

Установлено, что форма спектра поглощения гемоглобина свежезабранной крови, не обработанной озоном, характерна для оксигемоглобина.

В оптическом спектре крови после гипотермического хранения в области поглощения гемоглобина регистрируется широкая размытая полоса без четко выраженных пиков поглощения, характерных для окси- или дезоксиформ. При добавлении озона в спектре все более проявляются полосы поглощения, характерные для оксигемоглобина. При дозе озона 0,26 мг/л спектр приобретает форму, полностью соответствующую оксигемоглобину. На основании сопоставления полученных результатов с известными результатами исследований состояния эритроцитов методом ^{31}P -ЯМР в данной работе делается вывод, что эффект уширения спектральных линий связан с неоднородностью по степени оксигенации эритроцитов крови, которая длительное время хранилась в гипотермических условиях.

Из термограмм тепловой денатурации следует, что озон в указанных выше дозах не приводит к существенным изменениям конформации молекул гемоглобина. Поэтому можно предположить, что действие малых доз озона на оксигенацию эритроцитов связано с влиянием на ферментативные системы и состояние 2,3-ДФГ.

Таким образом, полученные результаты показывают, что стимулирующее действие озона на состояние гемоглобина носит дозозависимый характер, и это явление может представлять практический интерес для криобиологии.

In optical spectrum of blood after hypothermic storage in the area of hemoglobin absorption a wide vague band without distinctly manifested absorption peaks, typical for oxy- or desoxy shapes is recorded. Typical for oxyhemoglobin absorption bands were progressively found after ozone adding. At 0.26 mg/l ozone dose the spectrum gets the shape, completely corresponding to oxyhemoglobin. Basing on comparing obtained results with the known investigation results of erythrocyte state using ^{31}P -NMR we conclude in this work, that the effect of spectral line widening is associated with heterogeneity by oxygenation extent of blood erythrocytes, which were stored under hypothermic conditions for a long time.

It proceeds from heat denaturation thermograms, that ozone under the mentioned above doses does not result in considerable changes of hemoglobin molecule conformation. Therefore we can suppose that the effect of low ozone doses on erythrocyte oxygenation is associated with the effect on enzyme systems and on 2,3-DPG state.

Thus, the results obtained show that stimulating effect of ozone on hemoglobin state has a dose-dependent character and this phenomenon can be of practical interest for cryobiology.

Температурозависимые переходы в мембране эритроцитов при воздействии модификаторов мембранных белков

Я.О. Нардид, Л.В. Цымбал

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Temperature-Dependent Transitions in Erythrocyte Membrane Under Effect of Membrane Protein Modifiers

YA.O. NARDID, L.V. TSYMBAL

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Перестройки динамической структуры биомембран, вызываемые изменением температуры, обусловлены модификацией конформационной динамики ее компонентов. Установлено, что природа этих переходов неспецифична, так как определяется изменениями вода-белок-липидных взаимодействий в мембранах. В настоящее время недостаточно исследованы структурно-функциональные свойства природных мембран при модификации основной части свободных липидов, а также при изменении конформации мембранно-связанных белков. Изучение при этом реакции мембраны на их структурную модификацию, возможно, позволит приблизиться к пониманию механизмов холодовой и осмотической чувствительности клеток. Известно, например, что окисление SH-групп мембранных белков вызывает существенные изменения их транспортных характеристик и проницаемость мембран. Глубокое изучение этой проблемы дает возможность более целенаправленно осуществлять подбор хими-

Rearrangements in dynamic structure of biomembrane, caused by temperature change, are stipulated by modification of conformation dynamics of its components. Nature of these transitions was established to be non-specific one, because it was determined by changes in water-protein-lipid interactions in membranes. Nowadays structural and functional properties of natural membranes when modifying the main part of free lipids, as well as when changing conformation of membrane-bound proteins, are poorly investigated. At the same time studying membrane reaction on their structural modification will possibly enable approaching to understanding the mechanisms of cold and osmotic cell sensitivity. For examples, SH-group oxidation of membrane proteins is known to cause considerable changes in their transport characteristics and membrane permeability. Profound studying of this problem enables more targeted selection of chemical compounds, capable to cause cryoprotective effect. The work was aimed to study the peculiarities of dynamic structure response of

ческих соединений, способных оказывать криозащитное действие. Цель работы – изучение особенностей реакции динамической структуры мембраны эритроцитов на модификацию мембранных белков специфическими реагентами: йодацетамидом и N-этилмалеимидом.

В опытах была использована донорская кровь группы II. Для исследования влияния модификации сульфгидрильных групп мембранных белков йодацетамидом и N-этилмалеимидом на термотропные перестройки мембранных компонентов был применен метод ЭПР спиновых зондов. В качестве зонда использовали спин-меченый аналог пальмитиновой кислоты (АПК), имеющий нитроксильный фрагмент (стабильный радикал) в области полярной головки жирной кислоты. На спектрометре “Bruker” (Германия) со стандартной термоприставкой регистрировали спектры ЭПР, анализировали частоту и анизотропию вращения нитроксильных радикалов.

Были изучены температурозависимые перестройки структуры мембраны эритроцитов в диапазоне температур 37-5°C. Установлено, что модификация сульфгидрильных групп белков приводит к изменению профиля температурной зависимости параметра подвижности нитроксила в области 30°C и наиболее заметна при температурах ниже 17°C. При этих температурах ранее были зарегистрированы переходы на водно-белковой поверхности мембраны эритроцитов, в том числе с использованием ковалентной метки на 8Н-группы белков. Таким образом, получено хорошее совпадение термоиндуцированных изменений динамической структуры водно-липидной поверхности модифицированных мембран эритроцитов и водно-белковой поверхности при использовании ковалентных меток. Анализ анизотропии вращения зонда показывает, что модификация сульфгидрильных групп белков приводит к существенному изменению параметра вращения, рассчитанного по паре компонент спектра, наиболее зависящей от ориентации оси вращения нитроксильного фрагмента АПК. Модификация поверхностных групп белков мембран эритроцитов вызывает, по-видимому, изменение анизотропии вращения жирно-кислотного спинового зонда.

Полученные результаты позволяют заключить, что окисление SH-групп мембранно-связанных белков сульфгидрильными реагентами приводит к изменению водно-липидных взаимодействий, прежде всего, на внутренней поверхности мембраны.

erythrocyte membrane on modification of membrane proteins by specific reagents: iodoacetamide and N-ethylmaleimide.

In experiments we used A (II) donor blood. In order to investigate the modification effect of sulfhydryl groups of membrane proteins by iodoacetamide and N-ethylmaleimide on thermotropic rearrangements of membrane components we applied EPR method of spin probes. As a probe we used spin-labelled analogue of palmitic acid (APA), having nitroxyl fragment (stable radical) in polar head area of fatty acid. EPR spectra were recorded using the Bruker spectrometer (Germany) with standard thermodevice, frequency and anisotropy of nitroxyl radical rotation were analysed as well.

Temperature-dependent rearrangements of erythrocyte membrane structure within 37-5°C temperature range were studied. Modification of protein sulfhydryl groups was established to result in a change of temperature dependency profile of mobility parameter for nitroxyl in 30°C area and it was more visible under temperatures under 17°C. Under these temperatures the transitions on water-protein erythrocyte membrane surface were registered previously, including using covalent label on protein SH-groups. Thus, there was obtained a good coincidence of thermoinduced changes in dynamic structure of water-lipid surface of modified membranes of erythrocytes and water-protein surface when using covalent labels. Anisotropy analysis of probe rotation demonstrates, that modification of sulfhydryl groups of proteins results in a considerable change of rotation parameter, calculated by couple of spectrum components, most dependent on orientation of rotation axis of APA nitroxyl fragment. It appears that modification of protein surface groups of erythrocyte membranes causes a change in rotation anisotropy of fatty acid spin probe.

The results obtained enable concluding that oxidation of SH-groups of membrane-bound proteins by sulfhydryl reagents results in a change in water-lipid interactions

Оптимізація методу повільного заморожування меристем картоплі

Н.О. ШЕВЧЕНКО, Т.Ф. СТИБУЛЬ

Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, м. Харків

Optimization of Method for Potato Meristem Slow Freezing

N.O. SHEVCHENKO, T.F. STRIBUL

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Методи криозбереження цінних клонів рослин із вегетативним розмноженням включають технологічні прийоми одержання рослинного матеріалу, його охолодження, криозбереження у контейнерах за темпе-

Cryopreservation methods of rare plant clones with vegetative propagation comprise the techniques of procurement, cooling, cryopreservation in containers with temperature of liquid nitrogen, thawing and growth renewal