

Х. Н. ГИРФАНОВА

ПРОТИСТОЦИДНЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКА КУРИНОГО ЯЙЦА И ЕГО ЛИЗОЦИМА

(Представлено академиком К. М. Быковым 1 VIII 1949)

В ходе исследования иммунитета ранних стадий развития куриного эмбриона мы обнаружили резкие отличия между бактерицидными свойствами натурального белка куриного яйца и лизоцима, полученного из него способом М. Бордэ.

В результате своих экспериментов мы пришли к заключению, что бактерицидные свойства белка куриного яйца, выработавшиеся в ходе эволюции как одно из защитных приспособлений, богаче и красочнее лизоцима и не могут быть сведены к последнему ни количественно, ни качественно. Принятыми методиками получения лизоцима нам удается, по видимому, извлекать лишь часть бактерицидных начал натурального белка, притом, вероятно, в измененном виде.

По предложению Б. П. Токина, мы поставили сравнительные исследования по влиянию белка куриного яйца и лизоцима, полученного из него по способу Бордэ, на простейших.

А. О протистоцидных свойствах натурального белка куриного яйца. Мы изучили действие белка куриного яйца на *Paramecium caudatum* и *Glaucoma scintillans*. Было изучено действие на этих инфузорий яичного белка, денатурированного высокой температурой, а также свежего и вареного желтка.

Мы использовали совершенно одинаковую методику как в опытах с натуральным белком, так и с лизоцимом. На предметное стекло наносилось от 0,05 до 0,1 см³ сеного настоя с инфузориями, а другой пипеткой — такое же по объему количество белка или, соответственно, лизоцима; затем стеклянной палочкой обе капли тщательно перемешивались. Действие на простейших наблюдалось под микроскопом. Учитывалось время действия того или иного агента, необходимое для гибели инфузорий. Критерием смерти служила полная остановка движения инфузории и ее ресничного аппарата.

Результаты опытов. Желток куриного яйца как в свежем, так и в вареном виде не оказывает вредного действия на инфузории в течение многих часов, если предотвратить высыхание капли, помещая предметное стекло во влажную камеру.

Вареный белок также не оказывает губительного действия на исследованных инфузорий; как и в опытах с желтком, во взвеси вареного белка парамеции и глаукомы остаются внешне морфологически неизменными в течение многих часов. Мы проводили наблюдения в течение суток и не видели изменений ни в движении, ни морфологических.

Мы поставили 86 опытов на тугельке и 48 опытов на глаукоме с свежим неинкубированным белком. Все опыты дали однозначный результат: белок свежего неинкубированного куриного яйца убивает оба вида инфузорий.

Глаукомы оказались менее резистентными, чем парамеции. Гибель единичных особей парамеций и глауком начинается приблизительно в одно и то же время, а именно через 3—7 мин. от начала воздействия, но в то время как все глаукомы погибают через 15 мин. с момента начала воздействия и очень редко единичные особи выживают до 17 мин., большинство парамеций погибает только через 30 мин., а единичные особи сохраняют признаки жизни до 35—38 мин.

И тубелька, и глаукома под влиянием «белка» куриного яйца лизируются.

При воздействии белком на глауком наблюдается моментальное изменение характера движения: оно резко ускоряется, причем инфузория тотчас начинает двигаться задним концом вперед при одновременных вращательных движениях вокруг своей оси. В первые минуты форма тела не изменяется, инфузория лишь слегка округляется, протоплазма мутнеет. Через 5—6 мин. тело глаукомы утончается, протоплазма начинает «просветляться»; на прозрачном светлом фоне цитоплазмы отчетливо видны сократительные вакуоли. Наступают характерные, нелегко описываемые в деталях изменения формы тела: очень часто тело глаукомы складывается пополам, принимая форму неправильного треугольника; не менее характерно резкое утончение переднего конца тела. В таком деформированном состоянии глаукомы погибают, а через 1—2 часа, часто гораздо раньше, они лизируются, «растворяются».

У парамеций тотчас после попадания в среду с яичным белком, в отличие от глауком, поступательное движение замедляется и, также в отличие от глауком, сохраняет свой нормальный характер — инфузория двигается передним концом. Наблюдается быстрое вращение вокруг длинной оси тела.

Уже в первые минуты воздействия изменяется форма тела: инфузория становится цилиндрической, несколько как бы набухшей; протоплазма делается мутной. Однако через несколько минут после воздействия белком парамеции вновь принимают почти нормальную форму тела; никаких резких морфологических изменений по сравнению с нормой не отмечается, за исключением, впрочем, того, что парамеция иногда кажется более тонкой и уплощенной. Помутнение протоплазмы, появившееся в первые минуты воздействия, исчезает, более того, плазма становится прозрачной, светлее, чем у нормальных особей. На этом прозрачном фоне у парамеций резко выступают пищевые вакуоли. Очень скоро наступает характерная, весьма причудливая и трудно поддающаяся описанию в деталях деформация тела. Инфузория изгибается в разных направлениях и принимает форму крючка, запятой, а иногда наблюдается «перекручивание» всего тела. Одна и та же парамеция может попеременно принимать разнообразные формы. Парамеции погибают в одной из этих «поз»: изогнутые пополам, перекрученные вокруг своей оси и т. д.

Можно было бы думать, что причиной столь причудливых изменений формы является вязкость белка, мешающая нормальному движению, но это соображение совершенно неосновательно. В первые минуты воздействия парамеции движутся в белке совершенно свободно, скорость движения глаукомы в первые минуты в белке даже выше, чем в норме. Мы поставили и специальные контрольные опыты с «желе» из химически чистого картофельного крахмала приблизительно той же вязкости (чаще даже несколько большей), что и яичный белок. В такой среде у парамеций никакой деформации тела, никаких «извиваний», столь характерных для них в случае помещения их в яичный белок, не наблюдается, наблюдается лишь уменьшение скорости движения инфузорий.

Гибель парамеции наступает в среднем через $25,8 \pm 0,6$ мин. (для глауком эта величина равна $12,15 \pm 0,41$ мин.). Через некоторое время (от 20—30 мин. до нескольких часов) погибшие парамеции, так же как

и глаукомы, лизируются, и от их трупов не остается других следов, кроме небольшого количества зернышек, по расположению своему дающих иногда представление о бывших контурах тела инфузории.

Б. О действии лизоцима на простейших. Мы изучали действие лизоцима на те же самые объекты.

Лизоцим добывался из яиц от тех же кур; использовались те же культуры инфузорий, которые были под опытом с белком. На тувельке мы поставили 46 опытов, на глаукоме 71.

Оказалось, что оба вида инфузории к лизоциму более резистентны, чем к натуральному белку; сравнительная резистентность тувельки и глаукомы к лизоциму прямо противоположна той, которую мы наблюдали в опытах с белком: к лизоциму оказались более чувствительными парамеции, тогда как к белку — глаукомы. Экспозиция, при которой погибает от действия лизоцима тувелька, равна в среднем $33,5 \pm 0,91$ мин. и для глаукомы $55,3 \pm 0,85$ мин.

«Морфология смерти» парамеций и глауком от лизоцима весьма сильно отличается от описанных нами морфологических картин при умирании тех же объектов под воздействием натурального белка.

В течение первых 12—15 мин. воздействия лизоцимом скорость движения и его направление не изменяются ни у глауком, ни у парамеций. Не изменяется и форма тела у обоих видов инфузорий. Парамеции и в дальнейшем сохраняют свою обычную форму тела и обычную видимую структуру: лишь через 20—25 мин. значительно замедляется их движение.

Резкие изменения наступают в последние 2—3 мин. перед смертью парамеции. Установившееся до этого медленное, но нормальное по характеру движение вдруг резко изменяется. Тувелька «срывается» с места и быстро «проносится» на некоторое расстояние задним концом вперед, затем поступательное движение также внезапно прекращается, парамеция в течение нескольких минут необыкновенно быстро вращается вокруг своей длинной оси без изменения формы тела. В следующую же затем секунду протоплазма быстро и резко мутнеет, она принимает почти темнокоричневую окраску; сразу отчетливо выступают реснички; одновременно происходит резкое сокращение размеров тела. Никаких внешних морфологических признаков жизни в этот момент уже не удается обнаружить. Иногда в последний период умирания на поверхности тела парамеции появляются мелкие прозрачные пузырьки или один пузырь. Через несколько минут, у одних раньше, у других позже, пелликула в месте выпячивания-пузыря прорывается, и содержимое тела инфузории вытекает через этот разрыв.

«Морфология смерти» глауком несколько отличается от только что описанной. Поступательное движение их замедляется через 10—15 мин.; через 20—25 мин. оно прекращается совсем и не возобновляется ни в какой форме в последующие периоды умирания. Однако глаукомы на этом этапе не мертвы: отчетливо видно движение ресничек. Начиная с 10—15 мин. с момента воздействия лизоцимом инфузория делается значительно более плоской, чем в норме, протоплазма «просветляется», пищевые вакуоли сосредоточиваются в самом заднем конце тела. Момент смерти отмечается резким помутнением протоплазмы. Через 5—10 час. трупы как тувельки, так и глауком лизируются.

Разная степень токсичности для инфузорий натурального яичного белка и лизоцима, так же как и разная морфологическая картина умирания у одного и того же вида инфузорий под действием белка и лизоцима говорят в пользу представления о неидентичности токсических начал натурального белка куриного яйца и полученного из него лизоцима.