

Применение меченных тритием гуминовых веществ для исследования их взаимодействия с биологическими мембранами

Н.А. Куликова, Г.А. Бадун, В.Ю. Позднякова, И.В. Перминова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, knat@darvodgeo.ru

Гуминовые вещества (ГВ) – это сложные смеси высокомолекулярных органических соединений природного происхождения, образующихся при разложении растительных и животных остатков. Обширное распространение запасов каустобиолитов, а также простые способы получения на их основе ГВ обусловили большой интерес к проблеме физиологической активности последних. Несмотря на разнообразие экспериментального материала, свидетельствующего о физиологической активности ГВ, механизм их действия до сих пор неизвестен, нерешенным остается вопрос об их взаимодействии с биологическими мембранами, что требует применения меченых препаратов. Наибольшее распространение получило использование меченых по углероду или азоту ГВ, получаемых с помощью синтеза из мономеров, считающихся предшественниками ГВ, либо после компостирования выращенных на меченом субстрате растений. Однако, выделяемые препараты существенно отличаются от природных ГВ по ряду свойств, что затрудняет интерпретацию получаемых данных. Поэтому наиболее перспективным является непосредственное введение метки, например трития, в природные препараты ГВ. Целью данной работы была количественная оценка взаимодействия ГВ с биологическими мембранами. Исследование проводили на примере ГВ, выделенных из углей, торфов и почв. Меченые препараты получали методом термической активации трития с последующей очисткой полученных препаратов ГВ от лабильного трития диализом. В качестве объекта, моделирующего биологическую мембрану, использовали кишечную палочку *E.coli*, наращивание которой проводили в среде с добавлением меченных тритием ГВ. После наращивания культуры в течение 12 часов клетки отделяли от среды центрифугированием и в супернатанте определяли концентрацию несвязанных ГВ. Осажденные клетки *E.coli* ресуспендировали, в суспензии определяли концентрацию поглощенных, т.е. адсорбированных на поверхности и проникнувших в клетку ГВ. После этого клетки *E.coli* разрушали с помощью хлороформа, дебрис осаждали центрифугированием. В супернатанте определяли концентрацию ГВ, поступивших в клетки, а в дебрисе – количество ГВ, адсорбированных на клеточной мембране и стенке. Диапазон рассчитанных факторов бионакопления ГВ бактериями составил 0,9-13 л/кг, при этом от 20 до 100% от поглощаемого клетками количества ГВ поступало внутрь клетки.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 06-04-49017).