
电极控制手册

P-97 的使用与维护

目录

玻璃微管的选择	3
拉制仪的结构与拉制原理	3
P-97 电极拉制过程	4
功能参数设置	5
膜片钳电极的拉制	7
P-97 的日常维护	8
铂金片的更换	8
干燥剂的更换	15

玻璃微管的选择

我们一般都是选用 Sutter 公司生产的硼硅酸盐硬质玻璃管。我们现在选用的是：

BF120-69-15: 这是产品货号其中 B 为 Borosilicate（硼硅酸盐）的缩写表示硬质玻璃、F 为 Filament 的缩写表示为有芯的玻璃毛胚管、120 为外径 1.2mm、69 为内径 0.69mm、15 为玻璃管的长度 15cm。

选用 15cm 的玻璃管是最为划算的，这是在中科院神经所了解到的。Sutter 的电极有三种长度分别为 15,10,7.5cm 他们的价格相差不多但 15cm 的点击可以截为两段也就能让其成本降低了一半。但这样存在一个问题！Sutter 的玻璃管两端是经过加热处理的，所以很光滑。我们使用砂轮在玻璃管正中磨一下然后轻轻将玻璃管掰开，经过联系可以让断口较平整。但断口就会非常的锋利，在使用是会将记录电极银丝上的 AgCl 镀层刮掉。为了解决这一问题我们使用酒精灯适度加热断口断口微微烧红后就可以让其变得光滑了。

在做脑片膜片钳的实验时，我推荐使用外径 1.2 的玻璃管。因为脑片膜片钳要使用正置显微镜工作空间狭小选用细一些的电极可以略微的弥补空间狭小的问题。

在单细胞的试验中也可以选用 BF150-86-15 外径 1.5 的玻璃管，具体就要看你自己的喜好了。此外我们还是用过 WPI 的玻璃管，其也有规格同 Sutter 相似的玻璃管使用起来没有什么明显区别。

- ※ 严重推荐上面所提供的厚壁玻璃管，Sutter 还有相应的薄壁玻璃管十分的不好用，很难拉出理想的电极。
- ※ 不推荐国产的玻璃管（如南京六和，北京正天易等），它们的玻璃管内壁没有经过妥善的清洗会有污染致使拉出的电极封接成功率比较低。虽然它们的比较便宜但电极损耗大综合起来成本并没有优势，并会严重影响你的实验效率和心情！

拉制仪的结构与拉制原理

Sutter 公司的 P97 拉制仪是现今十分常用的电极拉制仪，它的电源开关在机身的左侧面的前部，使用起来还是蛮方便的。其结构如图：



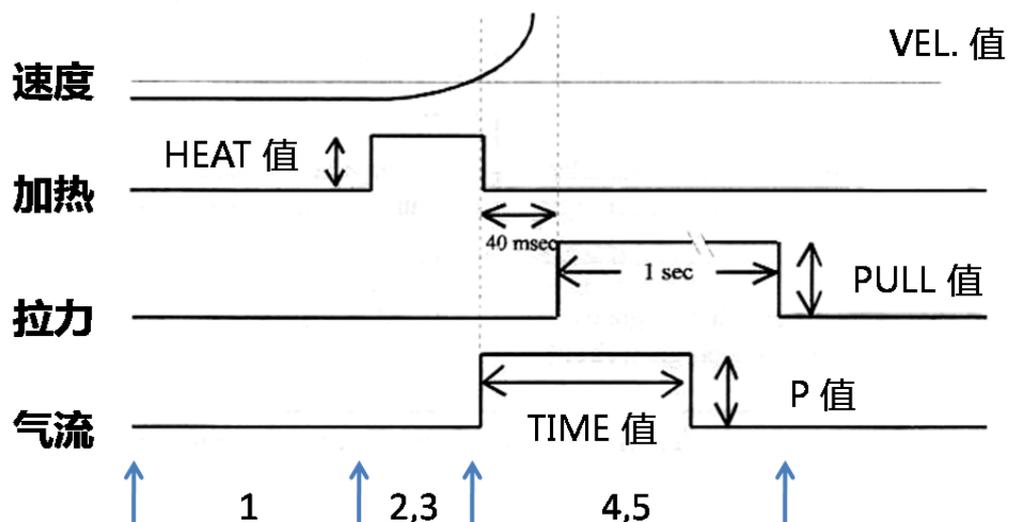
1, 干燥罐 2, 电极加热室 3, 牵拉臂 4, 显示屏 5, 数字操作键盘 6, 复位按钮

其可大体分为四个系统：

1. **加热系统**，在电极加热室（2）中有铂金片通电后用来融化玻璃管。
2. **空气冷却系统**，压缩的空气进入干燥罐（2）然后再通过管道从铂金片下的小孔吹出用于冷却铂金片。干燥的空气可以电极加热室中的湿度降低以减少空气湿度对拉制的影响。
3. **机械拉制系统**，两侧牵拉臂（3）可以控制拉制时的力度和速度。
4. **电子控制系统**，（4.5）用于控制拉制时的各种参数。

四个系统相互配合以完成精密的拉直过程，如下：

P-97 电极拉制过程



拉制仪控制着四个物理量（如上图）。（1）两臂拉开电极的速度，（2）铂金片加热电极（HEAT）的值只是一个代表并不代表温度，往往同是 P97 不同机器之间会有较大的差异所以都要以 Ramp 为标准）。（3）拉力表示两臂拉开电极用力的大小。（4）气流用于冷却铂金片以使融化的电极凝固断裂。下面将整个电极拉制的过程描述如下，编号与图下方的数字相对应：

1. 启动拉制后首先你会听到有喷气声，这是 P97 给加热盒喷入一定时间的气体，干燥后的气体由铂金片下的小孔吹入目的是让拉制空间干燥（空气的湿度会影响电极拉制）。
2. 喷气持续一段时间后铂金片开始加热，加热的温度就是你所设定的 HEAT 值，这是你可以看到铂金片慢慢的变红发热，一会之后毛配管就会开始融化。
3. 由于固定电极的两臂有一定的拉力（这个拉力并不是你所设定的 PULL 值，你可以认为这是本底的拉力）所以两臂会将电极拉开并且有一个加速的过程，当拉开的速度达到你所设定的 VEL.值是铂金片就会停止加热并开始吹气冷却。
4. 吹气的压力是在功能菜单中所设定的 pressure 大小，也就是显示面板上方所显示的 P 值。吹气的时程如图也就是你所设定的 TIME 值。
5. 在加热停止后 40 毫秒（如图加热轨迹）与吹气的同时两臂还会给与持续一秒力度是你所设定的 PULL 值的拉力拉开电极。

经过上述的五个步骤就完成了一步的拉制。P97 中称为一个 line。一个完整的拉直过程往往包括多个 line 并称之为一个 Loop。

当拉直过程完成后会显示如下的内容：

```
THE PROGRAM LOOPED 01 TIMES. THE LAST  
LINE USED WAS 01. HEAT ON SEC. = 6.05
```

上面的显示表示，一步拉制（第二行）一次（第一行）加热时间 6.05 秒。

功能参数设置

P97 有多个功能参数可供设置。开机后进入任何一个拉制程序然后按<CLR>按钮，屏幕显示如下内容：

```
DO YOU WISH TO CLEAR ALL VALUES FROM THE  
PRESENT CYCLE TO THE END? NO=0 YES=1
```

按<0>按钮后就进入了 P-97 的功能菜单，屏幕第二行会滚动显示 8 个功能，点击相应的数字就可以进入相应的功能设置，各功能列表如下：

功能编号	功能名称	功能描述
1	RAMP TEST	Ramp 测试用于测量融化玻璃管的 HEAT 值
2	CHANGE AIR PRESSURE	设置气体压强，也就是 P 值
3	AIR MODE	设置控制喷气的方式
4	AIR TIME AT START OF PULL	电极控制前喷气时间
5	AIR TIME AT END OF PULL	电极控制后喷气时间
6	RESET TIME AND DATE	时间日期设置
7	WRITE-PROTECT THE PROGRAM	锁定控制程序
8	MEMORY TEST	内存检测

其中第一项最长用到，第二有时也会用到，我将分述如下，其他的都不用管保留默认值就好了。

1. RAMP TEST

此功能用于测量玻璃管的熔点，当启动之后你可以看到 RAMP 值以 1 为步进不断的上升，同时你还可以看到铂金片逐渐变红发亮。当玻璃管受热融化在牵拉臂的作用下向两边拉开这时候控制仪就会停止加热，这是所显示的值就是玻璃管的熔点。这一 RAMP 值用于确定控制参数中的 HEAT 值。HEAT 值的测定根据你选用的铂金片而有所不同。

建议：

梯形铂金片：HEAT=RAMP+15

方形铂金片：HEAT=RAMP

※ 但大家要注意这个值只是一个相对的值不是真实的温度，而且不同一台控制仪的数值也是不相同的！

当每次更换铂金片或者是更换了不同型号不同品牌的玻璃管时都要从新测量 RAMP 值。

2. CHANGE AIR PRESSURE

此功能用于设置喷气的压强，就是第一行中显示的 P 值。可在 1 到 999 之间设置。对与不同的玻璃管推荐如下

厚壁玻璃管：500

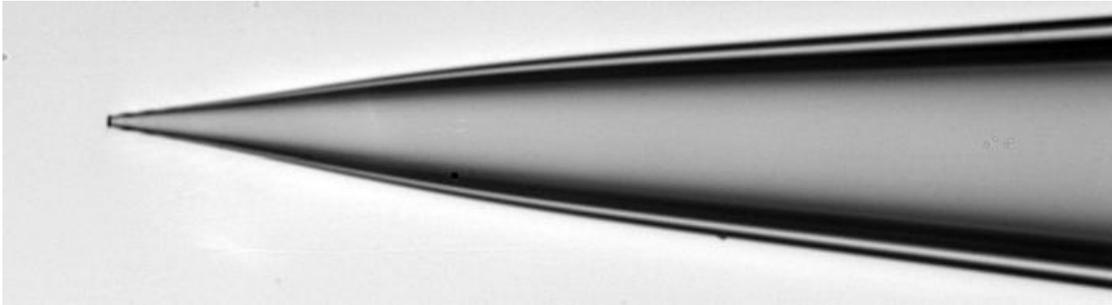
薄壁玻璃管：300

※ 处理以上的控制模式还有另一种成为延时模式（DELAY）这种方式不常用。启动这种模式的标志就是四个参数最后一个的 TIME 显示为 DELAY。这是你可以通过功能三 AIR

MODE 将其切换回 TIME 模式。

膜片钳电极的控制

下图是一个理想的膜片钳试验中所使用的电极尖端：



使用胖一些（就是肚子比较大尖端比较小）的点击可以有更好的封接效果，至于其原因可以由下图来说明：



可以看到左侧是较胖的电极，其相对于右侧较瘦（尖端陡峭）的电极在尖端内有较大的体积，所以当胞膜吸入电极尖端后胞膜与电极尖端内壁有较大的接触面积。因此以此类电极有较好的封接效果。

当你了解了何种电极才是好电极后，下一步就是如何使用 P-97 制作理想的电极。

首先将 pressure 设为 500（一般默认就是 500），其次对与不同的铂金片要使用不同的参数。我实验室常用的是梯形铂金片，此外还有一种方形的铂金片。首先使用 RAMP 功能测量玻璃管熔点（此熔点用 RAMP 表示）。两种铂金片对应的参数列表如下：

铂金片类型	HEAT	PULL	VELOCITY	TIME
梯形	RAMP+15	0	40	200
方形	RAMP	0	40	200

先使用上述的参数设置一步。开始控制！往往这样一步是不能拉断电极的，所以 P-97 就会自动循环执行程序直到拉断电极。比如这时拉制程序循环三次也就是通过三步拉断了电极。然后使用抛光仪（或者显微镜）观察点击尖端，往往三步拉断的电极会比较瘦尖端很陡而且开口太小，这样的电极是不理想的电极。接下来我们只调节控制速度，减少控制速度可以让点击变胖。你可以以“3”步进逐步减少控制速度并可以做如下的记录。例如：

控制速度	40	37	34	31	28	25	22
控制步数	3	3	4	4	4	4	5

你会发现以同样的步数拉断的电极形状是相似的，但不同步数之间差异就比较大了。一

一般而言四步拉断的电极就已经比较理想了。在上面的例子中你不要设置拉制速度为 34 或 25 以为他们处在步数变化的临界值。由于拉制仪每次拉制多少都有一些波动，你设置为临界值就很有可能在拉制的过程中出现拉制步数的变化而使拉制失败。你应该设置拉直速度为 31 或 28 这样就会比较稳定了。

如果这是已经拉制出了理想的电极，那么拉制仪的设置就到此为止，以后使用这一参数拉制即可。如果你发现使用四步拉出的点击太细，然而使用五步拉出的点击太粗的话，这就说明每一不使用同样的参数拉制已经不能满足你的要求了。这时你就需要使用有差异的参数设置了。好比是想上面的情况四步太细五步太粗，首先你要在一个程序中设置四步参数（假设 RAMP=285 使用梯形铂金片）如下表：

HEAT	PULL	VELOCITY	TIME
300	0	28	200
300	0	28	200
300	0	28	200
300	0	23	200

注意最后一步，你通过适当减少最后一步的速度可以拉出较胖的理想电极。

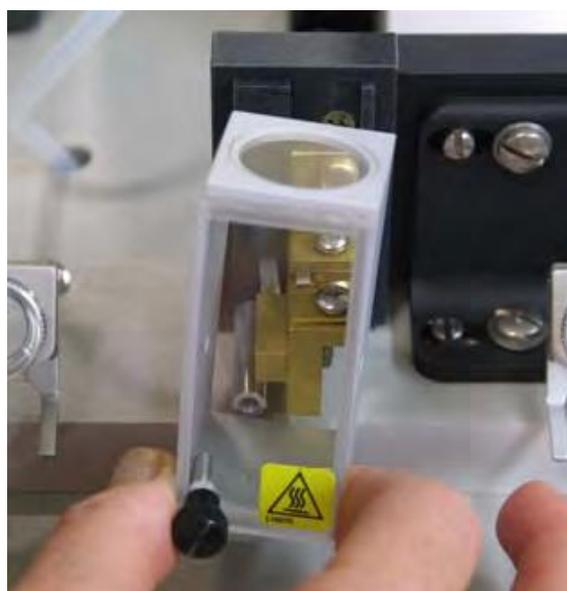
P-97 的日常维护

铂金片的更换

铂金片在使用一段时间后会熔断然后就无法使用了，这是就需要我们自己来更换铂金片。下面我就一梯形铂金片（货号 FT330B）与方形铂金片（货号 FB255B）为例来演示更换铂金片。

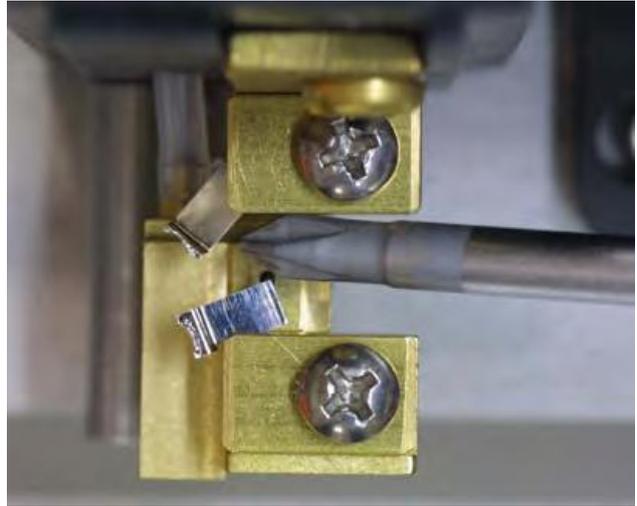
第一步：

拧开干燥小室左下角的旋钮，如图取下干燥小室。



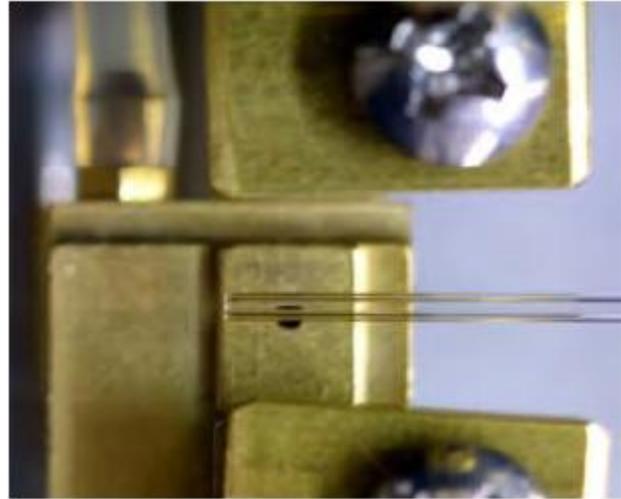
第二步:

拧开如右图固定铂金片的两个银色螺丝然后用螺丝刀挑出熔断的铂金片。



第三步:

将一根玻璃管装入右侧的拉制臂让后将玻璃管的位置调整到如右图的样子，然后拧紧固定臂上的旋钮。此玻璃管作为调整铂金片位置的参照物。一般而言玻璃管应该大约在喷气孔的正上方（正如右图）。



第四步:

在正式安装铂金片之前要将铂金片调整到正确的形状，如右图左侧是不正确的形状，右侧是理想的形状。其中上面两个是梯形的铂金片，最下面一个是方形的铂金片。



在安装铂金片之前你还要明了铂金片安装的标准，现以图示表示如下，左侧为梯形铂金片，

右侧为方形铂金片（此为示意图，并没有完全体现出真实比例，并且在安装时只要相差不多就好了，不必太过精确）。

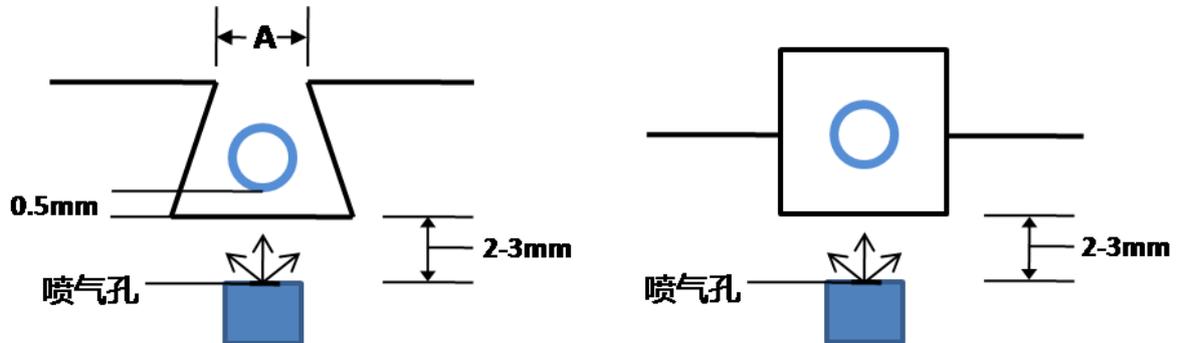
梯形铂金片:

如图 A 所示的宽度约为底边的 $\frac{2}{3}$ 。玻璃管在梯形的正中，且离底边约有 0.5mm 的距离。

梯形底面离喷气孔距离为 2-3mm 如图所示。

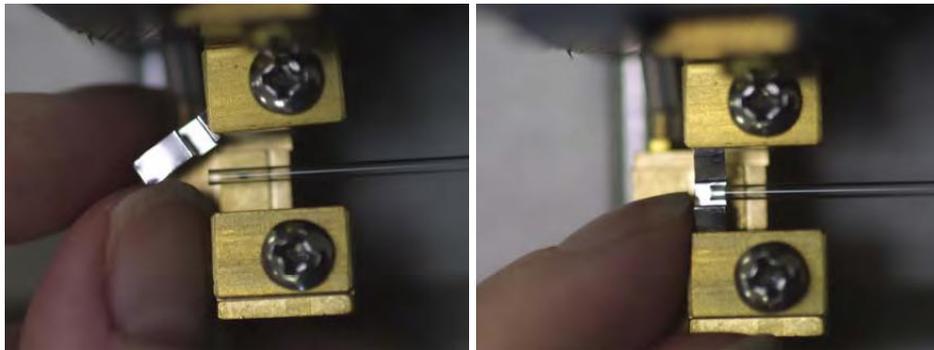
方形铂金片：

玻璃管在方形的正中，底边与喷气孔距离为 2-3mm 如图所示。



第五步：

如下图小心装入铂金片，并使玻璃管正好通过铂金片的中线。



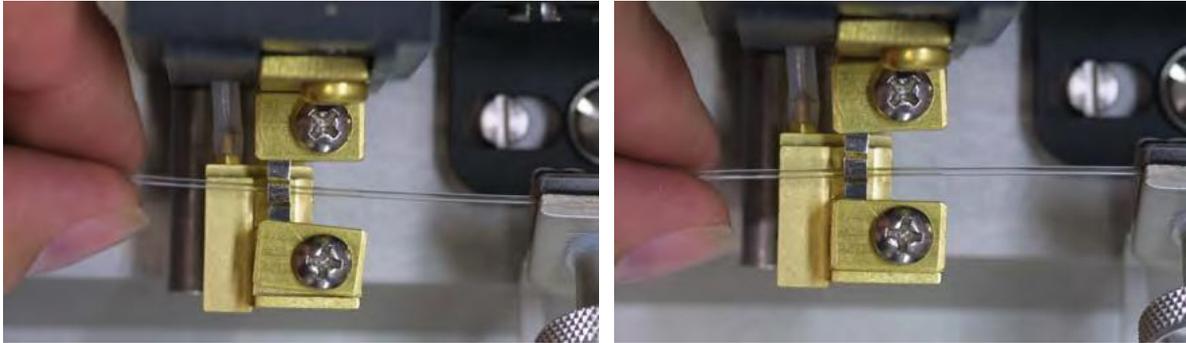
第六步：

由于玻璃管的位置是固定的而梯形铂金片与方形铂金片相对于玻璃管的固定高度是不行的(可参见上文的示意图)所以在更换不同类型的铂金片时就要调整固定铂金片的高度了。我们称夹住铂金片的铜块为固定钳，如下左图拧开这一螺丝就可以上下调节内侧固定钳的高度，如下右图拧开的螺丝就可以调节外侧固定钳的高度了。所以你在从梯形铂金片更换到方形铂金片是就要将双侧的固定钳向下调节大约 3mm。反之就要向上调节 3mm。(调整时务必使两侧固定钳同高!)



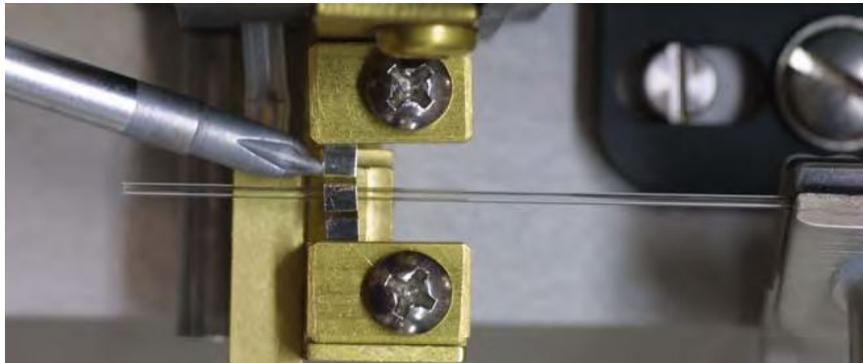
第七步:

当放入铂金片后你发现玻璃管并没有位于铂金片的中线位置，你可以使用如下的方法调节。用手拿住玻璃管的游离端分别向两侧微微掰动，如下图，如此就可以调节铂金片的位置了。



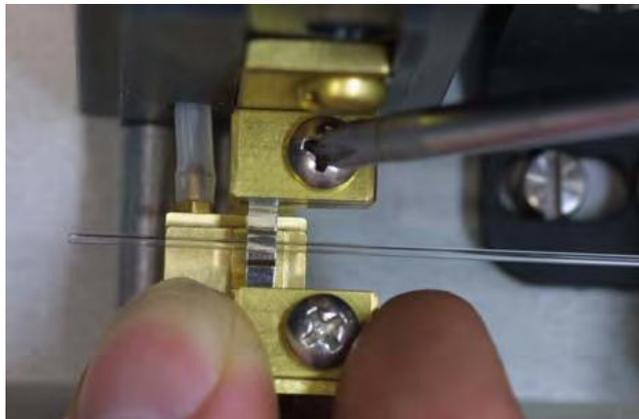
第八步

使用螺丝刀左右调节铂金片的位置使其位于喷气孔的正上方，你可以使用手电从铂金片的上方在左右两侧向铂金片的下方照射，如果你从左右两侧可以同样的看到喷气孔说明喷气孔就处于铂金片的正下方了。



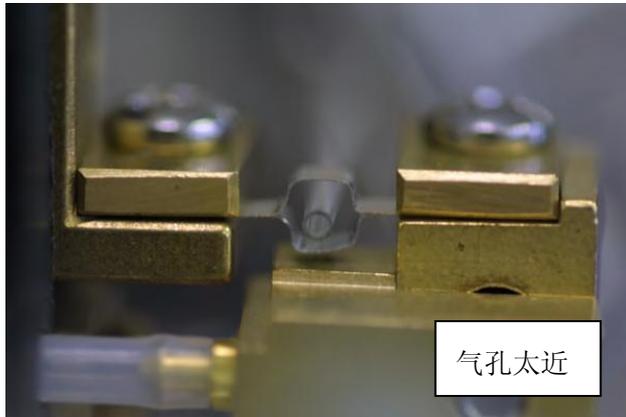
第九步:

当调节好铂金片位置后，就可以拧紧螺丝将铂金片固定了。

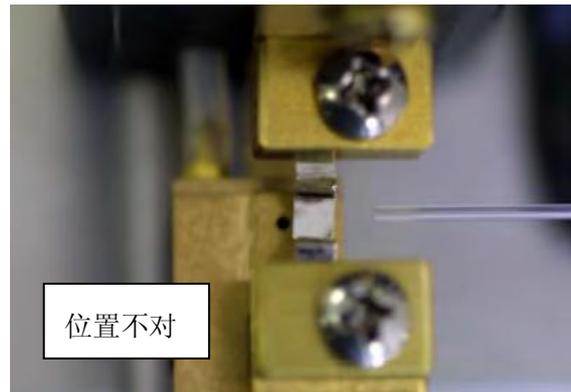
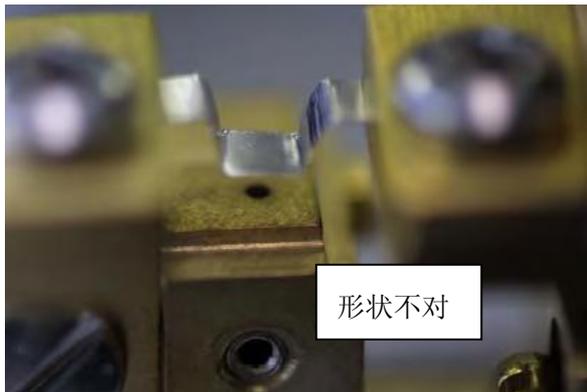


第十步:

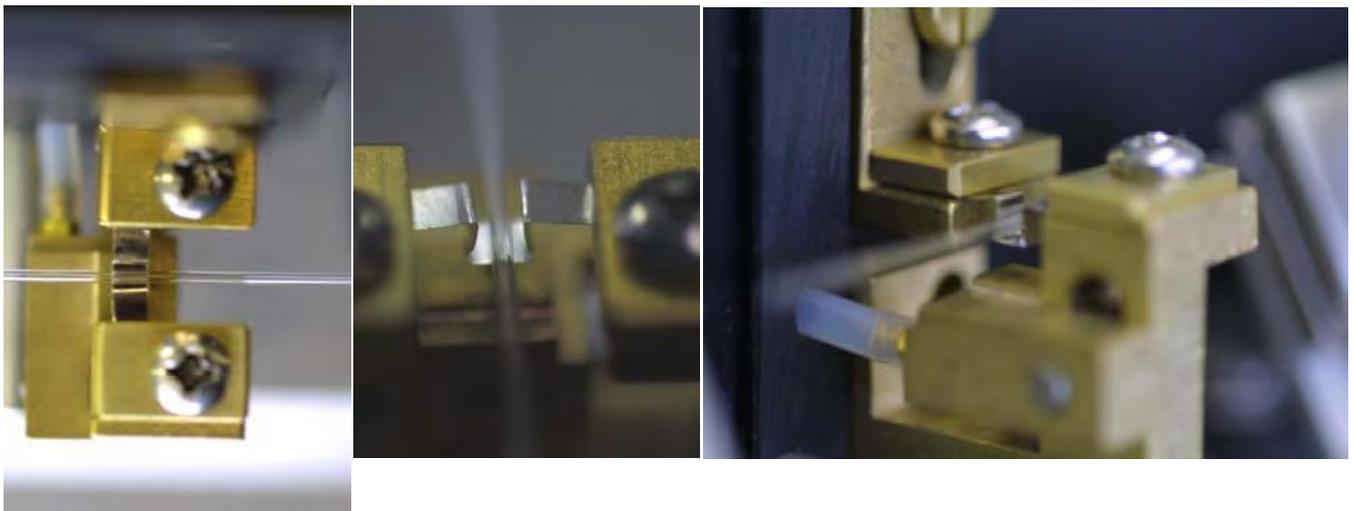
如果喷气孔的位置不对（如下左图）可如右图拧开箭头所示螺丝让好就可以上下调节喷气孔的位置了。



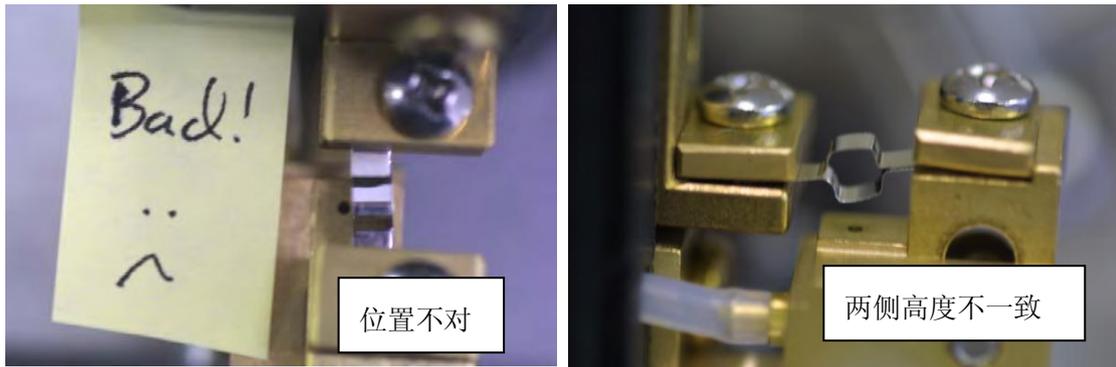
下面是没有正确安装的梯形铂金片。



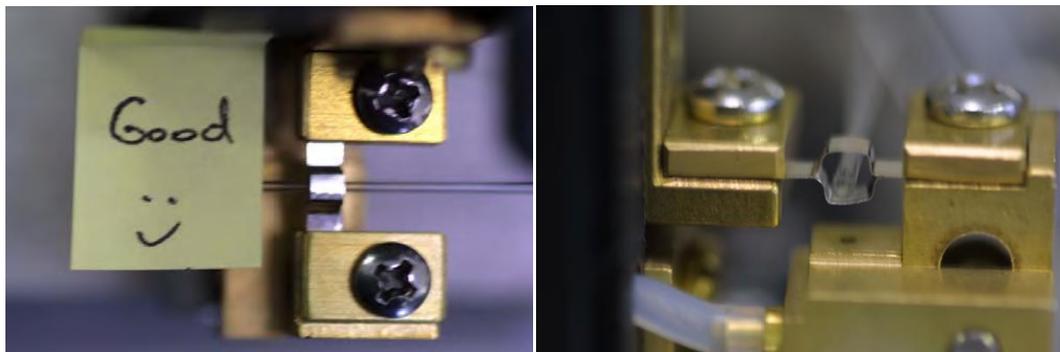
下面是安装正确的梯形铂金片。



下面是没有正确安装的方形铂金片。

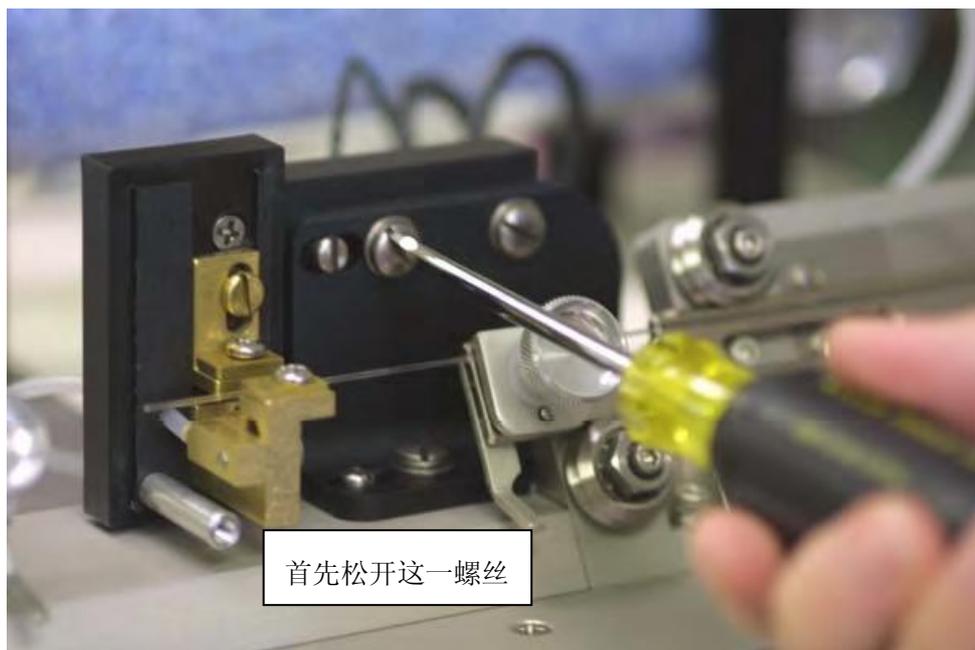


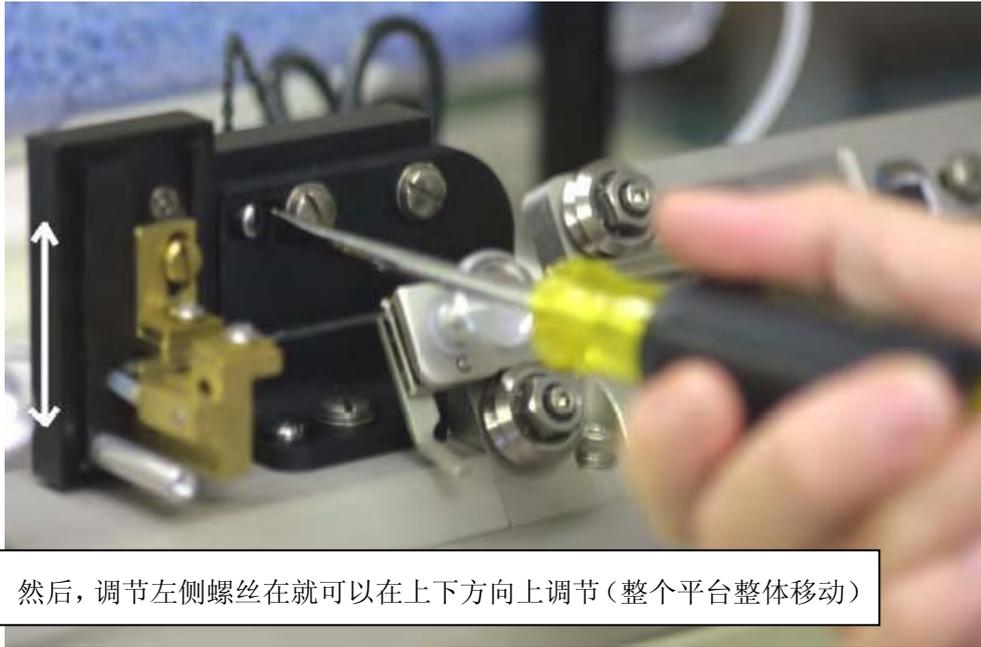
下面是安装正确的方形铂金片。



以上介绍我们知道，要想左右调整铂金片可以松开铂金片两侧固定钳的螺丝。如果要上下调节就要松开垂直面上黄色螺丝来调节两侧固定钳的高度。但往往这样的调节不容易精确控制，所以 P97 还提供了另一种更精细的调节方式，如下图：

上下移动：





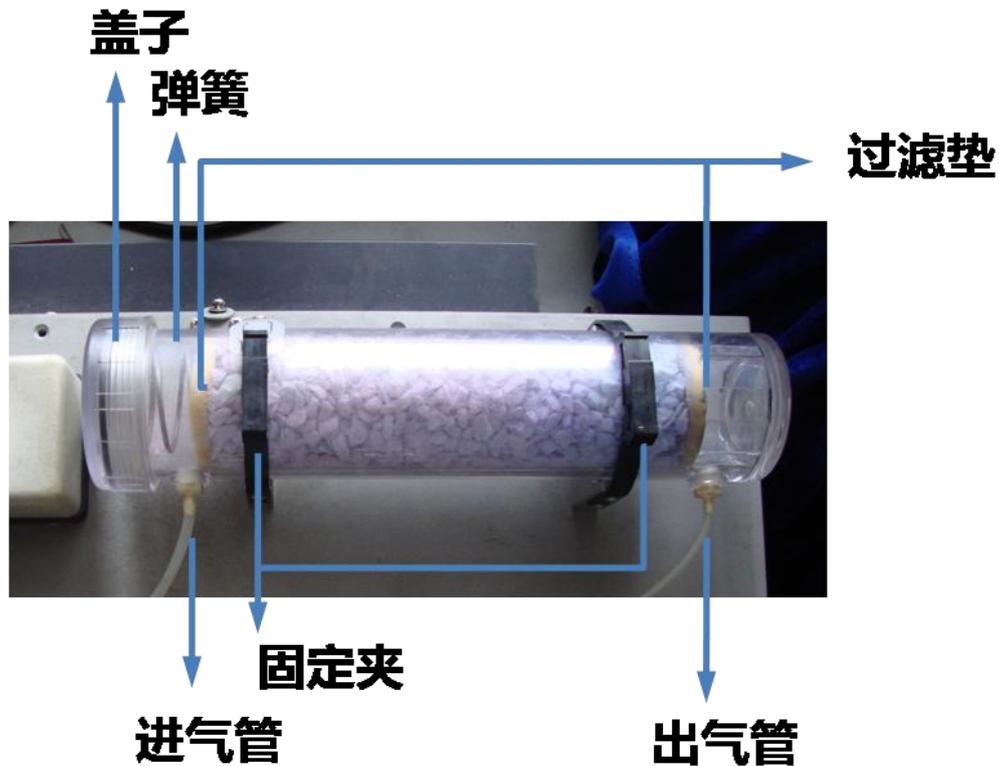
前后移动：



当安装好铂金片后就可以进行 RAMP 测量，进而调节拉制仪参数了。

干燥剂的更换

当干燥罐中的干燥剂全部变为紫色时就需要更换干燥剂了。首先需要拧开拉制仪外的三颗螺丝取下黑色透明的玻璃罩。然后就可以着手取下干燥罐了。先看下图：



首先拔出硅胶的进气管与储气罐，然后打开两个固定夹（早期生产的 P97 是使用有锯齿的卡子卡住的使用平口的螺丝刀轻轻翘起就可以打开。后期生产的固定夹是一体的用螺丝固定在底座上使用螺丝刀拧下螺丝即可）。小心取下干燥罐，并将盖子端向上立在桌子上。用力拧开盖子，注意盖子下有一弹簧用以压紧干燥剂，在拧开盖子的时候要小心弹簧弹开盖子。取出弹簧可以看到有一金属的隔板隔板上有许多圆孔。隔板下是过滤垫，再下面就是干燥剂了。你可以想用镊子取出隔板和过滤垫。一般吸潮后的干燥剂会板结在一起，先找一大的实验室用的白色搪瓷盘轻轻将干燥剂磕出来。干燥剂之下还有一过滤垫再之下还有一个金属的隔板，可以一并取出。

干燥剂可以重复使用。将干燥剂在金属盘中摊平（尽量使用大的金属盘，可以让干燥剂铺成单层）**200°C在干燥箱中干燥一小时**。干燥完成后趁热将干燥剂放入可密闭的玻璃容器中（我们是使用磨砂的广口瓶让后用封口膜封一下，如果密封太好会产生负压冷却之后就很难打开了）。等冷却后再按原顺序装入干燥罐中（隔板→过滤垫→干燥剂→过滤垫→隔板→弹簧→盖子）

※ 注意隔板是有正反的装入要与拆开时一致。

※ 盖子内有一圈橡胶要注意清洁以避免干燥罐密封不良。

最后按拆开的顺序固定干燥罐，并装上进气管与出气管。

干燥剂在干燥后就会又变为蓝色。当然干燥剂在多次循环使用后会有损耗的，这时你就可以在重新购买了。