

Вывод: В статье описаны новые модели локомоций, выживания, гальванотаксиса инфузорий, полосового бактериального хемотаксиса. При математическом моделировании более полный учет эволюционных особенностей тест-объекта позволяет упростить обнаружение его реакции и создать основы для разработки новых видов биотестовой аппаратуры.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Левин Б.П. Теоретические основы статистической радиотехники. – М., 1989.
2. Гардинер К.В. Стохастические методы в естественных науках. – М.: Наука, 1985.
3. Ionides E.L., Fang K.S., Isseroff R.R. Stochastic models for cell motion and taxis // *J.Math.Biol.* 48, 23–27 (2004).
4. Selmecci D., Mosler S., Hagedorn P. Cell Motility as Persistent Random Motion: Theories from Experiments // *Biophys. J.*, V89, Aug. 2005, P. 912–931.
5. A computer-assisted biomonitoring test system / I.S. Zakharov, N.I. Paputsкая, A.V. Pozharov and A. Yu. Lepyakhov // *Biomedical engineering*. – Vol 29. – 1995– №1. – P. 35–40.
6. Shenderov A.D., Sheetz M.P. Inversly Correlated Cycles in Speed and Turning in an Amebae: An Oscillatory Model of Cell Locomotion // *Biophys. J.*, V72, May 1997, P. 2382–2389.
7. Экспрессные методы интегральной оценки экологического состояния объектов окружающей среды / Захаров И.С., Пожаров А.В., Сидоренко В.М., Суворова Т.В.: Учеб. пособие. – СПб.: Изд-во СПбГЭТУ, 2007, – С. 24–32.
8. Захаров И.С., Ваганов А.В. Измеритель подвижных частиц в макро- и микрообъемах // *Научное приборостроение*. – 2004. – Т. 14. – № 3. – С. 93–96.
9. Захаров И.С., Пономаренко О.С. Разработка аппаратурного теста для контроля токсичности солоноватых водных сред в микрообъемах // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 3. – 2006. – С. 68–73.
10. Захаров И.С., Суворова Т.В. Моделирование полосового хемотаксиса // *Сб. тез. докл. IX Санкт-Петербургской межд. конф. «Региональная информатика-2004»*. – СПб. – 2004. – С. 360–361.
11. Захаров И.С., Ковалевская А.С. Перспективы применения гальванотаксиса в биотестировании и модель гальванотаксической реакции в токсичной среде // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2005. – №2, – С. 96–100.
12. Захаров И.С., Ковалевская А.С., Казанцева А.Г., Голядкин С.В. Аппаратурно регистрируемые характеристики и модель гальванотаксического сигнала // *Известия СПбГЭТУ «ЛЭТИ»*. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2006. – №1. – С. 100–105.

УДК 504.7+629.7.017.1

И.С. Захаров, А.В. Завгородний

БИОТЕСТОВЫЕ АППАРАТУРНЫЕ СРЕДСТВА И МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ ЛОКОМОЦИЙ ИНFUЗОРИЙ

Биотестовая аппаратура для контроля локомоций инфузорий (перемещения цельных организмов) решает задачу обнаружения концентрации подвижных биообъектов в пробе водной среды, с целью определения ее токсичности (биологической вредности). Подвижность является фундаментальным свойством живого вещества, поэтому такая реакция экологически значима.

Подсчет движущихся организмов в каплях под микроскопом является трудоемким, и поэтому актуальна проблема разработки аппаратуры для этой цели.

В настоящее время активно развивается цитометрия, основанная на принудительном перемещении частиц путем их счета в потоке или в каплях, пропускаемых через капилляры с фотометрическим или кондуктометрическим измерительным преобразователем. С помощью реакции люминесценции клеток можно выделять живые и мертвые клетки или осуществлять сортировку их видов [1].

Тем не менее, данный подход не позволяет контролировать процесс изменения локомоций биообъектов.

Среди основных методов контроля характеристик движущихся биообъектов можно выделить следующие: фотонную корреляционную спектроскопию, основанную на изменении частоты рассеянного от движущихся частиц излучения за счет эффекта Доплера [2], оптическое гетеродинамирование, использующее эффект интерференции волн от источника колебаний [3], телевизионные методы исследования, базирующиеся на обработке параметров последовательных изображений популяции биообъектов. Последняя группа методов включает современные телевизионные измерительные системы (ТИС), системы технического зрения (СТЗ), телевизионные микророботы – специализированные СТЗ, оснащенные микроэлектромеханическими системами (МЭМС), позволяющими отслеживать движение биообъектов, удерживая их в фокусе [4–6].

Эти системы весьма сложны и пока не нашли применения в области экотоксикологии. Например, авторы статей коллективной монографии [7], выпущенной недавно, посвященной биотестированию морских вод, не упомянули никаких методов, кроме подсчета инфузорий под микроскопом.

В СПбГЭТУ «ЛЭТИ» в середине 1970-х гг. А. В. Пожаровым были начаты исследования по разработке биотестовой аппаратуры для контроля токсичности водных сред, основанных на поведенческих реакциях инфузорий. Была обоснована концепция биотестовой аппаратуры, как измерительного микробиологического преобразователя (ИМБП), контролирующего токсичность водных сред, подобно тестеру. За рубежом развилось сходное приборное биотехнологическое направление биосенсоров, основанных на концепции биохимического измерительного преобразователя [2], правда, преимущественно применяемых для селективного контроля веществ, в то время как биотестирование основано на интегральном восприятии живым токсичности водных сред.

Особое внимание помимо аппаратной части сразу уделялось выбору микроорганизмов и биотехнологии их популяционных реакций, одновременно обладающих статистической значимостью и упрощающих регистрацию. В результате их исследования предвзяли создание новых видов специализированной аппаратуры.

Так была разработана хемотаксическая методика, позволившая контролировать популяционную поведенческую реакцию инфузории-туфельки (хемотаксис) в стандартных фотометрических кюветах [2], в то время как все аналогичные методики, включая современные зарубежные [7], предполагали использование капилляров, усложняющих контроль реакции.

Первые виды приборов для измерения концентрации инфузорий представляли разновидности специализированных нефелометров. Они позволили исследовать чувствительность организмов к токсикантам, но обладали малой помехозащищенностью, особенно для проб природных вод.

На основе новой концепции локомоций инфузорий, как пуассоновского потока оптически крупных частиц, предложенной И.С. Захаровым, был разработан специализированный турбидиметр «Биотестер-2» [2], позволивший обнаруживать инфузории в мутных и окрашенных средах, получивший вместе с методикой широкое применение в области экотоксикологического мониторинга. Прибор позволял с помощью оптронной пары измерять концентрацию подвижных инфузорий в диапазоне от единиц до 2000 клеток в миллилитре.

В начале 2000-х с целью разработки экспрессных тест-методов экотоксикологического контроля были начаты исследования гальванотаксиса инфузорий [8], как перспективной популяционной тест-реакции на вредные вещества. Предварительные биотехнологические исследования позволили определить основную концепцию тест-реакции гальванотаксиса в стандартной фотометрической кювете и выявить закономерности образования и движения приграничного электродного слоя, на основе которых была разработана специализированная турбидиметрическая аппаратура, позволившая снизить время тест-реакции с 15–30 минут для хемотаксиса до 1,5 минут для гальванотаксиса.

Описанные выше приборы позволяли определять общую концентрацию перемещающихся инфузорий, но не давали возможности исследовать структуру слоев популяции. Для решения данной задачи необходимо было различать единичные движущиеся клетки и контролировать по высоте весь объем взвеси инфузорий.

Новую задачу позволил решить экспериментальный макет универсального прибора на базе линейки приемников для исследования популяций инфузорий. Концепция прибора развивает прежнее направление обнаружения биообъектов за счет их собственного импульсного движения через границы фотоприемников, что позволяет исследовать с его помощью реакции летальности и хемотаксиса. Он также оснащен блоком для формирования гальванотаксических напряжений, что дает возможность исследовать гальванотаксис инфузорий.

Прибор представляет собой аппаратно-программный комплекс, разработанный на современной элементной базе с применением программируемых микроконтроллеров и с использованием современного программного обеспечения для обработки и отображения импульсных случайных процессов.

Более подробное описание прибора приведено в работе [9]. Формирование импульсов случайного процесса и их выявление при обработке данных отражены на схеме информационных преобразований рис. 1. Коэффициент ослабления исследуемого объекта $T(t)$ имеет переменную составляющую, обусловленную случайными пересечениями светового луча инфузориями.

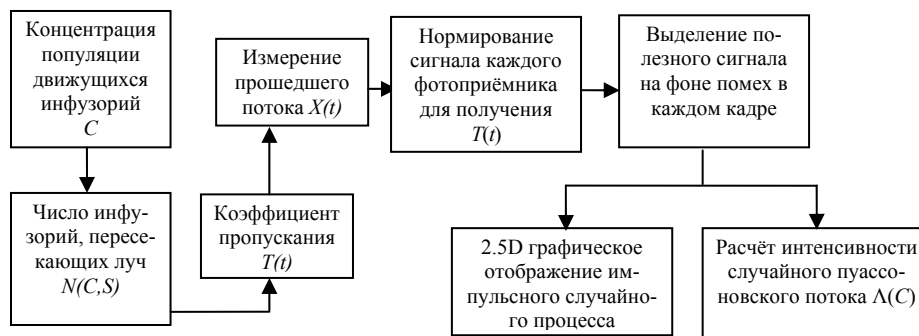


Рис 1. Схема информационных преобразований

Через каждые 75 мс прибор по всей высоте взвеси фиксирует массив значений интенсивностей (кадр) прошедшего излучения и сохраняет в память ПК. После проведения эксперимента с помощью пакета Matlab производится обработка экспериментальных данных для выделения полезного сигнала методом вейвлет-фильтрации каждого кадра. Для наглядного отображения импульсного случайного процесса наиболее удобной оказалась 2,5D-графика, на которой процесс пересечения параллельного пучка инфузорией отражается в виде замкнутой кривой.

На рис. 2 представлено 2,5D-графическое изображение процесса хаотического движения популяции инфузорий с концентрацией 1000 кл/мл в слое взвеси высотой 23 мм в течение 10 секунд. На рис. 2 видно, что в верхней части кюветы концентрация микроорганизмов выше за счёт всплытия. На рис. 3 в той же форме отображён процесс гибели популяции в течение 2 мин в растворе CuSO_4 с концентрацией 2 мг/л.

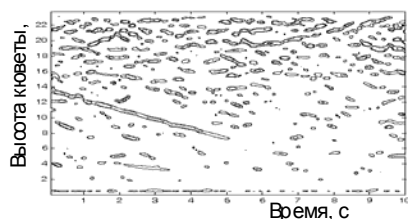


Рис. 2. 2,5D-графическое изображение процесса хаотического движения популяции инфузорий

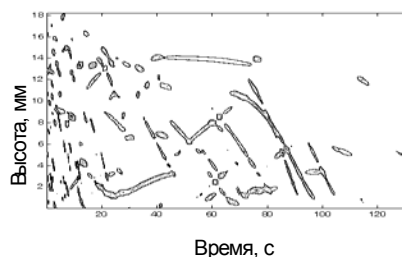


Рис. 3. Процесс гибели популяции

На рис. 4 показаны 2,5D график и фотография кюветы для конечной фазы реакции отрицательного хемотаксиса со слоем репеллента в верхней части кюветы. При сравнении данных, полученных от прибора и фотографии, видно, что экспериментальные данные адекватно отражают распределение концентрации по высоте кюветы. В подтверждение гипотезы о связи концентрации и интенсивности пуассоновского потока приведена зависимость интенсивности потока импульсов по всей высоте кюветы от концентрации популяции (рис. 5).

На рис. 6 отражён процесс прохода слоя инфузорий при реакции гальванотаксиса. На основании такого представления можно делать выводы о траектории движения микроорганизмов.

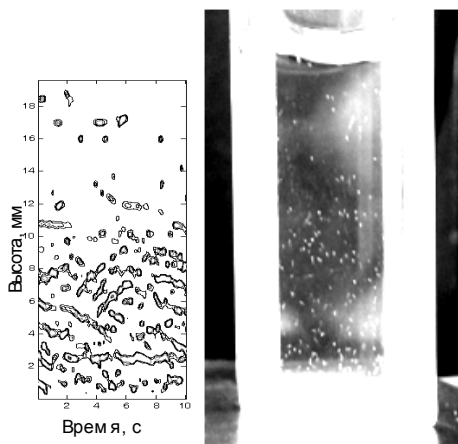


Рис. 4. 2,5D график и фотография кюветы для конечной фазы реакции отрицательного хемотаксиса

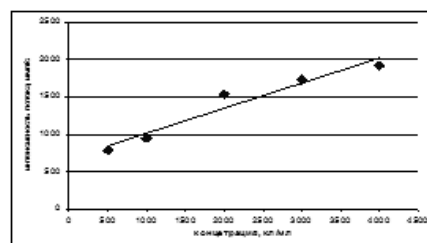


Рис. 5. Зависимость интенсивности потока импульсов по высоте кюветы от концентрации популяции

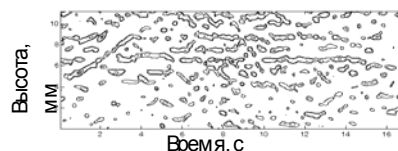


Рис. 6. Процесс прохода слоя инфузорий при реакции гальванотаксиса

Важным свойством новых аппаратных средств является возможность регистрации изменения структуры популяции не в тонком слое, а в стандартной фотометрической кювете

те, без каких-либо средств принудительного гидравлического перемещения взвеси. Развиваемый подход, основанный на использовании собственного движения клеток для регистрации их реакций, сначала позволил определять концентрацию подвижных микроорганизмов, а затем их распределение по пространству кюветы.

Выводы: В статье описаны новые виды аппаратных средств и методы обработки информации, позволившие наглядно за счет регистрации локомоций микроорганизмов отразить изменение структуры популяции инфузорий при различных видах таксисов. Методы и средства могут быть применены в области биотехнологии, токсикологии, экотоксикологии, биотестирования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Shapiro H. M.* Practical Flow Cytometry (2-nd Edition). New York: Alan R. Liss Inc. 1988.
2. Биосенсорные системы в медицине и экологии/ Захаров И.С., Пожаров А.В., Гурская Т.В, Финогенов А.Д., – СПб: СПбГУТ, 2003.
3. *Усанов Д.А., Скрипаль А.В.* Способ биотестирования токсичности водной среды, Патент РФ №2123693, Бюл. изобр. №35.
4. *Понечителев Е.П., Чигирёв Б.И.* Комплекс для исследования динамики развития микроорганизмов // Приборы для контроля окружающей среды и биоинформации. Минвуз: Сб. ЛЭТИ. – Л., 1979. – С. 85–89.
5. *Ogawa, N., Oki, H., Hashimoto, K., Ishikawa, M.,* 2005. Microbotic visual control of motile cells using high-speed tracking system. IEEE Trans, Robotics 21(4), P. 704–712.
6. *Скибенко В.В.* Методы и устройства для определения подвижности микроорганизмов при оценке активности химических соединений. – М., 1982 (Хим. – фарм. Пром-сть: Обзорная инф. ЦБНТИ, вып. 6).
7. *P.G. Wells, C. Blaise,* Microscale Testing in aquatic Toxicology. 1998.
8. *Ковалевская А.С., Казанцева А.Г., Голядкин С.В., Петрова Д.И.* Определение токсичности водных сред по реакции гальванотаксиса // Известия СПбГЭТУ. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2006. – №3. – С. 73–77.
9. *Завгородний А.В.* Алгоритмическое обеспечение программно-аппаратного комплекса для определения концентрации подвижных микроорганизмов // Известия СПбГЭТУ. Сер. «Биотехнические системы в медицине и экологии». – 2008. – №2. – С. 55–62.

УДК 004.274+004.932

А.С. Писарев

МНОГОАГЕНТНАЯ P2P GRID-ИНФРАСТРУКТУРА ДЛЯ РАЗВИТИЯ НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ*

В настоящее время в соответствии с ФЦП "Развитие инфраструктуры nanoиндустрии Российской Федерации на 2008–2010 годы" актуальным направлением является развитие информационно-аналитической составляющей инфраструктуры nanoиндустрии. В данной работе рассматривается опыт многоагентного подхода при создании электронной сервисной инфраструктуры для молекулярно-биологических систем (e-СИМБИОС). Создаваемые

* Работа выполнена при частичной поддержке гранта института здоровья США RR07801, гранта Нидерландского научного общества и РФФИ 047.011.2004.013, гранта РФФИ 08-07-90001-Бел_А