– требования, предъявляемые к профессиональной компетентности экспертов по стандартизации;

– порядок проведения экспертизы.

Основными видами деятельности эксперта по стандартизации являются:

– экспертиза проектов документов по стандартизации;

– проведение работ по разработке, подготовке к утверждению, изменению, отмене, применению документов по стандартизации;

– участие в работе национальных, региональных (межгосударственных) и международных технических комитетов по стандартизации.

– участие в формировании перечней документов в области стандартизации, в результате применения которых на добровольной основе обеспечивается соблюдение требований технических регламентов, и перечней документов в области стандартизации, которые содержат правила и методы исследований (испытаний) и измерений, необходимые для применения и исполнения технических регламентов и осуществления оценки соответствия;

Эксперт по стандартизации должен уметь:

– осуществлять разработку (в том числе и на основе международных и региональных стандартов), а также пересмотр национальных стандартов и внесение в них изменений;

– осуществлять экспертизу законодательных актов, национальных и межгосударственных стандартов и иных документов по стандартизации;

– участвовать в работе национальных технических комитетов и сотрудничать с техническими комитетами по стандартизации смежных отраслей;

– анализировать отзывы, поступившие от заинтересованных сторон, по проектам межгосударственных стандартов для выработки позиции страны (государства) по рассматриваемым проектам;

– проводить работу по принятию международных, региональных (межгосударственных) стандартов и национальных стандартов других государств в качестве национальных (государственных) стандартов.

Таким образом, можно сделать вывод о необходимость разработки государственных стандартов «Эксперты по стандартизации. Общие положения» и «Эксперты по стандартизации. Сертификация профессиональной компетентности».

УДК 535.37+543.545.2

МЕТОДИКА АНАЛИЗА ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕГРАМ СО СПЕКТРАЛЬНЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Тарасов Д.С.[1, 2], Самцов М.П.[1], Малюшкова Е.В.[1], Хлудеев И.И.[2], Семак И.В.[2]

[1]НИУ «Институт прикладных физических проблем имени А.Н. Севченко» БГУ
[2]Белорусский государственный университет
Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В работе предложен макет сканирующего лазерного устройства с высоким спектральным разрешением для детектирования на электрофореграммах флуоресцирующих комплексов трикарбоцианиновых красителей с белками сыворотки крови.

Ключевые слова: трикарбоцианиновые красители, комплексобразование, белки плазмы крови, гель-электрофорез, лазерная флуоресцентная спектроскопия.

METHOD FOR ANALYSIS OF ELECTROPHOREGRAMS WITH SPECTRAL RESOLUTION OF FLUORESCENCE

Tarasau D.[1, 2], Samtsov M.[1], Maliushkova E.[2], Khludeev I.[2], Semak I.[2]

[1]A.N Sevchenko Institute for Applied Physical Problems of BSU
[2]Belarussian State University
Minsk, Republic of Belarus

Abstract. The paper proposed model of the scanning laser device with high spectral resolution for detecting on electrophoregrams fluorescent complexes of tricarbocyanine dyes with blood plasma proteins.

Key words: tricarbocyanine dyes, complexation, blood plasma proteins, gel-electrophoresis, laser-induced fluorescence spectroscopy.

Адрес для переписки: Тарасов Д.С., ул. Курчатова, 7, Минск 220045, Республика Беларусь
e-mail: dmitrij-tarasov@list.ru

Гель-электрофорез один из основных инструментов молекулярной биологии и биохимии для разделения и анализа белков. Разделение происходит за счет разницы скоростей движения анализируемых макромолекул с разным соотношением молекулярной массы к заряду в постоянном электрическом поле. Путем использования флуоресцентных меток становится возможным определение молекулярной массы белковых макромолекул и их фрагментов. При этом для обнаружения на

электрофореграммах флуоресцирующих белков широкое распространение получила регистрация их изображений с помощью чувствительных CCD-матриц. Как правило, флуоресцентное изображение в интересующем спектральном диапазоне регистрируется при использовании соответствующего набора фильтров. Такой мультиспектральный подход обеспечивает высокое пространственное разрешение при приемлемом уровне чувствительности. В то же время, спектральная селективность составляет от десятков до сотен нанометров. Во многих задачах информация о состоянии метки содержится в ее спектрально-люминесцентных характеристиках, что требует более высокого спектрального разрешения. В данной работе предложен макет сканирующего устройства со спектральным разрешением для исследования взаимодействия индотрикарбоцианиновых красителей с белками плазмы крови.

Основным объектом исследования выступал разработанный в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. А.Н. Севченко БГУ симметричный индотрикарбоцианиновый краситель ПК1, который по многим параметрам перспективен для использования в качестве фотосенсибилизатора для ФДТ [1], а также два близких по структуре красителя – ПК2 и ПК3. У первого по сравнению с ПК1 отсутствуют полиэтиленгликоли на концевых группах, а у второго – хлорзамещенный ортофениленовый мостик.

В качестве модельной биологической среды использовался раствор бычьего сывороточного альбумина (концентрация белка 2 г/л). Растворы готовились в натрий-калиевом фосфатном буфере Дюльбекко (0,14 моль/л) с pH=7,4 (ФСБ). Концентрация белков в анализируемых на электрофорезе образцах составляла 30 мкМ. Стоковые растворы красителей готовились в ФСБ. Краситель ПК2 обладает низкой растворимостью в воде, в связи с чем стоковый раствор для него готовился с 5 % содержанием этанола. Исследования проводились при двух концентрация красителей – 30 мкМ и 10 мкМ. Исследования на электрофорезе проводились для двух серий образцов: при комнатной температуре (22 ºС) и при инкубации в течение 120 минут при 37 ºС.

Анализ связывания красителей с белками в растворах БСА выполнялся с помощью электрофореза белков по методу Лэммли в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия в восстанавливающих условиях (SDS-PAGE). Электрофоретическое разделение белков проводили в 15 % полиакриламидном геле в диссоциирующих условиях. В связи с тем, что на стадии окрашивания используются агрессивные среды, которые приводят к необратимой деструкции индотрикарбоцианиновых красителей, места локализации красителей на электрофореграмме определяли до начала процедуры окрашивания раствором Кумасси для визуализации полос белков. В обоих случаях координаты фиксировались относительно границ гелей, что позволило совместить распределение белков и индотрикарбоцианиновых красителей на электрофореграмме. После детектирования красителя осуществляли осаждение белков в геле с помощью 30 % раствора трихлоруксусной кислоты. Далее проводили окрашивание раствором Кумасси. После окрашивания, гель отмывали 7 % уксусной кислотой до полного обесцвечивания фона. Имеющееся в распоряжении оборудование позволяет исследовать на одной электрофореграмме до 9 образцов. Для определения молекулярной массы белков в одну из лунок вносили набор белков стандартов с известными молекулярными массами – от 10 кДа до 200 кДа.

Макет сканирующего устройства со спектральным разрешением конструктивно состоит из перемещаемой микрометрическими винтами платформы, на которой перпендикулярно исследуемой плоскости закреплен держатель световода лазерного флуоресцентного спектрометра, в котором для возбуждения флуоресценции использован лазер с длиной волны 684 нм. Подвод возбуждающего излучения к исследуемому образцу и свечения флуоресценции в полихроматор осуществлялся с помощью оптоволокна. Путем перемещения светоколлектора вдоль белковых полос на электрофореграмме по флуоресценции определяли координаты молекул красителей. При этом информационным считался сигнал флуоресценции красителей в случае его устойчивого превышения по сравнению с фоновым. Полученные визуализированные электрофореграммы исследуемых образцов фиксировались с помощью фотоаппарата, и на снимки переносились координаты обнаружения красителей.

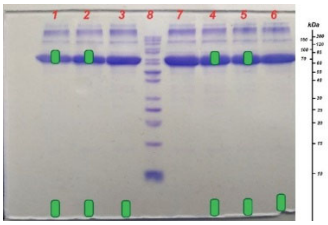
В результате сканирования лазерным флуоресцентным спектрометром гель-электрофореграммы обнаружено несколько позиций с выраженным сигналом, близким по спектральному составу со спектром флуоресценции исследованных красителей. На фотографиях гелей после окрашивания эти позиции отмечены метками (рис. 1). В пределах полос, соответствующих движению растворов БСА не окрашенных красителями не наблюдается никакого свечения при возбуждении лазером с длиной волны 684 нм.

Молекулярная масса бычьего сывороточного альбумина – 69 кДа, на электрофореграмме ей соответствует полоса вблизи (72 ± 4) кДа. Здесь наблюдается выраженный сигнал флуоресценции образцов окрашенных красителями ПК1 и ПК2 для обоих серий. Учитывая пространственное разрешение сканирующей системы, можно утверждать, что флуоресценция в данной области соответствует ковалентным комплексам ПК1 и ПК2 с

альбумином. Максимум флуоресценции красителей ПК1 и ПК2 в комплексах с альбумином располагается на 754 нм и 762 нм соответственно, что в пределах погрешности коррелирует со значением данного параметра в исходных растворах красителей в БСА. Это указывает на то, что гель практически не оказывает влияние на спектры флуоресценции молекул красителя.

Для всех красителей обнаружен интенсивный сигнал флуоресценции на нижнем краю геля. Согласно экстраполяции стандарта, молекулярная масса объектов в этой области, соответствует приблизительно 1,5–6,0 кДа. При этом после окрашивания геля здесь не обнаруживаются визуально присутствие каких-либо белков. Молекулярная масса исследованных красителей: ПК1 – 1270 Да, ПК2 – 740 Да, ПК3 – 1117 Да. Учитывая точность определения координаты, справедливо утверждать, что в данной области обнаруживается несвязанные с белками красители.

Таким образом, в работе предложен макет сканирующего лазерного устройства с высоким спектральным разрешением для детектирования флуоресцирующих белков на электрофореграммах. Показано, что регистрация спектров флуоресценции дает дополнительную информации для идентификации флуоресцентной метки и анализа ее состояния.



1 – ПК1, 22 ºС; *2* – ПК2, 22 ºС; *3* – ПК3, 22 ºС; *4* – ПК1, 37 ºС; *5* – ПК2, 37 ºС; *6* – ПК3, 37 ºС; *7* – раствор без красителей; *8* – набор белков стандартов с известными молекулярными массами

Рисунок 1 – Электрофореграмма растворов БСА, предварительно обработанных трикарбоцианиновыми красителями

Литература

1. Novel indotricarbocyanine dyes covalently bonded to polyethylene glycol for theranostics / A. A. Lugovski [et al.] Istomin // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2016. – Vol. 316. – P. 31–36.

УДК 621.81:159.9.07

СЕМАНТИЧЕСКИЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛ КАК СПОСОБ СУБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ ДЕТАЛЕЙ МАШИНОСТРОЕНИЯ

Токарь О.В., Серенкова Е.П.

Белорусский национальный технический университет
Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье изложены результаты субъективной оценки трех деталей машиностроения методом семантического дифференциала. С помощью кластерного анализа выявлено четыре фактора универсального семантического пространства, объясняющих восприятие респондентов.
Ключевые слова: семантический дифференциал, кластерный анализ, субъективная оценка, деталь.

SEMANTIC DIFFERENTIAL AS A METHOD OF SUBJECTIVE EVALUATION OF ENGINEERING DETAILS

Tokar O., Serenkova E.

Belarusian National Technical University
Minsk, Republic of Belarus

Abstract. This article presents the results of a subjective assessment of three parts of engineering by the method of semantic differential. With the help of cluster analysis, four factors of the universal semantic space were identified that explain the perception of the respondents.
Key words: semantic differential, cluster analysis, subjective evaluation, engineering detail.

Адрес для переписки: Токарь О.В., ул. Я. Коласа, 22, Минск 220113, Республика Беларусь
e-mail: tokar.o@bntu.by

Известно, что детали в машиностроении имеют конструктивную форму, позволяющую их выпускать наиболее простыми и производительными технологическими процессами. Изучение конструктивной формы возможно методами, позволяющими установить стереотипы (устойчивые образы) относительно детали машиностроения, которые влияют на освоение студентами инженерных дисциплин.

Количественное измерение субъективных значений объекта может быть проведено с помощью семантического дифференциала Ч. Осгуда, который относится к числу проективных методик, направленных не на выявление объективных характеристик, а на перевод реакции респондента на объект в оценочное отношение к нему [1].

Цель работы – выявить факторное пространство, объясняющее субъективные оценки респондентов для деталей машиностроения (подшипник, зубчатое колесо, болт).

Задачи работы: выбор семантического пространства семантического дифференциала, подго