

УДК 004.9:612.822(045)

О. М. Ключко, канд. біол. наук,
М. О. Іванюк, студ.

ВИМІРЮВАННЯ АКТИВНОСТІ ЗАРЯДЖЕНИХ ЧАСТИНОК У РОЗЧИНІ ДЛЯ ПОТРЕБ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

Інститут аерокосмічних систем управління НАУ, e-mail: iesy@nau.edu.ua

Подано описання пристрою, розробленого для визначення активності заряджених частинок у розчинах та різниць потенціалів у різних точках експериментальної камери за удосконаленою авторами електронною схемою.

Ключові слова: модель, інформація, сигнал, оптична реєстрація, наноструктури, нейрон.

Вступ. Під час проведення експериментальних та промислових робіт, в тому числі в галузі нанотехнологій, регулярно вирішується завдання визначення активності заряджених частинок (іонів, молекул та молекулярних комплексів) у розчинах, а також вимірювання різниць потенціалів у різних точках експериментальної камери [1; 2].

Протягом виконання роботи було проаналізовано характеристики систем реєстрації біопотенціалів на мембрані клітин [1; 2], ряд експериментальних схем та умов підготовки до електрофізіологічного експерименту об'єктів – ізольованих клітин. Серед таких експериментальних схем найбільшу увагу приділено загальнопоширеним схемам з фіксацією потенціалу на мембрані клітин та реєстрацією трансмембранних струмів через одиночні канали (експериментальні схеми *patch clamp*). У роботі удосконалюється зразок електронної схеми відповідного приладу для визначення активності заряджених частинок у розчинах, розроблено робочий проект аналогового перетворювача активності іонів у водному розчині. Оскільки у процесі розроблення та застосування нанотехнологій для різних галузей час від часу виникає необхідність вирішувати подібні завдання, то можна стверджувати, що результати виконаної роботи можна застосовувати також і у сучасних напрямках.

Мета роботи: удосконалити пристрій для вимірювання та перетворення активності іонів для отримання більш точних порівняно з попередніми методами результатів вимірювання активності біологічно важливих іонів в експериментах з фіксацією потенціалів.

Основна частина. Нейрон як електрична система та деякі основні напрями експериментальних досліджень у нейрофізіології. У процесі оброблення та передавання інформації в мозку людини функціонально-структурними одиницями є нейрони (об'єкт дослідження), які обробляють (передають) інформацію у вигляді електричних або хімічних сигналів. Нейрон – це електрично збудлива клітина, в якій хімічні сигнали передаються через синапси – спеціалізовані контакти між нейроном та іншими клітинами. Нейрони є основними компонентами нервової системи. Те, що нейрон діє як електрична система, значною мірою зумовлено електричними властивостями мембрани, яка вкриває його поверхню. Сама ідея електрофізіологічних експериментів ґрунтується на таких здатностях мембран:

- розділяти електричні заряди, створюючи просторову різницю потенціалів між двома поверхнями мембрани (внутрішньою і зовнішньою);
- створювати електричний струм завдяки регуляції потоків іонів через мембрану;
- бути джерелом струму та регулювати його.

Під час виконання роботи найбільшу увагу приділяли дослідженням з використанням схем для фіксації потенціалів на мембранах та реєстрації струмів через одиночні канали (*patch clamp*).

Метод фіксації потенціалу на мембрані нейрона. Для вивчення потенціалозалежних мембранних каналів застосовується метод фіксації потенціалу. У цьому методі використовують електронну систему зі зворотним зв'язком, яка забезпечує автоматичну підтримку мембранного потенціалу. Різницю потенціалів по різні боки мембрани фіксують на певному рівні, при цьому мембранний потенціал можна ступінчасто змінювати на точно зазначену величину. Такий метод дозволяє виміряти іонні струми, що протікають крізь мембрану через канали, які активуються у разі зміни потенціалу. Відповідно до закону Ома, якщо напруга на мембрані постійна, зміни струму однозначно пов'язані зі змінами провідності.

Технічно фіксація потенціалу здійснюється таким чином. За допомогою підсилювача-регулятора внутрішньоклітинний потенціал порівнюють з керувальним потенціалом (рис. 1). Будь-яке відхилення мембранного потенціалу від керувального посилюється і на виході підсилювача виникає керувальний струм. Цей струм тече через електроди, розташовані по різні боки мембрани в такому напрямі, що мембранний потенціал знову стає рівним керувальному. Таке автоматичне узгодження відбувається за частку мілісекунди після того, як задається ступінчастий керувальний потенціал.

Коли у відповідь на таку ступінчасту деполяризацію відкриваються натрієві (або які-небудь інші) канали, відповідні іони входять у аксон з електрохімічного градієнта і переносять із собою електричні заряди. Ці вхідні заряди прагнуть зрушити мембранний потенціал у додатному напрямку, проте найменше відхилення компенсується схемою у зворотному напрямку.

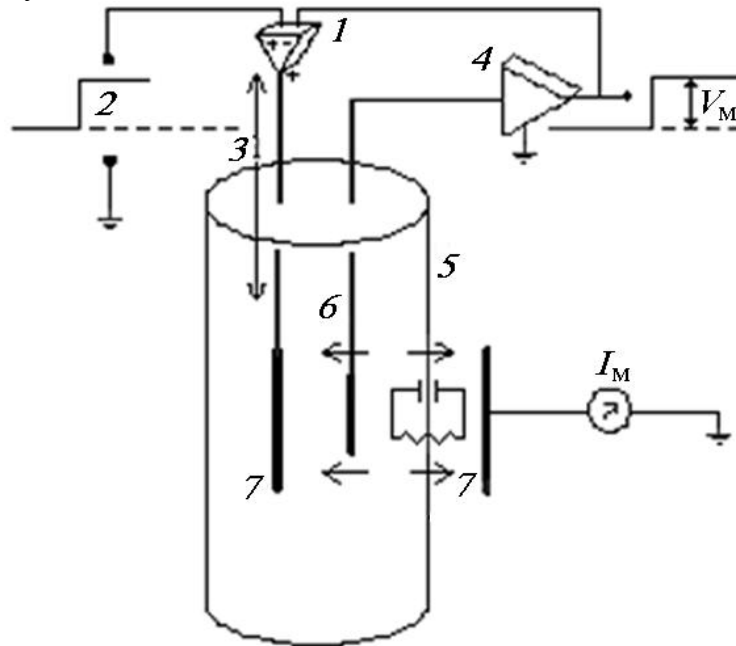


Рис. 1. Схема фіксації напруги в досліді на аксонах кальмара: 1 – підсилювач-регулятор; 2 – керувальний потенціал; 3 – керувальний струм; 4 – підсилювач напруги; 5 – аксон; 6 – електрод; 7 – стимулювальні електроди [1]

Метод patch-clamp для реєстрації електричних струмів через одиночні канали. Метод петч-клемп (patch-clamp) [2] дозволяє здійснювати локальну (точкову) фіксацію мембранного потенціалу і вимірювати струми через поодинокі іонні канали. Натепер цей метод є потужним засобом для дослідження біомембран. Метод дозволяє: 1) проводити багато досліджень у межах класичних електрофізіологічних підходів; 2) реєструвати струми і потенціали від клітин дуже малих розмірів (3–10 мкм); 3) реєструвати струми поодиноких каналів амплітудою порядку пікоамперів; 4) досліджувати дію лікарських препаратів за швидкого підведення їх як до зовнішнього, так і до внутрішнього боку мембрани.

Метод петч-клемп упровадили в дослідну практику Нєєр і Сакман (1976 р.), нобелівські лауреати у майбутньому. Стандартним методом вимірювання малих струмів є реєстрація створюваного ними падіння напруги на високоомному опорі.

Способи вимірювання перетворення значень активності іонів і технічне завдання виконаної роботи. Під час виконання багатьох з описаних експериментів постає завдання вимірювання активності іонів у водних розчинах та концентрацій іонів. Один із пристроїв для виконання таких завдань був створений раніше для випадків отримання результатів вимірювань у цифровому вигляді [3; 4]. У цій роботі поставлено завдання модернізувати пристрій на основі керування струмом поляризації робочого електрода та відповідної електричної схеми для вимірювання активності іонів у водному розчині.

Відомий спосіб перетворювання активності іонів, який називають «фіксацією напруги», що полягає в неперервному наближенні спаду напруги $U_{p.e.e.n}$ на ланцюзі «робочий електрод–електрод порівняння» до еталонної напруги $U_{ет}$ шляхом неперервної поляризації робочого електрода керованим струмом, що за заданого коефіцієнта перетворення різниці напруги між $U_{p.e.e.n}$ і $U_{ет}$ у керований струм є інформативним. Перетворюють цей струм у вихідну напругу $U_{вих}$ через масштабувальний резистор R_0 . За вихідною напругою визначають активність іонів. Недоліком цього способу є неперервність поляризації робочого електрода, який вносить похибку від спаду напруги на омичному опорі «робочий електрод–електрод порівняння». Інший спосіб, що використовується на практиці передбачає перетворювання значень активності іонів з використанням переривання керованого струму для вимірювання омичної напруги, відповідно до якого на мить зупиняють проходження струму через електродну систему, вимірюють потенціал робочого електрода перед перериванням струму, обчислюють різницю потенціалів між цими точками, що, по суті, є омичним спадом напруги, записують в елементи активного запам'ятовуючого пристрою, значення яких використовують для обчислення поправок, після чого передають на вхід стабілізатора напруги як компенсацію iR . Однак обчислення поправок є громіздкими у технічному сенсі, оскільки вимагає застосування ряду аналогових запам'ятовувань, а також губиться інформація через утрату вимірюваного заряду на ранній стадії експерименту, що призводить до невизначеної точності перетворення. Крім названих, існує також спосіб визначення активності іонів з використанням переривання керованого струму в точках між заданим рівнем і різницею потенціалів між робочим електродом та електродом порівняння. Під час імпульсу керованого струму здійснюється поляризація робочого електрода. Імпульси поляризації подаються доти, доки різниця потенціалів між зазначеними електродами не встановиться рівною заданому рівню. Структурну схему, яка показує перетворення активності іонів в електродний потенціал, подано на рис. 2. Зображено чотири ланки електрохімічної системи: $a \rightarrow i_k$; елемент порівняння; $\Delta i \rightarrow \varphi$ і $\varphi \rightarrow i_a$. Ланка $a \rightarrow i_k$ – ланка перетворює вимірювану активність іонів у струм зворотної реакції. Коефіцієнт перетворення, що характеризує перетворення a в i_k , (рис. 2) має вигляд:

$$W = K_2 \exp\left(-\frac{\beta\varphi z E}{RT}\right),$$

де W – коефіцієнт перетворення.

Ланка, яка зображена у вигляді кола, розділеного на чотири сектори, відображає перетворення струмів i_a та i_k у їх різницю Δi ; $\Delta i \rightarrow \varphi$ – ланка, що перетворює різницевий струм в електродний потенціал, відображає ємнісну модель електрода, у якому ця ланка має вигляд інтегратора зі статичним коефіцієнтом передачі K_i , який залежить не тільки від ємності подвійного електричного шару, діелектричної проникності середовища, що

заповнює простір між обкладками конденсатора подвійного електричного шару ε , відстані між ними δ_0 , яка обумовлена розмірами іонів, але й від властивостей селективності електрода, що визначають тільки наявних у розчині іонів, які заряджають цю ємність.

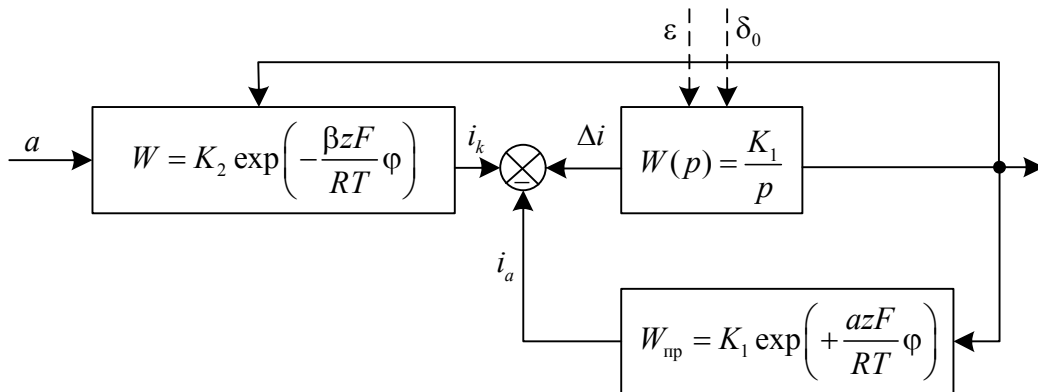


Рис. 2. Структурна схема електрохімічної системи [3]

Цифровий перетворювач активності іонів речовин у водному розчині, що був узятий як прилад-прототип для подальшого удосконалення (рис. 3), включає первинний вимірювальний перетворювач активності іонів ПВП1, який містить робочий електрод РЕ, електрод порівняння ЕП і допоміжний електрод ДЕ. Функцію допоміжного електрода виконує герметичний електропровідний, підключений до загальної шини приладу, корпус 2, який занурений в досліджуване середовище і в якому розміщений вторинний вимірювальний перетворювач ВВП3. У ВВП входять узгоджувальний підсилювач, виконаний на інструментальному підсилювачі, перший диференціальний вхід якого підключений до електрода порівняння ПВП1, пристрій порівняння, перший вхід якого підключений до виходу узгоджувального підсилювача, а другий – до виходу джерела опорної напруги. Вторинний вимірювальний перетворювач містить також логічний пристрій керування, вхід якого підключений до виходу пристрою порівняння, керовану пам'ять, вхід якої підключений до першого виходу логічного пристрою керування, а вихід є виходом перетворювача активності іонів речовин у водному розчині.

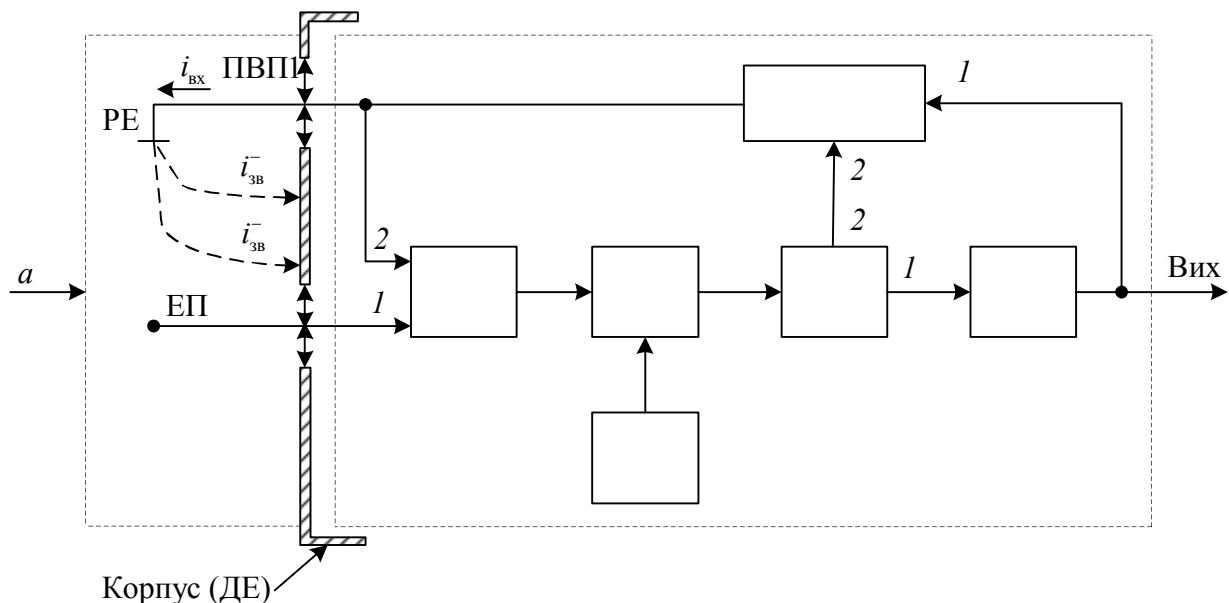


Рис. 3. Схема цифрового перетворювача активності іонів, взята для удосконалення [3; 4]

Удосконалення цифрового перетворювача активності іонів. Технічним рішенням щодо удосконалення пристрою, взятого як прототип [3], була заміна кількох його елементів на аналогові для поліпшення загальних показників приладу. У вдосконаленому варіанті перетворювача активності іонів як керована пам'ять можна застосовувати звичайний інтегратор на операційному підсилювачі, а як пристрій порівняння – опорний вивід вихідного каскаду інструментального підсилювача, на якому виконано узгоджувальний підсилювач. Комутований пристрій поляризації може бути виконаний на перемикачі і керованому джерелі струму типу «для заземленого навантаження». За аналогового виконання перетворювач активності іонів речовин завдяки аналоговому інтегратору у складі керованої пам'яті набуває можливості працювати з більш високою роздільною здатністю, причому одночасно підвищується значення сталої часу, чого не забезпечує цифровий прототип. Застосування керованого джерела струму типу «для заземленого навантаження» також сприяє підвищенню чутливості перетворювача, оскільки досягається безперервна зміна струму.

Висновки. У результаті проведеної роботи удосконалено пристрій для вимірювання активності заряджених частинок у розчині, а також різниць потенціалів у різних точках експериментальної камери. Основними перевагами розробленого пристрою є можливість працювати з більш високою роздільною здатністю, одночасно підвищується значення сталої часу, чого не забезпечує цифровий прототип.

Результати роботи створюють передумови для наступних студентських науково-дослідних робіт у галузі нанотехнологій.

Список літератури

1. Кац Б. Нерв, мышца и синапс / Б. Кац. – М: Мир, – 1968. – 220 с.
2. *Регистрация* одиночных каналов / под ред. Б. Сакмана, Э. Неера. – М.: Мир, 1991. – 448 с.
3. А. с. 82942 Україна, МПК G01N27/333. Перетворювач активності іонів речовин у водному розчині / І. Г. Кірющенко (UA). – a200609062; заявл.15.08.2006; опубл. 26.05.2008, Бюл. №10.
4. А. с. 83693 Україна, МПК G01N27/333. Спосіб перетворювання активності іонів речовини у водному розчині / І. Г. Кірющенко (UA). – a200605869; заявл.29.05.2006; опубл. 11.08.2008, Бюл. №15.

Е. М. Ключко, Н. А. Иванюк

Измерение активности заряженных частиц в растворе для нужд нанотехнологий

Приведено описание устройства, разработанного для определения активности заряженных частиц в растворах и разности потенциалов в разных точках экспериментальной камеры по усовершенствованной авторами электронной схеме.

Е. М. Klyuchko, М. А. Ivaniuk

Measurement of charged particles activities in solution for requirements of nanotechnologies

Description of device for measurement of charged particles activities in solutions and differences of potentials in different points of experimental objects is given according to electronic scheme perfected by the authors.