

11. Реутов В.Ф., Дмитриев С.Н., Сохацкий А.Н. Способ получения металлической реплики для анализа нанометрических каналов в трековых мембранах. Патент РФ № 2115915, 23.07.96.

12. Электрокинетические свойства капиллярных систем / Монографический сборник экспериментальных исследований под рук. И.И. Жукова. - Москва-Ленинград: АН СССР, 1956. – 352 с.

Ахматуллина Н.Б.¹, Ташенова А.А.¹, Баймухамедова М.Х.¹, Зайпанова С.Б., Ю В.К.²
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ЭЙМСА ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ РАЗРАБОТАННЫХ ПРЕПАРАТОВ
ПИПЕРИДИНОВОГО РЯДА

¹*РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, г. Алматы*

²*АО «Институт химических наук им. А.Б. Бектурова, г. Алматы*

Проблема мутагенного загрязнения биосферы разнообразными химическими соединениями, которые используются в качестве технологических продуктов для промышленности, пестицидов, минеральных удобрений, бытовых химических средств, лекарственных и косметических средств, является в настоящее время одной из наиболее актуальных. В связи с этим становится очевидной важность исследований, направленных на определение мутагенности объектов окружающей среды, возникает проблема медико-биологической оценки этих веществ. Прямая регистрация химических соединений как мутагенных загрязнителей окружающей человека среды к настоящему времени не осуществлена, ни для одного химического соединения экспериментально не доказано наличие или отсутствие мутагенной активности, несмотря на многочисленные исследования, созданные банки данных о мутагенности различных химических веществ. Чрезвычайно большое число веществ, требующих оценки их мутагенной опасности, не позволяет во всех случаях использовать тесты, обладающие наибольшей прогностической значимостью в отношении человека, но вместе с тем связанные с большими временными и материальными затратами. В изучении процессов злокачественного опухолеобразования значительную роль сыграли долгосрочные испытания (ДСИ) на животных с целью индукции у них опухолей при воздействии исследуемого вещества. Однако такой подход имеет и существенные недостатки, одним из которых является большая длительность опытов – обычно 2-3 года наблюдения за животными с последующей гистологической обработкой и морфологическим исследованием всех органов и тканей, а также возникших опухолей. В результате выявление онкогенных свойств одного вещества занимает 3-4 года и требует работы значительного по численности коллектива специалистов. Кроме того, данные, полученные при ДСИ, часто бывают противоречивыми, и в целом ряде случаев проверочные эксперименты не подтверждают результатов ранее проведенных ДСИ, казавшихся вполне убедительными [1]. Указанные недостатки традиционных ДСИ и потребности практики стимулировали нас к использованию краткосрочных тестов (КСТ) на мутагенность. К настоящему времени КСТ представляют обширную область исследований последних 25 лет. КСТ успешно применяют не только для предсказания мутагенного действия ряда групп химических веществ, но и для решения других теоретических и практически важных задач (исследование механизмов канцерогенеза, поиск не канцерогенных аналогов, деканцерогенизация производства и др.) [2].

Мутагенность химических загрязнителей окружающей среды определяют с использованием различных тест-систем. Первым тестом, созданным специально для анализа потенциальной мутагенной, в том числе и промутагенной, активности химических соединений, является так называемый тест Эймса *Salmonella*/микросомы [3]. В настоящее время тест Эймса получил широкое применение для первичной оценки мутагенной активности как химических соединений окружающей среды, так и вновь синтезированных препаратов, в том числе и лекарственных. Вместе с тем большое количество исследований было посвящено возможностям самого теста Эймса, его применению, модификациям, калибровке по отношению к другим тестам (в основном по отношению к тестам на грызунах). Все это сделало тест Эймса абсолютным лидером в изучении мутагенной активности химических

загрязнителей окружающей среды как индивидуальных соединений, так и сложных смесей. Кроме того, тест Эймса широко применяется для исследования зависимости мутагенной активности от химической структуры и антимутагенных факторов.

В нашей лаборатории на протяжении ряда лет проводятся исследования с использованием теста Эймса, направленные на определение мутагенности загрязнителей окружающей среды (источников воды, почвы, воздуха), растений различных регионов Казахстана, а также новых лекарственных препаратов. Уровень мутагенности изучаемых объектов, в основном, находился в прямой зависимости от количественного содержания мутагенных (канцерогенных) веществ в них, демонстрируя специфичность мутаций. Тесты на мутагенность с использованием бактерий отвечают на вопрос: может ли исследуемое соединение вызывать мутации у бактерий в отсутствие экзогенной метаболической системы. При положительном ответе исследуемое вещество рассматривается как потенциально мутагенное для млекопитающих (включая человека).

Целью настоящего исследования являлось обнаружение генных мутаций в микробной тест-системе *Salmonella*/микросомы без метаболической активации, индуцируемых вновь синтезированными препаратами пиперидинового ряда, проявившими антимикробную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и диких чувствительных штаммов микобактерий туберкулеза.

Исследованию в стандартном тесте Эймса подлежали препараты пиперидинового ряда, синтезированные в лаборатории химии лекарственных веществ Института химических наук им. А.Б. Бектурова: комплекс 3-(3-изопропоксипропил)-7-(3-морфолинопропил)-4-пропионил-окси-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана с β -ЦД (ПВТ-10), комплекс О-бензоилокси-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-она с β -ЦД (ПВТ-11), комплекс пропилового эфира 1-(2-этоксиэтил)-4-кетоксимпиперидина с β -циклодестрином (ПВТ-13) и комплекс 1-(2-этоксиэтил)-4-(2-этоксиэтоксил)-4-[3-N-(N'-этилпиперазин)пропин-1-ил] пиперидина с β -циклодестрином (ПВТ-17) в концентрациях 10; 100; 1000 и 10000 мкг/мл. В качестве тестерных штаммов микроорганизмов использовали *Salmonella typhimurium* TA100 и TA 98. Испытание проводилось полуколичественным методом учета генных мутаций без метаболической активации. Наличие мутагенного эффекта у исследуемых препаратов учитывали по индукции обратных мутаций от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. В качестве позитивных контролей использовали мутаген прямого действия N-нитрозометилмочевину (NMM), вызывающий мутации замены пар оснований на штамме *Salmonella typhimurium* TA 100 и 2,7-диамино-4,9-диокси-5,10-диокси-4,5,9,10-тетрагидро-4,9-дiazопирен (ДДДТДП), индуцирующий мутации по типу рамки считывания на штамме *Salmonella typhimurium* TA 98. Чистым контролем служили варианты с растворителем. Активность препаратов изучалась в виде средних значений (3 опыта, в каждом опыте по 3 чашки на каждое разведение препарата) количества ревертантов в опыте по сравнению с контролем.

Получены результаты, показавшие, что количество ревертантов в опытных чашках не превышало контроль более, чем в два раза. На основании этого сделан вывод об отсутствии мутагенности исследуемых препаратов пиперидинового ряда (ПВТ-10, ПВТ-11, ПВТ-13 и ПВТ-17) в пределах чувствительности данного метода на штамме *Salmonella typhimurium* TA 98 и на штамме *Salmonella typhimurium* TA 100 без микросомальной активирующей смеси. Таким образом, подобные исследования являются важными при первичном скрининге мутагенности различных препаратов и факторов окружающей среды.

Литература

1. Белицкий Г.А., Худолей В.В. Краткосрочные тесты в системе выявления канцерогенных для человека химических соединений // Вопросы онкологии. - 1984. - Т. 32. - №4. - С. 3-11.
2. Бочков Н.П., Шрам Р.Я., Кулешов Н.П. Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки // Генетика. - 1975. - Т. 11. - № 10. - С. 156-169.
3. Ames B.N., Mc Cann J., Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian* - microsome mutagenicity test // Mutat. Res. - 1975. - V. 31. - P. 347-364.

Түйін

Қоршаған ортаның факторына және әр түрлі препараттардың мутагендің алғашқы скринингін анықтауға Эймс тест-жүйесін қолдану ыңғайлы.

Summary

Use of bacterial Ames test system is great importance at primary screening of a mutagenicity of various preparations and environment factors.

УДК 581.1.04:631.811.982:631.461.52

Волобуева О.Г.

ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА АЛЬБИТ НА ГОРМОНАЛЬНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
г. Москва, Россия, E-mail: ovolobueva@list.ru

Одной из важных и мало разработанных проблем в области симбиотической азотфиксации является её гормональная регуляция. Особое место в регуляции взаимоотношений бобовых растений и клубеньковых бактерий занимают фитогормоны и другие биологически активные вещества [1, 2, 3]. Взаимодействие растений с симбиотическими и полезными ризосферными микроорганизмами играет важную роль в развитии растений, обеспечивая их соответствующим питанием и фитогормонами, защищая от патогенных микроорганизмов, адаптируя к стрессам [4]. Активность почвенной микрофлоры во многом определяет качественные характеристики пахотного горизонта. К сожалению, в настоящее время сельские товаропроизводители недостаточно осведомлены о перспективах использования и возможностях современных микробиологических удобрений и биопрепаратов. Тем не менее в последнее время отмечается интерес к микробиологическим препаратам. Это связано с изменением подхода к проблеме выращивания экологически безопасной сельскохозяйственной продукции и постепенной переориентации АПК на экологически ориентированное земледелие [5]. Применение биопрепаратов на основе азотфиксирующих бактерий позволяет направленно регулировать численность и активность полезной микрофлоры в ризосфере возделываемых растений, улучшить обеспеченность растений доступным азотом и за счет этого повысить продуктивность возделывания культур и качество сельскохозяйственной продукции.

Цель работы – изучение влияния биопрепарата альбит на содержание и соотношение фитогормонов в листьях, стеблях и корнях с клубеньками и эффективность симбиоза.

Исследования проведены в условиях мелкоделяночного опыта с растениями гороха сортов Норд и Мультик и в условиях полевого опыта с растениями фасоли сортов Гелиада и Шоколадница. Семена замачивали в течение 3 ч в растворе биопрепарата альбит в концентрации 10^{-6} М и затем за 1 ч перед посевом обрабатывали ризоторфином, штамм *Rhizobium leguminosarum* 245a (для гороха) и штамм *Rhizobium phaseoli* 700 (для фасоли). Схема опыта: вариант 1 – контроль (без обработки); вариант 2 – семена обработаны ризоторфином; вариант 3 – семена обработаны альбитом. Ризоторфин (штаммы 245a, 700) получен из ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург). Биопрепарат альбит разработан в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН (Пушино) совместно с научно-производственной фирмой ООО «Альбит». В основе – почвенные ризосферные бактерии *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aureofaciens*, стимулирующие рост растений и повышающие их устойчивость к болезням и неблагоприятным факторам среды. Содержание фитогормонов (ИУК – индолилуксусная кислота, ЦК – цитокинины, АБК – абсцизовая кислота) в листьях, стеблях, корнях с клубеньками определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по методике, разработанной в лаборатории регуляторов роста и развития