

центрацию прогестерона по 50 день, и 86 из них опоросилось в нормальный срок.

8 свиноматок помимо высокой концентрации прогестерона в течение 50 дней после осеменения не опоросилось. Одна свиноматка, признанная на 17 день несупоросной, с уровнем прогестерона ниже 5 нг/мл, опоросилась. Наивысшую отмираемость зародышей обнаружили между 17 и 25 днем беременности (14%), а в дальнейших исследуемых периодах она составляла 3,3—6,6%.

Bielański A., Jodko Z. — **Detection of early embryonic and foetal mortality by means of measurements of plasma progesterone in pigs.**

Levels of plasma progesterone were measured in 166 sows on days 17, 25, 32, 40 and 50 after insemination.

On the 17th day 83.7% of sows were diagnosed as pregnant, with average progesterone level 16.7 ng/ml of plasma in contrast to nonpregnant sows with 2.4 ng/ml. Out of 139 sows diagnosed on the 17th day as pregnant, 94 showed elevated levels of progesterone until the 50th day and of these 83 farrowed at the expected time. The remaining sows showed decreased plasma progesterone below 5 ng/ml between the 17th and the 50th day and did not farrow. 8 sows did not farrow in spite of elevated levels of progesterone within fifty days after insemination. One sow diagnosed as nonpregnant with progesterone levels below 5 ng/ml on day 17, farrowed. The highest embryonic mortality was found between days 17 and 25 of pregnancy (14%), whereas in the following investigated periods varied between 3.3 and 6.6%.

BARBARA STANISŁAWSKA

Zmiany osoczowych frakcji białkowych, białka całkowitego i opadu krwinek czerwonych w przebiegu ciąży u lisic polarnych

Z Zakładu Fizjologii i Anatomii Zwierząt Instytutu Zootechnicznego AR-T w Bydgoszczy

Przemiany białkowe w przebiegu ciąży u samic zwierząt gospodarskich budzą od dawna zainteresowanie (3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 20). Zmiany stwierdzane w obrazie białek krwi w przebiegu ciąży różnią się znacznie u poszczególnych gatunków zwierząt.

W badaniach prowadzonych na ciężarnych klaczach Jaeschke i wsp. (6) nie obserwowali zmian ilości białka całkowitego w surowicy krwi. Poziom alfa globulin wyraźnie obniżał się pod koniec ciąży, beta i gamma globuliny wykazywały nieistotne zmiany, chociaż w czasie porodu występował krótkotrwały wzrost beta globulin.

U krów w przebiegu ciąży stężenie białka całkowitego surowicy krwi ulegało obniżeniu, zwłaszcza w ostatnich miesiącach ciąży (3, 4, 17, 20). Nie zawsze były to istotne różnice (8). Obniżonemu poziomowi białka całkowitego w surowicy krwi towarzyszył zazwyczaj obniżony poziom albumin (4, 6, 17), chociaż badania Nagórskiego (8) nie potwierdzają powyższych spostrzeżeń. Jak wynika z doniesień szeregu autorów globuliny alfa, beta i gamma zachowują się zmiennie. Gancarz (7) obserwował obniżenie poziomu beta globulin w okresie okołoporodowym oraz wzrost gamma w 5—8 miesiącach ciąży. Nagórski (9) w zakresie alfa i beta globulin nie obserwował istotnych zmian. Szulc (17) w przebiegu ciąży notował wzrost a następnie obniżenie gamma globulin.

Prusiewicz-Witaszek (11) oraz Prusiewicz-Witaszek i wsp. (12) w przebiegu ciąży u królic obserwowali w surowicy krwi obniżenie koncentracji białka całkowitego i albumin, wzrost frakcji globulinowych z wyjątkiem gamma, która wykazywała tendencję zniżkową.

Russel i wsp. (14) obserwowali w surowicy krwi kobiet ciężarnych obniżenie poziomu białka całkowitego z równoczesnym obniżeniem albumin. Globuliny alfa wykazywały małą zmienność w stosunku do okresu nieciążowego, chociaż w plazmie krwi obserwowali autorzy zwiększony poziom fibrynogenu. Globuliny beta cechowała mała zmienność, natomiast poziom globulin gamma zmniejszał się, jednakże wyrażone wartości w g/100 ml nie różniły się istotnie od poziomu tej frakcji u kobiet nieciążarnych.

W prowadzonych wcześniej badaniach własnych dotyczących przebiegu ciąży lisic polarnych odnotowano początkowy nieznaczny wzrost a następnie obniżenie koncentracji białka całkowitego z równoczesnym spadkiem i wzrostem globulin głównie beta (18).

Jak wynika z krótkiego przeglądu piśmiennictwa istnieje konieczność uwzględnienia różnic gatunkowych w badaniach nad przemianami białek w okresie ciąży.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono doniesień dotyczących gospodarki białkowej w przebiegu ciąży lisic polarnych.

Celem pracy było prześledzenie zmian w zawartości białka całkowitego i frakcji białkowych w osoczu krwi lisic polarnych, a także szybkości opadu krwinek czerwonych.

Material

Przedmiotem badań było 20 lisic polarnych, od których pobierano krew z żyły dostopowej zawsze w godzinach rannych przed karmieniem, przez okres ciąży, w odstępach dwutygodniowych, oraz jednorazowo po upływie jednego miesiąca od odsadzenia szczeniąt. Lisice były kryte dwu lub trzykrotnie w ciągu 2—5 dni licząc od momentu pojawienia ciecarki. Pierwsze

pobranie krwi następowało drugiego lub pierwszego dnia po ostatnim kryciu. Badania były prowadzone w dwóch fermach: Hodowli Zwierząt Futerkowych w Wiartlu, województwo suwalskie i Państwowego Ośrodka Hodowli Zarodowej w Łachowie, województwo bydgoskie. Doświadczalne lisice w przeważającej części były wieloródkami w wieku 2—6 lat, a tylko jedna była pierwiastką. Stan ogólny oraz stan utrzymania, odżywienia i pielęgnacji lisic był bardzo dobry i wszystkie były klinicznie zdrowe przez cały okres badań. W skład standardowych dawek pokarmowych w obu fermach wchodziły: mięso z kośćmi padłych zwierząt, odpady rzeźniane, ryby, mleko, kasza jęczmienna gotowana, płatki owsiane, drożdże, otręby pszenne, kielki suche i świeże, płatki ziemniaczane, susz z zielonek, warzywa aktualne w danej porze roku oraz Polfamiks L, Polfasol, Vitasol. Karmę podawano *ad libitum* jeden raz na dobę.

Z 20 objętych badaniami lisic jedna nie urodziła szczeniąt, u drugiej wszystkie szczenięta padły w ciągu pierwszego tygodnia po porodzie, pomimo prawidłowego przebiegu ciąży. Przyczyn padnięcia miotu nie udało się ustalić. Lisice te wykluczono z niniejszego opracowania. Pozostałych 18 lisic urodziło łącznie 192 szczenięta w miotach 3—17 sztuk.

U badanych lisic nie odnotowano poronień, chociaż w jednej z ferm zdarzały się przypadki poronień na tle salmonelozy. Jak ustalono na podstawie wywiadu lisice nie były szczepione w okresie ciąży.

Metody

W osoczech krwi pobieranej do próbek z suchym cytrynianem (10) oznaczano białko całkowite metodą mikrobiuretową (19). Rozdział białek prowadzono w buforze TEB (tris-EDTAN₂-kwas borowy) przygotowanym według proporcji podanych przez Aronsona (1) w modyfikacji Rajsa (13).

Fibrynogen oznaczano metodą biuretową (10) z użyciem chropowatych pałeczek szklanych. Opad krwinek czerwonych oznaczano w statywach „Pronto” w ustawieniu pionowym i odczytywano po 24 godzinach.

Wyniki badań opracowano statystycznie stosując wielokrotny test rozstępu (15).

Wyniki

Każde kolejne pobranie krwi oznaczano jako okresy ciąży od I do IV. Obejmowały one: I — 1—2 dni po kopulacji, II — 14 dni ciąży, III 28 dni ciąży, IV — 42 dni ciąży (około 10 dni przed porodem). Ostatnie V pobranie oznacza okres po upływie jednego miesiąca od odsadzenia lisiąt. Wyniki badań przedstawiono w tab. 1.

Białko całkowite. Poziom białka całkowitego tuż po kopulacji (I) był wysoki i nadal wzrastał, aż do okresu czterotygodniowej ciąży (III), następnie malał i w okresie IV na około 10 dni przed porodem osiągnął najniższą wartość. Stwierdzono, że poziom białka w okresie IV był statystycznie istotnie niższy w stosunku do okresów V i III (przy $P_{0,05}$). Między okresami I i IV różnic statystycznie istotnych nie było. Stężenie białka całkowitego w okresie I było istotnie niższe niż w okresach V i III (przy $P_{0,05}$).

Albuminy. Procentowy udział frakcji albuminowej w proteinogramach osocza w badanych okresach nie wykazywał istotnych zmian z wyjątkiem okresu III, w którym zaobserwowano najniższy jego poziom. Zawartość albumin wyrażona w g/100 ml w okresie III i IV wykazywała najniższą koncentrację i różniła się istotnie od tejsze wartości okresu V a także I i II (przy $P_{0,05}$).

Globuliny alfa₁. Statystycznie istotny wzrost tej frakcji stwierdzono tylko w okresie IV i to wyłącznie w stosunku do okresów III i V. W wartościach wyrażonych w g/100 ml różnic statystycznie istotnych nie było.

Globuliny alfa₂. W okresie III globuliny alfa₂ wykazywały najwyższy poziom i to zarówno w wartościach względnej jak i bezwzględnej przy statystycznie wysocze istotnych różnicach w stosunku do pozostałych okresów. Inne okresy pod tym względem nie różniły się statystycznie między sobą.

Obie frakcje alfa globulinowe wykazywały bardzo dużą zmienność w granicach 16,8—53,30%.

Globuliny beta₁. Na ogół globuliny beta₁ charakteryzowały się wyższymi wartościami w początkowym okresie ciąży. Procentowo najwyższą zawartość osiągnęła ta frakcja w okresie II i różniła się ona istotnie od wartości zanotowanej w okresie III i IV. Między pozostałymi okresami różnice były statystycznie nieistotne. Przy wyrażeniu w g/100 ml frakcja beta₁ globulinowa osiągnęła również najwyższą koncentrację w okresie II, który różnił się wysoce istotnie pod tym względem od okresu IV oraz istotnie od III. Po koniec ciąży frakcja ta posiadała najwyższą wartość bezwzględną.

Globuliny beta₂. Stosunkowo wysoki poziom osiągnęły te globuliny w późniejszych okresach ciąży, a szczególnie w III, w którym wzrosły wartości względne i bezwzględne tych frakcji.

Globuliny gamma. Zarówno w okresie ciąży jak i po odsadzeniu szczeniąt procentowa zawartość gamma globulin nie wykazywała większych wahań w proteinogramie, chociaż najwyższy poziom stwierdzono w III okresie ciąży. Wzrost tej frakcji wyraźnie potwierdzają wartości wyrażone w g/100 ml. Względne

Tab. 1. Stężenie białka całkowitego osocza, osoczowych frakcji białkowych i opadu krwinek czerwonych w okresie ciąży u lisic polarnych

Wskaźniki (liczba analiz)	Jednostki	Okresy badań									
		I		II		III		IV		V	
		\bar{x}	V	\bar{x}	V	\bar{x}	V	\bar{x}	V	\bar{x}	V
Białko całkowite (17)	g/100 ml	7,90	6,52	8,07**	8,00	8,60	7,42	7,52**	5,75	8,78	8,50
Albuminy (17)	%	38,66	11,30	37,49	10,67	32,11**	7,29	37,12	12,33	37,29	11,23
	g/100 ml	3,07	13,40	3,02*	13,40	2,76**	9,25	2,73**	10,73	3,30	11,78
Globuliny alfa ₁ (17)	%	8,87	24,06	9,51	20,50	8,07	33,83	9,94*	25,09	8,34	21,77
	g/100 ml	0,70	23,33	0,77	23,02	0,69	45,44	0,73	24,66	0,73	21,27
Globuliny alfa ₂ (17)	%	4,62	53,30	5,01	19,00	6,75**	15,18	5,18	23,78	5,17	21,66
	g/100 ml	0,36	51,25	0,40	19,91	0,58**	22,12	0,38	26,28	0,46	20,46
Globuliny beta ₁ (17)	%	5,09	31,55	5,70	21,02	4,24	21,60	4,35	38,62	4,96	25,65
	g/100 ml	0,40	28,77	0,45	17,25	0,36*	22,04	0,33**	38,80	0,44	12,19
Globuliny beta ₂ (17)	%	19,33	15,05	18,90	7,89	23,28**	7,60	20,38	9,52	19,39	16,00
	g/100 ml	1,54*	18,45	1,52*	12,43	2,00**	10,91	1,54*	14,36	1,73	23,00
Globuliny gamma (17)	%	23,42	16,68	23,31	11,92	25,39	12,95	23,04	16,68	24,83	12,82
	g/100 ml	1,86**	17,53	1,89**	15,41	2,21	21,59	1,74**	17,36	2,20	18,48
Stosunek albuminowo-globulinowy		0,64*	18,44	0,61	17,61	0,48**	10,44	0,59	27,54	0,56	44,57
Opad (13)	mm	14,69	88,45	11,19	147,4	66,15**	41,33	36,38**	42,24	4,61	86,46
Fibrynogen (15)	g/100 ml	—	—	0,238	57,02	0,243	23,41	0,230	21,19	0,232	31,99

Objaśnienia: \bar{x} — średnia arytmetyczna, V — współczynnik zmienności, * — różnice istotne w stosunku do okresu V przy $P_{0,05}$, ** różnice istotne w stosunku do okresu V przy $P_{0,01}$.

zmienności, * — różnice istotne w stosunku do okresu V przy $P_{0,05}$, ** różnice istotne w stosunku do okresu V przy $P_{0,01}$.

i bezwzględne wartości gamma globulin w okresie II i V były zbliżone a wyrażone w g/100 ml różniły się wysoko istotnie od pozostałych okresów ciąży.

Stosunek albuminowo-globulinowy. Najniższy stosunek albuminowo-globulinowy wystąpił w III okresie i stwierdzono statystycznie wysoko istotną różnicę w stosunku do pozostałych okresów ciąży oraz w odniesieniu do okresu V.

Odczyn Biernackiego. Największe przyspieszenie opadu krwinek czerwonych zanotowano w końcowych okresach ciąży różniących się wysoko istotnie lub istotnie pod względem szybkości opadu od pozostałych okresów badań, chociaż opad w IV okresie nie był tak wysoki jak w III.

Fibrynogen. W okresie ciąży zanotowano statystycznie nieistotny wzrost fibrynogenu szczególnie w okresie IV, w którym frakcja alfa₁ globulinowa osiągnęła najwyższą wartość procentową.

D y s k u s j a

W badaniach własnych początkowe okresy trwania ciąży u lisic polarnych (okresy I i II) nie wykazywały większych zmian pod względem analizowanych wskaźników, jednakże w stosunku do okresu po odsadzeniu szceniąt zanotowano pewną zmienność. Podobnie jak u kobiet, także u samic dużych zwierząt gospodarskich i roślinożernych zwierząt futerkowych — w późniejszych okresach ciąży występowało obniżenie poziomu białka całkowitego, z tym, że u lisic poprzedzał je wyraźny wzrost szczególnie uwidaczniający się w czwartym tygodniu ciąży (III). Podwyższenie zawartości białka ogólnego w tym okresie uwarunkowane było wzrostem względnej i bezwzględnej ilości białek osoczowych o wysokim ciężarze cząsteczkowym głównie beta i gamma globulin z równoczesnym spadkiem albumin, co w konsekwencji prowadziło do gwałtownego przyspieszenia opadu krwinek czerwonych. Jak się wydaje niski wskaźnik hematokrytowy (18 oraz dane własne nieopublikowane) wpływał dodatkowo na wielkość odczynu Biernackiego. Zmniejszenie zawartości albumin w drugiej połowie ciąży związane jest być może ze wzrostem ciężaru wątroby i pojawieniem się dużej ilości mitoz w tym gruczole, co zostało stwierdzone u szczurów laboratoryjnych (2). Nasuwa się sugestia, że powyższe zmiany są przygotowaniem wątroby do produkcji białek potrzebnych w okresie laktacji, natomiast w okresie ciąży ważniejsze są globuliny.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono pracy poświęconej białkom osocza w okresie trwania ciąży u zwierząt (przeważnie badania są prowadzone na surowicach krwi). Brak jest również danych dotyczących wartości opadu krwinek czerwonych, ewidentnego skutku zmian zaistniałych w ilości i jakości białek osoczowych i ilości elementów morfotycznych krwi.

Chociaż współczynnik zmienności dla odczynu Biernackiego jest duży (41, 43), to przyspieszenie opadu krwinek czerwonych może być uważane za jeden z czynników diagnostycznych w rozpoznawaniu ciąży lisic polarnych zwłaszcza, że jest technicznie prosty w wykonaniu. Wydaje się, że przyspieszenie opadu może wy-

stać nieco wcześniej około trzeciego tygodnia ciąży.

Na 10 dni przed porodem (okres IV) spada zawartość beta i gamma globulin; zmniejsza się również poziom białka ogólnego. Powyższe dwie frakcje przechodzą prawdopodobnie do płodów przez łożysko, a także do gruczołów mlekowych, z których bezpośrednio lub po przetworzeniu w komórkach gruczolowych przedstawiają się do siary lub mleka (5). Konsekwencją tego może być powolniejsze opadanie krwinek czerwonych tuż przed porodem niż w okresie III i chociaż stosunek albuminowo-globulinowy jest zbliżony do okresu V, to przy niskiej wartości hematokrytowej a przede wszystkim przy niższej ilości białka ogólnego, w tym także albumin, opad krwinek przy końcu ciąży jest istotnie szybszy niż po odsadzeniu szceniąt (V).

Wydaje się, że decydującym momentem w procesie kolostro i laktogenezy jest przechodzenie powyższych białek pod koniec ciąży do gruczołu mlekowego, zatem więc od nagromadzenia ich w pierwszej połowie ciąży może zależeć skład siary i mleka.

Wzrost globulin alfa₂ szczególnie wyraźny w III okresie może być związany z podwyższeniem ceruloplazminy, która u kobiet w okresie ciąży wzrasta tak wysoko, że niekiedy nadaje surowicy zielonkawą odcień (16).

Obniżenie koncentracji beta₁ globulin w końcowych okresach ciąży, szczególnie uwidaczniające się w wartościach bezwzględnych, może sprzyjać występowaniu niedoborów żelaza i związanej z tym anemii z racji zmniejszenia transferyn zawartych w tej frakcji, a co za tym idzie — możliwości wiązania i transportu żelaza.

W n i o s k i

Wyniki powyższych badań upoważniają do wyciągnięcia następujących wniosków.

1. W przebiegu ciąży lisic polarnych obserwuje się wzrost białka całkowitego do wartości $8,60 \pm 0,64$ g/100 ml osocza w 28 dniu ciąży, a następnie jego spadek do $7,52 \pm 0,43$ g/100 ml osocza.

2. Koncentracja albumin zmniejsza się w przebiegu ciąży.

3. W 28 dniu ciąży wzrasta poziom beta₂ i gamma globulin.

4. W drugiej połowie ciąży opad krwinek jest znacznie przyspieszony.

P i ś m i e n n i c t w o

1. Aronson T., A. Grönwall: Scand. J. clin. Lab. Invest. 9, 338, 1957.
2. Campbell R. M., Fell B. F., Mackie W. S.: J. Physiol. Lond. 241, 699, 1974.
3. Gancarz B., Grzegorzak B., Koziorowska S.: Medycyna Wet. 25, 622, 1969.
4. Gancarz B., Koziorowska E., Grzegorzak B.: Medycyna Wet. 27, 49, 1971.
5. Hofecker G.: Wien. tierärztl. Mschr. 60, 138, 1973.
6. Jaeschke G.: Müller B.: Zuchthyg. 10, 29, 1975.
7. Koziorowska S.: Weterynaria Wrocław 32, 79, 1975.
8. Nagórski F.: Pol. Arch. wet. 13, 25, 1970.
9. Nagórski F.: Roczn. Nauk. rol. 70-E-1-4, 75, 1960.
10. Ostrowski W.: Wybrane Metody z Chemii Klinicznej. PZWL, 1974.

11. Prusiewicz-Witaszek U.: Dys. Wpływ ciąży i laktacji na poziom białek, gliko i lipoproteidów w surowicy krwi królików. WSR Poznań, 1965.
12. Prusiewicz-Witaszek U., Dziatkożyński L.: Medycyna Wet. 23, 627, 1967.
13. Rajs R.: Aminokwasy i białka krwi oraz morfologiczne składniki krwi i szpiku lisów polarnych w okresie wzrostu. Dys. ATR Bydgoszcz 1976.
14. Russell R., de Alvarez M. D., Jose F., M. D. Alfonso, J. Donald, M. D. Sherrard: J. Obstetr. Gynec. 82, 1096, 1962.
15. Ruszczyk Z.: Metodyka Doświadczeń Zootechnicznych. PWRiL, 1970.
16. Smith I.: Chromatographic and electrophoretic techniques, T. 2, W. Heiman Medical Book LTD, 1968.
17. Szulc T.: Pol. Arch. wet. 18, 127, 1975.
18. Stanisławska B.: Wstępne badania nad określeniem niektórych wskaźników krwi w okresie ruł, ciąży i laktacji lisic polarnych (w druku).
19. Tomaszewski L.: Mikrometody biologiczne w laboratorium klinicznym. PZWL, 1970.
20. Voigt J., Piatkowski, H. Grischewski: Arch. Tierzucht. 16, 271, 1973.

Adres autora: lek. wet. Barbara Stanisławska, ul. Łomżyńska 47b/27, 85-863 Bydgoszcz.

Станиславская Б. — Изменения плазматических белковых фракций, сырого белка и оседания эритроцитов в ходе беременности полярных лисиц.

Исследованием плазмы 17 полярных лисиц было установлено, что в ходе беременности отмечается начальный рост сырого белка до величины $8,60 \pm 0,64$ г/100 мл плазмы, а затем его понижение до величины $7,52 \pm 0,43$ г/100 мл. У беременных лисиц обнаружилось понижение альбуминов и рост бета₂- и гам-

ма-глобулинов на 28 день беременности. Оседание эритроцитов ускорялось во второй половине беременности, уровень же фибриногена рос несущественным образом. Альфа₁-глобулины показывали малую изменчивость и лишь на 10 дней перед родами повышались. Бета₁-глобулины уменьшались с развитием беременности. Внушается использование оседания эритроцитов в качестве теста, диагностически помогающего распознавать 3—4-недельную беременность полярных лисиц.

Stanisławska B. — Changes of plasmatic protein fractions, total protein and sedimentation rate in the course of pregnancy in polar vixens.

The examination of the plasma of 17 polar vixens resulted in finding that in the course of pregnancy total protein increases initially to the value of 8.60 ± 0.64 g/100 ml of plasma and then it decreases to the value of 7.52 ± 0.43 g/100 ml. In pregnant vixens a decrease of albumins and increase of beta₂ and gamma globulins occurred on the 28th day of pregnancy. Sedimentation rate of red blood cells was accelerated in the second half of pregnancy, whereas the level of fibrinogen increased insignificantly. Alpha₁ globulins showed a small variation and increased only 10 days before delivery. Globulins beta₁ decreased with the development of the pregnancy. Sedimentation of red blood cells is suggested to be used as auxiliary test in diagnosing 3—4 week pregnancy in polar vixens.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JANUSZ WIERCINSKI

Ogniskowanie izoelektryczne — zasada techniki i zastosowanie

Z Centralnego Laboratorium Aparaturowego AR w Lublinie

Ogniskowanie izoelektryczne (IEF) (isoelectric focusing, electrofocusing, isoelectric fractionation, isoelectric separation, stationary electrolysis, isoelectric condensation, isoelectric analysis) oznacza migrację elektroforetyczną cząsteczek polimerów amfoterycznych (amfolitów) w stabilizowanym gradiencie pH, którego zakres wartości zmienia się — możliwie łagodnie — od anody do katody. Każda cząsteczka analizowanej w takim środowisku mieszaniny zatrzymuje się — to znaczy zostaje zogniskowana w wąskim przedziale — tam — gdzie pH równa się jej punktowi izoelektrycznemu (pH_i). Różne frakcje badanej próby zostają wtedy rozdzielone odpowiednio do swych punktów izoelektrycznych, a nie według ruchliwości elektroforetycznych. W rezultacie przeprowadzonego rozdziału obraz ogniskowania izoelektrycznego białek jest całkiem odmienny od otrzymanego inną — dowolną techniką elektroforetyczną.

Niezbędnym warunkiem dla zastosowania ogniskowania izoelektrycznego w praktyce jest to, aby układ elektroforetyczny był stabilizowany przeciw niekontrolowanej konwencji i przeciw dyfuzji zogniskowanych amfolitów.

Zasada i rozwój techniki IEF

Zasada ogniskowania izoelektrycznego jest oparta na patencie dwu chemików japońskich — Ikedy i Suzuki (1912) — dotyczącego uzyskiwania kwasu glutaminowego z hydrolizatów białkowych. Omówiony w nim proces preparatywny przebiegał w niżej opisany sposób.

Mieszanka aminokwasów hydrolizatu poddawana była elektroforezie w prostopadłościowym trójkomorowym aparacie, którego przegrody międzykomorowe stanowiły błony półprzepuszczalne. Po rozdzieleniu soli nieorganicznych obserwowano, że aminokwasy izolują się z grubsza jeden od drugiego — najbardziej zaś — zbierając się w pobliżu anody — oddalał się kwas glutaminowy. Zauważono także, iż aminokwasy zawsze porządkowały się w komorach w kolejności określonej wielkością ich punktów izoelektrycznych. Ponieważ elektroosmoza i inne siły dyfuzyjne nie mogły zostać wyeliminowane w 3-komorowym aparacie Ikedy i Suzuki, nie można było uzyskać stałego i dobrze zdefiniowanego gradientu pH. Ten pomysł był jednakże przydatny do izolacji kwasu glutaminowego.

W 1929 r. Williams i Waterman (58) rozbudowują aparat japoński do 14 komór i uzyskują znacznie bardziej dokładne rozdziały aminokwasów. Definiują też teorię procesu ogniskowania izoelektrycznego konkludując, że „jeżeli substancja badana jest amfolitem to pH w tej części roztworu, który zawiera jej maksymalne stężenie, jest bliskie punktowi izoelektrycznemu tej substancji; w każdym pH większym lub mniej-