

клеток донора. Эти отличия обуславливают снижение эффективности конъюгации на 3–6 порядков в зависимости от штамма-реципиента. Тем не менее среди бактерий *E. carotovora* встречаются штаммы, например Есс 17А, не обладающие такими защитными механизмами, и восприятие плазмиды у них ограничивается только фактором реципиента, что обуславливает их относительно высокую реципиентную способность. Напротив, у клеток другого штамма – Есс g289 очень активна система рестрикции, ограничивающая их реципиентные свойства, но зато у этих бактерий существуют механизмы, облегчающие взаимодействие с донорскими бактериями (фактор реципиента равен единице), и можно полагать, что получение мутаций по системе рестрикции-модификации у этих бактерий приведет к резкому увеличению их реципиентной способности.

Третий тип реципиентов, выявленный в экспериментах по конъюгации, характерен для бактерий Есс g179. В данном случае на реципиентную активность бактерий оказывают суммарное воздействие как фактор рестрикции-модификации, снижающий эффективность восприятия плазмиды F'lac::Tn5::Tn10 в 1000 раз, так и фактор реципиента, дополнительно уменьшающий возможность восприятия плазмиды на четыре порядка.

По-видимому, именно сочетание этих двух факторов и является основной причиной того, что при скрещиваниях подавляющего большинства бактерий *E. carotovora* с донорами *E. coli* не были выявлены трансконъюганты, воспринявшие F'lac::Tn5::Tn10-плазмиду. Действительно, если большинство штаммов бактерий *E. carotovora* обладают рестрицирующей активностью на уровне клеток штамма Есс g289 и фактором реципиента на уровне бактерий Есс g179, то суммарное воздействие этих факторов понизит вероятность формирования трансконъюганта в 10^{10} раз, что лежит далеко за пределами разрешающей способности конъюгационных экспериментов, и выявить такие трансконъюганты не представляется возможным.

1. Chatterjee A., Starr M. // J. Bacteriol. 1972. V.111. №1. P.169.

2. Chatterjee A., Starr M. // Ibid. 1973. V.116. №3. P.1100.

3. Chatterjee A., Starr M. // Ibid. 1977. V.132. №3. P.862.

4. Pugashetti B., Chatterjee A., Starr M. // Can. J. Microbiol. 1978. V.24. №4. P.448.

5. Гольдфарб Д.М., Авдиенко И.Д., Щукин Н.Н. // Генетика. 1978. Т.14. №3. С.487.

6. Прокулевич В.А., Фомичев Ю.К. // Генетика. 1978. Т.14. №11. С.1892.

7. Coplin D. // Phytopathol. 1978. V.68. №12. P.1637.

8. Kotoujansky A., Lemattre M., Boistard P. // J. Bacteriol. 1982. V.150. P.122.

9. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М., 1976.

10. Клаус Р., Хейс У. Сборник методик по генетике микроорганизмов. М., 1970.

Поступила в редакцию 18.10.96.

УДК 574.64.084.1:582.271

В.М. ЮРИН, Д.А. ОНИАНИ, А.П. КУДРЯШОВ, М.О. ЧОХОНЕЛИДЗЕ, А.И. СОКОЛИК

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОК ХАРОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ В СИСТЕМЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДНОЙ СРЕДЫ

Electroalgalic analysis data of test of natural water samples are adduced. These data were compared with limit permission concentrations of main water pollutions. It was shown, that shift of measured cell membrane parameters increased with elevation of pollution concentrations in the samples.

В настоящее время в биосфере находится около 6 млн индивидуальных химических соединений [1], многие из которых попадают в водную среду.

Существующая система контроля, базирующаяся на определении предельно допустимых концентраций (ПДК) отдельных веществ и других гидрохимических показателей, не позволяет в полной мере достигнуть водоохранного эффекта [2]. Эффективным средством интегральной оценки как качества вод, так и предсказания экотоксической опасности для водной флоры и фауны является биотестирование [1,2,3 и др.].

Особое значение в этой связи приобретает разработка устройств, основным элементом которых являются биологические датчики, позволяющие по регистрируемым реакциям осуществлять оперативный и непрерывный контроль за происходящими в водной среде изменениями. С учетом существующей нормативной базы, на первых этапах развития биотестирования нам представляется целесообразным провести сопоставление полученных данных в процедурах биологического тестирования образцов природных вод с величинами ПДК.

Материал и методика

В разрабатываемых нами устройствах биологического тестирования образцов вод в качестве чувствительного элемента использовались 2–3-я интернодальные клетки харовой водоросли *Nitella flexilis*, которая выращивалась в лабораторных условиях [4]. Клетки отделялись от соседних и помещались в специальный биоблок, каждая из камер которого состояла из 4 отсеков (рис.1). Отсеки 1,2 и 3 заполнялись контрольным раствором; отсек 4 – раствором 10^{-6} M KCl, имитирующим ионный состав внутриклеточного содержимого.

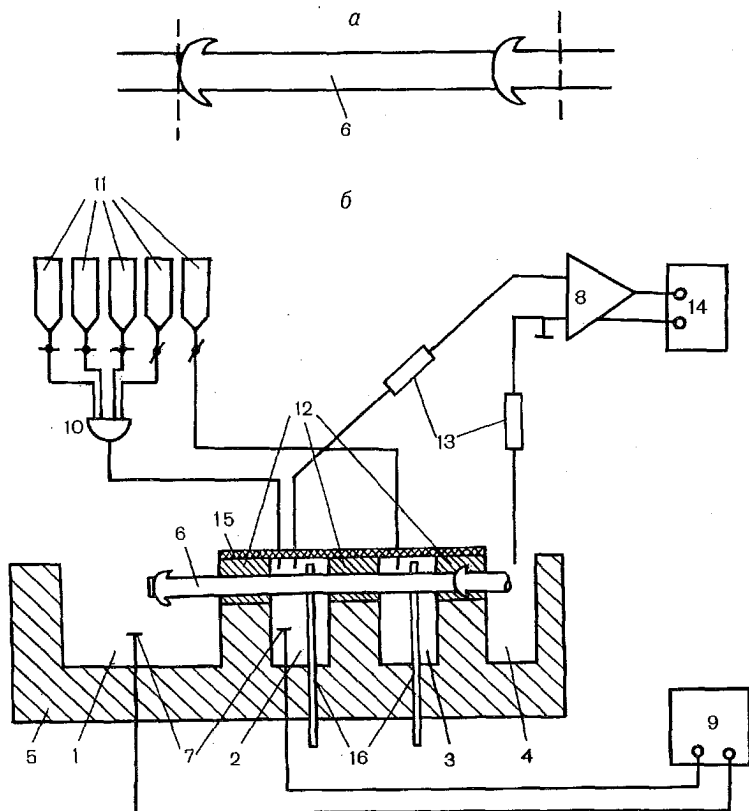


Рис.1. Схема подготовки тест-объекта (а) и измерения электрических характеристик клеточной мембраны (б):

1,2,3,4 – отсеки камеры; 5 – камера; 6 – клетка; 7 – токовые электроды; 8 – электрометрический усилитель; 9 – стимулятор; 10 – смеситель; 11 – делительные воронки; 12 – изолятор (вазелин); 13 – регистрирующие электроды; 14 – автоматический самопишущий прибор; 15 – герметическая крышка; 16 – шланги для отвода жидкости

С помощью внеклеточных электродов (7 и 13) измерялись разность электрических потенциалов почоя (РПП) и электрическое сопротивление клеточной мембраны. Затем контрольный раствор в отсеке 2 заменялся на тестируемую пробу воды и вновь регистрировались РПП (Ψ) и электрическое сопротивление (R), после чего определялись изменения регистрируемых параметров под действием испытуемых проб воды ($\Delta\Psi = \Psi_{об} - \Psi_{к}$; $\Delta R = R_{об} - R_{к}$, где индексы "об" и "к" относятся к клеткам, находящимся в тестируемых и контрольных пробах жидкости соответственно). Подробно методика электроальгологического тестирования описана в работах [5,6].

Отбор тестируемых проб воды проводился на станциях контроля двух озер (озеро 1 и озеро 2), расположенных вблизи предприятий цветной металлургии.

Схема проведения биотестирования была следующей: контроль (К) → проба воды (разбавление 10^7 раз) → К → проба воды (разбавление 10^{n-1} раз) → и т.д.

В качестве контрольной выбиралась фоновая проба воды, характеризующаяся низким содержанием определяемых поллютантов (F^- , Ni^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+}). Для разбавления образцов воды использовалась вода контрольной пробы.

Тестирование образцов проводилось в лабораторных условиях при постоянных значениях температуры ($20 \pm 1^\circ C$), pH ($7,0 \pm 0,2$) окружающей клетку среды и освещенности ($300 + 10$ лк).

Результаты и обсуждение

Наличие большинства поллютантов в концентрациях, превосходящих или равных ПДК, вызывало довольно значительные изменения в величинах регистрируемых электрических характеристик клетки *Nitella* при действии неразбавленных проб воды или даже при 10–100 кратном их разбавлении. Так в пробах воды ст.20 озера 1 (вблизи цеха сгущения рудника) концентрация фторидов и меди, а в пробе №11 из озера 2 – никеля значительно превышают ПДК. Именно лишь эти пробы при 100-кратном разбавлении оказывали влияние на электрические характеристики мембран клеток *Nitella*; при меньшем разбавлении отмечались более заметные изменения РПП (15–20 мВ) и сопротивления (10–20 кОм см²) клеточной мембраны. Пример развития биоэлектрической реакции на действие пробы воды ст.11 и отмыва контрольным раствором (проба воды ст.6) представлен на рис.2.

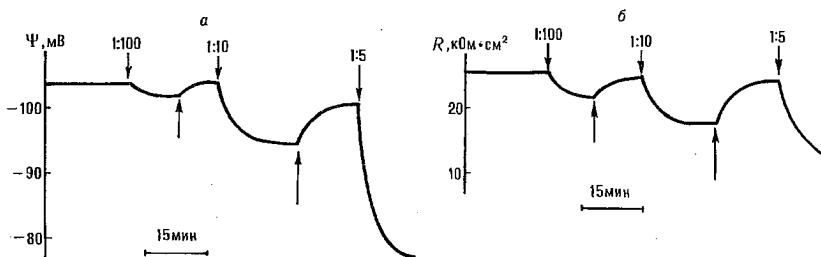


Рис.2. Развитие биоэлектрической реакции (\downarrow) в ответ на действие пробы воды ст.11 и отмыв (\uparrow): сдвиг РПП (а) и электрического сопротивления (б) клеточной мембраны (цифрами у стрелок указана кратность разбавления)

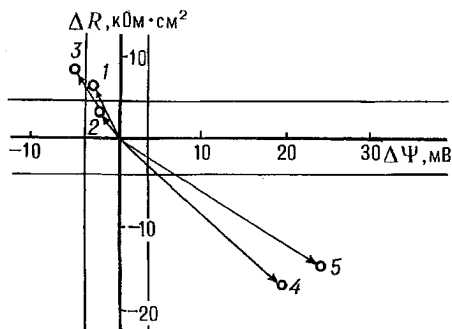


Рис.3. Результаты тестирования проб воды: 1 – ст.32; 2 – ст.54; 3 – ст.54'; 4 – ст.11; 5 – ст.20

противления клеточной мембраны по сравнению с фоновой пробой воды.

Используя развитые ранее подходы [7], нам представляется возможным по сдвигу параметров Ψ и R осуществить классификацию мембранотропных эффектов, вызываемых образцами вод, по характеру их действия на ионную проницаемость клеточной мембраны (табл.1). При этом в простейшем случае дифференцируются эффекты, обусловленные изменением проницаемости мембраны к ионам K^+ (P_K) и прочим ионам (P_I) [7].

Сдвиги ионных проницаемостей мембраны, индуцируемые тестируемыми пробами воды различного гидрохимического состава

Станция контроля	F^-	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Ni^{2+}	η	P_K	P_I
11	0,46	0,044	0,007	4,16	42,400	.	+
32	0,30	0,006	0,004	<0,005	0,314	o	o
54	0,30	0,007	0,008	0,009	0,388	.	–
54'	0,43	0,02	0,006	0,011	0,603	.	–
14	0,18	0,009	0,007	0,005	0,267	o	o
20	21,0	6,000	–	–	74,000	.	+

Примечание: o – сдвиги отсутствуют; – – уменьшается; + – увеличивается; . – неинтерпретируемые сдвиги.

Для сопоставления данных электроальгологического тестирования проб воды с величинами ПДК воспользуемся соотношением [8]:

$$\eta = \frac{C_{Ni}}{ПДК_{Ni}} + \frac{C_{Cu}}{ПДК_{Cu}} + \frac{C_{Zn}}{ПДК_{Zn}} + \frac{C_F}{ПДК_F},$$

где C – концентрация соответствующего элемента.

Из сравнения полученных результатов видно (см. рис.1, табл.1), что проба, имеющая больший показатель, вызывает и больший биоэлектрический эффект. Эта закономерность просматривалась практически во всех пробах воды.

Таким образом, даже такое простое сопоставление данных электрофизиологического тестирования с показателями ПДК показывает возможность использования развиваемого нами подхода для интегральной оценки качества воды. Более того, если в процессе дальнейшего тестирования образцов воды тех же контрольных станций соответствующие точки окажутся в других квадрантах или сильно изменятся величины сдвигов регистрируемых параметров, то вполне вероятно появление количественных или качественных изменений в компонентном составе контролируемых природных вод.

Еще раз следует подчеркнуть особенности разрабатываемого нами приема: экспрессность (время развития реакции на действие эффектора составляет 20–30 мин); высокая чувствительность (сдвиги регистрируемых параметров в ряде случаев отмечались при концентрациях поллютантов в пробах воды ниже значений ПДК), что позволяет обнаружить изменения на ранних этапах появления поллютантов в среде; простота экспериментальной процедуры; возможность автоматизации сбора и обработки результатов биотестирования (регистрируется электрический сигнал).

В заключение отметим, что более корректную трактовку результатов биологического тестирования качества вод в терминах ПДК можно провести с использованием процедуры канонической корреляции. Однако в этом случае требуется большое количество материала для обучающей выборки.

1. Баренбойм Г.М., Маленков А.Г. Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. М., 1986.
2. Крайнюкова А.Н. // Методы биотестирования вод. Черноголовка. 1988. С.4.
3. Губский Ю.И., Долго-Сабуров Б.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. Киев, 1993.
4. Воробьев Л.Н., Курелла Г.А. // Биофизика. 1965. Т.10. С.788.
5. Юрин В.М., Плакс А.В., Кудряшов А.П. // Методы биотестирования вод. Черноголовка. 1988. С.33.
6. Юрын У.М. // Весці АН БССР. Сер. біял. навук. 1979. №6. С.108.
7. Ён жа // Там жа. 1989. №1. С.24.
8. Черкинський С.Н. Санитарные условия спуска сточных вод в водоемы. М., 1962.

Поступила в редакцию 29.05.96.

УДК 577.334/37

А.В.ТИМОШЕНКО

ГЛИКОБИОЛОГИЯ И БИМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКТИНОВ*

The review is devoted to the substantiation of the concept about using of carbohydrate-binding proteins (lectins) as stimulators of cellular functions in biomedical research. The general information on lectins, their physiological role, biological activity of herbal and endogenous lectins, and the application of lectins for study of disease-associated disfunctions of blood cells including cancer-dependent alterations are discussed.

Введение

Гликобиология – новое направление в молекулярной и клеточной биологии, предметом изучения которого является роль углеводспецифических взаимодействий в функционировании живых систем. В настоящее время стало ясно, что кроме общеизвестной функции источников энергии углеводы участвуют в процессах обмена и переноса биологической информации [1]. Белок-углеводные взаимодействия дополняют такие классические типы процессов молекулярного узнавания, как взаимодействия белок–белок, белок–нуклеиновая кислота, фермент–субстрат. В отличие от белков и нуклеиновых кислот, которые

* Доклад на 2 съезде Белорусского общества фитобиологов и биофизиков, 25–27 июня 1996 г.