

электрических, электромагнитных устройств, приборов и установок, применяемых в медицинской практике, промышленности и быту, и в большей или меньшей мере влияющих на все живые организмы, которые оказались в границах создаваемых ими полей.

Исследование выполнено на одном из самых распространенных в лабораторной практике микроорганизмов — *Saccharomyces cerevisiae*.

Образцы водной взвеси 0,3 г пекарских дрожжей с добавлением 0,03 ммоль ИДЯК и ацетатного буфера (рН = 6) экспонировались в течение 30 минут в слабом постоянном магнитном поле (ПМП) индукцией $\approx 0,03$ Т с горизонтальной ориентацией силовых линий и ПМП индукцией $\approx 0,08$ Т с вертикальной ориентацией силовых линий. В качестве вариантов сравнения были взяты аналогичные образцы без воздействия ПМП, а также образцы растворов, содержащих в качестве сорбтива ЭДТУК.

Обнаружено, что ИДЯК из водного раствора сорбируется лучше ($90,3 \pm 0,3$ %), чем ЭДТУК — ($87,5 \pm 0,5$ %) от исходного количества. ПМП индукцией 0,03 Т слабо влияет на процесс сорбции; ПМП индукцией 0,8 Т усиливает этот процесс.

Параллельно методом восходящей тонкослойной бумажной хроматографии был проведен качественный анализ продуктов деструкции ИДЯК в водном растворе под воздействием УФ-излучения. В составе продуктов распада обнаружены: янтарная кислота и аминокислоты: α -аланин, серин. Все эти вещества в норме присутствуют в растениях, животных и микроорганизмах в качестве метаболитов и, следовательно, могут поглощаться из внешней среды. Также исследовано влияние ИДЯК на гликолитическую активность дрожжевых организмов как с экспозицией в магнитном поле, так и без нее. В опыте сравнивали объемы CO_2 , выделенного дрожжами в средах, содержащих глюкозу, глюкозу с добавкой ЭДТУК и глюкозу с добавкой ИДЯК при рН = 6 (ацетатный буфер). Обнаружено слабое, стимулирующее процесс гликолиза действие ЭДТУК и значительное стимулирующее действие ИДЯК.

Экспозиция в слабом ПМП оказалась фактором, дополнительно интенсифицирующим процесс окисления глюкозы дрожжами, причем максимальные объемы CO_2 отмечены в варианте опыта с использованием ИДЯК и экспозицией в ПМП индукцией 0,03 Т.

Результаты работы позволяют сделать вывод о том, что ИДЯК обладает по отношению к пекарским дрожжам биостимулирующим действием, изменяющимся в ПМП в зависимости от величины индукции. В плане практического использования ИДЯК — вещество, которое можно оценивать как успешную альтернативу самому известному из комплексонов — ЭДТУК.

УДК 577.15:547.472.3:007

РОЛЬ КОМПЬЮТЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ОБРАБОТКИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ИНФОРМАЦИИ В ЭНЗИМОКРИСТАЛЛОМИКЕ (на примере термомодификации лактатдегидрогеназы)

А. Г. Соловьева, А. К. Мартусевич,
А. В. Бочкарева

*Нижегородский научно-исследовательский институт
травматологии и ортопедии Росмедтехнологий*

Выявлена роль компьютерных технологий обработки структурно-функциональной информации в энзимокристалломике.

Ключевые слова: энзимокристалломика, компьютерные технологии, лактатдегидрогеназа.

Современный научный подход, базирующийся на получении быстрой и объективной биоинформации, диктует необходимость применения компьютерных технологий. Особую значимость информатизация приобретает в плане включения ее как облигатного компонента в любой алгоритм интегрального мониторинга организма человека. Последние годы нами изучаются способы оценки метаболического статуса на основании комплекса физико-биохимических показателей (Мартусевич А. К. и др., 1999—2008; Соловьева А. Г., Зимин Ю. В., 2007). Поэтому создание единого алгоритма мониторинга биосред с привлечением компьютерных технологий, а также его реализация на примере термомодификации искусственной биосистемы и явились целью настоящего исследования.

Нами произведено изучение 38 препаратов частично очищенной лактатдегидрогеназы (ЛДГ), выделенной из печени здоровых белых лабораторных крыс-самцов линии Wistar массой 180—200 г. Навеску из 1 г печеночной ткани измельчали ножницами и гомогенизировали в 10 мл дистиллированной воды, центрифугировали в течение 15 мин при 6000 об/мин. Осадок отбрасывали, активность фермента определяли в надосадочной жидкости.

Следующим этапом модельного эксперимента являлась термомодификация ЛДГ. Для этого раствор, содержащий фермент, помещали в термостат при 60 °С на 15 мин, затем вынимали и оставляли при комнатной температуре на 15 мин. Аналогично исследовали активность ЛДГ. Были изучены каталитическая активность лактатдегидрогеназы и кинетические показатели протекания реакции, связанной с ее функционированием с учетом термоденатурации. Определение активности фермента производили спектрометрически по методу Г. А. Кочетова (1980) с использованием в качестве субстрата молочной кислоты (для проведения прямой реакции). Оценку активности фермента в обратной реакции также осуществляли

спектрометрически при помощи пировиноградной кислоты, применяемой в качестве субстрата. Активность ЛДГ выражали в нмоль НАДН за 1 мин на 1 мг белка.

Кинетические характеристики реакции — время полупревращения субстрата (K_t) и скорость накопления продуктов реакции (V_{\max}) — определяли расчетным путем по общепринятым формулам (Kostir J., 1985).

Свободный кристаллогенез препаратов изучаемого энзима и характер его сокристаллизации с базисным веществом (0,9-й% раствор хлорида натрия) изучали с помощью метода расширенной тезиокристаллоскопии.

Указанный комплекс тестов выполняли до начала и по окончании модельного термовоздействия.

Статистическая обработка полученных данных производилась с применением программы Primer of Biostatistics Version 4.03.

Использование сопряженного с компьютером спектрофотометра позволило непосредственно при выводе данных каждого исследования получить для каждого случая расчетные кинетические показатели [время полупревращения субстрата (K_t) и скорость накопления продуктов реакции (V_{\max})] и показатели активности ферментативной реакции. Установлено, что после термоденатурации препарата лактатдегидрогеназы показатели активности прямой реакции достоверно возрастают с ($16,74 \pm 4,90$) в контроле (до тепловой обработки) до ($42,84 \pm 6,51$) нмоль/мин×мг белка после тепловой обработки, а обратной — достоверно снижаются с ($98,65 \pm 8,97$) до ($26,38 \pm 7,07$) нмоль/мин×мг белка. Статистически достоверные отличия наблюдаются по всем кинетическим показателям. Их значения для исследуемой ЛДГ составляют: для прямой реакции в контроле (до тепловой обработки) $K_t = 4,89 \pm 1,74$, $V_{\max} = 1,98 \pm 0,87$, после термоденатурации $K_t = 0,79 \pm 0,31$, $V_{\max} = 0,91 \pm 0,86$; для обратной реакции в контроле $K_t = 2,24 \pm 0,77$, $V_{\max} = 3,64 \pm 2,34$, после термоденатурации $K_t = 13,70 \pm 6,40$, $V_{\max} = 16,80 \pm 8,80$.

Проведение второй части эксперимента, посвященной исследованию кристаллогенных и иницирующих свойств ЛДГ при дозированном воздействии высокой температуры, указало на их наблюдающиеся трансформации. В частности, в образцах, представляющих собой только раствор ЛДГ, после термомодификации отмечалось сужение краевой зоны фации, сопровождающееся насыщением центральной и промежуточной зон частично разрушенными одиночными и мелкими дендритными образованиями. При исследовании иницированного кристаллогенеза регистрировались тенденции к снижению иницирующей способности фермента и нарастанию степени деструкции его микропрепарата после термической обработки. Эти изменения зафик-

сированы специализированными компьютерными программами обработки изображений в виде кристаллограмм и тезиграмм.

Закключение:

1. Компьютерные технологии являются важным звеном в интегральном алгоритме энзимокристаллоскопического мониторинга состояния биосистемы.

2. Предложенный алгоритм продемонстрировал эффективность в оценке каталитических и кристаллогенных свойств лактатдегидрогеназы при ее модельной термомодификации.

УДК 54:621.72

ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ. ИНДУКТИВНЫЙ И СТЕРИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТЫ ИЗОПРОПИЛЬНОЙ ГРУППЫ

В. В. Туровцев, М. Ю. Орлов*, Ю. Д. Орлов*

*Тверская государственная медицинская академия,
Тверской государственный университет**

Проведено химическое моделирование и найдены индуктивный и стерический эффекты изопротильной группы.

Ключевые слова: изопротильная группа, химическое моделирование, индуктивный эффект, стерический эффект.

В настоящее время конструирование веществ с заданными свойствами является одним из самостоятельных разделов медицинской химии и фармакологии. Поиск перспективных лекарств идет по разным направлениям. Наиболее распространенными среди используемых методов являются феноменологические подходы, известные как «строение-свойство» ($QSPR$) и «строение-активность» ($QSAR$). Широкое привлечение физики и прогресс в компьютерной технике позволяют объяснить найденные закономерности в рамках квантовой механики.

Теорема Хоэнберга-Кона и «голографическая теорема» заложили основу теоретического химического моделирования. Главное следствие теоремы: все индивидуальные свойства молекулы определяются распределением ее электронной плотности (ρ). Связь терминов классической теории строения молекул со свойствами электронной плотности осуществляется в рамках теории «атомов в молекулах» (AIM). Поэтому основной упор в развитии $QSPR$ и $QSAR$ постепенно смещается от моделирования строения к моделированию распределения электронной плотности. Здесь в $QSPR$ и $QSAR$ привлекаются аддитивные подходы, основанные на переносимости свойств функциональных групп, как следствие переносимости электронной плотности этих групп. Моделирование (придание нужной формы) ρ в этих рамках заключается в деформации электронной плотности исходной мо-