

Виділення субклітинних фракцій із скелетних м'язів та їх біохімічна і електронномікроскопічна характеристика

З. О. Сорокіна, Ю. Д. Холодова, О. М. Рожманова, Н. Ф. Безручко

Лабораторія фізхімії і біохімії клітини Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

В останні роки в фізіологічних та біохімічних дослідженнях все більшого значення набуває метод виділення окремих структурних компонентів клітини за допомогою диференціального центрифугування.

Метод диференціального центрифугування дозволяє фракціонувати цитоплазматичні частки за їх седиментаційною здатністю, яка залежить від об'єму та питомої ваги. Цитоплазматичні гранули вдається розподілити на різну кількість фракцій, що мають відмінні морфологічні, біохімічні та фізико-хімічні ознаки. Більша частина наших знань про внутріклітинну локалізацію ряду речовин, про функції окремих компонентів клітин та про їх склад є результатом застосування саме цього методу. Водночас, техніка диференціального центрифугування має ряд недоліків, які необхідно брати до уваги при аналізі результатів досліджень. Це стосується насамперед гомогенності одержаних фракцій, їх морфологічної цілісності та нативності виділених субклітинних елементів. З іншого боку, в процесі подрібнення тканини та під час фракціонування внутріклітинної структури зазнають деяких біохімічних та морфологічних змін. При цьому ряд речовин неминуче губиться та перерозподіляється між компонентами цитоплазми. Це стосується в першу чергу водорозчинних речовин, включаючи білки та сполуки з меншою молекулярною вагою. З іншого боку, в ізольованих клітинних структурах порушується морфологічний та функціональний зв'язок з іншими компонентами цитоплазми. Може виникнути також контакт субклітинних елементів з тими речовинами, з якими у цілій клітині ці елементи не контактують.

Тому виявлені у них властивості лише приблизно відображають їх діяльність у інтактних клітинах [3, 8, 10].

Літературні дані щодо властивостей ізолюваних із скелетних м'язів субклітинних частин досить обмежені [1, 2, 11]. Досліджень, у яких морфологічна цільність субклітинних структур скелетних м'язів та їх функціональний стан оцінювалися б паралельно, ще менше. Для аналізу експериментальних даних, одержаних з допомогою методу диференціального центрифугування, необхідна перш за все оцінка стану субклітинних елементів. Отже, задачею нашого дослідження було вивчення морфологічного стану субклітинних фракцій, одержаних із скелетних м'язів, та зіставлення його з біохімічними властивостями цих фракцій.

Як об'єкт дослідження були використані жаби *Rana temporaria* та *Rana ridibunda*. Тварин декапітували, охолоджені скелетні м'язи звільняли від кровоносних судин, сушили в першій тканині, ретельно подрібнювали ножицями та гомогенізували в скляному гомогенізаторі з тефлоновим поршнем півтори хвилини. Гомогенізацію проводили у трікратному (щодо наважки м'язів) об'ємі охолодженої 0,2 М сахарози, забуферованої *tris* до рН 7,3. Потім гомогенат цією ж сахарозою доводили до десятикратного об'єму та фільтрували крізь чотири-п'ять шарів марлі. Всі підготовчі процедури та центрифугування здійснювали при температурі від 0 до +4°С.

Субклітинні фракції одержували диференціальним центрифугуванням гомогенату. Міофібрилярна фракція осаджувалась шляхом центрифугування гомогенату при 50×g протягом 10 хв. Надосадову рідину зливали, осадок ресуспензували в 0,2 M розчині сахарози та осаджували вдруге за тих же умов центрифугування. Промивку таким способом проводили двічі.

Ядерна фракція осаджувалась з надосадової та першої промивної рідини при $100\times g$ протягом 5 хв. Цей осадок двічі промивався 0,2 М розчином сахарози, потім ресуспензувався в 0,6 М розчині сахарози і центрифугувався при $1800\times g$ протягом 20 хв. Остання операція повторювалась тричі.

Надосадові рідини піс-
лись, і з них одержували при
умов центрифугування: 6500;
на з цих фракцій двічі про-
являли собою мітохондрії I
та мітохондрії III. Субкліти-
бою мікросомну фракцію. На-
рид ялєр мітохондрій та м

Для електронномікроскопії осаді фіксували 2%-ним розчином осмійової кислоти на 1 год. у 0,1 M натрієвому фосфатному буфері, pH 7,4. Препарати встановлювали на ізотонічному розчині солі до 37–40° С.

Після фіксації концентрували піпеткою в агар-агар повного застигання агару у і лезом бритви такі частки і бики збезводнювали, проводиливали у суміш бутил- та ме

Ультратонкі зрізи одер УМТ-2 та розглядали під м вались. Електронне збільшен світлооптичним збільшенням.

Міофібрилярну та ядерну ДНК із застосуванням метиленового синю, використовуючи мікрохімічні дослідження рідності одержаних фракцій. З цією метою в препаратах РНК [7, 12] та наявність одержаних фракцій, головна маса ДНК мають також і мітохондрії, значної кількості ДНК у нуклеолі та забруднення їх ядерним матеріалом.

Щодо РНК, то з усіх
3 мікросомною фракцією зв'

Вміст РНК у мітохонді
білка. Невелика кількість РН
цитоплазми [10, 15, 20, 25,
ції саме мікросомної фракції

Основною функцією мінеральної речовини у трикарбонатному ланцюгу, а також ферментативному на внутрішніх мембранах субклітинних фракцій, можна вважати регулювання еритроцитів. Крім того, інтенсивність впливу хондрій, які з усіх субклітинних фракцій, найбільш впливають на діяльність еритроцитів. Для визначення впливу на діяльність еритроцитів у них «дихальна» інтенсивність дихання відносно рівня макроергічних фосфорних сполук.

Визначення дихання і платинового нерухомого електроду на основі даних про платинові акцептори, і в пробах, що містять гексокінази, субстратом б

Відомо, що основну частину білка — 40,9%. Ця фракція яких є значна кількість і зрідка дрібні шматочки не вдається виділити у чистий досить близьку седиментації

Ядра складають дуже
 процентного вмісту білка я
 нату м'язів дає досить низь
 При центрифугуванні

Надосадові рідини після осадження ядер та першої їх промивки об'єднувались, і з них одержували послідовно чотири фракції субклітинних гранул за таких умов центрифугування: $6500 \times g$ — 10 хв; $40\,000 \times g$ — 30 хв; $80\,000 \times g$ — 120 хв. Кожна з цих фракцій двічі промивалася 0,2 М розчином сахарози. Перші три фракції являли собою мітохондрії і позначалися відповідно як мітохондрії I, мітохондрії II та мітохондрії III. Субклітинні фракції, що осаджувалися при $80\,000 \times g$ являли собою мікросомну фракцію. Надосадову рідину, що лишалася після виділення міофібрил, ядер, мітохондрій та мембранних фрагментів, вважали за розчинну.

У кожній фракції визначали кількість білка за методом Лоурі [23].

Для електронномікроскопічного дослідження препаратів субклітинних фракцій осаді фіксували 2%-ним розчином OsO_4 на протязі 10 хв при 0°C . Одночасно на годинникове скло наливали розігрітий 2%-ний розчин агар-агару, приготований на ізотонічному розчині солей калію та натрію [6]. Розчин агару охолоджували до $37-40^\circ\text{C}$.

Після фіксації концентровану завись препаратів субклітинних фрагментів вливали піпеткою в агар-агар та перемішували кількома обертальними рухами. Після повного застигання агару у ньому обирали ділянки з найбільшим скупченням часток, і лезом бритви такі частки вирізували у вигляді кубиків, розміром $1-2\text{ мм}^3$. Ці кубики обезводнювали, проводячи через серію спиртів висхідної концентрації, та заливали у суміш бутіл- та метилметакрилатів (4:1).

Ультратонкі зрізи одержували за допомогою скляних ножів на мікромомі УМТ-2 та розглядали під мікроскопом УЕМВ-100 Б при 75 кВ. Зрізи не контрастувались. Електронне збільшення становило $8000-15000\times$ з наступним дво-триразовим світлооптичним збільшенням.

Міофібрилярну та ядерну фракції розглядали також у світловому мікроскопі із застосуванням метиленової сині. Ступінь забруднення цих фракцій визначали за вагою, використовуючи мікрофотографії (світлова мікроскопія).

Біохімічні дослідження були проведені, з одного боку, для визначення однорідності одержаних фракцій, а з іншого — для визначення їх функціонального стану. З цією метою в препаратах субклітинних структур визначали концентрації ДНК та РНК [7, 12] та наявність окислювального фосфорилування. З даними цілого ряду досліджень, головна маса ДНК міститься в ядрах клітини [18, 24, 26]. Власну ДНК мають також і мітохондрії, але в дуже невеликих кількостях [4, 19]. Тому наявність значної кількості ДНК у інших субклітинних фракціях розглядається як результат забруднення їх ядерним матеріалом.

Щодо РНК, то з усіх досліджених структур особливо багаті нею мікросоми. З мікросомною фракцією зв'язано понад 50% усієї РНК гомогенату [9, 16, 17, 27, 31].

Вміст РНК у мітохондріях коливається від нульової кількості до $2-3\text{ мкг/г}$ білка. Невелика кількість РНК є також у міофібрилах, ядрах та в розчинній частині цитоплазми [10, 15, 20, 25, 33]. Проте застосування цього показника для ідентифікації саме мікросомної фракції досить обгрунтоване.

Основною функцією мітохондрій є, як відомо, перетворення енергії окислення речовин у трикарбонному циклі в зв'язану енергію АТФ. Переносники дихального ланцюга, а також ферменти окислювального фосфорилування локалізовані в основному на внутрішніх мембранах мітохондрій [6, 27, 32]. Тому, вивчаючи дихання субклітинних фракцій, можна, за цими даними, судити про забрудненість їх мітохондріями. Крім того, інтенсивність мітохондрій та їх здатність до окислювального фосфорилування є найважливішим показником функціонального стану виділених мітохондрій, які з усіх субклітинних структур є найбільш уразливі та чутливі до різних впливів. Для визначення стану мітохондрій в останні роки широко застосовують наявність у них «дихального контролю». Цим терміном позначається залежність інтенсивності дихання від фосфорного обміну при наявності у середовищі акцепторів макроергічних фосфорних груп (H_3PO_4 та АДФ).

Визначення дихання проводилося полярографічним методом з використанням платинового нерухомого електрода [5]. Обчислення «дихального контролю» проводилося на основі даних про поглинання кисню в пробах, що містили фосфат та його акцептори, і в пробах, що не містили їх. Акцепторна система складалась з глюкози та гексокінази, субстратом був сукцинат натрію.

Відомо, що основну частину скелетних м'язів складають міофібрили. Як видно з даних, наведених на рис. 1, в міофібрилярній фракції міститься і основна кількість білка — 40,9%. Ця фракція не гомогенна і являє собою скупчення міофібрил, серед яких є значна кількість і інших елементів, як наприклад, цілі і зруйновані ядра і зрідка дрібні шматочки неоперіженої тканини. На жаль, міофібрилярну фракцію не вдається виділити у чистому вигляді. Справа в тому, що міофібрили та ядра мають досить близьку седиментаційну здатність у відцентрованому полі.

Ядра складають дуже невелику частину гомогенату скелетних м'язів. Визначення процентного вмісту білка ядер по відношенню до загальної кількості білка гомогенату м'язів дає досить низькі величини, близько 4,6% (рис. 1).

При центрифугуванні значна частина ядер захоплюється міофібрилами та оса-

скелетних м'язів їхна характеристика

ова, Н. Ф. Безручко

титуту фізіології
Київ

дідженнях все більшого зна-
компонентів клітин за допо-

фракціонувати цитоплазма-
жить від об'єму та питомої
різну кількість фракцій, що
ознаки. Більша частина на-
про функції окремих ком-
ня саме цього методу. Вод-
яд недоликів, які необхідно
стосується насамперед го-
сті та нативності виділених
нення тканини та під час
біохімічних та морфоло-
та перерозподіляється між
у водорозчинних речовин,
огою. З іншого боку, в ізо-
ній та функціональний зв'я-
ти також контакт субклі-
літинні ці елементи не кон-
відображають їх діяльність

скелетних м'язів субклітин-
них морфологічна цілісність
льний стан оцінювалися б
даних, одержаних з допо-
дна перш за все оцінка
дслідження було вивчення
із скелетних м'язів, та зі-

emproaria та Rana ridibun-
вільняли від кровоносних
ували позиціями та гомо-
ем півтори хвилини. Гомо-
язів) об'ємі охолодженої
гомогенат цією ж сахаро-
крізь чотири-п'ять шарів
існовали при температурі

центрифугуванням гомоге-
трифугування гомогенату
в осадок ресуспендували в
ке умов центрифугування.

ної промивної рідини при
розчином сахарози, потім
ся при $1800 \times g$ протягом

джується з ними. За даними аналізу фотознімків, ядра складають в міофібрилярній фракції в середньому 22,6%.

Вміст ДНК у міофібрилярній фракції скелетних м'язів виявився порівняно досить високим і досягав у середньому 62—65% від усієї ДНК гомогенату (рис. 2).

Отже, максимальна кількість ядер гомогенату осаджується саме в цій фракції. Розходження між даними морфологічного та біохімічного контролю пояснюється,

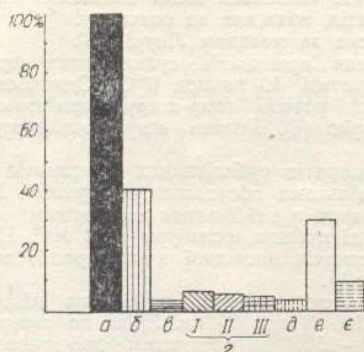


Рис. 1. Процентний вміст білка (по вертикалі) в субклітинних фракціях скелетних м'язів.

По горизонталі: а — гомогенат, б — міофібрилярна фракція, в — ядерна фракція, г — мітохондріальні фракції (I, II, III), д — мікросомна фракція, е — розчинна фракція, є — промивна рідина.

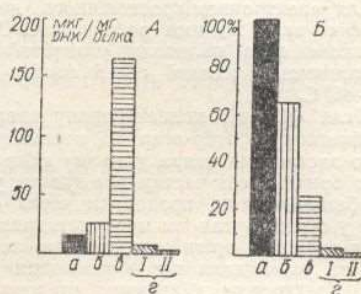


Рис. 2. Розподіл ДНК між різними фракціями скелетних м'язів.

А — концентрація ДНК в мкг/мг білка, Б — процентний вміст ДНК у фракціях. Інші позначення див. рис. 1.

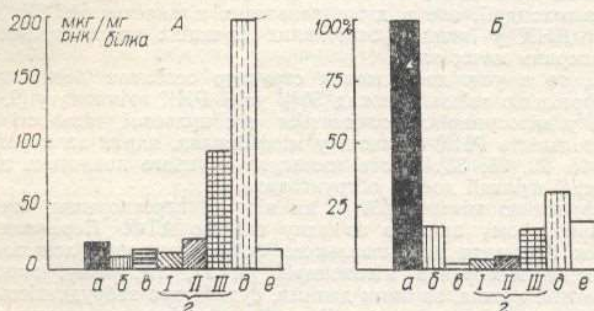


Рис. 3. Розподіл РНК між різними фракціями скелетних м'язів.

А — концентрація РНК в мкг/мг білка; Б — процентний вміст РНК у фракціях. Інші позначення див. рис. 1.

можливо тим, що, крім цілих ядер, в міофібрилярній фракції може осаджуватись також матеріал із зруйнованих в процесі гомогенізації та центрифугування ядер.

Характерним для одержаної міофібрилярної фракції є також наявність невеликої кількості РНК (13—20%). Головним її джерелом у цій фракції слід вважати ядра. Крім того, можлива адсорбція рибосомного матеріалу на міофібрилах під час гомогенізації та центрифугування. Це тим більш імовірно, що у м'язових волокнах рибосоми не прикріплені до ендоплазматичного ретикулуму, як у спеціалізованих тканинах, а перебувають у вільному стані (рис. 3).

Дихання у міофібрилярній фракції було зовсім відсутнє як у реакційному середовищі з системою акцепторів фосфата, так і без неї. Це дає можливість вважати, що міофібрилярна фракція м'язів зовсім вільна від мітохондрій.

Отже, на основі одержаних даних ми вважаємо, що найважчу фракцію, одержану при центрифугуванні гомогенату м'язів, не можна вважати виключно міофібрилярною фракцією, а правильніше визначити її як міофібрилярно-ядерну.

Ядерна фракція, виділена із скелетних м'язів, навпаки, являє собою більш однорідний препарат. За даними морфологічних досліджень, міофібрили складають у



Рис. 4

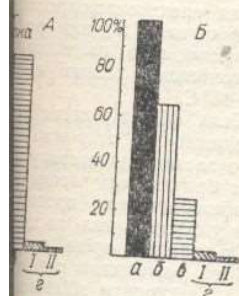
а — перша фракція

ній не більш 9%. Всі ядра. У проміжках між ядрами.

Вміст ДНК у цій фракції порівняно невисокий.

Мітохондрії скелетних м'язів електроннооптичною знімаються краще, ніж міофібрили. На рис. 4, а представлено знімок мітохондрій, цілком покладених на міофібрили. Міофібрили мають еліпсоїдну форму, добре виявлену подвійну мембрану та кристи. Міофібрили складають у

складають в міофібрилярній
м'язів виявився порівняно до-
ДНК гомогенату (рис. 2).
джується саме в цій фракції.
ного контролю пояснюється,



розподіл ДНК між різними скелетними м'язів.
вміст ДНК в мкг/мг білка,
вміст ДНК у фракціях.
значення див. рис. 1.

б



ми скелет-

вміст

с. 1.

може осаджуватись також
гування ядер.

також наявність невели-
й фракції слід вважати
на міофібрилах під час
що у м'язових волокнах
у, як у спеціалізованих

як у реакційному сере-
дає можливість вважати,

найважчу фракцію, одер-
ажати виключно міофіб-
рилярно-ядерну.

являє собою більш од-
міофібрили складають у



Рис. 4. Мітохондріальні фракції скелетних м'язів.
а — перша фракція ($\times 12\,000$); б — друга фракція ($\times 11\,000$); в — третя фракція ($\times 17\,000$).

ній не більш 9%. Всі ядра мають подовжену форму та компактне електроннощільне тіло. У проміжках між ядрами виявляються також уламки та поодинокі мітохондрії.

Вміст ДНК у цій фракції максимальний і досягає $166,1 \pm 8,8$ мкг/мг білка. Дихання у цій фракції також повністю відсутнє.

Мітохондрії скелетних м'язів, як відомо, неоднорідні. Вони різняться розміром, електроннооптичною щільністю і, можливо, своїми функціональними властивостями. На рис. 4, а представлена електронна мікрофотографія I фракції мітохондрій. Мітохондрії мають еліпсоїдну форму. Субмікроскопічна організація частини мітохондрій цієї фракції, цілком подібна до описаної в літературі структури ізольованих мітохондрій [13, 14, 21, 22]. Вони мають численні внутрішні мембрани, гомогенний та електроннощільний матрикс, у якому знаходяться видовжені світлі вакуолі, і досить добре виявлену подвійну зовнішню мембрану. Основна ж маса мітохондрій набрякає і в них спостерігається часткова деградація їх внутрішнього вмісту. У цих

мітохондріях зникає частина внутрішніх мембран, значно збільшуються міжкисні вакуолі, внаслідок чого світлішає мітохондріальний матрикс.

Фракція важких мітохондрій має найбільш яскраво виражену здатність окислювати сукцинат (див. таблицю). Обчислення «дихального контролю» дали величини від 1,2 до 1,5. Це свідчить про те, що в цій фракції існує спряження окислення з фосфорилуванням.

Споживання кисню ($\frac{\text{мкМ O}_2 \cdot \text{л}}{\text{сек} \cdot \text{мг білка}}$) та «дихальний контроль» мітохондрій м'язів жаби при окисненні янтарної кислоти

	Мітохондрії I			Мітохондрії II			Мітохондрії III		
	Споживання кисню		Дихальний контроль	Споживання кисню		Дихальний контроль	Споживання кисню		Дихальний контроль
	без акцептора	з акцептором фосфату		без акцептора	з акцептором фосфату		без акцептора	з акцептором фосфату	
1	0,081	0,098	1,3	0,032	0,078	2,4	0,025	0,024	0,98
2	0,048	0,067	1,4	0,025	0,051	2,0	0,029	0,025	0,86
3	0,069	0,080	1,2	0,029	0,058	2,0	0,030	0,027	0,97
4	0,040	0,054	1,4	0,040	0,082	2,0	0,035	0,028	0,80
5	0,074	0,086	1,2	0,084	0,131	1,5			
6	0,034	0,065	1,9	0,020	0,059	2,96			
M	0,058	0,075	1,4	0,038	0,076	2,1	0,029	0,026	0,91
±m	0,007	0,007	0,1	0,008	0,011	0,07	0,002	0,001	0,03

Концентрація ДНК у фракції мітохондрій I становить $7,1 \pm 1,0$ мкг/мг білка. Ця, дещо підвищена у порівнянні з літературними даними, концентрація ДНК пояснюється, можливо, деяким забрудненням фракції важких мітохондрій ядерним матеріалом. Вміст РНК у фракції мітохондрій I порівняно невеликий. Не виключено, що вся ця РНК є власно мітохондріальною і не являється результатом попадання сюди мікросомних частин. Справа в тому, що питання про вміст РНК у мітохондріях остаточно ще не з'ясоване. За даними ряду досліджень [15, 20, 25], РНК перебуває в мітохондріях у невеликих концентраціях. Вважають, що кількість РНК у мітохондріях під час їх розвитку порівняно велика, але в міру росту мітохондрій концентрація її поступово знижується.

У фракцію M II потрапляють більш дрібні мітохондрії (рис. 4, б). Тут також частина мітохондрій лишається майже без ушкодження. Але вміст більшості мітохондрій електроннопрозорий і складається з невеликої кількості фібрил та дрібних гранул, що мають вигляд пухирців, утворених внаслідок зруйнування системи внутрішніх мембран та обмежених однією лише елементарною мембраною. Велика кількість гранул та фібрил виходить у середовище виділення та виявляється між мітохондріями. Багато мітохондрій цієї фракції має неправильну форму.

Характерною відмінною функціонального стану цієї фракції мітохондрій є наявність у них більш високого «дихального контролю». Концентрація ДНК тут менша, а концентрація РНК дещо вища, ніж у фракції важких мітохондрій.

Зовсім іншу картину ми бачимо на рис. 4, в, де представлені мітохондрії [I] фракції. Ця фракція складається з повністю зруйнованих мітохондрій, що зберігають одну елементарну поверхневу мембрану. В середині мітохондрій виявляються лише кілька дрібних пухирців. При розгляданні зрізів фракції M III трапляються ділянки, де крім мітохондрій можна бачити структури ергастоплазми: пухирці, подвійні мембрани, та дрібні кульки (шарикі, рис. 5). За морфологічними показниками нам здається можливим розглядати фракцію M III, як мембранну. На відміну від мікросомної вона була названа нами фракцією мітохондріальних мембран.

Біохімічний аналіз відповідних препаратів підтверджує цей висновок. Так, здатність цієї фракції мітохондрій окислювати сукцинат виявляється у значно меншій мірі, ніж у мітохондрій I та II. Додавання акцепторів та фосфату не підвищує поглинання кисню. Таким чином, інтенсивність дихання мітохондрій III не контролюється акцепторами макроергічних фосфорних груп. Це свідчить про відсутність спряження фосфорилування з окисленням у цій фракції, що, очевидно, пов'язано з ушкодженням структурної цілісності мітохондрій.

У третю фракцію мітохондрій потрапляє 16% усієї РНК гомогенату. Концентрація РНК/мг білка тут у багато разів вища, ніж у попередніх мітохондріальних фракціях.



Рис. 5. Ділянка з елементами



Рис. 6. Мік

Якщо перерахувати кількість з РНК мікросом ця кількість у гомогенаті. Це свідчить про те, що РНК мікросом є весь мембранний та рибосомний матеріал.

При електронномікроскопічному дослідженні виявляється досить гомогенний стрічок та пухирців різної форми, ідентичні «пухирцям» мітохондрій, які є частиною цих структур цілих клітин.

Як уже зазначалося, РНК у мікросом не виявляється, тому її не трапляють.

Рис. 5. Ділянка третьої фракції мітохондрій скелетних м'язів з елементами саркоплазматичного ретикулуму ($\times 25\,000$).Рис. 6. Мікросомна фракція скелетних м'язів ($\times 35\,000$).

Якщо перерахувати кількість РНК у фракції М III на весь білок цієї фракції, то разом з РНК мікросом ця кількість буде складати майже половину РНК, що міститься у гомогенаті. Це свідчить про те, що дійсно мітохондрії III та мікросоми містять у собі весь мембранний та рибосомний матеріал скелетних м'язів.

При електронномікроскопічному дослідженні мікросомної фракції (рис. 6) виявляється досить гомогенний матеріал, що містить чітко видимі обривки мембран у вигляді стрічок та пухирців різного розміру. Мікросоми попереково-смугастих м'язів морфологічно ідентичні «пухирцям» та «трубочкам», що входять до складу ергастоплазматичних структур цілих клітин [28, 29, 30].

Як уже зазначалося, у цій фракції міститься максимальна кількість РНК. Дихання у мікросом не виявлено, що свідчить про те, що мітохондрії у цю фракцію не потрапляють.

Розчинна фракція гомогенату м'язів являє собою цілком прозору рідину. Цілком можливо, що вона являє собою власне гіалоплазму — дрібнодисперсну фазу протоплазми, у якій розміщуються відокремлювані структурні елементи.

У розчинну фракцію потрапляє більшість білка, клітинних електролітів та частина РНК, що, очевидно, не знаходиться у гранулах.

Заклучна частина

За допомогою методу диференціального центрифугування із скелетних м'язів жаби одержані такі фракції: міофібрилярно-ядерна, ядерна, дві фракції мітохондрій, мітохондріальні мембрани, а також мікросомна та розчинна. Міофібрилярну фракцію виділити у чистому вигляді не вдалося. При центрифугуванні ядра захоплюються міофібрилами, і значна їх частина осаджується разом з ними. Ядерна фракція являє собою досить чистий препарат, що містить незначні домішки інших субклітинних структур. У мітохондріях I та II виявляються різні структурні зміни. Однак, наявність у них сприяння, окислення та фосфорилування свідчить про те, що функціональний стан їх задовільний. Мембранні фракції містять досить гомогенний матеріал, що складається із зовнішніх мембранних оболонок мітохондрій та з уламків мембран ергастоплазматичних структур.

Література

1. Григор'єва В. А., Медовар О. Н.—Укр. біохім. журн., 1963, 35, 816.
2. Григор'єва В. А., Шукіна Л. В.—Укр. біохім. журн., 1967, 39, 366.
3. Глик Д.—Методика гисто- і цитохімії, М., ИЛ, 1950.
4. Елаев Н. Р.—Цитология, 1966, 8, 45.
5. Кондрашова М. Н.—В кн.: Материалы к научной конфер. по определению напряжения кислорода в живых тканях полярографическим методом в эксперименте и в клинике. Горький, 1964.
6. Машанский В. Ф.—Цитология, 1962, 4, 555.
7. Мейбаум В. В.—Биохимия, 1945, 10, 353.
8. Платова Т. П.—Успехи соврем. биол., 1959, 47, 168.
9. Хесин Р. Б.—Биохимия, 1954, 19, 407.
10. Хесин Р. Б.—Биохимия цитоплазмы, Изд-во АН СССР, 1960.
11. Abood L., Kurahasi K., Brunngraber E. a. Koketsu K.—Biochem. Biophys. Acta, 1966, 112, 330.
12. Burton K.—Biochem. J., 1956, 62, 315.
13. Грин Д. Е.—Структура и функция субклеточных частиц. Труды V Междунар. биохим. конгресса. Пленарная лекция. М., 1961.
14. Green D. E. a. Hatefi G.—Science, 1961, 133, 3445.
15. Greengard O. a. Campbell P. N. Biochem. J., 1959, 72, 305.
16. Hers H. G., Berthet J., Berthet L., de Duke C.—Bull. Soc., Chem. Biol., 1951, 32, 21.
17. Hogeboom H. G., Schneider W. C., Palade G. E.—J. Biol. Chem., 1948, 172, 619.
18. Kalf G. F.—Biochemistry, 1964, 3, 1702.
19. Kennedy E. P. a. Lehninger A. L.—J. Biol. Chem., 1949, 179, 957.
20. Laird A. K., Nygaard O., Ris H., Barton A. D.—Exptl. Cell. res., 1953, 5, 147.
21. Lehninger A.—J. Biol. Chem., 1959, 234, 2187.
22. Lehninger A.—Ann. of the N. Y. Acad. Science, 1960, 86, 484.
23. Lowry O. H., Rosebrough N. Y., Parr A. L., Randell R. J.—J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
24. Luck D. a. Reich E.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1964, 52, 931.
25. Muntwyler E., Seifter S. a. Harkness D. M.—J. Biol. Chem., 1950, 184, 181.
26. Nass S. a. Nass M. M.—J. Cell. Biol., 1963, 19, 613.
27. Palade G. E.—J. Histochem. a. Cytochem., 1953, 1, 188.
28. Palade G. E. a. Siekevitz P.—Feder. Proc., 1955, 14, 262.
29. Palade G. E. a. Siekevitz P.—J. Biophys. a. Biochem. Cytol., 1956, 2, 171.
30. Rouiller Ch.—Intern. Rev. Cytol. Acad. Press. N. Y.—London, 1960, 9, 227.
31. Schneider W. C.—J. Biol. Chem., 1948, 176, 259.
32. Sjöstrand F. S. a. Rhodin J.—Exptl. Cell. Res., 1953, 4, 426.
33. Truman D. a. Korner A.—Biochem. J., 1962, 83, 588.

Надійшла до редакції
16.I 1968 р.

Застосування для дослідження гемо

С. А.

Відділ фізіології
ім. О. О.

В останні роки для визначення рівня терморозведення [1-Стюарта — Гамільтона. Насамперед з іншими методичними прийомами до накопичення індикатора, в зв'язку з виконанням цим методом; він не пов'язаний з взяттям крові; коли застосування методу Фіка заний з технічними ускладненнями.

Принцип методу полягає в тоничного розчину, крім градієнту відбувається змішування, та о змішування протягом часу є п крім відомого об'єму ін'єкції введенням та вихідної температури викидання необхідно зареєструвати після введення індикатора. З крові протягом часу не пов'язано експерименту на наркотизованих динаміки змін серцевого викидання ускладнення, що насамперед і індикаторного розчину в ділянці датчика для вимірювання вни в дугу аорти. Цим, видимо, м ким винятком [6, 7] нема відомі нічному експерименті на неперіодичності термісторного три — вісім днів до початку дослідження, оскільки не можна не брати датчика та підвищують його ділянки.

Поряд з цим вивчення сироватки тваринах, безсумнівно

Ряд питань, що мають і тизованих тваринах. У стані вплив центральних нервових нени також рефлекторні механізми відділи нервової системи [9]. дання при різних ступенях

За даними Неш, Девіса шення серцевого викидання

Розроблений нами метод ляючих поліетиленових трубок порожнистих вен у передсердних напрямлюючих трубках передного розчину та термісторного (рис. 1).

Операція проводиться в 35 мг/кг). Ліву сонну артерію на ділянці довжиною 4—5 см. Поліетиленові трубки шості випадків їх зовнішні

На периферичний кінці вену, надягають і ретельно якої перев'язують.

У периферичний кінці ляють скляний трійник з і ками. Зовнішні кінці цих трійників

Обидві напрямлюючі розчину з гепарином у сп