

жетеді. Өте тез өсетін ағаш – 5 жылда 4-5 м-ге жетеді. Жарық сүйгіш, топырақ талғамайды, құрғақ тасты, ізбесті және құм топырақта өседі,

топырақтың тұздылығына шыдайды, тіпті сорларда жақсы өседі, бірақ ылғал топырақта жақсы өсіп дамиды.



Сурет 2. Жоғарғы деңгейлі айлант

25°C аяз кезінде ағаштың ұшар басы қатты үседі, бірақ таза тармақтармен тез қалпына келеді. Тамырлық жүйесі беттік, бірақ мықты, сондықтан айлант желге төзімді. Ұрықпен, тамыр тарамдарымен, тамыр бөлігімен көбейеді. Ұрықты қапта немесе қағаз қалтада құрғақ салқын жерде сақтайды. Мұндай сақтауда 1,5-2 жылға дейін сақталады.

Әдебиеттер:

1. Згуровская Л. «Рассказы о деревьях Крыма» М., 1989. С.15-20

2. «Деревья и кустарники СССР», т.2, М.-Л., 1951. С. 58-92

В данной статье рассматриваются проблемы интродукции декоративных древесно-кустарниковых растений в экологически неблагоприятном Туркестанском регионе

This article deals with the problems of an introduction of decorative woody-shrubby plants in ecologically adverse of Turkestan region.

¹Сабырбек Ж. Б., ¹Тулеуханов С.Т., ²Ким Ю.А., ³Даниленко М.П.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СЛИЯНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН В ХОДЕ ЭКЗОЦИТОЗА

¹Казахский Национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Республика Казахстан. S.zhanna-kz@mail.ru

²Институт биофизики клетки РАН. Россия, г. Пушкино. Yuk01@rambler.ru

³Университет им. Бен-Гуриона в Негеве. Израиль, г. Беер – Шева

Экзоцитоз – одно из фундаментальных явлений в биологических системах, молекулярный механизм которого до конца не выяснен. Везикулярная гипотеза механизма экзоцитоза предполагает, что в ходе этого процесса происходит перемещение секреторных гранул в цитоплазме, их адгезия на клеточных мембранах, слияние с этими мембранами. Наименее изученной стадией экзоцитоза является акт слияния гранулярных и плазматических мембран с

последующим выбросом содержимого гранул во внеклеточное пространство.

С целью исследования процесса слияния мембран в ходе экзоцитоза была проведена разработка методических подходов регистрации экзоцитоза на клетках асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и перитонеальных макрофагах мышей.

Материалы и методы.

Объектами исследований были перевиваемые клетки АКЭ, ионные каналы, системы сиг-

нальной трансдукции и белки слияния. Для сравнения вторым объектом исследования экзоцитоза были клетки иммунной системы – перитонеальные макрофаги мышей. Клетки АКЭ получали из перевиваемых на мышах клеток на 7 сутки. После забора суспензии клеток из брюшной полости мышей, их промывали дважды раствором Хенкса, содержащем 20мМ НЕРЕС, рН 7,4. Конечная концентрация клеток составила 10^7 кл/мл.

Средой инкубации клеток являлись Хенкс и Хепес (20 мМ) рН 7,4 для АКЭ и фосфатно-солевой (20 мМ) рН 7,4 для макрофагов соответственно.

Флуоресцентные измерения проводили на спектрофлуориметре Perkin Elmer MPF -44В при температуре 37 °С и постоянном перемешивании.

В качестве флуоресцентного зонда был использован акридиновый оранжевый (длина волны возбуждения = 490 нм, флуоресценции = 530 нм).

Индукторами экзоцитоза являлись:

1- компонент 48/80 (Sigma, USA), который инициирует выход гистамина из клеток [1], уровень которого определяли по методу [2].

2- ионофоры А23187 и иономицин (Sigma, USA)

3- температура

Изменение формы и размера клеток в результате процессов связанных с экзоцитозом регистрировали по рассеянию света в суспензии клеток под прямым углом.

Клеточный ответ на стимуляцию экзоцитоза наблюдали и регистрировали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 510 Carl Zeiss Jena GERMANY

Результаты и их обсуждение

На клетках асцитной карциномы Эрлиха были отработаны три способа регистрации экзоцитоза в реальном времени. В основе первой из них лежит изменение формы и размеров клеток в ходе экзоцитоза, которая регистрировалась по изменению светорассеяния в клеточной суспензии. Как видно на приведенном рисунке, индуктор экзоцитоза компонент 48/80 [3] вызывает быстрое изменение светорассеяния суспензии клеток АКЭ, которое связано с изменением их формы и размера. Однако, только один этот параметр не может быть критерием исследуемого процесса, потому что клеточный ответ в виде изменения размера является результатом многих процессов происходящих внутри клетки,

в том числе и экзоцитоза, при запуске сигнальной трансляции.

Более прямой способ основан на том, что рН внутренней среды большинства секреторных гранул слабо кислый [4,5], вследствие чего слабо основные флуоресцентные зонды (например, акридиновый оранжевый) аккумулируются внутри этих гранул. Интенсивность флуоресценции внутри клеток гасится вследствие высокой концентрации и протонирования молекул флуорофора и, кроме того, он становится более гидрофильным и теряет способность выхода в цитозоль. В ходе экзоцитоза краситель высвобождается, при этом из-за разбавления хромофора изменяется интенсивность и спектр флуоресценции, что позволяет регистрировать секреторный процесс в суспензии клеток на спектрофлуориметре. Этот способ стал использоваться сравнительно недавно для изучения освобождения нейромедиаторов и нейроэкзоцитоза в синапсосамах и изолированных пресинаптических окончаниях [6-8].

Стандартная методика явления экзоцитоза основана на анализе титрования секреторируемых продуктов, в частности гистамина о-фталевым альдегидом [2]. При этом образуется окрашенный комплекс, которое также можно регистрировать флуориметрически.

Компонент 48/80 инициирует выход молекул гистамина, что является результатом запуска процесса экзоцитоза в клетке. Индуктором экзоцитоза может выступать и увеличение температуры среды инкубации клеток.

Отбор проб для измерения выхода гистамина производили после достижения стационарного состояния клеток по исследуемому параметру. Предварительные флуориметрические измерения показали, что при инициировании экзоцитоза повышением температуры уровень гистамина, вышедшего из клеток, достигает стационарного состояния через 5 минут. Таким образом, все три параметра – увеличение интенсивности флуоресценции с о-фталевым альдегидом (образует комплекс с молекулами гистамина, вышедшими из клеток), акридинового оранжевого во внеклеточной среде в результате выхода из клеток и увеличение интенсивности рассеянного света (изменение размера и формы клеток) в ответ на компонент 48/80 отражают процесс экзоцитоза.

Визуально клеточный ответ связанный с процессом экзоцитоза на клетках асцитной карциномы Эрлиха, обработанных акридиновым оранжевым [9], наблюдали на конфокальном сканирующем микроскопе.

После обработки клеток компонентом 48/80 наблюдается слияние отдельных гранул (интергранулярное слияние), после чего происходит процесс фузии образовавшихся везикул с плазматической мембраной и выброс красителя во внеклеточное пространство. Исследование распределения зондов внутри клеток на конфокальном микроскопе производилось на конечной стадии процесса экзоцитоза. Конфокальная микроскопия позволяла регистрировать лишь начальный и конечный этапы процесса экзоцитоза. Динамика этого явления (включая процессы появления вакуолей в цитоплазме. Их слияния, движения к периферии клеток и выход

во внеклеточное пространство) наблюдали с помощью люминисцентного микроскопа.

Действие компонента 48/80, представляющего собой олигомерную смесь конденсированных продуктов N-метил-п-метоксифениламина и формальдегида, основано на том, что он активирует G-белки сигнальной системы аналогично действию G-белковых серпентинных рецепторов [10]. Экзоцитоз, инициируемый компонентом 48/80 может быть прерван на этапе связывания кальция связывания кальция с кальмодулином, являющимся медиатором активации ферментов. Препарат R24571 (кальмидазолиум) обратимо связывается с белком, и ингибирует его (рис. 1).

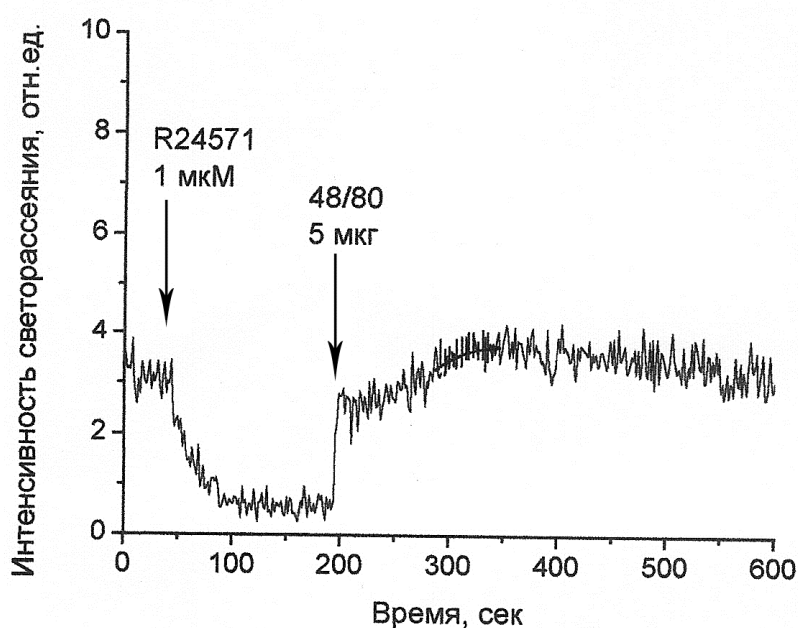


Рис. 1

Изменение интенсивности рассеяния света в суспензии клеток АКЭ при последовательном введении компонента 48/80 и препарата R24571. Концентрация клеток — $10^7/мл$, $\lambda_{\text{рассеяния}} = 620 \text{ нм}$

В качестве индукторов экзоцитоза кроме компонента 48/80 (рис. 1А,Б,В) использовались и другие специфичные ионофоры, действие которых связано с изменением концентрации внутриклеточного кальция, например А23187 и иономицин [2,10,11].

Согласно геометрии и природе сайта связывания ионофоры демонстрируют различную специфичность к катиону. Иономицин и ионофор А23187 селективны в отношении к ионам Ca^{2+} и поэтому широко используются для изучения секреции в различных системах.

Иономицин вызывает концентрационно — зависимое высвобождение гистамина из клеток [11]. Высвобождение, индуцируемое ионофором А23187 и иономицином не цитотоксично и

блокируется метаболическими ингибиторами и ферментными ядами. Действие этих индукторов основано на мобилизации внутриклеточных запасов Ca^{2+} .

Компонент 48/80 и А23187 используют различные источники Ca^{2+} для запуска экзоцитоза. А23187 способствует проникновению в клетку кальция из внешней среды, в то время как компонент 48/80 вызывает выход ионов из внутриклеточных депо через активацию фосфоинозитидного пути.

Это подтверждается действием нифедипина, который ингибирует потенциал-чувствительные кальциевые L-каналы дигидропиридинового типа [10].

АКЭ была использована в качестве удобной и хорошо изученной модели клетки (в плане внутриклеточной сигнальной системы). Для сравнения были выбраны перитонеальные макрофаги мышей, которым в большей степени присущи процессы эндо-и экзоцитоза, и следовательно, слияние мембран.

Микрофотографии клеток перитонеальных макрофагов мышей, обрабатывались акридиновым оранжевым. Акридиновый оранжевый флуоресцирует зеленым светом (максимум эмиссии 520 нм) в мономерах и желто-оранжевым (максимум эмиссии 600 нм) в олигомерах. Свечение зеленым светом является результатом выхода краски из клеток в процессе экзоцитоза. Оранжево-желтая флуоресценция позволяет определить положение, внутриклеточный рН и движение гранул.

Использование акридинового оранжевого не дает ответа на вопрос о том, происходит ли слияние мембран секреторных пузырьков с плазматической. Поэтому при титровании секретированных продуктов в качестве титрата часто используют катионный липофильный флуоресцентный краситель ТМА-ДРН [12-14]. В водной суспензии этот краситель взаимодействует исключительно с плазматическими клетками. Фракция ТМА-ДРН, включенная в мембраны в состоянии равновесия пропорциональна концентрации последних. В ходе экзоцитоза происходит слияние отдельных секреторных гранул, а также множественное интерганулярное слияние, что ведет к значительному увеличению мембранной поверхности в контакте со внешней средой, и как следствие, к изменению интенсивности флуоресценции [13].

Таким образом, действие некоторых ингибиторов кальциевой сигнальной системы на процесс экзоцитоза является особенностью слияния клеточных мембран.

Литература

1. A. M. Rothschild (1970). "Mechanisms of histamine release by compound 48/80". Br J Pharmacol 38 (1): 253-262
2. Parhurst A. Shore, Alan Burkhalter, Viktor H. Cohn // Journal of Cell Biology 127 (1959). P. 182-186.
3. Yukishige Kawasaki, Takako Saitoh et al // Biophysica Acta, 1067 (1991). P. 71-80.
4. Anderson, R.G.W., Orci, L. // Journal of Cell Biology, 106 (1988). P. 539-543.
5. Holz, R.W. // Annu. Rev. Physiol., 48 (1986). P. 175-189.
6. Zoccaro F., Cavalli L., Alexandre. // J. Neurochem, 72, (1999). P. 625-633.
7. Melnik V.I. Bikdulatova L.S., Bazyan A.S. // Neurochem. Res., 26 (2001). P. 549-554.
8. Васим Т.В., Федорович С.В., Конев С.В. // Биофизика, 48, 5 (2003). P. 880-883.
9. Richard P. Haugland / Handbook of Fluorescent Probes and Research Products (2002). P. 269-278, 489-491.
10. Biomol. Signal Transduction. Sixth Edition. 1997.
11. Pearce F.L. // Progress in Medicinal Chemistry, 19 (1982). P. 60-101.
12. Johan W.M. Heemskerk, Marion A.H. Feijge et al. // Biochimica et Biophysica Acta, 1147 (1993). P. 194-204.
13. Christian Bronner, Yves Landry et al. // Biochemistry, 25, (1986) p. 2149-2154.
14. Martial Kubina, Francois Lanza et al. // Biochimica et Biophysica Acta, 901 (1987). P. 138-146.

Түйін

Статьяда асцитті карциномды Эрлих жасушасындағы экзоцитоз процесін кальцилі сигнализация индукторларын пайдалана отырып тіркеу тәсілдерінің жаңа әдістемесі келтірілген.

Summary

In the paper, the new method of the registration approach of the exocytosis process in Ehrlich ascitic carcinomatous cancer cells is shown by means of calcium signalization inductor.

УДК. 633.8: 631.52:033.581

С.Л. Дуйсенбеков, С.К. Таурова

РОЛЬ И ЗНАЧИМОСТЬ ГЕОБОТАНИЧЕСКИХ ОБСЛЕДОВАНИЙ

Дочернее государственное предприятие Комплексное изыскательское отделение
Научно-производственного центра земельных ресурсов и землеустройства

В данной статье рассматривается значение геоботаники в науке, геоботанических обследований и подготовка специалистов-геоботаников.

Мы знаем, что геоботаника наука изучающая не отдельное растение, а растительность, т.е. различные группировки растений, в сово-

купности образующие растительный покров Земли.

Практическое значение геоботаники велико,