

использование меченых слоев смесей ПАВ на твердых поверхностях разной природы в широком диапазоне концентраций и составов смешанных растворов.

Работа поддержана грантами РФФИ № 02-03-32128 и № 03-03-32410.

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА «СЦИНТИЛЛИРУЮЩЕЙ ФАЗЫ» ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ ВЕЩЕСТВА В СИСТЕМЕ ВОДНЫЙ РАСТВОР – ГРАНИЦА РАЗДЕЛА – ОРГАНИЧЕСКАЯ ФАЗА

Г.А. Бадун, В.Ю. Позднякова, М.Г. Чернышева

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Метод «сцинтиллирующей фазы» основан на измерении с помощью жидкостного сцинтилляционного счета радиоактивности меченных тритием веществ в двухфазной системе вода-сцинтиллирующая жидкость. Ранее данный метод использовали для исследования концентрирования белков на границе раздела фаз [1].

В данной работе в метод «сцинтиллирующей фазы» был внесен ряд методических и аппаратных новшеств, позволяющих работать с меньшими объемами водной и органической фазы и упрощающих процедуру отделения вклада в скорость счета «объемной» составляющей от «поверхностной». Работа проводилась в стандартных сцинтилляционных пластиковых флаконах маленького размера (диаметр флакона 1,5 см). Предложено два варианта проведения эксперимента: традиционная двухслойная система и капельная система. Двухслойная система реализуется при объеме водной фазы более 0,8 мл, при этом объем органической фазы может составлять от 2 до 5 мл. Капельная система реализуется при объемах водной фазы менее 0,5 мл. В этом случае отсутствует соприкосновение водной фазы с боковыми стенками флакона, что уменьшает вклад в результаты измерения контакта трех фаз.

Метод «сцинтиллирующей фазы» применили для изучения кинетики переноса тритиевой воды в толуол в отсутствие и присутствии загустителей и поверхностно-активных веществ, а также для исследования распределения между фазами меченных тритием поверхностно-активных веществ N-лаурилсаркозина и цетилтриметиламмонийбромида. Обсуждаются условия использования и преимущества капельной или двухфазной системы для веществ с различной гидрофобностью и поверхностной активностью. Усовершенствованный метод сцинтиллирующей фазы использовали для определения гидрофобности и поверхностной активности гуминовых веществ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 03-03-32410.

Литература

- 1 Алентьев А.Ю., Филатов Э.С. // Радиохимия. 1991. Т.33 № 6. С. 80-87.

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

В.Ю. Позднякова, Г.А. Бадун, А.В. Кудрявцев, И.В. Перминова, В.М. Федосеев

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Метод термической активации трития использовали для введения радиоактивной метки в гуминовые вещества – сложную смесь природных органических соединений, составляющих от 50 % до 90 % органического вещества почвенных и водных экосистем. На препаратах гуминовых кислот угля, гиматомелановых кислот угля, гумусовых кислот торфа

и фульвокислот торфа показана принципиальная возможность получения меченых гуминовых веществ с равномерным распределением трития по составляющим их компонентам. Соответствие свойств меченых препаратов их немеченым предшественникам подтверждено с помощью гель-хроматографии. Обнаружено, что при очистке препаратов от лабильной метки с помощью диализа необходимо использовать специальные мембраны с малым диаметром пор во избежание изменения фракционного состава за счет проницаемости диализного мешка для молекул с наиболее низкими молекулярными массами. После диализной очистки и выделения препаратов с помощью гель-хроматографии их удельная радиоактивность оказалась в пределах от 2,5 до 10 ГБк/г. На примере гуминовых кислот угля продемонстрирована возможность получения препаратов с удельной радиоактивностью 700 ГБк/г, что соответствует в среднем девяти атомам трития на молекулу меченого препарата. Полученные меченные тритием препараты были использованы для определения гидрофобности гуминовых веществ и их поверхностной активности в системе вода-толуол.

Работа поддержана грантом РФФИ № 03-03-32410.

ПРИМЕНЕНИЕ АТОМАРНОГО ТРИТИЯ ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ X ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ И ЕГО МУТАНТА

*Е.В. Лукашина¹, Г.А. Бадун¹, В.М. Федосеев¹, Н.В. Федорова², А.Л. Ксенофонтов², Л.А. Баратова²,
Е.Н. Добров²*

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Атомарный тритий используется для изучения пространственной организации биологических объектов методом «тритиевой планиграфии». Этот метод позволяет определить стерическую доступность углеводородных групп исследуемого биологического объекта (макромолекулы или надмолекулярного комплекса) при бомбардировке его атомарным тритием, образующимся при диссоциации молекулярного газа на нагретой до 2000 К вольфрамовой проволоке. Результатом бомбардировки, проводимой в специальной вакуумной установке, является химическое замещение водорода на его радиоактивный изотоп тритий, которое происходит во всех стерически доступных элементах объекта в тонком поверхностном слое мишени. Последующий анализ распределения метки по индивидуальным аминокислотным остаткам молекулы белка позволяет с достаточной точностью идентифицировать поверхностно-локализованные участки молекулы (или молекул в составе надмолекулярных комплексов). При этом высокая чувствительность метода тритиевой планиграфии позволяет регистрировать весьма малые изменения пространственной структуры, не обнаруживаемые другими традиционными методами.

В настоящей работе проводилось сравнение распределения тритиевой метки по аминокислотным остаткам белка оболочки при бомбардировке атомарным тритием цельных вирионов «дикого» (штамм UK3) X вируса картофеля (ХВК) и полученного методом направленного мутагенеза инфекционного мутанта ХВК-ST, у которого все остатки серина и треонина в 20-членном N-концевом сегменте белка оболочки заменены на остатки других (не окси-) аминокислот. Такие замены приводят к невозможности у мутанта пост-трансляционного гликозилирования (присоединения углеводного остатка через атом кислорода в боковой цепи аминокислотного остатка), а утрата гликозилирования на N-концевом участке белка оболочки приводит к изменению биологических свойств вируса. Анализ экспериментальных данных по распределению трития позволил провести сравнение пространственной организации дикого и мутантного вирионов.