

应用举例

经过一阶段的反复使用证明，扫描仪不仅能对聚丙烯酰胺盘状凝胶电泳、毛细电泳以及醋酸纤维、纸状薄层等进行扫描，并且还能对上述各样品的照相正负片进行同样的扫描，两者效果基本相同，下面举几个例子。

例一、图 10(a) 是在 6.5% 聚丙烯酰胺凝

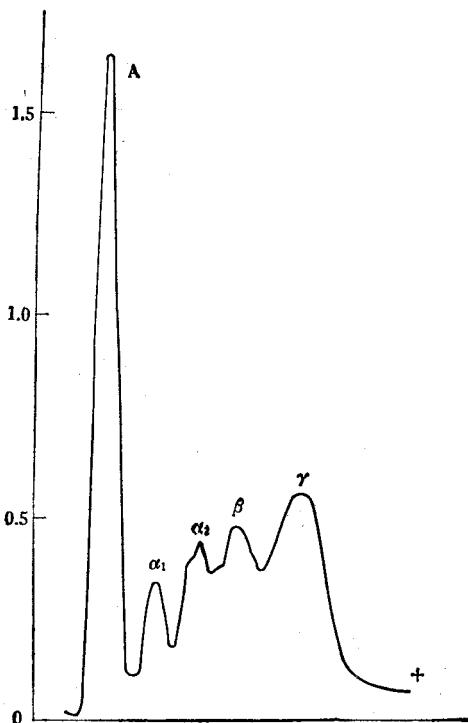


图 11 在醋酸纤维薄层上肝炎病人血清组份分离后的扫描图谱

扫描波长：495 毫微米，扫描速度：10 毫米/分

胶电泳柱上，0.1 毫克固氮酶钼铁蛋白制备物分离的扫描图谱。在电泳柱（图 10(c)）上四个主要色带反映在扫描图谱上是四个吸收峰。通过积分峰下的总面积，求出各组份的百分比分别为 22.8%，12.4%，12.0%，39.0%。

例二，图 11 是在醋酸纤维薄层上肝炎病人血清中各组份分离后的扫描图谱。血清中的五种组份在图谱上反映出五个吸收峰，经过积分峰下的总面积后，计算得各组份的百分比分别为 50.5%，3.8%，9.6%，9.6%，26.6%。

例三，图 10(b) 是用例一样品正片（即色谱图的照片，见图 10 中的 (c)）进行扫描后的图谱。如果将 (b) 与 (a) 进行比较，不难看出它们相互是对应的。

结 束 语

实践使用表明，这里介绍的扫描仪，某些主要指标（如色谱带分辨本领、重现性），赶上了国外同类仪器的水平。但仪器的整机结构及自动化等方面还存在些问题。在此我们诚恳地希望有关工作者提出宝贵的意见，以便进一步改进提高。

参 考 文 献

- [1] Dravio A. R. et al.: *J. Chromatog.*, 41, 53, 1969.
- [2] Taber A. W. et al.: *Ann. N. Y. Acad.*, 121, 600, 1964.
- [3] Loening U. E.: *Biochem. J.*, 102, 251, 1967.
- [4] 藤原镇男等著：《生物分析化学演习》。
- [5] Voelkey W. H.: *Electronics*, 37, 73, 1964.

〔本文于 1978 年 4 月 6 日收到〕

微 电 泳 用 恒 流 电 路

陈俊强 朱培闇

（中国科学院上海生理研究所）

通过尖端直径小于 1 微米的微管，把极少量的化学物质注在细胞极小的某一区域内，以研究细胞对各种化学物质的反应，这是细胞生物学和神经生物学常用的研究手段。虽然可用

加压的方法，从微管中推出化学物质，但它有一些缺点，例如容易造成细胞损伤，化学物质从微管尖端向外自由扩散难以克服，注入物质的量和时间不易精确控制等。而用电流来控制化学

物质从微管中释放，就没有上述缺点，这就是所谓的微电泳技术。Nastuk^[1]首先采用这项技术，Del Castillo 和 Katz^[2]也独立发展了这一技术。这项技术开始主要应用于研究神经肌肉接头对各种药物的反应，现今应用的范围越来越广^[3,4]。在中枢神经系统的许多化学突触，其递质的化学本质是不清楚的，在此情况下，就需要把某种可能是递质的物质用微量电泳技术来注射在突触后膜上，若能引起反应，这就增加了这种物质是递质的可能性。为了在细胞水平上研究药物相互作用，这就可用多根微管，将多种药物同时注入一个细胞，观察细胞的反应。若在微管中灌入染料，则可借微电泳技术将染料

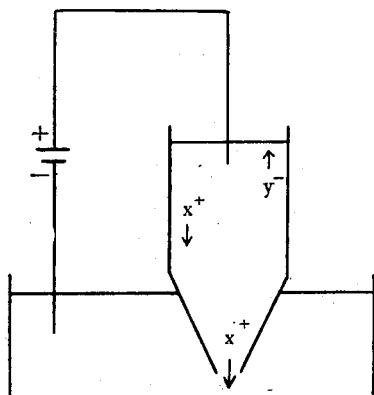


图 1 微电泳原理图

注入细胞，然后用组织学方法确定先前电生理实验所研究的细胞的位置。此外在细胞生物学研究中亦可应用，如通过微管将一些物质注入细胞中，观察细胞的各种变化。

微电泳的基本原理如图 1 所示。在微管中灌入某种化学物质 X^+Y^- 的溶液，当微管的内部通上正电，外部溶液通上负电时，带正电的离子 X^+ 就从微管尖端释放出来，反之微管内部通负电，外部通正电时负离子 Y^- 就释放出来。

随着研究工作的逐步深入，对微电泳技术的要求越来越高。如为了防止微管中化学物质的泄漏，就要把微管的尖端做得很细，这样就使得微管电阻有时可以高达 100 兆欧以上，为了精确地控制注入物质的量和时间，就要使注射快速、恒定地进行，就是要使控制电流的强度要

大，且是恒流。

根据我们实验的需要，对于控制微管电流的“微电泳用恒流电路”提出以下要求：

- (1) 最大微管电压 V_t —— 100 伏
- (2) 最大电流 I_s —— 1 微安 (输出电流可以直读)
- (3) 最小可控制的电流强度 —— < 0.1 毫微安
- (4) 等效输入电容 —— < 25 微微法

我们的线路原理如图 2 所示。其中 A 是一个极高输入阻抗的放大器，其放大倍数和 1 相差不超过 0.1%，在其输入电压 V_t 在 0—100 伏范围内变化时，A 都能正常工作。A 的输入端的输入电流极小，不超过 0.01 毫微安。此外恒流刺激隔离器其输出二端对地是浮置的，它的最大输出电流为 10 毫安，最大输出电压为 200 伏(另文介绍)。

今计算 R_g 二端电压降 $\Delta V = V_0 + I_s R_s - V_t$ ，

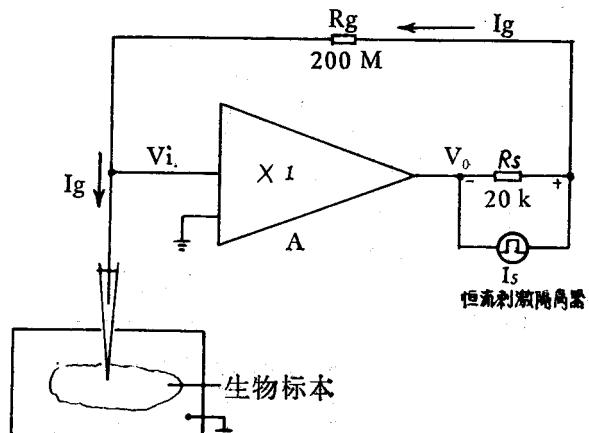


图 2 原理图

由于 A 的放大倍数为 1，则

$$V_t = V_0,$$

故

$$\Delta V = I_s R_s,$$

此时流过 R_g 的电流

$$I_g = \frac{\Delta V}{R_g} = I_s \frac{R_s}{R_g},$$

与 V_t 无关，实现了恒流。

由于 A 的输入电流可以忽略不计，故 I_g 全部流向微管，只要 V_t 小于 100 伏，那么 A 就能

正常工作，上述关系式保持成立，就能保持恒流，电流大小与微管的电阻无关。而且

$$I_g = I_s \frac{R_s}{R_g} = I_s \times 10^{-4},$$

由 I_s 直接确定，只要把恒流刺激隔离器的输出电流做成直读，就可以直接读出 I_{go} 。

我们的具体电路如图 3 所示。由 G_1 到 G_6 构成 X_1 放大器 A。此放大器的输入管是绝缘栅型场效应管 3D04E，经过不难的挑选，栅流可小于 1×10^{-11} 安，绝缘栅型晶体管虽有栅流小，输入阻抗高等优点，但在使用过程中很易被感应电荷、摩擦引起的电荷等将其栅级的绝缘层击穿受到损坏。因此用砷化镓变容二极管 2EC09 作保护，它在零偏压时，阻抗可高于 10^{11} 欧，不影响原来线路的性能，但其击穿电压比 3D04E 低得多，如果感应电荷引起很高的输入电压则引起 D_1 的击穿而保护了 G_2 ，微量电量使 D_1 的击穿是可以恢复的，并不引起 D_1 的损坏，从而达到长期保护的作用。

G_3 接成恒流电路，调节 R_4^* 使输入管 G_2 为零偏压，使栅流最小。 G_1 也接成恒流电路，调节 R_2^* 使流过 G_1 的电流等于流过 G_2 的电流加上 1 毫安，这 1 毫安流过 R_8 使 G_2 的 V_{DS} 为 6 伏。在放大器 A 的输入电压 V_i 从 0 到 100 伏变化时， G_2 处于零偏压和 V_{DS} 为 6 伏这一状态基本不变，使 G_2 源极电位紧紧地跟随 V_i 而变化，而其输出阻抗下降到 1 千欧左右。

G_5 接成射极跟随器，其作用是进一步降低输出阻抗， G_4 也是射极跟随器，它保证了 G_5 的 V_{CE} 保持不变， G_6 也是恒流电路，保持 G_5 的 I_C 不变，使 G_5 射极电位紧紧跟随 G_2 的源极电位，也即是跟随 V_i 而变。在 V_i 为 0—100 伏范围内，A 的放大倍数为 $1,000 \pm 0.001$ ，增加 D_6 使其压降和 G_5 的 V_{be} 相等，而且当温度变化时，它们变化相同而相互抵消，保持了线路的稳定。

G_1 、 G_3 、 G_4 和 G_6 都采用高反压管，能耐压

200 伏以上，它们承受了大部分压降，从而保证 G_2 和 G_5 的正常工作。为了阻止离子在不通电时从微管尖端向外自由扩散，给微管加一个反向电流叫吸引电流，电池 E 和多圈电位器 W_1 提供了所需的吸引电流在 ± 30 毫微安范围内。可

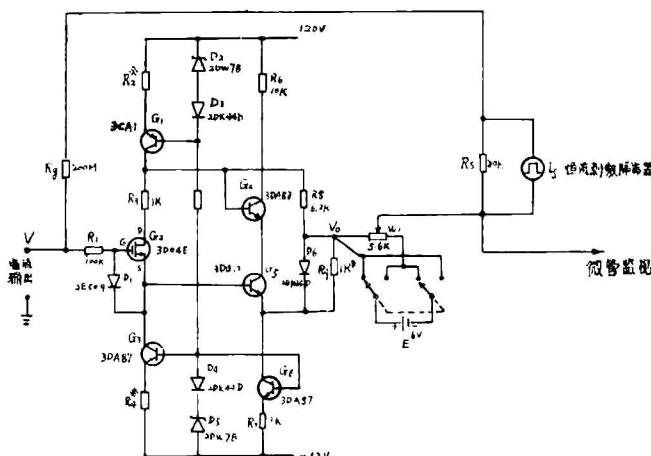


图 3 电 路 图

以在实验时方便地调节最适吸引电流。

我们用上述仪器通过微管在大白鼠膈肌纤维终末边缘给乙酰胆碱，同时在同根肌纤维

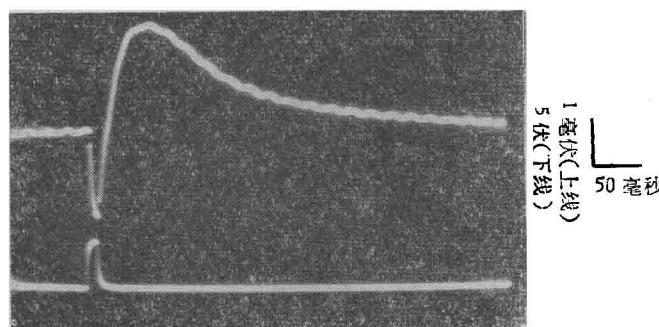


图 4 在大白鼠膈肌的终末边缘给乙酰胆碱引起细胞膜去极化，产生所谓乙酰胆碱电位

上线——乙酰胆碱电位；下线——控制电流波形，电流强度为 1×10^{-7} 安培。由图可知该处的乙酰胆碱敏感性为 $2.5 \text{ mv}/\text{nc}$ 。由下线的幅度可知所用微管的阻抗为 50 兆欧。振幅标尺和时间标尺均示于图内

用细胞内微电极记录，记录到的乙酰胆碱电位示于图 4。本仪器在实验室中经过使用，证明性能良好，达到预期设计要求，有以下优点：

(1) 电流可控范围大，最大输出电流与最小可控电流之比为 10,000 以上，因此适应的工

作广。

(2) 恒流性能好，微管电阻在0到200兆欧范围内变化，其压降小于100伏时，对输出电流影响小于0.1%。

(3) 输出电压高，微管上电压可高达100伏，因此微管电阻高达100兆欧时仍可获得足够大的电流，以注射足够量的物质。

(4) 输出电流直接读数，使用方便。

(5) 允许标本接地，使记录部分较强地抗干扰。

(6) 输出波形较好，对于100兆欧的微管其上升时间为5毫秒（上升到假定值的90%）。

(7) 能同时监视微管的情况，把“微管监视”接到示波器上，可以观察微管上电压变化的

情况。如果微管尖端被堵塞或折断，则就会呈现微管电压变大或变小。

最后，对于要求注射时间为1毫秒或更小的实验及要求更精确地分析给药后的反应时间，本电路上升时间就显得过长了，就需要加上电容补偿电路^[5]。

参考文献

- [1] Nastuk, W. L.: *Fed. Proc.*, 12, 102, 1953.
- [2] Del Castillo, J. et al.: *J. Physiol. (Lond.)* 128, 157, 1955.
- [3] Curtis, D. R.: *Physical Techniques in Biological Research*, V. 5A, P. 144, 1964.
- [4] Krnjevic, K.: *Methods of Neurochemistry*, V. 1, p. 130, Marcel Dekker Inc., New York, 1971.
- [5] Dreyer, F. et al.: *Pflügers Arch.*, 348, 263, 1974.

[本文于1978年6月30日收到]

利用RC充电过程的对数转换线路

蔡嘉坤 陈茜芝

(中国科学院上海生物化学研究所)

在用吸收光谱仪器作定量分析时，根据比尔氏定律，样品的浓度并不与透过率成直线关系而是与光密度成直线关系。光密度与透过率有下列关系：

$$A = \lg \frac{T_0}{T}$$

式中 T_0 为空白对照透过率； T 为样品的透过率。直接显示（或读出）透过率的值对制作仪器来说当然比较方便，然而对定量分析工作者来说相当不便，所以在许多近代光谱分析仪器中常常用对数线路来处理光电讯号，使读数（模拟值或数字值）直接显示 A 值。在电子线路中进行对数转换有各种不同的方式，本文介绍的对数转换方式具有两个特点①几乎不会因温度变化而产生漂移；②很适合与双光束模式的仪器相配合使零点漂移尽可能减小。

1. 原理

RC 充电电路（图1）中电容器 C 两端的电

压变化为

$$V = V_0(1 - e^{-t/RC})$$

将上式两边取对数并整理得：

$$Kt = \lg \frac{V_0}{V_0 - V}$$

式中 $K = 0.434/RC$ ，若取 $RC = 0.434$ ，则

$$K = 1 \quad t = \lg \frac{V_0}{V_0 - V} \dots \quad (1)$$

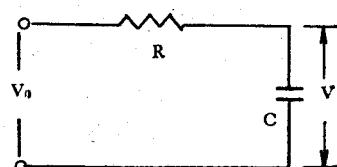


图 1

在双光束模式的仪器中，设参比讯号电压为 V_R ；样品讯号电压为 V_s ，并且为了尽可能地减小由于仪器系统中各元件参数变化而引起的零点漂移，将讯号 V_R 和 V_s 作分差输出。即