

WIKTOR JANUSZ PAJOR

KORELACJA BIOSYNTETY BIAŁEK I PRZEMIANY MINERALNEJ W KOMÓRCZE ROŚLINNEJ

Twierdzenia Stewarda i Prestona (1941, cyt. wg Sutcliffe'a 1960) o wpływie różnych czynników egzogennych na równoległość przemiany mineralnej i białkowej w skrawkach bulw ziemniaka, były diametralnie różne od wyników innych współczesnych badaczy. Po przeprowadzeniu nowych badań Steward i Millar (1954, cyt. wg Jacoby'ego i Sutcliffe'a 1962) opracowali teorię przemiany mineralnej i białkowej, uzależnionej od natężenia procesów oddechowych, temperatury, pH i składu podłoża i in. Teoria powyższa została ostatnio zmodyfikowana na podstawie ponownych doświadczeń nad swoistym działaniem chloromycetyny (chloramfenikolu) na komórki drobnoustrojów i wyższych roślin. Okazało się bowiem, że antybiotyk chloromycetyna (D (-)-treo-2-dwuchloro-acetamido-1-p-nitrofenylo-1,3-propanediol; Ehrlich i współprac. 1947 i niezależnie od nich Carter i współprac. 1948) pozwala obserwować przebieg syntez makronuklearynych w komórkach tak zwierzęcych, jak i roślinnych.

Gale i Paine (1951) wykazali, że chloromycetyna nie hamuje przemiany wolnego kwasu glutaminowego w komórce, ale moment włączania tego aminokwasu do łańcuchów białek (Hancock 1960). Stwierdzono również (Brock 1961), że chloromycetyna nie hamuje procesów utleniania, hydrolizy i innych przemian metabolicznych, biosyntezy małych drobin, biorących udział w budowie rusztowania komórki, wielocukrowców, RNA, DNA oraz prostych peptydów (np. glutationu).

Ostatnie doświadczenia (Jacoby i Sutcliffe 1962 na komórkach korzenia marchwi) wykazały, że mechanizm działania chloromycetyny polega na zahamowaniu pośrednich etapów syntez białek komórkowych. Według Lacksa i Grosa (1960), dodatek aminokwasów znaczących izotopami węgla do hodowli *Escherichia coli* powoduje ilościowy wzrost RNA z równoczesnym zahamowaniem frakcji fosfolipidowej (Hunter i Goodsall 1960).

W pewnych warunkach chloromycetyna hamuje nawet biosyntezy kwasów nukleinowych, mianowicie dodana przed podziałem komórki uniemożliwia powstawanie DNA, natomiast dodana po podziale komórkowym — powstawanie RNA (Doudney 1960). Hamujące działanie chloromycetyny tłumaczymy tym, że

unieczynniana ona swoiste enzymy adaptacyjne, przystosowane wyłącznie do syntezy kwasów nukleinowych, w chwili ich powstawania — *in statu nascendi*. Ponadto, chloromycetyna w połączeniu z RNA tworzy swoisty kompleks biochemiczny, o właściwościach wybitnie labilnych, w przeciwieństwie do czystego chemicznie RNA (Horowitz, Lombard i Chargaff 1958). Kompleks „chloromycetyna — RNA“ różni się od RNA odmienną ruchliwością elektroforetyczną cząsteczek, szybkością sedymentacji oraz stosunkowo dużą zdolnością dysocjacji (Pardee, Paigen i Prestidge 1957).

Zawartość chloromycetyny, począwszy od 10 mikrogramów w 1 ml pożywki, hamuje biosyntezy łańcuchów białkowych w rosnących komórkach (od 95 do 100%, Gale i Folkes 1953, Wisseman i współprac. 1954) oraz pewnych biokatalizatorów komórkowych (enzymów): aldolazy, amylazy, β -galaktozydazy, dehydrogenazy kwasu bursztynowego, enzymów litycznych *Bacillus subtilis*, dehydroazy kwasu δ -aminolewulinowego, fosfatazy zasadowej, fosfoesteraz, katalazy, permeaz, proteaz trzustkowych, reduktaz, rybonukleaz, streptolizyny S, syntetaz i transkarbamylaz (Brock 1961).

MacDonald i in. (1961, cyt. wg. Jacoby'ego i Sutcliffe'a 1962) wykazali doświadczalnie, że biosyntezy białek z równoczesną przemianą mineralną w normalnych warunkach fizjologicznych zachodzą nawet w skrawkach tkanek, pod warunkiem, że będą one przechowywane w nasyconej tlenem wodzie. Stwierdzenie tego faktu jest oczywiście dużym ułatwieniem przy przeprowadzeniu specjalnych badań histochemicznych. Sutcliffe (1960) przebadał przemianę mineralną oraz natężenie czynności oddechowych w skrawkach czerwonego buraka i korzenia marchwi pod wpływem 1—2 g chloromycetyny w 1 l pożywki, przy czym stwierdził on, że przemiana Na ulega zupełnemu zahamowaniu w ciągu 8 godzin. Niższe dawki antybiotyku nie wywierają powyższego działania. Okazało się również, że w preparatach przemytych i zanurzonych powtórnie w roztworze NaCl poziom przemiany mineralnej nie odbiegał zbytnio od kontrolnej. Chloromycetyna wywiera zatem odwracalne działanie inhibitoryczne.

Interesujący jest fakt, że działanie chloromycetyny obejmuje i swoiście pobudza oddychanie komórek oraz absorpcję tlenu przez tkanki korzenia marchwi, nawet w nieobecności soli w podłożu. Zjawisko powyższe tłumaczymy następująco: niezbędne w czynnościach oddechowych cytoplazmy jony zostają uwolnione przez wakuole. Potwierdzeniem tej hipotezy jest wykrycie substancji mineralnych w podłożu. Stąd wniosek (Sutcliffe 1960): Zahamowanie przemiany mineralnej przez chloromycetynę występuje niezależnie od przemiany oddechowej, a więc od protoplazmatycznych przemian łańcuchów białkowych (Goldacre i Lorch 1950).

Uzyskane przez Jacoby'ego i Sutcliffe'a (1962) wyniki przedstawia poniższa tabela:

Jak wynika z tabeli, natężenie biosyntez białek w obecności KCl różni się nieznacznie od biosyntez zachodzących w tkankach, zawieszonych w wodzie destylowanej. Natomiast dodatek KNO_3 zwiększa natężenie tych biosyntez o ok. 3 razy.

Synteza białek i przemiana jonów potasu w skrawkach korzenia marchwi (1 mm grubości, 7,5 mm średnicy), zanurzonych na przeciąg 96 godz. w 25°C w: a) H₂O; b) KCl (10⁻² M); c) KNO₃ (10⁻² M); d) KNO₃ (10⁻² M) + chloramfenikol (CAM w ilości 2 mikrog/ml)

		a	b	c	d	Maksymalna różnica		Stosunek	
		H ₂ O	KCl	KNO ₃	KNO ₃	P ⁺ = 95%	P = 99,9%	c/b	c/d
					+CAM				
Zawartość azotu białkowego (μg)	66	90	92	143	109	13	24		
Wzrost N białkowego (μg)	—	24	26	77	43	13	24	3,0	1,8
Zawartość K ⁺ (μmol)	7,6	5,8	27,2	31,6	19,7	4,6	8,6	1,2	
Przemiana K ⁺ (μmol)	—	-1,8	19,6	24,0	12,1	4,6	8,6	1,2	2,0

P⁺ = prawdopodobieństwo oznaczenia

Należy zaznaczyć, że dodatek azotanów wpływa korzystniej na przebieg biosyntezy białek, aniżeli dodanie samych tylko jonów K⁺. Pod wpływem chloramfenikolu przemiana białkowo-mineralna ulega natychmiastowemu unieczynnieniu w 50%, przy czym obecność azotanów pozostaje bez wpływu na przebieg procesu inhibitorycznego.

Sprawą nader interesującą jest przypuszczalny mechanizm wędrówki jonów w komórce roślinnej. Stwierdzono, że przemiana mineralna jest ściśle uzależniona przede wszystkim od: a) przemiany białkowej, b) obecności pewnych związków fosforowych, „bogaty w energię“, c) natężenia wewnątrzkomórkowej przemiany materii i energii oraz czynności oddechowych, w pomniejszym zaś stopniu od d) „wędrówki elektronów“ (Sutcliffe 1960, Jacoby i Sutcliffe 1962). Dyfuzja jonów soli mineralnych odbywa się tylko w obecności kilku typów swoistych białek, odgrywających rolę tzw. „nośników jonów“, które również występują w błonie komórkowej i biorą nieustannie udział w całym cyklu rozpadu i resyntezy białek. Badania Cohena i Monoda (1957) oraz Mitchella (1957) sugerują, że niektóre enzymy, np. permeazy i translokazy biorą udział w osmozie cukrów i fosforanów; zachodzącej w błonie komórkowej bakterii. Wobec powyższego, przypuszcza się, że zdolność do wiązania jonów stanowi naturalną i swoistą właściwość wszystkich labilnych molekuł białkowych, zwłaszcza umiejscowionych w błonie komórkowej (Sutcliffe 1960).

W I fazie wewnątrzkomórkowej przemiany mineralnej jony koncentrują się w mniejszych wakuolach i pęcherzykach cytoplazmatycznych, w II stadium dyfundują stopniowo do środkowej wodniczki, gdzie stanowią one pewnego rodzaju rezerwy mineralnej komórki. Pewną wskazówkę przy określaniu kierunku dyfuzji jonów przez cytoplazmę może stanowić charakterystyczne ułożenie mikrosomów na jednej stronie błony siatki protoplazmatycznej (Pallade i Porter 1954). Mikrosomy uważa się za główne ośrodki biorące udział w przemianie białkowej.

Jacoby i Sutcliffe (1962) twierdzą, że łańcuchy białkowe ułożone centralnie (wewnątrzprotoplastycznie) tylko minimalnie ulegają procesom resyntezy w porównaniu z białkami błony komórkowej. Problem ten nie jest dotychczas dostatecznie rozwiązany i wymaga dalszych badań.

LITERATURA

- Brock Th. D., 1961. Chloramphenicol. *Bact. Revs.*, 25: 32—48.
- Carter H. E., Gottlieb D., Anderson H. W., 1948. Chloromycetin and streptothricin. *Science*, 107: 113.
- Cohen G. N., Monod J., 1957. Bacterial permeases. *Bact. Revs.*, 21: 169—194.
- Doudney C. O., 1960. Inhibition of nucleic acid synthesis by chloramphenicol in synchronized cultures of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 76: 122—124.
- Ehrlich J., Bartz Q. R., Smith R. M., Joslyn D. A., Burkholder P. R., 1947. Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete. *Science*, 106: 417.
- Gale E. F., Folkes J. B., 1953. The assimilation of aminoacids by bacteria. 15. Actions of antibiotics on nucleic acid and protein synthesis in *Staphylococcus aureus*. *Biochem. J.*, 53: 493—498.
- Gale E. F., Paine T. P., 1951. The assimilation of aminoacids by bacteria. 12. The action of inhibitors and antibiotics on the accumulation of free glutamic acid and the formation of combined glutamate in *Staphylococcus aureus*. *Biochem. J.*, 48: 298—301.
- Goldacre R. J., Lorch I. J., 1950. Folding and unfolding of protein molecules in relation to cytoplasmic streaming, amoeboid movement and osmotic work. *Nature*, 166: 497—500.
- Hancock R., 1960. Accumulation of pool amino acids in *Staphylococcus aureus* following inhibition of protein synthesis. *Biochim. et Biophys. Acta*, 37: 47—55.
- Horowitz J., Lombard A., Chargaff E., 1958. Aspects of the stability of a bacterial ribonucleic acid. *J. Biol. Chem.* 233: 1517—1522.
- Hunter G. D., Goodsall R. A., 1960. Protein synthesis in protoplasts of *Bacillus megatherium*: the passage of C¹⁴-labelled amino acids through phospholipid fractions. *Biochem. J.*, 74: 34P.
- Jacoby B., Sutcliffe J. F., 1962. Connexion between protein synthesis and salt absorption in plant cells. *Nature*, 195: 1014.
- Lacks S., and Gros F., 1960. A metabolic study of the RNA-amino acid complexes in *Escherichia coli*. *J. Molecular. Biol.*, 1: 301—320.
- Mitchell P., 1957. A general theory of membrane transport from studies of bacteria. *Nature*, 180: 134—136.
- Pallade G. E., Porter K. R., 1954. Studies on the endoplasmic reticulum. *J. Exp. Med.*, 100: 641—656.
- Pardee A. B., Paigen K., Prestidge L. S., 1957. A study of the ribonucleic acid of normal and Chloromycetin-inhibited bacteria by zone electrophoresis. *Biochim. et Biophys. Acta*, 23: 16—173.
- Skarżyński B., 1956. *Chemia fizjologiczna*, tom I. Warszawa, P. W. R. i L.
- Sutcliffe J. F., 1960. New evidence for a relationship between ion absorption and protein turnover in plant cells. *Nature*, 188: 294—297.
- Wissemann C. L., Jr., Smadel J. B., Hahn F. E., Hopps H. E., 1954. Mode of action of chloramphenicol (CA). I. Action of chloramphenicol on assimilation of ammonia and on synthesis of proteins and nucleic acids in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 67: 662—673.