

参 考 文 献

- 1 Bobbitt J M. *Adv Carbohydrate Chem Biochem*, 1956; 11:1
- 2 Woodward M P. *J Immunol Methods*, 1985; 78:143

- 3 王小宁等. 单克隆抗体通讯, 1990;6(2): 5
- 4 金灵, 苏新. 生物化学与生物物理进展, 1989;16(2):148
- 5 Niemann H, Watanabe K, Hakomori S *et al. Biophys Res Commun*, 1978; 81:1286
- 6 Cheresh D A. *Science*, 1984; 225:844
- 7 Clamp J R, Hough L. *Biochem J*, 1965; 94:17

铂支撑的碘-聚吡咯修饰双层脂膜的 I-V 特性*

邵子厚

杨昌正

(南京大学配位化学国家重点实验室, 南京210008)

(南京大学化学系)

提 要

首次在铂丝新生表面上形成了碘-聚吡咯双层脂膜, 用循环伏安法研究了碘掺杂浓度对双层脂膜 I-V 特性的影响. 用此法所得到的铂支撑双层脂膜十分稳定, 可进一步用于生物传感器及分子电子器件的基础与应用研究.

关键词 自组装, 双层脂膜, 吡咯聚合, 生物分子电子器件

自从 P. Mueller 等^[1]于 1963 年成功地在两个水溶液之间形成双层脂膜 (bilayer lipid membrane, BLM) 以来, 人们对 BLM 的电学性质与电化学特性进行了仔细的研究^[2], 并与脂质体一起作为研究生物膜结构与功能 (能量转换、物质运送、信息传递等) 之间关系的模型体系. 近年来, 随着分子电子器件 (molecular electronic devices, MED) 研究的逐步开展, 又对用 BLM 构成诸如有机二极管开关, 生物传感器和生物燃料电池等的可能性产生了极大的兴趣^[3,4].

然而, 在两个分隔的水相之间所形成的双层脂膜极不稳定, 即使在合适的环境下它的寿命至多也不过几小时, 很难用于实际. 为了提高它的稳定性, 做了一些尝试, 例如, 在聚碳酸酯膜的微孔中形成的 BLM 可以在数天内保持稳定, 用多糖衍生物覆盖 BLM 表面以及通过类脂的聚合作用来增强 BLM 的稳定性等. 最近, H. T. Tien 研究小组相继发现: a. 双层脂膜成膜溶液中的吡咯可在脂膜和 FeCl₃ 水溶液的界面上化学聚合, 所形成的聚吡咯-BLM

具有良好的导电性和很高的稳定性^[5]; b. 在金属 (Pt, Ag、不锈钢等) 的新生表面上自组装而成的 BLM 稳定性甚好, 寿命可达 36h 以上^[6]. 从而, 为进一步提高 BLM 稳定性, 并将其用于生物传感器和分子电子器件的研制开辟了一个新的途径.

本文根据吡咯聚合过程中碘作为掺杂剂的原理^[7], 首次在铂丝新生表面上形成碘-聚吡咯修饰的双层脂膜, 并用循环伏安法研究了碘掺杂浓度对 BLM 的 I-V 特性的影响, 因所得到的 BLM 十分稳定, 可进一步用于分子电子器件的基础与应用研究.

1 材 料 和 方 法

1.1 成膜溶液的配制

1.1.1 用十二烷和丁醇 (3:1, V/V) 组成的混合溶剂配制 2% 卵磷脂 (Heath Mart Inc) 溶液 (A), 取溶液 (A) 9.0ml 与 1.0ml 重蒸吡咯相混, 配制成含 10% (V/V) 吡咯的卵磷脂溶

* 国家自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1991-05-03 修回日期: 1991-09-20

液 (B);

1.1.2 取 10ml 溶液 (A), 放入适量的 I_2 , 配制碘饱和的 2% 卵磷脂溶液 (C);

1.1.3 用微量注射器将溶液 (B) 和 (C) 按不同体积比相混, 配制一系列不同含碘量的吡咯-卵磷脂溶液 (D)。

1.2 铂支撑双层脂膜的形成

参照文献 [5,6] 的方法, 可以分为 4 步:

a. 将一根直径为 0.5mm 的铂丝 (15cm) 的一端 (约 3cm) 浸入新鲜配制的 5% 聚氯乙烯 (上海燎原化工厂) 的四氢呋喃溶液之中, 反复数次后取出晾干备用;

b. 将被聚氯乙烯包封的铂丝顶端用解剖刀切去后迅速浸入成膜溶液 (B) 或 (D) 之中, 大约 10min 后使成膜溶液完全吸附于新生的铂表面上;

c. 取出铂丝使其与双蒸水接触 2min, 以形成 plateau-gibbs (P-G) 边界的自组装脂膜;

d. 铂丝取出后, 让脂膜进一步变薄, 最终在表面上形成 BLM。

1.3 实验方法与仪器

实验采用自制的带有恒温夹层的双室电解池, 将它与超级恒温槽相连, 溶液温度控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。按上述方法制得的铂支撑 BLM 为工作电极, 另一根铂电极作为辅助电极, 232 型饱和甘汞电极为参比电极, 均插入含 0.02 mol/L FeCl_3 , pH2 的 0.1mol/L KCl 溶液之中。三电极体系与 XJP-82(B) 型新极谱仪 (江苏电分析仪器厂) 相连, 所得到的循环伏安图谱在 LZ3-100 型函数记录仪 (上海大华仪表厂) 上绘制。所有的溶液均用石英亚沸蒸馏器 (上海玻璃仪器二厂) 中的双蒸水配制。

2 结果与讨论

2.1 铂表面上碘-聚吡咯 BLM 的形成

野中勉^[9]归纳了 4 种修饰固体表面的方法, 即吸附法, 化学修饰法, 反应析出法与覆盖法。在吸附法中又包括平衡吸附、静电吸附和 LB (langmuir-blodgett) 膜吸附, 本文所用的方

法在原理上与 LB 吸附法是相似的, 经切割后所形成的新生铂表面具有很高的亲水性, 可以吸引类脂分子的极性基团构成吸附的脂质单分子层^[9]。但每次切割下来的铂粒很难作为他用, 弃之又十分可惜, 本实验室正在探索一种能在原位更新表面的方法。

鉴于国内不易获得 Teflon 包封的铂丝, 故借助已广泛应用于制备涂丝电极的方法, 先在铂丝表面形成一层很薄的聚氯乙烯膜, 以保证当其浸入成膜溶液后, 在铂丝表面上形成一个具有 P-G 边界的自组装脂膜。

2.2 碘浓度对聚吡咯-BLM 伏安性质的影响

碘作为一种 P 型掺杂剂, 在吡咯聚合过程中起着电子受体的作用, 经碘掺杂后, 可以提高聚吡咯的导电性质^[10]。以碘为掺杂剂对铂表面上聚吡咯-BLM 伏安性质的影响迄今未有报道。图 1 中 a 曲线表明在没有碘存在下, 在铂表面上所形成的双层脂膜在电位扫描过程中所发生的变化。在正向扫描时, 有利于双层脂膜界面上的氧化过程; 而在负向扫描时, 则有利于双层脂膜界面上的还原过程, 吡咯聚合的氧化还原反应可表示为:

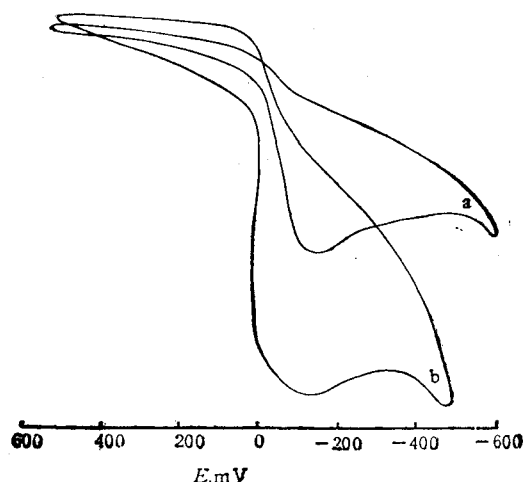
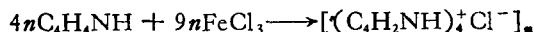


图 1 铂表面上聚吡咯-BLM 的循环伏安图
a 以成膜溶液 (B) 形成 BLM, 扫描速度 $\nu = 100\text{mV/s}$,
 $I_{pc} = 9.4\mu\text{A}$, $I_{pa} = 0.8\mu\text{A}$
b 以成膜溶液 (D) 形成 BLM, $V_C/V_B + V_C = 4\%$, 扫描
速度 $\nu = 100\text{mV/s}$, $I_{pc} = 15.6\mu\text{A}$, $I_{pa} = 1.8\mu\text{A}$



峰电流的位置分别为 $E_{p_a} = +100\text{mV}$, $E_{p_c} = -150\text{mV}$, 峰间距 $\Delta E_p = E_{p_a} - E_{p_c} = 250\text{mV}$, $I_{p_a}/I_{p_c} \sim 0.1$ 远小于1, 表明在 BLM 表面进行的反应偏离 Nernst 方程, 具有明显的不可逆性。图 1 中 b 曲线为碘掺杂量为 $V_c/V_B + V_c = 4\%$ 时的循环伏安图形, 当碘存在时, 吡咯在 BLM 界面上的聚合作用应当更加复杂, 不能简单地用 (1) 式表示, 碘作为一种电子受体, 在吡咯聚合的过程中生成 $[(\text{C}_4\text{H}_2\text{NH})_n^+ \Gamma^-]_n$ 高聚物, 从而导致了峰电流数值的增大。然而, 实验结果表明, 碘的掺杂浓度并非愈高愈好, 如图 2 所示, 当成膜溶液 (B) 和 (C) 相混之体积比 $V_c/V_B + V_c \sim 0.04$ 时, 峰电流 I_{p_a} 和 I_{p_c} 均达到极大。

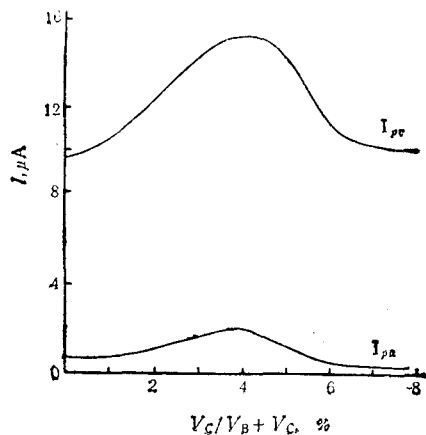


图 2 碘浓度对铂表面上聚吡咯-BLM 峰电流的影响

在合适的碘掺杂浓度下, 铂表面上形成的聚吡咯-BLM 在扫描过程中的峰电流值符合 I_p 正比于 $v^{1/2}$ 的关系, 表现出近于受扩散控制的行为^[11,12]。图 3a 为在不同扫描速度下所得到的 CV 图谱, 图 3b 则为 $I_p-v^{1/2}$ 之间的直线关系。

长期以来, 如何去修饰双层脂膜体系, 其主导思想取决于所需要模拟的生物膜体系的功能。例如, 若将天然或人工合成的通道蛋白或离子载体组装到 BLM 中, 可以模拟离子的跨膜运送, 将叶绿素或卟啉化合物放入其中则可模拟光合作用等。但因 BLM 存在于两个分隔的水相之间又不太稳定, 很难将其取出作为一

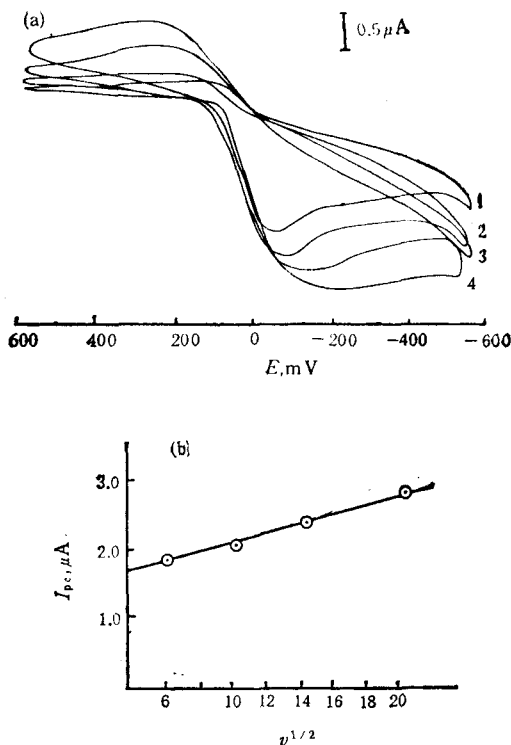


图 3 扫描速度对碘-聚吡咯修饰的 BLM 之 $I-V$ 特性的影响
(a) 4 种不同扫描速度下的 CV 图, (1) $v = 40\text{mV/s}$; (2) $v = 100\text{mV/s}$; (3) $v = 200\text{mV/s}$; (4) $v = 400\text{mV/s}$
(b) $I_p-v^{1/2}$ 关系图

个独立的器件加以使用。近年来, 这方面的研究因受到分子电子器件构想的极大影响, 更加侧重于修饰 BLM 的应用基础研究, 特别是将具有电子传递功能的化合物如卟啉、酞菁及其金属配合物, 二茂铁及其衍生物等用于修饰双层脂膜, 并将其与各类电极组合, 形成一个固体支撑的双层脂膜研究体系, 该体系既能保持双层脂膜的自组装、超薄 ($60-100\text{\AA}$)、易于形成等优点, 又能大大提高它的稳定性, 可作为一种特殊的工作电极广泛地应用于电化学研究。同时, 双层脂膜所能承受的电位扫描范围也从原来的 $\pm 200\text{mV}$ 拓宽至 $\pm 700\text{mV}$, 故可在更加广阔的范围内获取有关生物膜的电子传递、离子运送、光电转换、生物免疫和神经传导等方面的重要信息, 并为各种生物传感器和分子电子器件的研制奠定了基础。

本文得到南京大学现代分析中心的资助, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Mueller P *et al.* *J Phys Chem*, 1963; 6:534
- 2 Tien H Ti, *Bilayer Lipid Membranes (BLM): Theory and Practice*, New York: Marcel Dekker Inc., 1974: 662—672
- 3 田心棣, 感光科学与光化学, 1987; 3:30
- 4 田心棣, 化学通报, 1989; 7:1
- 5 Janas T *et al.* *Bioelectrochem Bioenerg*, 1988; 19: 405
- 6 Tien H Ti *et al.* *Bioelectrochem Bioenerg*, 1989; 22:211
- 7 城田靖彦, 電気化学, 1986; 54(4):303
- 8 野中勉, 表面, 1987; 25(5):283
- 9 Leidheiser H *et al.* *Science*, 1988; 241:6
- 10 吉野勝美, 化学, 1985; 40(5):317
- 11 Murray R W. *Acc Chem Res*, 1980; 13:135
- 12 田心棣, 人造双分子层膜, 北京: 高等教育出版社, 1987: 59—71

应用流式细胞仪检测网织红细胞

刘江惠 左连富 郭建文

(河北省肿瘤研究所, 石家庄 050011)

提 要

网织红细胞内含有比成熟红细胞更多的 RNA。它可与荧光染料派若宁 γ 特异性结合发出荧光。应用流式细胞仪进行荧光强度的测定, 可得出网织红细胞在人体末梢血中占红细胞的百分率。本实验与常规的煌焦油蓝法比较, 重复性好, 变异程度小, 且与常规法呈高度相关。

关键词 网织红细胞, 流式细胞术

流式细胞术是一种对单细胞定量分析和分选的新技术。它具有检测速度快、统计学精度高之优点。本文应用该技术对人体末梢血中的网织红细胞 (Ret) 进行检测, 探索一种计数 Ret 的新方法。

Ret 是一种未完全成熟的红细胞, 含有一定量的 RNA。利用特异性的 RNA 荧光染色方法, 使荧光染料分子与 RNA 结合发出荧光。RNA 分子越多荧光强度越强。应用流式细胞仪检测细胞的荧光强度, 从而得出 Ret 的 RNA 含量和所占红细胞的百分比。

1 材 料 和 方 法

1.1 血 样 采 集

血标本来自 30 例血红蛋白含量均在 12g 以上的正常人, 其中男女各 15 人, 年龄在 3 个月以上, 因这一年龄组的正常人 Ret 无明显差

别^[1]。

1.2 样 品 制 备

血液是天然的单分散细胞悬液, 无需特殊处理可获得良好的流式分析样品。样品制备方法参照文献 [2]。具体操作如下:

a. 取末梢血 5 μ l, 加入盛有 1 μ l 3.8% 枸橼酸钠或 0.1 μ l 肝素抗凝剂的试管中, 混匀。b. 加入 2ml 枸橼酸钠红细胞保养液离心去上清。c. 将 1% 戊二醛 1ml 和红细胞保养液 1ml 加入试管中, 并且用吸管轻轻吹吸混匀。放置 4 $^{\circ}$ C 冰箱备检, 可放置 4 周左右。若需马上检测可固定 15min 后, 离心去上清, 用 pH7.5 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤 1 次。d. 加入 0.1 μ g/ml 的派若宁 γ 工作液约 1ml, 常温染色 30min 离心去染液, 用 PBS 洗 2 次, 备检。