



*Одиннадцатая Международная научно-техническая конференция
«Оптические методы исследования потоков»
Москва, 27 — 30 июня 2011 г.*

УДК 579, 262:57.083.13, 537.868

Р.Р. Аслаян¹ К.Т. Семенов²

¹*Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова
119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12 E-mail: rraslan@mail.ru*

²*Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова
119991, Россия, Москва Ленинские горы, д. 1, стр 2 E-mail: ct.semenov@gmail.com*

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОСВЯЗИ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУР И ФУНКЦИЙ ИНТАКТНЫХ КЛЕТОК

Изменения пространственной организации важнейших биополимеров клетки являются объективным показателем реакции клетки на повреждающий фактор внешней среды.

**СПЕКТРОСКОПИЯ ВНУТРЕННЕГО ОТРАЖЕНИЯ (СВО), ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И
ВРЕМЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОК, ДИХРОИЧНОЕ ОТНОШЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, структура является основой функционирования любой системы, определяя ее разнообразные свойства. Причем индикатором состояния живой системы, в меняющихся условиях среды обитания, должны явиться динамические изменения пространственной и временной организации организма в взаимосвязи с морфологией, физиологией и биохимией клетки.

На основе спектральных данных можно обеспечить получение информации об определенных изменениях в структурах клетки, т.к. спектральная характеристика связана со строением атомов и молекул и отражает все изменения, происходящие в них. Кроме того, есть возможность послойного анализ многокомпонентных гетерогенных систем клетки. Наиболее полно перечисленным выше требованиям отвечают методы спектроскопии внутреннего отражения (СВО) [1]. Данный метод позволяет вести анализ клеток послойно без их разрушения. Был выбран ИК диапазон светового излучения, в котором четко проявляются спектры основных биохимических составляющих, присутствующих в клетках любого организма.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе был использован ИК пленочный реплика-поляризатор на основе полиэтилена 1200 штрихов/мм, степень поляризации 95–96%, пропускание поляризатора 46–48%. Для регистрации сигнала использовали преобразование сигнала с ИК спектрофотометра ИКС-29 мультиметром METEX ME-22 для ввода в РС-ЕТ и последующего анализа данных на базе стандартной программы «MICROSOFT EXCEL», позволяющей провести обсчет площадей поглощения.

Спектральные характеристики ИК диапазона в поляризованном свете, дают информацию о процессах, которые связаны с пространственной переориентацией молекулярных связей отдельных (например, белковых) макромолекул. Таким образом, имеется возможность получать информацию о градиентах, как биохимического состава, так и о градиентах пространственной организации клеток, а также о динамике этих изменений во времени.

Расчет дихроичных отношений также свидетельствует о различии характеристик, полученных на разных элементах. Дихроичные отношения полосы поглощения 1660 см^{-1} составляют 2,3 (элемент из германия) и 1,4 (элемент из КО-2), полосы поглощения 1550 см^{-1} - соответственно 2,9 и 1,5.

Проведенные нами эксперименты подтверждают динамику изменения параметров клеток во времени и возможность получения данных о процессах происходящих как в целых клетках, так и во внешних структурах клетки.

Объектами исследования были морские одноклеточные зеленые водоросли *D. tertiolecta*. Исследовали клетки сразу после внесения инокулята, после 5-и, 15-и, 30-и и 50-и суток культивирования. В процессе опыта у клеток разного возраста были обнаружены существенные различия в спектрах поглощения в области 1660 см^{-1} и 1550 см^{-1} , которые принадлежат белковым компонентам. Расчет дихроичных отношений свидетельствует о структурных и биохимических изменениях, происходящих во внешних слоях клеток. [2]

Полученные данные свидетельствуют об изменениях, происходящих в целых клетках, их внешних структурах, меняющемся биохимическом составе и пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров в процессе культивирования микроводорослей. Степень пространственно-временной организации структур клеток, через которые осуществляется взаимодействие со средой обитания, характеризует изменения живой системы в зависимости от этапа развития и от характера взаимодействия со средой обитания.

Сопоставление дихроичных отношений должно характеризовать изменение состояния живой системы в зависимости от величины антропогенного воздействия на биомассу.

Цифровые значения дихроичных отношений должны характеризовать степень изменения состояния системы. Изменения во времени характеризуют скорость этих изменений. Это было показано экспериментально.

Была получена информация об изменениях в структурной организации биополимеров клеток зеленых водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* после 6-ти часового воздействия ЭМП промышленной частоты на клетки инокулята (табл. 1).

Анализ неразрушенных клеток в ИК диапазоне $1800\text{-}1200\text{ см}^{-1}$ проводили используя неинвазивный метод СВО. Для характеристики реакции клеточных структур водорослей *D. tertiolecta* и *T. viridis* на воздействие ЭМП осуществляли расчет дихроичных отношений по полосам поглощения белков амид 1 (А1) и амид 2 (А2), являющихся важнейшими биополимерами клеток. Ранее было установлено, что в результате воздействия ЭМП на инокулят одноклеточных водорослей в течение 6 часов прирост клеток к концу срока культивирования у *D. tertiolecta* по сравнению с контролем составлял 30%, а у *T. viridis* вовсе отсутствовал. [3]

Полученные данные приведены в таблице. Установлено принципиальное отличие параметров спектральных характеристик поверхностных структур и целых клеток одноклеточных водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* до и после воздействия электромагнитного поля (ЭМП).

Табл. 1. Изменениях в структурной организации биополимеров клеток зеленых водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* после 6-ти часового воздействия ЭМП промышленной частоты на клетки инокулята

<i>Dunaliella tertiolecta</i>				<i>Tetraselmis viridis</i>			
анализируемый слой							
внешние структуры		вся клетка		внешние структуры		вся клетка	
контроль	опыт	Контроль	Опыт	контроль	опыт	контроль	Опыт
1,9	3,9	3,8	2,2	3,3	3,6	1,7	3,9

Анализ полученных данных позволяет рассматривать выявленные изменения в пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров в клетке водорослей как объективный показатель реакции клетки на повреждающий фактор внешней среды. Результаты данного эксперимента показывают, что дихроичные отношения могут характеризовать степень адаптации культуры к изменяющимся условиям среды, т.е. можно

отличать более устойчивую биосистему от менее устойчивой. При факторах воздействия у более устойчивой культуры разница дихроичных отношений больше, чем у неустойчивой.

Таким образом, было показано, что ухудшение состояния среды под действием факторов уменьшает разность между дихроичными отношениями клеток и дихроичными отношениями их внешних структур. Показано, что можно определить степень устойчивости системы и определить границы ее адаптивных возможностей. Если результаты перенести на макрообъекты и экосистемы, то это может послужить основой для определения степени антропогенного воздействия на макрообъект.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аслаян Р.Р., Королев Ю.Н., М., Вестник МГУ серия 16. Биология, 2007. С. 13–16
2. Бабусенко Е.С., Аслаян Р.Р., Королева С.Ю., Королев Ю.Н. Изучение биологической системы в условиях культивирования. 5-й Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития. 16-20 марта, 2009. С. 198–199.
3. Аслаян Р.Р., Бабусенко Е.С., Королева С.Ю., Королев Ю.Н. Воздействие факторов среды на живые системы и динамика изменения гетерогенности степени пространственной организации клеток. Электромагнитные излучения в биологии. Труды четвертой международной научной конференции БИО-ЭМИ-2008, Калуга-2008. С. 23–28

R.R. Aslanyan ¹, K.T. Semenov ²

*2 Faculty of Biology M.V.Lomonosov Moscow State University Leninskie Gory, Moscow 119991Russia
E-mail: rraslan@mail.ru*

*1 Faculty of Physics M.V.Lomonosov Moscow State University Leninskie Gory, Moscow 119991Russia
E-mail: ct.semenov@gmail.com*

OPTICAL METHODS OF STUDYING THE RELATIONSHIP OF CHANGES IN STRUCTURE AND FUNCTIONS OF INTACT CELLS

Changes in the spatial organization of the major biopolymers cells are an objective indicator of the reaction cell to damaging environmental factors

INTERNAL REFLECTION SPECTROSCOPY (IRS), THE SPATIAL AND TEMPORAL ORGANIZATION OF CELLS, DICHROIC RATIO