

国产膜片钳仪研制成功*

周 专 康华光

(华中理工大学自控系,武汉)

关键词 电压钳,膜片钳,仪器噪声,电容补偿

膜片钳 (patch clamp) 仪是从电压钳发展而来的新一代细胞电生理仪器。在直径约 $1\mu\text{m}$ 的细胞膜片上,用膜片钳仪可以同时进行电压钳位和检测单个离子通道 (ion channel) 的电流 (1 pA , 10 kHz),这是迄今人们实现的最灵敏的仪器之一。1976年 Neher & Sakmann 首次实现单通道记录^[1], Hamill 等人 (1981)对膜片钳的改进使之得以在世界推广^[2], Sigworth (1983)和 Rae & Levis (1984)对膜片钳仪的电子设计进行了深入的分析^[3,4]。从1988年起,我们根据 Yale MK-V 膜片钳仪电路图^[1]开始研制该仪器。

完整的膜片钳技术包括电子仪器和电生理实验技术两部分。本文仅限于讨论仪器部分,至于电生理实验,我们正与同济医科大学的李之望教授合作进行。鉴于文献 [4,3] 对膜片钳仪的电路原理及制作工艺已做了较广泛的讨论,本文的重点是介绍我们在制作膜片钳仪过程中取得的体会和贡献^[5]。

图1是膜片钳仪的简化电路图,其中要求较高的元件是 Q_1 和 R_f , 分别选用 dual-JFET U401 和 Kobra 电阻,其余元件均可在国内市场上购买到。

仪器噪声方面,实验表明,几只 U401 噪声各不

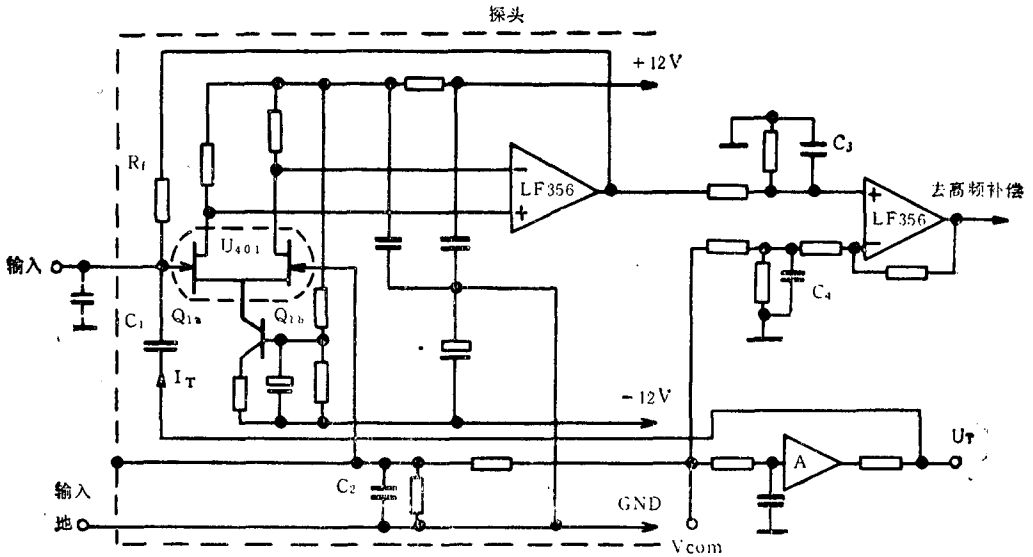


图1 膜片钳仪简化电路图

A——电容补偿放大器; C_p ——仪器等效输入电容; $R_f = 10\text{ G}\Omega$ 为 Kobra 电阻(美国 K & M Electronics); Q_1 ——U401 场效应管(美国 Siliconix); V_{com} ——命令信号; U_T , I_T ——测试系统 3dB 带宽的输入电压和电流

相同;同一 U401 对管中两个 FET,对调作为输入侧的 FET (Q_{1a}),系统噪声也不相同,如表1所示。显然, Q_{1a} 流入 R_f 的栅极电流 I_g 是影响噪声的一个重要原因。例如 No.3 U401 的 I_g 从 2 pA 变到 1 pA 时,系统噪声从 0.330 pA 降到 0.275 pA ,这一现象可根据文献[2]解释: I_g 的噪声功率谱满足 $s(f) =$

- * 获国家自然科学基金和国家教委博士点基金资助。
 1) 1987年10月国际生理学会在上海举办的“离子通道讲习班”所使用的膜片钳仪。
 2) 全面介绍膜片钳仪器的原理请参见1990年第三期“华中理工大学学报生物医学工程专集”(周专,康华光) PC-1 型膜片钳的低噪声设计。

2qI_g, 其中 q 为单位电荷。因而选用 I_g 较小的管子, 进而用 I_g 小的那侧 FET 作为 Q_{1a}, 可使噪声最小。实验还发现, 输入端接一电阻, 该电阻另一端悬空, 将使系统噪声增大; 不接电阻, 接 1GΩ 电阻和接 0.5GΩ 电阻, 系统噪声分别为 0.298, 0.405, 0.442 pA。

表 1 不同 U 401 对应的系统输入噪声

No. of U 401	1		2		3		4	
	PN	NP	PN	NP	PN	NP	PN	NP
I _g (pA)	0	0.4	-0.3	-0.8	0.5	2		
Noise (pA, RMS)	0.232	0.241	0.254	0.253	0.251	0.316	0.248	

PN, NP 表示该 U 401 两个 FET 轮换作为 Q_{1a}。

仪器调试方面, 我们感到困难最大的是电容补偿问题。这方面我们有两点经验: (1) 对 10GΩ 探头, 需将图 1 中的 C₂ 改用 0.01 μF, 否则快电容补偿 (fast transient cancellation) 困难。根据文献 [3], 这可能是探头放大器和电容补偿放大器 A 的时延之差大于 (0.1 kΩ/0.9 kΩ) × 0.001 μF = 0.09 μs 所致; (2) 影响动态 CMR 的因素包括 C₁、C₃、C₄。为取得最佳效果, 不同的 C₁ 需对应不同 C₃、C₄; C₁ 一定, 较大的 C₃ 要求较大的 C₄。

Yale MK-V 有 10GΩ, 1GΩ 和 0.1GΩ 三个探头, 以适应单通道记录和全细胞记录。这方面我们对 MK-V 作了一项有价值的改进, 即将 1GΩ 和 0.1GΩ 这两个探头合并成了一个探头, 采用安装在探头内的机械开关切换 R_i, 由于采用了特殊工艺, 克服了机械开关对系统性能, 特别是 HF-Boost 高频补偿的影响, 使合并后的探头性能与两个单独探头相同。从原理上

讲, 这项改进同样适用于电子开关, 即有效降低了高阻值电阻之间的分布参数影响。

以下是我们研制成的膜片钳仪的几项关键指标 (10GΩ 探头), 它们达到了 Yale MK-V 等国外同类膜片钳的水平:

1. 噪声 (使用 4 阶贝塞尔 (Bessel) 滤波器, 输入端悬空):

DC-200Hz: 0.017 pA RMS

DC-1kHz: 0.051 pA, RMS

DC-5kHz: 0.18 pA, RMS

2. 电容补偿 (输入端接 1GΩ 悬空电阻, V_{com} = 1V(p-p), 100 Hz 方波):

残余瞬态峰值 < 2 pA

3. 系统 3dB 带宽 (f_{3dB}):

DC-10 kHz

其中, 测量 f_{3dB} 的方法是, 图 1 中加入正弦信号 U_T, 当频率 ω 改变时, 令 U_Tω = 常数, 则 I_T = ωC₁U_T = 常数, 当输出信号幅度下降 3dB 时, 对应的输入 U_T 频率即是系统带宽。

感谢 Dr. F. J. Sigworth 和 V. Pantani 在上海的帮助, 感谢 Dr. A. J. Hudspeth 教授赠送的 Kobra 电阻和罗申的 U 401 对管。

参 考 文 献

- 1 Neher E et al. *Nature*, 1976; 260: 799
- 2 Hamill OP et al. *Pflügers Arch*, 1981; 311: 85
- 3 Sigworth FJ. In: Sakmann B et al. eds, *Single channel recording*, NY: Plenum, 1983: 3-35
- 4 Rae JL et al. *Molecular Physiology*, 1984; 6: 115

[本文于 1989 年 7 月 14 日收到]

药肥精的生产技术

农作物的生长离不开化肥和农药, 为此, 有关部门在此方面每年耗费大量的人力物力生产各种化肥和农药。农作物从播种到成熟期间, 要经常地施肥和打药。为降低成本, 减少人力, 人们长期渴望能制造一种肥药兼有的农用产品。本所发明的这种“药肥精”既是高效化肥又能有效地防治病虫害。

该产品为粉末状, 每亩施用量约为 2 公斤。

投资: 5000—10000 元 主要设备: 粉碎机 厂房: 50m² 以上 人员: 20 人

成本: 2 元/公斤 售价: 3 元/公斤 市场需求量: 3000 吨 产量: 1 吨/天 利润: 25—30%

资料费 100 元。转让费: 普通转让费 2000 元, 省市独家转让费 10000 元。

【北京市星火技术研究所, 北京 867 信箱 20816 组, 邮政编码: 100024, 李群】