

## АССИМИЛЯЦИЯ КОКЦИДИЯМИ *EIMERIA TENELLA* ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ДНК И РНК ИЗ КЛЕТКИ ХОЗЯИНА

А. Е. Хованских

Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства,  
Ленинград

С применением радиоактивных предшественников ДНК и РНК изучали ассимиляцию кокцидиями *E. tenella* пуриновых, пиримидиновых оснований и их нуклеозидов, а также оротовой кислоты из клетки хозяина. Установлено, что в процессе развития и размножения паразиты избирательно используют различные предшественники ДНК и РНК из клетки хозяина. Кокцидии интенсивно используют из клетки хозяина пуриновое основание  $^{14}\text{C}$ -аденин; незначительно ассимилируют пиримидиновое основание  $^{14}\text{C}$ -урацил и нуклеозид  $^{14}\text{C}$ -уридин и совершенно не используют  $^{14}\text{C}$ -тимин и  $^{14}\text{C}$ -тимидин. Обнаружено, что кокцидии особенно интенсивно усваивают из клетки хозяина  $^{14}\text{C}$ -оротовую кислоту — низший предшественник пиримидиновых оснований. Это проливает свет на наличие у кокцидий системы синтеза пиримидинового кольца.

Изучение механизма питания кокцидий на молекулярном уровне позволит объяснить сущность паразитизма и точно определить наиболее уязвимые звенья в их питании. Результаты радиоизотопных исследований обмена пуринов, пиримидинов и их низших предшественников у кокцидий имеют важное теоретическое значение для расшифровки жизнедеятельности паразита, а также весьма полезны для целенаправленного поиска новых антикокцидийных препаратов из класса антагонистов азотистых оснований.

В данной работе мы изучали степень использования кокцидиями *E. tenella* пуриновых, пиримидиновых оснований, их нуклеозидов и оротовой кислоты из клетки хозяина для синтеза ДНК и РНК.

Ввиду сложности получения внутриклеточных стадий развития кокцидий для биохимического анализа определение степени включения меченых предшественников производили во внеклеточной стадии развития паразита (ооцистах), свободных от бактерий и тканей хозяина.

Исследования проводили на цыплятах породы белый леггорн (кросс 288). Птицы выращивались в условиях, исключающих спонтанное заражение кокцидиозом. В возрасте 14 дней цыплят заражали *E. tenella* в дозе 2 тыс. спорулированных ооцист на цыпленка. В качестве меченых предшественников ДНК и РНК использовали:  $^{14}\text{C}$ -аденин,  $^{14}\text{C}$ -урацил,  $^{14}\text{C}$ -уридин,  $^{14}\text{C}$ -тимин,  $^{14}\text{C}$ -тимидин и  $^{14}\text{C}$ -оротовую кислоту.

Каждый меченый предшественник разделяли в 30 инвазированных цыплятам внутрибрюшинно из расчета 50 мккюри/100 г веса три раза через 24, 48 и 84 ч после их заражения для постоянного насыщения среды обитания кокцидий (клеток кишечника хозяина) мечеными предшественниками. Затем из собранного от инвазированных цыплят помета за первые 5 суток патентного периода были получены ооцисты *E. tenella*.

Для определения степени использования кокцидиями изучаемых радиоактивных предшественников производили измерение радиоактивности в ооцистах кокцидий. Радиоактивность измеряли на сцинтилляционном счетчика «Паккард». Удельную активность проб выражали в имп/мин/10<sup>6</sup> ооцист.

Результаты исследования ассимиляции кокцидиями *E. tenella* предшественников нуклеиновых кислот из клетки хозяина приведены в таблице.

Наши исследования по ассимиляции кокцидиями пуриновых оснований показали, что *E. tenella* интенсивно усваивают основание  $^{14}\text{C}$ -аденин из клетки хозяина (цыпленка). Морган и Каннинг (Morgan a. Canning, 1974) методом автордиографии установили, что в ДНК и РНК шизонтов *E. tenella*, развивающихся в хорилантоисной оболочке куриных эмбрионов, включается  $^3\text{H}$ -аденозин. Гатридж и Триг (Gutteridge a. Trigg, 1970) сообщили, что экзогенно внесенные радиоактивные пурины хорошо включаются в нуклеиновые кислоты *Plasmodium knowlesi*. Одним из наиболее быстро включающих веществ является аденозин. Его отсутствие в культуральной среде приводит к снижению скорости размножения паразитов. Перротто и соавторы (Perrotto e. a., 1971) установили, что *Toxoplasma gondii* используют экзогенно внесенные пурины.

Таким образом, никому не удалось обнаружить никаких признаков синтеза пуринов de novo у *E. tenella*, *P. knowlesi*, *T. gondii*. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что кокцидиям, плазмодиям и токсоплазмам для синтеза ДНК и РНК необходим содержащийся в клетке хозяина пурин.

Радиоактивность ооцист кокцидий  
*E. tenella*

Предшественники ДНК и РНК	Удельная активность (имп/мин/10 <sup>6</sup> ооцист) <i>M</i> + <i>m</i>
$^{14}\text{C}$ -аденин	750 ± 80
$^{14}\text{C}$ -урацил	120 ± 12
$^{14}\text{C}$ -уридин	200 ± 30
$^{14}\text{C}$ -тимин	0
$^{14}\text{C}$ -тимидин	0
$^{14}\text{C}$ -оротовая кислота	1400 ± 100

С пиримидинами дело обстоит иначе. Нами установлено незначительное использование кокцидиями *E. tenella*  $^{14}\text{C}$ -урацила и  $^{14}\text{C}$ -уридина из клетки хозяина. При этом уридин усваивается кокцидиями в 1.6 раз интенсивнее, чем урацил. Радиоактивные предшественники ДНК  $^{14}\text{C}$ -тимин и  $^{14}\text{C}$ -тимидин совершенно не используются кокцидиями из клетки хозяина.

Морган (Morgan, 1973) показал, что шизонты и микрогаметы *E. tenella*, развивающиеся в слепой кишке цыплят, не усваивают  $^3\text{H}$ -тимидин. Оуллетт и соавторы (Ouellette e. a., 1973) методом автордиографии установили, что агамные стадии *E. tenella*, развивающиеся в клетках почки эмбрионального цыпленка, ассимилируют нуклеозиды  $^3\text{H}$ -цитидин и  $^3\text{H}$ -уридин, но не усваивают  $^3\text{H}$ -тимидин. Морган и Каннинг (1974) обнаружили, что  $^3\text{H}$ -тимидин не усваивается шизонтами *E. tenella*, развивающимися в хорилантоисной оболочке куриных эмбрионов, но активно ассимилируются ядром клетки хозяина. Робертс и соавторы (Roberts e. a., 1970) сообщили, что во время агамного развития *in vitro* *E. callospermaphili* не используют  $^3\text{H}$ -тимидин. Кишида и Като (Kishida and Kato, 1965), Перротто и соавторы (1971) обнаружили незначительное усвоение тимидина *T. gondii*. Гатридж и Триг (1970) сообщили о том, что *P. knowlesi* не используют экзогенно внесенные радиоактивные пиримидины для синтеза ДНК и РНК.

Вышеизложенные исследования дают основание предполагать, что кокцидии, токсоплазмы и плазмодии, возможно, синтезируют пиримидиновое основание тимин *de novo*. Однако для доказательства этого предположения необходимо изучение ассимиляции паразитами низших предшественников пиримидиновых оснований — оротовой кислоты.

Наши исследования, посвященные этому вопросу, свидетельствуют о том, что кокцидии *E. tenella* интенсивно усваивают  $^{14}\text{C}$ -оротовую кислоту из клетки хозяина. При этом кокцидии ассимилируют оротовую кислоту из клетки хозяина в 11 раз интенсивнее, чем урацил. Гатридж и Триг (1970) показали, что *P. knowlesi* используют оротовую кислоту для синтеза нуклеиновых кислот.

#### Л и т е р а т у р а

- Gutteridge W. E., Trigg P. I. 1970. Incorporation of radioactive precursors into the DNA and RNA of Plasmodium knowlesi *in vitro*. — J. Prot., 17: 89—96.
- Kishida T., Kato S. 1965. Autoradiographic studies on intracytoplasmic multiplication of Toxoplasma gondii in FL cells. — Biken J., 8: 107—113.
- Morgan K. 1973. Nuclear Activity in Sporozoia. Doctoral thesis, Univ. of London, England.
- Morgan K., Conning E. 1974. Incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine and  $^3\text{H}$ -adenosine by Eimeria tenella grown in chick embryos. — J. Parasit., 60 (2), p. 364—367.
- Ouellette C. A., Strout R. C., Mc. Dougal L. R. 1973. Incorporation of radioactive pyrimidine nucleosides into DNA and RNA of Eimeria tenella (Coccidia) cultured *in vitro*. — J. Prot., 20: 150—153.
- Perrotto J., Keister D. B., Celderman A. H. 1971. Incorporation of precursors into Toxoplasma DNA. — J. Prot., 18: 470—473.
- Roberts W. L., Elsner Y. Y., Shigematsu A., Hammond D. M. 1970. Lack of incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine into Eimeria callospermaphili in cell cultures. — J. Parasit., 56: 833—834.

#### ASSIMILATION OF PRECURSORS OF DNA AND RNA FROM THE HOST CELL BY EIMERIA TENELLA (COCCIDIA)

A. E. Khovanskykh

#### S U M M A R Y

The assimilation of purine and pyrimidine bases, their nucleosides and orotic acid from the host cell by coccidian *E. tenella* was studied by means of radioactive precursors of DNA and RNA. It has been established that within their development and reproduction the parasites use selectively different precursors of DNA and RNA from the host cell. Coccidians use intensively the purine base  $^{14}\text{C}$ -adenine, assimilate negligibly the pyrimidine base  $^{14}\text{C}$ -uracil and nucleoside  $^{14}\text{C}$ -uridine and do not use at all  $^{14}\text{C}$ -thymidine and  $^{14}\text{C}$ -thymine. The coccidians were found to assimilate most intensively  $^{14}\text{C}$ -orotic acid, the lower precursor of pyrimidine bases.