

крові для лікування різних патологічних станів ще раніше вказували Глоzman і Касаткіна [3, 4].

Роль тварини-реаніматора в наших дослідках поєднує функції безпосереднього оживлення із знешкодженням токсичних продуктів обміну речовин.

Література

1. Брюхоненко С. С.—В сб.: Труды Хим. фарм. ин-та, М., 1928, 20, 44.
2. Буланов О. Н., Закс О. П.—Патол. физиол. и exper. терапия, 1963, 4, 40.
3. Глоzman О. С., Касаткина Н. П.—Полное замещение и обменное переливание крови, как методы exper. терапии, М., Медгиз, 1950.
4. Глоzman О. С., Касаткина Н. Н.—Соврем. методы терапии острых токсикозов, М., 1959.
5. Демидов В. П.—Пересадка жизненно важных органов в эксперименте. Опыты по пересадке сердца, легких, головы, почек и других органов, М., Медгиз, 1960.
6. Неговский В. А.—Казанский мед. журнал, 1968, 1, 1.
7. Петровский Б. В., Соловьев Г. М.—Хирургия, 1956, 4, 17.
8. Янковский В. Д.—Физиол. журн. АН УРСР, 1962, VIII, 3, 346.
9. Янковский В. Д.—В сб.: Пробл. реактивности в патол., М., 1968, 84.
10. Янковский В. Д., Геря Ю. Ф.—Патол. физиол. и exper. терапия, 1969, 2, 72.
11. Brown-Sequard E.—J. Physiol. des hommes et des animaux, 1858, 1, 666.
12. Fredericq—Arch. biol., 1890, 10, 127.
13. Heymans C.—Arch. internat. de pharmacodyn. et de therap., 1923, 35, 269.
14. Heymans J., Heymans C.—Arch. internat. de pharmacodyn. et de therap., 1927, 33, 273.
15. Lillehei W., Cohen M., Warden N., Yanco R.—J. Thoracic Surg., 1954, 28, 11.

Надійшла до редакції
2.IV 1971 р.

УДК 612.11.43

ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИКИ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ГЕМОГЛОБІНУ ЩУРІВ У ГЕЛІ АГАРУ

В. П. Дударев

Відділ гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Електрофорез білкових речовин став загальноновизнаним методом хімічного аналізу в багатьох наукових лабораторіях світу. Він також широко використовується у клінічній діагностиці. З допомогою цього методу досягнуто значних успіхів у вивченні фізико-хімічних властивостей структури білків. Завдяки методу електрофорезу Полінг [2] виявив меншу рухливість HbS, що привело до відкриття нового патологічного стану — гемоглобінопатії.

Оскільки молекули різних білків мають неоднаковий електричний заряд, то під дією постійного електричного поля вони рухаються з різною швидкістю, що й використовується для виділення окремих фракцій.

Одним з видів електрофорезу є зональний електрофорез. Рух заряджених часточок здійснюється при цьому в просочених рідиною папері, пористих порошках, гелі та ін., які служать підтримуючим середовищем.

Самим простим і найбільш поширеним є електрофорез на папері. Але з допомогою цього методу неможливо досягти повного і чіткого розподілу біополімерів, а період фракціонування триває 18–20 год.

Більш точним, з великою розрішальною здатністю є електрофорез у гелі. Це зумовлено досить легкою дифузією білкових молекул у середовищі гелю. Крім того, цей метод не потребує значних витрат часу. Існує кілька модифікацій електрофорезу гемоглобіну в гелі. Доведено, що гемоглобін щурів, так само як і у більшості тварин та людей, являє собою гетерогенну сполуку, в яку входять кілька компонентів, число яких за різними даними не завжди збігається, що зумовлено, в основному, використанням різних методів електрофорезу.

У своїх дослідженнях ми користувалися методом Грабара і Буртена [1] з деякою модифікацією.

На відміну від найбільш вивченого гемоглобіну людини, фракціонування гемоглобіну білих щурів здійснюється краще при заміні веронал-мединалового буфера рН 8,6 фосфатним, з рН 7,2–7,4: натрій фосфорнокислий двозаміщений ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times$

$\times 2\text{H}_2\text{O}$) 3,4 г; калій флюорид до 1 л.

Виявилось, що для жувати пластинку з гелем водою (запропоноване В. потрапити у холодильну камеру 13×18×0,5 см) з оскляної пластинки з гелем

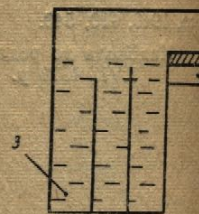


Рис. 1. Загальний вигляд установки: 1 — пластинка з гелем; 2 — охолоджувальний пристрій.

Рис. 2. Електрофорез.

1, 2, 3, 4 — нумерація фракцій.

Перед використанням на 12 год дистильована вода, а витриманий прот

Пробу гемолізату голени при застиганні гелю на 1,5–2 см від середини

В таких умовах при 1,5 год мігрує на відстані друга і третя становлять

Для виявлення швидкості або контрольна проб

Слід додержуватись при більших концентраціях

Для точного кількісного визначення пов'язаних з електрофорезом фарби амідом, щоб вистачило на кількісний аналіз

Заливка агару безпосередньо фракцій методом електрофорезу

Перед заливкою агару буфері целофановою плівкою

Після проведення електрофорезу зв'язаного з гемоглобіном з свіжою целофановою плівкою розчин: гліцерину — 75 мл

казували Глозман і Ка-
функції безпосереднього
човин.

М., 1928, 20, 44.
р. терапия, 1963, 4, 40.
ение и обменное перели-
и.
ды терапии острых ток-

в в эксперименте. Опыты.
анов, М., Медгиз, 1960.

1956, 4, 17.
VIII, 3, 346.
атол, М., 1968, 84.
экспер. терапия, 1969, 2,

апітаух, 1858, 1, 666.

гар., 1923, 35, 269.
agmasodyn. et de therap.,

— J. Toracic Surg., 1954,

Надійшла до редакції
2.IV 1971 р.

УДК 612.11.13

ЕЛЕКТРОФЕРЕЗУ

АГАРУ

огомольця АН УРСР, Київ

им методом хімічного ана-
широко використовується у
значних успіхів у вивчен-
методу електрофорезу По-
криття нового патологічного

електричний заряд, то під
ую швидкістю, що й вико-

рез. Рух заряджених частот,
рі, пористих порошках, гелі

ез на папері. Але з допомо-
озподілу біополімерів, а пе-

е електрофорез у гелі. Це
середовищі гелю. Крім того,

а модифікації електрофорезу
амо як і у більшості тварин
ть кілька компонентів, число
влено, в основному, викорис-

абара і Буртена [1] з деякою

ини, фракціонування гемогло-
нал-мединалового буфера рН
і двоаміщений ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times$

$\times 2\text{H}_2\text{O}$) 3,4 г; калій фосфорнокислий однозаміщений (KH_2PO_4) 0,32 г; вода дисти-
льована до 1 л.

Виявилось, що для чіткого розподілу гемоглобуліну на фракції необхідно охолод-
жувати пластинку з гелем. Ми використали проточне охолодження водопровідною
водою (запропоноване В. М. Федоричем), яка в теплий період року перед тим як
потрапити у холодильну камеру охолоджується льодом до 9–11°С. Камера (розмі-
ром 13×18×0,5 см) з органічного скла (рис. 1) служить водночас підставкою для
скляної пластинки з гелем агару (3).

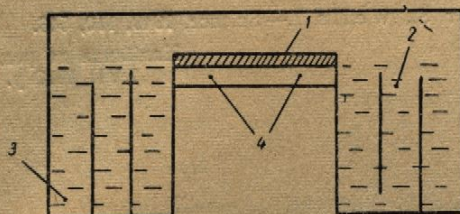


Рис. 1. Загальний вигляд камери.

1 — пластинка з гелем, 2 — буфер, 3 — електроди,
4 — охолоджувальна камера з вхідним та вихід-
ним отворами.

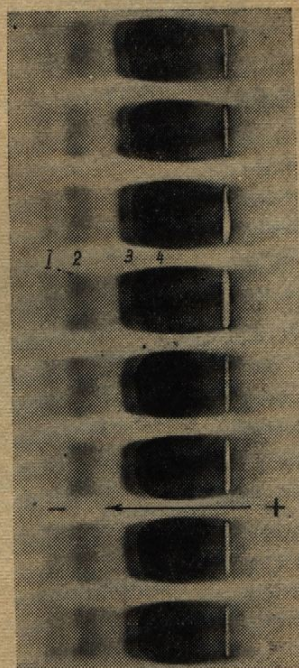


Рис. 2. Електрофореграма гемоглобіну шу-
рів.

1, 2, 3, 4 — нумерація фракцій за швидкістю
міграції.

Перед використанням агару Діфко, як підтримуючого середовища, його залива-
ли на 12 год дистильованою водою. Краще використовувати не свіжо виготовлений
гель, а витриманий протягом 24 год в холодильнику, при температурі близько 4°С.

Пробу гемолізату готували звичайним методом і вносили у вузькі канавки, зроб-
лені при застиганні гелю з допомогою «гребінки» з органічного скла. Канавки зміще-
ні на 1,5–2 см від середини скляної пластинки на нанесений гель.

В таких умовах при градієнті напруги струму 7–8 в/см гемоглобін шурів за
1,5 год мігрує на відстань 5 см і розділяється на чотири фракції, з яких перша,
друга і третя становлять 22–25%, а четверта 78–75% (рис. 2).

Для виявлення швидкості міграції поряд з пробями гемолізату наноситься «сві-
док» або контрольна проба.

Слід додержуватись однакової концентрації гемоглобіну в гемолізатах, оскільки
при більших концентраціях гемоглобіну швидкість міграції III і IV фракцій підви-
щується.

Для точного кількісного визначення фракцій необхідна стандартизація всіх опе-
рацій, пов'язаних з електрофорезом. Зокрема, значний розбіг даних може бути зумов-
лений заміною фарби амідочорний 10В. Тому потрібно готувати її з таким розраху-
ном, щоб вистачило на кілька серій експериментів.

Заливка агару безпосередньо на скляну пластинку утруднює кількісне визна-
чення фракцій методом елюації. Це дуже легко усунути.

Перед заливкою агару скляну пластинку слід щільно покривати змоченою в
буфері целофановою плівкою, краї якої загинаються під пластинку.

Після проведення електрофорезу, фіксації, просушки, фарбування і вимивання
не зв'язаного з гемоглобіном барвника, мокра плівка агару кладеться на пластинку
з свіжою целофановою плівкою. Після цього пластинку вміщується на 15 хв в такий
розчин: гліцерину — 75 мл, льодової оцтової кислоти — 25 мл, дистильованої води —

400 мл. Після такої обробки пластинки висушуються при кімнатній температурі. Прозора і еластична плівка агару знімається разом з целофаном з скляної пластинки для наступного кількісного визначення фракцій методом денситографії або елюації.

Оптична щільність елюатів вимірюється на ФЕК-М при зеленому фільтрі.

Література

1. (Grabar P., Burtin P.) Грабар П., Буртэн П.— Иммуноэлектрофоретический анализ, Изд. ИЛ, 1963.
2. Pauling L., Itano H., Singer S., Wells I.— Science, 1949, 110, 543.

Надійшла до редакції
7.VII 1970 р.

УДК 616. 432

Влияние о.л.-
идов у цыплят. К
ко Н. Д., Турчин
стр. 435—441.

В опытах на
плазме (флуоромет
гельфилтрации), в
тометрическим мет
щие в надпочечни
введения о.л.-ДДД
в плазме, при про
сравнению с контр
шалось в два раза
при удлинении сро
костероидов через
значительно сниже
кортикостерона в
в дозе 20 мг восс
вающая способност
изменялась. Морфо
ингибитора наблю
Табл.— 2, рис.

УДК 612.454

Содержание 1
и кастрированных
рова Г. Н. Физиоло

В работе при
(кортикостерона) в
тактных, кастриро
ных, а затем адре
надпочечников).

Проведенные
на в периферическо
цов. У кастрирован
выше, чем у интакт

Двусторонняя
стерона в перифер
после адrenaлэкто
вению. Наибольшее
ся на третьи и пят
тые — пятнадцатые
но повышается, од
адrenaлэктомирова
экстирпации надпоч
ния кортикостерона
налэктомию, и боле
тии половых гормо
у крыс.

Табл. 1, библи