходит размножение вируса. Эти листья вдоль средней жилки разрезаются пополам, и половинки помещаются инокулированной стороной в испытываемый раствор и, соответственно, в воду. Растворы ежедневно менялись, и после экспозиции в 7—10 дней обычным методом по числу некрозов у *N. glutinosa* сравнивался титр вируса в опытных и контрольных, т. е. погруженных в воду, половинках листа.

Результаты всех опытов приведены в табл. 1 и 2. Из этих таблиц видно, что большинство испытанных соединений в той или иной степени подавляет размножение ВТМ и некротическую реакцию. Следует отметить, что иногда от опыта к опыту наблюдаются значительные колебания подавляющего эффекта. Приведем некоторые примеры этих колебаний. Аланин давал индекс подавления от 0 до 100%, гистидин от 0 до 35%, глутаминовая кислота от 37 до 99%, норлейцин от 60 до

Подавление некротической реакции на ВТМ *N. glutinosa* аминокислотами и некоторыми другими соединениями

Вещество и концентрация	Содержание в ВТМ в %		Индекс подавления	Число повторн.
	в ВТМ	в %		
<i>DL</i> -аланин 0,1% . . . . .	2,4—5,1		53	18
Пара-аминогиппуровая к-та 0,1% . . . . .	0		50	9
<i>DL</i> -аргинин 0,1% . . . . .	8,5—9,8		62	9
<i>DL</i> -аспарагиновая к-та 0,01% . . . . .	2,4—13,5		79	34
<i>DL</i> -гистидин 0,1% . . . . .	0		49	29
Гликокол 0,1% . . . . .	0—1,4		36	29
<i>D</i> -глутаминовая к-та 0,01% . . . . .	5,1—11,3		69	41
<i>DL</i> -лейцин 0,1% . . . . .	6,1—9,3		49	30
<i>DL</i> -лейцин 0,1% . . . . .	0		75	15
<i>DL</i> -лизин 0,1% . . . . .	1,3—1,47		80	14
<i>DL</i> -метионин 0,1% . . . . .	0		36	13
<i>DL</i> -норлейцин 0,1% . . . . .	0		89	26
Пантоил-таурин 0,1% . . . . .	0		53	10
<i>DL</i> -пролин 0,1% . . . . .	4,2—5,8		32	18
Таурин 0,1% . . . . .	0		94	21
<i>L</i> -тирозин (насыщенный) . . . . .	3,8—3,9		33	14
<i>DL</i> -треонин 0,1% . . . . .	5,3—9,9		76	18
<i>L</i> -триптофан (насыщенный) . . . . .	1,9—3,8		59	10
<i>DL</i> -фенилаланин 0,1% . . . . .	5,6—8,4		13	10
Фенилглицин 0,1% . . . . .	0		50	10
<i>DL</i> -цистеин 0,01% . . . . .	0,6—0,76		74	10
Вода (контроль) . . . . .	—		18	151

100%. Эти колебания могут зависеть от трудно контролируемых особенностей в физиологическом состоянии листьев, от их разной чувствительности к ВТМ и проницаемости в отношении ингибиторов, а также от

Таблица 2

Подавление накопления ВТМ в листьях *N. tabacum*

Вещество и концентрация	Титр вируса	
	контроль	опыт
<i>DL</i> -аспарагиновая к-та 0,01% . . . . .	904	583
То же . . . . .	905	505
<i>D</i> -глутаминовая к-та 0,01% . . . . .	720	626
То же . . . . .	1047	297
<i>DL</i> -норлейцин 0,1% . . . . .	200	51
То же . . . . .	557	67
" " . . . . .	99	77
" " . . . . .	124	52
Таурин 0,1% . . . . .	64	15
То же . . . . .	86	33
" " . . . . .	548	49
" " . . . . .	748	100
<i>DL</i> -цистеин 0,01% . . . . .	362	100

Примечание. Титр выражен в количестве некрозов на 20 половинок листьев *N. glutinosa*.

лишь незначительно подавляют некротическую реакцию, в то время как норлейцин и таурин, также отсутствующие в ВТМ, являются

других причин. Увеличивая число повторностей, мы уменьшаем случайный элемент в индексах подавления. В некоторых случаях вместо полного подавления некрозов развиваются abortивные некрозы, отличающиеся столь мелкими размерами, что их трудно отличить от паразитов и трудно подсчитать. Листья с такими abortивными некрозами вовсе не учитывались в табл. 1.

Интересно сопоставить содержание аминокислот в ВТМ со способностью тех или других соединений подавлять некротическую реакцию. Относительно содержания аминокислот в ВТМ приведены крайние варианты, указываемые в литературе (4, 5).

Обращает на себя внимание, что гистидин и метионин, отсутствующие в ВТМ,

наиболее энергичными ингибиторами некротической реакции. Объясняется это, повидимому, тем, что гистидин и метионин являются свойственными растению аминокислотами, которые подвергаются в растении превращениям, а норлейцин и таурин чужды растению и поэтому не могут быть переработаны и обезврежены для ВТМ. Норлейцин и таурин также весьма эффективны в опытах на накопление. Таурин является аналогом аминокислоты, содержащим вместо карбоксильной группы  $\text{SO}_3\text{H}$ , а норлейцин — аналогом некоторых входящих в ВТМ аминокислот, например лейцина. Возможно, что подавляющие эффекты зависят от конкуренции этих соединений с аминокислотами, нужными для построения ВТМ. Как видно из табл. 1, пантоил-таурин, являющийся аналогом пантотеновой кислоты, подавляет некротическую реакцию в гораздо меньшей степени, чем таурин. Не являются энергичными подавителями некротической реакции также пара-аминогиппуровая кислота и фенилглицин, которые относительно очень далеки от естественных аминокислот.

Из данных табл. 1 и 2 также видно, что некоторые аминокислоты, входящие в состав ВТМ, являются энергичными подавителями как некротической реакции, так и размножения ВТМ в листьях табака. Наиболее значительным эффектом в этом отношении обладают глутаминовая и аспарагиновая кислоты, треонин, лизин и цистеин. Эффект последнего был установлен еще ранее (1). Эта, казалось бы, парадоксальная способность аминокислот, необходимых для ВТМ, подавлять его размножение уже давно хорошо известна в отношении к аминокислотам некоторых бактерий. Так, *V. anthracis* очень чувствителен к балансу аминокислот, и многие из них, находясь в избытке, подавляют его размножение (5).

Сопоставление индексов подавления *D*-лейцина и *DL*-лейцина показывает, что ненатуральный оптический изомер аминокислоты весьма эффективен в отношении подавления ВТМ.

Все приведенные данные могут быть резюмированы положением, что размножение ВТМ сильно зависит от аминокислотного состава среды и что аналоги естественных аминокислот являются мощными подавителями этого размножения.

В 1938 г. автором этой статьи был поставлен вопрос о том, из каких соединений строится ВТМ (6). Тогда же были получены данные о том, что гидролизаты белка могут стимулировать репродукцию ВТМ. В последнее время изотопным методом с большой вероятностью показано, что ВТМ строится из аминокислот (7) и что, следовательно, ВТМ ведет себя подобно паразитическим бактериям, нуждающимся в аминокислотах для построения своих белков, а не как биокатализатор, который синтезировался бы за счет предшественника путем автокатализа, подобно тому как трипсин образуется из трипсиногена. Наши данные о чувствительности размножения ВТМ к аминокислотному составу среды являются новым аргументом в пользу построения этого вируса из аминокислот.

В заключение считаю приятным долгом выразить благодарность Н. К. Марченко и Е. Ф. Шумской за техническую помощь в работе. Настоящая работа была очень облегчена предоставлением ряда аминокислот дирекцией Института биологической и медицинской химии АМН СССР, которой пользуюсь случаем выразить свою признательность.

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Л. Рыжков и К. С. Сухов, Биохимия, 9, № 4 (1944). <sup>2</sup> В. Л. Рыжков, В. А. Смирнова и О. С. Городская, Биохимия, 11, № 3 (1946). <sup>3</sup> M. E. Rafelson, H. E. Pearson and R. J. Winzler, Arch. Biochem., 29, No. 1 (1950). <sup>4</sup> J. P. Chandler, M. W. Gerrard, V. du Vigneaud and W. Stanley, Journ. Biol. Chem., 171, No. 2 (1947). <sup>5</sup> C. A. Knight, Journ. Exp. Med., 86, 125 (1947). <sup>6</sup> В. Л. Рыжков и Е. П. Громыко, Микробиология, 7, в. 8 (1938). <sup>7</sup> M. Meneghini and C. C. Delwiche, Journ. Biol. Chem., 189, No. 1 (1951).