

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ИМПУЛЬСНОЙ КОНДУКТОМЕТРИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БИОЛОГИЧЕСКИХ КЛЕТОК

В.А. Шигимага¹, канд. с.-х. наук, **Ю.Е. Мегель**², докт. техн. наук

¹ – Ин-т животноводства НААН,

ул. 7-й Гвардейской Армии, пгт. Кулинич, Харьков. р-н, Харьков. обл., 362404, Украина

² – ХНТУСХ им. П. Василенко,

ул. Артема, 44, Харьков, 61002, Украина

Приведены назначение, техническое описание, обоснование характеристик и конструкция нового комплекса для измерения параметров электропроводности одиночных клеток животных и жидких сред разработанным методом импульсной кондуктометрии с представлением результатов о его применении. Библ. 21, рис. 5.

Ключевые слова: импульсная кондуктометрия, измерительный комплекс, проводимость, клетка, жидкая среда.

Вступление. В клеточной инженерии для получения эмбрионов животных с прогнозируемыми признаками широко применяются методы электроманипуляции с клетками [20, 21]. Эти методы основаны на неразрушающем воздействии сил электрического поля (ЭП) на живые клетки и их структурные элементы (мембраны) с целью получения реконструированных эмбрионов (электрослияние), управляемого транспорта различных веществ через мембрану (электропорация, электротрансфекция), сближения клеток перед слиянием (диэлектрофорез) и т.п. [15, 21]. В частности, в технологии электрослияния выполняется точечный электропробой места контакта мембран сливаемых клеток импульсным электрическим полем (ИЭП) [16].

Результаты собственных исследований в направлении практических приложений основных методов электроманипуляции в репродуктивной биологии животных привели к выводу, что в основу всех этих методов следует положить импульсную кондуктометрию клеток и жидких сред, с помощью которой оказалось легко обосновать необходимые режимы воздействия на них ЭП, в частности ИЭП [6, 7].

Метод кондуктометрии широко применяется в исследованиях физико-химических процессов, связанных с изменением электропроводности различных объектов, содержащих ионы, в том числе и биологических [1, 17]. Поскольку электропроводность напрямую зависит от количества растворенных и диссоциированных веществ в растворителе, то этот простой в технической реализации и эффективный метод позволяет определять концентрацию вещества в жидкости, причем с довольно высокой чувствительностью и точностью [1]. Несмотря на то, что метод кондуктометрии известен уже более 120 лет (Ф. Кольрауш, 1885, [12]) и успешно применяется для измерения проводимости жидких сред, в классическом варианте его совсем не учитывается зависимость проводимости среды от напряженности электрического поля, поскольку на измерительную ячейку подается напряжение, неизменное по амплитуде. В то же время известно, что проводимость среды – величина непостоянная. Она зависит от многих внешних факторов: в первую очередь, от напряженности поля, применяемого в качестве тестового воздействия на объект с целью вызвать в нем проводящие свойства, а также температуры, материала электродов, содержания CO₂ в воздухе и проч. Отсюда возникает необходимость исследования проводимости объектов в поле с изменяемой напряженностью. Впервые такое исследование проводимости некоторых электролитов в ИЭП с различной напряженностью провел М. Вин (1924, 1927) [18, 19]. Ему удалось разработать оригинальную методику измерений и обнаружить эффект, связанный с нарушением закона Ома в сильных полях. Однако техническое решение измерительной аппаратуры и состояние науки того времени не позволили, по-видимому, пойти далее исследования проводимости электролитов. С тех пор этот подход, согласно данным литературных источников, в отношении к биообъектам нигде не использовался, но, как показали дальнейшие исследования [6], он стал возможным лишь после принципиального усовершенствования метода для работы с биологическими клетками.

Таким образом, анализ известных методов и аппаратуры кондуктометрии показал, что они не могут быть применены непосредственно для измерения электропроводности живых одиночных клеток животных без коренной переработки на основе нового технического принципа воздействия на эти объекты ИЭП с возрастающей по заданному закону напряженностью. Применение ИЭП, благодаря импульсному воздействию, решает ряд проблем, связанных с поляризационными и электролизными явлениями на микроэлектродах и в жидкой среде. При этих условиях также постепенно проявляются свойства клеток и сред, связанные с электропорацией мембран и наличием гидратированных ионов в растворе соответственно. При достижении определенного значения напряженности поля, индивидуальной для каждой клетки, возникает так называемый необратимый электропробой с разрушением клетки в результате повреждения или разрыва мембраны, сопровождаемый выбросом цитоплазмы (лизис) и резким ростом проводимости [8]. Если не доводить клетку до такого состояния, то электропорация является обратимой. Этот эффект с успехом можно использовать, например, при разработке метода и технических средств для автоматизации прижизненной оценки состояния клеток, тем самым повысив ее объективность и надежность. Открывается также возможность разработки ряда методик и способов определения индивидуальных биофизических характеристик клетки на основе определения ее проводимости в ИЭП [7].

Отсюда вытекает актуальность разработки для репродуктивной биологии технических средств и методов определения состояния живых клеток животных разных видов на определенных стадиях развития (ооциты, эмбрионы) по их электропроводящим свойствам в ИЭП с возрастающей напряженностью. В реализации метода импульсной кондуктометрии сохранена простота классического подхода, который сочетается с новыми техническими решениями. Это не требует больших затрат и вычислительных ресурсов, позволяет повысить информативность определения электрофизических свойств биообъектов, имеющих чувствительные структурные элементы (мембраны) и склонных к необратимому разрушению с потерей жизнеспособности при превышении критических значений внешних воздействий.

Материалы и методы. Материалом для разработки кондуктометрического комплекса послужили данные предварительных исследований характера электропроводности репродуктивных клеток (ооцитов) и жидких сред в ИЭП с изменяемой напряженностью, полученные с помощью аппаратуры, разработанной одновременно с данными исследованиями. В дальнейшем для измерения электропроводности клеток и жидкостей в ИЭП была построена математическая модель взаимодействия поля с биологическими клетками и жидкими средами, что позволило найти значения оптимальных параметров комплекса.

Основная цель применения метода и аппаратуры импульсной кондуктометрии заключается в получении экспериментальных зависимостей удельной проводимости клеток и жидких сред от напряженности ИЭП, изучении их характера и обработке результатов исследования с помощью современных прикладных программ.

Результаты исследований и обсуждение. Кондуктометрический комплекс для биологических клеток и жидких сред представляет собой единую измерительную систему радиоэлектронных, оптических и механических устройств. Общий вид комплекса показан на рис. 1.

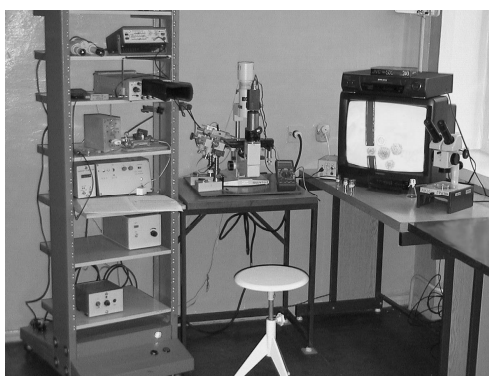


Рис. 1

На рис. 2 представлена схема радиоэлектронного измерительного устройства, которое состоит: из генератора прямоугольных импульсов (ГПИ) с ручным запуском и предустановкой амплитуды и длительности, цифрового двухканального запоминающего осциллографа (ОСЦ) RIGOL, декадного делителя с прецизионными резисторами R_k и измерительных микроэлектродов (ИЭ) из золотой нити, запаянной в стеклянный капилляр [2]. Микроэлектроды закреплены в держателях позиционеров и при измерениях находятся в поле зрения инвертированного микроскопа БИОЛАМ-П1 с авторегулятором температуры столика, который поддерживает заданную температуру на предметном стекле. Микроскоп и позиционеры установлены на виброгасящей плите для подавления возможных колебаний микроэлектродов и клетки в процессе измерений. Для наблюдения и видеозаписи морфологической динамики клеток в средах под воздействием ИЭП в окуляр микроскопа встроена цветная микровидеокамера VA-32С с выходом на видеомаягнитофон PANASONIC и видеомонитор DAEWOO. В один из окуляров микроскопа встроена шкала для измерения геометрических параметров клеток и микроэлектродной ячейки.

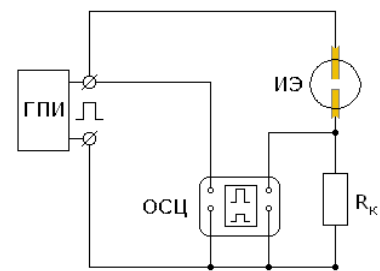


Рис. 2

Измерительная схема, показанная на рис. 2, в сравнении с известными имеет существенные отличия [14]:

1. Конструкция ячейки представляет собой соосные подвижные микроэлектроды, имеющие по три степени свободы.
2. В качестве измерительного прибора использован осциллограф, что позволяет измерять амплитуду импульса напряжения заданной длительности и регулируемой скважности.
3. На биообъект подаются прямоугольные импульсы напряжения, линейно возрастающие по амплитуде, обеспечивающие соответственно возрастающую напряженность поля между микроэлектродами.

Указанные особенности потребовали обоснования параметров элементов схемы ГПИ, ИЭ и R_k для расчета и конструирования измерительного устройства.

Геометрические параметры, конструкция и материал микроэлектродов обоснованы ранее [2, 10].

Оценка параметров ГПИ сводится к выбору формы, максимальной амплитуды выходного напряжения, длительности импульса и выходной мощности. Форма импульса должна быть прямоугольной с плоской вершиной, поскольку измерения амплитудные. Максимальная амплитуда выходного напряжения ГПИ определяется из условий возможности достижения необратимого электропробоя мембраны исследуемой клетки. Для репродуктивных клеток и эмбрионов животных напряженность электропробоя мембраны заведомо не превышает 4,5 кВ/см [7, 15, 21]. Напряженность поля, предполагаемого однородным, определяется как

$$E = U/d, \quad (1)$$

где U – напряжение на микроэлектродах; d – расстояние между ними. С учетом различного размера клеток 100...200 мкм и расположения микроэлектродов вплотную к ним, значение максимальной амплитуды выходного напряжения ГПИ составляет около 100 В. Что касается длительности импульса, то ее выбирают в интервале 20...150 мкс, руководствуясь соображениями безопасности для клетки [15, 21], проводимостью среды и условиями эксперимента.

Одним из критических параметров надежной электропорации мембраны клетки является скорость нарастания напряжения (крутизна импульса), которая должна быть около 1 В/нс [13, 15]. Отсюда следует, что длительность фронта импульса при максимальной амплитуде напряжения должна быть около 100 нс.

Выходная мощность ГПИ рассчитывается так, чтобы обеспечить неизменную амплитуду сигнала при работе на нагрузку, имеющую минимальное активное сопротивление, что характерно для буферных питательных клеточных сред с высоким содержанием солей (около 1500 Ом). Поэтому для полной передачи амплитуды импульсного сигнала $U_{\text{вблх}}$ в нагрузку без потерь достаточно обеспечить максимальную амплитуду на внутренней нагрузке ГПИ

$R_{вн}$ 50 Ом. Тогда максимальная выходная мощность, определяемая для прямоугольного импульса как $P = U_{вых}^2 / R_{вн}$, должна составить около 200 Вт в импульсе.

Таким образом, при оптимизации параметров схемы ГПИ нужно одновременно сочетать следующие технические требования. Необходимо реализовать простоту конструкции, безопасность и надежность, а также схема должна обеспечивать высокие характеристики по крутизне импульса, мощности, максимальной амплитуде и точности ее воспроизведения, поскольку последняя влияет на погрешность измерения.

Согласно полученным значениям параметров принципиальная схема ГПИ состоит из следующих блоков: формирователя длительности импульса с ручным запуском и согласующего инвертора с высоковольтным усилителем мощности (ВУМ) (трехкаскадный усилитель на транзисторах в ключевом режиме с выходным каскадом по схеме повторителя). ГПИ работает на постоянную внутреннюю нагрузку 50 Ом, с которой снимается изменяемое напряжение для формирования заданной напряженности поля между микроэлектродами. Подключение измерительных средств установки выполнено через плату внешних соединений (ПВС). ПВС закреплена на предметном столике микроскопа рядом с микроэлектродами, чтобы снизить электрические наводки на сигнальные провода. Соединение выхода ГПИ с ПВС выполнено кабелем РК-50. Измеренные реальные характеристики ГПИ таковы. Максимальная амплитуда напряжения на выходе 98 В, погрешность установки амплитуды 0,7 %, выходная мощность 192 Вт в импульсе на внутренней нагрузке 50 Ом, длительность импульса регулируется в пределах 2...300 мкс (0,5 %), а длительность фронта не более 120 нс при максимальной амплитуде.

При выборе элементной базы для построения ВУМ были приняты следующие расчетные значения. Верхняя граница частоты полосы пропускания F_g , необходимая для передачи прямоугольного импульса без искажений фронта определяется как $F_g \approx 0,4/\tau_\phi$, где τ_ϕ – активная длительность фронта, заключенная между уровнями 0,1 и 0,9 амплитуды импульса [3]. Отсюда при требуемой длительности фронта 100 нс F_g равна всего 4 МГц, что в принципе позволяет применить для построения каскадов ВУМ недорогие мощные биполярные транзисторы средней частоты. Однако при этом возникает проблема затягивания фронта импульса, вследствие особенностей конструкции таких транзисторов, имеющих довольно большие емкости коллекторного C_k и эмиттерного $C_э$ переходов. Исходя из того, что в импульсном (ключевом) режиме транзистор обладает переходными характеристиками, необходимо учесть накопление заряда неосновных носителей в базе и емкостями C_k и $C_э$ [4, 5]. Из этого следует необходимость предварительного расчета параметров формирования импульсов для выбора типа транзисторов.

Расчет длительности переходных процессов в транзисторном ключе легче всего провести методом заряда [3, 5]. Связь скорости накопления заряда в базе токами перезарядки коллекторных $C_k dU_{кб}/dt$ и эмиттерных $C_э dU_{бэ}/dt$ емкостей и тока базы $I_б$ представлена уравнением

$$\frac{dq}{dt} + C_k \frac{dU_{кб}}{dt} + C_э \frac{dU_{бэ}}{dt} + \frac{q}{\tau} = I_б(t), \quad (2)$$

где q – заряд, а τ – время жизни носителей тока. Если токи коллекторного и эмиттерного переходов невелики, то уравнение (2) упрощается:

$$\frac{dq}{dt} + \frac{q}{\tau} = I_б(t). \quad (3)$$

При подаче на базу скачка напряжения в транзисторном ключе возникает переходный процесс. Базовый ток получает приращение и становится равным:

$$I_б^+ = K_{нас} \cdot I_{бнас}, \quad (4)$$

где $K_{нас} = I_б^+ h_{21э} \cdot R_k / E_k$ – коэффициент насыщения транзистора; E_k – напряжение на кол-

лекторе; $h_{21Э}$ – коэффициент усиления по схеме с ОЭ; R_K – коллекторное сопротивление нагрузки; $I_{бнас}$ – ток насыщения базы. Тогда переходный процесс протекает согласно уравнению

$$\frac{dq}{dt} + \frac{q}{\tau} = I_{б}^+ . \quad (5)$$

Решение уравнения (5) с учетом граничных условий [3, 5] имеет следующий вид:

$$I_{бнас} \cdot \tau = I_{б}^+ \cdot \tau \left(1 - e^{-t_{нас}/\tau} \right) . \quad (6)$$

Откуда время насыщения, учитывая (4), имеет вид

$$t_{нас} = \tau \cdot \ln \frac{K_{нас}}{K_{нас} - 1} . \quad (7)$$

Тогда активная длительность фронта импульса будет

$$\tau_{\phi} = \tau \cdot \ln \frac{K_{нас} - 0,1}{K_{нас} - 0,9} . \quad (8)$$

Общее время включения транзистора

$$\tau_{вкл} = \tau_3 + \tau_{\phi} , \quad (9)$$

где τ_3 – время задержки фронта импульса коллекторного тока, в течение которого происходит перезарядка емкостей C_K и C_3 , но данная величина мала по сравнению с τ_{ϕ} , поэтому ею можно пренебречь. Величина $\tau_{вкл}$ обычно приводится в справочниках для переключающих транзисторов.

В конце сформированного импульса коллекторного тока в транзисторе также возникает переходный процесс – стадия среза импульса. Но поскольку длительность среза импульса не является определяющим параметром процесса электропорации клеточной мембраны, эту стадию можно не рассматривать.

Расчет по формуле (8) длительности фронта импульса мощного транзистора средней частоты, например, КТ858 дает значение $\tau_{\phi} \approx 1,2$ мкс. Это более чем на порядок выше требуемого значения. Однако проблема легко решается путем введения форсирующей емкости C_{ϕ} в цепях баз транзисторов ВУМ с целью уменьшения длительности фронта импульса [3]. Ее величину можно оценить следующим образом:

$$3(R_2 + R_{ex}) \cdot C_{\phi} \leq \tau_u , \quad (10)$$

где R_2 – внутреннее сопротивление источника сигнала; R_{ex} – входное сопротивление каскада, образованное базовым резистором и сопротивлениями переходов транзистора; τ_u – длительность импульса. Оценка величины форсирующей емкости по формуле (10) дает значение $C_{\phi} \approx 2...10$ нФ. Путем подбора емкостей из этого диапазона удалось получить близкую к требуемой длительность фронта около 120 нс (при $U_{вых} \approx 100$ В). Нужно заметить, что для уменьшения τ_{ϕ} использовать мощные ВЧ транзисторы не целесообразно, так как они склонны к самовозбуждению. Это потребует коррекции, к тому же обычно у них $U_{кэ} \leq 100$ В, что недостаточно, учитывая импульсный режим работы и, наконец, они в несколько раз дороже и массивнее.

Электрические величины, используемые для вычисления проводимости объекта, представлены на схеме рис. 3.

Для измерения исходных электрических величин и последующего расчета проводимости применен метод последовательного с микроэлектродами калиброванного прецизионного резистора R , с которого осциллографом снимается падение напряжения. Номинал резистора R выбирается декадным переключателем из ряда $R = 0,01...100$ кОм ($\pm 0,05\%$) так, чтобы значение его обратной величины было не более 0,01 от измеряемой проводимости объекта ме-

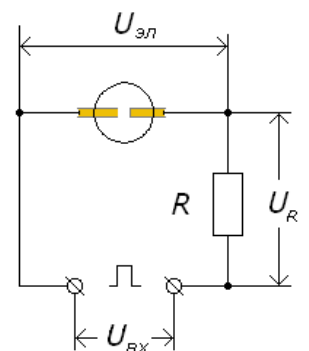


Рис. 3

жду микроэлектродами. При этом погрешность измерения за счет падения напряжения на R не должна превысить 1%. Поскольку цепь последовательная, можно записать на основании законов Ома и Кирхгофа систему уравнений (11), используя измеряемые величины U_{ex} и U_R , показанные на рис. 3:

$$\begin{cases} U_{эл} = U_{ex} - U_R, \\ G_{эл} \cdot U_{эл} = \frac{U_R}{R}. \end{cases} \quad (11)$$

Отсюда, исключая неизвестное $U_{эл}$, получаем проводимость объекта между микроэлектродами:

$$G_{эл} = \frac{U_R}{R(U_{ex} - U_R)}. \quad (12)$$

Поскольку классическое выражение для удельной проводимости имеет вид

$$G_{уд} = G_{эл} \cdot k, \quad (13)$$

то для вычисления удельной проводимости объекта полученный результат (12) надо умножить на геометрический параметр кондуктометрической ячейки k . Он вычисляется по формуле [10]

$$k = \frac{12 \left(1 + \sqrt{1 + \frac{4L^2}{d^2}} \right)}{\pi \left[3 \frac{d^2}{L} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{4L^2}{d^2}} \right) + 4L \right]}, \quad (14)$$

где L – расстояние между микроэлектродами; d – диаметр одного из них.

Диаметр микроэлектрода – неизменная величина, а L – переменная, которая может меняться в ходе эксперимента и непосредственно измеряется в делениях по шкале окуляр-микрометра микроскопа. Поэтому для практических измерений оказалось удобным протабулировать параметр k с шагом половины цены деления шкалы окуляр-микрометра. Для расчета проводимости объекта между микроэлектродами достаточно умножить измеренную проводимость на значение параметра k из таблицы в соответствии с делениями шкалы окуляр-микрометра.

Таким образом, импульсный метод измерения проводимости клетки заключается в следующем. Наносят каплю любой, применяемой в биотехнологии, среды с клеткой на предметное стекло микроскопа. Погружают в нее микроэлектроды, располагают между ними клетку (рис. 4), и через равные интервалы времени (по сигналу таймера) подают на них от ГПИ прямоугольные импульсы с линейно возрастающей от нуля амплитудой.

Значение амплитуды, длительность импульса и интервалы времени определяются условиями эксперимента. Далее рассчитывают проводимость клетки в среде по формулам (12)...(14). Вычисленные значения проводимости наносят на график в зависимости от напряженности ИЭП.

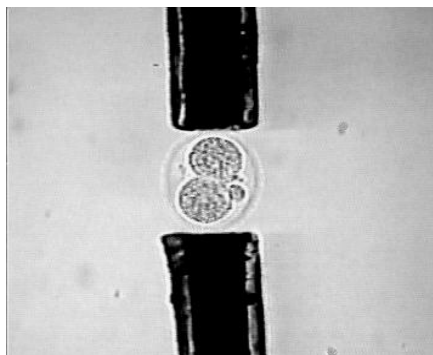


Рис. 4

С помощью метода импульсной кондуктометрии легко определяются параметры ИЭП, необходимые и достаточные для реализации любых технологий электромаанипуляции с клетками, в частности, электрослияния. На рис. 5 показан пример типичной зависимости удельной проводимости двухклеточного эмбриона мыши от напряженности ИЭП в 0,3М среде сахарозы.

Двуклеточный эмбрион взят в качестве удобной модели сливаемых клеток [8]. Видно, что при напряженности поля около 1 кВ/см проводимость клетки резко растет – возникает обратимый электропробой места контакта

мембран двух бластомеров. Это и есть режим электрослияния. Если бы на этом этапе было прекращено повышение напряженности и завершен процесс обработки эмбриона ИЭП, то через некоторое время бластомеры образовали бы общую мембрану [6, 8]. Если же повышение напряженности продолжается, то далее идет фаза стабилизации мембран при напряженности 1,1...1,6 кВ/см – квазилинейный участок [8]. Это стадия объединения мембран и цитоскелетов двух бластомеров, и продолжение действия ИЭП в этом случае можно рассматривать как адекватную стимуляцию этого процесса. Дальнейший рост напряженности поля до 1,9...2,5 кВ/см приводит к тому, что проводимость клетки снова быстро растет – возникает второй обратимый пробой обоих бластомеров. При этом разрушаются цитоскелеты, и клетка входит в состояние гиперстимуляции. При напряженности поля около 2,8 кВ/см возникает последний, но уже необратимый электропробой с разрывом мембраны, как правило, одного из бластомеров (со стороны анода), и клетка лизирует. Таким образом, графическое представление изменения удельной проводимости клетки с ростом напряженности поля позволяет обнаружить и исследовать все стадии электропорации мембраны, обратимый и необратимый электропробой и целенаправленно подобрать необходимый режим воздействия ИЭП на клетку в соответствии с поставленной задачей электроманипуляции.

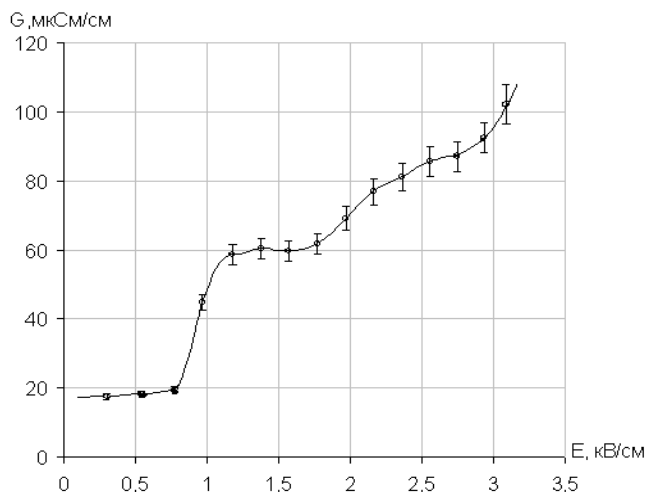


Рис. 5

Заключение. Разработанный комплекс аппаратуры позволяет определять удельную электропроводность одиночных клеток животных и жидких сред в диапазоне $0,1 \dots 10^5$ мкСм/см (с погрешностью не более 4 %, определенную с помощью прецизионных резисторов вместо микроэлектродов) в ИЭП напряженностью $0 \dots 10$ кВ/см и некоторые биофизические параметры клетки, например, электрическую прочность мембраны и емкость [7]. Кроме того, комплекс можно применять для различных электроманипуляций с клетками животных [6–9], например:

- визуализации силовых линий поля путем диэлектрофореза эритроцитов млекопитающих (вместо ГПИ использовать ГВЧ меандра 0,05...1,6 МГц);
- реконструкции эмбрионов животных (клонирования) путем электрослияния, в частности, цитопластов с бластомерами, получения клеточных химер и т.п.;
- стимуляции созревания *in vitro* ооцит-кумулюсных комплексов млекопитающих;
- исследования электропорации мембран ооцитов и эмбрионов животных в разных средах.

В настоящее время импульсный кондуктометрический метод и разработанный комплекс аппаратуры применяются для исследования проводимости ооцитов и эмбрионов мыши [11]. Перспективность его использования обусловлена возможностью измерения в различных, в том числе криобиологических средах, а также возможностью контроля чистоты дистиллята, качества мёда и воды из природных источников.

Импульсный кондуктометр метрологически аттестован ведомственной комиссией Института животноводства НААН как нестандартное средство измерения проводимости одиночных клеток и жидких сред.

Выводы. 1. Обоснованы технические характеристики измерительного устройства для импульсной кондуктометрии клеток и жидких сред.

2. Разработан, изготовлен, испытан и метрологически аттестован импульсный кондуктометр в составе комплекса аппаратуры для репродуктивной биологии.

1. Андреев В.С. Кондуктометрические методы в биологии и медицине. – М.: Медицина, 1973. – 335 с.
2. Лисин В.И. Методика изготовления металлических микроэлектродов // Вісн. Полтавського ДСГІ. – 2001. – № 2–3. – С. 41–42.

3. *Линде Д.П.* Справочник по радиоэлектронным устройствам. – М.: Энергия, 1978. – Т.1. – 440 с.
4. *Манаев Е.И.* Основы радиоэлектроники. – М.: Радио и связь, 1990. – 512 с.
5. *Степаненко И.П.* Основы теории транзисторов и транзисторных схем. – М.: Энергия, 1977. – 672 с.
6. *Шигимага В.А.* Опыт разработки аппаратуры и технологии электроманипуляции с клетками животных // Электрифікація та автоматизація сільського госп-ва. – Київ. – 2007. – № 1(20). – С. 53–63.
7. *Шигимага В.А.* Метод и аппаратура импульсной кондуктометрии одиночных клеток животных и жидких сред // Акт. вопр. биофизики и химии: VII Междунар. науч.-техн. конф., г. Севастополь, 26–30 апр. 2011 г. – Севастополь, 2011. – С. 25–26.
8. *Шигимага В.А.* Определение проводимости эмбриональных клеток животных // Проблемы бионики. – 2003. – Вып. 59. – С. 60–64.
9. *Шигимага В.А., Пинигин И.В.* Визуализация электрического поля между микроэлектродами различной геометрии посредством диэлектрофореза эритроцитов // Зб. наук. пр. Луганськ. НАУ. – 2007. – № 75 (98). – С. 34–40.
10. *Шигимага В.А.* Форм-фактор кондуктометрической ячейки с изменяемой геометрией // Восточно-европейский журнал передовых технологий. – 2010. – № 6/5 (48). – С. 45–48.
11. *Шигимага В.А., Мегель Ю.Е.* Метод определения проводимости ооцитов и эмбрионов в различных условиях диэлектрической среды // Вестн. НТУ «ХПИ». Новые решения в современных технологиях. – 2011. – № 9. – С. 140–144.
12. Южный Федеральный университет / Сайт факультета физической химии. – Режим доступа: \www/ URL: <http://www.physchem.chimfak.rsu.ru/Source/History>
13. *Яковенко С.А., Трубицин Б.В.* Электропоратор клеточных мембран с цифровой генерацией импульсов произвольной формы // Биофизика. – 2003. – Т. 48. – Вып. 3. – С. 480–498.
14. Пат. 22334 Україна, МКІ G01R 27/22. Импульсный кондуктометр для рідин: / *В.О. Шигимага, В.І. Лісін*; – № u200610922; Заявл. 16.10.06; Опубл.25.04.07; Бюл. № 5. – 4 с.
15. Animal cell electroporation and electrofusion protocols / edited by *J.A. Nickoloff*. N.J.: Humana Press. – 1995. – 369 p.
16. *Mekid H.* In vivo cell electrofusion / *H. Mekid, L.M. Mir* // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – V.1524. – P.118–130.
17. *Pavlin M., Miklavcic D.* Effective conductivity of a suspension of permeabilized cells: a theoretical analysis // Biophys J. – 2003. – V. 85, № 2. – P. 719–729.
18. *Wien M.* Über die Gültigkeit des Ohmschen Gesetzes für Elektrolyte bei sehr hohen Feldstärken // Annalen der physik. – 1924. – V.73. – № 3/4. – P.161–181.
19. *Wien M., Malsch J.* Über eine Nullmethode zur Messung von Widerständen mit kurzen Stromstößen // Annalen der physik. – 1927. – V. 83. – № 11. – P. 305–326.
20. *Yanagimachi R.* Cloning: experience from the mouse and other animals // Mol. Cell. Endocrinol. – 2002. – V.187. – № 1–2. – P. 241–248.
21. *Zimmermann U., Neil G.A.* Electromanipulation of cells. N.Y.: CRC Press, 1996. – 375 p.

УДК 621.317: 543.555: 57.043

В.О. Шигимага¹, канд. с.-г. наук, **Ю.С. Мегель**², докт. техн. наук

1 – Ін-т тваринництва НААН,

вул. 7-ї Гвардійської Армії, 3, смт. Кулиничі, Харків. р-н, Харків. обл., 62404, Україна

2 – Нац. техн. ун-т сільського господарства ім. П. Василенка,

вул. Артема, 44, Харків, 61002, Україна

Застосування методу імпульсної кондуктометрії для дослідження електричних характеристик біологічних клітин

Наведено призначення, технічний опис, обґрунтування характеристик та конструкція нового комплексу для вимірювання параметрів електропровідності одиночних клітин тварин і рідких середовищ розробленим методом імпульсної кондуктометрії з представленням результатів його застосування. Бібл. 21, рис. 5.

Ключові слова: імпульсна кондуктометрія, вимірювальний комплекс, провідність, клітина, рідке середовище.

V.O. Shygy maga¹, **Ju.E. Megel**²

1 – Institute of animal science of NAAS,

7-Guardia Army str. 3, Post off. Kulynychi, Kharkiv. Distr., 62404, Ukraine

2 – National Technique University of agriculture,

Artem str.,44, Kharkiv, 61002, Ukraine

Application of pulse conductometry method to investigation of electrical characteristics of biological cells

Assignment, ground of characteristics, technical description and design of new complex for measurement of animal single cells and liquid media conductivity parameters by the developed pulse method conductometry with representation on results of its application are presented in article. References 21, figures 5.

Key words: pulse conductometry, measuring complex, conductivity, cell, liquid medium.

Надійшла 4.01.2012

Received 4.01.2012