

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КАЛІЮ, НАТРІЮ І КАЛЬЦІЮ В ІЗОЛЮВАНИХ НЕРВОВИХ КЛІТИНАХ З ДОПОМОГОЮ ІНТЕГРУЮЧОГО ПОЛУМ'ЯНОГО МІКРОСПЕКТРОФОТОМЕТРА

О. П. Волхонович

*Лабораторія фізико-хімічних вимірювань Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ*

Дані про концентрацію іонів калію, натрію і кальцію в ізолюваних нейронах необхідні при вивченні ряду фізико-хімічних і метаболічних процесів, здійснюваних у цих клітинах. Для вимірювання концентрації іонів в окремих клітинах найбільш перспективний метод полум'яної мікроспектрофотометрії [1, 5]. Принцип його полягає в тому, що іони, які містяться в клітині, переводяться в збуджений стан при введенні в полум'я горілки, і при цьому реєструється емісійний спектр їх випромінювання.

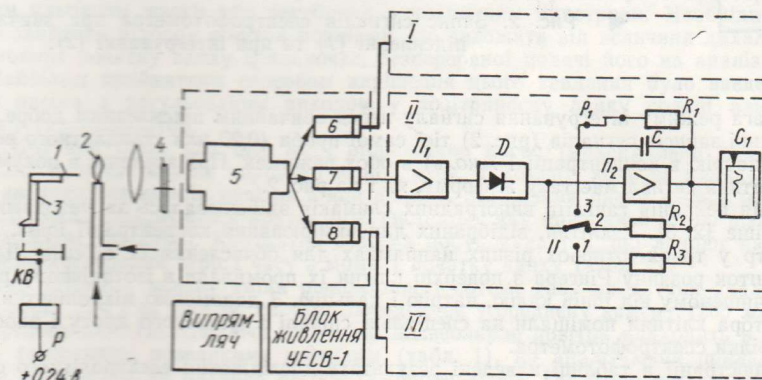


Рис. 1. Блок-схема інтегруючого полум'яного мікроспектрофотометра.
 $C = 0,1$ мкф, $R_1 = 200$ ом, $R_2 = 1$ ком, $R_3 = 4,3$ мом.

Для вимірювання вмісту іонів калію, натрію і кальцію в ізолюваних нейронах був застосований описаний раніше [4] чотириканальний мікроспектрофотометр. У зв'язку з введенням у нього режиму інтегрування сигналу схема приладу зазнала деяких змін, зв'язаних, в основному, з підсиленням сигналу на змінному струмі. Для цієї мети перед вхідною щільною монохроматором встановлений модулятор світлового потоку 4 (рис. 1), який працює з частотою 460 гц. Це дозволило одержувати з фотоелектронних помножувачів (ФЕП) корисний сигнал у вигляді імпульсів цієї ж частоти та відокремлювати його від повільно змінюваного в часі темнового струму ФЕП, який заважав роботі приладу в режимі інтегрування.

Оскільки електрофотометр має три однакових канали електронної обробки сигналу (I, II, III), то на блок-схемі (рис. 1) наведений лише один II канал, два інші позначені пунктиром. Керування роботою операційного підсилювача здійснюється з допомогою перемикача Π і реле P . У положенні 1 перемикача Π операційний підсилювач працює в звичайному режимі підсилення сигналу, положення 2 — вимкнено. У положенні 3 операційний підсилювач працює в режимі інтегрування сигналу, конденсатор C — інтегруючий. Перед внесенням спіралі 1 з пробую в полум'я горілки 2 держак 3 відводиться в крайнє положення і замикає контакти кінцевого вимикача KB , який вимикає реле P .

Контакти реле замикаються і інтегруючий конденсатор C розряджається, переходячи, таким чином, у вихідний стан.

В момент внесення спіралі в полум'я горілки відбувається збудження іонів проби з випромінюванням енергії у видимій частині світлового діапазону. Енергія випромінювання через монохроматор 5 потрапляє на ФЕП і перетворюється на електричні сигнали, які поступають далі на підсилювач $П_1$, детектор $Д$ і на операційний підсилювач $П_2$, де інтегруючий конденсатор C заряджається до величини пропорційної кількості збуджених іонів. Напруга конденсатора вимірюється і реєструється самописцем C_1 ($H=37$).

Результати вимірювання електролітного складу ізолюваних нейронів виноградного слимака

Дср. нейронів (мкм)	Vср. нейронів (мкМ³) · 10³	Вміст речовини (г) · 10 ⁻¹⁰			Концентрація (ммоль)		
		K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺⁺
100	5,23	21,5	1,85	4,2	132,0	19,4	25,0
115	8,0	28,3	2,1	2,0	122,0	11,4	6,25
120	9,1	44,0	4,5	7,0	124,0	21,6	19,3
140	14,3	64,0	3,5	9,3	115,0	10,7	16,2
192	36,7	89,0	5,9	13,0	62,2	7,0	8,9
200	41,8	137,0	11,8	16,5	84,0	12,4	9,9
240	72,0	270,0	11	33,0	96,0	6,7	14,3
Середні значення концентрацій:					105,03	12,74	14,54

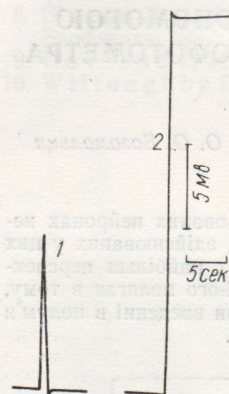


Рис. 2. Запис сигналів спектрофотометра при звичайному підсиленні (1) та при інтегруванні (2).

Перевага режиму інтегрування сигналу перед звичайним підсиленням добре видна при порівнянні записів сигналів (рис. 2) тієї самої проби (0,20 мкл стандартного розчину хлористого натрію в концентрації 1 ммоль) в обох режимах. При введенні в полум'я ізолюваної клітини сигнал має таку ж форму, як і на рис. 2.

Ізоляція нейронів гангліїв виноградних слимаків здійснювалась за методами, описаними раніше [2, 3]. У клітин, відібраних для вимірювання концентрації іонів, визначали діаметр у трьох-чотирьох різних напрямках для обчислення їх об'ємів. Для видалення решток розчину Рінгера з поверхні клітин їх промивали в ізотонічному розчині сахарози, очищеному від іонів калію, натрію і кальцію. З допомогою мікропіпетки і мікроманіпулятора клітини поміщали на спеціальні спіралі з іридієвого дроту і вносили в полум'я горілки спектрофотометра.

Для ілюстрації в таблиці наведені результати дослідження електролітного складу кількох ізолюваних нейронів.

Література

1. Каулин А. Б.— Цитология, 1966, 8, 1, 130.
2. Костенко М.— Цитология, 1972, 14, 10, 1274.
3. Костенко М. А., Вепринцев Б. Н.— В сб.: Биофизика живой клетки, Пушкино, 1972, 3, 132.
4. Можаяев Г. А., Волхонович О. П.— Физиол. журн. АН УРСР, 1974, 20, 3, 402.
5. Giacobini E., Novotak S., Kometicianj Z.— Acta physiol. scand., 1967, 71, 391.

Надійшла до редакції
7.І 1975 р.