

реки, озера и водохранилища, вызывая помутнение воды, обеднение ее кислородом, что ведет к угнетению развития водной флоры и фауны и даже ее гибели.

После аварии на Чернобыльской АЭС, актуальность проблемы дефляции торфяников в агроландшафтах Белорусского Полесья стала бесспорной. Выпавшие радионуклиды, в основном цезий-137 и стронций-90, сразу же вступили во взаимодействие с почвенным поглощающим комплексом, вызвав тем самым радиоактивное загрязнение почв. Произошло так называемое объединение плотности радиоактивного загрязнения и процессов ветровой эрозии почв, что вызвало горизонтальную миграцию радионуклидов с дефляцией и вторичное радиоактивное загрязнение местности.

Среднегодовой вынос почвы загрязненной цезием-137 и стронцием-90 составляет 14704 кг/га, однако эту величину нельзя считать стабильной. В результате проведенных полевых опытов РУП «Институт Почвоведения и Агрохимии» на дефляционноопасных землях ряда хозяйств Брестской, Гомельской и Минской областей установлено, что с одной стороны ветровая эрозия может возрастать при неправильном ведении агропромышленного комплекса на дефляционноопасных землях, подвергшихся радиоактивному загрязнению, с другой — значительно уменьшаться за счет своевременного внедрения агротехнических приемов, направленных на предотвращение эрозии в Полесских агроландшафтах.

Исходя из удельного веса эродированных почв и расчетных величин общего экологического ущерба от эрозии и радиоактивного загрязнения, своевременное внедрение агротехнических почвозащитных приемов необходимо. Это позволяет совершенствовать систему земледелия и обработки почв, связанную с адаптацией к определенной агротехнологической группе земель и требования возделывания сельскохозяйственных культур. Подбор культур и установление их оптимального соотношения при возделывании на дефляционноопасных землях, загрязненных радионуклидами, следует выполнять на основе нормативной оценки противозерозной роли различных типов севооборотов, определение особенностей применения минеральных и органических удобрений, известкования почв, лугомелиоративных и других мероприятий.

Ж. Э. Мазец, Е. В. Спиридович, Л. В. Гончарова

ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОМОЛЕКУЛ

В настоящее время большой интерес ученых и практиков привлекают новые универсальные методы исследования, отвечающие всем современным требованиям: простотой исполнения, относительно недорогим оборудованием и материалами, а также высокой разрешающей способностью. К таким методам относятся электрокинетические методы. Они используются во многих отраслях знаний: в биохимии, физиологии растений и животных, генетике и цитологии, фармакологии, медицине, криминалистике и в других.

Электрокинетические явления впервые обнаружил профессор Московского университета Ф. Рейс, установивший в 1807 г. возможность передвижения в посто-

янном электрическом поле дисперсной фазы и дисперсионной среды коллоидных растворов [1]. Сущность этих явлений заключается в движении одной фазы относительно другой при действии электрического поля, или в возникновении разности потенциалов в направлении относительного движения фаз при действии механических сил.

Возникновение потенциала на границе двух фаз всегда связано с наличием на поверхности раздела электрического заряда. Электрический заряд на поверхности клеток и биосубстратов возникает в результате адсорбции ионов на поверхности частиц, а также за счет ионизации диссоциирующих групп дисперсной фазы. Возникновение зарядов на неионогенных поверхностях (масла, целлюлоза, холестерин и др.) принципиально возможно за счет адсорбции как катионов, так и анионов, но преимущественно адсорбируются последние. Возникновение поверхностного заряда может происходить в белках, нуклеиновых кислотах и полисахаридах и других органических электролитах, содержащих карбоксильные, гидроксильные, аминные и другие полярные группы, способных к электролитической диссоциации [1].

Установлено, что различные живые клетки имеют отрицательный заряд на поверхности. Это связано с ионогенными группами фосфолипидов, входящих в состав клеточных оболочек. Добавление к клеточной суспензии катионов приводит к тому, что величина заряда клеток снижается, а клеточные суспензии теряют стабильность так же, как и коллоидные растворы. Это может привести к снижению толщины диффузного слоя, окружающего коллоидные частицы, и величина заряда коллоидов может упасть до минимума. При этом величина заряда достигает изoeлектрической точки (ИЭТ). Дальнейшее добавление катионов может вызвать перезарядку частиц. Добиться перезарядки живых клеток нельзя, так как при потере заряда клетки погибают.

Экспериментально установлено, что различные объекты биологического и небиологического происхождения, обладая одной и той же величиной потенциала, движутся в электрическом поле одной и той же напряженности с одинаковой скоростью. Однако направление и скорость движения объектов находится в зависимости от знака и величины заряда. Для белковых молекул и небольших по размерам частиц, радиус которых соизмерим с толщиной двойного электрического слоя, электрофоретическая подвижность зависит также и от формы и размеров частиц.

Различия в подвижности частиц служат основой для разделения смесей веществ в аналитических и препаративных целях. Определение подвижности используется также для характеристики вещества [2—4].

Измерить электрокинетический потенциал коллоидов и клеточных поверхностей можно при помощи различных методов, применяемых для измерения потенциала любых дисперсных систем. Но среди этих методов наиболее широкое применение получил метод электрофореза. Выделяют несколько разновидностей этого метода: электрофорез, изофокусирование. В рамках естественнонаучных исследований наиболее часто используют электрофорез.

Электрофорез занимает центральное место среди методов биофизических и биохимических исследований белков и нуклеиновых кислот и служит для оценки функционального и патологического состояния клеток или одноклеточных организмов, испытания чистоты препаратов хроматографических фракций, анализа проб белков и ферментов, определения относительных концентраций белков, иденти-

фикации различных экстрактов, разделения и выявления белков с радиоактивной меткой, выявления антигенов, изучения влияния химических и физических воздействий на белки и нуклеиновые кислоты [2;4].

Использование такого метода позволяет разделять макромолекулы, различающиеся по таким важнейшим параметрам как размеры или молекулярная масса, пространственная конфигурация, вторичная структура и электрический заряд. Причем эти параметры могут выступать как порознь, так и в совокупности.

С точки зрения физики этот метод можно представить следующим образом. Находящиеся в буферном растворе макромолекулы обладают некоторым суммарным электрическим зарядом, величина и знак которого зависит от pH среды. Если этот раствор заключить в канал из изолирующего материала, а затем пропустить через него ток, то вдоль канала установится определенный градиент напряжения, т.е. сформируется электрическое поле. Под действием поля макромолекулы в соответствии со своим суммарным зарядом мигрируют в направлении катода или анода. Ограничивающим фактором при этом движении является трение макромолекул об окружающую среду. Отсюда вытекает и сущность этого метода: различные скорости миграции макромолекул в зависимости от величины заряда и размеров молекулы [2—4].

В настоящее время в основном используются полиакриламидные гели (ПААГ), гели из агарозы и крахмала. Гели представляют собой тонкие пластины, запolyмеризованные между двумя плоскими стеклами. Использование пластин имеет важное преимущество: на них можно одновременно фракционировать несколько препаратов. Испытуемые образцы вносят с одного края геля на равных расстояниях друг от друга. Каждый препарат разделяется в электрическом поле независимо от своих соседей и имеет свой набор зон.

Однако в ходе электрофореза зоны растворенных макромолекул остаются невидимыми. Для наблюдения за разделением образцов в исходные препараты добавляют краситель, молекулы которого несут электрический заряд того же знака, что и фракционируемые макромолекулы, но не взаимодействуют с ними. Краситель в виде окрашенной зоны движется в электрическом поле. Подбирают его таким образом, чтобы скорость миграции самых подвижных макромолекул была несколько ниже, чем у молекул красителя. Когда окрашенная зона доходит до конца пластины, электрофорез прекращают.

Во избежание размывания элетрофоретических треков гели немедленно фиксируют. Для этого гель извлекают из стеклянной формы и фиксируют в растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). При этом белки или нуклеиновые кислоты выпадают в осадок в том самом месте, где закончилась их миграция в ходе электрофореза. После фиксации проводят окрашивание зон путем вымачивания геля в растворе красителя, прочно связывающегося с белком или нуклеиновой кислотой. Затем гель отмывают от избытка красителя в растворе уксусной кислоты со спиртом. На геле хорошо видны четкие, узкие полосы разделившихся компонентов исходной смеси белков.

Метод электрофореза обладает исключительной гибкостью, так как, варьируя концентрацией полимера можно получить гели с достаточно большим диапазоном пор. Кроме того, можно изменить электрические заряды макромолекул путем вариации pH буфера, а их конфигурацию за счет введения в буфер денатурирующих

агентов [2—4]. Разновидностью электрофореза является изoeлектрофокусирование. Изoeлектрофокусирование (ИЭФ) — один из самых распространенных и эффективных методов фракционирования и очистки белков, кроме того, он один из самых простых и вместе с тем наиболее утонченных методов. При этом основной параметр фракционирования — ИЭТ, а не различия в заряде и массе. Изoeлектрическая точка — состояние белка, которое соответствует нулевому значению величины его заряда. Изoeлектрическое состояние определяется всеми видами зарядов: 1) составом боковых радикалов, т.е. наличием групп COO^- ; NH_3^+ ; SO_3^{2-} ; Тирозин — O^- ; Имид — N^+ ; 2) конформацией белковой молекулы, т.е. количеством групп, находящихся на поверхности молекулы; 3) наличием ионогенных лигандов, которые прочно связываются с белковой молекулой.

Белковая молекула в процессе жизнедеятельности подвергается постоянному воздействию метаболитов. Вследствие этого различные функциональные группы белков часто модифицируются, при этом изменяется конформация белка, что приводит к изменению pK ($\text{pK} = -\lg K$, где K — константа равновесия реакции при диссоциации), а как следствие изменяется ИЭТ белка.

В случае ИЭФ разделение проводится в градиенте pH , который устанавливается между двумя электродами и формируется за счет амфолитов-носителей, включенных в состав полимерных гелей. Эти соединения — амфотерные электролиты — создают «естественный» градиент pH . Такие градиенты называют самоорганизующимися. Свойства амфолитов состоит в том, что они электропроводны в изoeлектрической точке и одновременно неподвижны в электрическом поле. Они несимметричны, например, имеют две кислотные группы и одну основную.

Хорошими свойствами амфолитов-носителей обладает смесь амфотерных молекул, как правило, это искусственно синтезированные наборы цвитер-ионов, отличающиеся друг от друга значением своих pI (значение pH , при котором молекула белка не имеет заряда). Полученная смесь носит фирменное название амфолины, фармолиты, сервалиты. Она содержит вещества с разнообразными pK и высокорастворима в воде. Величины изоточек растворов амфолитов находятся в интервале от 2 до 11 pH . Разрешающая сила ИЭФ зависит от наличия двух близко расположенных амфолитов, ограничивающих изoeлектрическую зону, необходимую для прекращения движения изoeлектрической формы белка.

С помощью амфолитов носителей создается градиент pH в жидкости или геле. Первоначально во всем объеме жидкости растворяют смесь всех амфолитов до суммарной концентрации 1—2 %. Если ИЭФ предполагают вести в геле, то в этом растворе полимеризуют акриламид или агарозу. На миграцию низкомолекулярных амфолитов сетка геля существенного сопротивления не оказывает. В состав смеси входят амфолиты с различными значениями pI примерно в эквимолярном соотношении. Их совокупное воздействие на внешнюю среду определяет некоторое среднее значение pH , одинаковое по всему объему трубки или пластины. При наложении электрического поля все амфолиты начнут мигрировать в направлении анода или катода в зависимости от знака их заряда. Следует подчеркнуть, что никаких других ионов в растворе быть не должно: миграция амфолитов и составляет электрический ток в жидкости. Конечно, не стоит забывать, что в переносе тока будут участвовать еще и ионы H^+ и OH^- , но их концентрация очень мала по сравнению с концентрацией амфолитов. Под действием

электрического поля все амфолиты «выстраиваются» вдоль электрического поля от анода к катоду в порядке возрастания значений pI . Описанную ориентацию амфолитов производит электрическое поле, такое положение сохраняется до тех пор, пока это поле существует. В результате диффузии и близости значений pI соседних амфолитов границы между зонами сглаживаются, и получается практически линейный градиент pH . Электропроводность амфолитов в изoeлектрической точке, как и их буферная емкость, оказывается тем выше, чем ближе друг к другу значения pK , между которыми располагается электрическая точка. Это обеспечивает стационарный уровень электропроводности в любой точке установившегося градиента pH . Не следует думать, что при протекании тока будет наблюдаться смазывание градиента. Ионы амфолитов, покидающие под действием поля область своего сосредоточения, попадают в соседний слой с иным pH . Там они разряжаются, отдавая свой заряд амфолитам этого участка. Разрядившиеся ионы приобретают противоположный заряд, что заставляет их вернуться в свою исходную зону. Таким образом, возникает своеобразная эстафета с передачей зарядов ионами амфолитов, совершающих колебательные движения в окрестностях своих зон сосредоточения. Вдоль градиента pH протекает вполне заметный электрический ток, а сам градиент остается при этом неизменным.

Метод ИЭФ характеризуется высокой разрешающей способностью, которую можно охарактеризовать как минимальное различие pI двух белков, которое еще обеспечивает четкое разделение соответствующих зон (полос). Амфолиты, обеспечивающие широкий интервал pH , удобны для исследования сложных смесей белков с неизвестными значениями pI , тогда как амфолиты с узким интервалом — для тонкого фракционирования белков с близкими и приблизительно известными значениями pI .

Отрицательное явление, которое характерно для всех процессов фракционирования молекул в геле под действием электрического поля, — это эндосмос. Суть его заключается в том, что с неподвижной матрицей геля всегда связано некоторое количество заряженных ионогенных групп. Соответствующие им противоионы находятся в растворе. Под действием электрического поля они мигрируют к катоду, увлекая за собой жидкость, находящуюся внутри геля. На смену им приходят катионы из анодного электролита. Вместе с жидкостью в направлении катода «дрейфует» весь градиент pH , в результате чего картина распределения белков может быть существенно смещена, а ближайшие к катоду полосы утрачены. Кроме того, крупные молекулы белков могут не успевать следовать за смещением градиента, так, что их полосы будут размываться. Для подавления остаточных явлений эндосмоса имеет смысл увеличить вязкость жидкой среды в геле, введя в нее до 10 % глицерина. Увеличение вязкости не сильно замедляет электрофоретическую миграцию белков, но очень существенно уменьшает степень увлечения жидкой среды, т. е. степень катодного дрейфа градиента pH .

Сфера применения методов ИЭФ широка — это анализ, выделение и очистка белков, определение их изoeлектрических точек, получение кривых кислотно-щелочного титрования, последующий расчет pK различных ионогенных групп. Особый интерес вызывает использование этого метода в биотехнологии для промышленного получения и очистки белков, а также для изучения микрогетерогенности биополимеров и белков при патологии. ИЭФ открывает большие возможности для

разделения белков, близких по физико-химическим свойствам. Высокая разрешающая сила и чувствительность ИЭФ позволяют отделять модифицированные формы белков и детально их изучать [4—5].

Литература

1. Тарусов Б. Н., Антонов В. Ф. и др. Биофизика // Под ред. Б. Н. Тарусова, О. Р. Кольс. М., 1968.
2. Гааль Э., Медьеша Г., Верецкеи Л. Элетрофорез в разделении биологических макромолекул: Пер. с англ. М., 1982.
3. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика элетрофореза в полиакриламидном геле М., 1971.
4. Остерман Л. А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М., 1983.
5. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М., 1981.

А. С. Малахов, С. М. Смольский

ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ АКТИВНЫХ ЗАНЯТИЙ ПЛАВАНИЕМ СТУДЕНТОВ I—II КУРСОВ ФАКУЛЬТЕТА ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ

Двигательная активность — одно из важнейших условий полноценного существования человеческого организма. Наряду с рациональным питанием, режимом работы и отдыха, глубоким и спокойным сном, эмоциональным равновесием грамотно построенный процесс регулярных занятий физическими упражнениями или способствует лучшей сопротивляемости организма не только к простудным заболеваниям, но и к последствиям стрессов и разного рода расстройств в работе основных функциональных систем жизнеобеспечения человека. В доступной литературе наибольшее предпочтение в решении таковых задач отдается упражнениям аэробного характера. Аэробные упражнения представляют собой работу на выносливость в невысоком темпе, но довольно продолжительную во времени. С физиологической точки зрения «аэробный» значит «живущий в воздухе» или «использующий кислород». Упражнения такого характера предъявляют к организму требования, заставляющие его увеличивать потребление кислорода, в результате чего происходят благоприятные изменения в легких, сердце и кровеносной системе [1].

Наиболее широко распространены такие виды аэробных упражнений, как бег, лыжные гонки, плавание, езда на велосипеде, роликовых коньках, гребля, конькобежный спорт, ритмическая гимнастика (аэробика). Основными принципами в занятиях аэробными упражнениями являются: оздоровительная направленность, доступность, последовательность, постепенное увеличение нагрузки [2].

Все перечисленные принципы реализуются в той или иной степени в процессе физического воспитания в БГПУ. С одной стороны, плавание является одним из основных видов аэробных упражнений, и, с другой — обязательным разделом программы по физическому воспитанию в вузах нашей страны. Имея в