

Таблица 2. Длительность сохранения противоопухолевой резистентности у подопытных животных

| Группа животных | Иммунизация 3-кратная (интервал 2 недели) | Доза прививаемых клеток | Прививка | Доза прививаемых клеток | Количество животных в группах | Количество животных с привитой опухолью | Процент прививаемости |
|-----------------|-------------------------------------------|-------------------------|----------|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------|
| Опухолевая      | ОК-РНК иммунизация                        | 1-10                    | ОК+РНК   | 3-10                    | 25                            | 13                                      | 46.4                  |
| Контрольная     | ОК                                        | 1-10                    | ОК       | 3-10                    | 60                            | 60                                      | 100                   |

выми клетками, конъюгированными с ксеногенной иммунной РНК, индуцируется выраженная противоопухолевая резистентность.

Изучение иммунологического статуса мышей с индуцированной противоопухолевой резистентностью является задачей наших дальнейших исследований.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Ю. Т., Бисмаджян М. Е., Мовсесьян К. С., Майкян Т. А., Геворкян С. В. Бюлл. экп. биол. и медицины, 73, 5, 94—95, 1972.
2. Городилова В. В., Баевы М. П. Иммунология опухолевого роста. М., 1983.
3. Матз Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация. М., 1980.
4. Муцениеце А. Я., Фердат А. К. В кн. Вирусы и терапии опухолей Рига, 1978.
5. Николлин В. П. Изв. Сибирск. отд. АН СССР, 10, 143—146, 1973.
6. Роничевская Т. М., Черниченко Т. Н., Рыкова В. И., Мартынова Р. П. Изв. Сибирск. отд. АН СССР, 10, 138—142, 1973.
7. Kern D. H., Pith Y. H. Ann. N. Y. Acad. Sci., 332, 196—206, 1979.
8. Miculska Z. B., Smith C., Alexander P. Nat. Cancer Inst., 36, 29—33, 1965.
9. Pith Y. H., Ramming K. P. Meth. Cancer Res., 9, 19—24, 1973.
10. Schurrrer K., Darnell I. E. Biochem. Biophys. Res. Commun., 7, 496—499, 1962.

Поступило 10 VII 1987 г.

Бюлог. ж. Армении, т. 41, № 5, 1988

УДК 616.155.1—097

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ В СУПЕРНАТАНТАХ СУСПЕНЗИИ ОБРАБОТАННЫХ УЛЬТРАЗВУКОМ ЭРИТРОЦИТОВ

Т. Н. ГАРЕГИНЯН

Ереванский медицинский институт, кафедра биологической и медицинской физики

Ультразвук—эритроциты—антигены системы АВ0.

Ранее было показано изменение степени экспрессии антигенов системы АВ0 в мембранах эритроцитов под действием импульсного ультра-

Сокращения. УЗ—ультразвук.

звуки в режиме бегущей волны [5, 6]. Однако это явление остается недостаточно изученным, так как не дана количественная характеристика «выхода» антигенов в зависимости от длительности, интенсивности озвучивания и частоты самого ультразвука.

Нами была предпринята попытка определить количество отщепленных от эритроцитов белковых молекул по величине светопоглощения в области максимума (280 нм).

*Материал и методика.* В опытах были использованы эритроциты крови доноров мужского и женского пола среднего возраста, выделенные центрифугированием с последующим трехкратным промыванием физиологическим раствором.

Концентрацию белковых молекул в надосадочной жидкости оценивали по калибровочной кривой чистого альбумина сыворотки (Венгрия).

Ультразвуковое воздействие на суспензию эритроцитов осуществляли при помощи ультразвуковых генераторов «УЗТ-101», «Ультразвук 15» с частотой ультразвука 0,88 МГц и «УЗТ 306» с частотой ультразвука 2,64 МГц в диапазоне интенсивностей от 0,4 до 1 Вт/см<sup>2</sup> в режиме амплитудно-импульсной модуляции при длительности импульса 4 мсек. Усредненную по площади и по времени интенсивность ультразвука вблизи излучающей поверхности преобразователя определяли по радиационному давлению прибором ИМУ-3. Среднюю по времени интенсивность внутри кюветы определяли калориметрированием с помощью пяти последовательно соединенных медно-никелевых термисторов по описанной методике [4]. Ультразвуковое воздействие проводили при 37°. Точность поддержания температуры составляла  $\pm 1^\circ$ .

Время отделения супернатанта после озвучивания суспензии минимизировано с целью исключения ресорбции антигенов. Предварительные эксперименты показали, что в процессе озвучивания не происходит осаждения и слипания эритроцитарных клеток, поэтому мягкое смешивание суспензии и процессе озвучивания исключалось.

В каждой серии экспериментов было использовано 15 проб суспензии. Результаты измерений на спектрофотометре СФ-26 обработаны статистически с определенным критерием Стьюдента.

*Результаты и обсуждение.* Сравнительный анализ количества белковых молекул в надосадочной жидкости после центрифугирования (1500—2000 об/мин) показал наличие линейной зависимости появления белков в растворе только первые 15—20 мин в течение озвучивания. Степень отщепления белковых молекул антигенами и, вероятно, других мембраносвязанных белков сильно зависит от частоты ультразвука. Так, при частоте 0,88 МГц отщепление белковых молекул в течение первых тридцати минут в десять раз интенсивнее, чем при частоте 2,64 МГц. В этих условиях гемолиз эритроцитов не происходит ввиду меньшего повреждения мембран эритроцитов, ибо в надосадочной жидкости количество белков незначительно. Нужно отметить, что слабый эффект ультразвука с более высокой частотой связан со сдвиговыми напряжениями акустических микротечений [2], отчего зависит эффективность действия ультразвуковой волны на клетку. Однако это предположение, несмотря на некоторую убедительность, нуждается в дальнейшем подтверждении.

Данные таблицы свидетельствуют о зависимости выявляемого количества белковых молекул в надосадочной жидкости от длительности, интенсивности и частоты ультразвука. Видно также, что при одинаковой интенсивности (0,4 Вт/см<sup>2</sup>) отщепление белка начинается с третьей минуты озвучивания и достигает максимального значения на тридцать

цатой минуте, после чего резко замедляется выход белков. В первом приближении это можно объяснить обратным оседанием белков на мембранах эритроцитов с нарушенной структурой [1]. При расчете на один эритроцит отщепление белков достигает  $3 \cdot 10^9$  молекул на одну клетку. Такое соотношение достаточно значительно и может играть роль в изменении физико-химических свойств эритроцитов.

При более высокой частоте ход процесса такой же, однако количество отщепленных белковых молекул значительно меньше. Максимальное значение выхода белков в супернатанте также отмечается при 20–30-минутном озвучивании.

Результаты обработки эритроцитов в суспензии ультразвуком интенсивностью от 0,4 до 1,0 Вт·см<sup>-2</sup> в импульсном режиме 4 мс

| Время, мин | Количество эритроц. | Частота ультразвука             |                                                                          |                                 |                                                                          |
|------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
|            |                     | 0,88 МГц                        |                                                                          | 2,64 МГц                        |                                                                          |
|            |                     | концентрация биомолекул, мкг/мл | количество молекул, смытых с одного эритроцита, мол/эр · 10 <sup>9</sup> | концентрация биомолекул, мкг/мл | количество молекул, смытых с одного эритроцита, мол/эр · 10 <sup>9</sup> |
|            | 15                  | 81,20 ± 1,30                    |                                                                          | 81,20 ± 1,30                    |                                                                          |
| 1          | 15                  | 26,20 ± 2,95                    | 0,285 ± 0,010                                                            | 1,99 ± 0,08                     | 0,022 ± 0,001                                                            |
| 3          | 15                  | 68,42 ± 1,85                    | 0,743 ± 0,020                                                            | 12,56 ± 0,14                    | 0,136 ± 0,002                                                            |
|            | 15                  | 101,26 ± 2,03                   | 1,10 ± 0,022                                                             | 20,78 ± 0,97                    | 0,226 ± 0,011                                                            |
| 10         | 15                  | 153,74 ± 1,98                   | 2,159 ± 0,022                                                            | 25,31 ± 0,77                    | 0,275 ± 0,008                                                            |
| 20         | 15                  | 270,62 ± 2,33                   | 2,939 ± 0,025                                                            | 31,50 ± 1,13                    | 0,312 ± 0,012                                                            |
| 30         | 15                  | 290,92 ± 3,27                   | 3,160 ± 0,036                                                            | 33,63 ± 1,01                    | 0,365 ± 0,011                                                            |
| 40         | 15                  | 288,59 ± 3,91                   | 3,134 ± 0,042                                                            | 32,41 ± 2,21                    | 0,352 ± 0,013                                                            |
| 50         | 15                  | 286,16 ± 7,47                   | 3,103 ± 0,081                                                            | 32,58 ± 0,90                    | 0,354 ± 0,010                                                            |
| 60         | 15                  | 293,78 ± 2,62                   | 3,082 ± 0,028                                                            | 33,10 ± 1,01                    | 0,360 ± 0,011                                                            |

Таким образом, можно предположить, что процессы, протекающие на молекулярном и структурном уровнях в мембранах эритроцитов, независимо от частоты действующего ультразвука, по своей природе одинаковы и скорее всего различаются по интенсивности наступающих изменений.

Полученные результаты позволяют заключить, что изменения физико-химических свойств эритроцитов при обработке ультразвуком, в частности, обусловлены отщеплением белков антигенной и другой природы от их мембран. Их количественный анализ можно легко провести с помощью определения количества белков в надосадочной жидкости, в то время как качественный состав их можно определить методом электрофоретического разделения [3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аюпян Н. Б. Ультразвук в биол. и мед., Пушкино, 1981.
2. Аюпян В. Б., Сарвазян А. П. Акуст. журн., 25, 3, 462–463, 1979.
3. Баранова В. С., Гарегинян Т. Н., Тихонова С. В. В кн.: Тр. Всесоюз. конф. «Ультразвук в сельском хозяйстве», Рязань, 1987.
4. Маргулис М. А. Журн. физ. химии, 48, 1, 23, 1979.

5. Пирюзян Л. А., Маев Р. Г., Писневич М. М., Куйфман М. М., Корнева З. Н. Биофизика, 31, 2, 269—273, 1986.

6. Pinamonti S., Gallenga P. E. and Mazzeo V. Ultrasonid in Med. & Biol., 8, 6, 1982.

Поступило 24.XI 1987 г.

Биол. ж. Армении, т. 41, № 5, 1988

УДК 579.64:631.484

## АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АЗОТОБАКТЕРА В ОБНАЖЕННЫХ ПОЧВОГРУНТАХ ОЗЕРА СЕВАН

В. Г. НИКОГОСЯН

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

*Озеро Севан—азотобактер—нитрогеназная активность.*

Ранее было показано, что азотобактер широко распространен в некоторых обнаженных почвогрунтах оз. Севан [2, 3, 6]. Установлена азотфиксирующая активность обнаженных почвогрунтов, исследованы некоторые сравнительные морфологические особенности представителей азотобактера, распространенных в воде и почвогрунтах [2]. Однако азотфиксирующая активность смешанных и чистых культур азотобактера, выделенных из обнаженных почвогрунтов оз. Севан, до настоящего времени не изучена. Исследование этого вопроса имеет теоретическое и практическое значение для эффективного освоения освобожденных из-под воды территорий.

**Материал и методика.** Изучали 60 культур *Az. chroococcum*, выделенных в 1982 г. из обнаженных почвогрунтов в районе Вардениса и Ераноса, в том числе *Az. chroococcum* ИММИА В-6166 и *Az. chroococcum* ИММИА В-6167 (остальные штаммы приводятся согласно оригинальной нумерации). Для сравнения изучали штамм *Az. chroococcum* 53 из коллекции ВНИИ сельхозмикробиологии (по нумерации ИММИА *Az. chroococcum* В-6111).

Азотфиксирующую способность смешанных и чистых культур азотобактера определяли ацетиленовым методом ежедневно в процессе развития культуры на агаризованной среде Виноградского (3 мл) в течение четырех суток [5]. Нитрогеназную активность рассчитывали по количеству восстановленного ацетилена (мкмоль/час) [1].

**Результаты и обсуждение.** Исследованиями установлено, что выделенные культуры азотобактера относятся к виду *Az. chroococcum*.

Изучение нитрогеназной активности показало, что смешанные культуры не во всех случаях проявляют высокую азотфиксирующую активность. Нитрогеназная активность половины чистых культур азотобактера, выделенных из микробных ассоциаций, на 1,7—20,4% выше таковой соответствующей смешанной культуры, у остальных культур она на 7,7—24,3% ниже (табл.). Это, видимо, объясняется видовым составом микроорганизмов в смешанных культурах и особенностями их взаимодействия. Наличие симбиотического, метабиотического и антагонистического взаимодействия между азотобактером и другими микроорганизмами было показано ранее [4, 7, 8].