

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Издаётся с 1946 года
Айастані кенсабанакан андес,
выходит 12 раз в год
на армянском и русском языках

Խմբագրական կոլեգիա՝ Ս. Ս. Ավագյան, Վ. Ե. Ավետիսյան, է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Ն. Գ. Բակլավադյան, Ն. Գ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Կ. Ս. Մարջանյան (պատ. քարտուղար), Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Ն. Ս. Ավետյան, է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Գ. Ն. Բաբայան, Ս. Ա. Բակունց, Ա. Լ. Քախատաշյան, Պ. Ա. Խորշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ե. Տեր-Մինասյան:

Редакционная коллегия: Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Э. К. Африкян (главный редактор), О. Г. Баклаваджян, Г. Г. Батикян, А. Ш. Галстян (зам. главного редактора), В. О. Казарян, К. С. Марджанян (ответ. секретарь), С. О. Мовсисян.

Редакционный совет: А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабаян, С. А. Бакунц, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, С. А. Погосян, А. Л. Тахтаджян, М. Е. Тер-Минасян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

Հ Ը Դ Դ Դ

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

Հիմնադրվել է 1946 թ.

Հաստատվում է սահեկան 12 անգամ

Համար XXXV, № 9

ՆՐԵՎԱՆ

Սեպտեմբեր, 1982 թ.

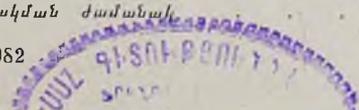
Բ Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

Փորձառական

Պետրսյան Մ. Ս., Խաչատրյան Գ. Ս. Հիստոնային ֆրակցիաների պարունակությունը չների գլխուղեղում բարձրագույն նյարդային համակարգի տարրեր ֆունկցիոնալ վիճակների դեպքում	689
Ղազարյան Գ. Ա., Զուրաբյան Ա. Ս., Ստեփանյան Տ. Գ., Ղամբարով Ս. Ս., Սարախան- յան Ա. Գ., Համբարձումյան Ա. Ս. Բարձրլեւնային պլազմաներում աշխատողների էնդոկրին համակարգի և բջջային իմունիտետի ակտիվության որոշ ցուցանիշներ	695
Հովհաննիսյան Հ. Ս. Plasmodium berghei էրիթրոցիտար փուլերի կոնսերվացումը Բաշինյան Ս. Ա. Ֆլուորեսցենտային զոնդերի օգտագործումը բջջային և մոզելային թաղանթների հետազոտությունում	698
Ղոնյան Ս. Ա., Կարազուլյան է. Ա. էրիթրոցիտների թաղանթների մակերևութային հատկությունների ուսումնասիրությունը ուտոցբազոլյացման ժամանակ	701
Առաքելյան Վ. Բ., Խաչատրյան Հ. Ռ., Մատինյան Ն. Ս., Ավագյան Մ. Մ. Երկշերտ-մակա- կորություն սահմանագծի դերը երկշերտ լիպիդային թաղանթների էլեկտրա- կան ծակման դեպքում	707
Խաչատրյան Գ. Ն., Ղազարյան Հ. Տ. Բարձրակարգ բույսերի բջիջների իոնային ընտրո- ղականությունը և մեմբրանային պոտենցիալի կախումը ինհիբիտորների ազ- դեցությունից	711
Գամբարով Ս. Ս., Խարյովա Գ. Վ., Խաչատրյան Ա. Մ. Վերականգնվող փայլախում կոնտրաստացրեստրային ակտիվությամբ օժտված բջիջների ինդուկցիան	717
Արժումի Գ. Գ., Հովհաննիսյան Օ. Վ. Գնթ էլեկտրաֆիզիկական հատկությունները էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցության դեպքում	723
Զաֆարյան Ռ. Ա., Գասպարյան է. Տ., Ապոշյան Հ. Վ. β-լեկտամազ գենի տրանսպորտը արհեստական վիրուսատիպ մասնիկների կազմում դեպի մարդու բջիջները և նրա էքսպրեսիան	727
Խաժախյան Լ. Վ., Խաչատրյան Ս. Կ., Պարոնիկյան Գ. Մ., Դարբինյան Գ. Ս., Գև- բույան Վ. Ա. Հաստատուն մագնիսական դաշտի ազդեցությունը միկրոօրգանիզմ- ների և մի քանի բիմիական միացությունների մոտազեն ազդեցության վրա	730
Բաբայան Ռ. Ս., Մկրտչյան Ա. Տ. Աշնանացան գարու մի քանի սորտանմուշների հա- մեմատական բնութագիրը Արարատյան հարթավայրի նախալեռնային գոտու պայմաններում	735
Ավագյան Բ. Պ., Վարդանյան Լ. Ս., Տեր-Բալյան Ն. Հ. Գինեպրոթոնային շաքարանկային դուրդի ամինաթթվային կազմը և նրա փոփոխությունը պահման ընթացքում	738
Օստրովսկի Ի. Ս. Պարաբոլային կշռային աճով օրգանիզմների նուստահասակ պոպուլյա- ցիայի պրոդուկցիոն պրոցեսի պարզագույն մոդելը	742

Համառոտ հաղորդումներ

Մուդենցյան է. Գ., Խաչատրյան Ս. Ա. Escherichia coli ռիբոսոմային մոտանո- ների N-մեթիլ-N-նիտրո-N-նիտրոզոգուանիդին մակածված մոտազենները	756
Ալեխանյան Յու. Թ., Գասպարյան է. Տ., Իզնատովա Տ. Ն., Պոդոլյան Ռ. Գ. Մկնային XXIIa հեպատոմայի կուտիվացվող բջիջների միջտեսակային հիբրիդների օզ- տագործումը հակաուտոցբալին ռեգիտոնոտոլային մակածման համար	759
Առաքելյան Վ. Բ., Խաչատրյան Հ. Ռ., Մատինյան Ն. Ս., Ավագյան Մ. Մ. Երկշերտ լիպիդային թաղանթների կյանքի միջին տևողության կախումը բիմոլեկուլյար շերտի մակերեսից էլեկտրական ծակման ժամանակ	761



Ռեֆերատներ

Ասատրյան Թ. Հ., Հովհաննիսյան Գ. Յ., Ալեքսանյան Ռ. Ա., Մնացականյան Վ. Հ. Teucrium hyrcanicum L. (Lamiaceae) և տեուկրին H 1-ի և H 2-ի ազ- դեցությունը սրտամկանի արյան մատակարարման և կծկողականության վրա	763
Վարդանով Հ. Ա., Փանոսյան Գ. Հ. Ուլտրաձայնի տարածման արագության և կլանման մեջ կաթի հիմնական բաղադրիչ մասերի ավանդի պրիցիդիոն (ճշգրիտ) չափումները	764

Լրատու

Սերգեյ Կոնստանտինի Դալի հիշատակին (1904—1982)	765
1 համամիութենական բիոֆիզիկական համագումարը	767

СО Д Е Р Ж А Н И Е

Экспериментальные

<i>Петросян М. С., Хачатрян Г. С.</i> Содержание фракций гистоцитов в мозге собак при различных функциональных состояниях ЦНС	689
<i>Казарян Г. А., Степанян Т. Г., Саруханян А. Г., Зурабян А. С., Гамбаров С. С., Амбарцумян А. С.</i> Некоторые показатели активности эндокринной системы и клеточного иммунитета в условиях высокогорья	695
<i>Оганесян А. С.</i> Крнопрезервация эритроцитарных стадий <i>Plasmodium berghei</i>	698
<i>Баджигян С. А.</i> Использование флуоресцентных зондов в исследовании клеточных и модельных мембран	701
<i>Гонян С. А., Карагулян Э. А.</i> Изучение поверхностных свойств мембран эритроцитов при опухолеобразовании	707
<i>Аракелян В. Б., Хачатрян Г. Р., Матинян Н. С., Авакян Ц. М.</i> О роли границы бислой—мениск при электрическом пробое бислойных липидных мембран	711
<i>Хачатрян Г. Н., Казарян Г. Т.</i> Ионная избирательность и зависимость мембранного потенциала клеток высших растений от действия ингибиторов	717
<i>Гамбаров С. С., Харлова Г. В., Хзарджян А. М.</i> Индукция клеток, обладающих контрасупрессорной активностью, в регенерирующей селезенке	723
<i>Арцруни Г. Г., Оганесян О. В.</i> Электрофизиологические свойства дезоксирибонуклеиновой кислоты при воздействии электростатического поля	727
<i>Захарян Ф. А., Гаспарян Э. Т., Апошян Г. В.</i> Транспорт гена β -лактамазы в составе искусственных вирусоподобных частиц в клетки человека и его экспрессия	730
<i>Хажакян Л. В., Хачатурян С. К., Пароникян Г. М., Дарбинян Г. А., Гебоян В. А.</i> Влияние постоянного магнитного поля на микроорганизмы и на мутагенное действие некоторых химических соединений	735
<i>Бабаян Р. С., Мкртчян А. Т.</i> Сравнительная характеристика некоторых сортов-образцов озимого ячменя в условиях предгорной зоны Араратской равнины	738
<i>Авакян Б. П., Вартамян А. С., Тер-Балаян Н. А.</i> Аминокислотный состав дрожжевой гущи виноделия и ее изменение в процессе хранения	742
<i>Островский И. С.</i> Простейшая модель продукционного процесса одновозрастной популяции организмов с параболическим весовым ростом	746

Краткие сообщения

<i>Мугнецян Э. Г., Хачатрян С. А.</i> N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин-индуцированный мутагенез рибосомных мутантов <i>Escherichia coli</i>	756
<i>Александрян Ю. Т., Гаспарян Э. Т., Игнатова Т. Н., Погосян Р. Г.</i> Применение межвидовых гибридов культивируемых клеток мышинной гепатомы XXIIa для индукции противоопухолевой резистентности	759
<i>Аракелян В. Б., Хачатрян Г. Р., Матинян Н. С., Авакян Ц. М.</i> Зависимость среднего времени жизни бислойной липидной мембраны от площади бислоя при электрическом пробое	761

Рефераты

- Асатрян Т. О., Оганесян Г. Б., Алексанян Р. А., Мнацаканян В. А.* Влияние сухого остатка водного экстракта *Teucrium hyrcanicum* L. (Lamiaceae) и теукринов Н1 и Н2 на кровоснабжение и сократимость миокарда 76
- Вартанов Г. А., Паносян Г. А.* Прецизионные измерения скорости распространения и поглощения ультразвука для определения вкладов, вносимых основными компонентами молока 76

Хроника

- Памяти Сергея Константиновича Даля (1904—1982) 76
- I Всесоюзный биофизический съезд 76

C O N T E N T S

Experimental

<i>Petrosian M. S., Khachatryan G. S.</i> Content of Histone Fractions in the Dog's Brain at Different Functional States of CNS	689
<i>Kazarian G. A., Stepanian T. G., Sarukhanian A.G., Zurabian A. G., Gambarov S. S., Ambartsumian A. C.</i> Some Indices of the Endocrine System Activity and Cellular Immunity in the Alpine Conditions	695
<i>Oganesian H. S.</i> Cryopreservation of Erythrocytic Stages of <i>Plasmodium berghei</i>	698
<i>Badjinian S. A.</i> The Use of Fluorescent Probes in the Cell and Model Membrane Study	704
<i>Gonian S. A., Karagulian E. A.</i> The Study of Surface Properties of Erythrocyte Membranes during the Tumour Growth	707
<i>Arakelian V. B., Khachatryan H. R., Matinyan N. S., Avakian Ts. M.</i> On the Role of the Bilayer—Meniscus Board in Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes (BLM)	711
<i>Khachatryan G. N., Kazarian G. T.</i> Ion Selectivity of the Cell of Higher Plants and Dependence of the Membrane Potential from the Influence of Inhibitors	717
<i>Gambarov S. S., Kharlova G. V., Khazardjian A. M.</i> Induction of Regenerative Splenic Cells with Countersuppressor Activity	723
<i>Artsruni G. G., Oganesian O. V.</i> Electrophysical Properties of Deoxyribonucleic Acid under the Influence of Electrostatic Field	727
<i>Zakharian R. A., Gasparian E. T., Aposhian H. V.</i> Transport of β -lactamase Gene into Human Cells by PLP and Its Expression	730
<i>Khazhakian L. V., Khachaturian S. K., Paronikyan G. M., Darbintan G. A., Gueboyan V. A.</i> Influence of the constant magnetic field upon microorganisms and upon the mutagenic action of some chemical compounds . . .	735
<i>Babayan R. S., Mkrtchian A. T.</i> Comparative Characteristics of Some Cultivars of Winter Barley in the Conditions of Foot—Hill Zone of the Ararat Valley	738
<i>Avakian B. P., Vartanian L. S., Ter-Balian N. H.</i> Aminoacid Ingredients of Wine Lees and its Changes in the Process of Storage	742
<i>Ostrovsky I. S.</i> A Simple Model of the Production Process of the Populations of the Same Age Organisms with a Parabolic Weight Growth (on <i>Chironomus plumosus L. larvae</i>) and its Applications	748

Short Communications

<i>Mugnetsian E. G., Khachatryan S. A.</i> N-methyl-H ¹ -nitro-N-nitrosoguanidine-induced Mutagenesis of Ribosome Mutants of <i>Escherichia coli</i>	756
<i>Aleksanian Yu. T., Gasparian E. T., Ignatova T. N., Pogosian R. G.</i> An Application of the Interspecies Hybrids of the Cultivated Cells of Mouse Hepatoma XXIIa for the Induction of the Antitumour Resistance	759
<i>Arakelian V. B., Khachatryan H. R., Matinian N. S., Avakian Ts. M.</i> The Average Lifetime of Bilayer Lipid Membranes (BLM) Depending on Bilayer Surface Area at Electric Breakdown of BLM	761

A b s t r a c t s

Assatrian T. O., Oganessian G. B., Alexanian R. A., Mnatsakanian V. A. Influence of the dried aqueous extract of *Teucrium hyrcanicum L. (Lamiaceae)* on the blood supply and contractility of the myocardium 763

Vardanov H. A., Panosian G. H. Precision measurements of the ultrasound rate and absorption for determination of investments of basic components of milk 764

C h r o n i c s

To Sergei Constantinovich Dal's memory (1904—1982) 765

The first All-Union biophysical congress 767

УДК 591.1.15

СОДЕРЖАНИЕ ФРАКЦИЙ ГИСТОНОВ В МОЗГЕ СОБАК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ЦНС

М. С. ПЕТРОСЯН, И. С. ХАЧАТРЯН

Из мозга собак выделены гистоны и изучены содержание и хроматографические профили F1, F2a, F2b, F3 фракций гистонов при различных функциональных состояниях ЦНС. Показано повышение содержания F2a и недостоверное понижение количества F1 фракций гистонов в мозге при возбуждении и торможении ЦНС. Хроматографические профили основных гистоновых фракций и их примесей из мозга собак, полученные на КМ-целлюлозе при различных функциональных состояниях, особым изменениям не подвергаются.

Ключевые слова: гистоны, ЦНС, головной мозг.

В механизме регуляции функции генетического аппарата клеток, наряду с другими ядерными белками, важное значение придается гистонам [8, 14]. Показано взаимодействие гистонов с ДНК, их влияние на активность ДНК-зависимой, РНК-полимеразы [9, 15] и РНК-азы [7]. В животных тканях найдено 6 главных гистоновых фракций [5, 10], количественное соотношение которых может изменяться в зависимости от метаболической активности клеток. Несмотря на наличие ряда работ в области изучения роли гистонов, прямое их участие в механизме функционирования генетического аппарата окончательно не доказано. Недостаточно изучена количественная характеристика фракций гистонов в высокодифференцированных нервных клетках при различных функциональных состояниях ЦНС

Ставилась задача изучить количественную характеристику фракций гистонов в мозге при различных функциональных состояниях ЦНС, выработанных на базе натуральных пищевых рефлексов.

Материал и методика. Опыты ставились на собаках-самцах массой 4—5 кг, в возрасте от одного до двух лет, содержащихся в одинаковых условиях. Подопытные животные подразделялись на 4 группы. Первая группа служила в качестве контроля, вторая предназначалась для выработки пищевого возбуждения. У животных третьей группы вырабатывалось условнорефлекторное пищевое возбуждение, а у четвертой— условнорефлекторное пищевое торможение. С целью фиксации обменных процессов в мозге при различных функциональных состояниях ЦНС собак замораживали в жидком азоте в условнорефлекторной камере марки УРК-73 [6]. В качестве безусловного раздражителя служило кормление собак мясом из расчета 5 г на 1 кг массы животного. Подача пищи сопровождалась применением условного раздражителя (звучание зуммера). Условный рефлекс вырабатывался по отставленному способу. Торможение вызывалось угашением положительного условного рефлекса.

Фракции гистонов получали из предварительно выделенных ядер клеток мозга собак по методу Дингмана и Спорна [12], Шово и др. [11]. Чистоту полученных ядер контролировали под микроскопом. Выделение отдельных фракций гистонов проводили

по методу Джонса [16]. Принцип выделения гистонов основывался на их избирательной растворимости в растворе этанол—НСI и последующем осаждении ацетоном. Количество реагентов и осадителей, необходимое для выделения гистонов из мозговой ткани собак, определяли исходя из массы выделенных ядер по методу Джонса [16], применительно для тимуса. Экстракцию гистонов смесью этанол—1,25 НСI проводили в полиэтиленовой пробирке со стеклянными шариками, на качалке со скоростью 160 об/мин. Дополнительное очищение фракций гистонов проводили хроматографией на КМ целлюлозе по Джонсу и Батлару [17], размеры колонки—0,95×3 см. На колонку наносили предварительно выделенные фракции гистонов в количестве 5—12 мг. Для построения калибровочной кривой использовали фракции гистонов фирмы Sigma (США).

Результаты и обсуждение. Из мозга собак выделяли четыре основных фракции гистонов: лизинбогатые—F1, относительно лизинбогатые—F2a, F2b и аргининбогатые—F3. Выход гистоновых фракций из мозговой ткани у контрольной группы животных в наших экспериментах составляет для фракции F1—16,24; F3—20,56, F2b и F2a—25,53 и 37,19 мг на 100 мг общего гистона соответственно, что в основном совпадает с данными, полученными в экспериментах на головном мозге быка [1], зубной железе телят [18], опухоли Уокера [13]. Если принять выход фракции F1 за единицу, то соотношение гистоновых фракций F1:F3:F2b:F2a составит 1:1, 26:1, 63:2,28. Это соотношение для мозга телят составляет соответственно 1:0, 92:1, 2:2,51 [3], а для тимуса телят—1:1, 32:1, 4:2,07 [16].

Общий выход гистонов от массы сырых ядер для ткани головного мозга собак у контрольной группы составляет 2,29. Если учесть, что содержание ДНК в ядрах составляет 3% [2], то можно принять, что выход гистонов по отношению к ДНК составляет 75—80%. По данным Мюльберга и сотр. [3], для ткани головного мозга телят эта величина составляет 85—90%.

Анализ полученных данных по изучению количественной характеристики общих гистонов при различных функциональных состояниях показывает, что общий выход гистонов от массы сырых ядер при пищевом и условнорефлекторном пищевом возбуждении колеблется в пределах контроля и составляет 2,22 и 2,35% соответственно. При условнорефлекторном торможении ЦНС также особым изменениям не подвергается и составляет 2,27%.

При сопоставлении полученных нами данных с данными литературы [3] приходим к заключению, что у разных видов животных и в различных тканях при одинаковом уровне содержания общих гистонов встречаются различные вариации количественного состава гистоновых фракций.

С целью определения видов подфракций и количества их содержания в основных гистоновых фракциях далее проводили хроматографический анализ выделенных нами фракций. На рис. (1—4) приведены хроматографические профили четырех основных фракций гистонов. Результаты анализа фракций гистонов F1, F2a, F2b и F3 из мозга собак показывают, что по хроматографическим профилям они в основном не отличаются от гистонов, полученных из мозга и тимуса телят [3]. Спектральный анализ отдельных фракций при $\lambda=278$ nm в зависимости

от содержания в них примесей дает несколько пиков. Первый пик (F_x), обнаруживаемый при элюировании NaOH-ацетатным буфером pH—4,2, соответствует белку, не задерживающемуся на колонке. Этот пик характерен как для всех исследованных нами фракций пистонов мозга

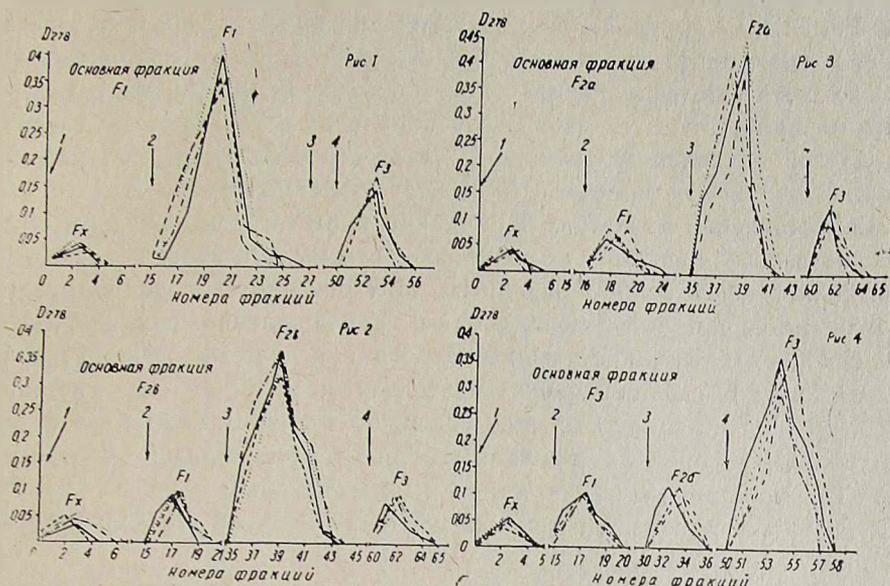


Рис. 1—4. Хроматографические профили основных фракций гистонов в норме и при различных функциональных состояниях ЦНС. 1. Буфер 0,1 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0,01 \text{ М NaOH}$, pH 4,2. 2. Буфер 0,17 М $\text{CH}_3\text{COOH} + 0,051 \text{ М NaOH}$ и 0,42 М NaCl, pH 4,2. 3. 0,01 М HCl. 4. 0,02 М HCl. ——— Контроль ——— Пищевое возбуждение Условно-рефлекторное пищевое торможение. — · — · — Условно-рефлекторное пищевое возбуждение.

собаки, так и для гистонов других тканей [3]. Количество не задерживающегося на колонке белка зависит от количества наносимой на колонку фракции гистонов. Второй пик, соответствующий богатой лизинном фракции, элюируется NaOH-ацетатным буфером с добавлением NaCl и выходит сразу после пропускания буфера в пробах 15—25 (рис. 1). Максимальный пик оптической плотности отмечается в основной F1 фракции. После F1 фракции при дальнейшем пропускании 0,01 М HCl, а затем 0,02 М HCl в качестве примеси выходит F3 фракция пистонов в пробах 50—56. Как видно из рис. (2), при нанесении на колонку основной фракции F2a и применении вначале NaOH-ацетатного буфера и затем смеси NaOH: ацетат: NaCl соответственно выходят в качестве примесей F_x и фракция, которая по месту выхода соответствует гистону F1. При пропускании 0,01 М HCl через колонку выходит основная фракция F2a в пробах 35—43. После выхода основной фракции F2a в качестве примеси при применении 0,02 М HCl в пробах 60—65 выходит аргининбогатый гистон—F3. Мюльбергом и др. [3] отмечено лишь наличие аналогичной примеси F3 в мозге и тимусе телят, между тем как F1 фракция в качестве примеси ими не отмечена. Небольшой пик, соответствующий фракции F1 гистона в качестве примеси, обнаружен

нами при хроматографии фракции гистонов как в контрольной группе экспериментов, так и в опытах с выработанными функциональными состояниями ЦНС.

При хроматографии основной фракции F2b также отделяются примеси Fx, F1 и F3 (рис., 3). Как показывают данные рис. (2 и 3), хроматографические профили основных фракций F2a и F2b имеют определенное сходство. Обе фракции выходят в пробах 35—44, поэтому трудно выяснить присутствие указанных фракций в качестве примеси в одной или другой основной фракции. Хроматография основной фракции F2b выявляет в качестве примесей Fx, F1, F2a фракции (рис., 4).

Сопоставление данных о содержании примеси в основных F1, F2b и F3 гистоновых фракциях мозга собак с таковыми в мозге телят не выявляет качественной разницы, хотя отмечается разница между указанными фракциями в мозге собак и тимуса телят. Так, например, если основная фракция F3 из мозга собаки и телят содержит примеси лизинбогатой фракции и относительно богатой лизином гистона F3 фракция из тимуса телят содержит только относительно богатый лизином гистон. F1 фракция гистона тимуса телят содержит примеси F3 и F2a фракции [3], а по нашим и литературным данным [3], F1 фракция из мозга собаки и телят содержит только аргининбогатую фракцию.

Таким образом, исследование состава примесей гистоновых фракций выявило и сходство и различие в качественном составе как у разных видов животных, так и в различных тканях одного и того же вида.

В свете вышеприведенных данных представляло интерес и исследование количественного и качественного состава, а также хроматографических профилей гистоновых фракций под воздействием естественных физиологических раздражителей. Полученные данные показывают, что характер примесей основных фракций гистонов из мозга собаки остается неизменным как при возбуждающем, так и при тормозном процессах. Хроматографические профили фракций гистонов из мозга при выработанных функциональных состояниях ЦНС также не подвергаются особым изменениям.

Сопоставление полученных нами данных о соотношении и чистоте основных фракций гистонов мозговой ткани собаки (табл. 1) с данными литературы [3, 4, 19] позволяет заключить, что они варьируют в зави-

Таблица 1
Степень загрязнения отдельных фракций гистонов из мозга собаки, процент от основной фракции (контрольная группа)

Основные фракции	Примеси других фракций			
	F 1	F 3	F 2a	%
F 1		29,189		26,189
F 3	10,036		18,232	26,268
F 2a	7,468	17,626		25,094
F 2b	6,168	23,057		29,225

симости от вида животного и изучаемой ткани. Количественная характеристика примесей гистоновых фракций при пищевом, условнорефлекторном пищевом возбуждении и условнорефлекторном пищевом торможении не выявляет заметных сдвигов в их содержании по сравнению с данными контрольных опытов.

В дальнейшем нами изучалось абсолютное содержание гистоновых фракций мозговой ткани собак в норме и при различных функциональных состояниях ЦНС; результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание гистоновых фракций в мозге при различных функциональных состояниях ЦНС
($M \pm m$ в мг/г сырых ядер)

	Фракции			
	F 1	F 2b	F 3	F 2a
Контроль	$2,89 \pm 0,16$ (6)	$4,10 \pm 0,17$ (6)	$3,26 \pm 0,08$ (6)	$5,9 \pm 0,195$ (6)
Пищевое возбуждение	$2,46 \pm 0,108^*$ (5)	$3,93 \pm 0,16^*$ (5)	$2,87 \pm 0,14^{**}$ (5)	$6,82 \pm 0,132^*$ (5)
Условнорефлекторное пищевое возбуждение	$2,89 \pm 0,175^*$ (5)	$3,82 \pm 0,074^*$ (5)	$3,37 \pm 0,14^*$ (5)	$6,73 \pm 0,238^*$ (5)
Условнорефлекторное пищевое торможение	$2,43 \pm 0,08^*$ (5)	$3,92 \pm 0,151^*$ (5)	$3,01 \pm 0,14^*$ (5)	$6,60 \pm 0,15^*$ (5)

В скобках—число опытов *— $p > 0,05$; **— $p < 0,05$.

Как видно из данных табл. 2, при пищевом, условнорефлекторном пищевом возбуждении и условнорефлекторном пищевом торможении количество относительно богатой лизином F2b и аргининбогатой F3 фракций гистонов не претерпевает заметных изменений. При пищевом возбуждении и условнорефлекторном пищевом торможении происходит недостоверное снижение содержания богатой лизином фракции. В отличие от этой фракции, при различных функциональных состояниях ЦНС происходит повышение количества F2a гистона.

Анализ полученных данных показывает, что при различных функциональных состояниях ЦНС, выработанных на базе натуральных пищевых рефлексов, количество отдельных фракций гистонов в мозге не подвергается значительным изменениям и остается на уровне, характерном для контрольной группы животных. Этот факт дает нам основание полагать, что при осуществлении высших функций головного мозга количество фракций гистонов не претерпевает особых изменений. Участие гистонов в репрессии и дерепрессии генетического аппарата нервных клеток при различных функциональных состояниях ЦНС, возможно, обусловлено модификацией гистонов и их фракций, направленной на повышение интенсивности ацетилирования, фосфорилирования и других реакций межмолекулярного переноса, способных изменять функциональную роль различных фракций гистонов в генной активности, в пути биосинтеза нейроспецифических белков головного мозга. Изучение этих вопросов—задача наших дальнейших исследований.

ՀԻՍՏՈՆԱՅԻՆ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՇՆԵՐԻ
ԳԼԽՈՒՂԵՂՈՒՄ ԲԱՐՉՐԱԳՈՒՅՆ ՆՅԱՐԳԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԻ
ՏԱՐԲԵՐ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՎԻՃԱԿՆԵՐԻ ԳԵՊՔՈՒՄ

Մ. Ս. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

Շնեքի գլխուղեղից անջատվել են F1, F2a, F2b և F3 հիստոնային ֆրակցիաները, ուսումնասիրվել են նրանց պարունակությունը և քրոմատոգրաֆիկ բնութագրերը կնշ տարբեր ֆունկցիոնալ վիճակներում: Ցույց է տրված F2a ֆրակցիայի քանակի բարձրացում և F1 ֆրակցիայի վիճակադրոնեն ոչ հավաստի իջեցում կնշ դրդման և արգելակման ժամանակ: Հիմնական հիստոնային ֆրակցիաների և նրանցում պարունակվող խառնուրդների քրոմատոգրաֆիկ բնութագրերը ուղեղի տարբեր ֆունկցիոնալ վիճակներում նկատելի փոփոխության չեն ենթարկվում:

CONTENT OF HISTONE FRACTIONS IN THE DOG BRAIN
AT DIFFERENT FUNCTIONAL STATES OF CNS

M. S. PETROSIAN, G. S. KHACHATRIAN

Quantitative changes in histone content isolated from the F1, F2a, F2b and F3 fractions of the dog brain have been studied in various functional states of CNS. An increase of the F2a and unauthentic reduction in the amount of the F1 histone fractions in the brain are shown during stimulation and inhibition of CNS.

Chromatographic profiles of the main histone fractions and the admixtures received from the KM — cellulose do not undergo significant modifications at different functional states of CNS.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин И. П., Садикова Н. В., Дюрнбаум В. И., Степанова И. С. Укр. биохим. ж., 48, 6, 593, 1976.
2. Броун Р. Г., Краснопевцева Н. Г. Вестн. ЛГУ, 3, 90, 1963.
3. Мюльберг А. А., Дюрнбаум В. И., Кокряков В. Н., Чихиржина Г. И., Ашмарин И. П. Биохимия, 35, 4, 815, 1970.
4. Мюльберг А. А., Дюрнбаум В. И., Розенфельд О. К., Шарыгин А., Ашмарин И. П. Биохимия, 33, 774, 1968.
5. Паносян Г. А. Структура и функция гистонов. Ереван, 1978.
6. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Гексозомонофосфатный шунт в мозгу. Ереван, 1967.
7. Шанор В. С. Нуклеазы. М., 1968.
8. Allfrey V. G., Littau V. C., Mirsky A. E. Proc. Natl. Acad. Sci. US., 49, 414, 1963
9. Allfrey V. G., Littau V. C., Mirsky A. E. Proc. Natl. Acad. Sci. US., 49, 412, 1963
10. Bush H. In „Histones and other nuclear proteins“, N. Y., London, Acad. press 1965.
11. Chawveau I., Moule Y., Rouiller C. Exptl. Cell. Res., 11, 317, 1956.
12. Dingman C. W., Sporn M. J. Biol. Chem., 23, 3483, 1964.
13. Hnilica L. S., Busch H. J. Biol. Chem., 238, 918, 1963.
14. Huang R. C. C., Bonner J. Proc. Natl. Acad. Sci. US., 48, 1216, 1962.
15. Huang R. C. C., Bonner J., Murray K. J. Mol. Biol., 8, 54, 1964.

16. Johns E. W. Biochem. J., 92, 55, 1964.
17. Johns E. W., Butler J. A. V. Biochem. J., 82, 15, 1962.
18. Johns E. W. J. Bonner and P. TS'o eds. Holden-day. San-Francisco, California, 52—57, 1964.
19. Mac Gillivray A. J. Biochem. J., 101, 24, 1966.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982.

УДК 612.014.4

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ

Г. А. КАЗАРЯН, Т. Г. СТЕПЛЯН, А. Г. САРУХАНЫН,
А. С. ЗУРАБЯН, С. С. ГАМБАРОВ, А. С. АМБАРЦУМЯН

Определялись изменения в гормональной и иммунной системах организма в процессе адаптации к условиям среднегорья и высокогорья. Результаты исследования указывают на то, что эти изменения находятся в прямой зависимости от высоты наблюдения.

Ключевые слова: высокогорье, клеточный иммунитет, гормоны, эндокринная система.

Различным вопросам влияния неблагоприятных факторов высокогорья на организм человека посвящены многочисленные публикации отечественных и зарубежных исследователей [1—3, 6, 7, 14—16]. В наши дни в связи с широким освоением территории земного шара для работы в экстремальных климатических условиях изучение роли эндокринных факторов в процессах адаптации является особенно актуальным, тем более что приводимые в литературе данные по этому вопросу отрывочны и зачастую противоречивы [5, 8, 9, 17, 18]. Целью проведенных нами исследований было определение функциональной активности системы гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа-надпочечники у сотрудников Ереванского физического института на ст. Нор-Амберд и Арагац на высоте соответственно 2000 и 3250 м над ур. м., а также определение у них иммунологических и гематологических показателей.

Материал и методика. Обследован 31 сотрудник в возрасте от 25-ти до 60-ти лет. Все обследуемые имеют длительный производственный стаж от 5-ти до 20-ти лет и являются коренными жителями Аштаракского района (1600 м) и г. Еревана (960 м). К моменту обследования все сотрудники находились на станции от 7-ми до 10-ти дней. Исследования проводились в зимне-весеннее время. С помощью тест-наборов фирмы Corning (США) и Sea Sogin (Франция) радиоиммунологическим методом определяли уровень в крови трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4), тиреотропного гормона (ТТГ) и кортизола. Одновременно определяли содержание общего йода крови титрометрическим вариантом каталитического метода [13]. Кроветворение и клеточный иммунитет определяли общепринятыми методиками.

Результаты и обсуждение. Как показали исследования, на высоте 2000 м (ст. Нор-Амберд) у обследованных уровень T_3 был достоверно снижен, а кортизола—повышен. Изменения T_4 и ТТГ были незначительными. Содержание общего йода в крови в сравнении с аналогичными показателями, полученными при исследовании здоровых жителей г. Еревана и близлежащих районов (неопубликованные данные), было уменьшено.

На высоте 3250 м (ст. Арагац) у обследованных констатировалось значительное снижение T_3 и T_4 при повышении ТТГ (см. таблицу). Со-

Таблица

Показатели функционального состояния эндокринной системы
у сотрудников среднегорья и высокогорья

Места обследований	ТТГ, мкед/мл	T_3 , нг/мл	T_4 , нг/мл	Кортизол, нг/мл
г. Ереван	n—42 3,28±0,21	n—42 1,56±0,3	n—42 95,71±4,3	n—42 68,0±5,8
Ст. Нор-Амберд 2000 м	n—15 3,6 ±0,21*	n—15 1,2 ±0,1*	n—15 91±4,8*	n—15 85±4,9*
Ст. Арагац 3250 м	n—16 3,88±0,2*	n—16 0,94±0,21*	n—16 84,1 ±2,1*	n—16 65±2,3*

Примечание: *—достоверность различий $P > 0,05$

держание общего йода также уменьшилось. Как следует из данных таблицы, на высотах среднегорья и высокогорья констатируются статистически достоверные снижения уровней тиреоидных гормонов и повышение уровня тиреотропного гормона гипофиза. Факт понижения гормональной активности щитовидной железы отмечен Калюжным с соавторами [4]. Авторы подчеркивают, что уже с первых дней пребывания жителей равнины на высотах 2200 и 3200 м гормонообразовательная функция щитовидной железы понижается, нередко достигая уровня, отмеченного у проживающих постоянно на высоте 2020 м. Несмотря на то, что полученные нами данные указывали на относительную гипофункцию щитовидной железы, клинических проявлений тиреоидных дисфункций у обследованных не было выявлено, что, по-видимому, является следствием компенсаторно-приспособительной реакции организма на неблагоприятные условия высокогорья (недостаток кислорода, низкое атмосферное давление, низкий уровень некоторых микроэлементов и т. д.). Уровень кортизола на высоте 2000 м заметно повысился, тогда как в условиях высокогорья (3250 м) он на 7—10-й день находился в пределах нормы. Гематологические показатели были следующие: повышение количества гемоглобина, увеличение числа эритроцитов. В картине белой крови наблюдалось число лейкоцитов, близкое к норме на высоте 2000 м, и некоторое их снижение на 3250 м.

В клеточном иммунитете изменений соотношения Т и В лимфоцитов на высоте 2000 м не было, тогда как на высоте 3250 м констатировалось снижение содержания Т и В клеток соответственно до 40 и 10%

(по общепринятым нормам это соотношение равно 3:1, соответственно 60 и 20%). Известно, что в процессе адаптации организма животных и человека к меняющимся условиям внешней среды (гипоксия, ионизирующая радиация, холод и т. д.) происходит снижение иммунологической реактивности, причем последняя усугубляется при эндокринных нарушениях: диффузный токсический зоб, сахарный диабет, болезнь Аддисона [4, 10—12].

Полученные данные дают основание считать, что в связи с высотным фактором происходит снижение иммунных свойств организма, чем, вероятно, можно объяснить обострение некоторых хронических заболеваний у ряда сотрудников (гастроколит, полиартрит и т. д.) в первые дни пребывания на ст. Арагац.

Исследования показали, что на высоте 3250 м в процессе адаптации происходят изменения содержания гормона крови в системе гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа-надпочечники, что, очевидно, является компенсаторно-приспособительной реакцией на изменения факторов окружающей среды. В некоторых случаях проявляющиеся у обследуемых гиподинамия, атония, мышечная слабость, по-видимому, связаны с недостаточной компенсацией их эндокринной системы. Клеточный иммунитет на высоте 3250 м несколько снижен, что может проявиться в обострении некоторых хронических заболеваний, в то время как на высоте 2000 м существенных отклонений от нормы не выявлено.

Ереванский физический институт ГКИАЭ,
Филиал ВНЦХ АМН СССР

Поступило 14.VII.1982 г.

**ԲՍԻՉՐԼԵՈՆԱՅԻՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ԱՇԽԱՏՈՂՆԵՐԻ ԷՆԴՈԿՐԻՆ
ՀԱՄԱԿԱՐԳԻ ԵՎ ԲՁՋԱՅԻՆ ԻՄՈՒՆԻՏԵՏԵՏԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ
ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐ**

Գ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Տ. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Ա. Գ. ՍԱՐՈՒԽԱՆՅԱՆ, Ա. Ս. ԶՈՒՐԱԲՅԱՆ,
Ա. Ս. ՂԱՄԲԱՐՈՎ, Ա. Ս. ՀԱՄԲԱՐՁՈՒՄՅԱՆ

Միջինլեռնային և բարձրլեռնային պայմաններին համարվելու ընթացքում որոշվում էին օրգանիզմի էնդոկրին և իմուն համակարգերի փոփոխությունները: Նշված արդյունքները ցույց են տալիս, որ այդ փոփոխությունները ուղղակի կախման մեջ են բարձրությունից:

**SOME INDICES OF THE ENDOCRINE SYSTEM ACTIVITY
AND CELLULAR IMMUNITY IN THE ALPINE CONDITIONS**

G. A. KAZARIAN, T. G. STEPANIAN, A. C. SARUKHANIAN,
A. C. ZURABIAN, S. S. GAMBAROV, A. C. AMBARTSUMIAN

The changes in hormonal and immune systems of the organism in the process of adaptation to Alpine conditions are being determined. The results of our investigations show that these changes depend directly on the altitude.

1. Авцын А. П., Марачев А. Г., Матвеев Л. Н. Тез. докл. 2-й Всесоюзн. конф. по адаптации человека к различным географическим, климат. и производ. условиям. 1, 4, Новосибирск, 1977.
2. Захарян А. Б. Кровообращение, 7, 5, 64, 1974.
3. Казначеев В. П., Шорин Ю. П. Вестник АМН СССР, 7, 76, 1980.
4. Калужный И. Т., Нарбеков О. Н., Белякова Р. Б., Баймурагова Р. Х. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 110, 94, 1976.
5. Канторович И. Н. Уч. записки Кабардино-Балкарского гос. унт-а, 33, 113, 1966.
6. Макаров В. К. В кн.: Человек и среда. Л., 1975.
7. Миррахимов М. М., Раимжанов А. Р. В кн.: Человек и среда. Л., 1972.
8. Пилипенко Г. В. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 110, 100, 1976.
9. Пилипенко Г. В. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 105, 1976.
10. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 123, 54, 1977.
11. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 91, 1977.
12. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 111 1977.
13. Степанян М. С., Казарян Г. А. Мат-лы 2-й республ. конф. эндокринологов Армении. 48, 1968.
14. Ткачев А. В., Ардашев А. А., Аветисян Е. К. Тез. докл. 2-й Всесоюзн. конф. по адаптации человека к различным географ., климат. и производ. условиям. 1, 321. Новосибирск, 1977.
15. Шурыгин Ю. М., Алексеева М. М., Калпов В. А. и др. Адаптация человека в особых условиях обитания. Л., 1978.
16. Ярославский В. Е., Бычков В. Г. В кн.: Научн-тех. прогресс и приполярная медицина. 1, 282. Новосибирск, 1978.
17. Rastogi G. K. J. Clinic Endocrin, 44, 3, 447—452, 1977.
18. Slater J. D. Clin Sci, 37, 10. 327—341, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 576.893.192.6

КРИОПРЕЗЕРВАЦИЯ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ СТАДИИ PLASMODIUM BERGHEI

А. С. ОГАНЕСЯН

Криогенное консервирование эритроцитарных стадий малярийных паразитов обеспечивает хранение нужных штаммов, которые не теряют столь важных свойств, как инфективность.

Ключевые слова: криопрезервация, эритроцитарные стадии, криопротектант.

Одной из наиболее интересных и важных в практическом отношении проблем современной медицинской протозоологии является криогенное консервирование патогенных простейших, в частности, малярийных паразитов. Методы криопрезервации могут обеспечивать длительное хранение необходимых штаммов с целью создания банков референс-штаммов, их сравнительного изучения в разных лабораториях мира, дальнейшего культивирования и накопления иммуногенного материала для вакцинации, испытания химиотерапевтических препаратов [3, 4].

Перевиваемые штаммы в лабораторных условиях используются на протяжении длительного периода и поддерживаются непрерывным пассированием. Известно, что длительное пассирование на животных может привести к изменению вирулентности и инфективности данного штамма по сравнению с исходной.

Хотя известно об относительной устойчивости эритроцитарных стадий малярийных паразитов к разным режимам замораживания, оптимальные условия сохранения как жизнеспособности клеток-хозяев, так и инфективных свойств паразитов на разных стадиях развития все еще являются объектом изучения. Обычно для замораживания эритроцитарных стадий малярийных паразитов млекопитающих применяется двухступенчатый способ замораживания, включающий предварительное замораживание при -20° , -31° или -70° до погружения в жидкий азот при температуре -196° . Оптимальной температурой при замораживании считается температура жидкого азота (-196°) или его пары (-170°), где паразиты сохраняют жизнеспособность. Установлено также, что кровяные стадии малярийных паразитов лучше выдерживают замораживание при применении таких криозащитных веществ, как глицерин [2] и диметилсульфоксид [1].

Материал и методика Исследования проводились на штамме *P. berghei*, полученном из Гданьского института морской медицины, ПНР, в 1962 г. Штамм поддерживался непрерывными еженедельными пассажами на беспородных белых мышах 10—12 г. Мышей заражали инфицированной кровью с 10%-ной паразитемией внутривенно по 0,1 мл. На 5—6-е сут. после заражения у белых мышей развивалась паразитемия, достигающая 80—90%. Гибель мышей наступала на 7—8-е сут. Приготовленные мазки крови фиксировали в метиловом спирте 1—2 мин. Окрашивание мазков проводили по методу Романовского-Гимзы на фосфатном буфере в течение 15—20 мин в термостате при 37° .

В качестве замораживающей смеси нами выбрана смесь с низким содержанием глицерина: 28%—глицерина, 3%—сорбитола и 0,65%—NaCl [5].

Замораживание образцов осуществлялось после отделения инфицированных эритроцитов от плазмы путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 10 мин. Надосадочная жидкость сливалась, а осадок ресуспендировали в соответствующем количестве криозащитного вещества. Были использованы разные соотношения инфицированной крови мышей и криопротектанта (1:1, 1:2, 1:3). Инфицированный материал в объеме 0,5 мл (смесь инфицированной крови с криопротектантом) замораживали путем медленного погружения в пары жидкого азота.

Оттаивание проводилось быстро, переносом инфицированного материала из жидкого азота в теплую воду при температуре 37° на одну мин. Образцы с инфицированным материалом центрифугировали при 1500 об/мин в течение 7 мин. Надосадочную жидкость сливали, а осадок ресуспендировали в равном объеме 3,5% NaCl и центрифугировали при том же режиме.

Результаты и обсуждение. В данной работе приводится оценка материала, находящегося в условиях глубокого замораживания в течение 42—123 дней. Определение соотношения разных стадий развития паразитов в крови выявило, что при хранении зараженной *P. berghei* крови в парах жидкого азота при -170° с максимальной паразитемией до 90% последняя снижается почти вдвое. При этом отмечаются резкое уменьшение числа колец и лучшая выживаемость трофозоитов по сравнению с кольцами. Так, при хранении инфицированного материала

(исходная паразитемия 90, кольца—27, трофозоиты—38, шизонты—25%) в течение 42 дней общая паразитемия снижалась до 47% и обнаруживалось следующее соотношение стадий развития: кольца—2, трофозоиты—36, шизонты—9%. Увеличение срока хранения до 123-х дней не вызывало уменьшения количества инфицированных эритроцитов (общая паразитемия—42%) и содержащихся в них эритроцитов. Было отмечено снижение количества колец и шизонтов: кольца—1, трофозоиты—29, шизонты—12%. Контроль сохранности исходной инфективности штамма проверяли путем интраперитонеального заражения белых мышей, которым вводилось 0,1 мл. инфицированной крови. Мыши при первичном заражении погибали на 9—10-е сут, однако на втором пассаже первоначальные сроки гибели восстанавливались.

Таким образом, на основании количественной оценки не только общей паразитемии, но и соотношения различных стадий (кольца, трофозоиты, шизонты), а также контроля инфективности замороженного материала на белых мышах нами предлагается упрощенный, одноступенчатый способ замораживания эритроцитарных стадий возбудителя малярии призунов.

Институт медицинской паразитологии и тропической
медицины им. Е. И. Марциновского МЗ СССР, г. Москва

Поступило 2.IV 1982 г.

PLASMODIUM BERGHEI ԷՐԻԹՐՈՑԻՏԱՐ ՓՈՒԼԵՐԻ ԿՈՆՍԵՐՎԱՑՈՒՄԸ

Հ. Ս. ՕԳԱՆԵՍԻԱՆ

Կրիոգեն կոնսերվացման բազմաթիվ մեթոդները հնարավորություն են տալիս ապահովել անհրաժեշտ շտամների երկարատև պահպանումը իմունոգեն նյութի կուտակման նպատակով՝ հետագա վակցինացման և քիմիաթերապևտիկ պրեպարատների փորձարկման համար: Որպես օրենք մալարիայի պարազիտների էրիթրոցիտար փուլերի կոնսերվացումը (սառեցումը) կատարվում է երկաստիճանային եղանակով: Մենք առաջարկում ենք ավելի պարզ մեկաստիճանային եղանակ, որի դեպքում վարակված արյան կոնսերվացումը կատարվում է հեղուկ ազոտի գոլորշիների միջավայրում 42—123 օրվա ընթացքում, որի հետևանքով մալարիայի պարազիտները պահպանում են իրենց վարակիչ հատկությունները:

CRYOPRESERVATION OF ERYTHROCYTIC STAGES OF *PLASMODIUM BERGHEI*

H. S. OGANESIAN

There are many methods of cryopreservation that may secure prolonged storage. Usually, for freezing erythrocytic stages of malarial parasites two-stepping methods are used. We propose a one-stepping freezing method in the vapour of liquid nitrogen of the infected blood, that was in the liquid nitrogen for 42—123 days. During this period the infected blood doesn't lose its properties.

1. Collins W. E., Jeffery G. M. J. of Parasitology, 48, 521—525, 1973.
2. Jeffery G. M. J. of Parasitology, 48, 601—606, 1962.
3. Leef J., Strome C. P., Beaudoin R. L. Bullet. in of the World Health Organization. 57, 87—91, 1979.
4. Mitchell C. et al. Glinical and experimental immunology, 28, 276—279, 1977.
5. Rowe A. W., Eyster E., Kellner A. Cryobiology, 119—128, 1968.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 576.3+577.3+578.088

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ И МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАН

С. А. БАДЖИНЯН

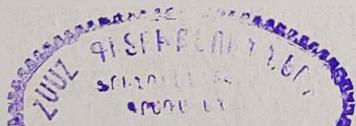
Рассматриваются литературные и собственные данные о применении флуоресцентных зондов в исследовании структурных изменений биологических и модельных мембран при воздействии на них различных биологически активных соединений. Приведены используемые при исследовании различных мембранных процессов флуоресцентные зонды, описаны их свойства и характеристика.

Ключевые слова: биологические мембраны, модельные мембраны, флуоресцентные зонды, липосомы.

Изучение молекулярной организации и функционирования мембран клеток и внутриклеточных структур в настоящее время является одним из ведущих направлений современной биологии.

Исследование физической структуры биологических мембран представляет некоторую сложность. Сложный состав, гетерогенность, высокое светорассеяние суспензии мембран в значительной мере затрудняют применение оптических методов и интерпретацию результатов. Кроме того, большинство физико-химических и оптических методов дает информацию о мембране в среднем, тогда как структурные изменения при ее функционировании происходят, возможно, только в отдельных активных участках. В последние годы после публикации работ Добрецова [3, 6, 13] для исследования мембран стали применяться флуоресцентные зонды (ФЗ). ФЗ связываются не со всей мембраной, а только с определенными для каждого ФЗ ее участками. Если в участке связывания происходит изменение заряда, микровязкости или информации, то зонд реагирует на них изменением флуоресценции. В сравнении с другими оптическими методами флуоресценция менее чувствительна к светорассеянию, а флуориметры более доступны для парамагнитных зондов, чем спектрометры ЭПР.

В настоящее время имеется много данных о применении десятков флуоресцентных зондов для изучения самых разнообразных модельных и изолированных мембран, а также интактных клеток.



Многие биологически важные соединения—белки, каротиноиды, хлорофилл, флавины и др.—обладают собственной флуоресценцией. Параметры флуоресценции весьма чувствительны к структуре окружения флуоресцирующего хромофора, поэтому собственная флуоресценция всех этих веществ широко используется для изучения их химических превращений, межмолекулярных взаимодействий, конформационных переходов биополимеров и т. д.

Вместе с тем в исследовании биомембран в последние годы нашли широкое применение флуоресцирующие красители, добавляемые к мембранным системам *извне*. С их помощью в настоящее время изучаются транспорт веществ (в том числе ионов) через мембраны и структурные перестройки, связанные с функционированием мембранных систем как в изолированном состоянии, так и непосредственно в клетках и тканях. При этом удается решить такие вопросы, которые другими существующими методами решить трудно или невозможно. Обычно считается, что зонды связываются с мембраной нековалентно в отличие от «флуоресцентных меток», связанных химической связью.

Таким образом, флуоресцентными зондами являются соединения, которые, во-первых, добавляются к мембранной системе *извне*, не образуя с мембраной ковалентной связи, во-вторых, флуоресцируют, причем из параметров флуоресценции можно извлечь определенную информацию о структуре и функции мембраны.

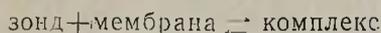
Применяемые зонды. В настоящее время известно около 40 различных соединений, применяющихся в качестве флуоресцентных зондов. Используемые ФЗ можно разделить на несколько групп: 1. ФЗ, несущие заряд положительный (аурамин, акридиновый оранжевый, этидий, пиронин) или отрицательный (АНС, ТНС и др.). 2. ФЗ, не имеющие заряда, но обладающие значительным дипольным моментом (ДМХ и МБА). 3. ФЗ, не имеющие заряда и значительного дипольного момента (неполярные ФЗ): перилен, метилантрацен, пирен, ретинол.

Все ФЗ имеют гидрофобный радикал, один—дипольный момент, а другие—заряженную группу. Исходя из этого, предполагается [25], что гидрофобные ФЗ внедряются в углеводородную область фосфолипидной мембраны, а амфифильные (т. е. имеющие гидрофобную и заряженную группы) локализуются на поверхности раздела мембрана-растворитель.

Определение параметров связи зонда с мембраной. При использовании ФЗ необходимо знать параметры их связи с мембраной. Так, если зонд имеет заряженную группу и поэтому может располагаться только на поверхности мембраны, то число мест его связывания характеризует доступную для зонда поверхность. Для гидрофобного зонда могут быть доступны также и внутренние слои мембраны. Данные такого типа использовались для построения структурных моделей мембран [3]. Энергия связи заряженного зонда с мембраной зависит от ее заряда, что можно использовать для оценки заряда. Различные ионы, влияя на заряд мембраны, тем самым изменяют константу связывания зонда, что применяется при исследовании взаимодействия ионов с мембраной. Наконец, изменение флуоресценции зонда может быть обусловлено как из-

менением структуры участка связывания, так и изменением сродства зонда к мембране [11]; для выбора одной из этих двух возможностей необходимо контролировать величины параметров связывания.

Взаимодействие зонда с мембраной можно представить как реакцию:



константа связи

$$K_c = \frac{r}{c(N-r)}, \quad (1)$$

где r и c —молярные концентрации связанного и свободного зонда соответственно, N —молярная концентрация участков связывания.

Физический смысл K_c очевиден: константа связывания тем больше, чем выше изменение свободной энергии при переходе моля зонда из воды в мембрану. Зная r и c при разных соотношениях концентраций зонд/мембрана, экспериментатор может графически определить K_c и N , строя график зависимости r/c от r (метод Скэтчарда [20]).

При исследовании кооперативных связываний уравнение Скэтчарда принимает следующий вид:

$$K_c = \frac{r}{c^m(N-r)}, \quad (2)$$

где m —коэффициент Хилла, характеризующий степень кооперации.

Поскольку зонд дает информацию о свойствах участка связи, необходимо знать место его расположения в мембране. Полагают, что зонд в принципе может быть связан с белками или липидной фазой; в последнем случае он расположен на поверхности, в области глицериновых остатков или гидрокарбоновой внутренней части фосфолипидных районов мембраны [9, 25]. Зонды, несущие заряд, скорее всего располагаются в полярном поверхностном слое; в пользу этого предположения свидетельствуют данные рентгеноструктурного анализа комплекса АНС с лецитином [16].

Положение максимума флуоресценции. При поглощении света и переходе в возбужденное состояние происходит увеличение дипольного момента молекулы [10, 11]. В случае АНС и ТНС дипольный момент возрастает на десятки дебаев [7, 10, 15]. В результате должна произойти взаимная переориентация возбужденного зонда и молекул полярного растворителя, на которую расходуется часть энергии поглощенного кванта. Это одна из причин того, почему излученный квант будет более длинноволновым, чем поглощенный (закон Стокса). Чем меньше поляризуются молекулы растворителя и жестче структура растворителя, тем меньше разница между энергией поглощенного и излученного квантов, т. е. меньше стоксовский сдвиг. Теоретически связь между стоксовским сдвигом и разницей дипольных моментов ($M_e - M_g$) зонда соответственно в основном (M_g) и возбужденном (M_e) состояниях задает уравнением [3]:

$$\frac{1}{\lambda_{\text{полг}}} - \frac{1}{\lambda_{\text{фл}}} \simeq \frac{2}{hc^2} \left(\frac{D-1}{2D+1} - \frac{n-1}{2n^2+1} \right) \frac{(M_e - M_g)^2}{a^3} + \text{const},$$

где a —радиус Онгагера зонда, h —постоянная Планка, c —скорость света, D —диэлектрическая проницаемость, n —показатель преломления растворителя [1, 5].

На рис. 1 приведены результаты исследования по изучению ганглиозидов на максимум флуоресценции АНС, связанной с эритроцитарными мембранами [4]. Показанный на графике коротковолновый сдвиг максимума флуоресценции свидетельствует о понижении полярности микроокружения зонда.

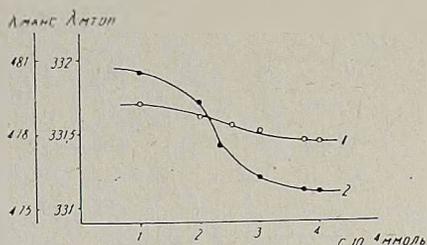


Рис. 1. Сдвиг максимума флуоресценции АНС⁺ (1) и триптофанов белка эритроцитарных мембран (2).

Вместе с тем полярность окружения—далеко не единственный фактор, влияющий на λ_m . К другим важным факторам относятся следующие. А. Специфические взаимодействия между зондом и молекулами растворителя, особенно при возбужденном состоянии зонда. Б. Образование димеров и эксимеров зонда. Гидрофобные зонды в воде или, наоборот, зонды с большим дипольным моментом в неполярной среде легко образуют ассоциаты, что сильно отражается на всех спектральных параметрах. В возбужденном состоянии дипольный момент возрастает, что еще более усиливает ассоциацию зондов в неполярной среде («эксимеры»). Это свойственно, в частности, пиренсульфонату в субмитохондриальных частицах [8, 25]. В. Конформация, которую принимает зонд в участке связывания. При достаточной жесткости участка гибкие зонды могут принять конформацию, определяемую его геометрией и жесткостью. Возможно, λ_m флуоресценции АНС зависит от данного фактора [13]. Г. Если, например, интенсивность флуоресценции двух различных форм зонда, допустим, связанного с биоструктурой и свободного, близки, то измеряемая λ_m является просто промежуточной для двух крайних форм. Тогда переход зонда из данного состояния в другое будет сопровождаться кажущимся сдвигом λ_m , который в ряде случаев обычно интерпретируется как «изменение полярности участка связи» [17]. Этот случай можно отличить от предыдущих, измеряя ширину спектра флуоресценции: сосуществование нескольких форм зонда с разными λ_m должно вызвать уширение максимума.

Таким образом, положение максимума флуоресценции зонда несет большую и разнообразную информацию о ближайшем окружении, а не только характеризует «полярность». Эта информация может быть расшифрована как путем всестороннего изучения поведения данного зонда, так и использования различных зондов.

Микровязкость в мембранах. Понятие «вязкость» не вполне точно, когда речь идет о подвижности флуоресцентного зонда в асимметричной, сложной по химической организации системе, какой являются фосфоли-

гидные, а тем более биологические мембраны. Скорость вращения или поступательной диффузии зонда определяется микроструктурой его непосредственного окружения в мембране, что дает основание пользоваться термином «микровязкость».

Одним из наиболее оптимальных методов оценки «микровязкости» является метод с применением ФЗ пиреном. Пирен позволяет судить о подвижности концов жирнокислотных цепей, расположенных в глубине мембраны [3, 23]. Как видно из рис. 2, спектр флуоресценции пирена состоит из двух компонентов: коротковолновый соответствует флуоресценции мономеров пирена, длинноволновый— флуоресценции эксимеров [3]. Соотношение интенсивностей I_b/I_m зависит от скорости латеральной диффузии пирена в глубине мембраны [23]. Однако величина I_b/I_m не

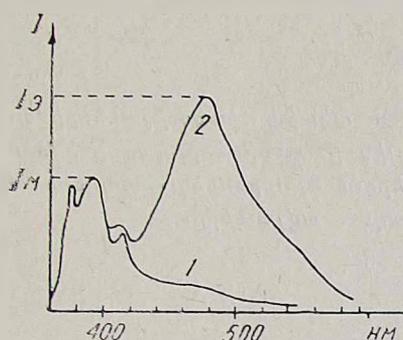


Рис. 2.

Изменение формы спектра флуоресценции пирена в липосомальных мембранах (0,3 мг/мл) в зависимости от отношения пирен/липид. I_b и I_m — интенсивность флуоресценции эксимеров и мономеров пирена.

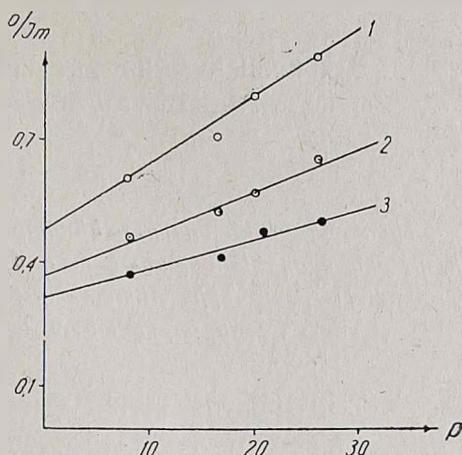


Рис. 3.

Влияние простагландинов E_1 и F_2 на диффузию пирена в липосомальных мембранах. 1—контроль, 2—ПГЕ₁ концентрации 10^{-8} М; 3—ПГF_{2a} концентрации 10^{-8} М.

может служить параметром, характеризующим диффузию пирена в мембране, если наблюдается изменение квантового выхода флуоресценции эксимеров. Чтобы обойти эту трудность, можно применять иной способ расчетов степени эксимерации пирена. Согласно Вандеркои и Галлис, кинетика эксимерации пирена должна подчиняться уравнению Штерна-Фольмера [23]:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{1}{\tau_0} + kP, \quad (4)$$

где τ_0 и τ — время жизни возбужденного состояния мономеров пирена в отсутствие и при наличии эксимеризации соответственно; P — концентрация пирена в мембране; K — константа скорости эксимеризации. Поскольку эксимеризация соответствует динамическому тушению [23], то интенсивность флуоресценции мономеров пирена $I_m = \tau PC$, где s — константа, не зависит от эксимеризации. Тогда

$$\frac{PC}{I_m} = \frac{1}{\tau_0} + kP. \quad (5)$$

Следовательно, график зависимости P/I_m от P представляет собой прямую линию, наклон которой пропорционален константе диффузии. Этот наклон уже не зависит от τ_0 или от времени жизни эксимеров, т. е. от наличия тушителей в мембране. Данные по эксимеризации пирена в липосомах, модифицированных простагландином E_1 , рассчитанные этим методом, показывают (рис. 3), что скорость эксимеризации пирена действительно снижается на $15 \pm 5\%$ в результате влияния простагландина [2].

Сектор радиобиологии
Минздрава Армянской ССР.

Поступило 29.V 1981 г.

ՖԼՈՒՐԵՍԵՆՏՆԱՅԻՆ ԶՈՆԴՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԲԶԶԱՅԻՆ ԵՎ ՄՈՂԵԼԱՅԻՆ ԹԱՂԱՆԹՆԵՐԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՈՒՄ

Ս. Ա. ԲԱԶԺԻՅԱՆ

Դիտարկվում են տարբեր կենսաբանական ակտիվ միացությունների ազդեցության տակ կենսաբանական և մոդելային թաղանթների կառուցվածքային փոփոխությունների հետազոտություններում ֆլուորեսցենտ զոնդերի օգտագործման վերաբերյալ գրական և սեփական տվյալները:

THE USE OF FLUORESCENT PROBES IN THE CELL AND MODEL MEMBRANE STUDY

S. A. BADJINIAN

Some data on the use of fluorescent probes in the investigation of structural changes of biological and model membranes under the influence of various biologically active compounds are studied.

The properties and characteristics of the fluorescent probes that are used to examine different membrane processes are described.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бахшиев Н. Г. Кн.: Спектроскопия межмолекулярных взаимодействий. Л., 1972.
2. Бороян Р. Г., Баджинян С. А., Акопов С. Э. Тез. докл. Всесоюзн. симп. «Простагландины и кровообращение», 7, 1980.
3. Владимиров Ю. А., Добрецов Г. Е. Кн.: Флуоресцентные зонды в исследов. биол. мембран. М., 1980.
4. Мхелян Э. Е., Соцкий О. П., Баджинян С. А., Акопов С. Э. Биофизика. 25, 4, 638, 1980.
5. Рейхардт Х. Кн. Растворители в органической химии. Л., 1973.
6. Azzi A. Meth. Enzympl., 32, 234, 1974.
7. Brand L., Gohike J. Biochem. et bioph. Acta, 12, 261, 1962.
8. Brocklehurst J., Freedman R., Hancock D., Radda G. Bloch. J., 116, 721, 1970.
9. Freedman R., Radda G. Ibid. 3, 150, 1969.
10. Edelmann G., Mcllure W. Accounts. Chem. Res., 1, 65, 1971.

11. *Hawkins H., Freedman R.* JEBS Lett., 31, 301, 1974.
12. *Galla H., Sackmann E.* Bloch. Bioph. Acta., 339, 103, 1974.
13. *Gameran A., Jensen L.* Amer. Chem. Soc., 92, 4200, 1970.
14. *Chen R.* Arch. Bloch. Bioph., 172, 32, 1976.
15. *McClure W., Edelman G.* Ibid. 5, 1908, 1966.
16. *Lesslauer W., Cain J., Blasie J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69, 1499, 1972.
17. *Phillips S., Cramer W.* Biochemistry, 12, 1170, 1973.
18. *Sellskar C., Brand L.* Science, 171, 799, 1971.
19. *Sellskar C., Brand L. J.* Amer. Chem. Soc., 93, 5414, 1971.
20. *Scatchard G.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 660, 1949.
21. *Sterno, Volmer M.* Phys. Z., 20, 183, 1919.
22. *Trauble H., Overath R.* Ibid., 307, 491, 1973.
23. *Vanderkool J., Callis J.* Biochemistry (Wash.), 13, 4000, 1974.
24. *Vaughan W., Weber G.* Biochemistry, 9, 464, 1970.
25. *Waggoner A., Stryer L.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 579, 1970.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 612.117.7: 616.155.392

ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ СВОЙСТВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИИ

С. А. ГОНЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН

Исследовано изменение электрокинетического потенциала и кислотной резистентности эритроцитов мышей в процессе развития асцитной карциномы Эрлиха при действии сарколизина и некоторых ненасыщенных лактонов.

Установлена связь между эффективностью ингибирующего действия этих веществ и изменением исследованных параметров.

Ключевые слова: эритроциты, электрокинетический потенциал, опухолеобразование.

При злокачественных новообразованиях кровь больного претерпевает ряд физико-химических изменений. Поэтому для раннего выявления опухолеобразования исследования биофизических параметров крови могут иметь диагностическое значение. Изучение этих показателей в динамике опухолеобразования даст возможность также следить за эффективностью действия лечебных средств.

Биофизическим методом исследования физико-химических изменений, происходящих в крови организма-опухоленосителя, могут служить методы микроэлектрофореза и кислотной резистентности эритроцитов. Метод кислотных эритрограмм, предложенный Пительзоном и Терсковым, был использован многими авторами для исследования физико-химического состояния эритроцитов при различных заболеваниях [1, 2]. В работах Харамоненко, Ракитянской, Зериал, Вилкинс [3, 4] было показано, что величина электрокинетического (ξ дзетта) потенциала эритроцитов и лейкоцитов, измеренная методом клеточно-электрофореза, меняется в зависимости от различных патологических состоя-

ний; обнаружена также значительно более высокая электрофоретическая подвижность опухолевых клеток по сравнению с их гомологичными прототипами [5].

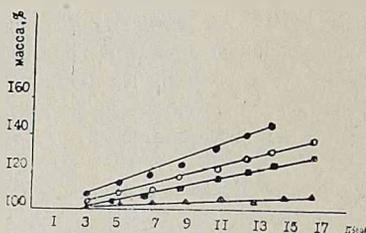
В настоящей работе приводятся результаты исследования кислотной резистентности и величины электрокинетического потенциала эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха в процессе опухолеобразования, а также при действии на опухоль сарколизина и предполагаемых канцеролитических соединений из ряда ненасыщенных лактонов (АК-13 и Г-73), синтезированных на кафедре органической химии Ереванского госуниверситета.

Материал и методика. Исследования проводились на эритроцитах белых беспородных мышей. Асцитные клетки, предварительно инкубированные с сарколизином, веществами АК-13 и Г-73 в термостате при температуре 37° в течение 30 мин, вводились мышам по 0,2 мл в концентрации 1,5 мг/кг. Контролем служили опухолевые клетки, инкубированные в тех же условиях в физиологическом растворе. Определение кинетики гемолиза проводилось на фотоэлектроколориметре типа А1-ЕЦ2-С. В качестве гемолитика использовался 0,004 М раствор HCl. Электрофоретическая подвижность эритроцитов определялась в забуференном растворе (рН 7,35) в плоскопараллельной камере. Величина ξ -потенциала рассчитывалась по формуле Смолуховского. Результаты опытов статистически обработаны и представлены в виде графиков.

Результаты и обсуждение. В опытах показателем развития опухоли служила масса мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха.

Из рис. 1, где на оси абсцисс обозначены дни заболевания, а на оси ординат—масса подопытных мышей, выраженная в процентах, явствует,

Рис. 1. Изменение массы мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха (●), зараженных асцитными клетками, инкубированными с сарколизином (△), веществами АК-13 (○) и Г-73 (□).



что в случае развития болезни масса мышей к концу заболевания по сравнению с массой нормальных мышей возрастает на 50%. Масса мышей, которым были введены опухолевые клетки, предварительно обработанные сарколизином, увеличивается лишь на 10%. В случае заражения мышей опухолевыми клетками, инкубированными с веществами АК-13 и Г-73, происходит ингибирование опухоли на 20—30%, и продолжительность жизни животных увеличивается.

Методом кислотной резистентности выявлено, что при развитии асцитной карциномы Эрлиха нормальное распределение эритроцитов по стойкости нарушается. На 7-й день после прививки исчезают стойкие эритроциты, гемолизирующие на 5—8-й мин, и резко возрастает количество нестойких. В последующие дни происходит восстановление нормального распределения. Под действием веществ АК-13 и Г-73, ингибирующих рост опухоли, изменения резистентности эритроцитов носят иной характер. На 7-й день, в отличие от первого случая, заметных

изменений не происходит, они наблюдаются на 9—11-й день, а величина пика значительно ниже. При этом, чем больше ингибирующий эффект вещества, тем слабее выражены изменения резистентности эритроцитов. При ингибировании опухоли сарколизином в распределении эритроцитов по стойкости изменений не отмечается.

Измерения электрокинетического потенциала эритроцитов, проведенные в тех же вариантах опытов (рис. 2), показали уменьшение вели-

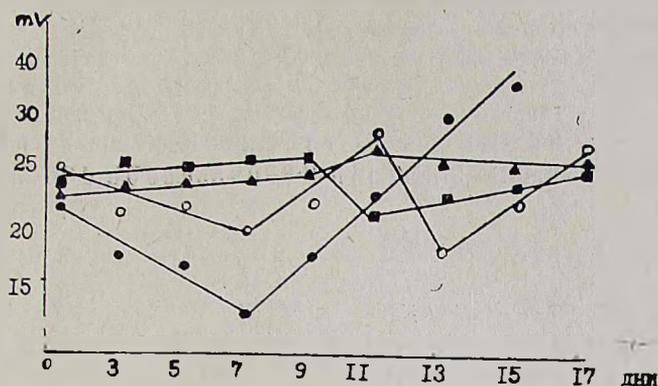


Рис. 2. Изменение величины ξ -потенциала эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха (●), зараженных асцитными клетками, инкубированными с сарколизином (Δ), веществами АК-13 (○) и Г-73 (□).

чины ξ -потенциала в период развития опухоли. Наибольшее уменьшение наступает на 7-й день развития опухоли. При действии сарколизина существенных изменений в величине потенциала не наблюдается. С применением веществ АК-13 и Г-73 развитие опухоли ингибировалось, ξ -потенциал претерпевал менее выраженные изменения по сравнению с контролем.

Нами измерялся также ξ -потенциал опухолевых клеток после инкубирования их с использованными нами веществами. Оказалось, что абсолютная величина потенциала клеток, инкубированных с сарколизином, уменьшается на 70%, в случае действия Г-73—на 48%, а при АК-13—на 30%. Таким образом, величина поверхностного заряда опухолевых клеток меняется в зависимости от эффективности действия ингибирующих опухоль веществ.

Результаты экспериментов свидетельствуют о корреляции изменений исследованных нами параметров в период развития опухоли.

Гительзон и Терсков связывают кислотную резистентность эритроцитов с их физиологическим возрастом. Молодые эритроциты обладают более высокой резистентностью, которая по мере старения (в течение 3-х месяцев) уменьшается. По-видимому, в наших опытах стойкость эритроцитов меняется не только в связи с возрастом, поскольку все эти изменения происходят в сравнительно короткий срок (14—17 дней). Естественно допустить, что с мембранами эритроцитов происходят изменения, приводящие к уменьшению их резистентности, что, возможно, обусловлено разрушением определенных структур.

Применение метода измерения ξ -потенциала позволяет несколько

более уверенно говорить об этом, поскольку с уменьшением резистентности уменьшается заряд поверхности эритроцитов.

Хотя применение данных методов не дает возможности однозначно определить изменения, происходящие с мембранами эритроцитов, все же надо отметить, что изменения выбранных нами параметров позволяют использовать их как дополнительный критерий для комплексной диагностики опухолевых заболеваний, а также в качестве показателей состояния больного в ходе лечения.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 12.IV 1982 г.

ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԹԱՎԱՆԹՆԵՐԻ ՄԱԿԵՐԵՎՈՒՅԹԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՌՈՒՑՔԱԳՈՅԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ս. Ա. ԳՈՆՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒԼՅԱՆ

Ուսումնասիրված է մկների արյան էրիթրոցիտների թթվային կայունության և էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի փոփոխությունը էրլիխի ասցիտային կարցինոմայի զարգացման ընթացքում մի քանի կանցերոլիտիկ նյութերի ազդեցության տակ (սարկոլիզին, А—13, Г—73):

Ուսումնասիրության արդյունքներից պարզվել է, որ էրիթրոցիտների թթվային կայունության և E—պոտենցիալի փոփոխությունները արտացոլում են ուռուցքազոյացման պրոցեսի ինտենսիվությունը:

THE STUDY OF SURFACE PROPERTIES OF ERYTHROCYTE MEMBRANES DURING THE TUMOUR GROWTH

S. A. GONIAN, E. A. KARAGULIAN

Investigation of mice erythrocyte acid resistance and electrokinetic potential during the Erlich acid carcinoma growth has been carried out.

A correlation between these parameters and the tumour growth intensity is established.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гительзон И. И., Терсков И. А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. 144, Красноярск, 1958.
2. Гительзон И. И., Терсков И. А. Физиологическое значение кислотной стойкости эритроцитов. 6. 120, 1959
3. Харамоненко С. С., Ракитянская А. А. Электрофорез клеток в норме и патологии. Минск, 1974.
4. Zierl A., Wilkins D. J. Electrophoretic behaviour of some humor blood cell. *Experientia*, 28, 12, 1435, 1972.
5. Ambrose E. J. The differences between electrical charge normal and homologous cancer cells. *Nature*, 177, 4508, 576, 1956.

УДК 577.352

О РОЛИ ГРАНИЦЫ БИСЛОЙ-МЕНИСК ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПРОБОЕ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

В. Б. АРАКЕЛЯН, Г. Р. ХАЧАТРЯН, Н. С. МАТИНЯН, Ц. М. АВАКЯН

Электрический пробой бислойных липидных мембран, имеющих достаточно малую площадь S ($S < 0,24$ мм²), происходит в результате развития дефектов на границе бислой-мениск. Показано также, что здесь плотность дефектов на два порядка выше плотности дефектов в области бислой.

Ключевые слова: мембрана, бислой-мениск, электрический пробой.

Исследованию устойчивости бислойных липидных мембран (БЛМ) в электрическом поле посвящено большое число работ [1, 2, 7, 8]. Выяснено, что пробой БЛМ в электрическом поле происходит в результате рождения и развития локальных дефектов типа сквозных гидрофильных пор [1]. Не исключена возможность, что эти дефекты находятся на границе бислой-мениск. Из физических соображений ясно, что с уменьшением площади мембраны должна повышаться роль дефектов на границе бислой-мениск при электрическом пробое БЛМ, так как площадь мембраны S уменьшается, как g^2 (где g —радиус плоской бислойной мембраны), а периметр L , как g . Данная работа посвящена изучению влияния границы бислой-мениск на устойчивость мембран в электрическом поле.

Материал и методика. Мембраны получали обычным способом из общих липидов мозга быка, растворенных в декане (~ 4 мг на 0,1 мл растворителя). Эксперименты проводились при температуре 25° в 0,1 М NaCl.

Результаты и обсуждение. Для выяснения роли границы бислой-мениск при электрическом пробое БЛМ исследовали зависимость среднего времени жизни мембран \bar{t} от ее площади S в широком интервале изменения S . На рис. 1 представлена зависимость $\lg \bar{t}$ от $\lg S$ при разности потенциалов $U = 300$ мВ (C —емкость мембраны). По оси абсциссы откладываем логарифм емкости мембраны, поскольку именно емкость более точно характеризует площадь черной части мембраны. Из рис. 1 видно, что зависимость $\lg \bar{t}$ от $\lg S$ имеет линейный характер, причем, при $C \simeq 1$ на графике имеется излом кривой. Тангенс угла наклона на участках 1 и 2 составляет 0,5 и 1 соответственно.

На рис. 2 приведены результаты измерений зависимости $\lg \bar{t}$ от $\lg C$ при потенциалах на мембране, равных 400, 500, 600 мВ (область больших площадей, исследованная нами ранее [4], обозначена на рис. 2 пунктирной линией). Из рис. 2 видно, что кривые a , b и v в точке $C \simeq 1$ имеют излом. Причем угол наклона прямой a тот же, что и угол наклона прямой 1 на рис. 1. Прямые b и v параллельны и тангенс угла наклона к оси $\lg C$ составляет 0,25. Заметим, что имеется слабая зависимость точ-

ки излома от потенциала. Эта зависимость может быть связана с релаксацией краевого угла [5].

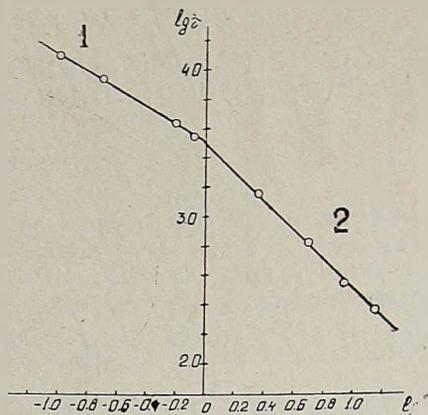


Рис. 1. Зависимость $\lg \bar{\tau}$ от $\lg C$ при потенциале $U=300$ мВ. Емкость нормирована на величину $0,1$ нФ.

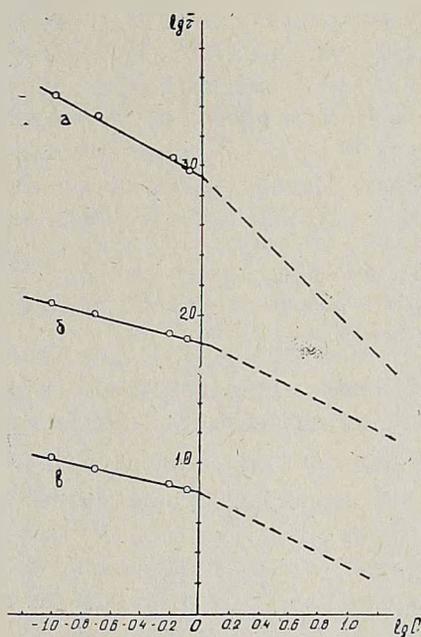


Рис. 2. Зависимость $\lg \bar{\tau}$ от $\lg C$. Емкость нормирована на величину $0,1$ нФ.
а— $U=400$ мВ; б— $U=500$ мВ, в— $U=600$ мВ.

На рис. 3 и 4 представлены функции распределения времен жизни F БЛМ, имеющих площадь $S=0,07$ мм² и $S=1,32$ мм² соответственно. На рис. 1 эти точки находятся на прямых 1 и 2, т. е. до и после точки излома. Применив критерий Колмогорова [6], можно показать, что функции распределения на рис. 3 и 4 хорошо описываются экспонентами.

Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 500 мВ представлена на рис. 5. Из рисунка видно, что распределение времен жизни мембран имеет существенно неэкспоненциальный вид. Для выяснения функциональной зависимости $F(\tau)$ на малых временах жизни

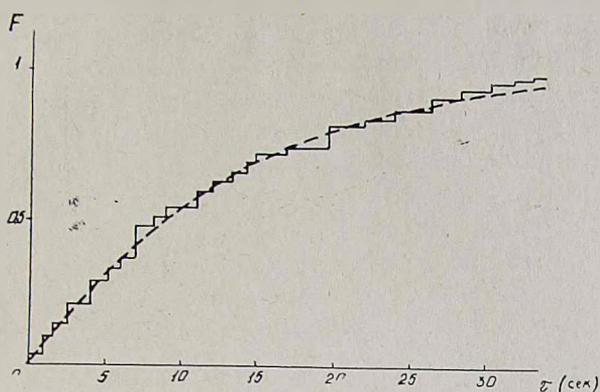


Рис. 3. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 300 мВ, построенная по 196 мембранам. Площадь БЛМ $S=0,07 \text{ мм}^2$. Пунктирная линия изображает экспоненту.

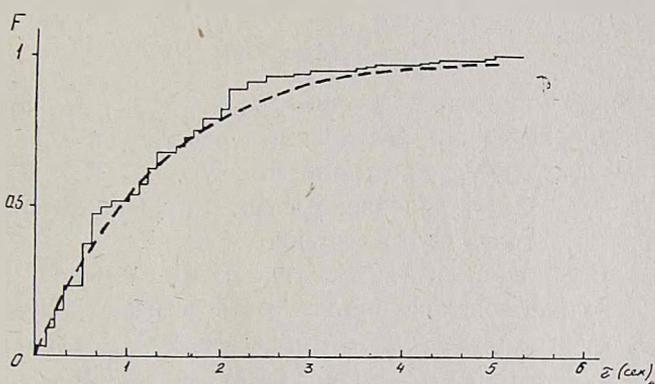


Рис. 4. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 300 мВ, построенная по 192 мембранам. Площадь БЛМ $S=1,32 \text{ мм}^2$. Пунктирная линия изображает экспоненту.

БЛМ ($\tau \rightarrow 0$) на рис. 6 построена зависимость $\ln F$ от $\ln \tau$. Тангенс угла наклона равен двум. Следовательно, в области малых времен жизни БЛМ зависимость $F(\tau)$ имеет квадратичный вид, т. е. $F \sim \tau^2$.

В работе Аракеяна [3] было показано, что измерение зависимости среднего времени жизни БЛМ от площади дает ценную информацию о механизме пробоя мембраны. Используя результат этой работы

$$\lg \bar{\tau} = \lg M - \frac{1}{m+1} \lg S, \quad (1)$$

где M —константа, не зависящая от S , а m —число барьеров, дополнительных к лимитирующему диффузионному, можно утверждать, что

пробой мембраны, имеющей достаточно большую площадь (рис. 1, прямая 2), связан с преодолением дефектом одного барьера, поскольку для прямой 2 на рис. 1 имеем $m=0$. На правильность этого вывода указывает также экспоненциальность функции распределения времен жизни БЛМ (рис. 4).

Уменьшение угла наклона в области малых площадей (рис. 1, прямая 1) можно было бы трактовать как увеличение числа барьеров согласно (1), т. е. как появление дополнительного барьера к диффузионному. Однако функция распределения времен жизни для БЛМ с площадью $0,07 \text{ мм}^2$ имеет экспоненциальный вид (рис. 3), что означает наличие только одного барьера в этой области (т. е. $m=0$). Следовательно, излом на кривой не связан с появлением дополнительного барьера. Уменьшение угла наклона в области малых площадей можно объяснить усилением вклада дефектов на границе бислой—мениск. Под «границей бислой—мениск» мы подразумеваем всю переходную область от бислоя к мениску, ширина которой не превышает 1 мкм [5]. Зависимость среднего времени жизни БЛМ от числа дефектов n , согласно Абидору и др. [1], имеет вид:

$$\bar{\tau} = \frac{(kT)^{3/2}}{4\pi Dn\gamma (\sigma + 0,5 CU^2)^{1/2}} \exp \left[\frac{\pi\gamma^2}{kT (\sigma + 0,5 CU^2)} \right] \equiv \frac{B}{n},$$

$$C = C_0 (\epsilon_p/\epsilon_m - 1),$$
(2)

где k —константа Больцмана, T —температура, γ и σ —коэффициенты линейного и поверхностного натяжений соответственно, D —коэффициент диффузии дефектов в пространстве радиусов, C_0 —емкость бездефектной мембраны, ϵ_m , ϵ_p —диэлектрические проницаемости мембраны и окружающего раствора соответственно.

Представим n в виде $n = n_s + n_L$, где n_s и n_L —число дефектов на площади и на границе бислой—мениск соответственно. Обозначим концентрацию дефектов на площади бислоя через C_s , а на границе бислой—мениск C_L . Полное число дефектов на мембране $n = C_s \cdot S + 2(\pi S)^{1/2} \cdot \delta \cdot C_L$, где δ —ширина области перехода от бислоя к мениску (здесь мы пренебрегаем членом $\sim \delta^2$, поскольку практически всегда $\sqrt{S} \gg \delta$). Учитывая вышесказанное, перепишем (2) в виде

$$\bar{\tau} = \frac{B'}{S}, \quad n_s > n_L, \quad (3a)$$

$$\bar{\tau} = \frac{B''}{\sqrt{S}}, \quad n_s < n_L, \quad (3b)$$

где $B' = \frac{B}{C_s}$, $B'' = \frac{B}{2\sqrt{\pi\delta}C_L}$. Из (3б) следует, что если число дефектов на границе бислой—мениск n_L больше, чем n_s , то тангенс угла наклона на рис. 1 должен уменьшиться в два раза. Таким образом, участок кривой, расположенный слева от излома, соответствует ситуации, когда пробой в основном обусловлен развитием дефектов на границе бислой—мениск. Координата точки излома на рис. 1 позволяет оценить отноше-

ние $\frac{C_S}{C_L}$. Поскольку в точке излома $r=0,275$ мм, а $\delta \sim 1$ мкм [5], то

из соотношения $C_S \pi r^2 = 2 \pi r \delta C_L$ легко определить, что $\frac{C_S}{C_L} \approx 7 \cdot 10^{-3}$.

Таким образом, плотность дефектов на границе бислой—мениск, по крайней мере, на два порядка больше, чем плотность дефектов в области бислоя.

Так как прямая *a* на рис. 2 ($U=400$ мВ) параллельна прямой 1 на рис. 1, то следует, что изменение угла наклона в этом случае также обусловлено развитием дефектов на границе бислой—мениск.

Ранее было показано [4], что пробой мембран, имеющих достаточно большую площадь при $U=500, 600$ мВ, является двухстадийным процессом. Так как тангенс угла наклона на рис. 2 (прямые *b* и *в*) равен 0,25, то из (1) следовало бы, что в области малых площадей пробой является четырехстадийным процессом (т. е. $m=3$). Однако исследование функции распределения времен жизни БЛМ с площадью $0,07$ мм² показало, что при $\tau \rightarrow 0$ $F \sim \tau^2$ (рис. 5 и рис. 6). В работе [3] было по-

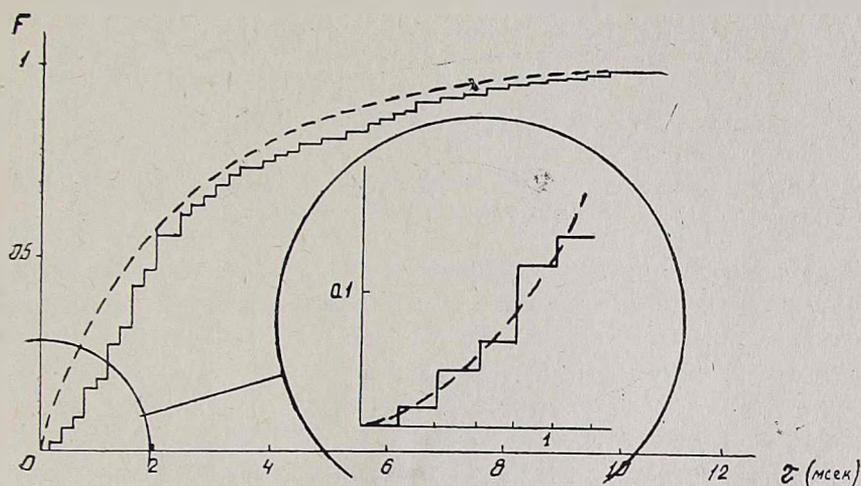


Рис. 5. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 500 мВ, построенная по 200 мембранам. Площадь БЛМ $S=0,07$ мм². Пунктирная линия изображает экспоненту. Начальный участок распределения описывается параболой.

казано, что измерив зависимость $F(\tau)$ при $\tau \rightarrow 0$, можно определить число барьеров, преодолеваемых дефектом при электрическом пробое БЛМ. Зависимость $F(\tau)$ при $\tau \rightarrow 0$ имеет вид $F \sim \tau^{m+1}$, где m —число барьеров, дополнительных к диффузионному. Так как мы получили $F \sim \tau^2$, то следовательно, пробой является двухстадийным процессом. Заметим, что в работе [4] было показано, что для БЛМ с площадью $S=1,32$ мм² при $U=500$ мВ $F \sim \tau^2$, т. е. число барьеров до и после излома не изменяется и равно двум. Следовательно, уменьшение тангенса угла наклона и на этот раз обусловлено не увеличением числа барьеров,

а переходом к разрушению БЛМ по границе бислой—мениск, что легко показать также аналитическим путем. Из (3б) и (1) имеем:

$$\lg \bar{\tau} \sim -\frac{1}{2} \frac{1}{m+1} \lg S. \quad (4)$$

Подставив $m=1$ в (4), получим экспериментально полученное значение тангенса угла наклона—0,25.

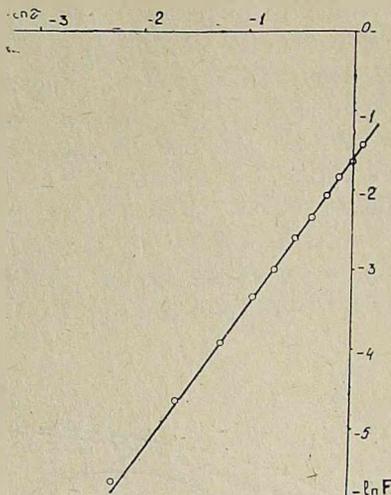


Рис. 6. Зависимость $\ln F$ от $\ln \tau$ (для малых времен) при потенциале 500 мВ. Площадь БЛМ $S=0,07$ мм².

Таким образом, с уменьшением площади БЛМ решающая роль при электрическом пробое мембран принадлежит дефектам на границе бислой—мениск. Пробой мембран с площадью $S < 0,24$ мм² является результатом развития дефектов на границе бислой—мениск. Оценка показывает, что плотность этих дефектов на два порядка больше плотности дефектов в черной части БЛМ.

Авторы считают своим приятным долгом выразить искреннюю благодарность Ю. А. Чизмаджеву, Л. В. Черноморднику, И. Г. Абидору и В. Ф. Пастушенко за ценные замечания.

Ереванский физический институт ГКИАЭ

Поступило 14.VII 1982 г.

ԵՐԿՇԵՐՏ—ՄԱԿԱԿՈՐՈՒԹՅՈՒՆ ՍԱՀՄԱՆԱԳԾԻ ԴԵՐԸ ԵՐԿՇԵՐՏ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ
ԹԱԳԱՆԹՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱԿԱՆ ԾԱԿՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Վ. Բ. ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ, Հ. Ռ. ԽԱԶՍՐԱՅԱՆ, Ն. Ս. ՄԱՏԻՆՅԱՆ, Ծ. Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ

Սույն աշխատանքում ցույց է տրված, որ բավականաչափ փոքր մակերես (S < 0,24 մմ²) ունեցող երկշերտ լիպիդային թաղանթների էլեկտրական ծակումը տեղի է ունենում բիմոլեկուլյար շերտից շերտի մակադորությանը անցնող սահմանագծի վրա գտնվող դեֆեկտների զարգացման հետևանքով: Ցույց է տրված նաև, որ այդպիսի դեֆեկտների խտությունը մոտ երկու կարգով գերազանցում է բիմոլեկուլյար շերտի մակերևույթին գտնվող դեֆեկտների խտությանը:

ON THE ROLE OF THE BILAYER-MENISCUS BOARD IN ELECTRIC BREAKDOWN OF BILAYER LIPID MEMBRANES (BLM)

V. B. AKAKELYAN, H. R. KHACHATRIAN, N. S. MATINYAN, Ts. M. AVAKIAN

This report is based on the experimental results showing that the electric breakdown of BLM of a sufficiently small area S ($S < 0,24 \text{ mm}^2$) is going on as a results of birth and development of board-allocated defects. It is shown, also, that the density of these defects is two orders more than that of those placed on the bilayer surface.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абидор И. Г., Аракелян В. Б., Пастушенко В. Ф., Тарасевич М. Р., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А. Докл. АН СССР, 240, 3, 733—736, 1978.
2. Абидор И. Г., Аракелян В. Б., Пастушенко В. Ф., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А. Докл. АН СССР, 245, 5, 1239—1242, 1979.
3. Аракелян В. Б. Электрохимия, 16, 2, 218—220, 1980.
4. Аракелян В. Б., Хачатрян Г. Р., Матинян Н. С. *Studia biophysica* (в печати).
5. Исков В. Г., Берестовский Г. Н., Динамическая структура липидного бислоя. М., 1981.
6. Левин Б. Р. Теория надежности радиотехнических систем. М., 1981.
7. Пучкова Т. В., Путвинский А. В., Владимиров Ю. А. Докл. АН СССР, 249, 5, 1241—1244, 1979.
8. Abidor J. G., Arakeltjan V. B., Pastushenko V. F., Tarasevich M. R., Chernomordik L. V., Chizmadzhev Yu. A. *Bioelectrochem. Bioenergetics*, 6, 37—52, 1979.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 581.175

ИОННАЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ И ЗАВИСИМОСТЬ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ОТ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ

Г. Н. ХАЧАТРЯН, Г. Т. КАЗАРЯН

Исследовали влияние ионного состава (K^+ , Na^+ , H^+ , Li^+ , Cs^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) среды и ингибиторов энергетического обмена (2,4-динитрофенол), белкового синтеза (актиномицин Д), протонного насоса (дициклогексилкарбодимид) на мембранный потенциал (МП) колеоптилей пшеницы. Высокие концентрации указанных соединений вызывали резкую деполаризацию плазматических мембран. Высказывается предположение о неспецифическом характере взаимодействия различного класса соединений с мембранными структурами клеток высших растений.

Ключевые слова: мембранный потенциал, плазматические мембраны.

Изучение действия различных соединений на мембраны интересно как с точки зрения установления свойств самих мембран, так и для понимания механизма их действия. Изменения МП клетки, подвержен-

ной различным воздействиям, могут в большей или меньшей степени предсказать поведение мембран при данном воздействии.

В последние годы сильно возрос интерес к этим проблемам, в частности, к проблеме воздействия на клетку различных ингибиторов на мембранном уровне [3, 9], а также различных ионов, в присутствии которых во внешней среде меняются свойства поверхностной клеточной мембраны [2, 9].

Целью настоящих исследований было выявление характера взаимодействия специфических и метаболических ингибиторов с плазматическими мембранами клеток колеоптилей пшеницы.

Материал и методика. Объектом исследования служили колеоптили 3-дневных проростков пшеницы сорта «Безостая-1». Методы получения проростков и регистрации МП описаны ранее [4, 5]. В экспериментах использовались хлористые соли H^+ , K , Na^+ , Li^+ , Cs^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} в концентрациях от 0,01 до 100 мМ, а также растворы динитрофенола (2,4-ДНФ, от 0,01 до 10 мМ), актиномицина Д (10 μ /мл) и дициклогексилкарбодиимида (ДЦКД, 8×10^{-6} М) с различными значениями рН: от двух до восьми. Кислые значения рН получались с помощью HCl, щелочные значения — КОН. Полученные значения рН контролировали на универсальном иономере марки ЭВ-74. Растворы 2,4-ДНФ, актиномицина Д и ДЦКД готовились на 1 мМ растворе KCl. В таком же растворе KCl измеряли контрольные значения МП.

Величину МП регистрировали через каждые две мин в течение 30 мин. В каждом варианте измеряли МП от 15 до 45 корешков.

Проводили статистическую обработку материала методом Стьюдента.

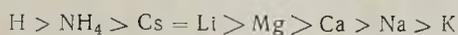
Результаты и обсуждение. Влияние ионного состава среды. Первичная реакция клетки на внешнее воздействие локализована на плазматической мембране, ряд характеристик которой определяется по закономерностям генерации МП. Известно, что величина последнего зависит от ионного состава внешней среды, с изменением концентрации которого меняются свойства самих клеточных мембран.

Путем измерения величины МП можно определить характер прохождения различных ионов через мембрану и тем самым предсказать поведение мембран при любых изменениях внешней среды.

Как неоднократно отмечалось, в отличие от мембран животных клеток мембраны клеток высших растений отличаются низкой избирательностью к различным ионам внешней среды [2, 9].

Найдено, что изменение проводимости плазматических мембран в растворах, содержащих хлорид-ион какого-нибудь одного элемента (одно- или двухвалентного), зависит от природы катиона. Табл. 1 иллюстрирует эту зависимость.

Из табл. 1 видно, что растительная мембрана в исследованном диапазоне концентраций четко различает ионы водорода от остальных ионов. Таким образом, исходя из данных табл. 1, можно составить следующий ряд, характеризующий ионную избирательность:



Подобную избирательность клеточных мембран высших растений можно объяснить спецификой жизнедеятельности и условиями существования этих растений, обусловленных ходом эволюции.

Таблица 1

Влияние ионного состава среды на МП клеток колеоптилей пшеницы, мв

Вид иона	Концентрация, мМ				
	100	10	1	0,1	0,01
H ⁺	+5,8±0,5	8,2±0,8	33,3±0,8	52,4±1,1	76,2±1,1
NH ₄ ⁺	2,2±0,5	26,4±0,7	51,4±1,6	76,7±0,9	94,5±0,9
Cs ⁺	4,6±0,8	29,8±0,8	60,9±0,9	84,7±0,7	97,8±0,6
Li ⁺	4,8±0,7	32,0±0,9	70,5±0,7	86,0±0,9	98,2±0,9
Mg ²⁺	0,2±0,9	32,6±0,9	60,9±1,2	81,4±1,0	103,2±1,3
Ca ²⁺	14,4±0,8	33,9±0,6	63,8±0,9	84,2±1,0	105,5±1,7
Na ⁺	9,3±1,2	32,9±1,2	72,9±1,3	98,0±1,2	113,9±1,8
K ⁺	3,6±1,2	33,8±1,2	76,4±1,2	97,9±1,5	115,3±2,9

Примечание: количество измерений в каждом отдельном варианте равно 45.

Действие ингибиторов на МП. Известно, что процессы переноса электронов и фосфорилирования АДФ до АТФ сопряжены промежуточным этапом—возникновением градиента активности водородного иона в мембране, где происходит фосфорилирование. Ингибитор метаболизма 2,4-ДНФ разобщает окислительное фосфорилирование: в его присутствии перенос электронов продолжается, но синтез АТФ оказывается подавленным. Вызывая утечку H⁺ в мембране, разобщающий агент тем самым препятствует возникновению градиента потенциальной энергии или градиента рН, вследствие чего необходимая свободная энергия для синтеза АТФ не обеспечивается.

Поскольку 2,4-ДНФ влияет не только на энергетику клетки, но и на проницаемость мембраны, в наших экспериментах мы попытались найти связь между действием 2,4-ДНФ и величиной МП. Оказалось, что проявление деполяризующего эффекта зависит от концентрации 2,4-ДНФ. Так, при концентрации 2,4-ДНФ, равной 10 мМ, развивается глубокая деполяризация мембран (МП падает на 50—55 мв), которая становится все меньше при более низких его концентрациях (1 и 0,1 мМ). При действии 0,01 мМ раствора 2,4-ДНФ МП падает всего на 3—6 мв. Во всех случаях деполяризации, даже под действием высокой концентрации (10 мМ) 2,4-ДНФ, имеется «остаточное» значение МП, которое не подавляется ингибитором метаболизма. Эта часть МП обусловлена диффузионными потоками через мембрану. Необходимо также отметить, что наблюдаемые эффекты при концентрации 2,4-ДНФ от 1 до 0,01 мМ обратимы: заменой раствора 2,4-ДНФ на 1 мМ раствор КСl достигается контрольный уровень МП.

В опытах по исследованию действия 10 мМ раствора 2,4-ДНФ на фоне растворов различных концентраций КСl (рис. 1) показано, что при всех примененных концентрациях КСl 2,4-ДНФ вызывает деполяризацию мембраны. Это лишний раз говорит о том, что МП клеток высших растений наряду с пассивной включает в себя также активную компоненту, которая и подавляется ингибитором метаболизма.

Являясь слабой кислотой, свое разобшающее действие 2,4-ДНФ проявляет в диссоциированной форме, и проявление эффекта зависит от рН среды [11]. Имеются работы [4, 6, 10], в которых приводятся из-

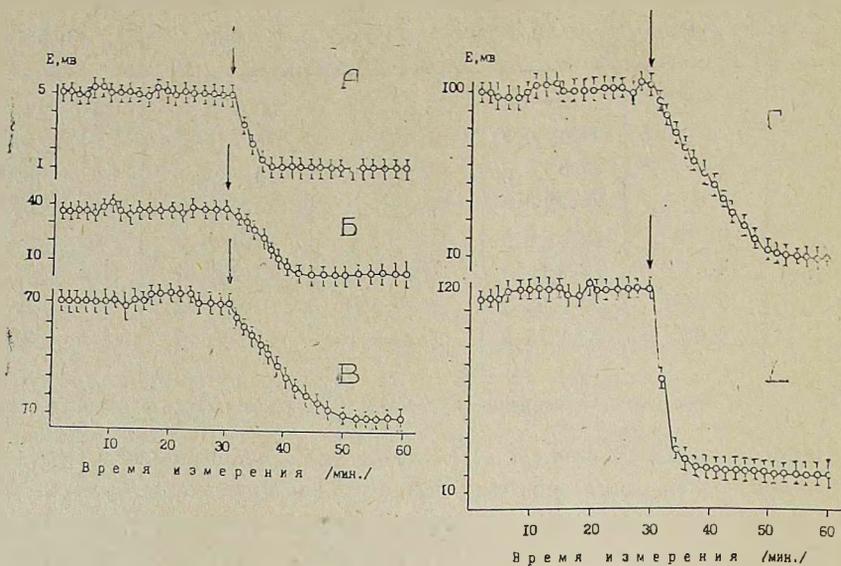


Рис. 1. Влияние различных концентраций KCl на фоне постоянной концентрации ДНФ (10 мМ) на величину МП клеток колеоптилей. А—100 мМ KCl; Б—10 мМ KCl; В—1 мМ KCl; Г—0,1 мМ KCl; Д—0,01 мМ KCl.

менения МП под действием различных значений рН среды. В этой связи нами было изучено действие 2,4-ДНФ на мембрану в зависимости от рН среды: сильнокислого (рН 2), слабокислого (рН 5) и щелочного (рН 8). Как и следовало ожидать, при всех значениях рН 2,4-ДНФ деполяризует мембрану (табл. 2). Однако, если при рН 2 падение МП составляет 11,9 мВ, а при рН 8—всего 4,1 мВ, то при слабокислом значении рН наблюдается сильная деполяризация мембраны: МП падает на 58,3 мВ.

Подобное действие 2,4-ДНФ можно объяснить, вероятно, действием рН на диссоциацию молекулы. В пределах рН 5 2,4-ДНФ диссоциируется в водном растворе и оказывает сильное действие на дыхание [1]. Такая связь между действием на дыхание и на МП свидетельствует в пользу предположения, что величина МП непосредственно зависит от метаболизма клетки. С другой стороны, возможно, что именно в диссоциированной форме молекуле ДНФ легче переносить ионы водорода через мембрану, что в свою очередь также имеет непосредственное влияние на величину МП.

Известно, что актиномицин Д блокирует синтез белка на уровне транскрипции, присоединяясь к ДНК-матрице и тем самым мешая работе РНК-полимеразы [7, 8]. Известно также, что ингибирующее действие актиномицина Д на синтез белка проявляется через 1,5—2 ч после добавления ингибитора [12]. Однако эксперименты по изучению действия актиномицина Д на мембрану показали, что деполяризация мем-

браны под его действием возникает сразу же после добавления ингибитора в перфузат (рис. 2), достигает 5 мв (величина МП падает на 70 мв) и с двадцатой мин измерения выходит на стационарный уровень. Замена же актиномицина Д на 1 мМ раствор КСI приводит к частичному восстановлению значений МП (до 55 мв). Подобная картина может быть оценена как проявление действия ингибитора на мембранном уровне: возможно, что под его действием нарушаются механизмы, ответственные за нормальное функционирование мембран.

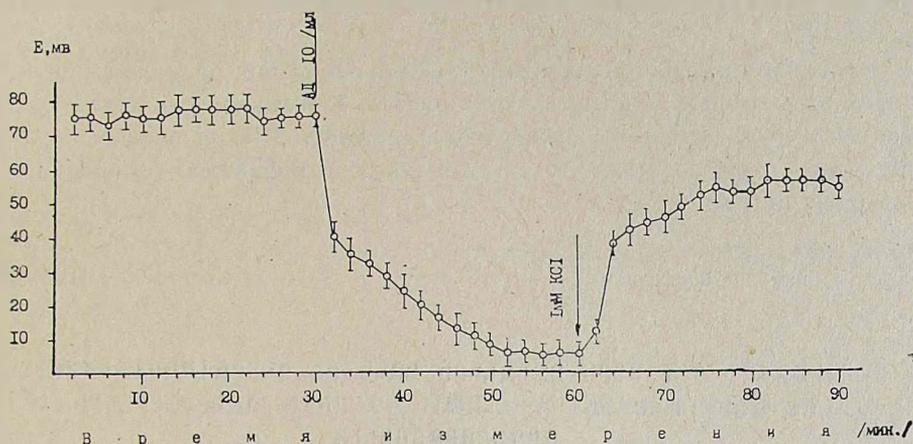


Рис. 2. Влияние актиномицина Д (10 γ /мл) на величину МП клеток колеоптилей.

Таблица 2
Влияние 2,4-ДНФ и ДЦКД на МП при различных значениях рН среды

рН среды	t, мин	Контроль	2,4-ДНФ	ДЦКД
2	5	- 2,5 \pm 1,3	- 7,2 \pm 1,0	- 5,0 \pm 1,2
	10	+ 3,2 \pm 1,5	+ 4,4 \pm 0,8	+ 4,4 \pm 1,3
	15	+ 4,0 \pm 1,0	+11,3 \pm 1,4	+15,2 \pm 1,4
	20	+ 8,2 \pm 1,8	+18,5 \pm 1,3	+19,5 \pm 1,1
	25	+10,3 \pm 2,1	+21,6 \pm 1,2	+23,6 \pm 1,8
	30	+12,4 \pm 1,8	+24,3 \pm 1,7	+28,7 \pm 1,9
5	5	-69,3 \pm 1,7	-46,2 \pm 1,9	-52,2 \pm 0,9
	10	73,0 \pm 1,9	40,4 \pm 1,5	58,0 \pm 1,4
	15	78,1 \pm 2,2	35,3 \pm 2,1	46,3 \pm 1,5
	20	76,8 \pm 1,6	30,1 \pm 1,1	45,1 \pm 1,8
	25	72,7 \pm 2,5	22,5 \pm 1,8	40,0 \pm 1,0
	30	77,5 \pm 1,3	19,9 \pm 2,0	40,2 \pm 1,3
8	5	49,6 \pm 1,1	40,0 \pm 1,1	47,2 \pm 1,2
	10	47,2 \pm 1,0	36,2 \pm 1,0	46,3 \pm 1,0
	15	40,0 \pm 1,6	33,3 \pm 1,4	40,1 \pm 1,7
	20	36,1 \pm 1,2	29,2 \pm 1,2	35,2 \pm 1,4
	25	32,0 \pm 1,5	27,4 \pm 1,5	30,0 \pm 1,1
	30	30,1 \pm 1,8	26,0 \pm 1,6	28,6 \pm 1,6

Примечание: количество измерений в каждом отдельном варианте равно 15.

Результаты опытов по изучению действия ДЦКД на плазматические мембраны показали, что, специфически подавляя работу H^+ -насоса, ДЦКД непосредственно влияет на величину МП. В зависимости от

значений рН среды ингибирующее действие его проявляется по-разному: наиболее сильно оно выражено при рН 2, а при рН 8 ингибитор почти не эффективен (табл. 2). При рН 5 регистрируется почти 50%-ное ингибирование. Создается впечатление, будто ДЦКД блокирует протонные каналы, препятствуя созданию необходимого градиента рН. Это в свою очередь влияет на синтез АТФ, что оказывает двоякое действие на МП. Во-первых, на величине МП сказывается низкий уровень метаболизма, во-вторых, не обеспечивается необходимая энергия для работы электрогенного H^+ -насоса, локализованного на плазматической мембране.

Таким образом, сравнительный анализ действия различных ингибиторов на мембрану клеток высших растений показал, что, хотя все они деполаризуют мембрану, кинетика изменения МП в разных случаях различна. А рН среды является лимитирующим фактором в проявлении действия ингибиторов.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 15/IV 1982 г.

**ԲԱՐՁՐԱԿԱՐԳ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԲՋԻՉՆԵՐԻ ԻՈՆԱՅԻՆ ԸՆՏՐՈՂԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԵՎ ՄԵՄԲՐԱՆԱՅԻՆ ՊՈՏԵՆՑԻԱԼԻ ԿԱՆՈՒՄԸ ԻՆՀԻԲԻՏՈՐՆԵՐԻ
ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԻՑ**

Գ. Ն. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Հ. Տ. ԿԱԶԱՐՅԱՆ

Հետազոտվել է միջավայրի իոնական կազմի (K^+ , Na^+ , H^+ , Li^+ , Cs^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) և էներգետիկ փոխանակության (2,4-դինիտրոֆենոլ), սպիրտակուցային սինթեզի (ակտինոմիցին D) ու ջրածնային պոմպի (դիցիլ-լոհեքսիլկարբոդիմիդ) ինհիբիտորների ազդեցությունը ցորենի ծիլերի կոլեոպտիլների մեմբրանային պոտենցիալի վրա: Նշված միացությունների բարձր կոնցենտրացիաները առաջացնում են պլազմատիկ մեմբրանների խիստ ապաբևեռացում: Ենթադրվում է, որ տարբեր տիպի միացությունների փոխազդեցությունը բարձրակարգ բույսերի բջիջների մեմբրանային ստրուկտուրաների հետ կրում է ոչ սպեցիֆիկ բնույթ:

**ION SELECTIVITY OF THE CELLS OF HIGHER PLANTS
AND DEPENDENCE OF THE MEMBRANE POTENTIAL
FROM THE INFLUENCE OF INHIBITORS**

G. N. KHACHATRIAN, G. T. KAZARIAN

The influence of the composition of the medium and inhibitors of energetical exchange (2,4-DNP), synthesis of proteins (actinomycin D) and proton pump (DCCD) on the membrane potential of wheat coleoptiles has been investigated. Higher concentrations of these compounds cause depolarization of plasma membranes. It is supposed that interactions of the various compounds with cell membrane structures of higher plants carry a non/specific character.

1. Казарян Г. Т. Биолог. ж. Армении, 20, 6, 1967.
2. Казарян Г. Т., Авакян Ц. М., Аджян Н. С. Биолог. науки, 3, 1967.
3. Казарян Г. Т. Канд. дисс., Ереван, 1968.
4. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н., Паносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 30, 12, 1977.
5. Казарян Г. Т., Паносян Г. А., Хачатрян Г. Н. Биолог. науки, 5, 1978.
6. Лялин О. О., Ктиторова И. Н. Физиол. растений, 23, 305, 1976.
7. Сазыкин Ю. О. Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. М., 1968.
8. Goldberg J. H., Friedman P. A. Ann. Rev. Biochem., 40, 1971.
9. Higinbotham N., Etherton B., Foster R. Plant Physiol., 39, 2, 1964.
10. Higinbotham N. Ann. Rev. Plant Physiol., 24, 1973.
11. Hopfer U., Lehninger A. L., Thompson T. E. Proc. Natl. Acad. Sci., (USA), 59, 1968.
12. Key J. L. Ann. Rev. Plant Physiol., 20, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 616—097.612.017—11/12

ИНДУКЦИЯ КЛЕТОК, ОБЛАДАЮЩИХ КОНТРАСУПРЕССОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ СЕЛЕЗЕНКЕ

С. С. ГАМБАРОВ, Г. В. ХАРЛОВА, А. М. ХЗАРДЖЯН

В регенерирующей селезенке выявлены клетки, блокирующие индукцию специфических и неспецифических Т-супрессоров гуморального иммунного ответа.

Ключевые слова: Т-супрессоры, контрапрессия, селезенка.

Регенерационный процесс в разных органах сопровождается изменением функциональных свойств лимфоидных клеток [1—4]. В частности, при стимуляции регенерационных процессов в селезенке в определенных условиях (частичная спленэктомия в 2 этапа) у мышей наблюдается угнетение индукции специфических и неспецифических Т-клеток супрессоров [5]. Предполагается, что эти изменения связаны с появлением в регенерирующей селезенке клеток, блокирующих индукцию (или активацию) супрессорных клеток.

В настоящей работе излагаются результаты исследования влияния частичной спленэктомии на индукцию клеток, обладающих контрапрессорной активностью.

Материал и методика. Эксперименты проводились на мышах линии СВА и гибридах (СВА×С57BL/6) F₁.

Моделирование специфической супрессии осуществлялось методом Визлер Стобо [9]. Мышей линии СВА иммунизировали супрессорогенной дозой эритроцитов барана (3×10⁹). Некоторым мышам до иммунизации (за 2 ч) вводили клетки селезенки от ложнооперированных или спленэктомированных мышей. Спустя 2 недели клетки селезенки (5×10⁷) иммунных животных вводили интактным мышам.

Реципиентов селезеночных клеток в тот же день иммунизировали ЭБ (2×10⁸). Индукцию неспецифической активности проводили по Шанду [8]. Облученным

(900 р) гибридам (СВА×С57BL/6) F₁ вводили порознь или вместе клетки селезенки интактных и спленэктомированных мышей СВА. Через 7 дней после трансплантации спленоцитов СВА облученным реципиентам F₁ клетки селезенки этих мышей (СК-клетки) вместе с клетками костного мозга, тимуса мышей СВА и эритроцитами барана (2×10⁸) вводили вторично облученным реципиентам (СВА×С57BL/6) F₁.

Число антителообразующих клеток определяли методом Эрне [7] на 5-й или 8-й день (в системе адаптивного переноса). Для стимуляции регенерационных процессов использовали частичную спленэктомию, проведенную в 2 этапа. Сначала удаляли 3/4 селезенки, а через 10 дней удаляли 1/2 оставшейся части. Мышей в эксперимент брали через 7 дней после второй операции. Материал обработан статистически с определением средней геометрической и доверительного интервала (P=0,01).

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены результаты экспериментов по индукции специфических Т-супрессоров у интактных и спленэктомированных мышей.

Таблица 1

Влияние частичной спленэктомии на индукцию специфических Т-супрессоров гуморального иммунного ответа

Доноры иммунных клеток	Число реципиентов	Количество АОК $M_{геом} \div 1 \rho$ ($1 \rho = 0,01$)
Контроль	7	128600 (182000÷90,00)
Неоперированные	8	13140 (19200÷9024)
Ложнооперированные	10	14480 (19170÷10940)
Частично спленэктомированные	10	117500 (130600÷105700)

Как видно из табл. 1, при иммунизации эритроцитами барана у мышей, которым вводили клетки селезенки сингенных иммунных доноров, формируется в 10 раз меньше антителообразующих клеток, чем у контрольных (введение только эритроцитов барана). Известно, что это угнетение иммунного ответа опосредовано Т-супрессорами (индуцируемыми при иммунизации донора) и носит антигенспецифический характер: угнетается иммунный ответ только к тому антигену, которому иммунизировали донора [6, 9].

При введении клеток селезенки от иммунных ложнооперированных доноров наблюдается такое же сильное угнетение иммунного ответа, как и при трансплантации клеток от неоперированных (иммунных) животных. В то же время, когда в качестве доноров иммунных селезеночных клеток использовали частично спленэктомированных мышей, угнетения иммунного ответа не наблюдалось. Это говорит о том, что в подобных случаях в оставшейся части селезенки не накапливаются клетки, вызывающие специфическую супрессию иммунного ответа.

Нарушение индукции специфических Т-супрессоров в популяции селезеночных клеток после частичной спленэктомии, индуцирующей регенерационные процессы, может быть связано с уменьшением (или исчезновением) пресупрессоров в оставшейся части селезенки вследствие их миграции из нее, либо появлением фактора (например, клеток), блокирующего индукцию супрессорных клеток.

В табл. 2 приведены результаты экспериментов, в которых был вы-

явлен активный характер подавления специфических супрессоров у спленэктомированных мышей.

Т а б л и ц а 2

Блокированные индукции специфических супрессоров клетками селезенки частично спленэктомированных мышей

Доноры иммунных клеток	Число реципиентов	Количество АОК Мг.эм ÷ 1р (р = 0,01)
Контроль	6	109100 (176900÷67300)
Мыши, которым клетки не вводили	6	12550 (20180÷7806)
Мыши, которым вводили клетки селезенки ложноперирированных животных	9	12780 (18080÷9032)
Мыши, которым вводили клетки селезенки частично спленэктомированных мышей	7	110500 (17730÷69000)

У мышей, которым вводили клетки селезенки сингенных частично спленэктомированных мышей, при иммунизации (в тот же день, что и трансплантация клеток) эритроцитами барана (3×10^9) через две недели супрессоры не накапливаются; клетки селезенки их при введении сингенным реципиентам не вызывают угнетения иммунного ответа к эритроцитам барана. Клетки селезенки иммунных мышей, которым трансплантировали клетки ложноперирированных мышей, вызывают резкое угнетение иммунного ответа к эритроцитам барана при их переносе сингенным мышам.

Следовательно, клетки селезенки частично спленэктомированных мышей блокируют индукцию специфических супрессоров при иммунизации животных большой дозой антигена.

Таким образом, полученные данные говорят о том, что при регенерации селезенки в них появляются клетки с контрастсупрессорной активностью.

Веское подтверждение присутствия в регенерирующей селезенке клеток, обладающих контрастсупрессорной активностью, мы получили при исследовании влияния частичной спленэктомии на индукцию неспецифических супрессоров (СВА) в облученном гибриде (СВА×С57BL/6) F_1 (табл. 3). Через 7 дней после трансплантации спленоцитов СВА облученным реципиентам F_1 клетки селезенки этих мышей (СК-клетки мышей) подавляют иммунный ответ к эритроцитам барана клеток костного мозга и тимуса мышей СВА при их переносе вторично облученным реципиентам F_1 .

Следовательно, при трансплантации летально облученным гибридам F_1 клеток селезенки СВА индуцируются активно подавляющие клетки. Индуцируемые в этой модели супрессоры относятся к популяции Т-клеток. Когда для получения СК-мышей использовали спленоциты частично спленэктомированных мышей, то индукции супрессоров не наблюдалось: клетки селезенки этих мышей (СК^a-клетки) не угнетали развития кооперативного иммунного ответа клеток костного мозга и тимуса (модель СК^a + (KM+T)СВА→ F_1).

Супрессоры не индуцируются и при введении гибридам F_1 смеси клеток селезенки от интактных и частично спленэктомированных мы-

Таблица 3

Выявление в регенерирующей селезенке клеток, блокирующих индукцию неспецифических супрессоров гуморального иммунного ответа.

Вводимые клетки	Число реципиентов	Количество АОК $M_{\text{геом}} \div 1 p (p = 0,01)$
КМ + Т	10	1131 (1741 \div 734)
СК	10	120,3 (177,3 \div 81,5)
СК + КМ + Т	11	117 (184,8 \div 74,1)
СК ^а	10	836,4 (1161 \div 602,7)
СК ^а + КМ + Т	9	2255 (3548 \div 1296)
СК ^в + КМ + Т	12	2643 (3472 \div 2012)
СК ^в	8	1286 (1974 \div 1534)

Примечание: КМ—костный мозг (10^7), Т—тимоциты (2×10^7), СК—селезеночные клетки (1×10^7) летально облученных реципиентов (СВА \times С57BL/6) F_1 через семь дней после трансплантации спленоцитов интактных мышей СВА; СК^а—клетки селезенки (10^7), летально облученных реципиентов (СВА \times С57BL/6) F_1 через семь дней после трансплантации спленоцитов частично спленэктомированных мышей, СК^в—клетки селезенки летально облученных реципиентов (СВА \times С57BL/6) F_1 , через семь дней после трансплантации смеси спленоцитов от интактных и частично спленэктомированных мышей СВА (2×10^7).

шей СВА. Клетки селезенки облученных мышей F_1 , которым трансплантировали смесь клеток от интактных и частично спленэктомированных мышей СВА, не подавляют развития кооперативного ответа, наблюдаемого при трансплантации вторично облученным реципиентам F_1 клеток костного мозга и тимуса мышей СВА (модель СК^в + (КМ + Т) СВА \rightarrow F_1).

Этот феномен нельзя объяснить «разбавлением» супрессоров (зависимость эффекта которых от количества может иметь пороговый характер). Подавления кооперативного иммунного ответа не наблюдалось при дозах СК-клеток, в два раза превышающих то количество (клеток СК), которое вызывает почти 100%-ное подавление формирования антителопродукторов.

Следовательно, можно прийти к заключению, что клетки селезенки частично спленэктомированных мышей блокируют индукцию неспецифических супрессоров в популяции спленоцитов интактных мышей.

Таким образом, в популяции селезеночных клеток частично спленэктомированных мышей присутствуют клетки, обладающие контрапрессорной активностью.

Филиал Всесоюзного научного центра хирургии

АМН СССР

Поступило 24.II 1982 г.

ՎԵՐԱԿԱՆԳՆՎՈՂ ՓԱՅՅԱՆՈՒՄ ԿՈՆՏՐԱՍՏՈՒՊՐԵՍՈՐԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՄԲ ՕԺՏՎԱՄ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԻՆՏՈՒԿՅԱՆ

Ս. Ս. ԳԱՄԲԱՐՈՎ, Գ. Վ. ԽԱՐՈՎԱ, Ա. Մ. ԽՁԱՐՋՅԱՆ

Վերականգնվող փայցախում հայտնաբերվել են կոնտրաստպրեսորային ակտիվությունը օժտված բջիջներ:

INDUCTION OF REGENERATIVE SPLENIC CELLS WITH COUNTERSUPPRESSOR ACTIVITY

S. S. GAMBAROV, G. V. KHARLOVA, A. M. KHZARDJIAN

Cells with countersuppressor activity have been discovered in the regenerative spleen.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бабаева А. Г. Иммунологические механизмы регуляции восстановительных процессов. М., 1972.
2. Бабаева А. Г., Алексеева Н. Ю., Гамбаров С. С. и др. Бюллет. exper. биол., 8, 106, 1973.
3. Гамбаров С. С., Бабаева А. Г., Алексеева Н. Ю. и др. Бюллет. exper. биол., 12, 51, 1973.
4. Гамбаров С. С., Юдина Н. В. Бюллет. exper. биол., 1, 70, 1980.
5. Гамбаров С. С., Хзарджян А. М., Саакян А. Д. XI конф. молодых ученых Ин-та экспериментальной биологии АН Арм. ССР, Ереван, 1, 69, 1980.
6. Писарев В. М., Певыцкий Л. А. Бюллет. exper. биол., 5, 571, 1977.
7. Jerne N. K., Nordin A. A. Science, 140, 405, 1963.
8. Shand. Transpl. Proc., 9, 277, 1277.
9. Whisler R., Stobo I. Fed. Proc., 34, 1077, 1975.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 615.577.84

ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИ- НОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Г. Г. АРЦРУНИ, О. В. ОГАНЕСЯН

Исследовалось воздействие внешнего электростатического поля на электрофизические свойства сухих волокон ДНК. Установлено, что начиная с определенной напряженности электростатического поля, 1,6–2,1 кВ/см, наблюдается рост электропроводности ДНК.

Ключевые слова: ДНК, электростатическое поле, электропроводность.

В настоящее время ведутся интенсивные исследования для выяснения механизмов воздействия электростатических полей (ЭСП) на биологические объекты. В ряде работ [1, 4, 7–11, 14] показано, что воздействие ЭСП высокой напряженности приводит к некоторым сдвигам в организме. Однако в этих работах, как правило, не затрагиваются вопросы воздействия ЭСП на биологические макромолекулы, а, как известно, любые нарушения на организменном уровне задаются изменениями на молекулярном уровне.

Целью нашей работы явилось исследование воздействия ЭСП на сухие волокна дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Материал и методика. Изучались вольт-амперные характеристики (ВАХ) для семи сухих волокон ДНК селезенки быка до и при воздействии ЭСП. Измерения проводились на постоянном токе при комнатной температуре и относительной влажности воздуха 70—80%. Волокна ДНК помещались между обкладками плоского конденсатора, величина пластин которого допускала возможность получения однородного поля в месте нахождения образца. Напряженность создаваемого ЭСП варьировалась в пределах 0—2,6 кВ/см. Погрешности измерений не превышали 5%. Измерения многократно повторялись и давали хорошую воспроизводимость.

Удельное сопротивление (ρ) определялось по формуле

$$\rho = \frac{U \cdot S}{I \cdot L},$$

где U —напряжение на образце (измерялось цифровым вольтметром Щ 4310 с входным сопротивлением более 10 Мом), I —ток через образец, L —длина, а S —поперечное сечение образца. Измерение поперечного сечения проводилось на мегаллографическом микроскопе МИМ-8 с увеличением 250. Определялся диаметр волокна в трех точках по длине образца ($L=1,5$ см), затем эти значения усреднялись. В наших опытах поперечное сечение колебалось в пределах $(1,9-5,3) \cdot 10^{-3}$ см².

Результаты и обсуждение. Изучению электропроводности ДНК посвящено большое количество работ [3, 6, 13, 15, 16], однако следует отметить, что в экспериментальных результатах имеется большой разбой, что, по всей видимости, является следствием неадекватности условий экспериментов. Из-за отсутствия строгой теории при изучении электрофизических свойств ДНК первостепенную важность приобретают экспериментальные методы исследования.

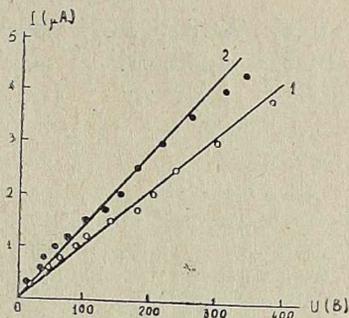


Рис. 1.

Рис. 1. Характерные ВАХ исследованных образцов: 1. $E=0$, 2. $E=2,5$ кВ/см.

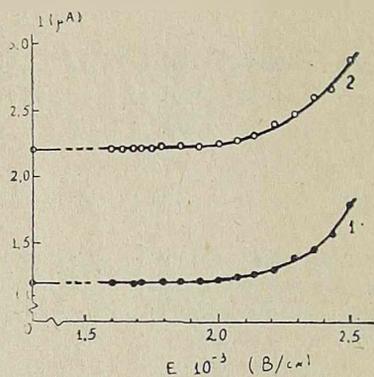


Рис. 2.

Рис. 2. Характерные зависимости силы тока I от напряженности E внешнего ЭСП: 1. $U=200$ В; 2. $U=300$ В.

На рис. 1 представлены характерные ВАХ для всех исследованных образцов. В качестве параметра выбрана напряженность внешнего ЭСП. Как видно из рис., в исследованном интервале напряжений закон Ома практически выполняется. Из этих измерений определялось удельное сопротивление исследованных образцов. Получено, что для ДНК $\rho = (0,56-3,15) \cdot 10^5$ Ом·см. Отметим, что эти значения характер-

ны для полупроводниковых материалов, для которых $\rho = (10^{-2} - 10^9)$ Ом·см [5].

На рис. 2 представлены характерные для всех образцов зависимости силы тока, проходящего через образец, от величины внешнего ЭСП. В качестве параметра выбрано напряжение на образце. Наиболее важным результатом этих исследований является установление того факта, что начиная с определенной напряженности внешнего поля (величина этой «пороговой» напряженности находится в интервале 1,6—2,1 кВ/см) электропроводность образцов начинает расти. Такое поведение электропроводности, по всей видимости, является следствием увеличения концентрации свободных носителей заряда. Несомненным остается тот факт, что наложение внешнего ЭСП приводит к структурным перестройкам в сухих волокнах ДНК. В теоретической работе Хилла [12] показано, что воздействие ЭСП напряженностью 10 кВ/см должно привести к разделению цепей ДНК, что объясняется автором поляризацией макромолекул в растворе. Ранее нами показано [2], что воздействие полей напряженностью свыше 1 кВ/см на растворы ДНК приводит к дестабилизации структуры вследствие частичного разрыва водородных связей. Данная работа дает основание полагать, что структурные перестройки в молекулах ДНК при воздействии ЭСП могут происходить не только в растворах.

Говорить о конкретных структурных перестройках в молекуле ДНК и конкретных механизмах воздействия ЭСП на данном этапе исследований не представляется возможным.

Ереванский медицинский институт,

лаборатория биофизики и молекулярной биологии ЦНИЛ

Поступило 6.X 1981 г.

ԴՆԹ ԷԼԵԿՏՐԱՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԷԼԵԿՏՐԱՍՏԱՏԻԿ ԴԱՇՏԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ԳԵՊՔՈՒՄ

Գ. Գ. ԱՐՏՐՈՒՆԻ, Օ. Վ. ՉՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Հետազոտված է էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը թելանման ԴՆԹ-ի էլեկտրաֆիզիկական հատկությունների վրա: Վերլուծված է թափանցանքի փոփոխությունը որոշված էլեկտրադաշտի ազդեցության ներքո: Պարզված է, որ սկսած էլեկտրաստատիկ դաշտի լարվածության որոշակի արժեքից (1,6—2,1 կվ/սմ) դիտվում է ԴՆԹ-ի էլեկտրահաղորդականության մեծացում:

ELECTROPHYSICAL PROPERTIES OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID UNDER THE INFLUENCE OF ELECTROSTATIC FIELD

G. G. ARTSRUNI, O. V. OGANESIAN

The influence of externally implied electrostatic field on electrophysical properties of dry DNA fibres has been investigated. It was found that beginning from the definite tension of electrostatic field (1,6—2,1 kv/cm) one could see an increase of DNA electroconductivity.

1. Арцруни Г. Г. Канд. дисс., М., 1973.
2. Арцруни Г. Г., Вардапетян Р. Р. Тез. докл. мол. уч. по органическому синтезу и биорганической химии, посвящ. XXV съезду КПСС, 70, Ереван, 1976.
3. Василеску Д. В кн.: Физико-химические свойства нуклеиновых кислот, 50, М., 1976.
4. Катрушенко А. Г. Канд. дисс., Л., 1968.
5. Кителль Е. В кн.: Введение в физику твердого тела, 380, М., 1978.
6. Ладик Я. В кн.: Квантовая биохимия для химиков и биологов, 122, М., 1975.
7. Мкртчян С. Л., Арцруни Г. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 7, 750, 1978.
8. Портнов Ф. Г. В кн.: Проблемы клинической биофизики. Рига, 1972.
9. Портнов Ф. Г. В кн.: Проблемы клинической биофизики. Рига, 1978.
10. Роман А. П. Канд. дисс., Томск, 1976.
11. Hill T. L. J. Amer. Chem. Soc., 8, 2142, 1958.
12. Hill T. L. Proc Natl. Acad. Sci USA, 58, 11, 1967.
13. Duchesne J., Depireux J., Bertinehamps A., Cornet N., van der Kaas J. M. Nature, 188, 405, 1960.
14. Möse J., Schug S., Fischer G. Biomed Techn, 17, 2, 55, 1972.
15. O'Konski C. T., Shirai M. Biopolymers, 1, 557 1963.
16. Subertova E., Prosser V., Drobnik J. Biopolymers, 8, 421, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 577.21

ТРАНСПОРТ ГЕНА β -ЛАКТАМАЗЫ В СОСТАВЕ ИСКУССТВЕННЫХ ВИРУСОПОДОБНЫХ ЧАСТИЦ В КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ЕГО ЭКСПРЕССИЯ

Р. А. ЗАХАРЯН, Э. Т. ГАСПАРЯН, Г. В. АПОШЯН

Фрагмент гена плазмиды PBR 322, кодирующий пенициллиновую β -лактамазу, был выделен рестрикцией ДНК PBR 322 эндонуклеазами EcoRI, BglI и BamHI. Ген β -лактамазы в составе фрагмента $0,57 \cdot 10^6$ d был включен в присутствии гистонов в преформированную капсиду вируса полиомы с формированием стабильной искусственной вирусоподобной частицы (ИВЧ), в которой ДНК защищена от действия нуклеаз. Инкубация ИВЧ с культурой клеток человека способствует транспорту гена β -лактамазы в клетки. В экстракте трансформированных клеток обнаружена β -лактамазная активность. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ИВЧ является эффективным ген-переносчиком для трансплантации гена в клетки человека.

Ключевые слова: ген-транспорт, искусственная вирусоподобная (полиомоподобная) частица, ген β -лактамазы.

Апошняном и сотрудниками [6] показано, что псевдовирioны полиомы могут служить ген-трансплантирующей системой для транспорта ДНК в ядра мышинных и человеческих клеток. Однако в клетках, при

§ Капсиды вируса полиомы, ассоциированные с гистонами, были получены и электрофоретически анализированы в ПААГ Р. А. Захаряном у проф. Г. Апошяна в Отделе клеточной эволюционной биологии Университета Аризоны, США

сборке псевдовироионов, в результате энзиматической фрагментации клеточной ДНК в псевдовироионы включается статистически вероятный набор фрагментов с молекулярной массой $3,5 \times 10^6$ d от генома эукариотической клетки 2×10^{12} d; следовательно, мала вероятность обнаружения экспрессии какого-либо индивидуального гена, транспортированного в составе псевдовироиона.

Осуществление полноценной по спектру протеинов сборки псевдовироиона вируса полиомы в бесклеточной системе *in vitro* на основе гомогенного набора участка ДНК по определенному гену позволит осуществить возможную трансплантацию и экспрессию генов, транспортированных в составе вириона, в клетки млекопитающих и человека.

Дальнейшее изучение процесса реконструкции, самосборки псевдовироиона полиомы в бесклеточной системе было проведено Апошняном и сотр. с ДНК вируса полиомы [2], Апошняном и Захаряном—с ДНК вируса SV-40, фага λ , ДНК тимуса и вируса простого герпеса [1]; было показано, что в определенных условиях из капсиды вируса полиомы и ДНК вируса полиомы, SV-40, фага λ , ДНК тимуса и вируса простого герпеса реконструируется искусственная вирусоподобная частица с инкапсидированной в преформированной капсиде линейной двухцепочечной ДНК с молекулярной массой $1,1 \times 10^6$ d.

Нами сконструирована искусственная вирусоподобная частица (ИВЧ) из капсиды вируса полиомы и гена пенициллинной β -лактамазы и изучена возможность транспорта в составе ИВЧ функционально активного фрагмента ДНК-гена β -лактамазы и его экспрессия в клетки человека.

Материал и методика. Клетки Ca OV (раковые клетки женских яичников) культивировались на среде 199 с 10%-ной бычьей сывороткой в присутствии антибиотиков. Рассев клеток производили через каждые 7 дней по 300000 клеток на флакон Кареля со сменой питательной среды на 3-и сут.

ДНК плазмиды PBR 322 получена стандартным методом. Выделение фрагмента ДНК PBR 322, несущего ген β -лактамазы производилось так: ДНК плазмиды PBR 322 разрезали эндонуклеазами рестрикции EcoRI, Bgl I и Bam HI; фрагмент ДНК PBR 322 в $0,57 \times 10^6$ d, несущий ген β -лактамазы, изолировали электрофорезом в 1%-ном агарозном геле, элюировали из агарозы электрофоретически и отмечали радиометкой [P^{32}] методом писк-трансляции [4].

Препарация и очистка пустых капсид вируса полиомы описана ранее [1, 2]. Формирование ИВЧ осуществляли так, как описано ранее [1], за исключением того, что ген β -лактамазы был включен в капсиду вируса полиомы в присутствии гистонов H3, H2B, H2A, H4, ассоциированных с капсидными белками; анализ реакционной смеси проводили фракционированием в градиенте сахарозы 10—22%, приготовленном в 0,01 М трис-0,15 М NaCl (pH 7,5). Седиментация в градиенте сахарозы проводилась на ультрацентрифуге УАС-601 при 25000 об/мин, 2 ч при 4°.

Инфекция культуры клеток ИВЧ. Предварительно монослой клеток промывали дважды 4 мл буфера PBS, содержащего 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина. ИВЧ добавляли к монослою в буфере PBS и клетки инкубировали в течение 120 мин, после чего среду, содержащую ИВЧ, удаляли и клеточный монослой дважды промывали; к промытому монослою добавляли 5 мл среды Игла, содержащей 10% бычьей сыворотки, и монослой клеток инкубировали 24 ч при 37°.

Для определения β -лактамазной активности после 24 ч инкубации при 37° 10⁻⁷ клетки снимали и осаждали центрифугированием, ресуспендировали и в 1 мл PBS (pH 7,0), обрабатывали ультразвуком, гомогенизировали и обрабатывали 1%-ным тригоном X-100. Надосадочную жидкость, полученную после центрифугирования клеточной суспензии при 10000 об/мин 10 мин 4°, использовали в реакции с 10⁻⁴ М цефалоспорины [5, 8].

Спектры цефалоспорины и открытого β -лактамазного кольца были сняты на спектрофотометре «Мом» (Венгрия).

Результаты и обсуждение. ДНК плазмиды PBR 322 была фрагментирована эндонуклеазами рестрикции EcoR I, Bgl I, BamH I. Полученные фрагменты ДНК с мол. массой 1,560; 0,570; 0,320 и 0,195 мегадальтон были фракционированы электрофорезом в 1%-ном агарозном геле (рис. 1). Фрагмент ДНК в 0,570 мд, соответствующий 875 парам оснований ДНК, кодирующих 224 аминокислотных остатка структурного гена β -лактамазы [7], был изолирован в количестве 10 мг ДНК и использован в реакционной смеси для самосборки искусственной вирусоподобной частицы.

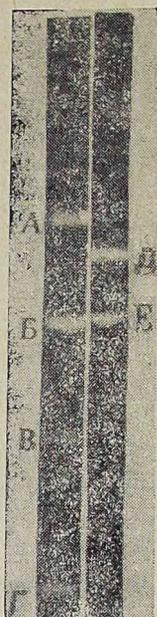


Рис. 1.

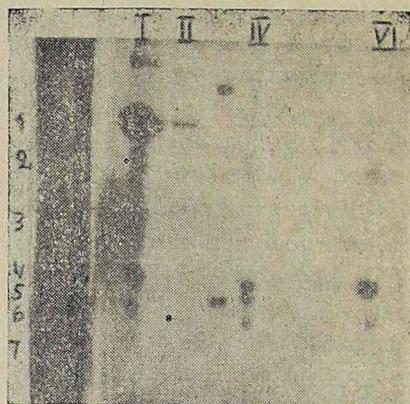


Рис. 2.

Рис. 1. Электрофорез в 1,4%-ном агарозном геле фрагментов ДНК PBR 322, рестрицированной EcoR I, Bgl I, BamH I; фрагменты, мегадальтон: А—1,560; Б—0,570; В—0,320; Г—0,195; Д и Е—фрагменты ДНК SV-40, рестрицированные Hpa II/Pst I в 1,116 и 0,640 мд соответственно. Рис. 2. Электрофорез фракций капсид в 15%-ном ПААГ по Лаеммли; I—1, 2, 3—капсидные белки УР1, 2, 3, 4, 5, 6, 7—гистоны Н2А, Н2В, Н₃ и Н₄; II—очищенная капсида; III—маркеры Н2А, Н2В, Н₃; IV—маркеры Н2А, Н2В, Н₃, выделенные в лаборатории из печени мышей.

В литературе имеется ряд доказательств того, что гистоны в комплексе с белками капсиды вируса полиомы выполняют роль факторов рекогниции, ответственных за транспорт полноценного вируса или псевдовириона в ядро клетки [3, 8]. Для конструирования ИВЧ нами была использована ассоциированная с гистонами фракция пустых капсид вируса полиомы, сепарированная в градиенте плотности C_2 Cl pI, 29 г/см³.

Электрофоретический анализ данной фракции в 15%-ном полиакриламидном геле в системе Лаеммли позволил идентифицировать составные белковые компоненты, использованные в самосборке ИВЧ. Это—капсидные белки УР-1, 2, 3 и гистоны Н₃, Н2В, Н2А и Н₄ (рис. 2).

Анализ реакционной смеси для самосборки искусственного псевдо-вируса, состоящей из капсид, гистонов и ДНК-гена β -лактамазы, в градиенте сахарозы свидетельствует о том, что 30% использованной радио-метки ^{32}P ДНК включается в состав пустой капсиды вируса полиомы в форме искусственного псевдовируса. ИВЧ в данном эксперименте вклю-чает 30% от первоначальной радиоактивности в отличие от ранее полу-ченного результата (5%) [1], что свидетельствует о стимулирующей роли гистонов, идентифицированных как Н2А, Н2В, Н3 и Н4, в самосборке ИВЧ. Гистоны, ассоциированные с капсидой вируса, хотя и имеют кле-точное происхождение, однако отличаются от последних уровнем фос-форилирования и ацетилирования. Надо полагать, что эти химические модификации гистонов существенны в обеспечении специфичности их взаимодействия с белками пустой капсиды вируса полиомы и ДНК в процессе самосборки ИВЧ.

Полученные ИВЧ, несущие ген β -лактамазы, были использованы в «инфицировании» культуры клеток человека с целью передачи гена, экс-прессии нового фермента, отсутствующего в клетках эукариот [5].

Результаты показывают, что через 2 ч после контакта ИВЧ с куль-турой 80% радиоактивности находится в форме, связанной с клетками, через 24 ч эта величина снижается до 30%. Эти данные превышают величины, полученные другими эффективными на сегодня методами транспорта генетического материала в клетки эукариот: кальций-фос-фатным и методом липосом [8, 10].

Биологическая активность β -лактамазы в синтезе фермента в транс-формированных клетках человека была тестирована спектрофотометри-чески по Каллагану [5]. Метод основан на том, что фермент β -лактам-азы разрывает β -лактамазное кольцо хромогенного цефалоспорина и резко сдвигает максимум поглощения данного соединения от 400 мкмк в зону 500 мкмк. Экстракты культуры клеток CaOV через 24 ч после кон-такта с ИВЧ имели ферментативную активность, идентичную или близ-кую к β -лактамазе. Контрольные тесты на β -лактамазную активность с культурой клеток и с питательной средой культуры клеток через 2 ч по-сле контакта с ИВЧ были отрицательными.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что гистоны в значительной степени стимулируют самосборку ИВЧ, не-сущую ген β -лактамазы, и что ИВЧ является эффективной ген-транс-портной системой для передачи клеткам нового фенотипа.

Насколько стабильна данная трансформация и является ли она ре-зультатом интеграции введенного извне гена в ДНК клетки? Эти воп-росы представляют принципиальный интерес и находятся в процессе ис-следования.

Авторы благодарят к. м. н. Казарян К. А. за предоставление куль-туры клеток CaOV.

Институт экспериментальной биологии
АН Армянской ССР

Поступило 5.IV 1982 г.

β-ԼԱԿՏԱՄԱԶ ԳԵՆԻ ՏՐԱՆՍՊՈՐՏԸ ԱՐՀԵՍՏԱԿԱՆ ՎԻՐՈՒՍԱՏԻՊ
ՄԱՍՆԻԿՆԵՐԻ ԿԱԶՄՈՒՄ ԴԵՊԻ ՄԱՐԴՈՒ ԲՋԻՋՆԵՐԸ
ԵՎ ՆՐԱ ԷՔՍՊՐԵՍԻԱՆ

Ռ. Ա. ԶԱԽԱՐՅԱՆ, Է. Տ. ԳՍՊԱՐՅԱՆ, Հ. Վ. ԱՊՈՇՅԱՆ

PBR 322 պլազմիդի գենի β-լակտամազ կոդավորող հատվածը ստացվել է Դեթ-ի ռեստրիկցիայի եղանակով: β-լակտամազի գենը 0,57·10⁶d հիստոնների առկայութեամբ ներառվել էր պոլիոմայի վիրուսի վերակառուցված կապսիդի մեջ, ստաբիլ արհեստական վիրուսատիպ մասնիկի առաջացմամբ (ԱՎՄ):

ԱՎՄ-ի ինկուբացիան մարդու բջջային կուլտուրայի հետ նպաստում է β-լակտամազի գենի տրանսպորտին (անցմանը) բջջի մեջ:

Վերափոխված բջիջների էքստրակտի մեջ հայտնաբերված է β-լակտամազի ակտիվություն:

TRANSPORT OF β-LACTAMASE GENE INTO HUMAN
CELLS BY PLP AND ITS EXPRESSION

R. A. ZAKHARIAN, E. T. GASPARIAN, H. V. APOSHIAN

A restriction fragment 0,57·10⁶ d, which encodes for β-lactamase activity as a part of PBR 322 DNA, was isolated and entrapped in polyoma empty capsid in the presence of H3, H2B, H2A, H4 histones with the formation of a stable polyoma-like particles (PLP). The incubation of the PLP with human cultured cells results in the uptake of DNA with high efficiency.

Extracts of the transformed cells show β-lactamase activity. The results obtained indicate that PLP acts as effective genecarriers for human cells.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Aposhian H., Zakharian R. A. *Advances in Enzyme Regulation*, 18, 275, 1980.
2. Barr S. M., Keck K., Aposhian H. V. *J. Virology*, 96, 656, 1979.
3. Mac Kay R. L., Consigli R. A. *J. Virology*, 19, 620, 1976.
4. Maziatis T., Jeffrey A., Kleid D. G. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 72, 1184, 1975.
5. O Callaghan C. H., Morris A., Kirby S. M., Shingler A. H. *Antimicrob. Agents Chemotherap*, 1, 283, 1972.
6. Qasba P. K., Aposhian H. V. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 68, 1945, 1971.
7. Sutcliffe J. G. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 75, 9797, 1978.
8. Tai-Kin Wonge, Nicolau C., Hofschneider P. H. *Gene*, 10, 87, 1980.
9. Trost E., Bourgaus P. *J. Virology*, 68, 245, 1975.
10. Wigler M., Sweet R., Sin G. K., Axel R. *Cell*, 16, 777, 1979.

УДК 575.24;538.12

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА МИКРООРГАНИЗМЫ И НА МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Л. В. ХАЖАКЯН, С. К. ХАЧАТРЯН, Г. М. ПАРОНИКЯН,
Г. А. ДАРБИНЯН, В. А. ГЕБОЯН

Изучалось изменение клеток бактерий (*Escherichia coli* P-678 и *Actinomyces rimosus* 222) под действием биологически активных органических соединений, предварительно обработанных постоянным магнитным полем. Показано значительное увеличение выживаемости бактериальной клетки и ослабление действия мутагенов. Отмечено также, что степень этого влияния зависит от тест-объекта. При обработке магнитным полем минимальной среды Адамса, на которой выращивались микроорганизмы, указанных изменений не отмечалось.

Ключевые слова: микроорганизмы, мутагенез, магнитное поле.

За последние годы интерес к биологическому действию магнитного поля (МП) значительно возрос в связи с широким применением магнитов в промышленности, научно-исследовательской работе и в других областях.

Установлено, что МП изменяет морфологию органов животных, вызывает функциональные изменения в нервной системе, изменяет окислительно-восстановительные процессы [1, 3, 5—9]. В связи с этим представлялось интересным изучить его влияние также на химические соединения, индуцирующие мутации.

Материал и методика. Воздействию МП подвергались различные по структуре химические соединения: N'--(4-бутоксibenзил)-5,6-дигидротиоурацил (I), гидрохлорид бис-N-β-хлорэтиламиноэтиловый эфир 4-бутоксibenзойной кислоты (II) и гидрохлорид бис-N-β-хлорэтиламиноэтиловый эфир 1-фенилциклопентан-1-карбоновой кислоты (III) [2], оказывающие сильное мутагенное действие на микроорганизмы. Исследование проводилось на биомеханических мутантах: *E. coli* P-678, аукоотрофного по треонину, и *A. rimosus* 222, аукоотрофного по лизину. Мутагенное действие соединений изучалось методом получения кривых «доза—эффект» и определялось по частоте встречаемости ревертантов от аукоотрофного к прототрофному состоянию по локусам, ответственным за синтез треонина и лизина. Растворы биологически активных химических соединений (при 0,05-молярной концентрации) готовились на жидкой минимальной среде Адамса (1,0 г—NH₄Cl; 1,5 г—KH₂PO₄; 3,5 г—Na₂HPO₄; 0,1 г—MgSO₄ и 1000 мл дистиллированной воды). Тест-объекты обрабатывались препаратами I, II в течение 30 мин, препаратом III—10 или 30 мин. Для определения выживаемости бактерий по 0,1 мл взвеси культур в разбавлении 1:10⁴, 1:10⁵ и 1:10⁶ высевалось на поверхность агаризованной полужидкой среды в чашках Петри и инкубировалось в течение 24 (кишечная палочка) и 96 ч (актиномицеты). В качестве полноценной среды для кишечной палочки служил мясопептонный агар, для актиномицетов—среда ПС-1 (5 г—NaCl, 50 мл горохового экстракта, 30 мл 40%-ного раствора глюкозы и 1000 мл дистиллированной воды). Для определения обратных мутаций 0,1 мл взвеси обработанных штаммов бактерий в разбавлении 1:10² высевалось на поверхность агаризованной минимальной среды в чашках Петри. В эту среду перед применением дополнительно вносится 10 мл 40%-ного раствора глюкозы и по 5 мл 0,2%-ного раствора L-треонина (для кишечной палочки) или L-лизина (для актиномицетов). Контролем служили штаммы бактерий, выращенные в идентичных условиях, но не обработанные химическими соединениями. Процент выживших бактерий и индуцированных ревертантов

определялся путем сравнения числа колоний микроорганизмов, выращенных на соответствующих питательных средах в опытных чашках и в контрольных.

В опытах, где определялось влияние МП на мутагенез, взвеси культур обрабатывались химическими соединениями, предварительно подвергнутыми воздействию МП. Для этой цели стеклянная стерилизованная ампула емкостью 1 мл с раствором изучаемого препарата помещалась в постоянное МП с напряженностью в 14100 э и приводилась во вращение со скоростью 50 об/мин в течение 10 мин.

В тех случаях, когда определялось влияние одного МП на выживаемость бактерий, последние обрабатывались только постоянным МП. Параллельно изучалось и влияние МП на жидкую минимальную среду Адамса.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения влияния МП на мутагенез, а также на микроорганизмы и минимальную среду представлены в таблице, из данных которой видно, что химические соединения при низких процентах выживаемости кишечной палочки оказывают сильное мутагенное действие, индуцируя прототрофные варианты в 100—250 раз больше, чем в контроле (спонтанные мутации).

Таблица
Летальное и мутагенное действие постоянного МП и химических соединений при самостоятельном и совместном их воздействии на тест-объекты

Условия опыта	Escherichia coli P-678 thr ⁻			Actinomyces rimosus 222 lys ⁻		
	Выживаемость, %	Встречаемость ревертантов на 10 ⁶ выживших клеток		Выживаемость, %	Встречаемость ревертантов на 10 ⁶ выживших спор	
		число	% к контролю		число	% к контролю
Контроль	100,0	8±0,65	100	100	7±0,4	100
I	0,14	800±72	10000	2,94	175±14	2500
II	0,1	1000±86	12500	0,44	1456±122	20800
III	0,01	2000±172	25000	0,12	2912±186	41600
МП	75,0	6,2±0,4	77,5	25,0	16,8±1,2	240
среда+МП	96,0	8,9±0,7	110	95,0	7,0±0,6	100
I+МП	5,0	11,2±1,2	440	29	28±3,2	400
II+МП	1,4	284±32	3550	11,8	126±7,8	18,0
III+МП	0,12	1000±98	12500	0,4	2331±240	33300

В случаях, когда клетки этих бактерий обрабатываются препаратом, предварительно подвергнутыми воздействию МП, значительно увеличивается их выживаемость и заметно снижается мутагенное действие исследуемых соединений. Наиболее сильно это проявлялось при применении N-(4-бутоксibenзил)-5,6-дигидротиоурацила (I), обработанного МП: выживаемость кишечной палочки повысилась более чем в 35 раз, а мутагенное действие препарата снизилось более чем в 22 раза. Из данных таблицы, кроме того, следует, что на актиномицетах при несколько более высокой выживаемости спор исследуемые соединения также оказывают заметное мутагенное действие, вызывая мутации, превышающие контроль в 25—416 раз. Эти же соединения, предварительно обработанные МП, действуют мягче и на актиномицеты—уменьшается их летальное и мутагенное действие. Наиболее сильное действие МП оказывает на гидрохлорид бис-N-β-хлорэтиламиноэтиловый эфир 4-бутоксibenзойной кислоты (II), увеличивая процент выживаемости клеток актиномицетов примерно в 26 раз и снижая процесс мутагенеза более чем в 11 раз.

Степень влияния МП на выживаемость клеток и на появление мутации зависит от тест-объекта (табл.): выживаемость кишечной палочки и число мутации по сравнению с контрольным уровнем она снижает примерно на 25%, в то время как в отношении актиномицетного штамма оказывает сравнительно более сильное действие, снижая выживаемость клеток на 75% и индуцируя ревертанты в 2,4 раза.

В таблице приведены также результаты изучения влияния МП на жидкую минимальную среду, в которой растворялись препараты и разбавлялись штаммы культуры. Оказалось, что МП не влияет на эту среду, и полученные данные почти полностью совпадают с результатами контрольных опытов.

Таким образом, МП в определенной степени влияет на исследованные нами химические соединения, поскольку летальное и генетическое действие их на биологические объекты существенно снижается.

При воздействии на среду, в которой выращиваются клетки бактерий, МП влияет как на их выживаемость, так и на индукцию мутаций, а степень этого влияния зависит от тест-объекта.

Институт тонкой органической химии
им. А. Л. Мнджояна АН Армянской ССР

Поступило 30.IX 1981 г.

**ՀԱՍՏԱՏՈՒՆ ՄԱԳՆԻՍԱԿԱՆ ԴԱՇՏԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻՉՄԱՆԵՐԻ ԵՎ ՄԻ ՔԱՆԻ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՄՈՒՏԱԳԵՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

Լ. Վ. ԽԱԶՆԱԿԻԱՆ, Ս. Կ. ԽԱՉԱՏՈՒՐԻԱՆ, Գ. Մ. ՊԱՐՈՆԻԿԻԱՆ,
Գ. Ա. ԴԱՐԲԻՆԻԱՆ, Վ. Ա. ԳԵՐՈՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է հաստատուն մագնիսական դաշտի (ՄԴ) ազդեցությունը մոտադենեզի, միկրոօրգանիզմների և Ադամսի միջավայրի վրա: Ուսումնասիրությունները տարվել են Escherichia coli P—678 և Actinomyces rimosus 222 միկրոօրգանիզմների վրա: ՄԴ-ի ազդեցությանն են ենթարկվել ազոտ պարունակող մի շարք օրգանական միացություններ:

Ստացված արդյունքներն ապացուցում են, որ ՄԴ-ն որոշակիորեն բարձրացնում է ուսումնասիրվող շտամների կենսունակությունը. այս փաստը ցույց է տալիս, որ շտամների վրա ազդող քիմիական նյութերը ՄԴ-ի ազդեցության տակ պակասեցնում են իրենց թունավոր հատկությունները և որոշ չափով կորցնում մոտադեն ազդեցությունը:

Հաստատված է, որ Ադամսի միջավայրը, որի վրա աճեցվել են ուսումնասիրվող շտամները, ՄԴ-ի ազդեցությունից իր հատկությունները չի փոխում:

**INFLUENCE OF THE CONSTANT MAGNETIC FIELD UPON
MICROORGANISMS AND UPON THE MUTAGENIC ACTION
OF SOME CHEMICAL COMPOUNDS**

L. V. KHAZHAKIAN, S. K. KHACHATURIAN, G. M. PARONIKIAN,
G. A. DARBINIAN, V. A. GUEBOYAN

The influence of the constant magnetic field (MF) upon mutagenesis, microorganisms and Adam's medium has been studied.

The obtained results show that MF considerably increases the survival rate of the investigated strains; this is indicative of the fact that the toxic properties and the mutagenic action of the chemical compounds are reduced under the influence of MF.

It has also been established, that when treated by MF there were no changes in Adam's medium.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даниленко И. И., Мирутенко В. И. Молекулярная генетика и биофизика, вып. 1, 117—123. Киев, 1976.
2. Калдрикян М. А., Гебоян В. А., Арсенян Ф. Г., Гарибджанян Б. Т., Ароян А. А. Хим. фарм. ж., 6, 56—59, 1976.
3. Моргунов И. И. Проблемы клинической патологии, 105—109. Рязань, 1966.
4. Оганесян Р. О. Изменение физиологических свойств катехоламинов под действием переменного магнитного поля. Ереван, 1980.
5. Пирюзян Л. А., Глезер В. М., Деметьев В. А., Ломоносов В. А., Чибрикян В. М. Изв. АН СССР, сер. биол., 4, 535—539, 1970.
6. Стрижижовский А. Д., Галантинова Г. В. Цитология, 18, 2, 330—335, 1976.
7. Смирнова Н. П. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 87, 1, 21—24, 1979.
8. Musil F. Klinische Medizin, 4, 163, Wien, 1967.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 633.16:631 524

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ СОРТООБРАЗЦОВ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ПРЕДГОРНОЙ ЗОНЫ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

Р. С. БАБАЯН, А. Т. МКРІЧЯН

Изучались 140 сортообразцов озимого ячменя в условиях предгорной зоны Араратской равнины. Выявлено широкое разнообразие важных селекционных показателей—скороспелости, продуктивности, неполегаемости, зимостойкости и др. Ряд сортообразцов выделен для использования в мутационной и комбинативной селекции этой культуры.

Ключевые слова: ячмень озимый, селекция.

Известно, что сорта сельскохозяйственных культур в полной мере реализуют потенцию продуктивности лишь в определенных условиях внешней среды и агротехники. Пластичность сортов—генетически детерминированный, реально существующий признак. Но, как отмечают ряд исследователей [1—3], она имеет пределы и не может быть абсолютной. Поэтому изучение сортообразцов в конкретных агро-климатических условиях очень важно для выявления наиболее подходящих форм с целью использования их в селекции и в производстве.

Богатейшая коллекция сортообразцов Всесоюзного института растениеводства им. Н. И. Вавилова включает более 12 тысяч сортов и форм культурного ячменя и его диких сородичей со всех континентов

земного шара. Эффективное использование этой коллекции в различных программах селекции имеет важное значение.

Многочисленными исследованиями установлено, что параметры различных, представляющих селекционную ценность признаков, особенно количественных, проявляют широкий диапазон изменчивости в зависимости от условий выращивания [1, 2, 4, 5]. Пределы этой изменчивости различны у разных сортов и форм, что делает необходимым изучение сортообразцов в конкретных условиях с целью выявления перспективных доноров по тем или иным признакам, а также целесообразных для мутагенных воздействий и индукции мутантов генотипов.

В прочих равных условиях озимые сорта ячменя дают значительно больший урожай, чем яровые. Одним из главных показателей, лимитирующих расширение посевных площадей озимого ячменя, является его слабая зимостойкость. Поскольку этот признак является полигенным, то для создания озимых сортов с высокой зимостойкостью необходим подбор соответствующих форм для гибридизации и мутагенных воздействий. Изучение сортообразцов в этом аспекте также представляет немаловажный интерес.

В условиях предгорной зоны Араратской равнины (Мерцаванский ЗОС Арм. НИИ земледелия) с 1977 г. проводятся опыты по изучению сортообразцов озимого ячменя из мировой коллекции ВИР, подобранных в основном по признаку зимостойкости. За период 1977—80 г. были изучены 140 сортообразцов. В настоящей работе приводятся некоторые данные об этих образцах.

Материал и методика. Изучение сортообразцов проводилось по методике, применяемой в селекционных опытах для селекционных и контрольных литомников. Размер делянки 1—5 м², повторность опытов 1-, 2-кратная, через каждые 10 номеров высевались стандартные, районированные в АрмССР сорта Паллидум местный и Нахичеванданы.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что сортообразцы существенно различаются продолжительностью вегетационного периода. Если у сортов Паллидум местный и Нахичеванданы она составляла 231—234 дней, то у изученных сортообразцов этот показатель колебался в пределах 221—241 дней, т. е. амплитуда составляла примерно 20 дней. Известно, что этот признак имеет важное производственное значение для низменных и предгорных зон, где после уборки зерновых, как правило, поле отводится под пожнивные культуры. Изученные сортообразцы по продолжительности вегетационного периода распределялись таким образом: позднеспелые (234—241 дней)—12, среднеспелые (224—233 дней)—97, раннеспелые (менее 224 дней)—10. Наиболее скороспелыми оказались УР 235 (К22718, Франция), Манон×Арес 69 (К22720, Франция), Хозера 127/1 (К19388, Израиль), Макуелоне (К19962, Франция).

Сортообразцы существенно различались высотой растений. Известно, что основным направлением селекции на настоящем этапе является выделение короткостебельных, устойчивых к полеганию сортов интенсивного типа. Хотя изученные сортообразцы в этом отношении отражали в основном прошедший этап в селекции ячменя, тем не менее

среди них имелись и такие, которые с успехом можно использовать в качестве доноров короткостебельности. Это в первую очередь относится к сортообразцам из Японии. По высоте растений они распределялись так: высокорослые (110 см и более)—39, среднерослые (90—110 см)—67 и короткостебельные (ниже 90 см)—13. Наиболее короткостебельными оказались: 69—518—55 (К21942, США), Ваше гадака (К22094, Япония), Франце деа (К19822, Франция), Гаррисон (К19609, США), Сликаи гадака 12 (К21361, Япония). Для сравнения отметим, что в этих же условиях высота растений составляет у Паллидума местного $107,3 \pm 3,4$, Нахичеванданы— $96,4 \pm 3,1$.

Таблица

Характеристика некоторых сортообразцов озимого ячменя

№ по журналу	№ по каталогу ВЦР	Сорт	Вегетационный период, дни		Высота растений, см	Длина колоса, см	Число зерен в колосе, шт	Масса зерен с колоса, г	Масса 1000 зерен, г	Бурья ржавчина, балл	Мучнистая роса, балл
			всего	в фазе							
1	Стандарт	Паллидум местный	234	107	7,3	41,0	2,0	48,2	2	1	
2	Стандарт	Нахичеванданы	230	96	7,6	49,0	1,9	46,5	3	1	
3	22077	Донской	229	113	8,0	21,5	2,3	52,7	2	1	
7	22015	Призыв	234	130	6,7	38,6	2,2	58,0	1	1	
8	20442	Орион	231	135	8,4	55,0	2,3	42,5	3	0	
11	21908	Шолпан	226	95	6,2	37,5	2,1	56,0	3	1	
15	21946	Хоенчурм	232	111	7,8	41,0	2,0	46,1	3	2	
32	21942	65—518—55	232	65	6,0	26,1	1,2	44,8	1	0	
35	22094	Ваше гадака	235	65	5,0	32,5	1,5	44,8	1	1	
46	19177	Унумли арпа	226	102	8,6	20,3	1,5	59,2	1	1	
49	18192	Бета 40	234	105	8,7	55,0	2,9	51,8	0	0	
51	19425	Доминатор	228	111	8,9	47,5	2,4	49,4	1	1	
57	18485	Атлас	229	100	7,2	58,0	2,2	46,3	3	1	
59	19790	Одесский 46	229	104	7,9	51,0	2,7	53,5	2	1	
60	16948	Краснодарский 2929	231	96	8,7	54,6	2,3	41,9	2	1	
72	19927	Фогельзангер гольд	227	97	8,0	40,0	2,0	49,5	2	0	
73	19962	Макуелоне	221	91	6,0	30,1	1,5	48,3	3	0	
99	19822	Франце деа	236	65	7,8	43,9	2,2	49,4	1	0	
106	19609	Гаррисон	226	58	7,7	40,0	2,2	54,7	1	0	
113	19388	Хозера 127/1	221	95	5,1	31,0	1,8	58,7	2	1	

Изученные сортообразцы существенно различались также по параметрам элементов продуктивности. Так, например, масса зерна с одного колоса у сортов Паллидум местный и Нахичеванданы составляла соответственно $2,00 \pm 0,10$ и $1,90 \pm 0,12$ г. У других сортообразцов этот показатель колебался в пределах $0,61—3,10$ г. Высокой продуктивностью колоса отличались: Шолпан (К18108, СССР), Орион (К20442, СССР), Атлас (К18485, ФРГ), Бета 40 (К18192, Венгрия) и другие.

Масса 1000 зерен у сортов Паллидум местный и Нахичеванданы соответственно составляла $48,2 \pm 1,03$ и $46,5 \pm 0,33$ г. Этот показатель у изученных сортообразцов колебался в пределах $37,5—59,2$ г. Наибольшей крупностью зерна отличались: Унумли арпа (К 19177, СССР, разновидность нутанс) и Хозера 127/1 (К19388, Израиль, разновидность паллидум). По этому показателю распределение было таким: 55 г и выше—7, 50—55 г—53 и меньше 45 г—19 сортообразцов.

По полевым наблюдениям и данным лабораторных опытов, сравнительно высокой зимостойкостью (холодоустойчивостью в лабораторных

условиях) отличались: Донской 6 (К2277, СССР), Хоентурм (К21946, ГДР), Краснодарский 1918 (К16947, СССР), Доминатор (К22025, ГДР), Фогельзангер гольд (К19927, ФРГ), Призыв (К22015, СССР), Одесский 46 (К19790, СССР), Астрикс (К21658, Франция).

Наблюдались существенные различия также в поражаемости сортообразцов бурой ржавчиной и мучнистой росой в полевых условиях. Сравнительно устойчивыми к этим заболеваниям оказались: Туркменский местный (К9300, СССР), Бета 40 (К18192, Венгрия), Бета Кетзорас (К18094, Венгрия), Малага (К19765, ФРГ), Краснодарский 1918 (К16947, СССР) и другие. Сорты Паллидум местный и Нахичеванданы поражались мучнистой росой в слабой степени, а бурой ржавчиной — в средней.

В таблице приведены показатели некоторых, перспективных для использования в гибридизации и мутагенезе сортообразцов.

Обобщая, можно заключить, что в сравнительно малочисленной группе сортообразцов (140) озимого ячменя наблюдалось достаточно широкое разнообразие изученных показателей. Выявлен ряд перспективных форм, которые можно успешно использовать в комбинированной и мутационной селекции.

Институт земледелия МСХ Армянской ССР

Поступило 4.III 1982 г.

**ԱՇՆԱՆԱՑԱՆ ԳԱՐՈՒ ՄԻ ՔԱՆԻ ՍՈՐՏԱՆՄՈՒՇՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ
ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ ՀԱՐԹԱՎԱՅՐԻ ՆԱԽԱԼԵՈՒԱՅԻՆ ԳՈՏՈՒ
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Ռ. Ս. ԲԱԲԱՅԱՆ, Ա. Տ. ՄԿՐՏՉՅԱՆ

Արարատյան հարթավայրի նախալեռնային գոտու պայմաններում (Մեր-ձավան) ուսումնասիրվել են աշնանացան գարու 140 սորտանմուշներ (բուսաբուծության համամիութենական ինստիտուտի համաշխարհային հավաքածուից): Նկատվել է լայն բազմազանություն մի շարք սելեկցիոն արժեքավոր հատկանիշների տեսակետից: Առանձնացվել են տվյալ պայմաններում այդ հատկանիշներով օժտված մի շարք սորտեր՝ մուտացիոն և հիբրիդային սելեկցիայում զգտադործելու նպատակով:

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF SOME CULTIVARS
OF WINTER BARLEY IN THE CONDITIONS OF FOOT-HILL
ZONE OF THE ARARAT VALLEY**

R. S. BABAYAN, A. T. MKRTCHIAN

140 cultivars of winter barley have been studied in the conditions of foot-hill zone of the Ararat valley.

A large diversity of selection of valuable attributes is noticed. Suitable sorts have been marked.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Трофимовская А. Я. Ячмень. Л., 1972.
2. Виле Т. А. Ячмень. М., 1973.
3. Пухальский А. А., Цилке Р. А. Селекция и семеноводство, 2, 14—19, 1978.
4. Трофимовская А. Я., Лукянова М. В. Тр. ВНИИ растениеводства, 60, 1, 51—57, 1977.
5. Ильичов Г. Бюллетень ВИР, 94, 21—26, 1979.

УДК 663.2.252.41/.256 (479.25)

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ДРОЖЖЕВОЙ ГУЩИ ВИНОДЕЛИЯ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

Б. П. АВАКЯН, Л. С. ВАРТАНЯН, Н. А. ТЕР-БАЛЯН

Установлено, что в дрожжевой гуще виноделия содержится 17 аминокислот, количество которых при хранении изменяется. До определенного срока хранения оно увеличивается до 30, 350 мг в 300 мг с. с. гущи, а при продолжительном хранении в теплых помещениях уменьшается вследствие развития в ней нежелательной микрофлоры и, естественно, приводит к порче дрожжевой гущи.

Ключевые слова: дрожжевая гуща, аминокислоты, виноделие.

Одним из отходов виноделия (10—12%) является дрожжевая гуща, в состав которой входят винные дрожжи, содержащие множество ценных биоактивных соединений (жиры, углеводы, витамины, ферменты, белки, аминокислоты и др.). В дрожжах содержатся все необходимые аминокислоты. В процессе хранения дрожжевой гущи в ней развиваются дикие дрожжи, бактерии и плесени. Бактерии и плесневые грибы в процессе своего метаболизма образуют органические кислоты—лимонную, фумаровую, глюконовую, молочную, итаконовую, уксусную и др.). Многие плесневые грибы (*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* и др.) образуют значительное количество лимонной, щавелевой, фумаровой, глюконовой, янтарной, яблочной и других органических кислот, обладающих способностью превращаться друг в друга. Известно также, что янтарная и фумаровая кислоты синтезируются микроорганизмами из уксусной кислоты. В свою очередь органические кислоты являются одним из исходных материалов для синтеза аминокислот [4].

Исследовано влияние органических кислот на синтез свободных внутриклеточных аминокислот у бактерий; при этом установлено, что бактерии способны аминировать органические кислоты, в частности кетокислоты, с образованием аминокислот [6]. Реакция образования аминокислот путем прямого аминирования кетокислот аммиаком подтверждает предположение о непосредственной связи между обменом углеводов и обменом аминокислот и белков. Все аминокислоты, кроме аспарагиновой, глутаминовой и аланина, получают свою аминогруппу в результате переаминирования с одной из «первичных» аминокислот [3].

Исходя из того, что дрожжевая гуща виноделия содержит много ценных биоактивных соединений [1], в частности аминокислот, мы исследовали ее аминокислотный состав и его изменение в процессе хранения с целью дальнейшего использования в народном хозяйстве.

Материал и методика. Исследовалась дрожжевая гуща виноделия, взятая из винных заводов Араратской равнины—Арташатского, Аштаракского, Эчмиадзинского и Октемберянского. Анализ проводился раз в 2 месяца. Было исследовано 5 партий гущи: I партия—22/XI—79 г. (при температуре хранения 10—12°), II—13/II—80 г.

(при 5—10°), III—29/IV—80 г. (при 10—15°), IV—24/VI—80 г. (при 12—18°), V—18/VIII—80 г. (при 12—15°).

Подготовку дрожжевой гущи к анализам проводили по методике Авакянца, 1980 г. [2], исходя из которой отфильтрованная гуща разбавлялась водой (с соотношением 1:10, при температуре воды 30°), добавлялась сода (кальцинированная) и этот состав перемешивался при температуре 30° в течение часа. Затем гуща фильтровалась, высушивалась в термостате при температуре 30—35°, размельчалась и в ней определялись внутриклеточные свободные и связанные аминокислоты.

Исследования свободных и связанных аминокислот проводились по методике Тер-Карапетяна и др. [5]. Свободные аминокислоты определялись следующим образом: к определенному количеству сухой растертой гущи добавляли 80%-ный спирт (для 100 мг—3 мл) и на 30 мин ставили на водяную баню с обратным холодильником при температуре не более 79°. Затем помещали в холодильник на сутки, после центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Центрифугат, в котором содержатся свободные аминокислоты, выпаривали.

В оставшемся после центрифугирования осадке определяли связанные аминокислоты. Осадок высушивали, затем осуществляли гидролиз 6н HCl (на 100 мг сухой гущи 5 мл 6н HCl) в течение 4 ч. После гидролиза в центрифужные пробирки добавляли 80%-ный этиловый спирт с тем, чтобы он составлял 3% общего количества гидролиза, после чего центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Центрифугат выпаривали при температуре 40°. Анализы проводились на аминокислотном анализаторе марки ААА-881.

Результаты и обсуждение. В дрожжевой гуще выявлено 17 аминокислот; лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, треонин, серин, глютаминовая кислота, пролин, глицин, аланин, цистин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, тирозин, фенилаланин. Определено содержание свободных и связанных аминокислот в свежей дрожжевой гуще и в процессе хранения. Содержание свободных и связанных аминокислот в дрожжевой гуще Арташатского винного завода дано в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в свежей дрожжевой гуще у свободных аминокислот наибольшее содержание пролина—0,989 мг, аланина—0,224 мг, лейцина—0,148 мг, а наименьшее содержание метионина—0,007 мг. Цистин не обнаружен. В процессе хранения (до IV партии) количество свободных аминокислот постепенно уменьшается, доходя у пролина до 0,078 мг, аланина—0,018 мг, лейцина—0,011 мг. Из связанных же аминокислот (табл. 1) в свежей дрожжевой гуще (I партия) доминируют: глютаминовая кислота—2,705 мг, аспарагиновая кислота—2,342 и лизин—1,597 мг. В процессе хранения наблюдается увеличение количества связанных аминокислот. Через 2 месяца (II партия) количество глютаминовой кислоты составляет 3,400 мг, аспарагиновой кислоты—2,890 мг, лизина—1,920 мг. Спустя 4 месяца (III партия) оно уже доходит у глютаминовой кислоты до 3,450 мг, у аспарагиновой—3,110 мг, лизина—2,230 мг.

При дальнейшем хранении отмечается та же тенденция.

Подобная же картина наблюдается в дрожжевой гуще других винных заводов.

Максимальное содержание аминокислот обнаружено в дрожжевой гуще Октемберянского винного завода (табл. 2). Из таблицы видно, что у свободных аминокислот доминируют пролин—0,547 мг, лейцин—0,042 мг, аланин—0,090 мг. Количество пролина намного превышает содержание других аминокислот. Гистидина и метионина почти нет—

Таблица 1

Содержание свободных и связанных аминокислот дрожжевой гущи
Арташатского винного завода, мг на 300 мг сухого веса

Аминокислоты	Свободные аминокислоты				Связанные аминокислоты			
	I партия 22/XI—79 г.	II партия 13/II—80 г.	III партия 29/IV—80 г.	IV партия 24/VI—80 г.	I партия 22/XI—79 г.	II партия 13/II—80 г.	III партия 29/IV—80 г.	IV партия 24/VI—80 г.
Лизин	0,082	0,090	0,006	0,013	1,597	1,920	2,230	2,350
Гистидин	0,015	следы	0,003	следы	0,637	0,700	0,633	0,700
Аргинин	0,055	0,050	0,005	следы	0,862	1,030	0,980	1,030
Аспарагиновая кислота	0,079	0,080	0,005	0,014	2,342	2,890	3,110	3,160
Треонин	0,035	0,040	0,002	0,006	0,879	1,120	1,110	1,180
Серин	0,050	0,050	0,009	0,011	1,153	1,500	1,490	1,580
Глютаминовая кислота	0,083	0,120	0,024	0,027	2,705	3,340	3,450	3,560
Пролин	0,989	0,600	0,047	0,078	1,430	1,420	1,290	1,400
Глицин	0,049	0,030	0,004	0,006	1,529	1,770	1,880	1,910
Аланин	0,224	0,150	0,014	0,018	1,677	1,900	2,040	2,120
Цистин	—	—	—	—	следы	следы	следы	следы
Валин	0,096	0,090	0,005	0,008	0,708	0,730	0,870	0,950
Метионин	0,007	следы	—	следы	0,234	0,250	0,390	0,430
Изолейцин	0,067	0,060	0,004	0,005	0,478	0,580	0,560	0,600
Лейцин	0,148	0,150	0,007	0,011	1,394	1,730	1,810	1,960
Тирозин	0,068	0,070	0,006	0,005	0,853	0,770	0,960	0,980
Фенилаланин	0,079	0,080	0,007	0,007	0,777	0,880	1,040	1,090
Сумма	2,126	1,639	0,153	0,209	19,255	22,580	23,840	26,000

Таблица 2

Содержание свободных и связанных аминокислот дрожжевой гущи
Октемберянского винного завода, мг на 300 мг сухого веса

Аминокислоты	Свободные аминокислоты				Связанные аминокислоты			
	I партия 22/XI—79 г.	II партия 13/II—80 г.	III партия 29/IV—80 г.	IV партия 24/VI—80 г.	I партия 22/XI—79 г.	II партия 13/II—80 г.	III партия 29/IV—80 г.	IV партия 24/VI—80 г.
Лизин	0,033	0,150	0,008	0,017	1,928	2,600	2,830	2,820
Гистидин	следы	следы	следы	—	0,478	0,800	0,770	0,780
Аргинин	0,033	0,140	0,007	следы	1,114	1,400	1,330	1,290
Аспарагиновая кислота	0,038	0,140	0,012	0,017	3,100	3,500	3,990	3,880
Треонин	0,017	0,080	0,005	0,010	1,154	1,410	1,440	1,450
Серин	0,030	0,110	0,009	0,015	1,404	1,880	2,020	1,950
Глютаминовая кислота	0,033	0,200	0,026	0,024	3,277	3,910	4,260	4,250
Пролин	0,547	0,410	0,073	0,046	1,483	1,620	1,520	1,580
Глицин	0,019	0,050	0,006	0,006	1,679	1,880	2,100	2,050
Аланин	0,090	0,200	0,016	0,023	2,142	2,230	2,600	2,530
Цистин	—	—	—	—	следы	следы	следы	следы
Валин	0,050	0,130	0,007	0,017	0,927	1,060	1,150	1,160
Метионин	следы	следы	—	следы	0,307	0,310	0,540	0,410
Изолейцин	0,017	0,090	0,005	0,008	0,650	0,720	0,750	0,770
Лейцин	0,042	0,320	0,014	0,026	1,869	2,110	2,390	2,380
Тирозин	0,028	0,160	0,006	0,002	1,020	1,210	1,160	1,150
Фенилаланин	0,025	0,180	0,008	0,012	1,020	1,200	1,300	1,330
Сумма	0,952	2,360	0,202	0,223	23,552	27,840	30,150	29,780

отмечены только следы, а цистин не обнаружен. Исследования выявили уменьшение содержания свободных аминокислот до IV партии включительно.

Из табл. 2 видно также, что из связанных аминокислот в свежей дрожжевой гуще (I партия) преобладают: глютаминовая кислота—3,277 мг, аспарагиновая кислота—3,100 мг, лизин—1,928 мг, аланин—2,142 мг. После 2-х месяцев хранения содержание аминокислот доходит: глютаминовой—до 3,900 мг, аспарагиновой—3,500 мг, лизина—2,600 мг, аланина—2,230 мг. К концу 4-го месяца происходит максимальное увеличение: глютаминовой кислоты—до 4,260 мг, аспарагиновой кислоты—3,990 мг, лизина—2,830 мг. Начиная с IV партии наблюдается уменьшение их количества: глютаминовсй кислоты—4,080 мг, аспарагиновой кислоты—3,610, лизина—2,710 мг.

Сумма свободных и связанных аминокислот дрожжевой гущи вышеуказанных винных заводов дана в табл. 3.

Таблица 3.

Сумма свободных и связанных аминокислот дрожжевой гущи различных винных заводов в процессе хранения, 300 мг сухого веса

Винные заводы	I партия, 22/XI—79 г.	II партия, 13.II—80 г.	III партия, 29/IV—80 г.	IV партия, 24 VI—80 г.
Арташатский	21,380	24,219	23,993	26,209
Аштаракский	18,057	19,420	21,124	25,025
Эчмиадзинский	23,798	29,650	28,870	28,873
Октемберянский	24,504	30,200	30,352	30,003

Как видно из табл. 3, наибольшее суммарное количество свободных и связанных аминокислот содержится в дрожжевой гуще Октемберянского винного завода, причем в III партии оно достигает максимума—30,352, т. е. больше 10%.

Таким образом, при хранении дрожжевой гущи до 6-ти месяцев наблюдается уменьшение внутриклеточных свободных и увеличение связанных аминокислот. Соответственно изменяется сумма свободных и связанных аминокислот. При дальнейшем хранении, по-видимому, вследствие повышения температуры и соответственно активации деятельности микроорганизмов, количество аминокислот уменьшается.

Институт виноградарства, виноделия и плодоводства

МСХ Армянской ССР

Поступило 5.III 1982 г.

ԳԻՆԵԳՈՐԾՈՒԹՅԱՆ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԱՅԻՆ ԴՈՒՐԴԻ ԱՄԻՆԱԹՎԱՅԻՆ
ԿԱԶՄԸ ԵՎ ՆՐԱ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՊԱՀՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Բ. Պ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Լ. Ս. ՎԱՐԳԱՆՅԱՆ, Ն. Հ. ՏԵՐ-ԲԱԼՅԱՆ

Շաքարասնկային դուրդի մեջ հայտնաբերվել են 17 ամինաթթու, որոնց մեջ որպես ազատ ամինաթթուներ գերակշռում են պրովինը, ալանինը և լեյ-

ցինը, իսկ որպես կապված՝ գլուտամինաթթուն, ասպարագինաթթուն և լիզինը:

Փորձերը ցույց են տվել, որ շաքարասնկային դուրդը մինչև վեց ամիս պահելու դեպքում աստիճանաբար նվազում է նրա ներքջային ազատ ամինաթթուների քանակը և ավելանում են կապված ամինաթթուները: Պահման ժամանակի ավելացման հետ, որը համընկնում է պահամանների ջերմաստիճանի բարձրացման (ամառվա ամիսներին), նկատվում է որոշ ամինաթթուների փշացում, որն ըստ երևույթին պայմանավորված է դուրդի մեջ տարբեր միկրոօրգանիզմների կենսագործունեության ակտիվացումով:

AMINOACID INGREDIENTS OF WINE LEES AND ITS CHANGES IN THE PROCESS OF STORAGE

B. P. AVAKIAN, L. S. VARTANIAN, N. H. TER-BALIAN

It has been established that wine lees contains seventeen amino-acids and this number changes at storage. It increases to 30,35 mg in 300 mg of dry lees after a definite time of storage and decreases during a long-term storage in warm places, which is conditioned by development of undesirable microflora and natural spoilage of wine lees.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Б. П., Арзуманян П. Р., Авакянц С. П. Авторское свидетельство Госкомизобретений, № 422768, 1974. «Новый способ утилизации дрожжевой гущи и других осадков виноделия с целью получения биоактивного продукта для животноводства», 1974.
2. Авакянц С. П. Биохимические основы технологии шампанского. 351, М., 1980.
3. Коновалов С. А. Биохимия дрожжей. М., 1980.
5. Тер-Карапетян М. А. и др. Биолог. ж. Армении, 21, 11, 1968.
6. Шапошников В. Н., Орлова И. Г. Журнал общей, сельхоз. и пром. микробиологии. 34, вып. 4, 1965.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 595.7+595.77+591.526+577.95+577.472

ПРОСТЕЙШАЯ МОДЕЛЬ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ОДНОВОЗРАСТНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМОВ С ПАРАБОЛИЧЕСКИМ ВЕСОВЫМ РОСТОМ

И. С. ОСТРОВСКИЙ

В работе проанализированы продукционные характеристики и их соотношения в популяциях организмов с параболическим типом весового роста на примере личинок *Ch. plumosus*. С помощью модели исследованы возможные значения P/V коэффициентов и некоторые практические способы их определения.

Ключевые слова: параболический тип весового роста, продукция, P/V коэффициент, личинки *Chironomus plumosus*.

Параболический весовой рост свойствен многим организмам на определенных этапах развития: насекомым—на стадии личинки, жопеподам—в период соматического роста и др. [5]. Некоторые из этих животных, например, личинки хирономид, играют существенную, а порой и определяющую роль в продукционном процессе ряда водоемов. Поэтому задачей настоящего исследования послужило выяснение с помощью простой модели особенностей продукционного процесса в элементарных природных популяциях животных с параболическим типом весового роста.

Описание и свойства модели. Процесс продуцирования органического вещества сообществом организмов рассматривается в соответствии с формализацией определения вторичной продукции, выполненной Полищукон и Романовским [24]. При расчете модели принят ряд допущений, упрощающих задачу исследования: оптимальность и неизменность условий среды, упрощение структуры сообщества и детерминизм модели. Эти допущения неоднократно применялись и детально обсуждались при решении аналогичных задач [4, 19, 33, 41 и др.].

В основу настоящей модели положена экспоненциальная убыль численности генерации (когорты)—группы из N растущих, но не размножающихся одновозрастных особей со средним весом W :

$$N(t) = N_0 \cdot e^{-\beta t} \quad (1)$$

и параболический весовой рост особей

$$W(t) = W_1 \cdot t^k, \quad (2)$$

где $N(t)$ —численность генерации в момент времени t , N_0 —начальная численность генерации, β —коэффициент смертности, $W(t)$ —вес особи в момент времени t , W_1 и k —константы.

Для упрощения расчетов примем, что численность генерации в период эмбрионального развития особей также убывает согласно уравнению (1), а рост эмбрионов описывается уравнением (2). При этом их вес в момент времени $t=0$ примем равным нулю. Эти допущения вносят очень маленькие ошибки при расчетах конечной и средней биомассы, продукции и убыли органического вещества из генерации за период ее существования, а также отношений этих параметров при реальных значениях коэффициента β и при малом периоде развития эмбриона относительно всего периода роста (например, период эмбрионального развития личинок *Chironomus plumosus* L. составляет менее 4% времени жизни генерации).

В дальнейшем будем рассматривать процесс продуцирования органического вещества генерацией только за счет весового роста особей, а процесс убыли органического вещества—только за счет элиминации особей из генерации*. Тогда скорость продуцирования органического

* Строго говоря, величины продукции и убыли органического вещества должны включать в себя количество прижизненно отторгаемых особями веществ (экзувии, метаболиты и др.). Однако учет этих веществ не может нарушить справедливость балансовых равенств (5) и (10).

вещества генерацией $P(t)$ в момент времени t с учетом зависимостей (1) и (2) будет равна [19, 24, 38]:

$$P(t) = N(t) \cdot \frac{dW}{dt} = N_0 \cdot W_1 \cdot k \cdot (e^{-\beta t} \cdot t^{k-1}), \quad (3)$$

а скорость убыли органического вещества из генерации $E(t)$ в момент времени t равна [19]:

$$E(t) = W(t) \cdot \frac{dN}{dt} = -N_0 \cdot W_1 \cdot \beta \cdot (e^{-\beta t} \cdot t^k). \quad (4)$$

Биомасса генерации $B(t)$ в момент времени t равна $N(t) \cdot W(t)$, а скорость ее изменения представляет собой алгебраическую сумму скорости продуцирования и скорости убыли органического вещества [19]:

$$\frac{dB}{dt} = P(t) + E(t). \quad (5)$$

Подставив значения $P(t)$ и $E(t)$ из уравнений (3) и (4) в соотношение (5) и сделав соответствующие преобразования, получим:

$$\frac{dB}{dt} = P(t) + E(t) = B(t) \cdot \left(\frac{k}{t} - \beta \right). \quad (6)$$

Отсюда удельная скорость изменения биомассы в момент времени t будет равна:

$$\frac{dB}{dt} \cdot \frac{1}{B(t)} = \frac{k}{t} - \beta. \quad (7)$$

Удельная скорость изменения веса особи в момент времени t равна [15]:

$$\frac{dW}{dt} \cdot \frac{1}{W(t)} = \frac{W_1 \cdot k \cdot t^{k-1}}{W_1 \cdot t^k} = \frac{k}{t}. \quad (8)$$

Удельная скорость убыли численности генерации в момент времени t равна:

$$\frac{dN}{dt} \cdot \frac{1}{N(t)} = -\beta. \quad (9)$$

Сопоставив уравнения (7), (8) и (9), можно заключить, что удельная скорость изменения биомассы генерации представляет собой алгебраическую сумму удельных скоростей убыли численности (удельной смертности) генерации и весового роста особей:

$$\frac{dB}{dt} \cdot \frac{1}{B(t)} = (-\beta) + \frac{dW}{dt} \cdot \frac{1}{W(t)} = \frac{dN}{dt} \cdot \frac{1}{N(t)} + \frac{dW}{dt} \cdot \frac{1}{W(t)}.$$

Полученное выражение позволяет определить смертность животных по данным их весового роста и динамики биомассы генерации.

Приравняв $\frac{dB}{dt}$ (зависимость (6)) к нулю, нетрудно определить момент времени t_m , в который биомасса генерации достигает или может достигнуть (при данных скоростях роста и смертности) максимальной возможной величины $B(t_m)$: $t_m = k/\beta$.

Чтобы выразить время жизни разных генераций в соизмеримых величинах с целью облегчения сопоставлений динамики численности, биомассы и т. п., и для удобства расчетов введем относительную переменную ξ , которая показывает, насколько близко находится любой (текущий) момент времени существования генерации t от фиксированной (для данной генерации) величины t_m :

$$\xi = \frac{t}{t_m} = \left(\frac{\beta}{k} \right) \cdot t,$$

где β и k —в каждом конкретном случае константы. Подчеркнем, что переменная ξ несет смысл времени. В дальнейшем символом ξ_g будем обозначать момент завершения жизни генерации (для гетеротопных насекомых—момент окончания водного этапа развития). Соотношения $\xi_g < 1$, $\xi_g = 1$ или $\xi_g > 1$ выполняются, когда жизнь организмов (водный этап развития гетеротопных животных) завершается до, в момент или после (соответственно) достижения генерацией максимально возможной величины биомассы.

Перейдем от бесконечно малых отрезков времени к конечным.

Для упрощения дальнейших записей примем следующие обозначения неполных гамма-функций:

$$\int_0^{\xi} e^{-k\xi} \cdot \xi^{k-1} d\xi = \gamma(k); \quad \int_0^{\xi} e^{-k\xi} \cdot \xi^k d\xi = \gamma(k+1).$$

Продукция генерации за время ее существования $P(0, \xi_g)$ равна (рис. 1):

$$P(0, \xi_g) = \int_0^{\xi_g} P(\xi) d\xi = \sigma^{-1} \cdot k^{k+1} \cdot \gamma(k),$$

где $\sigma = N_0^{-1} \cdot W_1^{-1} \cdot \beta^k$ —константа. Убыль органического вещества за время существования генерации $E(0, \xi_g)$ равна (рис. 1):

$$E(0, \xi_g) = \int_0^{\xi_g} E(\xi) d\xi = -\sigma^{-1} \cdot k^{k+1} \cdot \gamma(k+1).$$

Используя свойство гамма-функции*, нетрудно показать, что алгебраическая сумма продукции и убыли органического вещества равна конечной биомассе $B(\xi_g)$ генерации** (рис. 1):

$$P(0, \xi_g) + E(0, \xi_g) = B(\xi_g), \quad (10)$$

где $B(\xi_g) = \sigma^{-1} \cdot k^k \cdot e^{-k\xi_g} \cdot \xi_g^k$.

* $\gamma(k+1) = \gamma(k) - k^{-1} \cdot \xi^k \cdot e^{-k\xi}$.

** Для личинок хирономид под конечной биомассой генерации (в случае нерастянутого вылета) следует понимать биомассу личинок непосредственно перед началом окукливания.

Параллельно отметим, что если отсчет времени жизни генерации вести не от точки, в которой вес особи равен нулю, а с момента вылупления молоди (с вполне определенным весом), будет справедливо следующее равенство: $P(0, \xi_g) + E(0, \xi_g) = B(\xi_g) - B(\xi_0)$, где $B(\xi_0)$ — биомасса выключившейся молоди (ξ_0 — момент вылупления). Динамика биомассы, накопление количества продукции и суммарная убыль органического вещества из генерации представлены на рис. 1.

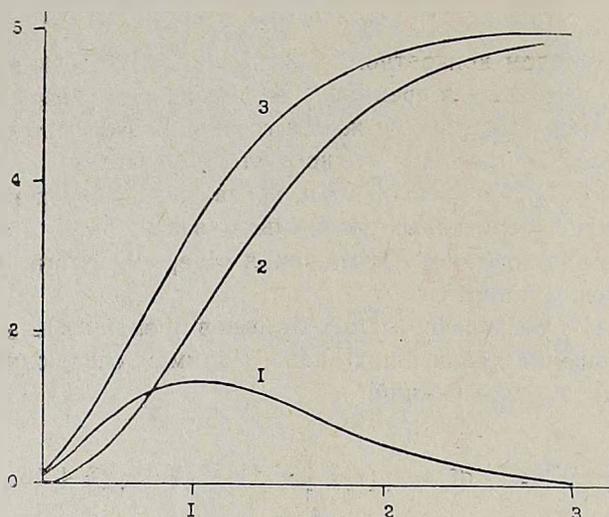


Рис. 1. Динамика биомассы (1), суммарная убыль органического вещества (2) и накопление количества продукции (3) в модельной генерации при $k=3$. По оси ординат: $\sigma \cdot B(\xi_g)$, $-\sigma \cdot E(0, \xi_g)$, $\sigma \cdot P(0, \xi_g)$ (безразмерные величины), по оси абсцисс: ξ_g (безразмерная величина).

В ряде работ используется метод расчета продукции, основанный на определении величины элиминации [6, 29 и др.]. Этот метод подразумевает равенство количества продукции и убыли органического вещества из генерации за время ее существования (или стационарной популяции за год), что справедливо для гомотопных животных, у которых конечная биомасса генерации равна нулю. Как видно из равенства (10), количество продукции за время существования генерации гетеротопных животных в водной среде больше, чем количество органического вещества, убывшего за это же время, на величину конечной биомассы генерации (строго говоря, на величину биомассы вылетевших имаго). Поэтому некритическое применение указанного метода расчета продукции к популяциям гетеротопных животных может привести к заниженным результатам, а также к ошибкам при расчетах продукции стационарной популяции за отрезок времени, некратный году, а также нестационарной популяции за любой отрезок времени.

Для продукционных расчетов чрезвычайно важно знать P/V коэффициент сообщества. В литературе принято рассматривать два отношения: продукции генерации к средней (за период ее жизни) биомассе [8, 20 и др.] и к максимальной биомассе [1, 3, 10, 23, 25, 28, 35, 36 и др.]. Отметим, что средняя биомасса генерации \bar{B} равна:

$$\bar{B} = \xi_g^{-1} \cdot \int_0^{\xi_g} B(\xi) d\xi = \xi_g^{-1} \cdot \sigma^{-1} \cdot k^k \cdot \gamma(k+1),$$

а максимальная биомасса, достигаемая генерацией за период своего существования B_{\max} , равна:

$$\text{если } \xi_g < 1 \quad B_{\max} = B(\xi_g),$$

$$\text{если } \xi_g \geq 1 \quad B_{\max} = B(\xi = 1),$$

где $B(\xi_g)$ и $B(\xi = 1)$ — биомасса генерации в моменты времени ξ_g и $\xi = 1$, соответственно. Тогда функции P/\bar{B} коэффициентов представляют собой следующие выражения:

$$\frac{P(0, \xi_g)}{\bar{B}} = k \cdot \xi_g \cdot \frac{\gamma(k)}{\gamma(k+1)}$$

$$\frac{P(0, \xi_g)}{B_{\max}} = \begin{cases} = \frac{P(0, \xi_g)}{B(\xi_g)} = k \cdot \exp(k \cdot \xi_g) \cdot \xi_g^{-k} \cdot \gamma(k) & \text{если } \xi_g < 1, \\ = \frac{P(0, \xi_g)}{B(\xi_g = 1)} = k \cdot \exp(k) \cdot \gamma(k) & \text{если } \xi_g \geq 1. \end{cases}$$

Чрезвычайно важно отметить, что P/\bar{B} коэффициенты можно определить только величинами k и ξ . На рис. 2 и 3 представлены зависимости P/\bar{B} и E/\bar{B} коэффициентов от k (при $\xi_g = 1$) и от ξ_g (при $k = 3$).

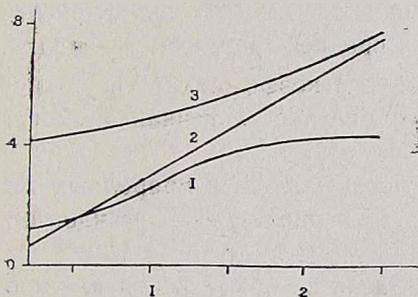
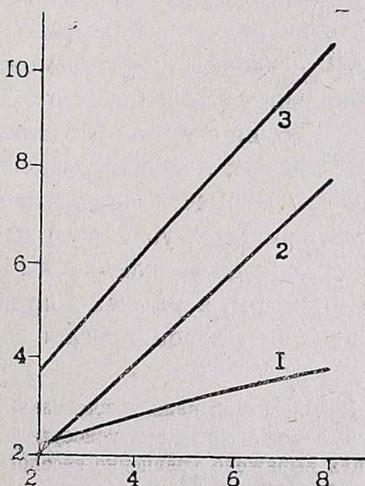


Рис. 3. Зависимости P/\bar{B} и E/\bar{B} коэффициентов модельной генерации от константы роста особей при $\xi_g = 1$. По оси ординат: $P(0, \xi_g)/B_{\max}$ коэффициент (1), $E(0, \xi_g)/\bar{B}$ коэффициент (2) и $P(0, \xi_g)/\bar{B}$ коэффициент (3) (безразмерные величины), по оси абсцисс: k (безразмерная величина)

Рис. 2. Зависимости P/\bar{B} и E/\bar{B} коэффициентов модельной генерации от времени ее существования при $k = 3$. По 'оси' ординат: $P(0, \xi_g)/B_{\max}$ коэффициент (1), $E(0, \xi_g)/\bar{B}$ коэффициент (2) и $P(0, \xi_g)/\bar{B}$ коэффициент (3) (безразмерные величины), по оси абсцисс: ξ_g (безразмерная величина)



Для более полного понимания продукционного процесса рассмотрим балансовое равенство (10). Разделив правую и левую части этого равенства на \bar{B} и определив P/\bar{B} коэффициент из этого соотношения, получим:

$$\frac{P(0, \xi_g)}{\bar{B}} = \frac{B(\xi_g)}{\bar{B}} - \frac{E(0, \xi_g)}{\bar{B}} \quad (11)$$

Величины $B(\xi_g)$ и \bar{B} определить на практике элементарно просто. Второй компонент правой части соотношения (11), E/\bar{B} коэффициент, равен:

$$\frac{E(0, \xi_g)}{\bar{B}} = -\xi_g \cdot k.$$

Тогда соотношение (11) можно переписать в виде:

$$\frac{P(0, \xi_g)}{\bar{B}} = \frac{B(\xi_g)}{\bar{B}} + \xi_g \cdot k \quad (11a)$$

или, если $\xi_g = 1$,

$$\frac{P(0, \xi_g)}{\bar{B}} = \frac{B(\xi_g = 1)}{\bar{B}} + k. \quad (12)$$

Для частного случая, уравнения (12), когда конечная биомасса генерации представляет собой максимально возможную величину, при данных скоростях роста и смертности ($\xi_g = 1$) нахождение P/\bar{B} коэффициента можно свести к определению конечной и средней биомассы генерации, при известной постоянной k . При этом P/\bar{B} коэффициент не может быть ниже величины $k+1$, так как в этом случае конечная биомасса всегда будет выше средней.

Обсуждение. Рассмотрим приложимость модели к природным популяциям на примере одного из наиболее хорошо изученных видов организмов—*Ch. plumosus*.

В литературе накопились данные, согласно которым отношение продукции генерации *Ch. plumosus* к максимальной биомассе, как правило, лежит в пределах 2,2—3,4 [1, 3, 10, 23, 28, 34—36 и др.]. Эти же значения P/B_{\max} коэффициентов можно получить с помощью нашей модели при реальных для *Ch. plumosus* значениях $k=3^*$ и величинах ξ_g от 0,86 до 1,36, не сильно отличающихся от единицы (при $\xi_g = 1$ $P/B_{\max} = 2,6$). Имеются отдельные работы, свидетельствующие о том, что максимальная биомасса достигается личинками генерации *Ch. plumosus* (в благоприятных условиях) непосредственно перед окукливанием, либо незадолго до окукливания [17, 18, 26], т. е. близко к моменту $\xi_g = 1$. Таким образом, в рамках приведенной модели литературные P/B_{\max} коэффициенты хорошо согласуются с тем фактом, что личинки *Ch. plu-*

* Как показали наши исследования [22], величина k зависит от того, какой фиксатор был использован при консервации личинок *Ch. plumosus*, или от того, в каких единицах выражено уравнение весового роста; этот параметр обычно находится в пределах 2,7—3,5.

mosus завершают свое развитие вблизи максимально возможной биомассы.

Рассмотрим отношение продукции генерации к ее средней биомассе. P/\bar{V} коэффициенты генерации *Ch. plumosus* в разных водоемах обычно близки к 4—6 (табл.). Об этом также косвенным образом свидетельству-

Таблица

Отношение продукции генерации (поколения) *Ch. plumosus* к средней биомассе (P/\bar{V}) в разных водоемах

Водоем	P/\bar{V}	Источник
Оз. Севан	4,2	собственные данные
Оз. Каракуль	4,7—6,6	[18]
Русское водохранилище	4,7±1,2	[23]
Учинское водохранилище (средние)	3—6	[25]
Оз. Гопло	3,9—4,4	[42]
Оз. Танвалд	4,7—5,1	[43]

ют годовые P/\bar{V} коэффициенты популяций *Ch. plumosus* с разным числом генераций в году. Так, для популяций, имеющих одну генерацию во всем водоеме, либо две генерации на мелководье и одну—в сублиторали и профундали P/\bar{V} коэффициент составляет 2—7 (в среднем—4,5) [9, 13, 17, 28, 39 и др.]; для популяций, имеющих две генерации—6—12 (в среднем 9) [11, 12, 21, 42]; для популяций, имеющих три генерации—13—17 (в среднем 15) [18, 27, 30, 32, 43]. Следовательно, при возрастании числа генераций на одну P/\bar{V} коэффициент популяции *Ch. plumosus* увеличивается примерно на 5. Для других видов хирономид получен такой же результат: P/\bar{V} коэффициент генерации за время ее существования равен 4—6 [40, 41]. В полном соответствии с приведенными эмпирическими данными находятся результаты моделирования продукционного процесса: при реальных для личинок *Ch. plumosus* $k=3$ и $\xi_g=1$ P/\bar{V} коэффициент генерации равен 4,9.

Для практических расчетов важно знать степень влияния продолжительности развития животных (ξ_g) и константы их весового роста (k) на P/\bar{V} коэффициенты генерации. Рассмотрим значения параметров ξ_g и k , соответствующие идентичным относительным изменениям P/\bar{V} коэффициентов генерации, реально наблюдаемым в природе для личинок *Ch. plumosus*. Так, изменению P/\bar{V}_{\max} коэффициента генерации от 2,2 до 3,4 (в 1,5 раза) соответствуют величины k от 2,0 до 5,8 при $\xi_g=1$ или величины ξ_g от 0,86 до 1,32 при $k=3$. Изменению P/\bar{V} коэффициента генерации от 4,0 до 6,0 (в 1,5 раза) соответствуют величины k от 2,3 до 3,9 при $\xi_g=1$ или величины ξ_g от 0,2 до 1,7 при $k=3$. Приведенные данные свидетельствуют о том, что на P/\bar{V}_m коэффициент генерации в большей степени влияет параметр ξ_g , чем k . Константа роста у личинок хирономид разных видов обычно находится в довольно узких пределах: 2—3,3 [14, 16, 30, 37]. Поэтому можно предположить, что относительное постоянство P/\bar{V}_{\max} коэффициента у раз-

ных видов хирономид [25] определяется относительной стабильностью величины ξ_g (т. е. вылет комаров, по-видимому, происходит вблизи максимально возможной биомассы генерации). Иным образом влияют величины ξ_g и k на P/\bar{V} коэффициент. Последний находится в слабой зависимости от ξ_g и в большей степени зависит от k . Это позволяет ориентировочно оценить P/\bar{V} коэффициент генерации гетеротопных организмов (имеющих параболический тип весового роста) по уравнению (12). Для соответствующих расчетов необходимо знание величины константы роста* и отношения $V(\xi_g)/\bar{V}$. Последнее зависит от k (при $\xi_g = 1$) следующим образом:

k	2	3	4	5	6	7	8
$V(\xi_g)/\bar{V}$	1,7	1,9	2,1	2,3	2,45	2,6	2,7.

Строго говоря, уравнение (12) позволяет рассчитать P/\bar{V} коэффициент для случая $\xi_g = 1$. Однако ввиду слабой зависимости этого коэффициента от ξ_g , возможности уравнения (12) расширяются: полученные величины P/\bar{V} могут применяться для ориентировочной оценки продукции большинства гетеротопных организмов, завершающих свое развитие в водной среде при биомассе, отличной от максимальной ($\xi_g \neq 1$). С учетом вышесказанного, определим средний P/\bar{V} коэффициент генерации хирономид. По данным Годераша [31], средняя константа весового роста личинок хирономид равна 2,6. Тогда:

$$P/\bar{V} = k + V(\xi_g)/\bar{V} = 2,6 + 1,8 = 4,4.$$

Следует лишь отметить, что рассчитанный таким образом P/\bar{V} коэффициент отражает отношение продукции генерации к средней биомассе в период роста животных. Следовательно, для соответствующих продукционных расчетов следует брать среднюю биомассу генерации за период роста животных в природе. При наличии двух и более генераций хирономид данного вида в водоеме продукцию следует определять по расчетным P/\bar{V} коэффициентам отдельно для каждой генерации. Сумма продукций генераций составляет годовую продукцию популяции.

Анализ модели продукционного процесса в популяциях организмов, имеющих параболический тип весового роста, позволил сделать следующие выводы: удельная скорость изменения биомассы генерации (когорты) представляет собой алгебраическую сумму удельной скорости весового роста особей (среднего веса особи генерации) и удельной смертности; P/\bar{V} коэффициент генерации можно определить показателем степени в уравнении параболического весового роста (k) и параметром ξ_g , характеризующим относительное время существования генерации в долях от времени достижения этой генерацией максимально возможной (при данных скоростях роста и смертности) биомассы. Для некоторых популяций гетеротопных животных, начинающих покидать среду обитания при максимально возможной биомассе ($\xi_g = 1$), P/\bar{V} ко-

* По имеющимся данным [2, 7, 14, 16, 30-37], константа роста животных не превышает 6.

Эффект генерации можно определить только коэффициентом k ; в этом случае P/\bar{V} коэффициент не может быть ниже величины $k+1$. В диапазоне реальных для животных k от 2 до 5 $P/\bar{V} \approx k+2$ (при $\xi_g = 1$). Ввиду слабой зависимости P/\bar{V} коэффициента генерации от продолжительности ее существования (в водной среде), для ориентировочной оценки продукции генерации гетеротопных организмов можно использовать величины P/\bar{V} , рассчитанные для случая $\xi_g = 1$. В рамках приведенной модели литературные P/\bar{V}_{max} и P/\bar{V} коэффициенты генерации *Ch. plumosus* хорошо согласуются с эмпирически полученной величиной константы роста, а также с тем, что личиночный этап развития этого вида завершается при максимально возможной биомассе.

Севанская гидробиологическая станция
АН Армянской ССР

Поступило 6.I 1982 г.

ՊԱՐԱՔՈՒԱՅԻՆ ԿՇՌԱՅԻՆ ԱՃՈՎ ՕՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՆՈՒՅՆԱՀԱՍԱԿ
ՊՈՊՈՒԼՅԱՑԻԱՅԻ ՊՐՈԳՆՈՒԿՅԻՈՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ՊԱՐԶԱԳՈՒՅՆ ՄՈԳԵԼԸ

Ի. Ս. ՕՍՏՐՈՎՍԿԻ

Քննարկվել է նյութի դինամիկայի պարզ մոդելը այն օրգանիզմների սերնդում, որոնց կշիռը աճում է ըստ պարաբոլի օրենքի: Հետազոտվել են արդասիքային բնութագրերի հարաբերությունները, սերունդների P/\bar{V} գործակիցների հնարավոր արժեքները և նրանց որոշման մի շարք գործնական եղանակները: Մոդելի միջոցով ստացված արգասիքային բնութագրերը բավականաչափ մոտ են Սևանա լճում և այլ ջրամբարներում խիրոնոմիդների թրթուրների պոպուլյացիաների համար անմիջականորեն ստացված բնութագրերին:

A SIMPLE MODEL OF THE PRODUCTION PROCESS
OF THE POPULATIONS OF THE SAME AGE ORGANISMS
WITH A PARABOLIC WEIGHT GROWTH AND ITS APPLICATIONS

I. S. OSTROVSKY

Production characteristics and their correlation in the organism populations with a parabolic type of weight growth have been analysed on *Chironomus plumosus* L. larvae. Possible values of P/\bar{V} coefficients and some practical ways for their estimation are investigated using the model.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексеевнина М. С. Зоол. ж., 53, 5, 720—727, 1974.
2. Алимов А. Ф., Власова В. Г. Зоол. ж., 59, 10, 1483—1493, 1980.
3. Боруцкий Е. В. Тр. Лимнол. ст. в Косине, 22, 156—195, 1939.
4. Бекман М. Ю., Меньгушкин В. В. Ж. общ. биол., 25, 3, 177—187, 1964.
5. Винберг Г. Г. В кн.: Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968.
6. Гаврилов С. И. В кн.: Биологическая продуктивность евтрофного озера. М., 1970.
7. Голубков С. М. В кн.: Основы изучения пресноводных экосистем, Л., 1981.
8. Иванова М. Б., Умнов А. А. В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979.

9. Кангур К. Э. Автореф. канд. дисс., Тарту, 1977.
10. Кирпиченко М. Я. Тр. Гидробиол. ст. АН УССР, 19, 3—83., 1939.
11. Ковалькова М. П. Тр. Уральск. отд. Сибрыбнипроект, 9, 219—228, 1975.
12. Ковалькова М. П. Сб. Уральск. отд. ГосНИОРХ, 10, 81—85, 1979.
13. Ковалькова М. П. Сб. Уральск. отд. ГосНИОРХ, 10, 86—92, 1979.
14. Константинов А. С. Докл. АН СССР, 120, 5, 1151—1154, 1958.
15. Константинов А. С. Науч. докл. высш. школы, биол. науки, 9, 136—141, 1967.
16. Константинов А. С. Науч. докл. высш. школы, биол. науки, 3, 22—29, 1970.
17. Кузьменко К. Н. Автореф. канд. дисс., Л., 1972.
18. Мамилова Р. Х. Биол. и геогр., 5, 162—171. Алма-Ата, 1968.
19. Меньшуткин В. В., Приходько Т. И. Гидробиол. ж., 4, 6, 3—11, 1968.
20. Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968.
21. Нечваленко С. П. Автореф. канд. дисс., М., 1978.
22. Островский И. С. Биол. ж. Армении, 33, 12, 1301—1309, 1980.
23. Пастухова Е. В. Автореф. канд. дисс., М., 1978.
24. Полищук Л. В., Романовский Ю. Э. Ж. общ. биол., 41, 5, 645—654, 1980.
25. Соколова Н. Ю. Автореф. канд. дисс., М., 1973.
26. Соколова Н. Ю. Комплексн. исслед. водохр., 2, 101—121, 1973.
27. Соколова Н. Ю. В кн.: Проблемы экологии Прибайкалья. Иркутск, 1979.
28. Соколова Н. Ю. В кн.: Бентос Учинского водохранилища. М., 1980.
29. Слепухина Т. Д. В кн.: Озеро Кубенское, 3, Л., 1977.
30. Тодераш И. К. Автореф. канд. дисс., Одесса, 1979.
31. Тодераш И. К. В кн.: Общие основы изучения водных экосистем. Л., 1979.
32. Тодераш И. К. В кн.: Рыбохозяйственное использование колхозных прудов Молдавии. Кишинев, 1981.
33. Шадрин Н. В. Биол. моря, 42, 56—60, 1977.
34. Яблонская Е. А. Автореф. канд. дисс., М., 1947.
35. Яблонская Е. А. В кн.: Методы определения продукции водных животных. Минск, 1968.
36. Lundbeck J. Arch. Hydrobiol., Suppl., Bd., 7, 1—471, 1926.
37. Mackey A. P. Oikos, 28, 2—3, 270—275, 1977.
38. Neess J., Dugdale R. Ecology, 40, 3, 425—430, 1959.
39. Terek J. Biologia (Bratislava), 35, 2, 111—120, 1980.
40. Titmus G., Baadcock R. M. In: Chironomidae: Ecol., Syst., Cytol. and Pathol. Proc. 7th. Int. Symp., Dublin. 1979, 299—305, 1980.
41. Waters T. F. Amer. Naturalist, 103, 930, 173—185, 1969.
42. Wisniewski R. Acta Univ. N. Copernici, 38, 99—111, 1976.
43. Zytkowicz R. Acta Univ. N. Gopernici, 38, 75—97, 1976.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.8.575.24

N-МЕТИЛ-N'-НИТРО-N-НИТРОЗОГУАНИДИН- ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ РИБОСОМНЫХ МУТАНТОВ *ESCHERICHIA COLI*

Э. Г. МУГНЕЦЯН, С. А. ХАЧАТРЯН

Ключевые слова: *E. coli*, рибосомные мутанты, частота мутирования.

Проблема специфичности мутагенеза не может быть решена без оценки роли клеточных процессов и отдельных клеточных компонентов

в мутационном процессе [2]. Вклад таких важнейших клеточных компонентов, как РНК-полимераза, тРНК и рибосома, показан в спонтанном и индуцированном различными факторами мутагенезе [2—4] с использованием системы индукции обратных мутаций.

Цель настоящей работы состояла в количественной оценке роли важнейшего компонента клетки—рибосомы в спонтанном и N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (НГ)-индуцированном мутагенезе с использованием системы мутаций от способности сбрасывать лактозу к потере этой способности у рибосомных мутантов *E. coli*. Рибосомные (стрептомициностойчивые) мутанты выделены и изучены нами ранее [5, 6]. Штаммы, пригодные для решения поставленной задачи, сконструированы нами переносом гPSL локуса стрептомициновых мутантов в соответствующие исходные штаммы, у которых они выделялись.

Материал и методика. В работе использованы исходные штаммы CA_F1 У, CAF 70, CA167, несущие различные нонсенс-мутации в β-галактозидазном гене и соответствующие супрессоры, исправляющие данные мутации. Штаммы тр. 95/CAF 70, тр. 32/CA F₁У и тр. 17/CA 167 конструировались нами переносом гPSL локуса отобранных мутантов в соответствующие исходные штаммы методом трансдукции [7] с помощью фага P₁кс. НГ использован в концентрации 200 мкг/мл, при которой инактивировалось ~50% клеток и наблюдался максимальный выход мутаций. Обработку мутагеном проводили по прописи в книге Миллера [1].

В качестве питательных сред использованы индикаторная среда Эндо, жидкая питательная среда—пептонная вода+аминопептид.

Результаты и обсуждение. В настоящем сообщении представлены результаты изучения спонтанного и НГ-индуцированного мутагенеза сконструированных и исходных штаммов. В табл. 1 приведены значения индексов спонтанного мутирования лак⁺→лак⁻.

Таблица 1
Индексы спонтанных мутаций лак⁺→лак⁻ контрольных штаммов и их трансдуктантов

Штаммы	Количество опытов	Проверено бактериальных клеток	Обнаружено мутантов на 10 ⁷ клеток	Индекс мутирования на 10 ⁶ клеток	Отношение индексов трансдуктантов к контролю
CAF 70	14	2,0 · 10 ¹⁰	1,3	0,65±0,03	1,0
тр. 95/CAF 70	14	1,2 · 10 ¹⁰	4,7	3,91±0,07	6,0
CAF ₁ У	11	8,0 · 10 ⁹	1,0	1,25±0,05	1,0
тр. 32/CAF ₁ У	14	8,8 · 10 ⁹	4,4	5,00±0,17	4,0
CA 167	12	1,4 · 10 ¹⁰	2,0	0,89±0,02	1,0
тр. 17/CA 167	14	1,0 · 10 ¹⁰	3,1	3,1 ±0,05	3,3

P—достоверность разницы индексов мутирования трансдуктантов от контрольных штаммов < 0,05.

Как видно из табл. 1, значения индексов мутирования трансдуктантов и контрольных штаммов статистически достоверно различны. При этом не обнаружено штаммспецифичности. Все трансдуктанты независимо от штамма, от которых они выделялись, увеличивают частоту спонтанного мутирования по сравнению с контрольным штаммом.

Результаты НГ-индуцированных лак⁺ → лак⁻ мутаций изученных штаммов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Индексы НГ-индуцированных лак⁺ → лак⁻ мутаций у контрольных и сконструированных штаммов

Штаммы	Выживаемость, %	Количество опытов	Проверено бактериальных клеток, ×10 ⁹	Количество мутантов, ×10 ⁸	Индексы мутирования	Отношение индексов трансдуктантов к контролю
CAF 70	50	5	1,3	1,6	0,12	1,0
тр 95/CAF 70	48	5	1,0	8,2	0,78	6,5
CAF ₁ У	47	6	1,1	1,5	0,10	1,0
тр 32/CAF ₁ У	52	6	1,2	8,8	0,73	7,3
СА 167	53	6	3,2	3,7	0,11	1,0
тр 17/СА 167	50	5	1,0	7,3	0,73	6,6

P—достоверность разницы индексов мутирования трансдуктантов от контрольных штаммов < 0,04.

Как видно из табл. 2, индексы индуцированных мутаций у всех сконструированных штаммов достоверно выше контроля. В экспериментах НГ-индуцированного мутагенеза, как и в спонтанном, не обнаружено количественной зависимости увеличения индексов реверсий от характера штамма. Результаты изучения как спонтанного, так и индуцированного НГ-мутирования от способности сбрасывать лактозу к потере этой способности свидетельствуют об участии в этом процессе рибосом независимо от систем, изученных в мутационном процессе.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 19.III 1982 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М., 1976.
2. Оганесян М. Г. Биолог. ж. Армении, 22, 12, 27—35, 1969.
3. Оганесян М. Г., Читчян М. Б. Биолог. ж. Армении, 30, 5, 3—8, 1977.
4. Оганесян М. Г., Чахалян А. Х. Биолог. ж. Армении, 30, 9, 3—9, 1977.
5. Оганесян М. Г., Мугнецян Э. Г. Биолог. ж. Армении, 29, 11, 21, 1976.
6. Оганесян М. Г., Мугнецян Э. Г., Джанполадян Л. О. Биолог. ж. Армении, 30, 1, 18, 1977.
7. Leboy R., Cox E. C., Flaks G. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 52, 1967, 1964.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.017.1

ПРИМЕНЕНИЕ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ
КЛЕТОК МЫШИНОЙ ГЕПАТОМЫ XXIIa ДЛЯ ИНДУКЦИИ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Ю. Т. АЛЕКСАНЯН, Э. Т. ГАСПАРЯН, Т. Н. ИГНАТОВА, Р. Г. ПОГОСЯН

Ключевые слова: культуры клеток, противоопухолевая резистентность, гибридные клетки.

Вопрос об усилении иммунитета к опухоли продолжает оставаться одним из актуальных в современной иммунологии. Для выяснения возможностей усиления противоопухолевой резистентности значительный интерес представляют гибриды культивируемых соматических клеток. Однако в литературе имеются лишь единичные работы по использованию гибридных клеток для усиления противоопухолевого иммунитета [2, 4—6].

Задачей настоящей работы являлось изучение возможности использования межвидовых гибридов культивируемых клеток мышинной гепатомы XXIIa для индукции у мышей противоопухолевой резистентности.

Материал и методика. В опытах использованы клеточная линия МГХХIIa [1], полученная из перевиваемой мышинной гепатомы XXIIa, и опухоль МГХХIIa, образовавшаяся у мышей после прививки длительно культивируемых клеток линии МГХХIIa. Мышам линии СВА с целью индукции противоопухолевой резистентности введены клетки микроклеточного и полноклеточного межвидовых гибридов мышинной гепатомы XXIIa. Межвидовые гибриды получены слиянием клеток гепатомы (H) с хомячковыми (RJК) полными клетками или микроклетками (мк). При изучении прививаемости гибридных клеток в качестве контроля мышам введены клетки (в дозах 10^3 , 10^4 , 10^5) внутривидового гибрида, полученного слиянием микроклеток клона 625 линии L с клетками гепатомы. Для получения как межвидовых, так и внутривидового гибридов использованы полные клетки гепатомы. Клоновые культуры гибридов выделены с помощью селективных сред. Кариологически проверено гибридное происхождение этих клонов.

Использованные при проведении опытов клетки линии МГХХIIa и гибридные клетки культивированы на среде Игла с 10% сыворотки крупного рогатого скота. Клетки микроклеточного межвидового гибрида HRJКмк—2 привиты мышам подкожно в дозах $2 \cdot 10^6$ или $5 \cdot 10^6$, а клетки полноклеточного межвидового гибрида HRJК—3—в дозе $2 \cdot 10^6$. Для проверки противоопухолевой резистентности подопытным мышам спустя месяц привиты подкожно по 1 мл 20%-ной суспензии ткани опухоли МГХХIIa в растворе Хенкса или клетки линии МГХХIIa в дозе $2 \cdot 10^6$. В аналогичных дозах опухоль МГХХIIa и клетки линии МГХХIIa введены контрольным животным, которым гибридные клетки предварительно не прививали. Регистрируемые через месяц отрицательные или положительные результаты прививки опухоли свидетельствовали о наличии или отсутствии противоопухолевой резистентности у подопытных мышей.

Результаты и обсуждение. В таблице представлены обобщенные результаты опытов по изучению индукции противоопухолевой резистентности у мышей.

Таблица

Индукция у мышей резистентности к опухоли МГХХIIa и клеткам линии МГХХIIa

Группы животных	Количество животных в группах	Прививаемые гибридные клетки	Дозы прививаемых гибридных клеток	Прививаемость гибридных клеток, %	Трансплантат	Количество животных с отрицательным результатом прививки опухоли	Прививаемость опухоли, %
1	18	HRJ Кмк-2	2 · 10 ⁶	0	Клетки линии МГХХIIa (2 · 10 ⁶)	18	0
2	23	HRJ Кмк-2	2 · 10 ⁶	0	Опухоль МГХХIIa	20	13
3	33	HRJ Кмк-2	5 · 10 ⁶	0	Опухоль МГХХIIa	31	6
4	25	HRJ К-3	2 · 10 ⁶	0	Опухоль МГХХIIa	8	68
5	9	HL 625 мк	10 ³	0	—	—	—
6	10	HL 625 мк	10 ⁴	60	—	—	—
7	12	HL 625 мк	10 ⁵	100	—	—	—
8	21	—	—	—	Клетки линии МГХХIIa (2 · 10 ⁶)	0	100
9	35	—	—	—	Опухоль МГХХIIa	0	100

Примечание: (—)—прививка гибридных клеток или трансплантата не производилась.

Как показали результаты экспериментов, прививаемые мышам клетки межвидовых гибридов, как правило, рассасывались. В отличие от этого при прививке клеток внутривидового гибрида HL 625 мк в дозах 10⁴ и 10⁵ вырастали опухоли, обладавшие способностью перевиваться, что свидетельствует о высокой злокачественности этих клеток. После прививки клеток микроклеточного межвидового гибрида HRJKмк-2 у мышей вырабатывалась весьма выраженная резистентность как к культивируемым клеткам гепатомы, так и к опухоли МГХХIIa. В отличие от контрольных животных, у которых отмечена 100%-ная прививаемость опухоли, у подопытных мышей из 74 лишь у 5 образовались небольшие опухоли. У клеток же полноклеточного межвидового гибрида HRJK-3 способность индуцировать противоопухолевую резистентность выражена слабо (из 25 подопытных животных опухоли не образовались у 8 мышей). Следует отметить, что ни в одном случае не наблюдалось спонтанной регрессии выросших опухолей.

Учитывая высокую степень прививаемости клеток внутривидового гибрида HL 625 мк и то обстоятельство, что по антигенам системы H-2 культивируемые клетки гепатомы не отличаются от использованных в опытах реципиентов—мышей линии СВА, содержащих аллель H-2^k[3], рассасывание прививаемых мышам клеток межвидовых гибридов следует объяснить включением иммунного ответа на хомячковые антигены этих клеток. По-видимому, при рассасывании клеток микроклеточного межвидового гибрида HRJKмк-2 организм мышей иммунизируется антигенами клеток гепатомы, входящих в состав межвидового гибрида, что сопровождается выработкой выраженной противоопухолевой резистентности. В то же время можно предположить, что в клоне полноклеточ-

ного межвидового гибрида HRJK-3 произошла утрата хромосомы, ответственной за синтез одного из антигенов, присущих клетке гепатомы, что обусловило формирование слабой резистентности мышей к прививаемой опухоли.

Таким образом, у мышей, предварительно иммунизированных клетками микроклеточного межвидового гибрида HRJKмк-2, индуцируется выраженная резистентность к опухоли МГХХIIа и клеткам линии МГХХIIа. Изучение молекулярно-клеточных механизмов этого процесса может открыть определенные возможности для дальнейшей разработки способов усиления противоопухолевой резистентности.

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР,
Институт цитологии АН СССР

Поступило 12.V 1982 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алексанян Ю. Т., Басмаджян М. Е., Мовсесян К. С. и др. Бюлл. exper. биол., 5, 94, 1972.
2. Ключарева Т. Е., Матвеева В. А., Дейчман Г. И. Бюлл. exper. биол., 11, 72, 1972.
3. Медведев Н. Н. Практическая генетика. М., 1968.
4. Favre R., Carcassonne Y., Meyer G. Brit. J. Cancer, 32, 1, 139, 1975.
5. Jami J., Ritz E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 6, 2130, 1975.
6. Liang W., Cohen E. P. J. Immunol. 118, 3, 903, 1977.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.352

ЗАВИСИМОСТЬ СРЕДНЕГО ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЫ ОТ ПЛОЩАДИ БИСЛОЯ ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПРОБОЕ

В. Б. АРАКЕЛЯН, Г. Р. ХАЧАТРЯН, Н. С. МАТИНЯН, Ц. М. АВАКЯН

Ключевые слова: бислойная липидная мембрана, электрический пробой.

Разрыв бислойных липидных мембран (БЛМ) может происходить в результате рождения и развития дефектов, расположенных как на бислое, так и на границе бислой—мениск. Хотя пробой липосом*, у которых отсутствует мениск, свидетельствует о том, что пробой БЛМ связан с появлением дефектов в области собственно бислоя, однако прямых доказательств этого для плоских мембран не имеется. Поэтому представляется интересным выяснение относительной роли дефектов,

* Пучкова Т. В., Путвинский А. В., Владимиров Ю. А. Докл. АН СССР, 249, 5, 1241—1244, 1979.

расположенных на бислое и на границе бислой-мениск при электрическом пробое БЛМ.

Материал и методика. В данной работе исследовали пробой мембран, имеющих площадь $S \geq 0,24 \text{ мм}^2$. Схема эксперимента, позволяющая изучать влияние границы бислой-мениск на устойчивость БЛМ при электрическом пробое, следующая: измеряли среднее время жизни БЛМ $\bar{\tau}$, в которую с помощью микровинта вводили тефлоновый штырек конической формы и сравнивали со средним временем жизни БЛМ, имеющей эквивалентную площадь черной части τ_0 , но сформированной на сплошном отверстии (без штырька). Площадь черной части БЛМ со введенным штырьком измеряли за счет конической формы штырька, вводя его в мембрану на разную глубину, а контроль площади проводили измерением емкости. Введение штырька позволяло получать мембраны с одинаковой площадью, но различным периметром. Очевидно, что при одинаковой площади мембрана со введенным в нее штырьком будет иметь больший периметр, чем мембрана без штырька. Все эксперименты проводились при потенциале пробоя $U=500 \text{ мВ}$.

Результаты и обсуждение. Если электрический пробой связан с развитием дефектов, расположенных на границе бислой-мениск, то с увеличением радиуса штырька среднее время жизни БЛМ должно уменьшаться. Однако в эксперименте наблюдается прямо противоположное явление (таблица). Если же пробой связан с развитием дефектов, расположенных в области бислоя, то очевидно, что введение штырька в мембрану должно привести к увеличению среднего времени жизни БЛМ, поскольку уменьшается общая площадь бислоя. Именно этот результат наблюдается в эксперименте (таблица). Более того, оказа-

Таблица
Зависимость среднего времени жизни БЛМ от радиуса введенного в мембрану штырька

Радиус штырька, мм	Площадь черной части, мм ²	$\bar{\tau}_{ш}$, мсек	$\bar{\tau}_0$, мсек
0	2,41	25,0	25,0
0,25	2,21	25,7	25,7
0,59	1,33	32,8	32,6
0,75	0,64	50,9	51,3
0,83	0,24	75,8	74,0

лось, что среднее время жизни мембран без штырька, но с эквивалентной площадью ($\bar{\tau}_0$) равно среднему времени жизни мембран со штырьком $\bar{\tau}_{ш}$. Этот факт убедительно доказывает, что электрический пробой БЛМ, имеющих площадь $S \geq 0,24 \text{ мм}^2$, связан с рождением и развитием дефектов в области бислоя. Заметим, что результат $\bar{\tau}_0 \approx \bar{\tau}_{ш}$ справедлив для мембран, имеющих достаточно большую площадь. Очевидно, что с уменьшением площади должна повышаться роль дефектов, расположенных на границе бислой-мениск, поскольку периметр L бислоя уменьшается медленнее, чем площадь S .

Отметим также, что штырек вводился и фиксировался в различных областях БЛМ, давая возможность получать мембраны в форме «коль-

ца» и «полумесяца». Однако τ не зависело от положения штырька в БЛМ, что говорит об однородности мембраны.

Таким образом, пробой БЛМ с площадью $S \geq 0,24 \text{ мм}^2$ происходит в результате рождения и развития дефектов в области бислоя.

Авторы выражают благодарность Ю. А. Чизмаджеву, Л. В. Черномордику, И. Г. Абидору и В. Ф. Пастушенко за полезные дискуссии.

Ереванский физический институт ГКИАЭ

Поступило 14.VII 1982 г.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 615.224(711),

РЕФЕРАТЫ

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ОСТАТКА ВОДНОГО ЭКСТРАКТА TEUCRIUM HYRCANICUM L. (LAMIACEAE) И ТЕУКРИНОВ Н1 И Н2 НА КРОВΟΣНАБЖЕНИЕ И СОКРАТИМОСТЬ МИОКАРДА

Т. О. АСАТРЯН, Г. Б. ОГАНЕСЯН, Р. А. АЛЕКСАНЯН, В. А. МНАЦАКАНЯН

В плане систематического исследования биологически активных веществ лекарственных растений флоры Армении нами было изучено действие на сердечно-сосудистую систему дитерпеновых фуролактонов—теукринов Н1 и Н2, выделенных из *Teucrium hyrcanicum* L. (дубровник гирканский).

Ранее Дамировым было отмечено наличие кардиотонической активности у галеновых препаратов и экстракта дубровника гирканского.

Объектом наших исследований служили сухой остаток водного экстракта надземной части растения и теукрины Н1, Н2. Выявлено, что 1%-ный раствор сухого остатка водного экстракта и теукрин Н1 в дозе 1 мг/кг увеличивают объемную скорость коронарного кровотока соответственно на $35,6 \pm 9,2\%$ и $31 \pm 2,7\%$. Коронарорасширяющий эффект начинается на 10—15 мин и сохраняется в течение 2 ч.

Сухой остаток водного экстракта растения в концентрациях $1 \cdot 10^{-9}$ г/мл и $1 \cdot 10^{-6}$ г/мл вызывает увеличение амплитуды сокращений изолированного сердца лягушки соответственно на 4,8% и 11,1%, а теукрин Н1 в тех же концентрациях увеличивает соответственно на 18,3% и 30,7%. Теукрин Н2 кардиотонической и коронарорасширяющей активностью не обладает.

Полученные результаты дают основание полагать, что активность сухого остатка водного экстракта обусловлена наличием теукрина Н1,

содержащего α -, β -ненасыщенный γ -лактонный цикл, характерный для многих кардиотонических и коронарорасширяющих препаратов.

5 с. Табл. 1. Библиограф. 7 назв.

Институт тонкой органической химии
АН Армянской ССР им. А. Л. Мнджояна

Поступило 4.VIII 1981 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

РЕФЕРАТЫ

УДК 534—8.637.11/18

ПРЕЦИЗИОННЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И ПОГЛОЩЕНИЯ УЛЬТРАЗВУКА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВКЛАДОВ, ВНОСИМЫХ ОСНОВНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ МОЛОКА

Г. А. ВАРТАНОВ, Г. А. ПАНОСЯН

В работе изучены некоторые акустические параметры цельного коровьего молока с помощью прецизионного ультразвукового резонаторного метода. Показано, что содержание основных компонентов в молоке: молочного жира, казеин-кальций фосфатного комплекса, сывороточных белков и сахаро-солевого компонента влияет на скорость распространения и поглощение ультразвуковых волн неразрушающей интенсивности (частота 7 мгц).

Пользуясь экспериментально измеренными и расчетными данными, удалось выяснить, что при 20° молочный жир вносит отрицательный по знаку вклад в скорость распространения ультразвука. Этот эффект связан с тем, что при данной температуре сжимаемость жировых глобул зависит от фазового состояния триглицеридов, содержащихся внутри глобулы. В параметр, пропорциональный поглощению, молочный жир вносит довольно существенный—порядка 30—40%, положительный вклад.

Лактоза (молочный сахар) и минеральные соли сильно влияют на скорость распространения ультразвука, на эти компоненты приходится 60—70% суммарного вклада, вносимого всеми компонентами молока. В поглощение вклад, обусловленный солями и лактозой, пренебрежимо мал—менее 0,01%.

Измеряя скорость ультразвука в обезжиренном молоке, сыворотке, полученной при удалении белков, и сравнивая эти данные с данными для модельных растворов казеина, лактоглобулина и сывороточного альбумина, удалось вычислить величину удельного вклада, вносимого отдельно казеин—кальций фосфатным комплексом и сывороточной фракцией белков в молоко.

Суммарный вклад белков составил величину порядка 30 и 70% соответственно в скорость и поглощение ультразвука.

8 с. Табл. 1. Библиогр. 11 назв.

Ереванский зоотехническо-ветеринарный институт,
Проблемная лаборатория обмена веществ

Поступило 17.VIII 1982 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

ПАМЯТИ СЕРГЕЯ КОНСТАНТИНОВИЧА ДАЛЯ (1904—1982)

В Ставрополе на 78-м году жизни от тяжелой болезни скончался выдающийся советский зоолог, ветеран Великой Отечественной войны, кандидат биологических наук Сергей Константинович Даль.

Значительный отрезок жизни и работы С. К. Даля (1938—1952) связан с Арменией, где он внес большой вклад в изучение фауны республики.

С. К. Даль начал работать в Секторе зоологии Биологического института Армянского филиала Академии наук СССР в 1938 году на должности старшего научного сотрудника—специалиста по позвоночным животным. Он был также большим знатоком проблем охотничьего хозяйства и звероводства.

С самого начала своей работы в Армении С. К. Даль проявил себя не только как хорошо эрудированный специалист-зоолог, но и как энергичный и неутомимый полевой исследователь.

С первого дня Великой Отечественной войны Сергей Константинович был призван в Советскую Армию и вернулся к научной работе только после окончания войны. После демобилизации С. К. Даль вернулся на работу уже в Зоологический институт Академии наук Армянской ССР, на должность заведующего сектором зоологии позвоночных животных. И снова пошли годы неутомимой исследовательской работы по изучению позвоночных животных Армении.

За сравнительно недолгие годы (всего с 1938-го по 1941-й, 1945-го по 1952-й) С. К. Даль провел огромную по масштабу и глубине работу по изучению животного мира Армении. Почти вся территория республики покрыта маршрутами его экспедиций и экскурсий.

Вместе с ним работали Т. М. Соснихина, П. П. Гамбарян, Х. А. Захарян, С. Б. Папанян, О. Р. Аветисян, М. А. Калантарян, Г. Г. Манучарян и др.

Большое участие в исследовательской работе принимала также сотрудник Зоологического института, доцент Ереванского университета А. Р. Погосян.

Сам С. К. Даль в введении к «Животному миру Армении» указывал на необходимость сказать о работе в секторе зоологии Георгия Ва-

Сильевича Соснина (1890—1943), особенно о его большой роли в изучении птиц Армении и создании уникальной коллекции птиц, хранящейся в Институте зоологии АН АрмССР. Г. В. Соснин был участником многочисленных экспедиций Александра Борисовича Шелковникова (1870—1933). Трудом этих бескорыстных энтузиастов была создана богатейшая коллекция по фауне Армении по различным группам животных, ставшая основой для дальнейших работ по животному миру Армении. С. К. Даль отметил и большую работу по изучению важнейшей группы позвоночных—грызунов, имеющих многостороннее народнохозяйственное значение, которая была начата еще в Секторе зоологии до войны и проводилась под руководством известного зоолога, сотрудника Института зоологии Академии наук Грузинской ССР М. В. Шидловского (1892—1975).

Изучив проведенные до него работы, С. К. Даль поставил перед собой задачу суммировать разрозненные сведения в литературе о различных группах и видах животных и дополнения этих данных в области экологии и ландшафтного распределения их в республике. С. К. Даль с сотрудниками работал на Урцском (Сарайбулагском) хребте (1939, 1950), причем маршруты его экспедиций покрыли весь хребет; на озере Гилли (1939); на Памбакском хребте (1940, 1945); в Ахте (Раздан), (1946); на Айоцзорском (Даралагезском) хребте (1946); на Севане (V—VI, 1947); в Зангезуре (VII—VIII, 1947); в Ньюади (Мегринский р-н), (1948—1949); на озере Арпа-лич (VI, 1949); в Степанаванском районе (VII—VIII, 1949); на Арагаце (VII—VIII, 1950).

Простое перечисление экспедиций, организованных и проведенных С. К. Далем, показывает, какую большую работу он развернул для изучения ландшафтно-экологического распределения животных в Армении. Как пишет С. К. Даль, маршруты экспедиционных работ были составлены так, чтобы уничтожить «белые пятна», оставленные экспедициями А. Б. Шелковникова, Г. В. Соснина и М. В. Шидловского. Таким образом, экспедиции С. К. Даля стали прямым продолжением экспедиций Естественно-исторического музея и Сектора зоологии Биологического института АрмФАН СССР.

Одновременно проводились стационарные исследования в наиболее интересных пунктах, с особо характерной для данного района фауной, создавались стационарные пункты, в которых велись длительные и глубокие исследования по биологии, экологии, распределению отдельных видов и групп позвоночных, проводились учеты.

Кроме перечисленных экспедиций, проводились ежегодные выезды на Севан, в Гехард, в долину реки Азат, на гору Гадис, по маршрутам от Еревана до Арзни, Егварда, Аштарака, Эчмиадзина, Масиса, экскурсии в Хосровский лес, на северные склоны Памбакского хребта.

Результаты этих исследований опубликованы в многочисленных трудах С. К. Даля и его сотрудников в изданиях Зоологического института Академии наук Армянской ССР, а основные итоги сведены в его фундаментальном труде «Животный мир Армянской ССР» (1954).

С. К. Даль уделял много времени изучению вымерших млекопитающих и других позвоночных, в том числе и остатков, обнаруженных при

археологических раскопках в Армении. Этим исследованиям посвящен целый ряд его статей.

В этом кратком очерке трудно с достаточной яркостью охарактеризовать всю выдающуюся деятельность С. К. Даля в Армении.

Годы пролетели быстро, и сейчас, возвращаясь к тому периоду истории Зоологического института Академии наук Армянской ССР, мы особенно сильно ощущаем чувство глубокой благодарности к большому ученому и прекрасному человеку, с которым нам посчастливилось работать.

Отдавая дань признательности памяти С. К. Даля за его вдохновенный труд по изучению природы Армении, хочется выразить пожелания дальнейшего развития зоологической науки в Армении, особенно в тех областях, где был сделан выдающийся вклад С. К. Даля.

А. С. АВЕЛЯН, П. П. ГАМБАРЯН, М. Е. ТЕР-МИНАСЯН.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

ХРОНИКА

I ВСЕСОЮЗНЫЙ БИОФИЗИЧЕСКИЙ СЪЕЗД

В Москве с 3 по 8 августа 1982 г. состоялся I Всесоюзный биофизический съезд. На этот представительный форум съехались биофизики из 70 городов СССР. Было заслушано 8 пленарных лекций, 350 симпозиальных докладов и 2648 стендовых сообщений. Все доклады были разделены на 20 основных разделов научной программы, в том числе физика белков, физика нуклеиновых кислот, физика взаимодействия биополимеров, ферментативного катализа, структура и функция мембран, физические основы биоэнергетики, фотобиофизика, биофизика клетки, молекулярные основы биологической подвижности, биофизика рецепции, биофизика индивидуального развития межклеточного взаимодействия, математического моделирования в биофизике, автоволновые процессы, молекулярные и клеточные механизмы влияния физических факторов на биологические объекты (ионизирующее излучение электромагнитного поля, акустические волны и др.), биофизика популяции экосистем, биомеханика и управление в биосистемах, медицинская биофизика, новые физические методы и приборы в биологических исследованиях, прикладная биофизика, методологические вопросы биофизики.

В день открытия съезда академик А. А. Баев огласил приветствие Совета Министров СССР участникам, где отмечалось, что развитие биофизики за последние годы ознаменовалось значительными успехами как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях.

Председатель организационного комитета съезда, директор Института биофизики АН СССР Г. Р. Иваницкий охарактеризовал форум ученых как генеральную проверку перед большим наступлением отрасли по всем направлениям—от молекулярной биологии до биофизики больших экосистем.

С обзорным докладом выступил вице-президент АН СССР академик Ю. А. Овчинников—об ионных каналах биомембран и вопросах энергообеспечения процессов живой клетки. Академик Н. М. Эмануэль показал в своем докладе роль синтетических антиоксидантов как радиопротекторов, противораковых, противострессовых протекторов на биофизических свойствах живых организмов. С большим интересом был заслушан

доклад академика П. Г. Костюка о биофизике нервных процессов на основе селективности каналов мембран и в управлении электрическим полем мембран. Проблеме преобразования солнечной энергии при фотосинтезе был посвящен доклад академика А. А. Красновского.

Большинство выступлений было посвящено проблемам медицинской биофизики и биофизике мембран. Весьма активно проходили заседания по методологическим вопросам биофизики. Необходимо подчеркнуть, что с развитием биофизики развивается и теоретическая биофизика. На съезде было принято решение о расширении фундаментальных исследований и наряду с этим—об усилении тех прикладных работ, которые связаны с выполнением планов Продовольственной программы и охраны окружающей среды.

Из Армении было представлено два симпозиальных и 47 стендовых докладов с общим числом авторов 76 человек.

Ц. М. АВАКЯН.

