

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НРД В ЦИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Շ. Մ. ԱՎԱԿՅԱՆ, Ի. Ե. ՎԱՏԻՆՅՈՒԿ, ՅՈՒ. Ս. ՄՈՋԱՐՈՎ,
 Ա. Տ. ՆԱՆԱՏՅԱՆ, Ժ. Օ. ՕԳԱՆԵՏՅԱՆ

Предложен новый метод обработки цитохимических препаратов на основе измерительной установки для обработки снимков трековых камер (НРД). По сравнению с традиционными методами измерений, предложенный резко сокращает время обработки, увеличивает точность измерения и дает объемную информацию о распределении уникальных клеточных структур.

Цитохимический анализ клеток является одним из важнейших экспериментальных методов биологических исследований. Обработанные соответствующим образом препараты, подлежащие исследованию, фотографируются; снимок в дальнейшем подвергается фотометрической обработке. Конечной целью этой обработки является определение количества уникальных клеточных структур (РНК, ДНК, белковых веществ и т. п.), их распределение в пределах клетки, характер его. Указанные параметры характеризуются величиной и изменением оптической плотности этих веществ.

Принятая традиционная методика фотометрической обработки снимков биологических объектов не позволяет производить подобную обработку за короткий срок с желаемой точностью и не дает объемной информации. Измерительная установка для обработки снимков трековых камер в ядерной физике с помощью оптико-механического сканирующего устройства НДР [1] может быть с успехом применена также для обработки снимков биологических объектов, т. е. для микроденситометрических измерений при выполнении следующих условий: видеоканалы сканирующего устройства должны быть линейными (если измеряется коэффициент пропускания) или логарифмическими (если измеряется оптическая плотность); необходимо наличие фотометрического блока, наличие аппарата стробирования сканирующего луча по строке.

Первые два пункта очевидны и уже реализованы в электронике НРД вычислительного центра Ереванского физического института [2]. Выполнение третьего пункта обеспечивается с помощью аппарата динамических прецизионных масок [3], также входящих в состав оборудования НРД ЕФИ.

Работа НРД в режиме микроденситометрических измерений реализуется следующим образом.

Сканирование производится не лучом, а узкой маской, последовательно перемещаемой по строке сканирования в заданных пределах, при этом функции электронных масок не ограничиваются только стробированием луча по строке (т. е. генерацией команды на цифрование видеосигнала через заданные расстояния по строке сканирования), они могут быть использованы также для формирования линейных размеров измерительной апертуры.

В пределах маски фотометрируется интегральный сигнал от сканирования лучем; координаты зон, где проводились измерения, определяются по положению маски на сканирующей строке; столик перемещается в новую позицию для измерений по следующей строке разложения и т. п.

Таким образом, производится дискретное фотометрирование на заданной площади с сеткой, определяемой в одном направлении шагом перемещения маски по строкам, в другом — величиной перемещения активной платформы столика от строки к строке, т. е. полностью сканирующих линий. Возможности НРД ЕФИ при работе в режиме микроденситометрических измерений рассмотрены в работе Василюка и др. [4].

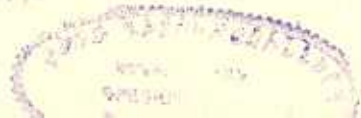
Цель данной работы — определить с помощью НРД распределение ДНК, РНК и SH-соединений и их концентрацию в клетках.

Материал и методика. Объектом исследования являлись меристематические клетки корешков пшеницы сорта Безостая 1. Для приготовления постоянных препаратов корешки обезвоживались и пропитывались парафином. Толщина срезов — 7 мк. Для выявления SH-соединений корешки окрашивались методом Барнета и Зелгмана. ДНК клетки была окрашена по Фельгену. Часть препаратов окрашивалась метиловым зеленым и пиронином, при этом происходило двойное окрашивание, ДНК окрашивалась в синий цвет, а РНК — в зеленый. Обработанные препараты фотографировались на микроскопе МБИ-6 (пленка Микрат-200). Полученные фотоиллюстрации сканировались на НРД шагом 32 мк. С кадра снималось порядка 1200 строк. Для снятия полной информации с кадра и записи на магнитную ленту было затрачено 3 минуты.

Результаты и обсуждение. Так как данные, полученные на НРД и спектрофотометре ИФО-451, измеряются условными единицами, мы не можем их сравнивать. Но об однозначности этих данных свидетельствует тот факт, что соотношение оптических плотностей ДНК, РНК и SH-соединений, полученных на НРД и спектрофотометре, полностью совпадает. В обоих случаях оно равно 2:1:0,7. Однако НРД не только позволила определить среднюю оптическую плотность исследуемых веществ, но и дала возможность установить объемную форму их распределения и накопляемость в клетках.

SH-соединения. Средняя оптическая плотность SH-содержащих соединений в клетках при определении на установке НРД — $15 \pm 0,2$ усл. ед. Но в клетке эти соединения распределены неравномерно. Наибольшая часть их накоплена в клетках с плотностью до 10 усл. ед.

Более значительное накопление SH-соединений (до 20 усл. ед.) отмечается в меньших количествах точек, а начиная с оптической плотности 60 усл. ед. кривая накопления падает до нуля.



Картина распределения SH-соединений в клетках представлена следующим образом (рис. 1): под клеточной оболочкой они имеют очень большую плотность накопления, потом она падает до минимума и находится на уровне оптической плотности этих соединений в ядре. Затем скачкообразно достигает максимума. Второй, но не столь значительный, пик накопления SH-соединений отмечается в ядрышке.

ДНК. В ядре средняя оптическая плотность ДНК составляет 46 ± 2 усл. ед. Но распределена она неравномерно. Плотность накопления ДНК постепенно увеличивается от оболочки к центру ядра. Далее к ядрышку замечается некоторое уменьшение ее. В ядрышке количество ДНК резко падает, но в распределении ее выявляется обратная закономерность: от оболочки к центру плотность ДНК уменьшается (рис. 2). Больше всего в ядре имеется ДНК с плотностью от 20 до 50



Рис. 1.

Рис. 1. Распределение SH-соединений в клетке.



Рис. 2.

Рис. 2. Распределение ДНК в ядре.



Рис. 3. Распределение РНК в клетке.

усл. ед. Число точек накопления ДНК уменьшается с увеличением плотности, а с оптической плотностью 170—190 усл. ед. их практически нет.

РНК. В клетке РНК имеет среднюю оптическую плотность 23 ± 1 усл. ед. Но наиболее распространенная форма плотности РНК в клетке — от 10 до 20 усл. ед. С увеличением плотности уменьшается число точек с РНК. Так как при окраске окрашивались и РНК и ДНК,

то при сканировании получилась суммарная картина распределения обоих веществ. В цитоплазме плотность РНК увеличивается начиная с оболочки клетки. Достигнув максимума, она вновь уменьшается к оболочке ядра (рис. 3). Самый высокий пик оптической плотности отмечается в ядрышке, что и соответствует самой высокой накопленности РНК.

Таким образом, предварительные цитохимические исследования на НРД указывают на целесообразность применения ее в биологических исследованиях, так как обеспечивает более точную, быструю и объемную информацию.

Цитохимический анализ меристематических клеток корешков пшеницы сорта Безостая I дает основание утверждать, что ДНК, РНК и SH-соединения в клетках распределены неравномерно; каждое из этих веществ имеет свою определенную объемную форму распределения. Соотношение между количеством клеточных ДНК, РНК и SH-соединений постоянно и составляет 2 : 1 : 0,7.

Ереванский физический институт, ГКНАЭ
НИИ земледелия МСХ АрмССР

Поступило 28.11.1978 г.

**ՏՐԵՎԱՅԻՆ ԽՅԻԿԻ ՆԿԱՐՆԵՐԸ ՄՇԱԿՄԱՆ ՍԱՐՔԻ
ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄԸ ԲԶՁԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՄԵՋ**

Մ. Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Ի. Ե. ՎԱՍԻՆՅԱՆ, Յ. Պ. ՄՈՋԱՐՈՎ,
Ա. Ս. ՆԱՆԱՅԱՆ, Զ. Օ. ՕՀԱՆԵՍՅԱՆ

Առաջարկված է ցիտոքիմիական պրեպարատների մշակման նոր մեթոդ, որի հիմքում ընկած է արևկային խցիկի նկարները, հաշվարկային սարքի օգտագործումը: Տրադիցիոն չափման մեթոդների համեմատությամբ առաջարկված մեթոդը խիստ կրճատում է մշակման ժամանակը, ավելացնում չափման նշանակությունը և տալիս է եզակի ստրուկտուրաներ տարածական պատկերը:

**THE USE OF NRD IN CYTOCHEMICAL RESEARCHES
OF BIOLOGICAL OBJECTS**

Ts. M. AVAKIAN, I. E. VASSINYUK, Y. B. MOZHAROV,
A. S. NANASSIAN, J. O. OHANESSIAN

A new method of processing cytochemical preparations based on the use of equipment for track chamber pictures has been proposed.

As compared to traditional methods, the new approach markedly shortens the processing time, increases accuracy and produces spatial structure pictures.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Benof et al. The HPD Mark—2 Flying—Spot Digitizer et CERN, 68—4, 1968.
2. Вассинюк И. Е. и др. Мат-лы сем. по обработке физической информации. Агнеран, 235, 1975.
3. Вассинюк И. Е., Нанасян А. С. Препринт ЕФН-80 (74).
4. Вассинюк И. Е. и др. Мат-лы сем. по обработке физической информации. Агнеран, 251, 1975.