

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭТАПЫ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ ЛЕЦИТИНОВЫХ ЛИПОСОМ ДЕЗОКСИХОЛАТОМ НАТРИЯ

Т. Г. АМБАРЦУМЯН, Г. Г. МАРИКЯН, Д. С. ПЕТРОСЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Оптическая плотность—липосомальная суспензия—температура—детергент

Известно, что солюбилизация липида детергентом по мере увеличения соотношения липид:детергент (R) проходит несколько стадий: липосомы—смешанные липосомы—смешанные мицеллы [2]. Измерения ОП липидной суспензии показали резкое ее увеличение начиная с определенного значения R [1]. Поскольку указанные стадии солюбилизации носят характер переходов из одного агрегатного состояния в другое, естественно, возник вопрос о температурной зависимости этих переходов. В качестве исследуемого параметра вновь была взята ОП суспензии.

Материал и методика. Опыты проводили на яичном лецитине Харьковского завода химреактивов. Очистку лецитина от низолецитина осуществляли с помощью окиси алюминия. Сухую липидную пленку, полученную на роторном испарителе и очищенную от паров хлороформа, эмульгировали вручную в течение 15 мин в 20 мМ триацетатного буфера с 130 мМ КСl и различными концентрациями ДХНа, рН раствора равнялся 8,2. Концентрация липида в буферном растворе составляла 8,0 и 16,0 мМ. Соотношения детергент:липид указаны в тексте. Полученную суспензию отстаивали в течение часа для образования мультиламеллярных липосом. Далее для получения унिलамеллярных липосом отстаивали эмульсию озвучивали в трубчатом озвучивателе с частотой 22 кГц на ультразвуковом дезинтеграторе УЗ.ИИ-2 до достижения просветления и опалесценции. Затем суспензию отстаивали в течение часа для получения крупных униламеллярных липосом.

ОП суспензии определяли методом светорассеяния на спектрофотометре СФ-26 с приставкой для непрерывного сканирования температуры раствора в кювете при длине волны 500 нм.

Результаты и обсуждение. Исследование зависимости ОП суспензий липосом, сформированных при двух концентрациях липида с детергентом в разных молярных соотношениях, показало, что исследуемая система нечувствительна к изменениям температуры для области $R \leq 1$ и 0,2.

Мы предположили, что наблюдаемое линейное падение оптической плотности по мере роста температуры связано не с изменениями липидной структуры, а с изменениями рН раствора. Для проверки этого предположения был использован чувствительный к рН краситель крезоловый красный в триацетатном буфере (рН раствора при комнатной температуре 8,2). Измерения ОП в той же температурной области вновь обнаруживают линейное падение оптической плотности (от 0,275 до 0,103). Так как технически не были возможности в ходе эксперимента одновременно следить и за изменением рН раствора, его измерения проводили при ком-

Сокращения: ОП—оптическая плотность; ДХНа—дезоксихолат натрия; ДФГТ—1,6-дифенил-1,3,5-гекса триен.

ватной температуре для растворов, имеющих те же величины ОП (0,275—0,160). Из полученной калибровочной кривой (рис. 1) видно, что при этом pH раствора крезолового красного меняется от 8,8 до 7,6, что в конечном итоге указывает на закисление липосомальной суспензии с ростом температуры.

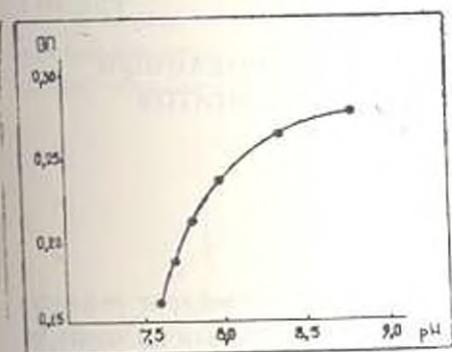


Рис. 1.

Рис. 1. Зависимость оптической плотности от pH для крезолового красного, растворенного в триацетатном буфере.

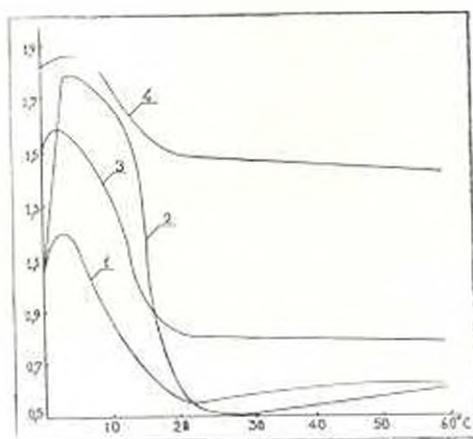


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость оптической плотности липосомальной суспензии от температуры

С.лип. — 8 м.М. (1) — R = 0,6, (2) — R = 1,0,
С.лип. — 16 м.М. (3) — R = 0,5, (4) — R = 0,8.

Исследование зависимости ОП от температуры для суспензий с высоким отношением детергент-липид выявило (рис. 2) существенную температурную зависимость по достижении R значения 0,4 и выше, независимо от концентрации липида. Если понижение температуры от 60° до 20°C не оказывает заметного влияния на ОП, то дальнейшее ее понижение приводит к резкому помутнению системы. Причем, чем выше концентрация липида, тем раньше (то есть при более высокой температуре) это начинается.

Проведенные нами параллельные определения анизотропии флуоресценции (τ) ДФГТ, встроенного в углеводородную часть мембраны, не указывают на разрушение бислоевой структуры в этой области отношений R в данном диапазоне температур.

Таким образом, детергент является агентом, способствующим переходам из одного агрегатного состояния в другое. Причем его присутствие становится эффективным лишь после достижения определенного значения R, независимо от температуры. Только после его достижения температура (как правило, ниже комнатной) становится фактором, существенным для увеличения ОП. Это может быть связано либо с агрегацией липосом, либо с их слиянием. Опыты показывают обратный характер повышения мутности, что, по-видимому, может служить аргументом в пользу первого предположения. Возможно, понижение температуры ниже комнатной делает бислоевую структуру более напряженной, что создает предпосылки для образования агрегатов из смешанных мицелл.

1. Jackson W. L., Schoultz C. F., Lichtenberg D., Litman T. A. *Virology*, 113, 4576—4582, 1982.
2. Lichtenberg D., Robson R., Demius E. *Biochim Biophys. Acta*, 77 255—261, 1981.
Поступило 1.III 1989 г.

Биолог. ж. Армения. № 1.(43).1990

УДК 578.2

ВЛИЯНИЕ РЕМАНТАДИНА НА ИНДУЦИРОВАННЫЙ ВИРУСОМ СЕНДАЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

М. М. КОРХМАЗЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ

Вирусный гемолиз—ремантадин.

В терапии гриппа достаточно широко применяется препарат ремантадина (Rem), однако механизм его противовирусного действия до конца не выяснен. По мнению ряда авторов, он действует на ранних стадиях адсорбции вируса на мембране и при проникновении вируса в клетку [7, 10], согласно данным других авторов, Rem действует на стадии репродукции вирусных частиц внутри клетки [3, 9].

Эритроциты являются удобной моделью для изучения взаимодействия вируса с клеточной мембраной. Вирус Сендай (HVJ) хорошо адсорбируется на эритроцитах, мембрана которых содержит специфические для него рецепторы, и эффект взаимодействия может быть оценен по величине гемолиза, вызванного вирусом [2]. В настоящей работе влияние Rem оценивается по его воздействию на индуцированный HVJ гемолиз эритроцитов, т. е. на стадии взаимодействия вируса с мембраной клетки.

Материал и методика. Исследования проводили на эритроцитах человеческой крови I группы. Эритроциты осаждали, грижды промывали и ресуспендировали в растворе следующего состава: 145 мМ NaCl:5 мМ трис-HCl, (pH 7.4).

В работе использовали ремантадин производства ИОС АН Латв. ССР, вирус Сендай (штамм 960), выращенный в Институте вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР. Титр вируса в ГАЕ определяли по методу [1].

Инкубацию вирусов и эритроцитов с Rem проводили в течение 40 мин при 37°. Вирус-индуцированный гемолиз осуществляли инкубацией 1%-ной суспензии эритроцитов с вирусом в течение 30 мин на холоду, затем 30 мин при 37°.

Величину гемолиза определяли поглощением на 540 нм надосадочного раствора после осаждения клеток.

Результаты и обсуждение. Прежде чем судить о влиянии Rem на индуцированный вирусом гемолиз, необходимо выяснить, какое влияние оказывает Rem на устойчивость эритроцитов к лизису. В качестве контроля мы выбрали осмотический гемолиз эритроцитов. Инкубация

Сокращения ГАЕ—гемагглютинирующая единица.