

УДК 577.2.

© 2012 г. Т. Я. Вахитов¹, Н. И. Чалисова², Е. В. Полевая¹, Н. С. Линькова³,
В. Х. Хавинсон^{2,3}

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФУНКЦИИ АМИНОКИСЛОТ И ИХ СОЧЕТАНИЙ У ПРОКАРИОТ И В ТКАНЯХ ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ

¹ФГУП “Государственный научно-исследовательский институт
особо чистых биопрепаратов” ФМБА, Санкт-Петербург
²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург
³Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии
E-mail: miayu@yandex.ru

Исследовалось действие индивидуальных аминокислот и их сочетаний на рост колоний *Escherichia coli* O75 и пролиферацию органотипической культуры ткани. Установлено, что все аминокислоты по их действию на размер колоний делились на нейтральные, стимуляторы и ингибиторы роста. Биологический эффект определялся концентрацией аминокислот и зависел от гетерогенности бактериальной популяции. Действие парных сочетаний аминокислот отличалось от действия индивидуальных соединений. Ряд тех же сочетаний аминокислот, которые вызывали эффект в культурах бактерий, были эффективны и в культурах тканей млекопитающих. Показано, что смеси аминокислот, входящих в состав пептидов, дают эффект меньший, чем сам пептид.

Ключевые слова: аминокислоты, пептиды, *Escherichia coli*, органотипическая культура ткани, регуляция роста.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение механизмов, лежащих в основе регуляции важнейших гомеостатических функций организма, представляет собой одно из приоритетных направлений современной биологии и медицины. Проявление жизни – постоянный процесс обмена веществ и воспроизведения генетической информации с помощью различных регулирующих факторов. Исследование регуляторных механизмов как одноклеточных, так и многоклеточных систем дает возможность понять генез индивидуального развития организмов, механизмы дифференцировки и специализации клеток, принципы регуляции специализированных тканей и воспроизведения генетической информации. За последние десятилетия накопились данные о том, что аминокислоты являются не только пластическим материалом при построении белковых молекул, но сами могут модифицировать экспрессию генов-мишеней, и, таким образом, играть роль сигнальных молекул.

Еще в 50-х гг. XX в. было обнаружено, что меченные изотопами аминокислоты накапливались

в культивируемых тканях в разной степени – в зависимости от типа ткани (Booth et al., 2005). Установлено, что в культуре ткани слизистой оболочки кишечника, семенников, селезенки, почек ингибирующий эффект нейтральных аминокислот тем больше, чем длиннее их углеводородная боковая цепь. Эффект аминокислот с основными радикалами был различен в разных тканях, а в слизистой оболочке кишечника и семенниках они вызывали угнетение развития. Пролин угнетал развитие ткани коры головного мозга и селезенки (Makinoshima et al., 2002). За последние два десятилетия усилился интерес к изучению влияния кодируемых аминокислот на клеточные процессы. Так при исследовании показателей специфической и неспецифической резистентности выявлено, что лизин, аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, триптофан обладают разными иммунно- и фагоцитозстимулирующими и детоксицирующими свойствами (Белокрылов и др., 1995). При исследовании преимплантационных эмбрионов свиней показано, что потребление аминокислот зависит от стадии развития эмбриона (Booth et al., 2005). Имеются данные о влия-

нии аргинина на процессы клеточной пролиферации и апоптоза (Philip R et al., 2003). Установлено апоптоз-индуцирующее действие аргинина (Kim et al., 2004) в культуре клеток сетчатки постнатальных крыс. Гладкомышечные клетки сосудов также реагируют на аргинин, увеличивается экспрессия гена *fas* (Bing et al., 2002; Trulsson et al., 2004). При исследовании аминокислот с разветвленными боковыми цепями выявлено, что лейцин в концентрации вызывал в культуре гепатоцитов крыс усиление синтеза ДНК (Kimura et al., 2005). В ряде работ (Чалисова и др., 2001; Чалисова и др., 2002; Чалисова и др., 2011) было показано, что в культуре тканей различного генеза разные группы аминокислот являются активными, оказывающими стимулирующее или ингибирующее (за счет процессов апоптоза) влияние на клеточную пролиферацию. Выявлено стимулирующее влияние на пролиферацию и ряда коротких пептидов (Хавинсон и др., 2011а; Хавинсон и др., 2011б; Khavinson et al., 2005; Anisimov et al., 2011; Fedoreeva et al., 2011) и при сравнительном анализе частоты влияния аминокислот и пептидов на клеточные процессы мы обнаружили (Чалисова и др., 2007).

Чалисова и др., 2011; Fedoreeva et al., 2011), что наиболее эффективны пептиды, в структуре которых присутствуют как стимулирующие, так и ингибирующие данную ткань аминокислоты. За последние годы, в связи с успехами в области молекулярной биологии, были выявлены гены, которые экспрессируются при дефиците аминокислот. Таковыми являются – 1) гены, кодирующие плазма-мембранные транспортеры аминокислот; 2) гены, кодирующие транскрипционные факторы: ATF 3 (активационный транскрипционный фактор), C/EBP α (ССАТ/enhancer-binding protein), c-jun; 3) гены, кодирующие рибосомальные белки или гены, вовлеченные в сигнальные транскрипционные процессы. Из них наиболее изучены следующие – ген аспарагин синтазы (*ASNS*), ген ядерного протеина СНОР (*C/EBP Homologous Protein*) транспортной системы А нейтральных аминокислот, опосредованной продуктами гена *SNAT2 (serotonine-N-acetyltransferase)*, относящийся к семейству транскрипционных факторов C/EBP (Чалисова и др., 2011).

Значительно меньше известно о регуляторных функциях аминокислот в микробных культурах. Хотя и в этом направлении в последние годы получены определенные результаты. Установлено, что аминокислоты по-разному влияют на рост бактерий разных видов и даже штаммов. Так например, аспарагиновая кислота ингибировала рост *E.coli* M-17, но при этом являлась стимулятором роста *E. coli* BL, гистидин ингибировал

рост обеих эшерихий, но не влиял или слабо стимулировал рост *S. enteritidis*, фенилаланин стимулировал рост *E.coli* BL, но не влиял на рост *E.coli* M-17, валин стимулировал рост *E.coli* M-17, не влиял на рост ряда других штаммов, но ингибировал рост *E.coli* K-12, триптофан стимулировал рост *E.coli* BL, но не влиял на рост *E.coli* M-17 и *S. enteritidis* (Вахитов и др., 2006). Различия в действии аминокислот на близкородственные штаммы микроорганизмов могут быть связаны с существованием определенных штаммоспецифических мутаций. Так ингибирование валином роста *E.coli* K-12 связано с отсутствием у нее одного из трех ферментов синтазы ацетогидроксикислот (Lawther et al., 1981).

О регуляторном действии аминокислот свидетельствовало их влияние на продукцию холерного энтеротоксина тремя штаммами *Vibrio cholerae (cholerae 569B, eltor 1310, cholerae O139 MO45)*. Оказалось, что токсинообразование у каждого из них определяется индивидуальным набором аминокислот (Овсова и др., 2003). Известны и другие примеры действия сочетаний аминокислот, однако систематическое изучение этого вопроса до сих пор не предпринималось.

Целью настоящей работы являлось изучение действия аминокислот и их сочетаний на рост колоний бактерий и органотипических культур тканей млекопитающих. Можно полагать, что в процессе эволюции подобная регуляция была основой для появления регуляции с использованием более сложных молекул – пептидов и белков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила культура бактерий *Escherichia coli* O75. Культуру микроорганизмов выращивали на глюкозо-минеральной среде M-9 в колбах на качалке до стационарной фазы роста и засеивали в чашки Петри с агаризованной средой M-9 с добавками аминокислот в концентрациях 0.5, 5, 50 и 500 мкМ; для некоторых аминокислот – 1000 и 2000 мкМ. Для контроля использовали среду без добавления аминокислот. Засеянные чашки термостатировали при +37 °С в течение 40 часов. Все эксперименты проводили в 3-х кратной повторности.

После инкубации производили подсчет колоний, выросших на чашках. Размер колоний определяли по фотографиям. Чашки фотографировали специализированной видеокамерой МИКС-480, а для анализа изображений использовали программу “ВидеоТесТ – Морфо 3.2”. Затем рассчитывали средний диаметр колоний на контрольных чашках и на чашках с добавками аминокислот. Индекс

площади (ИП) рассчитывали в условных единицах, как соотношение площади колоний на чашке с аминокислотами к площади колоний на контрольной чашке. Значения индекса площади выражали в процентах, контрольное значение ИП принимали за 100%. На основании полученных данных делали заключение о действии аминокислот.

Во второй серии эксперименты проведены в органотипической культуре на 800 эксплантатах сердца, селезенки, печени, коры головного мозга половозрелых крыс линии Вистар. Отпрепарированные органы разделяли на фрагменты величиной около 1 мм³, которые помещали в чашки Петри с коллагеновым покрытием дна. Питательная среда состояла из 35% среды Игла, 35% раствора Хенкса, 25% фетальной телячьей сыворотки и 5% куриного эмбрионального экстракта. В среду добавляли глюкозу (0.6%), инсулин (0.5 ед/мл), гентамицин (100 ед/мл). Исследуемые препараты добавлялись в культуральную среду в концентрациях 0.5–2 мкМ.

В чашки Петри с экспериментальными эксплантатами добавляли 3 мл питательной среды с исследуемой концентрацией аминокислот, в чашки Петри с контрольными эксплантатами – 3 мл питательной среды, таким образом, эксплантаты экспериментальной и контрольной групп развивались в одинаковых объемах питательной среды. Чашки Петри помещали в термостат при температуре 37 °С и через 3 сут. просматривали под фазово-контрастным микроскопом. Затем определяли (ИП, который рассчитывался в условных единицах как соотношение площади всего эксплантата (вместе с зоной выселяющихся клеток) к площади центральной зоны эксплантата. Для визуализации эксплантатов применяли микротеленасадку для микроскопа (серия 10, МТН-13 “Альфа-Телеком”, Россия). Для расчета индекса площади эксплантатов использовали программу PhotoM 1.2. Для каждого исследуемого вещества анализировали 20–25 экспериментальных эксплантатов и 20–23 – контрольных. Для статистического анализа различий между группами применяли двухвыборочный критерий Вилкоксона ранговых сумм. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие индивидуальных аминокислот на рост колоний *E. coli* O75. Результаты экспериментов (табл. 1) показали, что все аминокислоты по их действию на размер колоний *E. coli* O75 можно разделить на нейтральные, стимуляторы и ингибиторы роста. Характер действия проявлялся

Таблица 1. Влияние различных концентраций аминокислот и их сочетаний на размер колоний *Escherichia coli* O75.

Аминокислоты и их сочетания	Концентрация аминокислот, мкМ			
	0.5	5	50	500
арг	+7	–10	–23	
сер	+14	+33	–90	
арг+сер	+53	+23	–62	
арг	+99	+71	+12	+25
вал	–11	–54	+17	–4
арг+вал	–7	0	+4	–10
асп	+10	+10	+13	+58
мет	+1	+16	+57	+60
асп+мет	+14	+66	+75	+94
асн	–6	+22	+10	+30
вал	–6	+14	+11	+6
асн+вал	+20	+31	+30	+22
асн	–11	–3	+19	+22
лей	–3	+35	+71	–9
асн+лей	+35	+18	+53	+31
лиз	+1	–2	–9	17
про	–22	–8	–9	–21
лиз+про	+11	–1	+35	+61
лиз	+38	–8	–22	–14
трипт	–4	+19	+8	–7
лиз+трипт	–3	–4	–20	–7
вал	+18	–53	–4	+2
изолей	+14	+24	+30	+52
вал+изолей	+18	+52	–28	+89
вал	–25	–41	–7	–9
глу	+5	–20	+15	+52
вал+глу	–14	–14	+4	+75
лей	+8	+57	+30	+2
лиз	+26	–4	–20	–10
лей+лиз	–3	–9	–12	–29
мет	+12	+121	+59	+40
глу	+1	+106	+160	+210
мет+глу	+69	+93	+14	+130

Примечание. Действие метионина и цистеина в концентрации 2000 мкМ в таблице не показано.

в увеличении (уменьшении) диаметра колоний эшерихии и, соответственно, ИП. В случае, когда ИП был больше 8% эффект считался стимулирующим, меньше –8% ингибирующим, в остальных случаях нейтральным. Действие одних и тех же аминокислот в зависимости от концентрации могло быть как стимулирующим, так и ингибирующим или нейтральным, для других аминокислот.

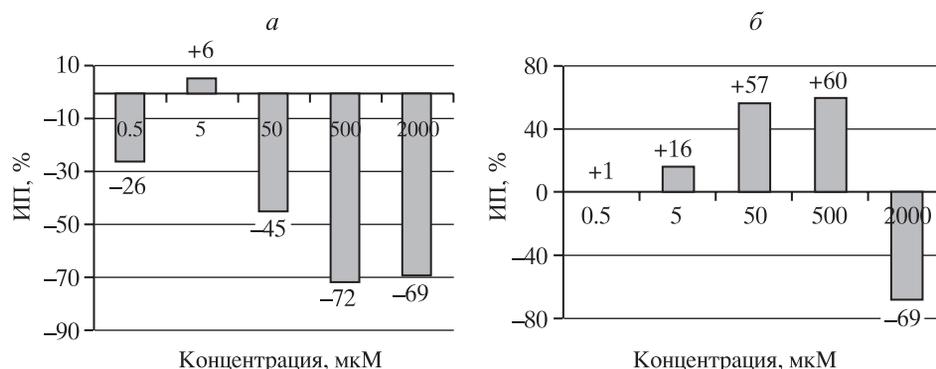


Рис. 1. Зависимость действия аланина (а) и метионина (б) от концентрации в среде.

кислот эффект мог усиливаться или уменьшаться с изменением концентрации, не изменяясь при этом на противоположный.

В большинстве случаев ингибиторами роста колоний являлись аланин (рис. 1, а) и валин (табл. 1), причем ингибирующее действие аланина усиливалось с повышением его концентрации. Увеличение концентрации аланина в культуральной среде с 0.5 до 2000 мкМ способствовало снижению ИП на 26–69% относительно контроля. Только в концентрации аланина 5 мкМ наблюдалось незначительное повышение ИП на 6% (рис. 1, а). Метионин, изолейцин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, фенилаланин* и треонин* обладали стимулирующей активностью (ИП был больше 8%). Увеличение концентрации метионина с 0.5 до 500 мкМ приводило к повышению ИП на 16–60% (рис. 1, б). Действие остальных аминокислот зависело от их концентрации. Серин, лизин и гистидин*, аналогично метионину, в низких концентрациях стимулировали рост колоний, а в высоких – подавляли его, обратный эффект наблюдался для цистеина* и пролина (аминокислоты, отмеченные* в табл. 1 не указаны). Лейцин и триптофан в низких (0.5 мкМ) и высоких (500 мкМ) концентрациях не оказывали влияния на размер колоний (ИП находился в пределах $\pm 8\%$), а в концентрациях 5 и 50 мкМ стимулировали их рост. Действие аргинина, в целом, было противоположным лейцину и триптофану.

Популяция микроорганизмов не является однородной, а состоит из нескольких субпопуляций (Makinoshima et al., 2002), различающихся по своим физиологическим свойствам. По этой причине в ряде случаев аминокислоты действовали не на всю популяцию, а только на ее часть (субпопуляцию) или по-разному действовали на разные субпопуляции, что приводило к повышению гетерогенности размеров колоний. В результате, в зависимости от исходного соотношения субпопуляций, стимулирующие (ингибирующие) эффек-

ты аминокислот в разных экспериментах могли изменяться на противоположные. Например, в зависимости от исходной структуры популяции, валин в концентрации 0.5 мкМ мог проявлять себя как ингибитор (ИП = -11%), так и стимулятор роста (ИП = $+18\%$).

На рисунке 2 показано действие валина на популяцию с разной исходной структурой (рис. 2, а, б). В первом случае (рис. 2, а) исходная популяция состояла из клеток, образующих крупные колонии (около 2 мм в диаметре) и колонии со средним диаметром (1.7 мм). Добавление в среду небольших концентраций валина (0.5 мкМ) привело к значительному изменению состава популяции (рис. 2, б): появились мелкие (0.5 мм) и более крупные колонии (1.3 мм), кроме того, увеличился процент колоний с диаметром 2 мм. В целом при этом отмечался ингибирующий эффект и увеличение дисперсии размеров колоний в 13 раз по сравнению с контролем.

В том случае, когда валин в концентрации 0.5 мкМ стимулировал рост *E.coli* (рис. 2, в, г), дисперсия, напротив, понижалась.

Действие сочетаний аминокислот на рост микробных колоний. В культурах бактерий и в тканевых жидкостях действующим началом обычно являются не индивидуальные аминокислоты, а их сочетания. В первом приближении эти сочетания могут рассматриваться, как модели биологически активных пептидов, состоящих из тех же аминокислот. Из таблицы 1 видно, что действие парных сочетаний аминокислот отличалось от действия индивидуальных соединений. Так например, две нейтральные аминокислоты, аспарагин и валин, при совместном добавлении в концентрации 0.5 мкМ стимулировали рост штамма O75 и, что интересно, обладали аналогичным выраженным стимулирующим эффектом в ткани миокарда (табл. 2). Сочетание ингибитора аспарагина и нейтрального лейцина (0.5 мкМ) способствовало

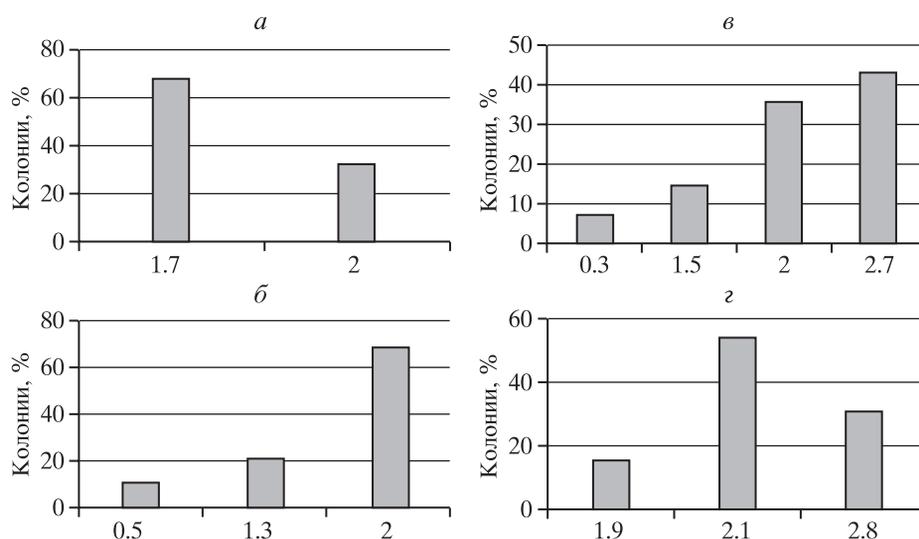


Рис. 2. Действие валина и гетерогенность популяции *E. coli* O75. На рисунке представлены гистограммы распределения популяций по размеру в контроле (а, в) и на среде с 0.5 мкМ валина (б, г).

увеличению ИП на 35%. В ткани печени, напротив, аспарагин стимулировал, а лейцин ингибировал пролиферацию, а их сочетание вызывало выраженный ингибирующий эффект (табл. 2). Лизин и пролин в концентрации 50 мкМ, а так же метионин и цистеин (2000 мкМ) являлись ингибиторами роста колоний *E. coli* O75, однако совместно оказывали стимулирующее действие.

К повышению стимулирующего эффекта могло приводить и добавление нейтральной аминокислоты к аминокислоте-стимулятору.

Таблица 2. Влияние индивидуальных аминокислот и их смеси на рост эксплантатов тканей крыс

Пары аминокислот	0.5 мкМ	
арг+вал (миокард)	+30*	+2
асн+вал (миокард)	+20*	+2
вал+глу (миокард)	+32*	+2
лиз+трипт (миокард)	+30*	-10
вал+изолей (миокард)	+20*	+2
лей+лиз (миокард, селезенка)	+8	+28*
асн+лей (печень)	+30*	-20*

Примечание: * – $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

кислоты к аминокислоте-стимулятору. Так например, в концентрации 500 мкМ нейтральный валин (ИП = +2%) со стимулятором изолейцином (ИП = +52%) повышали индекс площади на 89%. В других случаях аналогичное сочетание, напротив, могло ингибировать рост *E. coli* (аргинин с валином в концентрации 500 мкМ, лизин с лейцином в концентрации 5 мкМ). Сочетания двух стимулирующих рост аминокислот, например аспарагина и метионина (5 мкМ), метионина и глутаминовой кислоты (0.5 мкМ), обладали большим стимулирующим эффектом, чем каждая из аминокислот по отдельности. Следует отметить и повышение стимулирующего эффекта при совместном добавлении в среду ингибитора (валин в концентрации 5 мкМ, лизин 500 мкМ) и стимулятора роста (изолейцин 5 мкМ, пролин 500 мкМ).

Действие сочетаний аминокислот на рост культур тканей. Эксперименты с органотипическими культурами тканей показали, что ряд тех же сочетаний аминокислот, которые вызывали эффект в культурах бактерий, были эффективны и в культурах тканей млекопитающих (табл. 2). В миокарде активными были сочетания стимулирующего пролиферацию аргинина (ИП на 30% выше уровня контроля) и валина, не оказывающего влияния на ткань (ИП на уровне контроля.). При совместном действии этих аминокислот ИП эксплантатов увеличивался на 48%. Аналогичным эффектом обладали сочетания стимуляторов аспарагина и валина с нейтральными аминокислотами: валином, глутаминовой кислотой и изолейцином. В ткани селезенки выраженный стимулирующий эффект (ИП эксплантатов увеличивался на 38%) вызывало сочетание стимули-

рующей (лейцин) и ингибирующей (лизин) пролиферацию аминокислот.

В ткани печени сочетание стимулирующей и ингибирующей пролиферацию аминокислот вызвало выраженный ингибирующий эффект. Так например, стимулятор аспарагин совместно с ингибитором лейцином понижали индекс площади на 55% по сравнению с контролем. Это может быть связано с тем, что при высокой регенерационной способности ткани печени необходимо, для сохранения клеточного баланса, быстрое удаление многих клеток.

Таким образом, полученные результаты создают базу для создания новых эффективных дипептидов, которые могут быть использованы как при лечении инфекционных заболеваний, так и для повышения регенерационных способностей тканей. Необходимо отметить, что, как показали наши опыты, смеси аминокислот, входящих в состав пептидов, дают эффект меньший, чем сам пептид. Так, пептид кортаген способствовал повышению ИП на 27% по отношению к контролю, тогда как смесь аминокислот, входящих в его состав приводила к менее выраженному стимулирующему эффекту в отношении ИП – этот показатель повышался только на 18%. Видимо, пептидная связь необходима для большей эффективности воздействия, возможно, за счет целенаправленной доставки пептида в ткань.

Полученные результаты свидетельствуют об общности систем регуляции у прокариот и эукариот и подтверждают концепцию о “догенетической” эволюции живой материи, когда в регулирующих механизмах важную роль играли аминокислоты. Появление РНК, а затем и ДНК, кодирующих более сложные белковые и пептидные соединения, позволило перейти на новый уровень регуляции. Таким образом, в процессе эволюции пептидная регуляция пришла, по-видимому, на смену менее эффективной регуляции с использованием аминокислот и их сочетаний, однако не заменила ее полностью, а только дополнила по части выполнения наиболее важных функций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки РФ (гос.контракт № 16.512.11.2225).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белокрылов Г.А., Деревнина О.Н., Попова О.Я. Различия в иммунном ответе, фагоцитозе и детоксигирующих свойствах под влиянием пептидных
- и аминокислотных препаратов // Бюлл. эксп. биол. мед. 1995. Т. 118, № 2. С. 509–512.
2. Вахитов Т.Я., Петров Л.Н. Регуляторные функции экзометаболитов бактерий // Микробиология. 2006. Т. 75, № 4. С. 483–488.
3. Овсова Л.М., Мазрухо А.Б., Ломов Ю.М. Влияние различных аминокислот и солей аммония в составе синтетической питательной среды на продукцию холерного энтеротоксина // Журн. микробиол. 2003, № 3. С. 16–21.
4. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Трофимов А.В., Полякова В.О., Севостьянова Н.Н., Кветной И.М. Морфофункциональные основы пептидной регуляции старения // Успехи соврем. биологии. 2011а. Т. 131, № 2. С. 115–121.
5. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Дудков А.В., Полякова В.О., Кветной И.М. Пептидергическая регуляция экспрессии генов, кодирующих антиоксидантные и противовоспалительные белки // Бюлл. эксп. биол. мед. 2011б. Т. 152, № 11. С. 548–551.
6. Чалисова Н.И., Пеннияйнен В.А., Харитонова Н.В., Ноздрачев А.Д. Динамика стимулирующих и ингибирующих эффектов в органотипической культуре нервной и лимфоидной ткани // Доклады Академии наук. 2001. Т. 380, № 3. С. 418–421.
7. Чалисова Н.И., Пеннияйнен В.А., Хаазе Г. Регулирующая роль некоторых аминокислот при развитии апоптоза в культуре нервной и лимфоидной ткани // Российский физиологический журнал им. Сеченова. 2002. Т. 88, № 5. С. 627–633.
8. Чалисова Н.И., Закуцкий А.Н., Анискина А.И., Филиппов С.В., Зезюлин П.Н., Ноздрачев А.Д. Эффект аргинина и его метаболитов на миокард крыс в органотипической культуре ткани. Докл. РАН. 2007.– Т. 415. С. 257–260.
9. Чалисова Н.И., Концевая Е.А., Войцеховская М.А., Комашня А.В. Регуляторное влияние кодируемых аминокислот на основные процессы у молодых и старых животных // Усп. геронтол. 2011. Т. 24. № 2. С. 189–197.
10. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects. // Biogerontology. 2010. V. 11. P. 139–149.
11. Bing W., Junbao D., Jianguang Q., Jian L., Chaoshu T. L-arginine impacts pulmonary vascular structure in rats with an aortocaval shunt // J. Surg. Res. 2002. V. 108, № 1. P. 20–31.
12. Booth P.J., Humpherson P.G., Watson T.J. Leese H.J. Amino acid depletion and appearance during porcine preimplantation embryo development in vitro // Reproduction. 2005. Vol. 130. № 5. P. 655–668.
13. Gerarde H. W., Jones M., Winnick T. Protein synthesis and amino acid turnover in tissue culture // J. Biol. Chem. 1952. Vol. 1. P. 51–68.

14. Fedoreyeva L.I., Kireev I.I., Khavinson V.Kh., Vanyushin B.F. Penetration of Short Fluorescence-Labeled Peptides into the Nucleus in HeLa Cells and in vitro Specific Interaction of the Peptides with Deoxyribooligonucleotides and DNA // *Biochemistry*. 2011. V. 76, № 11. P. 1210–1219.
15. Khavinson V.Kh., Malinin V.V. Gerontological aspects of genome peptide regulation. Basel (Switzerland): Karger AG, 2005. 104 p.
16. Kim do K., Kim I.J., Hwang S., Kook J.H., Lee M.C., Shin B.A., Bae C.S., Yoon J.H., Ahn S.G., Kim S.A., Kanai Y., Endou H., Kim J.K. System L-amino acid transporters are differently expressed in rat astrocyte and C6 glioma cells // *Neurosci. Res.* 2004. V. 50. № 4. P. 437–446.
17. Kimura M., Ogihara M. Effects of branched-chain amino acids on DNA synthesis and proliferation in primary cultures of adult rat hepatocytes // *Eur. J. Pharmacol.* 2005. V. 510. № 3. P. 167–180.
18. Lawther R. P., Calhoun D. H., Adams C. W. Molecular basis of valine resistance in *Escherichia coli* K-12 // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1981. V. 78, № 2. P. 922–925.
19. Makinoshima H., Nishimura A., Ishihama A. Fractionation of *Escherichia coli* cell populations at different stages during growth transition to stationary phase // *Molecular Microbiology*. 2002. V. 43. № 2. P. 269–279.
20. Philip R., Campbell E., Wheatley D. N. Arginine deprivation, growth inhibition and tumour cell death: 2. Enzymatic degradation of arginine in normal and malignant cell cultures // *Brit. J. Cancer*. 2003. V. 88, № 4. P. 613–623.
21. Trulsson L., Sandström P., Sundqvist T., Smeds S., Gasslander T., Svanvik J. The Influence of a load of L-arginine on serum amino acids and pancreatic apoptosis/proliferation and ATP levels in the rat // *Pancreas*. 2004. V. 29, № 4. P. 113–120.

Regulatory Functions of Amino Acids and Their Combinations in Prokaryotes and Tissues of Higher Organisms

T. Ya. Vakhotov¹, N. I. Chalisova², E. V. Polevaya¹, N. S. Linkova³,
V. Kh. Khavinson^{2,3}

Petersburg, Russia
Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,
St. Petersburg, Russia

The influence of single amino acids and their combinations on the growth of the *Escherichia coli* O75 culture and proliferation of organotypic tissue culture was investigated. All amino acids by their influence on the colony size were divided into neutral, stimulating, and inhibiting the growth. The biological effect of amino acids was related to the heterogeneity of a bacterial population. The activity of amino acid pairs differed from that of single amino acids. Some amino acid combinations affecting the bacterial cultures were efficient in the mammalian tissue cultures. The combination of amino acids that constituted short peptides was less efficient as compared to the effect of the peptide proper.