

УДК 541.18.041

БИОХИМИЯ

К. Б. СЕРЕБРОВСКАЯ, Я. КУЧАРА, В. А. ШТЕЙН-МАРГОЛИНА

## ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СФЕРУЛЛИТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ БУНГЕНБЕРГ-ДЕ-ЙОНГА

(Представлено академиком А. И. Опариным 23 VIII 1971)

В течение нескольких лет мы исследуем влияние системы лецитин — вода, полученной методом Бунгенберг-де-Йонга<sup>(1)</sup>, на активность ряда ферментов<sup>(2-4)</sup>. Представляло интерес выяснить структурную организацию изучаемых систем методом электронной микроскопии.

Согласно П. А. Ребиндеру<sup>(5)</sup>, микрофаза в системе поверхностное вещество (п.а.в) — вода может быть получена двумя путями: либо диспергированием слабо растворимого вещества в воде, либо конденсированием его из молекулярно-дисперсного раствора.

Метод получения системы липид — вода, использованный Бенхамом<sup>(6,7)</sup>, представляет первый вариант, когда из сухого лецитина получается путем набухания в водно-солевых растворах микрогетерогенная система. Исследование полученной системы методом электронной микроскопии показало, что она состоит из сферуллитов, названных Бенхамом<sup>(6,7)</sup> «липосомами».

Метод Бунгенберг-де-Йонга представляет второй вариант получения гетерогенной двухфазной системы: лецитин растворяется в органическом растворителе и при быстром помешивании и подогреве вно-

сится в воду, а растворитель удаляется диализом.

В работе Баккера еще в 30-х годах давалась схема структуры из системы лецитин — вода, которая, по его мнению, должна состоять из концентрических слоев бимолекулярных пленок, между которыми располагаются слои воды (рис. 1)<sup>(8)</sup>. Электронномикроскопическое исследование, проведенное нами, подтверждает эту схему.

В качестве лецитина мы использовали любезно предоставленный Л. И. Барсуковым препарат, выделенный из куриных яиц и хранившийся под азотом в растворе бензола в запаянных ампулах при  $-5^{\circ}$ . В качестве белка использовали препарат сывороточного альбумина человека венгерской фирмы «Reanal».

Система лецитин — вода была получена следующим образом. 0,2 мл бензольного раствора, содержащего 58 мг лецитина, помещали в кругло-

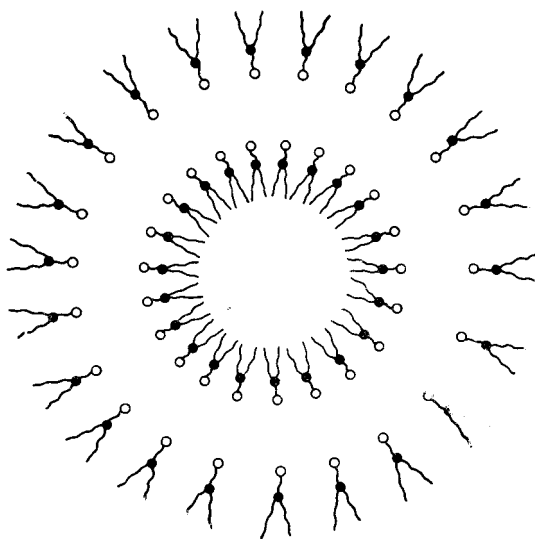


Рис. 1. Схема фосфатидного коацервата по Баккеру<sup>(8)</sup>

донную колбу и растворитель удаляли под вакуумом при постоянном вращении колбы. Затем в нее вносили 2,5 мл этанола и лецитин растворяли при 37° на водяной бане. Лецитиновый золь получали по методу Бунгенберг-де-Йонга (1) в 10 мл воды.

Для электронномикроскопического исследования материал пастеровской пипеткой наносили на сетки, покрытые 0,1% формваровой пленкой или ионизированной коллодиевой пленкой, напыленной углеродом. Жидкость оставляли на сетках на 5—15 мин. для частичного испарения воды. Затем для контрастирования сетки (материалом вниз) помещали на капли 2% раствора фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК), доведенной до рН 7 добавлением 2% раствора вольфрамата натрия. Через 1—3 сек. сетки снимали с контрастера и просушивали фильтровальной бумагой (9). Препараты просматривали в электронном микроскопе JEM-7A при увеличении 30 000 раз при ускоряющем напряжении 80 кв.

На рис. 2а показана электронномикроскопическая фотография системы лецитин — вода, полученной методом Бунгенберг-де-Йонга (1). Как видно из представленных данных, лецитиновый золь состоит из округлых образований, сферуллитов, часто образующих единую систему мембранных слоев. Ширина каждого слоя составляет около 40 Å. Полученные сферуллиты близки «липосомам», исследованным Бенгхамом с соавторами (6), а также слоистым частицам из лецитина, описанным Люси и Глауертом (10). Ультразвуковое диспергирование фосфолипида в наших опытах не применялось (рис. 2 см. вклейку к стр. 1261).

Так как в опытах по изучению влияния лецитинового золь на активность ферментов мы прибавляли ферментные белки к готовому золь, то представляло интерес провести электронномикроскопическое исследование смешанной системы белок — липид — вода.

Система белок — лецитин — вода была получена следующим образом. К объему лецитинового золь прибавляли равный объем 1% раствора сывороточного альбумина. В световом микроскопе при этом наблюдаются обычные коацерватные капли из лецитина и белка. Для электронномикроскопического исследования препараты готовили аналогично препаратам системы лецитин — вода.

Электронномикроскопическая фотография полученного препарата представлена на рис. 2б. Структуры, образующиеся в системе белок — липид — вода, практически аналогичны структурам систем, полученных Бенгхамом (6) при обработке лецитиновых липосом стрептолизином S. Очевидно, как в случае обработки липосом стрептолизином S или фосфолипазой (6), так и в наших исследованиях при взаимодействии липосом с сывороточным альбумином или ферментными белками, происходит своего рода «пропитывание» (терминология Бенгхама) (6) белком плотных упакованных ансамблей фосфолипидов.

В заключение авторы приносят искреннюю благодарность Л. И. Барсукову за предоставленный материал и методические консультации и академику А. И. Опарину за ценные советы при обсуждении данной работы.

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
8 VI 1971

Агробиохимический институт  
Вроцлав, Польская Народная Республика

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 Н. G. Bungenberg de Jong, R. F. Wasterkamp, *Biochem. Zs.*, **234**, 347 (1931). 2 А. И. Опарин, К. Б. Серебровская и др., *ДАН*, **179**, № 4, 976 (1968). 3 А. И. Опарин, К. Б. Серебровская, Л. З. Гоголашвили, *ДАН*, **185**, 952 (1969). 4 К. Б. Серебровская, Т. О. Балаевская, Т. И. Осипова, *ДАН*, **187**, 939 (1969). 5 П. А. Ребиндер, Докл. на 2-й школе по происхождению жизни, Можинка, 1970. 6 A. D. Bangham, In: *Advances in Lipid Research*, **1**, N. Y., 1963, p. 96. 7 T. E. Thompson, F. A. Henn, In: *Membranes of Mitochondria and Chloroplasts*, N. Y., 1970, p. 35. 8 H. A. Bakker, *Proc. Acad. Sci. Amsterdam*, **37**, 688 (1934). 9 В. А. Штейн-Марголина, Кандидатская диссертация, 1971. 10 A. M. Glaupert, I. T. Dingle, I. A. Lucy, *Nature*, **196**, 953 (1962).