

тение, число заложившихся семян на 1 завязь, число семян в бобе.

На основании проведенных экспериментов можно заключить, что погодные условия 2001 года способствовали нормальному росту и развитию люпина и образованию полноценных семян. Стадии бутонизации и цветения наступили в обычные для люпина сроки (желтый 30.06.-5.07., узколистный 24.06.-2.07.). За период вегетации самыми сухими были две декады июля и августа. В это время из-за сильной жары агрометеословия для роста и развития люпина были напряженными, растения теряли тургор. Но осадки первой декады июня пополнили верхние слои почвы. Среднее количество семян в расчете на 1 растение составило 59,0–63,0 штук. Наибольшей массой семян обладал сорт Быстрорастущий 4, у Узколистного 109 образовались мелкие семена.

В 2002 году было продолжено изучение сортов люпина желтого и люпина узколистного. Бутонизация и цветение наступили несколько позже, по сравнению с предыдущим годом. Июнь характеризовался колебаниями температуры от холодной погоды до жарких дней и частыми грозвыми дождями в течение двух недель и более, что отрицательно повлияло на рост и развитие люпина. Июль характеризовался повышенной температурой и недобором осадков. На поверхности почвы температура доходила до 50. Низкие температуры в первой и третьей декадах августа, и перепады температурного режима во второй декаде отрицательно сказались на семенной продуктивности люпина, которая оказалась ниже, чем в 2001 году. В результате испытаний установлено, что сорта люпина узколистного – Дикаф 9, Узколистный 109 и люпина желтого – Быстрорастущий 4 обладают рядом положительных качеств.

ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРА ФОСФОЛИПИДОВ ХРОМАТИНА В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Дудко А. А., Трофимов В. А.

Мордовский государственный университет имени Н.П.Огарева, Саранск

Показано, что липиды могут играть важную роль в регуляции генетических процессов [2]. В данной работе приводятся данные о качественных и количественных особенностях состава фосфолипидов в хроматине, различающемся транскрипционной активностью.

Хроматин из ядер клеток печени мышей фракционировали по прочности связывания с ядерным матриксом с помощью растворов с низкой ионной силой и предварительной активацией эндогенной Ca^{2+}/Mg^{2+} ДНКазы [1;4]. В результате экстракции ТМ-буфером с добавлением NaCl возрастающей концентрации выделены следующие фракции хроматина: хроматин-1 (Хр-1), хроматин-2 (Хр-2), хроматин высоко солевой (Хр-ВС), хроматин (ядерный матрикс) (Хр-ЯМ). Первые две фракции составляют до 70 % хроматина ядра и представляют собой наиболее активный в транскрипционном отношении хроматин. Липиды экстрагировали методом Блайя-Дайера с применением смеси хлороформ-метанол (1:2, по объ-

ему) и разделяли с помощью двумерной хроматографии в тонких слоях силикагеля. Количественно липиды определяли спектрофотометрическим методом по содержанию неорганического фосфора [3].

Показано, что во фракции Хр-1 присутствуют фосфатидилхолин (27,1 %), фосфатидилинозит (15,1 %), сфингомиелин (6,2 %), фосфатидилэтаноламин (20,2 %), кардиолипин (16,1 %), лизоформы фосфатидилхолина (13,2 %). Во фракции Хр-2 на долю фосфатидилхолина приходится (34,2 %), фосфатидилинозита (11,0 %), фосфатидилсерина (3,9 %), сфингомиелина (17,6 %), фосфатидилэтаноламина (11,3 %), кардиолипина (8,8 %), количество лизоформ фосфатидилхолина составляет (13,2 %).

Показано, что во фракции Хр-ВС доля фосфатидилхолина понижается до 24 %, содержание фосфатидилинозита составляет (13,8 %), сфингомиелина (15,1 %), резко возрастает уровень фосфатидилэтаноламина до (39,5 %), кардиолипина до (11,9 %), лизоформы фосфатидилхолина не выявляются. Во фракции Хр-ЯМ фосфолипиды более разнообразны, чем в Хр-ВС и представлены фосфатидилхолином (27,1 %), фосфатидилинозитом (5,7 %), фосфатидилсеринном (6,7 %), сфингомиелином (16,7 %), фосфатидилэтаноламином (16 %), кардиолипином (17,1 %), лизоформами фосфатидилхолина (4,6 %).

Таким образом, транскрипционно активный хроматин (Хр-1 и Хр-2) характеризуется большим разнообразием фосфолипидов, чем транскрипционно неактивный. Он характеризуется низким содержанием фосфатидилсерина, относительно высоким содержанием фосфатидилхолин и его лизоформ.

1. Бойков П. Я., Костюк В. Г., Терентьев А. А., Шевченко Н. А. Концентрирование протоонкогенов в ядрах гепатоцитов //Молекулярная биология. 1995. Т.29. №5. С. 1137-1144.

2. Стручков В.А., Стражевская Н.Б., Структурные и функциональные аспекты ядерных липидов нормальных и опухолевых клеток //Биохимия. 2000.- Т.65. №5. С. 620-643.

3. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов /М.: Мир. 1975. 322 с.

4. Борисова Н.П., Костюк В.Г., Шевченко Н.А., и др. Двойственный характер действия эндогенных ДНКаз на транскрипционно активный и неактивный хроматин //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т.135. №3. С.294-298.

ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛЕННОСТИ ЛИПИДОВ ВО ФРАКЦИЯХ ХРОМАТИНА, РАЗЛИЧАЮЩЕГОСЯ ПРОЧНОСТЬЮ ПРИКРЕПЛЕНИЯ К ЯДЕРНОМУ МАТРИКСУ, В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Дудко А. А., Трофимов В. А.

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева

Одним из наиболее значимых факторов, приводящих к повреждению ядерного генома являются свободные радикалы. Наличие в ядре ненасыщенных липидов определяет их потенциальную роль как ис-

точников свободных радикалов, образующихся в процессах перекисного окисления липидов [4]. В свою очередь, изменение физико-химических свойств липидного компонента хроматина, обусловленное усилением перекисидации липидов, может играть регуляторную роль в изменении активности генетических процессов. В данной работе представлены данные об изменении окисленности липидов хроматина, различающегося прочностью прикрепления к ядерному матриксу и транскрипционной активностью, в динамике регенерационного процесса в печени мышей.

В опыте использовались белые беспородные мыши весом 20-30 г. При частичной гепатэктомии удаляли левую наружную и левую внутреннюю доли печени (2/3 части). Мышей забивали декапитацией. Ядра выделяли из гомогената печени, ресуспендированного в 0,05 М трис-НСl буфере (рН 9,0), содержащем 0,25 М сахарозы, 5 мМ СаСl₂ и 20 мМ NH₄Сl [1]. Чистоту ядерной фракции контролировали при помощи световой микроскопии. Высокорастворимую фракцию хроматина (Хр-1) получали экстракцией буфером ТМ (10 мМ Tris-НСl (рН 7,5), с 0,2 мМ MgCl₂) при 4°C. После повторной экстракции получали вторую фракцию растворимого хроматина (Хр-2). Затем из остатков ядер экстрагировали хроматин в ТМ-буфере, содержащем 2 М NaCl, и получали высокоослевуую фракцию хроматина (Хр-ВС). После отмывания ядерного остатка в ТМ-буфере, содержащем 1 %-ный тритон X-100, получали конечную фракцию хроматина, связанного с ядерным матриксом (Хр-

ЯМ). Липиды из изолированных фракций хроматина экстрагировали смесью хлороформ-метанол (1:2, по объему) [3]. Окисленность липидов регистрировали спектрофотометрическим методом и оценивали по величинам индексов окисленности A_{232}/A_{215} и A_{275}/A_{215} . Малоновый диальдегид (МДА) определяли с помощью ТБК-теста. Концентрацию белка определяли методом Бредфорд, ДНК с реактивом Дише, РНК орциновым методом [2]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Биохимический анализ нуклеиновых кислот и белка показал, что в регенерирующей печени мышей пик транскрипционной активности приходится на 3 час, а репликативной активности на 21,5 час после гепатэктомии.

В липидах хроматина в динамике процесса регенерации печени содержание начальных продуктов перекисидации, определяемое по величинам индексов окисленности липидов A_{232}/A_{215} (диеновые конъюгаты) и A_{275}/A_{215} (триеновые конъюгаты), максимально возрастало во фракции растворимого хроматина во время пика транскрипционной активности (рис. 1; 2). В липидах, входящих в состав высококорастворимого хроматина, напротив, отмечено уменьшение окисленности липидов как во время транскрипционной, так и репликативной активностей. В хроматине, прочно связанным с ядерным матриксом, накопление окисленных липидов происходило во время пика репликации ДНК.

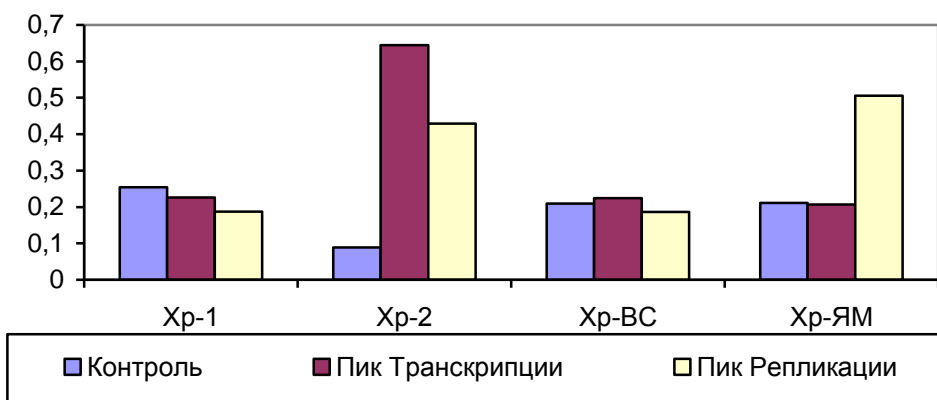


Рисунок 1. Изменение ИО_{ДК} во фракциях хроматина, различающегося степенью прикрепления к ядерному матриксу.

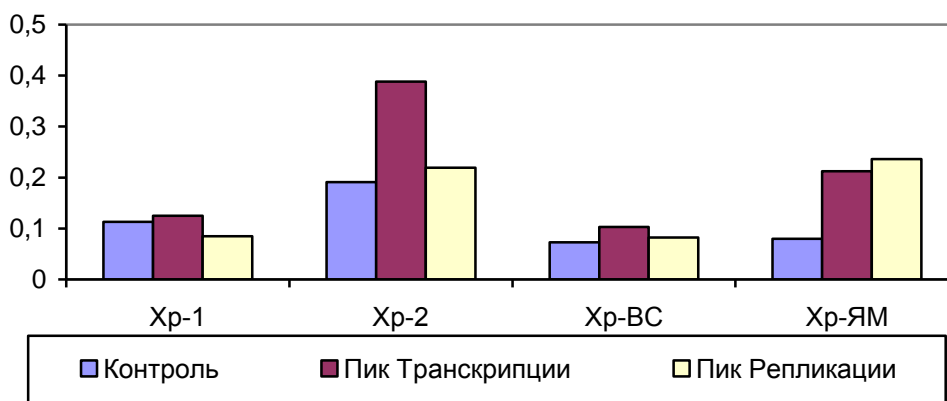


Рисунок 2. Изменение ИО_{ТК} во фракциях хроматина, различающегося степенью прикрепления к ядерному матриксу.

Уровень вторичного продукта перекисидации липидов малонового диальдегида, определяемого в сумме ТБК-реактивных продуктов, максимально накапливался во второй фракции растворимого хроматина и хроматина, связанного с ядерным матриксом, в

период высокой транскрипционной активности (рис. 3). При репликации ДНК уровень МДА в хроматине оставался высоким, но при этом формировалась тенденция понижения содержания ТБК-реактивных продуктов.

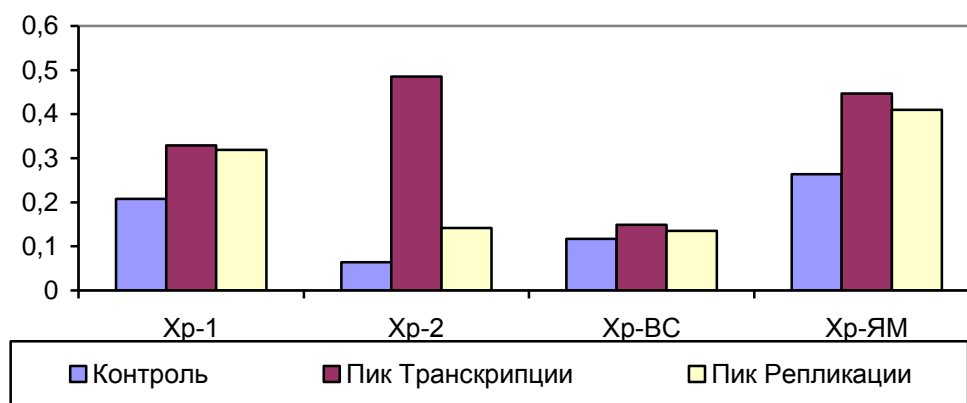


Рисунок 3. Изменение содержания ТБК – активных продуктов во фракциях хроматина, различающегося прочностью прикрепления к ядерному матриксу

Наличие в печени большого запаса антиоксидантов, обладающих различным механизмом действия, высокого репаративного потенциала, подчинение метаболизма строгой гормональной регуляции определяет относительно небольшой подъем уровней продуктов перекисидации липидов хроматина во время регенерации. В тоже время, интенсивность перекисного окисления липидов хроматина, различающегося прочностью прикрепления к ядерному матриксу и структурной организацией, может изменяться под влиянием качественных особенностей и количественного состава липидов, принимающих важное участие в структурно-функциональной организации ДНК на разных ее уровнях.

5. Бойков П. Я., Костюк В. Г., Терентьев А. А., Шевченко Н. А. Концентрирование протоонкогенов в ядрах гепатоцитов / Молекулярная биология. 1995.- Т.29. №5. с. 1137-1144.

6. Досон Р., Элиот Д., Элиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М: Мир.- 1991. 544с.

7. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов.-М.: Мир.- 1975.- 322 с.

8. Стручков В.А., Стражевская Н.Б. Структурные и функциональные аспекты ядерных липидов нормальных и опухолевых клеток / Биохимия. 2000.- Т.65.- №5. с. 620-643.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ И НАУЧНОЕ МИРОВОЗЗРЕНИЕ

Золотухин И.А.

Пермский государственный педагогический университет, Пермь

Прогресс во всех сферах человеческой деятельности определяется способностью системы образования формировать у молодого поколения правильное научное представление о строении окружающего мира. Этот аспект образования особенно актуален сего-

дня в связи с всплеском религиозного догматизма, почвой для которого являются ещё не до конца познанные явления окружающего мира. Значительная часть таких явлений относится к сфере биологии, поэтому именно этой науке должно быть уделено особое внимание как основе, на которой можно сформировать правильное материалистическое мировоззрение. Это особенно важно, если учесть тесную связь биологии с экологией и современную остроту экологических проблем. Надо учитывать также, что биологические системы есть сложные комплексы физических и химических процессов, что делает биологию наукой, венчающей всё естествознание.

Из-за сложной организации биосистем множество накопленных на сегодняшний день фактов настолько велико, что процесс их обобщения становится весьма затруднительным. Решение этой сложной задачи возможно только путём создания биологической теории, поскольку только адекватная теория является мощным средством обобщения и формирования стройной картины мира. В биологии достигнуты немалые успехи и сделаны настоящие прорывы, которые бесспорно станут составными частями будущей теории. Это, прежде всего теория естественного отбора Ч.Дарвина, прекрасно подтверждённая последующими открытиями молекулярной биологии и генетики. Но в вузовской программе обучения эти и другие важные теоретические положения разбросаны по множеству различных дисциплин, что явно не способствует формированию у студентов целостного представления о живом, как одной из форм организации материи, являющейся составной частью единого материального мира. Это приводит к необходимости разработки специальной биологической дисциплины - теоретической биологии, которая позволит сконцентрировать разрозненные обобщения и построить стройную единую систему биологических знаний. Кратко перечислим основные аспекты современного научного знания, которые, по всей вероятности, необходимо учитывать при решении данной задачи.