

Rola grup karboksylowych białka pasma 3 w procesie transportu jonów chlorkowych przez błony erytrocytarne

T. Janas¹, T. Janas²

¹Zakład Fizyki, Politechnika Zielonogórska

²Zakład Biofizyki, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Zielona Góra.

Białko integralne pasma 3 odpowiedzialne jest za transport anionów nieorganicznych przez błony erytrocytarne. Aktywność transportowa związana jest z transmembranową domeną białka pasma 3. Monomery białka pasma 3 tworzą w błonach natywnych niekowalencyjnie związane dimery oraz tetramery, znajdujące się w dynamicznej równowadze. W każdym monomerze zlokalizowane jest jedno centrum transportujące. W procesie wymiany anionów pomiędzy cytozolem i ośrodkiem zewnętrznym istotną rolę odgrywają grupy elektrycznie naładowane, zlokalizowane w bocznych łańcuchach białka pasma 3. Przeprowadzono badania wpływu modyfikacji ujemnie naładowanych grup karboksylowych na transport jonów chlorkowych oraz kinetykę odwracalnego wiązania DIDS z białkiem pasma 3. Do modyfikacji grup karboksylowych użyto karbodiimidu (EAC). Transport jonów chlorkowych badano przy użyciu radioizotopu chloru ³⁶Cl. Stałą dysocjacji (K_D) odwracalnego kompleksu „DIDS-centrum wiążące” wyznaczono w warunkach równowagowego rozkładu cząsteczek DIDS pomiędzy błonami erytrocytarnymi a ośrodkiem zewnętrznym. Stałą szybkości (k_{+1}) wiązania DIDS z białkiem pasma 3 wyznaczono korzystając z DIDS znakowanego trytem. Z krzywych Dixona wyznaczono stałą inhibicji (K_i) dla DIDS. W wyniku modyfikacji obserwowano inhibicję transportu anionów chlorkowych, wzrost wartości stałych inhibicji oraz dysocjacji dla DIDS, oraz spadek wartości stałej szybkości wiązania DIDS z centrum białka pasma 3. Wyniki te wskazują na udział ujemnie naładowanych grup karboksylowych w procesie wiązania anionów do centrum regulatorowego białka pasma 3.

Wpływ zmiennego pola magnetycznego z zakresu ELF na zmiany szybkości reakcji i rozpadu ATP

F. Jaroszyk

Katedra Biofizyki Akademia Medyczna, Poznaniu

Zmienne pole magnetyczne z zakresu ELF było wytwarzane przy pomocy urządzenia magnetostymulacyjnego VIOFOR opartego na metodzie JPS (opracowanej przez Jaroszyka, Paluszaka i Sieronią). Sygnały JPS zmiennego pola magnetycznego charakteryzowały się niską indukcją, zaledwie kilka razy większą od indukcji skła-

dowej poziomej pola geomagnetycznego oraz odpowiednio dobraną złożoną strukturą widmową.

Biologiczno-biochemiczne efekty oddziaływania zmiennego pola magnetycznego są następstwem występowania trzech podstawowych mechanizmów biofizycznych. Mechanizm elektrodynamicznego oddziaływania tego pola na prądy jonowe w organizmie, jonowego rezonansu cyklotronowego (mówiąc dokładniej quasicyklotronowego) oraz mechanizmu magnetomechanicznego oddziaływania pola magnetycznego na cząstki z nieskompensowanymi spinami magnetycznymi.

Badania zmian szybkości reakcji i rozpadu ATP wykonano metodą chemiluminescencyjną. Wykazano, że istnieje wpływ zmiennego pola magnetycznego JPS z obszaru ELF na zwiększenie szybkości reakcji i rozpadu ATP od 30% do 40%.

Do wyjaśnienia powyższych wyników badań wykorzystano teorię chemiosmotyczną Mitchella stanowiącą fundamentalną koncepcję bioenergetyczną.

Wcześniejsze badania Paluszaka wpływu sygnałów JPS na szybkość restytucji powysiłkowej wskazywały na szczególną rolę procesów zachodzących w łańcuchu oddechowym organizmów żywych.

Wzrost szybkości reakcji i rozpadu ATP, zgodnie z teorią Mitchella, musi się wiązać ze zwiększoną aktywnością kompleksu syntazy ATP. Tym samym uaktywnieniu musi podlegać tzw. pierwotna pompa protonowa związana z gradientem protonów w poprzek wewnętrznej błony mitochondrialnej. Z kolei pierwotna pompa protonowa funkcjonuje w ścisłym sprzężeniu z transportem elektronów od pary $NAD^+/NADH$ do O_2/H_2O w łańcuchu oddechowym. Tak więc wzrost szybkości reakcji i rozpadu ATP jest ściśle związany ze wzrostem aktywności procesów oksydo-redukcyjnych zachodzących w łańcuchu oddechowym żywych organizmów.

Ultraślaba emisja świetlna z zaadaptowanych do ciemności komórek *Characeae*

A. Jaśkowska¹, R. Borec¹, L. Mileczarek², E. Śpiewła¹

¹Institut Fizyki, Politechnika Lubelska

²Zakład Fizyki, Akademia Rolnicza, Szczecin

Słaba chemiluminescencja towarzysząca przebiegowi procesów życiowych komórek jest wykrywalna jedynie za pomocą bardzo czułych fotopowielaczy lub CCD kamer — metodą zliczania pojedynczych fotonów. Uzyskiwane sygnały, odpowiadające natężeniu ultrasłabej emisji z roślin pobranych do badań bezpośrednio „ze światła” i umieszczonych w światłoszczelnej komorze aparatury pomiarowej wykazują kilka etapów wyświecania. Po krótkotrwałej fotoluminescencji i tzw. opóźnionej luminescencji rośliny emitują długotrwałą luminescencję, która utrzymuje się wg Lavorela (1980) kilka godzin, a wg naszych badań kilkanaście godzin. Dope-

ro po tym czasie przebywania roślin w ciemności - jak wynika z naszych badań na komórkach glonów *Characeae* - ustala się quasi-stacjonarny poziom emisji kilka razy wyższy niż tło aparatury. Uważany on jest za poziom ultrasłabej emisji świetlnej (UL), której podłożem są procesy chemiczne i enzymatyczne zachodzące w stanie homeostatycznej równowagi komórki. Dłuższe obserwacje tego spontanicznego promieniowania pozwalają stwierdzić, iż w 10% puli badanych komórek luminescencja ma charakter oscylacyjny (w świetle badań Becka (1990) wiążą się one z działaniem enzymów). W naszych obserwacjach oscylacyjny charakter świecenia jest szczególnie interesujący, gdyż dotyczy próbek zawierających około 30 pojedynczych komórek, co sugeruje pewien stan synchronizacji ich zachowań. Wydaje się to możliwe w wyniku procesów reabsorpcji promieniowania przez sąsiadujące z sobą komórki.

Obserwowano również specyficzne zmiany kinetyki UL w sytuacji ekspozycji komórek na czynniki stresujące. Jest to permanentny wzrost do pewnego ustalonego poziomu świecenia, albo występowanie jednego lub kilku pików emisji.

Porównanie widma UL komórek z widmami fluorescencyjnymi chlorofilu oraz przenośników elektronowych w łańcuchu oddechowym (NADH, FMN, Q_{10}) a także z widmem UL dla liposomów z zainicjowaną peroksydacją lipidów pozwala sądzić, iż te właśnie emitery grają pierwszoplanową rolę w ultrasłabej emisji glonów *Characeae*.

Spektroskopia Ramana tkanek kolagenowych modyfikowanych chemicznie

M. Jastrzębska¹, R. Wrzalik², J. Zalewska-Rejdak¹, L. Tajber²

¹Katedra i Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Sosnowiec
²Instytutu Fizyki, Uniwersytet Śląski, Katowice

Wysokorozdzielcza spektroskopia ramanowska jest coraz częściej wykorzystywana do badania struktury molekularnej układów biologicznych. Tkanki kolagenowe modyfikowane chemicznie za pomocą m.in. aldehydu glutarowego są biomateriałami stosowanymi w kardiochirurgii i dermatologii. Po raz pierwszy wykorzystano spektroskopię Ramana do śledzenia zmian, jakie zachodzą w osierdziu wieprzowym pod wpływem działania 0,1% roztworu aldehydu glutarowego jako czynnika sieciującego. Jest to możliwe gdy czas sieciowania nie przekracza 2 h. Zastosowanie wyższych czasów sieciowania wywołuje wysoką fluorescencję uniemożliwiającą obserwację pasm charakterystycznych dla kolagenu. Przeprowadzono interpretację widm ramanowskich tkanki kolagenowej w szerokim zakresie liczby falowej od 300-4000 cm^{-1} w oparciu o porównanie z widmami preparatu kolagenowego, sieciowanego w tych samych warunkach, jako układu o mniej złożonej

budowic. Porównanie widm ramanowskich preparatu kolagenowego natywnego z wynikami prezentowanymi w literaturze w zakresie 300-4000 cm^{-1} wykazało pełną zgodność (Leikin *et al.*, *Proc. Natl. Sci.* 1997, **94**, 11312-11317; Frushour *et al.*, *Biopolymers* 1975, **14**, 379-391). Porównanie widm preparatu kolagenowego i tkanki kolagenowej osierdza wieprzowego wykazało zgodność liczb falowych dla poszczególnych pasm za wyjątkiem zakresu 300-800 cm^{-1} oraz pasma przy 3332 cm^{-1} . Tym niemniej porównanie to pozwala na stwierdzenie obecności kolagenu typu I w wieprzowej tkance osierdziej. Zaobserwowane zmiany w widmach ramanowskich w wyniku procesu sieciowania aldehydem glutarowym pozwoliły na potwierdzenie występowania reakcji aldehydu glutarowego z grupami aminowymi lizyny i hydroksylizyny oraz pozwoliły również na zaproponowanie dwóch innych możliwych reakcji: tworzenia alifatycznego wiązania eterowego oraz reakcji estryfikacji pomiędzy aldehydem glutarowym a grupami funkcyjnymi kolagenu.

Oddziaływania molekularne flawonoidów w układach modelowych

B. Jazurek¹, W. Bylka², H. Sikorska², I. Matławska², G. E. Białek-Bylka¹

¹Instytut Fizyki, Politechnika Poznańska

²Katedra i Zakład Farmakognozji, Akademia Medyczna, Poznań

Flawonoidy będące prostymi związkami fenolowymi (polifenolowymi) mogą być stosowane jako znaczniki chemotaksonomiczne. Są one barwnikami (niefotosyntetycznymi) kwiatów, owoców, elementami strukturalnymi ścian komórkowych i soku komórkowego. Poszczególne klasy flawonoidów różnią się między sobą stopniem utlenienia pierścienia heterocyklicznego (flawonoidy zbudowane są z dwóch hydroksylowych pierścieni aromatycznych połączonych trójwęglowym łańcuchem, który zamyka się w heterocykliczny pierścień piranu). Występują one w roślinach w postaci wolnej bądź związanej np. z resztą cukrową. Flawonoidy z uwagi na przeciwzapalne i przeciwutleniające właściwości (Larson R.A., *Photochemistry* 1988, **27**, 969-978) znajdują się w centrum badań farmaceutycznych.

W naszych badaniach szukamy odpowiedzi na następujące pytania: (1) jakie specyficzne oddziaływania *in vitro* flawonoidów z otoczeniem muszą być spełnione aby były one selektywnymi znacznikami chemotaksonomicznymi; (2) od jakiego typu oddziaływań molekularnych zależy ich funkcja *in vivo*?

Wykonano badania spektralne flawonoidów: amento-flawonu, 7-feruolidiglukuronidu trycyny i izocytyzozydu (Bylka & Matławska, *Acta Polon. Pharm.* 1997, **54**, 331-333) różniących się polarnościami, działaniem fizjologicznym na organizm człowieka oraz rolą fizjolo-

giczną w roślinach. Pomiary dotyczyły flawonoidów w różnych modelach: polimerowych błonach, woskach i roztworach

Badania wykonano w ramach (PP) DS 62-176 / 2001 i (AM) DS 502-3-09-10

Anizotropia fluorescencji własnej prenylochinoli

M. Jemiola-Rzemińska, J. Kruk, K. Strzałka

Instytut Biologii Molekularnej,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Prenylochinony są związkami o charakterze lipofilowym występującymi powszechnie w organizmach roślinnych i zwierzęcych. Precyzyjne określenie fizycznej organizacji i orientacji jak również ruchliwości tych związków w dwuwarstwie lipidowej jest zagadnieniem kluczowym dla wyjaśnienia mechanizmu ich działania w procesach bioenergetycznych i antyoksydacyjnych, w których odgrywają zasadniczą rolę.

W przedstawionej pracy zastosowano metodę pomiaru anizotropii fluorescencji i podjęto próbę wykorzystania zdolności do fluorescencji jaką wykazują zredukowane formy prenylochinonów w celu zbadania ruchliwości homologów plastochinolu różniących się długością łańcucha bocznego (PQH₂-2 i PQH₂-9). Badania przeprowadzono w układach modelowych - liposomach jednowarstwowych (SUV) zbudowanych z lecytyny izolowanej z żółtka jaja kurzego (EYPC) oraz syntetycznej (DPPC). Pomiary wykonano w temperaturze 21°C przy użyciu spektrofluorymetru Perkin-Elmer LS-50 eliminując udział światła rozproszonego poprzez odjęcie tła zmierzonego dla próbki nie zawierającej chinolu.

Otrzymane przez nas wartości anizotropii fluorescencji (*A*) plastochinoli w porównaniu z alfa-tokoferolem (α -Toc) są wyższe dla obu stosowanych układów lipidowych. Uwzględniając fakt, że *A* dla α -Toc jest bliska wyznaczonej dla układów zamrożonych $A_{max} = 0,164$, można wnioskować o jego słabej ruchliwości w błonie. Z kolei ruchliwość PQH₂ wydaje się być względnie duża (*A* w przypadku PQH₂ mieści się w zakresie 0,18-0,25, podczas gdy A_{max} wynosi 0,293). W błonie z DPPC, która w temperaturze 21°C znajduje się w stanie żelu wartości anizotropii fluorescencji badanych plastochinoli: PQH₂-2 i PQH₂-9 są, zgodnie z oczekiwaniem, wyższe niż w przypadku dwuwarstwy z EYPC co świadczy o większym unieruchomieniu cząsteczek chinolu.

Przeprowadzone badania z wykorzystaniem fluorescencji własnej prenylochinoli umożliwiają uzyskanie bezpośrednich informacji o oddziaływaniach pomiędzy cząsteczkami plastochinoli a matrycą lipidową, w którą są wbudowane, bez konieczności stosowania znaczników fluorescencyjnych, mogących zaburzać badany układ.

Wpływ zablokowania syntazy tlenu azotu na czynność skurczową nieciążarnej macicy ludzkiej

T. Kleszczewski, B. Modzelewska, A. Kostrzevska

Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Białystok

Tlenek azotu (NO) jest substancją biorącą udział w bardzo wielu procesach w organizmie. Do najważniejszych zalicza się funkcje NO jako: (1) związku rozkurczającego mięśnie gładkie, szkieletowe i kardiomiocyty; (2) związku hamującego agregację płytek krwi; (3) parakrynnego neurotransmitera w układzie nerwowym; (4) regulatora odpowiedzi immunologicznej; (5) regulatora oddychania mitochondrialnego; (6) inhibitora apoptozy; (7) związku wymiatającego wolne rodniki.

Endogenny tlenek azotu rozkurcza mięśnie gładkie myometrium i tętnic macicznych kobiet. Jest więc substancją, która potencjalnie może być wykorzystana do hamowania nadmiernej czynności skurczowej macicy. Specyficznymi, kompetycyjnymi inhibitorami biosyntezy NO *in vivo* oraz *in vitro* są N^G-substytucyjne analogi L-argininy. Jednym z nich jest N^G-nitro-L-arginina (L-NNA).

W pracy przedstawiono wpływ zablokowania syntazy endogennego tlenu azotu przez L-NNA na czynność skurczową izolowanych skrawków myometrium nieciążarnej macicy ludzkiej w warunkach izometrycznych.

W ocenie reakcji mięśni wykorzystano następujące parametry: pole powierzchni pod krzywą (AUC), średnią częstotliwość i średnią amplitudę skurczów. Wartości charakteryzujące reakcję myometrium macicy nieciążarnej na podawane substancje, wyliczono dla okresów 10. minutowych i odnoszono do wartości tych samych parametrów dla spontanicznej czynności skurczowej.

Stwierdzono, że dodanie do roztworu otaczającego badany skrawek myometrium blokera syntazy NO (L-NNA) w stężeniu $3 \cdot 10^{-4}$ mol/l powodowało prawie natychmiastowy znamienny wzrost aktywności skurczowej mięśni gładkich macicy nieciążarnej.

Obserwowano wzrost napięcia podstawowego mięśni, amplitudy oraz częstotliwości ich skurczów oraz AUC (N = 40) w stosunku do odpowiednich wartości spontanicznej czynności skurczowej myometrium nieciążarnej macicy ludzkiej. Efekt ten był statystycznie znamienny.

Toksyczność hemolityczna wybranych związków lizosomotropowych

H. Kleszczyńska¹, D. Bonarska¹, J. Luczyński²,
S. Witek²

¹Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

²Instytut Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych,
Politechnika Wrocławska

Substancje lizosomotropowe to termin wprowadzony przez de Duve i wsp. (*Biochem. Pharmacol.* 1974, **23**, 2495-2531) dla substancji, które gromadzą się w lizosomach komórek zwierzęcych (posiadających najniższe pH spośród wszystkich organelli komórkowych) lub w wakuolach komórek roślinnych (będących odpowiednikami lizosomów). Substancje te to przede wszystkim słabe zasady organiczne, najczęściej trzeciorzędowe aminy o wartościach pK_a od 5 do 9, posiadające różną strukturę, której wspólnym elementem jest atom azotu, nadający cząsteczce słabo zasadowy charakter. Ich stężenie w lizosomach może być kilkasetkrotnie wyższe niż w najbliższym otoczeniu, powodując cytotoksyczne skutki. Mechanizm ich działania na komórki nie został jednak dotąd w pełni wyjaśniony. Znanie są jednak niektóre leki nasercowe z tej grupy jak verapamil czy chlorokwina, które przeciwdziałają oporności wielolekowej przez blokowanie wypływu leków z komórki. Przeciwdziałanie oporności wielolekowej uważa się obecnie za najważniejszy problem chemioterapii.

Przeprowadzone badania miały na celu określenie aktywności biologicznej wybranych substancji lizosomotropowych na podstawie ich oddziaływania z błoną erytrocytów, traktowaną tu jako przykład błony biologicznej. Zbadano wpływ, otrzymanych na drodze syntezy pochodnych glicyny i alaniny, na hemolizę krwinek czerwonych i na płynność błony erytrocytów. Na tej podstawie określono toksyczność hemolityczną użytych związków lizosomotropowych, która jest miarą ich aktywności biologicznej. Wyniki badań wykazały, że pochodne glicyny są aktywniejsze niż pochodne alaniny, a ponadto wysoką aktywność posiadają związki o odpowiednio długich łańcuchach alkilowych, jak to stwierdzono w naszych wcześniejszych badaniach dla innych związków z tej grupy.

Badania te są finansowane przez KBN w ramach grantu nr 3 T09B 081 18.

Wpływ czwartorzędowych soli amoniowych na stopień utleniania błon erytrocytów

H. Kleszczyńska¹, D. Bonarska¹, M. Oświećimska²

¹Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

²Instytut Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych,
Politechnika Wrocławska, Wrocław

Powszechnie znany jest negatywny wpływ promieniowania UV na organizmy żywe, powodując ono m. i. utlenienie błony komórkowej, której składniki ulegają degradacji, zmieniają jej właściwości. Toksyczne dla organizmu są również produkty utlenienia, prowadzące do wielu chorób organizmów żywych. Aby chronić organizmy ekspozowane na działanie promieniowania UV, prowadzone są intensywne badania mające na celu otrzymanie skutecznych substancji chroniących komórki przed utlenieniem, głównie wskutek blokowania reakcji wolno-rodnikowych. Testowane są w tym celu zarówno naturalne substancje pochodzenia roślinnego (polifenole), jak i związki syntetyczne, do których należą czwartorzędowe sole amoniowe (Kleszczyńska *et al.*, *Polish Journal of Environmental Studies* 2000, **9**, 475-478; Kleszczyńska, *Naturforsch* 1999, **53c**, 424-428). Użyte w tych badaniach substancje to bromki pirolidyniowe i piperidyniowe, każda z grup zawiera związki różniące się długością łańcucha węglowodorowego. Stanowią one nową grupę potencjalnych antyoksydantów.

Zbadano ich wpływ na stopień utlenienia lipidów w błonie erytrocytów, indukowanego promieniowaniem UV. Błony erytrocytów (cienie) otrzymywano metodą Dodge'a i innych (Dodge *et al.*, *Arch. Biochem.* 1963, **100**, 119-130). Stopień utlenienia lipidów określano spektrofotometrycznie na podstawie barwnej reakcji kwasu tiobarbiturowego z dialdehydem malonowym, będącym produktem utlenienia. Wyniki badań wykazały, że użyte bromki skutecznie chronią lipidy zawarte w błonie erytrocytów przed utlenieniem. Stwierdzono, również że bromki piperidyniowe wykazują wyższą aktywność antyoksydacyjną w badanym zakresie stężeń niż bromki pirolidyniowe.

Programowana chronopotencjometria w badaniach procesu elektroporacji i odtwarzania ciągłej struktury dwuwarstwowych membran lipidowych

S. Koronkiewicz¹, S. Kalinowski², K. Bryl¹

¹Katedra Fizyki i Biofizyki,

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

²Katedra Chemii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

Elektroporacja jest zjawiskiem polegającym na powstawaniu w dwuwarstwie lipidowej błon komórkowych pod wpływem silnego pola elektrycznego struktur zwa-

nych porami. Konsekwencją tego zjawiska jest wzrost przewodnictwa i przepuszczalności błony, co jest wykorzystywane w biotechnologii i medycynie. Mimo dość szerokich zastosowań, mechanizm elektroporacji nadal kryje wiele znaków zapytania. Dotyczą one głównie nie do końca poznanych mechanizmów powstawania i zamykania porów oraz czynników wpływających na wielkość i czas ich życia.

Opracowana w naszym zespole badawczym chronopotencjometryczna metoda badania zjawiska elektroporacji w układzie modelowym jaki stanowią dwuwarstwowe błony lipidowe (BLM) posiada szereg walorów (Kalinowski *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 1998, **1369**, 204-212). Daje ona przede wszystkim możliwość generowania w błonie pojedynczego pora oraz oszacowywania jego rozmiarów. Ponadto umożliwia badania właściwości pora w stosunkowo długich przedziałach czasowych.

Prezentowane wyniki badań dotyczą możliwości zastosowań chronopotencjometrii z programowanymi zmianami natężenia prądu w badaniach zjawiska elektroporacji. Błony lipidowe formowane były metodą Muellera-Rudina. Roztwór formujący zawierał mieszaninę lecytyny i cholesterolu w n-dekanie. Otrzymane wyniki sugerują, że spadek potencjału membranowego do zera nie powoduje natychmiastowego zamykania pora. Wielkość pora w takich warunkach nie zmienia się w czasie do ok. 200 s. Pory obserwowane przy niskich potencjalach (kilkadziesiąt mV) i małych natężeniach prądu (kilkadziesiąt pA) mogą zachowywać również niezmienną się w czasie rozmiary. Zamykanie porów może następować przy potencjalach membranowych rzędu kilkudziesięciu mV i jest funkcją głównie czasu, a nie potencjału. Czas niezbędny do zamknięcia pora i regeneracji ciągłej struktury dwuwarstwy wahał się w granicach od kilkunastu do kilkuset sekund.

Lipidy prenylowe są wydajnym zmiataczem rodnika ponadtlenkowego w chloroplastach

J. Kruk, M. Jemiola-Rzemińska, K. Strzałka

Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński,
Kraków

Głównym miejscem wytwarzania rodnika ponadtlenkowego w błonach tylakoidów, w chloroplastach jest fotosystem I (PS I). W obrębie tego fotosystemu, rodnik ponadtlenkowy jest wytwarzany w aprotycznym, hydrofobowym wnętrzu błony w centrach żelazo-siarkowych (Fe-S) typu X i A/B. Rodnik ponadtlenkowy, z powodu wydłużonego czasu życia w aprotycznym wnętrzu błony, może uszkadzać bezpośrednio elementy strukturalne błony (lipidy, białka) lub po dysmutacji do nadtlenu wodoru przy powierzchni błony, może działać destrukcyjnie na enzymy frakcji stromalnej chloroplastu.

Celem naszych pomiarów było zmierzenie reaktywności różnych naturalnie występujących lipidów prenylowych, takich jak plastochinon (PQ-9), α -tokochinon (α -TQ), ich formy zredukowane oraz α -tokoferol, w reakcji zmiatania rodnika ponadtlenkowego. Powyższa reakcja była mierzona poprzez pomiar konsumpcji tlenu przez wyizolowane tylakoidy.

Uzyskane wyniki pokazują, że wszystkie badane lipidy prenylowe hamują pochłanianie tlenu przez PSI. Największą aktywnością w tym względzie charakteryzował się plastochinol (PQH₂-9), następnie PQ-9, α -TQH₂ i α -Toc. α -TQ wykazywał najniższą aktywność w badanej reakcji. Plastochinol wytworzony w błonie tylakoidu poprzez enzymatyczną redukcję PQ-9 przy udziale reduktazy ferredoksyna-PQ, okazał się być nawet bardziej aktywny w hamowaniu konsumpcji tlenu niż PQH₂-9 dodany z zewnątrz.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na to, że układ P QH₂-9/PQ-9 jak również inne naturalne lipidy prenylowe takie jak α -Toc czy α -TQH₂ odgrywają istotną rolę w zmiataniu rodnika ponadtlenkowego w obrębie PS I. Reakcja ta znacznie obniża poziom rodnika ponadtlenkowego dyfundującego w kierunku powierzchni błony i ilość tworzonego nadtlenu wodoru w chloroplastach.

Synteza fluoroforu A2-E – pochodnej all-trans retinalu.

L. Krzyżanowski

Zakład Farmacji Fizycznej, Akademia Medyczna, Katowice

Kilka lat temu wyodrębniono (Eldred & Lasky, *Nature* 1993, **361**, 724-726) i ustalono strukturę (Sakai *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, **118**, 15559-1560) prawdopodobnego prekursora lipofuscyny w komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) ludzkiego oka – fluoroforu A2-E.

Ostatnio wykazano, że A2-E hamuje wzrost ludzkich komórek RPE. Znalaziono też dowody wzmacniające hipotezę, że A2-E jest w istocie prekursorem lipofuscyny i sugerujące że A2-E może odgrywać rolę w powodowanych światłem uszkodzeniach związanych z zależnymi od wieku chorobami siatkówki (Cubeddu *et al.*, *Photochem. Photobiol.* 1999, **70**, 172-175; Sparrow, *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1999, **40**, 2988-2995).

Celem pracy była synteza fluoroforu A2 E, trudno dostępnej pochodnej all-trans retinalu i etanoloaminy, tj. soli 2-[2,6-dimetylo-8-(2,6,6-trimetylo-1-cykloheksen-1-yl)-1E,3E,5E,7E-oktatectracnylo]-1-(2-hydroksyetylo)-4-[4-metylo-6-(2,6,6-trimetylo-1-cykloheksen-1-yl)-1E,3E,5E-heksatrienylo]-pirydynowej.

Syntezę prowadzono metodą klasyczną w roztworze, w reakcji all-trans retinalu z etanoloaminą (2:1) poprzez zasadę Schiffa, a bez jej wyodrębniania, przy kwaśnej

katalizie i pod osłoną argonu w oparciu o doniesienia literaturowe syntezy pochodnych tej grupy (Eldred & Lasky. *Nature* 1993, **361**, 724-726; Sakai *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 1996, **118**, 15559-1560; Palmer, *Am. Chem. Soc.* 1982, **104**, 6907-6913; Birge *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 1982, **109**, 2090-2101; Liu *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2000, **275**, 29354-29360).

Podstawowymi dowodami wskazującymi na fakt otrzymania A2-E są wyniki zebrane techniką chromatografii silikazełowej (PLC i TLC) i spektroskopii UV-VIS.

Znaczenie dipolowej budowy głów polarnych lipidów w analizie przejść fazowych błon lipidowych

K. Kubica

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Uwzględnienie dipolowej budowy głowy polarnej cząsteczek lipidowych tworzących modelową błonę, pomimo wielu uproszczeń umożliwiło modelowanie tzw. ripple phase. Obecnie budowany jest model uwzględniający założenia bliższe rzeczywistości:

1. każda cząsteczka modelująca lipid zbudowana jest z dwóch łańcuchów węglowodorowych oraz głowy polarnej — dipola,
2. łańcuch węglowodorowy, bliższy głowie polarnej, jest krótszy o dwa C-C
3. łańcuchy mogą przyjmować konformacje, jedną z 10 możliwych,
4. cała cząsteczka może obracać się 180° wokół osi prostopadłej do powierzchni błony,
5. cała cząsteczka może przesuwać się wzdłuż prostopadłej do powierzchni błony o długość rzutu dwóch wiązań C-C
6. dipole mogą przyjmować jedno z dwóch nachyleń: 78° oraz 30° ,
7. dipole mogą obracać się w kierunkach 6 najbliższych sąsiadów.

Założenia te umożliwiają uwzględnienie czynników środowiskowych takich jak siła jonowa, przenikalność dielektryczną, temperaturę. Ostatecznym celem budowanego modelu jest stworzenie mapy przypowierzchniowego potencjału elektrycznego błony lipidowej, co powinno być przydatne w analizie zachowania się cząsteczek biologicznie aktywnych oddziałujących z błonami a wrażliwych na wartości potencjału przypowierzchniowego.

Przewodnictwo elektryczne kolagenu poddanego działaniu promieniowania γ

L. Kubisz, E. Marzec

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Poznań

Kolagen, białko strukturalne tkanki łącznej stanowi około 1/3 wszystkich białek zawartych w ciele ludzkim. Wyróżniamy wiele typów kolagenu, różniących się między sobą składem aminokwasowym, jednak wspólną cechą jest ich struktura - potrójna α -helisa. Ze względu na swoje właściwości kolagen jest szeroko stosowany w medycynie. Zastosowanie kolagenu jako biomateriału związane jest z modyfikacją jego właściwości fizyko-chemicznych. Poddając kolagen działaniu czynników fizycznych takich jak temperatura i promieniowanie jonizujące wpływamy na strukturę jego makrocząsteczki. Zmiany strukturalne z kolei są źródłem zmian właściwości elektrycznych, manifestowane poprzez zmiany przewodnictwa elektrycznego badanego materiału. Podjęte badania miały na celu ocenę wpływu substancji naturalnie występujących z kolagenem na jego podatność na działanie promieniowania jonizującego. Wpływ promieniowania na kolagen i układ kolagen-hydroksyapatyt oceniano na podstawie zmian przewodnictwa próbek napromienionych w stosunku do próbek kontrolnych.

Badania temperaturowej zależności przewodnictwa elektrycznego wykonano dla kolagenu typu I (SIGMA) oraz materiału kostnego pochodzącego z kości bydłowej. Przewodnictwo elektryczne wyznaczono metodą dwuelektrodową, umieszczając próbkę w stałym polu elektrycznym, w obszarze stosowalności prawa Ohma, w trakcie liniowego wzrostu jej temperatury. Pomiar przeprowadzono dla grupy kontrolnej oraz dla próbek poddanych działaniu promieniowania gamma o dawce 50 kGy i 500 kGy.

Stwierdzono, że przewodnictwo elektryczne kości ma większą wartość niż kolagen. Napromieniowanie kolagenu i kości prowadzi do zmian ich przewodnictwa elektrycznego. Obecność hydroksyapatytu powoduje wystąpienie różnic w reakcji badanego materiału na promieniowanie gamma.

Wartość prognostyczna wyników testu z fizyki na egzaminie wstępnym w odniesieniu do wyników z biofizyki studentów I roku wydziału lekarskiego AM w Poznaniu

M. Kucharski

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Poznań

Realizacja programu kształcenia z biofizyki na studiach medycznych opiera się na założeniu, że studenci mają podstawową wiedzę z fizyki ze szkoły średniej. Wiedza

ta jest sprawdzana na egzaminie wstępnym — test z fizyki jest częścią składową testu egzaminacyjnego, obok testów z biologii i chemii. Wartość testu z fizyki jako sposobu selekcji kandydatów na studia medyczne jest bezsporna i wynika z jego trafności wewnętrznej, wysokiej rzetelności, a także zrównoważenia w stosunku do pozostałych dwóch testów przedmiotowych.

Niniejszy komunikat jest próbą odpowiedzi na pytanie: jaka jest trafność prognostyczna wyników tego testu w relacji do wyników z biofizyki na studiach?

Jako wskaźniki trafności prognostycznej testu z fizyki z egzaminu wstępnego przyjęto współczynniki korelacji rangowej studentów pomiędzy ich wynikami w tym teście, a wynikami zaliczenia ćwiczeń laboratoryjnych i egzaminu z biofizyki.

Badania wykonano dla studentów przyjętych na I rok studiów na I Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Poznaniu w latach 1996-1998; każdy z roczników liczył około 180 studentów. Wspomniane współczynniki korelacji liczono dla 12 grup (o liczebności od 7 do 22 studentów), realizujących w danym roku akademickim ćwiczenia laboratoryjne z poszczególnymi nauczycielami akademickimi.

Uzyskane wartości współczynników korelacji pozwalają na wyciągnięcie wniosku, że wynik testu z fizyki na egzaminie wstępnym stanowi umiarkowaną prognozę powodzenia na zajęciach z biofizyki na I roku studiów medycznych. Istotne współczynniki korelacji, o wartościach z przedziału 0,40-0,85, wystąpiły dla połowy badanych grup w przypadku relacji: wynik testu z fizyki – wynik zaliczenia ćwiczeń laboratoryjnych z biofizyki i tylko dla 1/4 grup w przypadku relacji: rezultat testu z fizyki – ocena egzaminacyjna z biofizyki. Przyczyny tego stanu rzeczy należy upatrywać zarówno po stronie biofizyki jak i jej otoczenia dydaktycznego. Należy ponadto stwierdzić, że uzyskane wyniki nie mogą stanowić podstawy do kwestionowania przydatności testu z fizyki jako jednego z narzędzi selekcji kandydatów na studia medyczne.

Reakcja wzrostowa siewek kukurydzy na działanie stałego i zmiennego pola magnetycznego

R. Kuśka¹, K. Kula², W. Karcz²

¹Katedra i Zakład Biofizyki Lekarskiej, Śląska Akademia Medyczna

²Katedra Fizjologii Roślin Uniwersytet Śląski

Dane literaturowe ostatnich kilkunastu lat wskazują na rosnące zainteresowanie wpływem pola magnetycznego na żywe organizmy. Jednym z przejawów działania pola magnetycznego jest jego wpływ na wzrost i rozwój roślin. Przeprowadzone badania miały na celu określić wpływ stałego (0,245 i 0,49 T) i zmiennego (9, 18 mT o częstotliwości 50 Hz) pola na wzrost korzeni i części

nadziemnej siewek kukurydzy. Ponadto zbadano jak pole magnetyczne wpływa na indukowany przez IAA wzrost wydłużeniowy segmentów koleoptyli. Synchronicznie ze wzrostem mierzono również zmiany pH ich środowiska inkubacyjnego.

Otrzymane wyniki jednoznacznie wskazują (test U-Manna-Whitney'a), że zarówno stałe jak i zmienne pole magnetyczne hamowały wzrost wydłużeniowy korzeni i części nadziemnej siewek kukurydzy. Podobny efekt stwierdzono również w badaniach przeprowadzonych na segmentach koleoptyli kukurydzy wyciętych z siewek traktowanych obu rodzajami pól. Nie zaobserwowano natomiast istotnych zmian w pH środowiska inkubacyjnego segmentów poddanych działaniu pola.

Udział plazmolemowego systemu redoks we wzroście elongacyjnym segmentów koleoptyli *Zea mays* L.

H. Lekacz, B. Wróbel, M. Kędziorska, Z. Burdach, W. Karcz

Uniwersytet Śląski, Katowice

Wcześniejsze badania wykazały, że plazmolema komórek roślinnych, dzięki obecności w niej układów redoksowych (cytochromy, flawiny lub chinony) uczestniczy w transporcie elektronów z cytosolu do apoplastu. Elektrony transportowane na zewnętrzną stronę błony komórkowej redukują obecne w środowisku sztuczne akceptory np. żelazicyjanek potasu. Procesowi temu towarzyszy zakwaszenie środowiska inkubacyjnego.

Przeprowadzone również wcześniej badania wykazały, że zarówno naturalne (IAA) jak i syntetyczne (2,4 D, α -NAA) auksyny wzmagają aktywność redoksową i zakwaszenie środowiska inkubacyjnego segmentów koleoptyli *Zea mays* L. (Lekacz & Karcz, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 1999, **469**, 333-338)

Badania przeprowadzono na 10 mm segmentach koleoptyli kukurydzy. Aktywność redoksową oznaczano metodą spektrofotometryczną, mierząc zmiany absorpcji światła przy długości fali równej 420 nm, zgodnie z metodą opisaną wcześniej przez Carrasco-Luna i wsp. (*Protoplasma*, 1995, **184**, 63-71). Pomiarów wzrostu elongacyjnego dokonywano metodą cieniograficzną opisaną przez Karcza i wsp. (*Physiol. Plant.* 1990, **80**, 257-261.). Otrzymane wyniki wskazują na stymulujące działanie IAA i IBA (w stężeniu 10^{-5} M) na aktywność redoksową i wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli *Zea mays* L.

Metoda sond spinowych w ocenie zmian stopnia nienasylenia fosfolipidów komórek *Chlorella vulgaris* na poszczególnych etapach cyklu rozwojowego

J. Lodowska¹, L. Dul²

¹Katedra Biologii Molekularnej, Biochemii i Biofarmacji, Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

²Katedra Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

Fosfolipidy są podstawowym elementem budującym błony biologiczne. Analiza składu chemicznego lipidowej komponenty błonowej oraz ocena czynników mogących wpłynąć na stabilizację i przepuszczalność dwuwarstwy lipidowej umożliwia poznanie mechanizmów odpowiedzi na chemiczne i fizyczne bodźce działające na komórkę.

Modelem umożliwiającym zgłębienie istoty procesów wewnątrzkomórkowych jest synchroniczna hodowla glonów *Chlorella*, w której komórki znajdują się w tym samym stadium rozwojowym. Niewielkie wymagania żywieniowe *Chlorella*, możliwość kierowania ich procesami metabolicznymi w dość szerokich granicach oraz szybkie tempo rozmnażania glonów mają istotne znaczenie w badaniach nad zróżnicowaniem procesów przebiegających w poszczególnych etapach cyklu komórkowego. Cykl hodowlany glonów *Chlorella vulgaris* jest stosunkowo krótki, trwa bowiem 24 h, w tym 10 h faza jasna i 14 h faza ciemna. W czasie 10. godzinnej fazy jasnej zachodzi intensywny rozwój glonów od etapu aplanospor do postaci komórek macierzystych. Po wyłączeniu oświetlenia, następuje sporulacja — uwalnianie aplanospor, których dalszy rozwój jest zablokowany brakiem światła między 10 a 24 godziną hodowli. Włączenie oświetlenia powoduje intensywny rozwój komórek w ich kolejnym cyklu rozwojowym. Badania prowadzono z wykorzystaniem glonów *Chlorella vulgaris* Beijerinck, szczep A8, hodowanych w pożywce mineralnej, stosując temperaturę 30°C i ciągły barbotaż powietrzem wzbogaconym w fazie jasnej w 2% CO₂.

W celu wykazania zmian stopnia nienasylenia fosfolipidów komórek *Chlorella vulgaris* zachodzących na różnych etapach cyklu rozwojowego zastosowano metodę sond spinowych w spektrometrii EPR. Przyjętą miarą płynności błon liposomalnych był parametr uporządkowania, a jako sondy spinowej użyto kwas 5-doksylostearynowy.

Stwierdzono, że podczas fazy jasnej liczba komórek *Chlorella vulgaris* w 1 cm³ pożywki była stała (5·10⁶ komórek/cm³), a współczynnik podziału (iloraz średniej liczby komórek w ostatniej godzinie cyklu życiowego (24 h) i średniej liczby komórek w fazie jasnej) wynosił 10. W kolejnych godzinach cyklu życiowego następował wzrost aktywności biologicznej komórek, której miarą była absorbancja hodowli mierzona przy długości fali λ = 680 nm. Wykazano, że efektem tym towarzyszyło zmniejszenie wartości parametru uporządkowania struktur liposomalnych otrzymanych z fosfolipidów

komórek *Chlorella*. Wskazuje to na zwiększenie stopnia nienasylenia kwasów tłuszczowych w tych podstawowych lipidach błonowych, a tym samym być może i na zwiększenie płynności oraz przepuszczalności budowanych przez nie błon biologicznych.

Spektroskopowe badania interkalatorów związanych w DNA

R. Luchowski, S. Krawczyk

Instytutu Fizyki,

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Ostatnimi laty obserwujemy znaczny wzrost zainteresowań badaniami transportu ładunku elektrycznego w DNA. Są to bezpośrednie pomiary natężenia prądu w tej cząsteczce, bądź spektroskopowe badania przekazu ładunku elektrycznego. Wzmoczone badania mają związek z pracami zmierzającymi do miniaturyzacji układów elektronicznych nawet do rozmiarów molekularnych.

Badania, jakimi zajmujemy się w naszej pracy dotyczą mechanizmu transportu ładunku w DNA. Dotychczasowe doświadczenia wprowadzają jedynie do zrozumienia tego mechanizmu i obejmują technikę spektroskopii efektu Starka. Badania wykonane zostały z DNA interkalowanym barwnikiem, którym był bromek etydyny. Otrzymaliśmy również widma dla czystego barwnika. Przedstawiają one absorpcję oraz zmianę absorpcji $\Delta A(\nu)$, proporcjonalną do kwadratu przyłożonego do próbki pola elektrycznego. Widma rejestrowane były w temperaturze 100 K. Z analizy widm oraz teorii zjawiska elektrochromizmu (tj. efektu Starka) wyznaczone zostały zmiany momentu dipolowego $\Delta\mu$ i zmiany polaryzowalności $\Delta\alpha$ między stanem podstawowym i kolejnymi stanami wzbudzonymi barwnika. Ze zmiany momentu dipolowego $\Delta\mu$ wnioskujemy o zmianach w rozkładzie ładunku elektrycznego towarzyszących przejściu elektronowemu. Zmiana polaryzowalności $\Delta\alpha$ jest miarą czułości przejścia na pole elektryczne i zarazem jest wielkością ważną dla zrozumienia oddziaływań molekuł w rozbudowanych kompleksach cząsteczkowych.

Ze względu na bardzo unikalne właściwości interkalatora bromku etydyny, ma on ważne znaczenie w różnych biochemicznych i biofizycznych zastosowaniach. Barwnik ten bardzo dobrze łączy się z cząsteczkami zasad w DNA, przy czym jedna jego cząsteczka przypada na dwie pary zasad. Wykonaliśmy pomiary efektu Starka bromku etydyny w DNA w widzialnej części widma; od 15000 cm⁻¹ do 27000 cm⁻¹ (tj. 370 nm do 667 nm), oraz w nadfiolecie od 25000 cm⁻¹ do 42000 cm⁻¹ (tj. 240 nm do 400 nm).

Wpływ propolisu na dynamiczne i strukturalne właściwości błon lecytynowych liposomów

D. Man, M. Podolak

Instytut Fizyki, Uniwersytet Opolski

Od wielu lat do leczenia różnych schorzeń wykorzystywane są środki farmakologiczne naturalnego pochodzenia. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się produkty pszczelarskie a wśród nich propolis. Produkt ten charakteryzuje się złożonym składem chemicznym i dużą aktywnością biologiczną. Miarą aktywności może być między innymi wpływ substancji na właściwości dynamiczne i strukturalne błon biologicznych i modelowych.

Celem tej pracy było zbadanie zmian dynamicznych, zachodzących w błonach lecytynowych liposomów wywołanych obecnością propolisu. Liposomy uformowane były w procesie sonikacji lecytyny w środowisku wodnym. Propolis wprowadzano do układu w postaci stężonego roztworu w alkoholu etylowym. Badania przeprowadzone były metodą sond spinowych elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Stosowano dwie sondy penetrujące różne rejony błony: sondę TEMPO (warstwa powierzchniowa błony) i sondę FA(1.14) (środek warstwy hydrofobowej).

Wyniki pomiarów wykazały że: (1) przy małych stężeniach propolisu (0,5% do 1% w stosunku wagowym do lecytyny) błony liposomów ulegają usztywnieniu; (2) powyżej stężenia 1% wzrasta płynność błony; (3) przy 4% stężeniu propolisu rozpoczyna się proces koagulacji liposomów; (4) intensywność koagulacji jest proporcjonalna do stężenia propolisu w próbce; (5) przy 8% stężeniu propolisu koagulacja zachodzi niemal natychmiast; (6) Proces koagulacji ma prawdopodobnie wpływ na rejestrowany sygnał EPR, dlatego też badania dla stężeń propolisu wyższych od 4%, prowadzone tą techniką, mogą być mało wiarygodne.

Zmiany osmolalności pożywki w czasie wzrostu i różnicowania zawiesiny komórkowej pszenicy

I. Marcińska

Zakład Fizjologii Roślin, Polska Akademia Nauk, Kraków

Zawiesiny komórkowe roślin uprawnych, w tym pszenicy, stanowią dogodny materiał do badań fizykochemicznych i genetycznych, ze względu na łatwą możliwość wyselekcjonowania jednorodnego materiału oraz szybkiego namnażania biomasy roślinnej, stanowiącej niejako bank komórek, dostępnych w dowolnej chwili. Celem badań było określenie liniowej korelacji pomiędzy liczbą agregatów zawiesin a osmolalnością pożywek hodowlanych, mierzonej na zasadzie punktu krzepnięcia roztworu. Monitorowanie tworzenia się agregatów komórkowych w kulturach zawiesinowych pszenicy

oraz ocenę ich embriogeniczności prowadzono w jednotygodniowych odstępach czasu. Równocześnie porównywano zmiany pH i przewodnictwa elektrycznego pożywek, w których hodowano zawiesiny. Układ doświadczeń obejmował wpływ genotypu, rodzaju eksplantatu oraz różnych warunków kultury: na świetle i w ciemności. Uzyskano dodatnią liniową korelację pomiędzy osmolalnością i przewodnictwem elektrycznym oraz ujemną w porównaniu z pH pożywki. Na tej podstawie stwierdzono, że osmolalność może być wykorzystana jako jeden z najbardziej ekskluzywnych parametrów wzrostu zawiesiny komórkowej, gdyż wymaga do pomiaru jedynie ok. 100 mikrolitrów pożywki, nie powodując tym samym destrukcji kultury. Większym wartościom pH (środowisko mniej kwaśne) towarzyszyły mniejsze wartości osmolalności i przewodnictwa elektrycznego pożywki (bardziej intensywne zużycie jonów). Uzyskane wyniki wskazują także na możliwość wykorzystania pomiarów osmolalności obok pomiarów pH i przewodnictwa elektrycznego, jako wygodnych, nie powodujących destrukcji kultury wskaźników pożywki do oceny kinetyki wzrostu zawiesiny komórkowej pszenicy.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego KBN nr 5 P06A 021 15

Właściwości dielektryczne układu kolagen-woda-MX

E. Marzec, L. Kubisz

Katedra i Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Poznań

Kolagen jest jednym z ważniejszych białek tkanki łącznej. Jego struktura może być modyfikowana w wyniku działania substancji chemicznych czy czynników fizycznych takich jak promieniowanie elektromagnetyczne. Zmodyfikowany kolagen jako biomateriał znalazł zastosowanie w medycynie. W pracy przedstawiono wpływ działania związku chemicznego MX zawartego w wodzie wodociągowej na właściwości dielektryczne kolagenu. MX jest produktem ubocznym procesu oczyszczania i dezynfekcji wody. Dane literaturowe dotyczące właściwości fizyko-chemicznych tego związku wskazują na jego negatywne oddziaływanie na organizm człowieka. W prezentowanej pracy materiałem badanym był kolagen typ I pochodzący z bydłęcych ścięgien Achillesa (Sigma Chemicals) z którego przygotowano próbki w postaci pastylek. Badania składowych ϵ' i ϵ'' zespolonej przenikalności dielektrycznej wykonano dla czystych próbek kolagenowych nie poddanych działaniu MX oraz tych poddanych jego działaniu. Pomiary wykonano w zakresie temperatur od 22 do 200°C oraz dla częstotliwości pola zmieniającego się od 10^1 do 10^5 Hz. Przed pomiarami próbki były suszone w temperaturze pokojowej i atmosferze powietrza o wil-

gotności względnej 60-70%. Proces uwalniania wody luźno związanej z próbki wraz ze wzrostem temperatury można było zaobserwować w postaci pików ϵ' i ϵ'' w okolicy 80°C dla temperaturowych zależności tych składowych ale tylko dla kolagenu nie modyfikowanego przy pomocy MX. Dla kolagenu połączonego z MX brak pików temperaturowych może wskazywać na powstanie silnych wiązań wodorowych utworzonych przez MX z makrocząsteczką białka. W konsekwencji absorpcja wody w temperaturze otoczenia przez makrocząsteczkę kolagenu jest utrudniona. Zaobserwowane różnice w charakterze temperaturowych i częstotliwościowych zależności składowych ϵ' i ϵ'' między kolagenem czystym a tym połączonym z MX potwierdzają obliczone wartości liczbowe czasów relaksacji dielektrycznej badanych substancji. Dla obszaru temperatur związanego z procesem uwalniania wody czasy relaksacji dla czystego kolagenu oraz kolagenu połączonego z MX wynoszą odpowiednio około 15 ms i 4 s.

Modelowanie komputerowe własności donorowo-akceptorowych melanin

Z. Matuszak

Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński,
Kraków
Wydział Fizyki i Techniki Jądrowej,
Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

Eumelaniny, czarne i brązowo-czarne polimery o polichinonowej strukturze należą do najbardziej rozpowszechnionych pigmentów w przyrodzie. Segmenty 5,6 – indolochinonowe melanin mogą uczestniczyć potencjalnie w wielu rodzajach procesów donorowo-akceptorowych, spośród których szczególnie interesujące są procesy o charakterze fundamentalnym: transfery elektronów i protonów.

Wymienione powyżej procesy mają zazwyczaj charakter etapowy (transfer odbywa się w jednocząstkowych aktach) i sprzężony, tzn. zachodzenie którejkolwiek z wymian cząstek, powoduje wymuszenie procesu towarzyszącego, np. wymianie elektronu towarzyszy jednoczesne przeniesienie protonu. W rezultacie ustala się równowaga pomiędzy grupami o różnym stopniu utlenienia i protonizacji w polimerze a środowiskiem. Jednym z przejawów tej równowagi jest względnie stabilny paramagnetyzm melanin pochodzenia semichinonowego, który także może ulegać modyfikacji w wyniku oddziaływań donorowo-akceptorowych. Z uwagi na związanie aktywnych grup donorowo – akceptorowych ze szkieletem polimeru, procesy tego typu w melaninach posiadają charakter kooperatywny. Walory te czynią melaninę unikalnych układem do prowadzenia badań równowag i dynamiki procesów donorowo-akceptorowych.

Przedmiotem komunikatu jest krótkie omówienie wyników badań nad modelowaniem oddziaływań dono-

rowo-akceptorowych (transferu protonów i elektronów) w melaninach z wykorzystaniem metod fizyki statystycznej i modelowania Monte Carlo.

Zbudowano sumę statystyczną dla reakcji wymiany elektronów i protonów, traktując melaninę jako gaz sieciowy, którego miejsca aktywne zdolne są do wiązania protonów i elektronów w dwu niezależnych etapach. Dla tak zbudowanego systemu obliczono potencjały chemiczne i stałe równowagi reakcji wymiany elektronów (E_b – potencjał redoksywny) i protonów (pK). Przeprowadzono także symulacje komputerowe krzywych miareczkowania pH-metrycznego i redoksywnego DOPA-melaniny wykorzystując zmodyfikowany algorytm Metropolis dla opisanego powyżej systemu reprezentującego melaninę, uzyskując zadowalającą zgodność z wynikami eksperymentalnymi.

Wizualizacja guzów czerniaka eksperymentalnego z zastosowaniem kwasu 5- Δ -aminolewulinowego

Z. Matuszak^{1,4}, M. Latocha², K. Urbańska¹,
J. Bialecka¹, T. Biniszkiewicz³,
T. Wilczok², A. Sieron³

¹Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński,
Kraków

²Katedra Biologii Molekularnej, Śląska Akademia Medyczna

³Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych
i Medycyny Fizykalnej, Śląska Akademia Medyczna

⁴Wydział Fizyki i Techniki Jądrowej, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków

Kwas 5-)aminolewulinowy (5-ALA) jest prekursorem hematuroporfiryn. Większość komórek ssaków posiada zdolność do biosyntezy protoporfiryny (Pp IX) na bazie 5-ALA. 5-ALA jest szeroko rozpowszechniony zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* nad skutecznością fotodynamicznej terapii (PDT).

Celem obecnej pracy było sprawdzenie możliwości wizualizacji (PDD – fotodynamiczna dianostyka) guzów czerniaka (Bomirski Hamster Melanoma – BHM) o różnej zawartości melaniny (nieupigmentowana podlinia BHM Ab i upigmentowana BHM Ma) rosnących podskórnym u chomików syryjskich przy pomocy zestawu Lung LIFE (Live Induced Fluorescence) firmy XILIX (Olimpus).

Prekursor porfiryny podawano zewnętrznie wcierając go w skórę pokrywającą guz oraz okolice guza maści zawierającej 1% 5-ALA. Testowano zawartość porfiryn w skórze i guzie po różnym czasie od podawania i różnej ilości związku (96, 48, 5, 2 godz.: 8 razy, 4 razy, 1 raz). Celem tych prób było znalezienie czasu i ilości związku, po podaniu którego zróżnicowanie emisji pochodzącej od tkanki nowotworowej jest największe w stosunku do otaczających tkanek zdrowych.

Uzyskane obrazy guzów dawały lepsze zróżnicowanie barwy dla guzów pozbawionych melaniny (podlinia

BHM Ab). Guzy z dużą zawartością melaniny (podlinia BHM Ma) były widoczne jako obszar o ciemnym zabarwieniu na tle czerwonej emisji porfiry. W osobnych doświadczeniach przeprowadzonych w układzie *in vitro* stwierdzono zdolność komórek czerniaków (mysia melanoma Cloudmana S91, ludzka melanoma SKMEL) do syntezy hematoporfiryn z 5-ALA.

Dalsze doświadczenia zmierzające do opracowania ilościowych kryteriów zasięgu guzów czerniaka wymagają potwierdzenia histopatologicznego.

Modyfikacja właściwości błon lipidowych pod wpływem nowych związków izoflawonowych pochodzenia roślinnego

K. Michalak¹, A. B. Hendrich¹, A. Poła¹, R. Malon¹, Y. Shirataki², N. Motohashi³

¹Katedra i Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Wrocław

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, Saitama, Japan

³Department of Medical Chemistry, Meiji Pharmaceutical University, Tokyo, Japan

Niektóre związki chemiczne występujące w owocach, warzywach i ziarnach przyciągają uwagę z powodu ich potencjalnych właściwości przeciwnowotworowych. Związki izoflawonowe są naturalnymi roślinnymi fitoestrogenami występującymi w niektórych gatunkach roślin, przede wszystkim w roślinach motylkowych. Wykazano, że niektóre z nich posiadają zdolność do hamowania proliferacji komórek nowotworowych oraz do indukowania różnicowania się komórek. Daidzeina i genisteina są głównymi izoflawonoidami występującymi w ziarnach soi. Genisteina wpływa na wiele molekularnych procesów komórkowych, między innymi posiada zdolność do odwracania oporności wielolekowej (mdr) w komórkach nowotworowych z nadekspresją białka MRPI. W mechanizmie redukcji oporności wielolekowej istotnym czynnikiem może być zmiana właściwości dwuwarstwy lipidowej pod wpływem związków redukujących oporność (modulatorów oporności) niezależnie od, lub dodatkowo do ich specyficznego oddziaływania z transporterem mdr. W przedstawianej pracy pokazano wpływ wybranych związków izoflawonowych, pochodnych genisteiny, wyekstrahowanych z roślin z Dalekiego Wschodu (np. perelkowca japońskiego), na niektóre właściwości błon lipidowych. Związki różniły się grupami chemicznymi przyłączonymi w różnych miejscach pierścieni A, B, C tworzących cząsteczkę izoflawonoidu. Wykazano, że niektóre podstawniki (np. -OCH₃) w określonych pozycjach pierścieni dramatycznie wpływają na oddziaływanie związków izoflawonowych z lipidami. Niektóre z pochodnych genisteiny wywołują znaczną agregację dużych jednościennych liposomów (LUV), co pokazano rejestrując zmiany w absorpcji. Efekt ten silnie zależy od rodzaju

podstawników w pierścieniach, rodzaju fosfolipidu, zawartości cholesterolu w błonach oraz siły jonowej. Metodą mikrokalorymetryczną (DSC) pokazano wpływ obecności jednego (licoisoflavone A) lub dwóch łańcuchów z grupami prenylowymi (6,8-diprenylogeniścieina) na przejścia fazowe fosfatydylocholino (DPPC). Dla obydwu związków obserwowano znaczne obniżenie temperatury T_m przejścia fazowego fosfatydylocholino oraz zmiany jego kooperatywności.

Spektrofotometryczne modele oznaczania zawartości pochodnych hemoglobiny w jej roztworach

A. Michnik, I. Santura

Instytut Fizyki, Uniwersytet Śląski, Katowice

Znajomość zawartości poszczególnych form hemoglobiny (met-, deoksy-, oksy-, karboksy- oraz sulf- hemoglobiny) w jej roztworach (m.in. wodnych) okazała się ważna w prowadzonych badaniach wpływu pól magnetycznych oraz promieniowania elektromagnetycznego o szerokim spektrum na stabilność tych roztworów.

Widma UV VIS roztworów liofilizowanej hemoglobiny z erytrocytów wołowych (produkcji Sigma Chem. Co.) w buforze fosforanowym o pH 7.0 i 7.25, sporządzono na spektrofotometrze UV VIS Jasco V-530.

Obliczenia procentowego składu przeprowadzono wykorzystując literaturowe współczynniki absorpcji ϵ^λ dla różnych pochodnych hemoglobiny przy poszczególnych długościach fal. W modelach 3-, 4-, 5-falowym wykorzystano zależność:

$$A^\lambda = \sum_{i=1}^n \epsilon_i^\lambda c_i l$$

gdzie A^λ — absorpcja roztworu ($\log I_0/I$) przy długości fali λ , ϵ_i^λ — molowy współczynnik absorpcji przy długości fali λ dla *i*-tej pochodnej hemoglobiny ($L \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), c_i — stężenie *i*-tej pochodnej hemoglobiny (mmol/L), l — długość drogi optycznej w cm.

Dodatkowo zastosowano metodę optymalizacji polegającą na minimalizacji $\sum e^2$, gdzie e jest różnicą między zmierzoną przy danej długości fali absorpcją roztworu A^λ oraz wartością wyznaczoną teoretycznie na podstawie prawa Lamberta-Beera. Zatem:

$$A^\lambda + e^\lambda = \sum_{i=1}^n \epsilon_i^\lambda c_i l$$

Procedurę optymalizacji przeprowadzono wykorzystując opcję „Solver” dostępną w ramach programu Microsoft Excell. Uzyskane w ramach różnych modeli wyniki porównano pod względem zgodności oznaczeń frakcji poszczególnych typów hemoglobiny, przedys-

kutowano wpływ pH i stężenia roztworów, oszacowano maksymalne błędy oznaczeń frakcji pochodnych hemoglobiny w poszczególnych modelach.

Wpływ kwasów humusowych, DCMU i światła nad ultrasłabą luminescencją komórek *Characeae*

I. Milczarek¹, A. Jaśkowska²,
D. Gołębiewska¹

¹Zakład Fizyki IIR, Akademia Rolnicza w Szczecinie,

²Katedra Fizyki, Politechnika Lubelska

Characeae są wielokomórkowymi glonami żyjącymi w zbiornikach wodnych. Ze względu na rozmiar tych komórek, które są wyjątkowo duże, chętnie są wykorzystywane jako roślina testowa w badaniach środowiska wodnego. Ultrasłaba luminescencja UWL towarzyszy wszystkim procesom życiowym organizmów. Jej zmiany świadczą o zakłóceniach tych procesów.

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu na glony: 1) wielkocząsteczkowych polianionów organicznych (HA) stanowiących produkty transformacji obumarłych resztek organicznych. Związki te występują powszechnie zarówno w środowisku lądowym jak i wodnym. 2) DCMU – dwuchlorofenylodwumetylomocznik, znany inhibitor transportu elektronowego w procesie fotosyntezy. 3) Światła z jednej strony inicjujące proces fotosyntezy z drugiej wywołujące fotooksydację HA.

Badano żywe komórki *Nitellopsis obtusa*. Jako wskaźnik ich życia przyjmowano ruch cytoplazmy, który sprawdzano pod mikroskopem. Próbkę do pomiarów UWL składały się z 25 komórek każda (3-5 cm) długości. Wszystkie pomiary wykonano w 4 powtórzeniach. Przed pomiarami komórki były stabilizowane w ciemności w roztworze o składzie: (0,1 mM KCl; 0,1 mM NaCl; 0,1 mM CaCl₂; bufor HEPES o stężeniu 2 mM). Roztwór miał pH=7,2. Stężenie HA wynosiło 8·10⁻² mg·cm⁻³ a DCMU 4,2 μM. Integralne natężenie UWL ΣI było mierzone specjalnym ultraczułym spektrofotometrem bezpośrednio po dodaniu HA lub DCMU oraz po 24 h ich oddziaływania. Następnie wszystkie próby poddano naświetlaniu (gęstość strumienia fotonów = 900 μE·m⁻²·s⁻¹ przez 5 h. Po tym czasie próby

były przez 12 h przetrzymywane w ciemności i dopiero po tym czasie UWL była mierzona ponownie. Wyniki zestawiono w tabeli.

Pokazano, że HA działa na komórki natychmiast podczas gdy DCMU z opóźnieniem po 24 h, wpływ HA zmniejsza się podczas gdy DCMU pogłębia się. Pod wpływem naświetlania HA wywołuje mniejszy wzrost UWL niż w kontroli – inhibituje UWL. Nie stwierdzono istotnego wpływu DCMU w ww. warunkach.

Udział kanałów potasowych zależnych od apaminy w rozkurczowym efekcie tlenu azotu na nieciążarne myometrium ludzkie

B. Modzelewska, T. Kleszczewski, A. Kostrzewska

Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Białystok

Tlenek azotu (NO) jest ważnym endogennym czynnikiem powodującym rozkurcz wielu mięśni gładkich, w tym również myometrium i tętnic macicznych kobiet. Jest więc substancją, która potencjalnie może być wykorzystana do hamowania nadmiernej czynności skurczowej macicy, np. w bolesnym miesiączkowaniu. Do chwili obecnej mechanizm rozkurczowego działania NO budzi wiele kontrowersji.

W przedstawianych badaniach podjęto próbę analizy udziału kanałów potasowych w rozkurczowym efekcie NO na czynność skurczową izolowanych skrawków myometrium nieciążarnej macicy ludzkiej w warunkach izometrycznych. W ocenie reakcji mięśni wykorzystano następujące parametry: pole powierzchni pod krzywą (AUC), średnią częstotliwość i średnią amplitudę skurczów. Wartości charakteryzujące reakcję myometrium macicy nieciążarnej na podawane substancje, wyliczano dla okresów 10-cio minutowych i odnoszono do wartości tych samych parametrów dla spontanicznej czynności skurczowej.

Zablokowanie kanałów potasowych zależnych od ATP przeciwdziało rozkurczowemu efektowi uwalnianego z donora NO, jednakże zanik zmian wartości AUC nie był skorelowany ze zniesieniem wpływu NO na amplitudę i częstotliwość skurczów. Przewidujemy to za przyjęciem wniosku, że w ludzkim, nieciążarnym myometrium tlenek azotu nie oddziałuje bezpośrednio na zależne od ATP kanały potasowe. Ponadto, przedsta-

Tabela (Milczarek *et al.*) α – bezpośrednio po iniekcji; β – po 24 h działanie HA lub DCMU; γ – łączne oddziaływania HA lub DCMU i światła; I_K – UWL kontroli; I_K^{*} – UWL naświetlonej kontroli

$\left(\frac{\sum I_{K+HA}}{\sum I_K}\right)_\alpha$	$\left(\frac{\sum I_{K+DCMU}}{\sum I_K}\right)_\alpha$	$\left(\frac{\sum I_{K+HA}}{\sum I_K}\right)_\beta$	$\left(\frac{\sum I_{K+DCMU}}{\sum I_K}\right)_\beta$	$\left(\frac{\sum I_K^*}{\sum I_K}\right)_\gamma$	$\left(\frac{\sum I_{K+HA}^*}{\sum I_{K+HA}}\right)_\gamma$	$\left(\frac{\sum I_{K+DCMU}^*}{\sum I_{K+DCMU}}\right)_\gamma$
1,45±0,05	1,02±0,06	0,73±0,07	1,12±0,09	2,48±0,29	2,00±0,23	2,61±0,22

wione w tej pracy wyniki wykazały, że CTX, bloker kanałów potasowych o dużym przewodnictwie – BK[Ca], nie zmieniał ani AUC, ani amplitudy i częstotliwości skurczów. Brak wpływu na spontaniczną czynność skurczową myometrium może oznaczać, że udział kanałów wrażliwych na CTX w regulacji aktywności skurczowej macicy jest mniej znaczący niż innych kanałów potasowych.

Wyraźne, statystycznie znamienne osłabianie reakcji na uwalniany z donora NO obserwowane po inkubacji tkanki z apaminą czy scyllatoksyną pozwala przypuszczać, że w niecięzonym myometrium ludzkim istnieją zależne od Ca^{2+} kanały potasowe o małym przewodnictwie – SK[Ca].

Metoda dokładnego obliczania współczynników równania Vogela-Tammanna-Fulchera; przykładowe zastosowanie dla wodnych roztworów albuminy

K. Monkos

Zakład Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze

Lepkość cieczy silnie zależy od temperatury. Jednym z empirycznych równań, które opisuje zależność pomiędzy lepkością η i temperaturą T , w szerokim zakresie temperatur, jest równanie Vogela-Tammanna-Fulchera:

$$\eta = W \exp\left(\frac{Z}{T - T_0}\right) \quad (1)$$

w którym W , Z i T_0 są współczynnikami dopasowania. Metody iteracyjne, wykorzystywane w programach statystycznych takich jak np. STATGRAPHICS, pozwalają otrzymać przybliżone wartości tych współczynników. Poniżej przedstawiono sposób dokładnego ich obliczania. W tym celu – po odpowiednim przekształceniu równania (1) – zastosowano metodę najmniejszych kwadratów Gaussa i znaleziono minimum formy kwadratowej:

$$\chi = \sum_{i=1}^n [(\ln \eta_i - \ln W)(T_i - T_0) - Z]^2$$

względem Z , T_0 i $\ln W$. Otrzymane wyrażenia na te współczynniki pozwalają dobrze dopasować krzywą otrzymaną na podstawie formuły (1) do punktów doświadczalnych.

Zostało to sprawdzone dla wodnych roztworów albuminy świńskiej. Pomiary lepkości przeprowadzono w zakresie od 5°C do 45°C co 5°C używając mikrowiskozymetru Ubbelohde'a umieszczonego w kąpielii wodnej o stabilizowanej temperaturze, dla stężeń c od 34,4 kg/m³ do 386,16 kg/m³. Współczynniki W , Z i T_0

okazały się być zależne od stężenia i dla każdej ustalonej temperatury musiały być obliczane oddzielnie. Ich zależność od stężenia jest następująca:

$$Z = a_1 - a_2 c + a_3 c^2$$

gdzie $a_1 = 600,4 \text{ K}$, $a_2 = 3,01 \text{ Km}^3\text{kg}^{-1}$, $a_3 = 4,93 \cdot 10^{-3} \text{ Km}^6\text{kg}^{-2}$

$$T_0 = b_1 + b_2 c - b_3 c^2$$

gdzie $b_1 = 132,6 \text{ K}$, $b_2 = 0,52 \text{ Km}^3\text{kg}^{-1}$, $b_3 = 6,88 \cdot 10^{-4} \text{ Km}^6\text{kg}^{-2}$

$$\ln W = -d_1 + d_2 c$$

gdzie $d_1 = 3,92$, $d_2 = 1,56 \cdot 10^{-2} \text{ m}^3\text{kg}^{-1}$.

Wówczas W dane jest w mPa s. Identyczne zależności funkcyjne tych współczynników od stężenia otrzymano wcześniej dla wodnych roztworów albuminy wołowej.

Temperaturowa zależność wykładnika równania Marka-Houwinka-Kuhna-Sakurada dla lizozymu w roztworach wodnych

K. Monkos

Zakład Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze.

Lepkość wodnych roztworów lizozymu wyznaczono przy pomocy kapilarnego mikrowiskozymetru Ubbelohde'a. Pomiary wykonano w zakresie temperatur od 5°C do 55°C co 5°C, dla stężeń w przedziale od 24,9 kg/m³ do 342,6 kg/m³. Wartość pH roztworów utrzymywała się na poziomie 7,0. Jedną z metod przedstawiania danych lepkościowych posługuje się lepkością zredukowaną $[\eta]c$, gdzie $[\eta]$ oznacza graniczną liczbę lepkościową w m³/kg natomiast c jest stężeniem roztworu w kg/m³. Wykres lepkości właściwej η_w od $[\eta]c$ przedstawiony w skali logarytmicznej daje krzywą wzorcową, która ukazuje istnienie trzech obszarów stężeń: obszaru roztworu rozcieńczonego, pośredniego i stężonego. W zakresie roztworu rozcieńczonego i stężonego wykres $\log \eta_w$ od $\log [\eta]c$ jest liniowy. W obszarze pośrednim zależność jest nieliniowa i umożliwia wyznaczenie wykładnika Marka-Houwinka-Kuhna-Sakurada (MHKS) z równania Lefebvre:

$$\ln \eta_w = 2a[\eta]c^* \left(\frac{c}{c^*}\right)^{\frac{1}{2a}} - (2a-1)[\eta]c^*$$

w którym η_w oznacza lepkość względną, c^* – stężenie graniczne pomiędzy obszarem roztworu rozcieńczonego i pośredniego, natomiast a jest wykładnikiem MHKS.

Wykładnik ten jest wskaźnikiem konformacji protein w roztworze. Dla protein globularnych w formie kłębk statystycznego zawiera się on w granicach 0,5-1, zaś dla protein globularnych w postaci natywnej w granicach 0,29-0,35. W równaniu Lefebvre c^* i a traktowano jako parametry dopasowania. Otrzymany w ten sposób wykładnik MHKS dla lizozymu maleje wolno wraz ze wzrostem temperatury od wartości 0,3132 do 0,2907. Świadczy to o tym, że molekuly lizozymu mają strukturę zwartą, lecz nie są bardzo sztywne. Wykładnik MHKS nie zmienia się z temperaturą w przypadku molekuł bardzo sztywnych, tak jak wykazano to np. dla ovalbuminy.

Symulacja dynamiki molekularnej pora magaininowego

K. Murzyn, M. Pasenkiewicz-Gieruła

Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński,
Kraków

Magainina jest krótkim, dodatnio naładowanym peptydem wyizolowanym ze skóry *Xenopus leavis*. Wykazuje ona działanie antybakteryjne jednak nie jest hemolityczna. Zgodnie z zaproponowanym ostatnio molekularnym mechanizmem działania magainin, ich cytotoxyczność jest wynikiem powstania w błonie pora utworzonego z cząsteczek peptydu oraz lipidów.

W pracy przedstawiono wyniki 5 ns symulacji dynamiki molekularnej, której celem była weryfikacja modelu eksperymentalnego oraz zbadanie molekularnych podstaw działania magaininy. Układ symulacyjny (PORE) o rozmiarach ok. $85 \times 85 \times 60 \text{ \AA}$ składał się z 138 cząsteczek 1-palmitoilo-2-oleoilo-fosfatydyloetanolaminy (POPE), 46 cząsteczek 1-palmitoilo-2-oleoilo-fosfatydyloglicerolu (POPG), 5 cząsteczek amidu magaininy-2 (M2a), 26 przeciwjonów sodowych oraz 5909 cząsteczek wody.

Układ PORE jest stabilny w nanosekundowej skali czasowej co stanowi pośrednie potwierdzenie wiarygodności modelu eksperymentalnego. Średnica pora w układzie modelowym jest mniejsza niż oszacowania eksperymentalne. Analiza struktury i dynamiki zarówno cząsteczek peptydów jak i lipidów zaangażowanych w tworzenie pora pozwoliła wyjaśnić obserwowane różnice. Scharakteryzowano wkład poszczególnych reszt aminokwasowych M2a oraz lipidów w oddziaływania stabilizujące strukturę pora. Przeanalizowano wpływ silnej deformacji błony indukowanej obecnością M2a na własności strukturalne i dynamiczne lipidów tworzących lamelną część układu.

Oddziaływanie wiołaksantyny i chlorofilu a w monowarstwach

D. Niedźwiedzki, W. I. Gruszecki

Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

Chlorofil *a* jak i różne postacie izomeryczne wiołaksantyny to dobrze znane barwniki fotosyntetyczne wchodzące w skład kompleksu barwnikowo-białkowego LHCII. O ile rola, którą pełni w tym kompleksie chlorofil *a*, jest dokładnie znana, o tyle rola wiołaksantyny nie jest do końca całkowicie jasna. Może ona pełnić zarówno funkcje strukturalne jak i rolę anten, co jest ściśle związane z jej postacią izomeryczną. Prezentowane badania dotyczyć będą wyjaśnienia roli jaką pełnią poszczególne formy izomeryczne wiołaksantyny w kompleksach LHCII. Badania przeprowadzone zostały na monowarstwach modelowych chlorofilu *a* i wiołaksantyny w proporcjach stężeniowych 1:1. Przeprowadzono analizę izoterm sprężania tych monowarstw na powierzchni wody, a następnie analizę pomiarów technikami spektroskopii absorpcyjnej i fluorescencyjnej monowarstw Langmuir'a-Blodgett. Wykazano, że zarówno wiołaksantyna w konformacji *trans* jak i 9-*cis* tworzy stabilne monowarstwy w układach dwuskładnikowych z chlorofilem *a*. Średnia powierzchnia molekularna w warstwach mieszanych chlorofilu *a* i wiołaksantyny w konformacji *trans* okazała się być większą od przewidywanej zaś w konformacji 9-*cis* mniejszą od przewidywanej. Wskazuje to na różnice w organizacji molekularnej tych barwników z chlorofilem *a* w modelowych warstwach jednocząsteczkowych. Wyniki badań spektroskopowych przeprowadzonych na monowarstwach Langmuir'a-Blodgett wskazują na różnice w wydajności przekazywania energii wzbudzenia elektronowego z wiołaksantyny na chlorofil *a* w zależności od konformacji karotenoidu. Procentowa wielkość przekazywania energii wzbudzenia z karotenoidu wyniosła 37% w przypadku konformacji *trans*, natomiast 16% w przypadku konformacji 9-*cis*. Wyniki te pozwalają postulować, że funkcją biologiczną wiołaksantyny w konformacji *trans* jest przekazywanie energii wzbudzenia na chlorofil *a*, natomiast wiołaksantyna w konformacji 9-*cis* pełni funkcję strukturalną.

Wykorzystanie różnych typów stresorów |do weryfikacji teorii szumu neuromotorycznego

A. Nowik¹, P. Jaśkowski^{2,3}, R. Verleger³

¹Katedra Biofizyki, Akademii Medycznej w Poznaniu

²Zakład Psychofizjologii, Akademia Bydgoska

³Dep Neurologie, Medical University of Lübeck, Germany

Teoria szumu neuromotorycznego sformułowana przez Van Galen'a i De Jang'a (*Hum. Mov. Sci.* 1995, 14, 539-

571) przewiduje, iż wszelkie fizyczne lub poznawcze stresory mają wpływ na napięcie mięśni, w konsekwencji czego obserwuje się wzrost wartości siły odpowiedzi. Na poparcie swojej tezy badacze ci wykonali szereg doświadczeń, w których mierzyli nacisk pióra na podłóżkę w trakcie pisania. Zarówno fizyczne, jak i poznawcze stresory wywoływały wzrost siły nacisku. Ponieważ wyniki tych badaczy korespondują z wynikami uzyskanymi w badaniach tzw. siły odpowiedzi (tj. siły, z jaką osoba badana naciska ma klucz pomiarowy, gdy zadaniem jej jest jak najszybsza reakcja na prezentowany bodziec (np. Jaśkowski *et al.*, 2000, *Acta Psych.*, 105, 89-105) oraz założenia teorii szumu neuromotorycznego dają się zastosować do zagadnienia siły odpowiedzi, należy wnosić, że siła odpowiedzi powinna zależeć od poziomu stresu. W celu weryfikacji tych przewidywań zastosowaliśmy 2 typy stresorów: nacisk czasowy oraz obciążenie mentalne.

Nacisk czasowy uzyskano poprzez ograniczenie czasu danego uczestnikowi badania na udzielenie odpowiedzi, natomiast obciążenie mentalne poprzez trudność wykonywanego zadania (uczestnik wykonywał bądź łatwe, bądź trudne zadanie arytmetyczne).

Jak oczekiwano badani mieli krótsze czasy odpowiedzi (RT) i większą siłę odpowiedzi (RT) w zadaniach z naciskiem czasowym. Nie stwierdzono jednak istotnego wpływu obciążenia mentalnego. Tak więc wyniki te nie potwierdzają w pełni teorii szumu neuromotorycznego.

Badania finansowane z grantu KBN Nr HOIF 00315.

Badania oddziaływań polimerów kwasu sjałowego z monowarstwami fosfolipidowymi

K. Nowotarski¹, T. Janas², W. I. Gruszecki³,
T. Janas¹

¹Zakład Biofizyki, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Zielona Góra;

²Zakład Fizyki, Politechnika Zielonogórska

³Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Łańcuchy kwasu sjałowego (polySia) są liniowymi polimerami złożonymi z ujemnie naładowanych monomerów. PolySia odgrywa ważną rolę w regulacji oddziaływań międzykomórkowych. Polimery te mają zdolność osłabiania sił przylegania i modulacji oddziaływań pomiędzy powierzchniami komórek, w ten sposób wpływając na zmiany kształtu i ruchu komórek. PolySia pełni również rolę antygeny związanego z rozwojem nowotworów w ludzkich nerkach i mózgu, może wzmacniać potencjał przerzutu komórek nowotworowych. Technika monowarstw lipidowych została użyta do badania wpływu polimerów kwasu sjałowego na własności modelowych błon biologicznych przygotowanych z fosfatydylocholine, dodatnio naładowanego lipidu – oktadecylaminy i ich mieszanin. Zostały zmierzone izotermie obrazujące zależności ciśnienia po-

wierzchniowego od średniej powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę lipidu. Wyznaczono izobary określające zależność średniej powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę od ułamka molowego oktadecylaminy w mieszaninie. Obliczono zależność powierzchni molekularnej lipidu od ułamka molowego oktadecylaminy w mieszaninie. Polimery kwasu sjałowego indukują w monowarstwie tworzenie agregatów lipidowych, powodują wzrost powierzchni molekularnej lipidu oraz wpływają na oddziaływania pomiędzy molekułami oktadecylaminy i fosfatydylocholine. Badania te wskazują, że ładunek powierzchniowy może pełnić znaczącą rolę w oddziaływaniach między polimerami kwasu sjałowego i molekułami lipidów w błonie.

Analiza czynności skurczowej macicy przy pomocy największego wykładnika Lapunowa

E. Oczeretko¹, T. Laudański², J. Szamatowicz³,
E. Borowik¹

¹Instytut Informatyki Uniwersytetu w Białymstoku.

²Zakład Patofizjologii Ciąży, Akademia Medyczna, Białystok

³Klinika Ginekologii Akademia Medyczna, Białystok

Zmiany aktywności skurczowej macicy często towarzyszą różnym patologiom położniczym i schorzeniom ginekologicznym. Największy wykładnik Lapunowa L to jeden z najważniejszych parametrów opisujących układy chaotyczne.

Czynność skurczową macicy badano przy pomocy czujnika ciśnieniowego firmy Gaeltec (Wielka Brytania) z sensorem ciśnieniowym umieszczonym w dnie macicy. Sygnał próbkowany z częstotnością 5 Hz kierowano do komputera IBM PC. Czynność spontaniczną rejestrowano przez około 45 min, następnie dokonywano jednorazowej iniekcji oksytocyny w dawce 10 pmol/kg masy ciała, a po 40 minutach wstrzykiwano wazopresynę w tej samej formie i dawce. Zbadano 10 regularnie miesiączkujących kobiet w wieku od 29 do 43 lat. Największy wykładnik Lapunowa obliczano przy pomocy algorytmu Wolfa dla wymiarów zanurzenia od $D = 2$ do $D = 10$. Analizowane sygnały liczyły po 4096 próbek. Z sygnałów tych generowano także sygnały sztuczne.

We wszystkich przypadkach stwierdzono statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) między wykładnikami L obliczonymi dla sygnałów spontanicznych i sygnałów rejestrowanych po podaniu oksytocyny. U dziewięciu pacjentek występowały statystycznie istotne różnice między sygnałami po podaniu oksytocyny i po podaniu wazopresyny ($p < 0,05$). Podobnie było dla sygnałów spontanicznych i dla sygnałów po podaniu oksytocyny. Otrzymane wartości wykładników Lapunowa były zawsze dodatnie, a dla sygnałów sztucznych nieco większe niż dla sygnałów oryginalnych.

Otrzymane wyniki mogą sugerować istnienie składowej deterministycznej w badanych sygnałach oraz moż-