

仪器设备

Z-80 单板微处理机在毫微秒脉冲荧光计中的应用

阮康成 江寿平

(中国科学院上海生物化学研究所)

我所研制成功的 BIAS-100 型毫微秒脉冲荧光计^[1]是用时间极短(10^{-9} 秒),重复频率较高的(20,000 次/秒)光脉冲^[2]激发荧光物质,产生的荧光经光电倍增管转换成相应的电信号,利用取样示波器作信号平均器^[3],将此快速信号转变为一缓慢变化的信号显示在荧光屏上,或用 X-Y 记录仪记录下来。由于激励光脉冲本身有一定的衰减,仪器检测系统亦有一定的响应时间,因此测得的荧光衰减曲线是激励光脉冲,仪器响应及样品荧光衰减的总和,可用下式表示:

$$F(t) = \int_0^t f(\tau) I(t - \tau) d\tau \quad (1)$$

式中, $f(t)$ 是样品的荧光衰减函数; $I(t)$ 是仪器的响应函数包括检测系统的时间响应和激励光脉冲的衰减,可通过测定激励光脉冲获得。 $F(t)$ 是和 $f(t)$ 相对应的由仪器测得的荧光衰减(可称为表观荧光衰减函数)。欲求样品的荧光寿命必须由(1)式求出 $f(t)$ 。在 $f(t)$ 为单指数函数时,利用‘矩方法’,并将 $F(t), I(t)$ 均近似成指数函数处理,通过解(1)式可得样品的荧光寿命 τ 为^[3]:

$$\tau^2 = \tau_F^2 - \tau_I^2 \quad (2)$$

式中 τ_F 为表观荧光强度从最大值 F_0 衰减到 F_0/e 时所需的时间; τ_I 是激励光脉冲由最大值 I_0 衰减到 I_0/e 时所需的时间。

过去用人工计算荧光寿命,费时、且误差大,最近,我们将 Z-80 单板微处理机应用到 BIAS-100 毫微秒脉冲荧光计上,取得了较好的结果,我们用国产 V/F 转换器配合少量硬件和软件

制成 A/D 转换器及其接口,具有成本低、使用方便等特点;数据处理结果用 VOESA 1871 计算器上的小打印机打印输出。

一、A/D 转换器及其接口

其原理如图 1 示。V/F 转换器将 BIAS-100 毫微秒脉冲荧光计输出的电压信号转变为相应

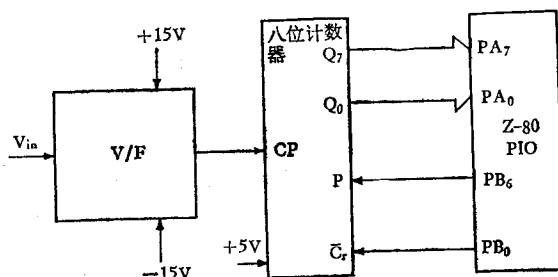


图 1 A/D 转换器及其接口

的频率,送到计数器(8 位),通过 Z-80 PIO 的 PB_6 送出高电平信号控制计数器的计数时间来采集数据。计数时间为 40ms,一俟计数时间结束,软件立即通过 PB_6 输出一低电平信号,使计数器输出保持计数结束时的状态,在此期间,软件通过 CPU 由 PIO 的 A 口将计数器上的数据送到相应的内存单元,这样就完成一次数据采集。此后软件通过 PB_0 向计数器发出清“0”信号(低电平),然后 PB_6 再次发出计数信号,开始下一次计数……,直至达到预置的采集数据次数为止。控制 A/D 转换器及其接口的程序框图、时序图,见图 2 与图 3。

A/D 转换器中的 V/F 转换器是一种定电荷复原型、混装式的电压—频率转换器,为了保证

```

graph TD
    A[确立 Z-80 PIO、PA 口、PB 口的工作模式] --> B[确立采样次数→B 寄存器数据存贮单元首地址→HL]
    B --> C[PB0 送出清零信号]
    C --> D[PB0 送计数信号]
    D --> E[延时 40ms]
    E --> F[PB0 送保持计数器状态信号]
    F --> G[PA 口取数据, 且 B-1, HL+1]
    G --> H[PB0 输出清零信号]
    H --> I{B=0?}
    I -- 否 --> D
    I -- 是 --> J[结束]
  
```

The timing diagram shows the relationship between the V/F output and the counter outputs. The top trace, labeled 'V/F 输出', is a high-frequency sawtooth wave. Below it are three counter outputs: '高电平计数' (High-level counting), '低电平保持 (由 PB₆ 输出)' (Low-level hold, output by PB₆), and '计数器计数' (Counter counting). The counter counting trace shows a series of pulses corresponding to the counting process. The bottom trace, labeled '低电平清“0” (由 PB₀ 输出)' (Low-level clear "0", output by PB₀), shows a series of pulses that clear the counter to zero. Vertical dashed lines indicate the timing of the counter outputs relative to the V/F output.

二、数据处理结果的打印输出

黄 蓝 白 红 灰 白 棕 桔黄

Z-80 +5V

B 17 16 15 14 5 6 11

计数器 CPU

PB₆ PB₄ PB₅ PB₇ PB₁ PB₂ PB₃

Z-80 PIO

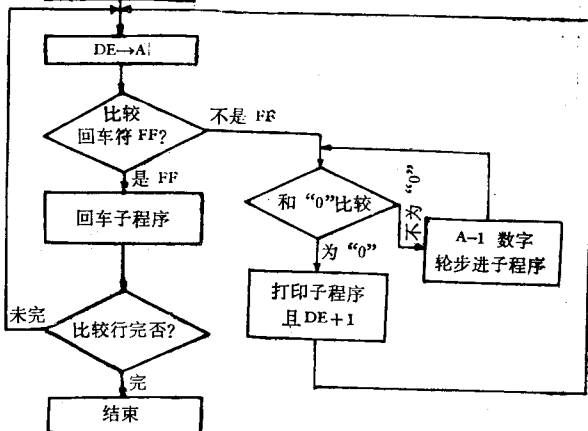
计算机内接线架

□——缓冲器

```

graph TD
    A[确立初始条件] --> B[数字轮步进  
回车子程序]
    B --> C{测  
数字轮“0”信号？}
    C -- 不是“0” --> D[数字轮步  
进子程序]
    D --> C
    C -- 是“0” --> E[回车子程序]

```



回车符 FF(H) 是我们自定的,不是通常的 CR

设置的数。由于打印出来的数是十进制的,而内存单元里都是二进制数,因此打印前须将二进制变为二—十进制,且一个数的个、十、百……

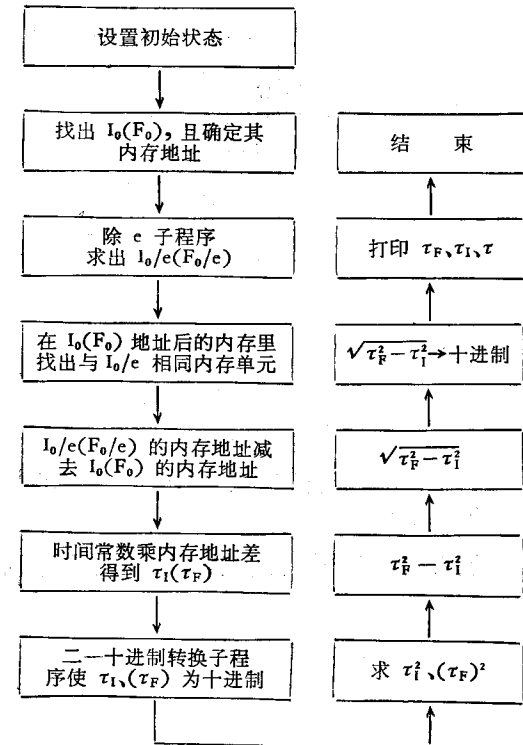


图 6 数据处理程序框图

等位的值应独立送进各个内存单元,一个单元的内容只能打一个字符。

三、数据处理程序

采用“矩方法”将求荧光寿命 τ 简化成式(2)的形式,数据处理的程序设计就比较简单了。(图 6) 其中 I_0 指测激励光脉冲时得到最大值, F_0 指测样品荧光衰减时最大值,时间常数用已知荧光寿命的样品校正获得,测激励光脉冲和荧光样品时采集的数据各自放在二组内存中。最后,数据处理结果打印输出,第一行为激励光脉冲的 τ_1 值,第二行是 τ_F , 第三行是荧光寿命 τ 。

参 考 文 献

- [1] 阮康成,江寿平等,《生物化学与生物物理学报》1982年,第5期,71页。
- [2] 阮康成,江寿平等,《生物化学与生物物理进展》1982年,第1期,73页。
- [3] H. Riipple, et al.: *Methods in Enzymology*, 1969, 16, 317.
- [4] Yguerabide, J.: *Methods in Enzymology*, 26, parte, 498, 1972.
- [5] Birks, J. B.: *Progress in Reaction, Kinetics*, 1967, 4, 75.

[本文于1982年7月7日收到]

(上接第80页)

的全部特征,包括可从胞质移入核内。

近年来由于研究技术的更新,基因表达中甾体激素调节作用的研究已取得重大进展。现在首先需要澄清不同实验技术引起的分歧,其次是如何把以下矛盾事实统一起来:基因组内可被甾体激素受体识别的DNA段落为数不多,而保持激素全面反应需要核内有数量很多的受体分子。Mulvihill 的实验中,在14kbp的已知可被孕酮激活的基因序列中,只测出42个段落含孕酮-受体复合物特异识别的19bp同源序列。这个数字很难说明通常在每个细胞核内发现的成千上万个受体结合位置的事实。这里值得指出的是,Mulvihill 的观察中,注意到孕酮-受体复合物与靶基因5'上游DNA序列相互作用的相对强度只不过10—40倍于非特异的小牛胸腺DNA或珠蛋白基因DNA。这或许

意味着大量其它结合位置并不在DNA上,而是位于核内其它组份,如染色体蛋白质,RNP颗粒或核基质上,甚至还可能有非核部位的结合位置也发生了结构或构象变化。以保证实现激素诱发的全部转录活力。

甾体激素对基因活动的调节机理要形成一个统一的概念,还有许多工作要做,从展望的角度考虑,像前文中提及的向含糖皮质激素受体的活细胞引进外来的MMTV病毒序列,及用光亲和标记法使蜕皮素在果蝇细胞内与受体结合,并在染色体上定位这样的体内功能实验是有待进一步开拓的重要研究手段。另外,开展向不含受体的细胞引进受体分子以及进行受体基因的遗传工程研究,以进一步探讨甾体激素受体复合物与DNA及其它细胞组分的相互作用必将能为理解真核基因表达的调控机理提供重要的情报。

[*Nature*, 298, 707, 1982. 情]