

транскрибироваться в клетках мышей после микроинъекций се в их зиготы. Это предположение подтверждается также и данными о том, что ген гормона роста при подшивке к нему LTR RSV в состоянии экспрессироваться в культуре клеток после трансфекции [7, 12].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Амбарцумян Н. С., Татосян А. Г. Биолог. ж. Армении, 37, 619—626, 1984.
2. Мануатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. В кн.: Молекулярное клонирование, М., 1984.
3. Bernstein A., Berger S., Huszar D., Dick J. Genet. eng., 7, 235—261, 1985.
4. Birnboim U. C., Doly J. Nucl. Acids Res., 7, 1513—1517, 1979.
5. Guntaka R. V., Mitsialis S. A. Gene, 12, 113—121, 1980.
6. Hammer R. E. Nature, 315, 680—683, 1985.
7. Kopechick J. J., Malavarca R. H., Livelli T. J., Leung F. C. DNA, 4, 23—33, 1985.
8. Luciw P. A., Bishop J. M., Varmus H. E., Capocchi M. R. Cell, 33, 705—716, 1983.
9. Mermer B., Malamy M., Coffin J. M. Molec. cell. Biol., 3, 1749—1758, 1983.
10. Mitsialis S. A., Yong J. F., Pelese F., Guntaka R. V. Gene, 16, 217—225, 1981.
11. Palmiter R. P., Brinster R. L. Cell, 41, 343—345, 1985.
12. Pastan F., Tocci M. J., Leung F., Kopechick J. J. Gene, 38, 227—232, 1985.
13. Weber F., Schaffner W. EMBO J., 4, 949—956, 1985.
14. Woychik R. P., Camper S. A., Lyons R. H., Horowitz S., Goodwin E. C., Roitman F. M. Nucl. Acids Res., 10, 7197—7210, 1982.

Поступило 29.XII 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 5, 1988

УДК 577.352.315+23

### ВЕЛИЧИНА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА БАКТЕРИАЛЬНОЙ СУСПЕНЗИИ И РЕДОКС-СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН КЛЕТОК

К. А. БАГРАМЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН, А. А. ТРЧУНЯН, Г. Г. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Предполагается, что образование отрицательных значений ОВП в процессе роста бактериальной суспензии определяет готовность клеток к жизнедеятельности. Показано, что изменения ОВП этой суспензии обусловлены процессами, происходящими непосредственно на поверхности бактериальной мембраны, тогда как в окружающей среде эти изменения не наблюдаются.

Ենթադրվում է, որ բակտերիալ սուսպենզիայի աճման ընթացքում ՕՎՊ-ի բացասական արժեքների առաջացումը որոշվում է բջջային մեմբրանի ուղղորդվածակողմ, քիմիկալիանդակված գիճակը, Տեսրաժօր է, որոշում է բջջային պատրաստու-

Сокращения: ОВП,  $E_h$ —окислительно-восстановительный потенциал.

հանրայինը կենսադարձիկության ճուշդ է արված, որ ստացվեցիտի ՊՀՊ-ի փոփոխությունները պայմանավորված են անմիջականորեն բակտերիալ մեմբրանի վրա տեղի ունեցող պրոպեսներով:

We suppose that negative signifiacnce of oxidation-reduction potential during the bacterial growth is determined by redox-state of cell membranes. The reduced state of membrane is probably necessary for normal functions of cells. It is demonstrated that oxidation-reduction potential changes in bacterial suspension are due to cell membrane surface processes.

Бактериальная суспензия—окислительно-восстановительный потенциал—редокс-состояние мембран.

В последние годы в литературе появились данные о регуляторной роли ОВП во многих биологических процессах [6, 8, 9—11]. В связи с этим становится важным выяснение механизма образования ОВП и его локализации. Высказано предположение [2—4], что изменения  $E_h$  культуральной жидкости в процессе роста бактерий являются результатом выброса окислительно-восстановительных эквивалентов в окружающую среду, своеобразной подготовкой редокс-условий, в которых становится возможным их развитие и рост. Вместе с тем в последнее время высказывается мнение, что при различных процессах, в частности, при работе транспортных систем, происходят изменения окислительно-восстановительного состояния сульфгидрильных групп мембранных белков [1, 8—10]. Естественно, возникает вопрос, среда или клетки ответственны за изменение ОВП бактериальной суспензии.

**Материал и методика.** Использовали бактерии *Escherichia coli* К-12 (L), типич. Клетки выращивали при 37° в течение 18—22 ч. без встряхивания, в 800 мл пептонной среды с глюкозой, залитой в литровые колбы. После выращивания бактерии отмывали в дистиллированной воде и переносили в экспериментальный раствор, содержащий фосфатно-трисовый буфер, 1 мМ KCl, 1 мМ NaCl и 0,4 мМ  $MgSO_4$  (рН раствора 7,6). Глюкозу вводили в концентрации 22 мМ, феррицианид  $K_3[Fe(CN)_6]$ —10 мМ, толуол—1 мкл/мл. Сферопласты *E. coli* получали обработкой бактерий пенициллином по методу Кабака [7].

ОВП бактериальной суспензии измеряли с помощью платинового электрода типа ЭПВ-1, неполяризуемого электрода типа ЭВЛ-1 МЗ и регистрировали на самописшем потенциометре типа КСП-1.

Каждая кинетическая кривая, приводимая в работе, представляет собой одну из, по крайней мере, трех записей данной серии экспериментов. Кривые показывают динамику установления ОВП на электроде в новой среде, величина которого стабилизируется в течение 15—25 мин. В то же время при введении добавок ОВП изменяется до нового значения в пределах 5—8 мин.

**Результаты и обсуждение.** Величина ОВП суспензии бактерий *E. coli* (18—22 ч после инокуляции в пептонной среде) составляла—200 мВ (рис. 1, а). После осаждения клеток ОВП надосадочной жидкости оказался в области положительных значений (+200 мВ), а  $E_h$  осадка составляла—350—400 мВ (кр. 2 и 3 соответственно). После кипячения бактериальной суспензии  $E_h$  был близок к ОВП надосадочной жидкости. Полученные результаты свидетельствуют о том, что величина  $E_h$  суспензии бактерий близка к таковой клеток.

На рис. 1б представлены результаты экспериментов, в которых к бактериям в качестве восстановительного агента добавляли глюкозу [4]. Видно, что  $E_h$  суспензии бактерий после установления потенциала на электроде составлял  $-550$  мВ (кр. 1). После измерений клетки бактерий осаждали и измеряли редокс-потенциал в осадке и надосадочной жидкости. Кр. 2 и 3 показывают динамику установления  $E_h$  на

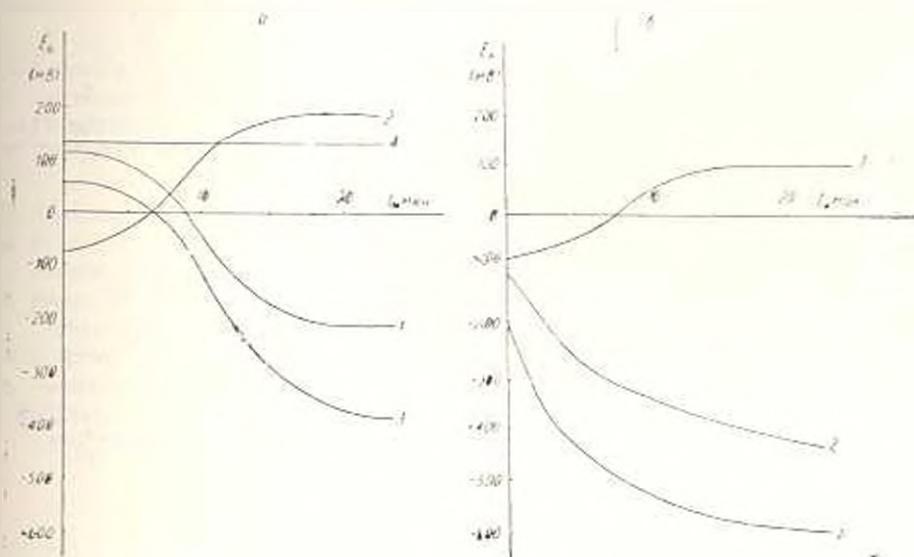


Рис. 1. а—Изменение  $E_h$  в суспензии бактерий *E. coli* К-12 (λ) (кр. 1), 2—в надосадочной жидкости, 3—в осадке бактерий, 4— $E_h$ , измеренный после кипячения суспензии клеток. б—изменение  $E_h$  в суспензии бактерий *E. coli* после добавления глюкозы (клетки осаждали, отмывали в дистиллированной воде и переносили в экспериментальный раствор, содержащий фосфатно-триосный буфер, 1 мМ KCl, 1 мМ NaCl, 0,4 мМ MgSO<sub>4</sub>, pH раствора 7,6). Глюкозу добавляли в концентрации 22 мМ. 2—изменение  $E_h$  в осадке бактерий той же суспензии с глюкозой, 3—в надосадочной жидкости.

электроде в осадке и надосадочной жидкости. Величина ОВП в осадке бактерий была близка к таковой суспензии ( $-350$  мВ), в то время как в надосадочной жидкости этот показатель находился в области положительных значений и составлял примерно  $+100$  мВ. Добавление феррицианида  $K_3[Fe(CN)_6]$  в качестве окислителя [9] к бактериальной суспензии приводит к повышению  $E_h$  до  $+370$  мВ (не показано). В осадке той же суспензии с феррицианидом он был выше ( $-200$  мВ), чем редокс-потенциал в осадке бактерий после добавления глюкозы (рис. 1 б, кр. 2),  $E_h$  надосадочной жидкости составлял  $+260—+270$  мВ.

Достоверность нашего предположения проверялась в экспериментах с применением толуола. В присутствии толуола  $E_h$  бактериальной суспензии после добавления глюкозы снижается до  $-250$  мВ (рис. 2 а, кр. 1), в то время как в той же среде без толуола  $E_h$  суспензии падает до  $-550$  мВ (кр. 2). Обработки бактерий толуолом приводит к нарушению целостности мембран бактерий и образованию значительных отверстий в них, а это, в свою очередь, ведет к уменьшению, по крайней

мере, разности электрохимических потенциалов— $\Delta\mu^H$  [5]. В литературе имеются данные о влиянии  $\Delta\mu^H$  на редокс-потенциал мембран бактерий [9—11]. Возможно, что изменения  $E_h$  суспензии клеток в данном случае обусловлены изменением  $\Delta\mu^H$ , в свою очередь, определяемого мембранными процессами.

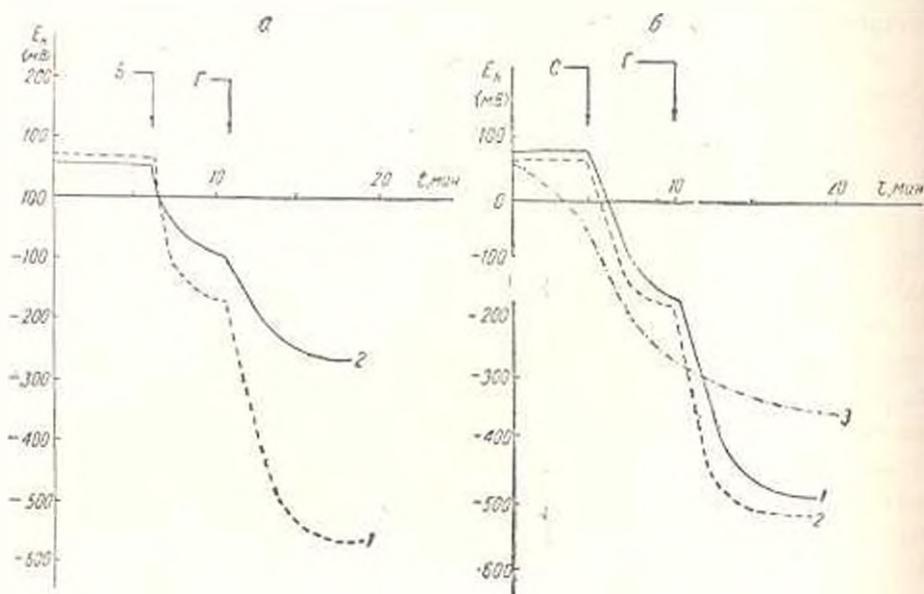


Рис. 2 а — изменение  $E_h$  в суспензии бактерий *E. coli* (кр. 1) и после их обработки толуолом (1 мл/мл, кр. 2). Стрелками указано введение бактерий (Б) и глюкозы (Г, 22 мМ). б — изменение  $E_h$  в суспензии сферопластов *E. coli* (кр. 1), 2 — в суспензии интактных бактерий, 3 — в осадке сферопластов.

Проведенные эксперименты показали, что за отрицательное значение ОВП в суспензии бактерий ответственны сами клетки, вернее, клеточные мембраны. Для уточнения локализации ОВП и реакции, его определяющих, был измерен редокс-потенциал суспензии сферопластов. Известно, что в присутствии пенициллина прекращается образование клеточной оболочки бактерий и они оказываются отделенными от среды только плазматической мембраной [7]. Из рис. 2 б можно видеть, что динамика  $E_h$  суспензии сферопластов очень сходна с таковой интактных клеток (кр. 1 и 2 соответственно).

Утверждение о том, что изменение  $E_h$  бактериальной суспензии обусловлено выбросом веществ из клеток в среду, было обосновано тем, что при изолировании электрода от клеток с помощью коллоидного мешочка он не может реагировать на снижение  $E_h$  на клетках при добавлении глюкозы, поскольку нарушается его контакт с ними, и, следовательно, за низкие значения  $E_h$  ответственна именно среда, а не клетки [2—4]. Наши исследования показали, что величина ОВП среды, отделенной от клеток, отличается от редокс-потенциала суспензии бактерий примерно на 400 мВ, в то время как отличие  $E_h$  осадка от  $E_h$  бактериальной суспензии составляет 200 мВ (рис. 1 а). В другом случае (рис. 1 б) при добавлении глюкозы разница в значениях  $E_h$  суспензии и осад-

ка составляла 200 мВ, а для суспензии и надосадочной жидкости— 370 мВ, при этом  $E_H$  осадка клеток бактерий на 200 мВ более отрицателен. На основании полученных данных мы приходим к выводу, что изменения ОВП происходят на мембранах бактериальных клеток и уже как вторичный процесс отражаются на редокс-состоянии суспензии клеток.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Глаголев А. Н. Тезисы ФЕМО, 172, Пушкино, 1983.
2. Октябрьский О. Н., Писенникова Р. А. Микробиология, 51, 515, 1982.
3. Октябрьский О. Н., Смирнова Т. В., Зеленин Е. Н. Биофизика, 22, 831, 1984.
4. Работнова И. Л. Роль физико-химических условий (рН и  $gH_2$ ) в жизнедеятельности микроорганизмов. М., 1957.
5. Eisenstadt E. J. Bacteriol., 112, 261, 1972.
6. Goldenberg H. Biochimica et Biophysica Acta, 694, 203, 1983.
7. Kaback H. R. Methods in Enzymol., 22, 99, 1971.
8. Regen D. M., Schraw W. P., Tapley H. J. and Juttan S. F. Biochimica et Biophysica Acta, 641, 62, 1981.
9. Robillard G. T., Konings W. N. Biochemistry, 20, 1025, 1981.
10. Robillard G. T., Konings W. N. Eur. J. Biochem., 121, 597, 1982.
11. Robillard G. T., Konings W. N. Plasmalemma and Tonoplast Funct. Plant. Cell. Proc. Int. Workshop. Strasbourg, Sept. 8-11, 1981, 313, 1982.

Поступило 19.11 1988 г.

Биолог. ж. Армения, т. 41, № 5, 1988

УДК 615.281.547.447.5.466.22

### АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОХЛОРИДА ЭТИЛОВОГО ЭФИРА N- $\beta$ - (p-ХЛОРБЕНЗОИЛ) ЭТИЛГЛИЦИЛГЛИЦИНА

Ю. З. ТЕР-ЗАХАРЯН, Р. В. АГАБАБЯН, А. Г. АГАБАБЯН,  
Г. А. ГЕВОРКЯН, О. Л. МИДЖОЯН

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миджояна  
АН АрмССР, Ереван

Показано, что новый  $\beta$ -аминокетон—гидрохлорид этилового эфира N- $\beta$ - (p-хлорбензоил)этилглицилглицина *in vitro* характеризуется широким спектром антибактериального действия, особенно в отношении грамположительных и некоторых грамотрицательных культур. Соединение сохраняет антибактериальную активность и в опытах *in vivo*.

Բետա-ամինոկետոնի՝ N- $\beta$ - (պ-քլորբենզոիլ) էթիլգլիցիլգլիցինի հիդրոկլորիդի ակտիվությունը *in vitro* ունի հակաբակտերիալ ազդեցության լայն սպեկտր. Համակարգի գրամ-դրական և որոշ գրամ-բացասական կոերոտրաների նկատմամբ: Միացության հակաբակտերիալ ակտիվությունը պահպանվում է նաև *in vivo* փորձերում:

Beta-aminoketone, the hydrochloride of the ethyl ester of N- $\beta$ - (p-chloro-benzoyl) ethylglycylglycine, *in vitro* is characterized by a broad spectrum

Сокращения: ТСХ—тонкослойная хроматография, МИК—минимальная подавляющая рост концентрация, МПД—максимально переносимая доза.