

5. Специализированные продукты и биологически активные добавки – один из эффективных способов повышения адаптационных возможностей организма в условиях длительных космических полетов / Ю.А. Синявский [и др.] // Здоровье и болезнь. – 2006. – № 4. – С. 85–88.

6. Тюкавкина, Н.А. Природные флавоноиды как пищевые антиоксиданты и биологически активные добавки / Н.А. Тюкавкина [и др.] // Вопросы питания. - 1996. - № 2. - С.33-38.

7. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии и гистологической техники. 2-е изд. М.: Медицина, 1982. С 3-7.

Эксперименталды зерттеу жұмысында гипокинезия әсерін алған егеуқұйрықтардың бүйрегінде көп өзгерістер көрінді, ал радиопротекторлы арнайы өнім «Таң сәулесі» және детоксификацияшы арнайы өнім «Мөлдірді» қолданған кезде компенсаторлы бейімделу қабілеті күшейді, морфофункционалды өзгерістері аз болды.

Morphological analysis of kidneys of experimental animals exposed to hypokinesia by using a specialized product radioprotection "Tan saulesi" and detoksitsiruyushy "Moldir" showed that the beneficial effects on the normalization of the immune system, reduces the compensatory-adaptive reactions and enhances the adaptive process.

УДК 577.15.086.83; 579.6'15, УДК 574.5; 572.1/4

С.А. Ибрагимова, Н.Г. Ризер, Е.Ю. Гуккенгеймер, Д.П. Сафонов, Ш.М. Нурмолдин, А.С. Есиббаева

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ НОВОГО БИОСЕНСОРА ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА РАННЕГО АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМОВ

(РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина» КН МОН РК)

В настоящей работе были изучены свойства нового биосенсора на основе НАДФН – ГДГ, полученного с помощью хроматографии на наноструктурированном углеродном сорбенте типа «Нанокарбосорб» из семян кукурузы, собранных в фазу молочно-восковой спелости для экологического мониторинга раннего антропогенного загрязнения природных водоемов. Данный биосенсор имеет чувствительность на 2-3 порядка выше, чем у известных методов определения ионов аммония.

В настоящей работе были изучены свойства нового биосенсора на основе НАДФН – ГДГ, полученного с помощью хроматографии на наноструктурированном углеродном сорбенте типа «Нанокарбосорб» из семян кукурузы, собранных в фазу молочно-восковой спелости для экологического мониторинга раннего антропогенного загрязнения природных водоемов. Данный биосенсор имеет чувствительность на 2-3 порядка выше, чем у известных методов определения ионов аммония.

Хорошо известно, что природные источники питьевой воды совершенно не содержат ионов аммония. Ионы аммония попадают лишь при антропогенном загрязнении этих источников фекалиями или канализационными стоками [1]. Поэтому для экологического мониторинга загрязнения источников питьевой воды канализационными стоками необходимо наличие высокочувствительных биосенсоров для количественного определения ионов аммония. К сожалению, существующие методы определения концентрации ионов аммония имеют крайне низкую чувствительность. Так, широко используемый для этого реактив Несслера позволяет определять лишь миллимолярные концентрации ионов аммония [2]. Кроме того, реактив Несслера содержит токсические ионы ртути, что делает его применение небезопасным. Следует отметить, что ферментный метод определения концентрации ионов аммония с помощью коммерческого препарата «ГДГ из печени быка» имел чувствительность в 1000 раз ниже, чем изучаемая нами НАДФН – ГДГ [3]. Имеется также метод определения концентрации ионов аммония с помощью капиллярного электрофореза [4]. Однако и этот метод имеет не очень высокую чувствительность, кроме того он трудоемок и требует дорогого специального оборудования.

Материалы и методы:

Материалом служили семена кукурузы сорта «Казахстанская – 587» ТВ селекции КИЗ (среднепоздний 2-ой межлинейный гибрид), собранные в фазу молочно-восковой спелости. Для получения бесклеточного экстракта брали незрелые семена кукурузы, которые растирали в фарфоровой ступке в 0,05М морфолиноэтансульфатном (МЭС) буфере pH 7,4, содержащем 0,1% восстановленного глутатиона. Гомогенат центрифугировали при 10000 x g 10 минут. Полученный бесклеточный экстракт использовали для очистки биосенсора. В работе был использован спектрофотометрический метод определения активности НАДФН – ГДГ [5]. Активность глутаматдегидрогеназы определяли по реакции восстановительного аминирования 2-оксоглутарата по изменению адсорбции при длине волны 340 нм на спектрофотометре Ultraspec-1100, Amersham-

Bioscience (Великобритания). Скорость ферментативной реакции определяли по изменению адсорбции за 1 мин. Удельную активность рассчитывали в мкМ окисленного НАДФН на 1 мг белка. Реакционная смесь для определения активности НАДФН-ГДГ содержала: 130мкМ - НАДФН, 10 мкМ – сульфата аммония, 15 мМ – 2-оксоглутарата, 0,2мл ферментного препарата и 0,05М МЭС буфер до общего объема реакционной смеси 2мл.

Результаты и их обсуждение

В качестве биосенсора для экологического мониторинга лучше всего использовать ферментные методы определения. Так как ГДГ из печени быка оказалась малочувствительной к ионам аммония, то поэтому мы решили провести поиск ГДГ, имеющей высокое сродство к аммонiu. Наша лаборатория имеет большой опыт работы с этим ферментом [6-7]. Проведенный нами поиск показал, что ГДГ, имеющая высокое сродство к ионам аммония была обнаружена в семенах кукурузы, собранных в фазу молочно-восковой спелости. Получение бесклеточного экстракта из этого объекта описано в главе «Материалы и методы». Высокочувствительный биосенсор получали хроматографией полученного бесклеточного экстракта на колонке с наноструктурированным углеродным сорбентом типа «Нанокарбосорб» (рисунок 1).

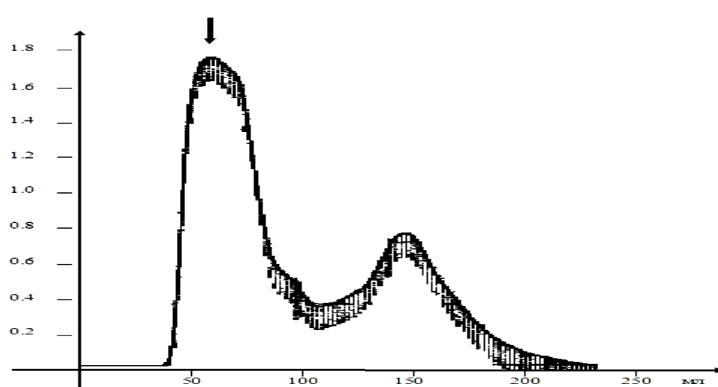


Рисунок 1 – Хроматография сферосом из созревающего зерна кукурузы на колонке с «Нанокарбосорб»

Как видно из рисунка 1, биосенсор выходил в первом высокомолекулярном пике.

На основании изучения активности НАДФН-ГДГ биосенсора от концентрации ионов аммония был построен калибровочный график, который представлен на рисунке 2.

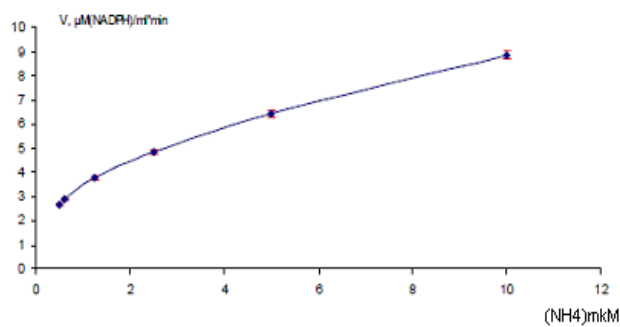


Рисунок 2 - Калибровочный график определения ионов аммония с помощью биосенсора на основе НАДФН-ГДГ из созревающих семян кукурузы

Как видно из представленного рисунка, изучаемый биосенсор позволяет определять субмикромольные концентрации ионов аммония, то есть наш биосенсор имеет чувствительность на 2-3 порядка выше, чем у известных методов определения ионов аммония. Для определения точной концентрации субстрата в испытуемом растворе берутся оптимальные концентрации субстратов ГДГ кроме ионов аммония. Для определения ионов аммония к реакционной смеси добавляют 0,2 мл испытуемого образца и по уровню активности биосенсора на калибровочном графике точно определяют концентрацию исследуемого образца, выраженную в микромолях. При этом берут

коэффициент молярной экстинкции НАДФН равной 6200 единиц оптической плотности. Для определения молярной концентрации субстрата определяют изменения оптической плотности НАДФН в реакционной среде за 1 минуту. Так как все изменения в реакционной среде носят эквимольный характер, то изменения молярной концентрации НАДФН строго соответствует молярной концентрации субстрата в испытуемом растворе.

Важным явилось изучить стабильность изучаемого биосенсора на основе НАДФН-ГДГ из созревающих семян кукурузы. Было установлено, что активность сильно подавляется в присутствии 3-х валентных металлов, например алюминия и железа. Очень сильно активность биосенсора подавляют тиоловые яды: оины кадмия, цинка, ртути и агент, связывающий SH группы - параклормеркурийбензоата (п-ХМБ). Для восстановления активности НАДФН-ГДГ после воздействия тиоловых ядов мы с успехом использовали следующие агенты: 2-меркаптоэтанол, дитиотреитол, британский антильюзит и восстановленный глутатион. Поэтому для хранения препарата НАДФН – ГДГ оптимальным является присутствие 0,1% восстановленного глутатиона. Биосенсор оказался стабильным и выдерживал нагревание до 65 °С в течение 5 минут. Было изучено влияние условий хранения биосенсора. Было установлено, что биосенсор может храниться без изменения исходной активности в течение месяца при температуре -10-15°С при условии обязательного присутствия восстановленного глутатиона в концентрации 0,1%, который необходим для защиты сульфгидрильных групп биосенсора. При температуре от 0 до +5°С биосенсор может храниться в течение недели, также в присутствии восстановленного глутатиона. При комнатной температуре биосенсор может храниться в присутствии восстановленного глутатиона в течение одних суток.

1 Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. - М.: Мир. 1997. - 232 с.

2 Руководящий документ 52.24.486-2009 Массовая концентрация аммиака и ионов аммония в водах. Методика выполнения измерений фотометрическим методом с реактивом Несслера // Ростов-на-Дону, 2009, С.7-14

3 М. В. Андреева, Г.Н. Ишевская, Г. Н. Сметанин. Определение иона аммония методом капиллярного электрофореза // ГУП "Центр исследования и контроля воды", Санкт-Петербург №2. С.3-6

4 В.В. Слепышева, М.Д. Балябина, А.В. Козлов Методы определения мочевины. // Terra Medica Nova. 2007, Т.16).

5 Гильманов М.К., Саменов Н.А. Методы очистки и изучения свойств НАДФ-глутаматдегидрогеназы растений // Статьи методического сборника ИМБиБ "Методы молекулярной биологии, биохимии, иммунохимии и биотехнологии" Алматы, 1999 г., с. 103-107.

6 Гильманов М.К., Фурсов О.В., Францев А.П. // Методы очистки и изучения ферментов растений // Алма-Ата: Изд-во "Наука", 1981, 91 с.

7 Ригер Н.Г., Садыкова С.И., Саменов Н.А., Гуккенгеймер Е.Ю., Гильманов М.К. Изучение НАДФ-глутаматдегидрогеназы злаковых культур и механизма ее активации // Сборник статей для служебного пользования КазНУ, Алматы, 2006 г., №4(30) , с. 33-37

Табиғи су қоймаларының бастапқы антропогендік әсердің экологиялық мониторингін жасау мақсатында балауызданып піскен жүгерінің дәндерін хроматография әдісі арқылы "Нанокорбосорб" типті нанокұрылымды сорбент арқылы алынған НАДФ-ГДГ ферментінің негізінде жасалған жана биосенсордың қасиеттері осы жұмыста зерттелінді. Осы биосенсор қаммони иондарын анықтаудың танымал әдістеріне қарағанда сезімталдық дәрежесі 2-3 есеге жоғары. Биосенсорды жақсы сақтау үшін оның сульфгидрил топтарды қорғау керек.

The biosensor - NADPH – GDh from seeds of maize collected in milk-wax stage was purified by chromatography on Nanocarbosorb. The biosensor has a sensitivity of 2-3 orders of magnitude higher than that of the known methods for the determination of ammonium ions. For storage the biosensor is needed for protection of its sulphhydryl groups groups. Our biosensor very convenient for ecological monitoring of early anthropogenic pollution of water reservoirs by sewage and feces.

УДК 631. 445. 4 (633.311)

Т.Р. Рысбеков

СОВРЕМЕННАЯ ПОСТАГРОГЕННАЯ СУКЦЕССИЯ НА РАЗЛИЧНЫХ ЛАНДШАФТАХ КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ОБЪЕКТ ИЗУЧЕНИЯ ПРИРОДЫ

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

На современном этапе в природной среде за счет сукцессий происходит восстановление растительности, организмов, почв, вод, воздуха конкретных территорий. Определение современного состояния пастбищных, обрабатываемых, целинных и водных объектов требует наличия информации об интенсивности и времени нагрузки на объекты, позволяют начинать изучение качественного и количественного состава растительности, животных, микроорганизмов в ландшафтах.

Определение наиболее эффективных путей охраны и преобразования природы, своевременное предвидение тенденций изменения экологического состояния природной среды – важнейшая научная проблема современности. Большое значение при этом придается сохранению относительного (динамического) равновесия, существующего в природе в результате тесного взаимодействия всех ее