

Изобретение относится к области криобиологии, в частности к изучению проницаемости цитоплазматических мембран зародышей млекопитающих.

Одним из основных параметров при изучении проницаемости цитоплазматических мембран являются изменения клеточного объема.

Наиболее близким к заявленному, выбранным в качестве прототипа, является способ определения изменений клеточного объема, при котором зародыш помещают в исследуемый раствор и фотографируют под микроскопом через определенные промежутки времени. После получения негативов изображения проецируют на бумагу постоянной толщины и обводят контур зародыша.

Полученные изображения вырезают и взвешивают. Объем определяют как функцию веса вырезанного фрагмента бумаги.

Недостатком такого способа является высокая трудоемкость, длительность и необходимость многочисленного фотографирования объектов.

Задача изобретения - обеспечение возможности изучения быстропроникающих веществ, повышение точности измерений и снижение трудозатрат при определении осмотических параметров зародышей млекопитающих по изменениям клеточного объема.

Поставленная задача решается тем, что в способе, включающем косвенное определение под микроскопом объемов зародышей по их геометрическим характеристикам при переносе зародышей из растворов одной концентрации в раствор другой концентрации, согласно изобретению, после помещения зародыша в первый раствор определяют количество отраженного объектом света, помещают его во второй раствор и непрерывно определяют количество отраженного объектом света и скорость его изменения до достижения зародышем осмотического равновесия и по отношению клеточных объемов и скорости их изменения при переносе из первого раствора во второй судят об осмотических параметрах клетки.

Осуществляется способ следующим образом: зародыш в капле изотонического раствора помещают под микроскоп, освещают по методу "темного поля" и при помощи фотометрического устройства определяют количество отраженного объектом света. Затем переносят зародыш в исследуемый раствор и определяют количество отраженного объектом света до достижения зародышем осмотического равновесия. Отношения количеств отраженного зародышем света в первом и втором растворах функционально связаны с отношением клеточных объемов.

Пример. Заявляемый способ реализован на полуавтоматической установке для изучения осмотической реакции зародышей млекопитающих, которая представлена на чертеже (фиг.).

Установка состоит из термостатируемой камеры 1, устройства смены растворов 2, терморегулятора 7, осветителя "темного поля" 8, фотометрического устройства 4, аналого-цифрового преобразователя 5, персонального компьютера 6.

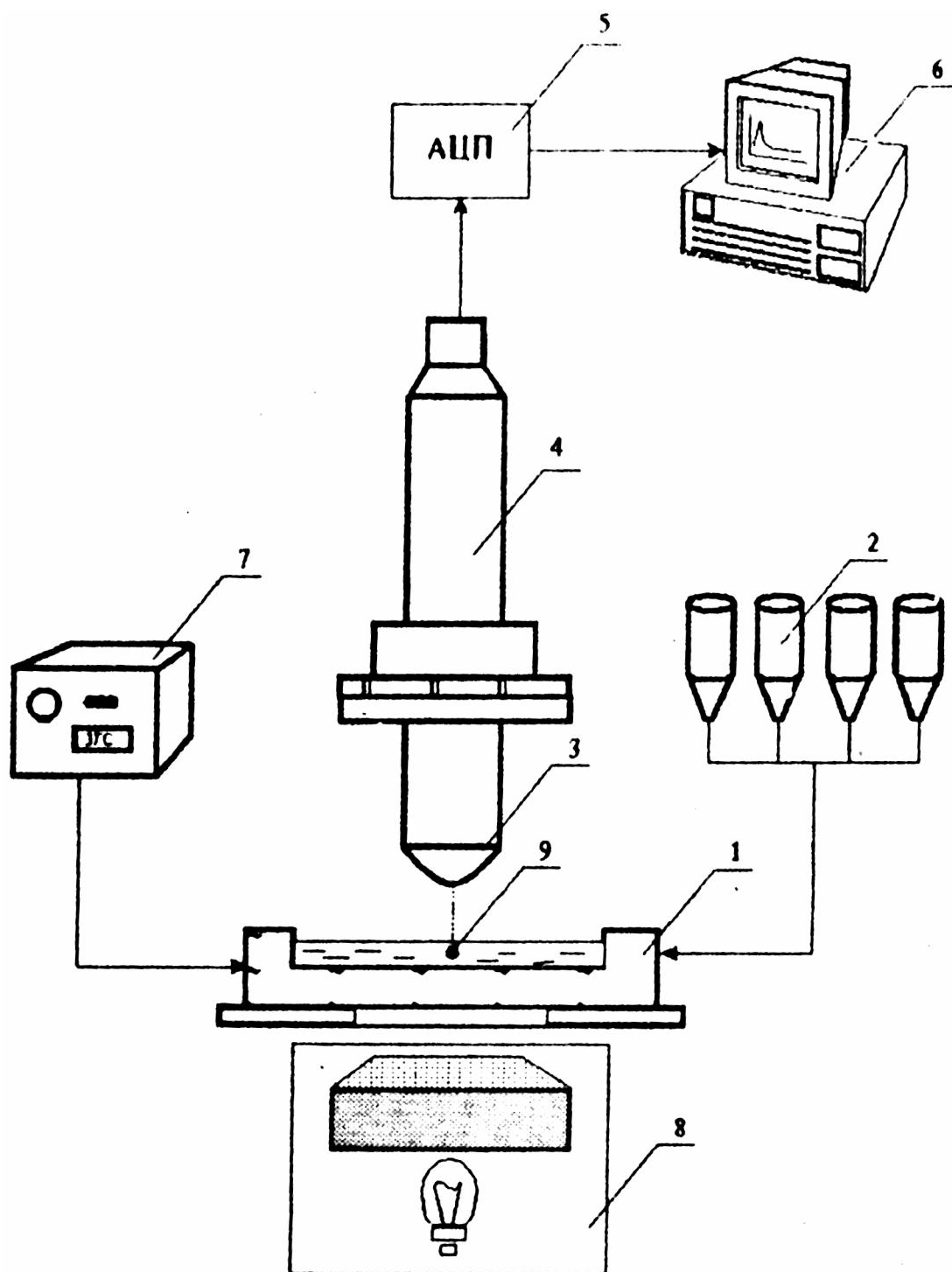
Установка работает следующим образом.

Зародыш 9 помещают в камеру 1, в которую

при помощи устройства смены растворов 2 подают изотонический раствор, температура которого поддерживается терморегулятором 7. Объект 9 освещается 8 освещают по методу "темного поля". Отраженный объектом свет через объектив микроскопа 3 попадает в фотометрическое устройство 4, где преобразуется в электрический сигнал. Этот сигнал при помощи аналого-цифрового преобразователя 5 преобразуется в цифровой код и фиксируется персональным компьютером 6. Далее производят замену раствора в камере 1 и в процессе изменения клеточного объема до равновесного состояния регистрируют значения фототока и скорость их изменения. По окончании эксперимента создается файл значений фототока, которые функционально связаны со значениями клеточного объема. После этого, зная зависимость клеточного объема от времени и используя разработанную нами физико-математическую модель осмотической реакции, рассчитывают значения изменений относительного клеточного объема, а по ним - значения коэффициентов проницаемости цитоплазматических мембран к исследуемым веществам и энергии активации транспорта этих веществ.

Проведенные эксперименты на зародышах коровы, свиньи, овцы и мыши показали, что применение заявляемого способа позволяет изучить проницаемость быстропроникающих веществ, существенно повышает точность измерений и значительно сокращает трудозатраты на получение и обработку экспериментальных результатов.

Способ может быть реализован на серийно выпускаемом оборудовании и не требует разработки специальных средств и устройств.



Фиг.