

se data are considered to be the evidences of our early hypothesis, according to which the electrogenic sodium pump, by regulating transmembrane water fluxes, is realizing the metabolic control on the membrane excitability.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айрапетян С. Н., Дадаляк С. С., Марилян Г. А., Геворгян А. М. ДАН СССР, 258, 1003, 1981.
2. Ност Х. В. кн.: Физиология клетки. М., 1975.
3. Крышталь О. А., Олиничук Ю. В., Пидопличко В. Н. ДАН СССР, 259, 1253, 1981.
4. Сулейманян М. А. ДАН АрмССР, 58, 286, 1979.
5. Ayrapetyan S. N., Suleymanyan M. A. Comp. Biochem. physiol., 64 A, 571, 1979.
6. Ayrapetyan S. N., Aravanov V. L. Comp. Biochem. physiol., 64, A, 601, 1979.
7. Ayrapetyan S. N. Adv. physiol. Sci., 23, 67, 1980.
8. Baker P. F., Hodgkin A. L., Shaw T. J. J. physiol., 164, 330, 1962.
9. Frankenhaeuser B. and Hodgkin A. L. J. physiol., 131, 311, 1956.
10. Kuklia F. and Yamagishi S. J. Membr. Biol., 47, 303, 1979.
11. Tasaki I. and Iwasa K. Jap. J. Physiol., 32, 69, 1982.

«Биол. ж. Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

УДК 577.3

СВЯЗЬ ПОВЕРХНОСТНОГО ЗАРЯДА ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ С ИОННЫМ ОБМЕНОМ

С. А. ГОНЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН, А. А. ТРИЧУНЯН

Определен электрокинетический потенциал грамотрицательных бактерий *E. coli* и их сфероидов. Показано, что эти бактерии в слабощелочных и слабощелочных средах несут отрицательный поверхностный заряд, величина которого зависит от pH среды, активности K^+ и осмотического шока. Установлена связь между H^+ - K^+ обменом и изменением величины поверхностного заряда. Не исключается, что поверхностный заряд может участвовать в регуляции переноса ионов и веществ.

Ключевые слова: бактерии грамотрицательные, поверхностный заряд, ионный обмен.

Большинство бактерий, в том числе и грамотрицательные бактерии *E. coli*, несут отрицательный поверхностный заряд [1, 5, 19], который играет важную роль в функционировании клетки. Он, возможно, участвует в таких процессах, как обмен информацией между клеткой и средой, воздействие физических или химических факторов на клетку, перенос ионов и биоэлектрических явлениях и т. д. [1, 3, 5—6, 8, 9, 12]. Величина поверхностного заряда зависит от ионного состава и pH среды. Эти же факторы влияют на величину мембранного потенциала и работу мембранных транспортных систем. Обнаружена определенная взаимосвязь между электрокинетическим потенциалом, обусловленным поверхностным зарядом, и мембранным потенциалом [3]. По-видимо-

чу, существует корреляция между изменением поверхностного заряда и ионным обменом у бактерий [1]. Возможно, поверхностный заряд контролирует трансмембранный перенос ионов [8].

Исследованию свойств поверхностного заряда бактерий *E. coli* и его связи с ионным обменом посвящена настоящая работа.

Материал и методики. В исследованиях использовали граммотрицательные бактерии *E. coli* K 12 (λ). Применяли следующие реактивы: пептон (Фармахим, Болгария), глюкозу (Московский химико-фармацевтический завод им. Н. Семашко) — лизиним (Резанад, Венгрия), калиевую соль пенициллина (Саранский завод медпрепаратов), N,N'-дициклогексилкарбодимид, ДЦКД (Сигма, США) и др.

Бактерии выращивали в пептонной среде с глюкозой [10] в течение 16—20 ч до стационарной фазы при 37°. В остальном методика подготовки бактерий к эксперименту не отличалась от изложенной ранее [10].

Размеры бактерий определяли при помощи фазово-контрастного микроскопа МББ-1А. Сферопласты получали методом обработки бактерий лизинимом или пенициллином [2, 13]. Их образование контролировали с помощью микроскопа. При этом при обработке клеток лизинимом бактерии принимали более или менее выраженную сферическую форму, сохраняя, как и следует из литературных данных [2, 7, 13], отделившиеся друг от друга участки материала клеточной стенки. При обработке пенициллином также принимали сферическую форму, однако лишались значительной или всей части материала клеточной стенки.

О жизнеспособности сферопластов судили по их росту на питательных средах и по закислению среды при утилизации глюкозы, определяемому потенциометрическим методом с помощью стеклянного pH-электрода [10].

Подвижность бактерий в электрическом поле определяли методом клеточного электрофореза [6] в плоско-параллельной камере при напряжении 100 В и силе тока 0,015 А. По формуле Эйнгштейна-Смолуховского рассчитывали величину электрокинетического потенциала, на основании которой судили о поверхностном заряде бактерий. Результаты подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение. Бактерии *E. coli* с умеренным содержанием K^+ в клетке несут отрицательный поверхностный заряд, величина которого зависит от pH среды и активности K^+ в ней (рис. 1). При этом в кислых средах, при pH ниже 3,2, заряд принимает положительные значения. Эти данные свидетельствуют, по-видимому, о том, что положительно заряженные H^+ и K^+ могут экранировать отрицательный поверхностный заряд бактерий.

Бактерии *E. coli* в анаэробных условиях и в присутствии глюкозы при переносе из среды с меньшим в среду с большим осмотическим давлением, т. е. при положительном осмотическом шоке, обменивают H^+ на K^+ в две разделенные во времени фазы [10, 17]: в первую фазу происходит быстрый и кратковременный обмен $2H^+$ клетки на K^+ среды [11, 16] с участием H^+ -АТФ-азного комплекса $F_1 \cdot F_0$ и TgkA системы поглощения K^+ [17, 18], и этот обмен чувствителен к ДЦКД и ингибируется при переносе бактерий из среды с большим в среду с меньшим осмотическим давлением, т. е. при отрицательном осмотическом шоке [16, 17]. При этом в период между двумя фазами и при отрицательном шоке имеет место выход K^+ из бактерий, осуществляемый пассивно по градиенту концентраций [4]. В период обмена H^+ на K^+ происходит перенос заряда через мембрану, изменяется активность этих ионов в среде, и это должно, по-видимому, сказываться на величине по-

поверхностного заряда. У бактерий *E. coli* в присутствии глюкозы при положительном шоке наблюдается двухфазное изменение величины поверхностного заряда (рис. 2, кр. 1) с быстрым и резким падением в первую фазу, чувствительным к ДЦКД и осмотическому давлению среды (рис. 2, кр. 2, 3, 5).

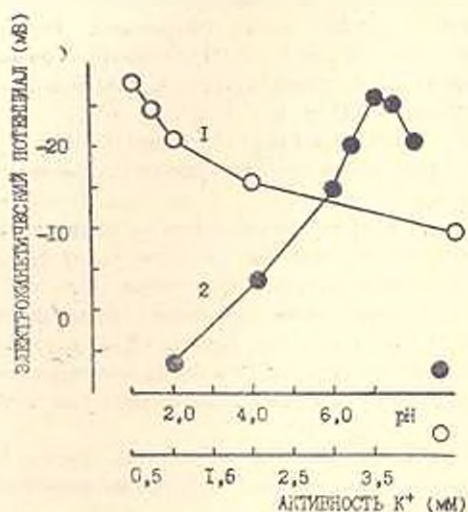


Рис. 1.

Рис. 1. Зависимость величины электрокинетического потенциала бактерий *E. coli* K 12 (λ) от pH и активности K⁺ в среде. Положительный осмотический шок с pH 7.8 (1) и активностью K⁺ 1.92 мМ (2); стандартная ошибка не выходит за пределы кружков.

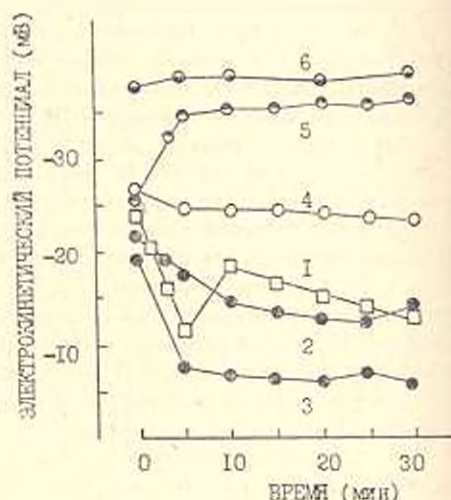


Рис. 2.

Рис. 2. Характер изменения величины электрокинетического потенциала бактерий *E. coli* K 12 (λ). 1, 4, 5, 6—положительный осмотический шок; 2—отрицательный осмотический шок величиной 170 мосМ; 3—отрицательный осмотический шок величиной 370 мосМ; 1, 2, 3, 5, 6—глюкоза в концентрации 50 мМ; 5—ДЦКД в концентрации 10⁻⁴ М; 6—бактерии после кипячения в течение 10 мин (pH 7.8).

Нами было показано, что у «бескалевых» клеток *E. coli* K 12 (λ), обладающих лишь однофазным обменом 2H⁺ на K⁺, и у мутанта *E. coli* ТК 509, у которого не наблюдается этого обмена, утрачивается двухфазный характер изменения величины поверхностного заряда [1]. Вместе с тем двухфазный характер изменения величины заряда (см. рис. 2, кр. 1) воспроизводится при переносе бактерий в среды без глюкозы со значениями pH и активности K⁺, соответствующими наблюдаемым при двухфазном ионном обмене.

Полученные результаты, а также данные о том, что при обмене 2H⁺ на K⁺ у бактерий генерируется дополнительный мембранный потенциал, чувствительный к ДЦКД и осмотическому давлению среды [16], с одной стороны, и выведенное соотношение между электрокинетическим и мембранным потенциалами для замкнутых мембранных структур [3]—с другой, указывают на взаимосвязь между изменением величины поверхностного заряда, мембранным потенциалом и ионным обменом у бактерий. Исследование поверхностного заряда может служить одним из методов изучения ионного обмена. При этом удовлетворитель-

ное объяснение наблюдаемому двухфазному изменению величины поверхностного заряда у бактерий при двухфазном ионном обмене следует из допущения о том, что поверхность бактерий имеет большее сродство к K^+ , нежели к H^+ , хотя оба типа ионов экранируют отрицательный поверхностный заряд.

Наши исследования свидетельствуют о том, что осмочувствительный обмен $2H^+$ на K^+ регулируется через протонный канал F_0 , по-видимому, с помощью периплазматического белка, открывающего или закрывающего вход в F_0 при увеличении или уменьшении осмотического давления среды соответственно, т. е. играющего роль белка клапана [14]. Такой принцип регуляции предусматривал утрату осмочувствительности ионного обмена у бактерий, лишенных периплазматического пространства, — у сферопластов. У сферопластов, полученных при обработке клеток лизоцимом, в присутствии глюкозы как при положительном, так и при отрицательном шоках наблюдается однофазное изменение величины поверхностного заряда (рис. 3). Необходимо отметить, что как исходные величины электрокинетического потенциала, так и его конечные значения у сферопластов совпадают с таковыми у интактных бактерий (табл. 1). Это говорит о том, что поверхностный заряд этих бактерий в основном определяется материалом клеточной стенки.

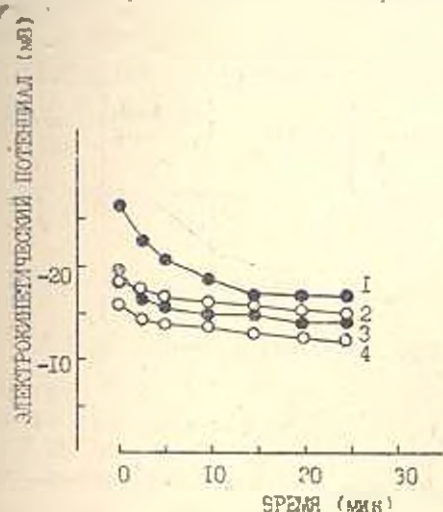


Рис. 3.

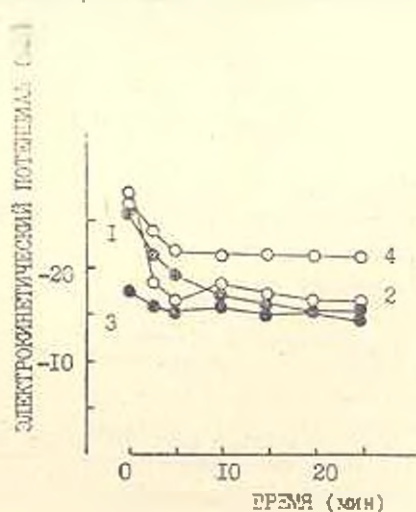


Рис. 4.

Рис. 3. Характер изменения величины электрокинетического потенциала сферопластов *E. coli* K 12 (λ), полученных при обработке клеток лизоцимом. 1, 2 — положительный осмотический шок, 3, 4 — отрицательный осмотический шок; 1, 3 — глюкоза в концентрации 50 мМ (рН 7,8).

Рис. 4. Характер изменения величины электрокинетического потенциала сферопластов *E. coli* K 12 (λ), полученных при обработке клеток лизоцимом. Условия и обозначения те же, что и на рис. 3.

Несколько иными оказались результаты, полученные при обработке клеток пенициллином. Прежде всего, эти сферопласты, представляющие собой клетки, ограниченные по существу только цитоплазматической мембраной [7], также обладают поверхностным зарядом, зави-

сящим от рН среды и активности K^+ в ней (не показано). Величина электрокинетического потенциала несколько выше (по абсолютному значению), чем таковая у интактных бактерий (табл. 1). В присутствии глюкозы при положительном шоке у этих сферопластов наблюдается уменьшение величины поверхностного заряда, аналогичное изменению заряда у «лизосимных» сферопластов (ср. рис. 4 и 3, кр. 1). Но при отрицательном шоке «пенициллиновые» сферопласты сохраняют поверхностный заряд почти неизменным (рис. 4, кр. 3). Это указывает на то, что поверхностный заряд цитоплазматической мембраны претерпевает изменения при переносе ионов, но, по всей вероятности, не отражает его характера, как это наблюдается при наличии клеточной стенки у интактных бактерий.

Весьма интересной является зависимость величины поверхностного заряда от осмотического шока, испытываемого клеткой. При положительном шоке величина электрокинетического потенциала заметно больше, чем при отрицательном (табл. 1). Поскольку при осмотических шоках происходит изменение объема клетки (табл. 2), то можно пред-

Таблица 1
Величины электрокинетических потенциалов грамотрицательных бактерий *E. coli* и их сферопластов

Бактерии <i>E. coli</i> К 12 (4)	Электрокинетические потенциалы (—мВ)			
	в присутствии глюкозы		без глюкозы	
	положительный шок	отрицательный шок	положительный шок	отрицательный шок
Интактные бактерии	20.4±0.1	17.2±0.1	17.7±0.1	15.0±0.1
Сферопласты, полученные при обработке клеток лизацином	25.6±0.1	19.2±0.1	20.2±0.2	16.2±0.0
Сферопласты, полученные при обработке клеток пенициллином	26.2±0.2	17.6±0.1	28.4±0.2	26.4±0.1

Таблица 2
Размеры и объем бактерий *E. coli* К 12 (Δ) после осмотических шоков (через 1 мин)

Условия опыта	Длина, мкм	Ширина, мкм	Объем, см ³
В расточной пептонной среде	2.8±0.1	0.8±0.0	1.26×10^{-12}
Положительный осмотический шок	2.3±0.1	0.8±0.0	0.95×10^{-12}
Отрицательный осмотический шок	2.6±0.1	1.0±0.0	1.81×10^{-12}

положить, что величина электрокинетического потенциала бактерий зависит и от объема клетки: механические воздействия на клеточную стенку или цитоплазматическую мембрану, возможно, изменяют локализацию зарядов, приводя к изменению суммарной величины. Совокупность полученных результатов позволяет сделать следующее обобщение: поверхность сферопластов, или, иными словами, цитоплазматической мембраны, обладает отрицательным зарядом; величина отрицательного

поверхностного заряда интактных бактерий зависит от осмотического шока, испытываемого клеткой: изменение поверхностного заряда бактерий связано с ионным обменом через мембранные транспортные системы.

Мы полагаем, что поверхностные заряды клеточной стенки и цитоплазматической мембраны имеют важные и, возможно, различные функции. Не исключено, что поверхностный заряд бактерий участвует в регуляции переноса ионов и веществ.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Получено 16.II 1984 г.

ԳՐԱՄԲԱՍԱԿԱՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՄԱԿԵՐԵՍԱՅԻՆ ԼԻՑԻ ԿԱԳԸ ԻՌԱՅԻՆ ՓՈԽԱՆՍԿՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏ

Ս. Ա. ԴՈՆՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱՊՈՒԼՅԱՆ, Ա. Ա. ԽՈՉՈՒՆՅԱՆ

Որոշված է *E. coli* գրամբացասական բակտերիաների և նրանց աֆերոպլազմաների էլեկտրական լիցքի պոտենցիալը: Այդ բակտերիաները թույլ թրթվային ու թույլ հիմնային միջավայրն ունենալիս են բացասական մակերեսային լիցք, որի մեծությունը կախված է միջավայրի pH-ից, K^+ ակտիվությունից և օսմոտիկական շոկից: Լիցքի փոփոխությունը կապված է H^+-K^+ փոխանակության հետ և կարող է դիտվել որպես իոնային փոխանակության ուսումնասիրման մեթոդ: Զի բացառվում, որ մակերեսային լիցքը կարգավորում է իոնների տեղափոխությունը:

CONNECTION OF THE SURFACE CHARGE OF GRAMNEGATIVE BACTERIA WITH IONIC EXCHANGE

S. A. GONIAN, E. A. KARAOULIAN, A. A. TRCHOUNIAN

It was shown that *E. coli* cells had negative surface charge, value of which depended on medium pH, K^+ activities and osmotic shock. Change of the surface charge was connected with H^+-K^+ exchange and could be used for the study of ionic exchange. It was not excluded that surface charge could take part in the regulation of ionic transport.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Карагулян Э. А., Гонян С. А., Трчунян А. А. Биофизика, 29, 159—160, 1984.
2. Кушнарев М. А., Дуденкова Л. Д. Журн. эволюц. биохим. и физиол., 2, 134—138, 1966.
3. Лемешко В. В., Товстях В. В., Ковган Л. Н. ДАН УССР, 11, 75—77, 1981.
4. Трчунян А. А. Биолог. ж. Армении, 36, 605—608, 1983.
5. Тучин С. В., Панасенко В. Н., Игнатов Б. В., Ларченко П. Н. Микробиология, 48, 976—979, 1979.
6. Харамонечко А. С., Ракирянская А. А. Электрофорез клеток в норме и патологии. Минск, 1974.
7. Чернавская М. А., Павлова Н. Б. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 2, 62—66, 1983.

8. Bernhards J., Glass R. *Stud Biophys.*, 90, 73—74, 1982.
9. Blank W., Kavanayshi W. P., Cerr G. *Stud. Biophys.*, 90, 31—32, 1982.
10. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 5, 554—560, 1978.
11. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. *Ibid.*, 5, 567—573, 1978.
12. Grinius L., Berzinskienė J. *FEBS Lett.*, 72, 151—154, 1976.
13. Kaback H. R. *Methods in Enzymol.*, 22, 99—120, 1971.
14. Martirosov S. M. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 6, 315—321, 1979.
15. Martirosov S. M., Petrosian I. S., Trchountian A. A., Vartanian A. G. *Ibid.*, 8, 613—620, 1981.
16. Martirosov S. M., Trchountian A. A. *Ibid.*, 8, 25—32, 1981.
17. Martirosov S. M., Trchountian A. A. *Ibid.*, 8, 597—603, 1981.
18. Martirosov S. M., Trchountian A. A. *Ibid.*, 8, 605—611, 1981.
19. Nelhof R., Echols W. H. *Biochim. Biophys. Acta*, 319, 25—32, 1973.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.152.341:577.151.012

ДЕЙСТВИЕ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ НА СЕКРЕЦИЮ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ ЖЕЛУДКОМ

В. А. ТРАПКОВ, А. В. САГАТЕЛЯН, К. Я. ЕРЗИНКЯН

Ключевые слова: соляная кислота, гистамин, гистарин, хистроинсульфат, галактоноидная кислота

Физиологическое действие гистамина заключается в его участии в регуляции периферического кровообращения, проницаемости клеточных мембран, в поддержании тонуса органов с гладкой мускулатурой и т. д. Содержание гистамина в плазме крови и тканевых жидкостях поддерживается на физиологическом уровне сложной системой нейротормонального контроля высвобождения гистамина из тканевых депо, его инактивации и выведения из организма. Избыточное количество его способствует формированию в организме ряда патологических состояний. Гистамин является одним из гуморальных факторов, принимающих активное участие в процессе язвобразования. Патологическое действие гистамина связано с его способностью вызывать нарушения микроциркуляции в гастродуоденальной стенке с последующим развитием воспалительной реакции в очаге поражения. Кроме того, он стимулирует секрецию париетальными клетками желудка соляной кислоты, оказывающей агрессивное воздействие на гастродуоденальную стенку. Усилению патологического действия гистамина благоприятствует увеличение в слизистой оболочке желудка числа тучных клеток, депонирующих гистамин.

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния гликозаминогликанов на индуцированную гистамином секрецию соляной кислоты.