

тока контура), то емкостный датчик за время τ позволяет разрешать смещение [5]

$$\Delta q = \Delta x \sqrt{\frac{\hbar}{2m\omega}} \approx \frac{d}{Q_e} \sqrt{\frac{\hbar\omega_e R}{u_0^2 \tau}}, \quad (9)$$

где d — расстояние между пластинами конденсатора, Q_e , R — добротность и сопротивление контура, u_0 — амплитуда генератора накачки. При этом внесится возмущение импульса согласно принципу неопределенности $\Delta y = \frac{1}{4\Delta x}$. Если частота накачки не попадает в полосу контура, то разрешение смещения в Q_e раз хуже. Поэтому можно считать, что регистрируемый диапазон изменения координаты равен $\frac{d}{Q_e}$. Для того чтобы получился «да-нет детектор» для измерения фазы с точностью $\Delta C \leq 1/\alpha$, надо потребовать (см. (9))

$$\frac{\hbar\omega_e R}{u_0^2 \tau} \approx 1, \quad \frac{d}{Q_e} = \frac{1}{4} \sqrt{\frac{\hbar}{m\omega\alpha}}$$

нетрудно показать, что при этом $\tau \geq 1/2 \alpha\omega$.

Естественно, предложенная процедура измерения может служить также и для создания «сверхкогерентного» состояния, так как она позволяет осуществить условия (7). При этом, правда, нельзя обеспечить дополнительно условия (8).

Автор глубоко благодарен В. Б. Брагинскому за постановку задачи и стимулирующие дискуссии, а также Ю. И. Воронцову и Ф. Я. Халили за обсуждение результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болошин И. А., Герценштейн М. Е. ЖЭТФ, 1978, 75, 1584.
2. Lonisell W. H. «Phys. Lett.», 1963, 7, 60.
3. Carruthers P., Nieto M. «Rev. Mod. Phys.», 1968, 40, N 2, 411.
4. Халили Ф. Я. Канд. дис. МГУ, 1978.
5. Брагинский В. Б. Измерение малых сил в физических экспериментах. М., 1967.

Кафедра
физики колебаний

Поступила в редакцию
24.11.78

УДК 778.317:576.311,347.

Э. Л. ХОЛМУХАМЕДОВ, Г. Б. ХОМУТОВ

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЗМЕРОВ МИТОХОНДРИЙ В ХОДЕ КОЛЕБАНИЙ ИОННЫХ ПОТОКОВ

В настоящее время внимание исследователей, работающих в области биоэнергетики, направлено на выяснение молекулярных механизмов, лежащих в основе возникновения колебательных режимов функционирования митохондрий (МХ) *in vitro* [1—4]. Анализ имеющихся на сегодняшний день результатов показывает, что одним из необходимых условий возникновения колебательного состояния является движение через мембрану МХ одно- и двухвалентных катионов [3, 4]. Так как внутренняя мембрана МХ осмотически активна, можно

ожидать, что циклическое накопление и выброс ионов K^+ и Ca^{2+} будет приводить к увеличению и уменьшению объема матрикса МХ. Соответствующие изменения концентраций катионов и субстратов окисления, локализованных в матриксе МХ, могут оказаться существенными в регуляции состояния МХ и генерации колебаний. Очевидно, что количественная оценка этих изменений невозможна без точного определения объема МХ и величины его изменений в ходе колебаний.

В настоящей работе изложен метод расчета истинного размера МХ по площади срезов, получающихся на электронных микрофотографиях, и приведены результаты такого расчета для МХ в колебательном состоянии. МХ отбирались и фиксировались глутаровым альдегидом [5] в разных точках колебательного цикла (см. рис. 1).

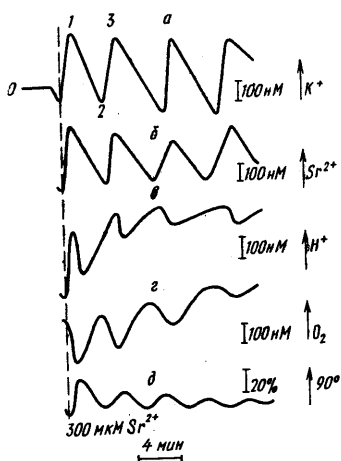


Рис. 1. Иницированные ионами Sr^{2+} колебания концентрации ионов (а, б, в, г), кривая д показывает изменение светорассеяния суспензии МХ под углом 90°

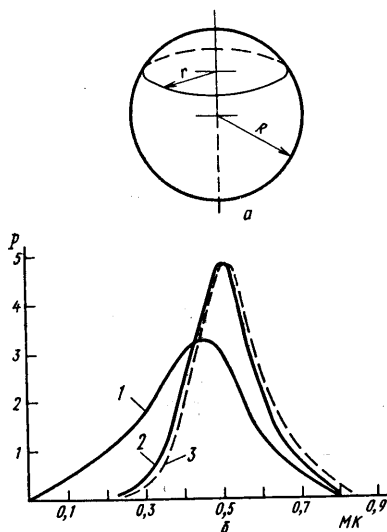


Рис. 2. Схема рассеяния митохондрии (а) и распределения митохондрий по размерам (б)

При этом условия инкубации и методика определения концентрации ионов те же, что и в [4]: 20 мМ сахарозы, 1 мМ KCl , 5 мМ янтарной кислоты, 12 мМ трисс-буфера, рН 7,5. К МХ добавлено 5 нг/мг МХ белка валиномицина.

Метод расчета распределения МХ по истинным размерам. Единственным методом прямого наблюдения за формой МХ является метод электронной микроскопии. Однако прямые измерения площадей сечений МХ, получающихся на фотографиях, не позволяют сделать каких-либо определенных выводов о размерах МХ, потому что площади сечения зависят как от гетерогенности популяции МХ, так и от высоты сечения данной МХ (рис. 2, а). Колебания потоков ионов происходят в гипотонической среде, поэтому МХ набухают и имеют сферическую форму. Об этом говорит то, что все сечения МХ круглые. На основе большого числа электронных микрофотографий срезов МХ

в виде гистограммы строится экспериментальное распределение плотности вероятности срезов в зависимости от их радиуса $P_{\text{эксп}}(r)$.

Если считать, что МХ в процессе приготовления образцов для электронно-микроскопических снимков рассекаются случайно, то плотность вероятности получить срез радиуса r для МХ радиуса R (рис. 2, а) запишется следующим образом:

$$g_R(r) = \frac{r}{R \sqrt{R^2 - r^2}}.$$

Вероятность $dF_{r,R}$ получить срез радиуса r , если имеются МХ разных размеров, а рассечена МХ радиуса R , имеет вид

$$dF_{r,R} = P_x(R) dR g_R(r) dr,$$

где $P_x(R) dR$ — вероятность того, что рассечена МХ радиусом R .

Сечение радиуса r можно получить, если будет рассечена любая МХ радиуса $R \geq r$, поэтому полная вероятность получить сечение радиуса r , которая и определяется на основе электронно-микроскопических снимков, равна

$$dr \int_r^{R_{\text{max}}} P_x(R) g_R(r) dR = P_{\text{эксп}}(r) dr,$$

где R_{max} — радиус самой большой рассеченной МХ (рис. 2, б).

Таким образом, мы получаем уравнение, связывающее распределение срезов МХ по радиусам $P_{\text{эксп}}(r)$ (1), полученное из опыта, с распределением рассеченных МХ по радиусам $P_x(R)$ (3).

$$P_{\text{эксп}}(r) = \int_r^{R_{\text{max}}} \frac{r}{R \sqrt{R^2 - r^2}} P_x(R) dR. \quad (1)$$

Вероятность того, что рассечена МХ радиуса R , пропорциональна линейным размерам МХ:

$$P_x(R) = kRP_0(R),$$

где $P_0(R)$ (2) — истинное распределение МХ по радиусам в объеме пробы; k — коэффициент пропорциональности. Значение k можно получить, проинтегрировав обе части по R :

$$\int_{R_{\text{min}}}^{R_{\text{max}}} \frac{1}{kR} P_x(R) dR = \int_{R_{\text{min}}}^{R_{\text{max}}} P_0(R) dR = 1, \quad k = \frac{1}{\bar{R}},$$

где R_{max} и R_{min} — максимальный и минимальный радиусы МХ на наших электронно-микроскопических фотографиях, \bar{R} — средний радиус МХ в распределении $P_x(R)$.

Окончательно для расчета истинного распределения МХ по радиусам получим выражение

$$P_0(R) = \frac{\bar{R}}{R} P_x(R),$$

где распределение $P_x(R)$ находится из уравнения (1) на основе полученного из эксперимента распределения сечений МХ $P_{\text{эксп}}(r)$ по радиусам r .

Результаты. Для построения $P_{\text{эксп}}(r)$ в каждой точке (см. рис. 1) было взято по 500 сечений МХ. Уравнение (1) решалось численным методом на ЭВМ «МИР-2», и по найденным значениям $P_x(R)$ было построено истинное распределение МХ по радиусам $P_0(R)$.

Данные, приведенные на рис. 2, б, относятся к точке 0 рис. 1. Аналогичные результаты получены и для других точек (1, 2, 3), указанных на кривых рис. 1.

Таким образом, решен вопрос об изменениях объема МХ в процессе колебаний. Сравнение результатов, полученных при обработке площадей срезов МХ в разных фазах колебательного цикла, показывает, что средние радиусы МХ в сокращенном и набухшем состоянии различаются в 1,8 раза, а объемы — более чем в 5 раз. Эти данные показывают, что при анализе молекулярных механизмов возникновения колебательных состояний в МХ необходимо учитывать изменения объема МХ, связанные с накоплением и выходом ионов, принимающих участие в колебаниях.

В заключение благодарим Г. А. Семенову за помощь в приготовлении препаратов для электронного микроскопа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pressman В. С. «Fed. Proc.», 1965, 24, 425.
2. Chance В., Joshioka Т. «Arch. Biochem. Biophys.», 1966, 117, 451—465.
3. Van D Cooch, Packer L. «Biochem. Biophys Acta», 1974, 346, 245—270.
4. Gylkhandanyan A. V. et al. «FEBS Lett.», 1976, 66, 44—47.
5. Peamer D. W., Utsumi K., Packer L. «Arch. Biochem. Biophys.», 1967, 121, 641—651.
6. Салтыков С. А. Стереометрическая металлургия. М., 1976, с. 276—286.
7. Кендалл М. Х., Стьюарт А. Теория распределения. М., 1966.

Кафедра
биофизики

Поступила в редакцию
27.06.78