

Чутливість використаної флуориметричної реакції дорівнює 0,01 мкг тестостерону. В діапазоні 0,05—2,0 мкг виявлено лінійну залежність інтенсивності флуоресценції від кількості стероїда. Загальні втрати тестостерону під час аналізу дорівнювали 48%. Вихід тестостерону, який додавали до гомогенату у кількості 2,0 мкг, становив 108%. Визначена описаним методом концентрація тестостерону в сім'яниках білих щурів 5—7-місячного віку дорівнює $74 \pm 8,2$ нг в 1 г залози, що узгоджується з даними літератури [1].

Література

1. Бабичев В. Н., Волина Е. В. Содержание тестостерона в семенниках крыс при стереотоксическом разрушении различных областей гипоталамуса.— Пробл. эндокринолог., 1970, 16, № 5, с. 61—64.
2. Куроедова И. А., Размадзе Т. Г., Фанченко Н. Д. Определение тестостерона в плазме крови методом конкурентного связывания белками.— Пробл. эндокринолог., 1973, 19, № 5, с. 30—36.
3. Юдаев Н. А. Биохимия стероидных гормонов коры надпочечников, М., 1956. 135 с.
4. Benraad Th. J. e. a. Comparison and evaluation of a competitive protein binding and a gaschromatographic method for the assay of testosterone in peripheral human plasma.— J. Steroid Biochem., 1972, 3, № 3, p. 325—330.
5. Domingues O. V. Chromatography of steroids on paper. In: Steroid Hormone Analysis. Vol. 1 (Ed. by H. Carstensen) N.—Y., 1967, p. 135—138.
6. Dufau M. L., Catt K. J., Tsuruhara T. A. A sensitive gonadotropin responsive system: Radioimmunoassay of testosterone production by the rat in vitro.— Endocrinology, 1972, 90, № 4, p. 1032—1040.
7. Hubl W., Scholberg K. Die fluorometrische bestimmung von testosterone, epitestosterone und androst-4-en-3, 17-dion nach dünn-schichtchromatographischer isolierung aus dem harn.— Acta endocrinol., 1968, 58, № 3, S. 353—363.
8. Ismail A., Loraine J. Recent studies on androgenic function in human subjects.— J. Obstet. and Gynaec. Brit., 1968, 75, № 9, p. 929—940.
9. Orli E., Neuwirth J., Scharoun J. Red Fluorescence of C₁₉ and C₂₁ Steroids.— Ann. Biochem., 1969, 32, № 3, 381—385.
10. Suzuki G., Eto T. Androgens in testicular venous blood in the adult rat.— Endocr. Jap., 1962, 9, № 4, p. 277—283.
11. Zander J. Progesteron.— In: Methods in Hormone Research. Vol. 1. New York—London, Acad. Press, 1962, p. 91—137.

Київський інститут ендокринології
та обміну речовин

Надійшла до редакції
19.VII 1976 р.

УДК 543.545

Ю. Я. Бойко

АПАРАТ ДЛЯ ВЕРТИКАЛЬНОГО ЕЛЕКТРОФЕРЕЗУ В ПОЛІАКРИЛАМІДНОМУ ГЕЛІ З ОХОЛОДЖЕННЯМ

Останнім часом перевага відокремлення білків методом вертикального диск-електрофорезу дістала загальне визнання. З допомогою цього методу вдалося відокремити і частково ідентифікувати білки сироватки крові, імуноглобуліни, гемоглобін, гормони гіпофіза, колаген, актин, білки шкіри тощо. Проте істотним недоліком цього методу є два фактори: а) досить складно визначити кількісне співвідношення фракцій відокремлюваного субстрату; б) майже неможливо регулювати температурний режим відокремлюваного матеріалу. Проте перший недолік був легко усунутий завдяки деякій модифікації [2]. Позитивна якість цього методу полягає в тому, що відокремлення здійснюється не в цільному циліндричному гелі, як це прийнято в усіх промислових апаратах, а в пустотілому циліндрі, стінка якого після обробки електрофореграми розрізається по поздовжній осі, після чого циліндр перетворюється на пластинку. Така фореграма може бути успішно оброблена на будь-якому денситометрі.

Другий недолік, що стосується регулювання температурного режиму, поки не усунутий. Відомо, що якість відокремлення речовин в поліакриламідному гелі тим вища, чим менша тривалість відокремлення і чим вища напруженість електричного поля [1]. Проте зі збільшенням напруження прямо пропорційно посилюється виділення тепла, що несприятливо впливає на фізико-хімічні властивості відокремлюваних ком-

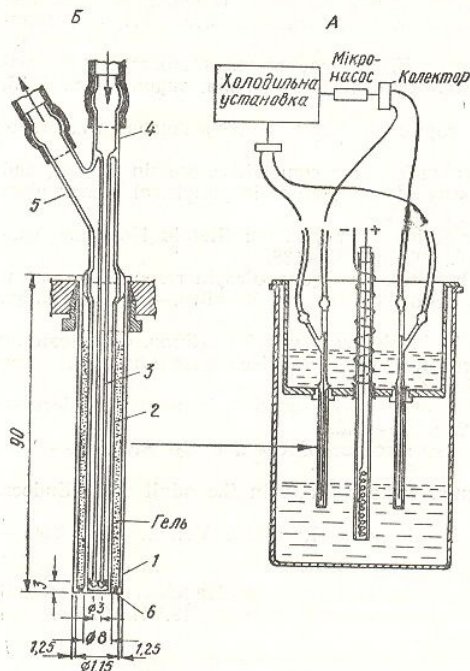
понентів. А деякі білки, зокрема ферменти, можуть відокремлюватися тільки при низькій температурі. Вміщення електрофоретичного апарата в холодильну камеру не може забезпечити необхідного температурного режиму. Так, при напрузі 150—200 В і силі струму 5 мА на одну трубку, вони нагріваються понад 27° С.

Ми пропонуємо пристрій, що дає можливість регулювати температурний режим середовища, в якому здійснюється електрофоретичне відокремлення субстрату. Для такого охолодження можна застосувати будь-які рідинні охолоджувальні установки, які мають пристрій для підтримання стабільної температури. У своїх дослідках для відокремлення розчинних білків лімфатичних вузлів, сироватки крові ми користуємось проточною водопровідною водою або рідиною, охолодженою в побутовому холодильнику.

Для відокремлення ферментів, що потребують низьких температур, необхідні досить потужні холодильні установки, які заправляються охолодженими сумішами. Прописи охолодження сумішей можна одержати в будь-якому біохімічному довіднику, стосовно до поставлених завдань.

На рисунку, А, наведена принципіальна схема електрофоретичного апарата з охолодженням. З холодильної установки подається на колектор, а з колектора через гумові шланги на електрофоретичні трубки. Після електрофоретичних трубок рідина знову подається в холодильну установку.

На рисунку, Б, наведена схема електрофоретичної трубки. Вона виконана із скла і складається з циліндра (1) висотою 90 мм з внутрішнім діаметром 11,5 мм. В цей циліндр вставляється стержень (2) діаметром 8 мм. У верхній своїй частині він має шліфи, підігнані під циліндр. Причому, шліфи зроблені не по всій окружності, а тільки



Електрофоретичний апарат (А) та електрофоретична трубка (Б).
Пояснення в тексті.

з двох боків, що забезпечує доступ у простір, де здійснюється полімеризація гелю, замкнутий між внутрішньою стінкою циліндра і зовнішньою — стержня. В нижній частині стержень центрується хлорвініловими смужками, заклеюється лейкопластиром та заплавляється парафіном. Мономер вноситься в трубку через отвори, де відсутні шліфи. Згори на мономер нашаровується вода. Після закінчення полімеризації, про яку можна судити з чіткої лінії відокремлення між поліакриламідним гелем і водою, електрофоретична трубка готова до внесення зразка і до електрофорезу. Охолоджувальна рідина через патрубок (4) подається на капіляр (3), який знаходиться всередині стержня, не доходячи до кінця його на 3—5 мм. Омиваючи таким чином внутрішній об'єм стержня, охолоджувальна рідина уносить тепло, утворюване при електрофорезі, і через патрубок знову подається в холодильну установку. Така конструкція електрофоретичних трубок дає можливість відокремлювати білки при напрузі 500—600 В і силі струму 10—15 мА на одну трубку. Ці умови дають можливість у короткий строк відокремлювати найрізноманітніші блоки з високою якістю відокремлення. Фон у таких електрофореграмах цілком прозорий, що свідчить про мінімальні втрати відокремлюваного субстрату, а висока напруга півелює явища дифузії.

Література

1. Маурер Г. Диск-електрофорез. М., «Мир», 1971. 247 с.
2. Назаренко В. И., Лишко В. К., Кудинов С. А. Електрофорез і авторадіографія на поліакриламідном геле. — Лабор. дело, 1971, № 5, с. 309—311.

Центральна науково-дослідна лабораторія
Київського інституту вдосконалення лікарів

Надійшла до редакції
15.XII 1975 р.

УДК 591.112.5

ПРИСТРІЙ АЛЬВЕ

В методиці дослідження газів правильний і своєчасний вибір приладів для цієї мети, включають, ліній їх роботою використовується під час дихального циклу [1—6]. Пристрої використовуються електричні, рухомі, сильфони, електричні складні елементи. Ці пристрої мають великий мертвий об'єм, наявність електричних контактів, значна вага за рахунок вентилів, як сильфон, електромагніт, громіздкість конструкції.

Схема пристрою для відбору проб повітря в комплекті з дихальною маскою, 2 — впускний клапан, 4 — гумова мембрана, 5 — балон, 6 — газопровід, 8 — газопровід, А — міжклапанний простір, Б — заклапанний простір.

Розроблений нами пристрій зменшує мертвий дихальний простір, фізіологічні умови дихання.

В даному пристрої відбір складових відповідають альвеолярно-мембранній масці встановлена еластична мембрана, подібним розширенням патрубка, або водяним газоприймачем.

Пристрій для відбору проб апарату маскою або загубником (див. рис. 1) та еластичну мембрану 4, вкріплену в балон 5, сполучений з патрубком 7, один в розташованому під мембраною 4, патрубком 8. До заклапанного простору відведення видихуваного повітря.

При видиху повітря з міжклапанного простору 3 надходить у заклапанний простір 4, в результаті втрати кінцевої порції видихуваного повітря еластична мембрана 4 під тиском розширення патрубка 7, переміщується в патрубок 8 в автоматичному режимі.

При вдиху тиск у міжклапанному просторі цього еластичної мембрани сідлоподібного розширення патрубка 7 через балон 5 надходить у газоприймач.

Технічні дані пристрою: вага — 5 мм вод. ст., напруга на вдиху — 5 мм вод. ст., напруга на видиху, що відскакує, виступає від 5 до 15 мм.

Пристрій у комплекті з дитячою, підлітковою і дорослою в умовах вантаження і показав високі якості повітря, одержаного при застосуванні казників, наведених в літературі.