

离子单通道数据计算机处理

汪宽蓉 孙 彤 郭居潜 林 燕

(南开大学, 天津 300071)

关键词 离子单通道电流, 高斯滤波, 内插, 直方图绘制**引 言**

采用膜片钳位 (patch clamp) 技术可以从分子水平揭示离子通道分子构象变化规律, 了解单通道特性、调控、药物作用等, 故引起国内外学者的广泛关注。各种离子单通道电流记录都呈一系列宽度、高度、间隔不等的随机脉冲信号^[1]。通常是对这些信号作统计处理, 以获取所关注的有用参量, 如脉冲宽度直方图, 以提取与构象转变速率相联系的平均开启时间和关闭时间; 作出电流脉冲幅度直方图, 求出平均单通道电流, 进而求出单通道电导等。对大量事件进行统计处理的可信度与被统计事件的数目有关, 为此需借助计算机完成。目前国内有些单位是从国外购置专用计算机进行数据处理的。为了利用通用的 IBM 计算机进行离子单通道数据处理, 我们编制了这一组程序。

计算机程序及结果

首先将单通道信号记录在数据磁带仪上, 再由 IBM 微机进行处理。本程序包括以下几个子程序: 采样, 屏幕显示单通道记录, 三次仿样内插, 滤波, 发现事件并作电流幅度直方图, 开启时间直方图及曲线拟合, 关闭时间直方图及曲线拟合。实验者可根据需要挑选调用任一子程序。现简要介绍如下。

1. 屏幕显示单通道记录曲线 为了监测、分析记录到的随机信号而设置, 同时还赋有协助操作者正确选择阈限的功能。

2. 三次仿样内插程序 采样应该在五倍于截止频率下进行, 如果采样频率没有达到这一要求, 或由于其它需要, 可以采用三次仿样内插程序, 将数据点密度扩大两倍以上。由于三次仿样内插法给出的居间点综合了大量样点的数据特征, 它对曲线平滑的效果较好。

3 滤波程序 由一个通道分子构象变化所形成的单通道电流只有 pA 数量级, 而且磁带记录仪重放时也会混入噪声, 所以记录到的信号难免附有噪声。为此, 仿照 Sigworth 的处理^[2], 编制了高斯滤波程序。操作者可以根据需要, 对已数字化的采样信号, 先进行滤波后, 再作下一步处理。高斯滤波的一个优点就是对数据可以进行重复滤波, 以达到所希望的结果。截止频

率的选择可由滤波效果来确定。

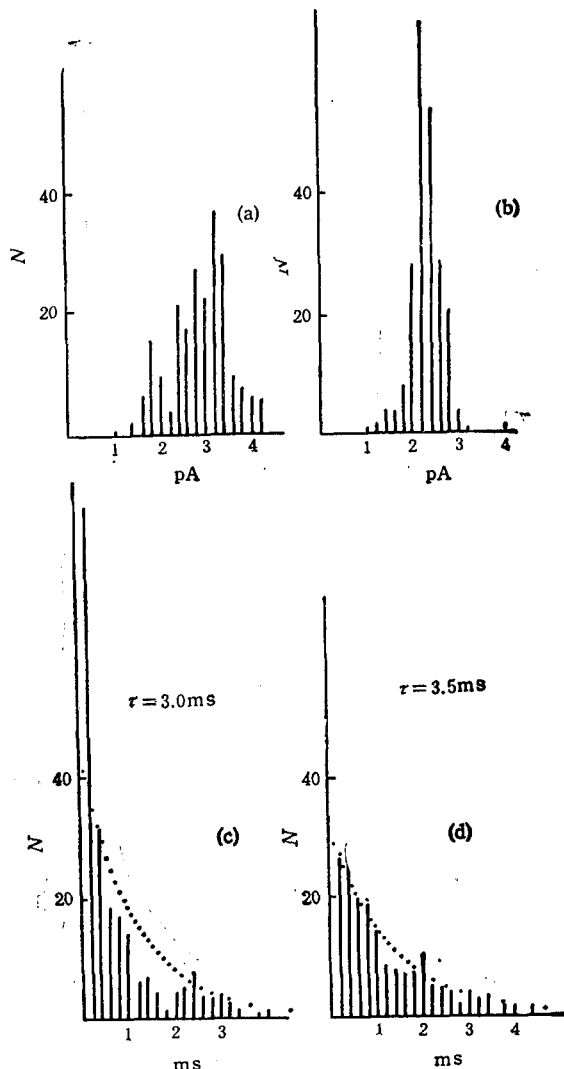


图 1 单通道数据计算机处理

(a) 单通道电流幅度直方图 (b) 基线位置直方图
(c) 开启时程直方图及拟合曲线 (d) 关闭时程直方图及拟合曲线。N 为统计次数, τ 为拟合曲线给出的时间常数

(下转第 79 页)

它波长的光对测量光的干扰,而且很容易变换光的波长,可以测量在不同光波长下的光吸收随时间的变化。

2. 用作脉冲光源的闪光灯及用作数据测量的波形存储器由计算机通过自制接口直接控制。计算机可控制波形存储器的启动、触发、数据采集和脉冲光源的闪光。当调整好仪器后,可用计算机程序控制,反复多次自动进行动态光谱实验,并将测量数据存入计算机或进行相加处理后存入。在生物动态光谱实验中,由于信号弱,往往需采用多次实验结果相加平均处理的方法以消除噪声的影响。这样不仅可以减少重复的实验操作,而且更重要的是可以提高实验精度。对足够多次的实验数据相加平均后,最小可测的光密度变化可达 0.0015。

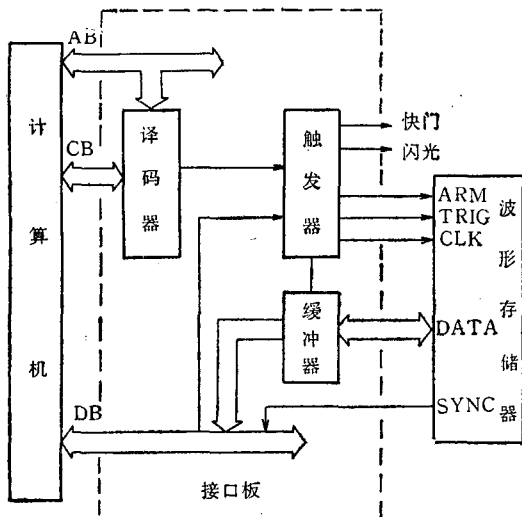


图2 接口板逻辑框图

(上接第75页)

4. 发现和作直方图程序 本程序是计算机处理单通道数据的主程序。对一系列随机电流脉冲信号,判断通道何时开启和何时关闭,并计算出开启时通道电流平均幅度和开启时程、关闭时程。由发现程序完成。通常是设置一条阈限作为开启和关闭的判断条件。Sigworth 是采用背景噪声标准误的六倍作为阈限。我们考虑到单通道信号中有小电导态,有阵发(burst)现象,在一簇开启中,有时通道并不回到基态,而是回到某一亚态等情况,为了能够更灵活、更有针对性的分析以上某一个具体问题,我们在程序中设计了可由操作者自己选择的阈限值,同时还设置了幅限值。图1是由本程序所绘制的直方图。

讨 论

1. 阈限设置对数据处理结果的影响 如上所述,自设阈限具有灵活性和针对性。如由图 1a 结果可区

自动控制用的微机是 Zenith Data System 公司的 Z-100PC。它是一种 IBM-PC 兼容机。配上自制的并行接口板后,实现了对波形存储器和脉冲光源的控制。图2是自制接口板的逻辑框图。计算机的命令通过扩展总线送给译码器 74 LS138,由译码器选择驱动相应的触发器翻转,实现对闪光灯和波形存储器的控制。

二、软件的设计

软件的编写采用模块方式。整个软件由初始化、主控制、数据采集、数据采集平均、数据处理、外设控制、显示及打印曲线等七个模块组成。鉴于 Basic 语言具有简单、易懂,便于人机对话和较强的打印作图功能等优点,因此,除数据处理外的程序均用 Basic 语言编写。数据处理模块的程序采用计算功能强,速度快的 Fortran 语言。故我们的数据处理模块比文献[3]的功能强,速度快。数据处理模块包含有光密度计算;单、多指数曲线拟合;质子泵功能计算等四种不同的数据处理程序。多指数曲线拟合程序,能将中间产物 M_{412} 的快、慢衰减组分分开,从而可以研究快、慢衰减组分与 pH 值的关系。实验结果另有文章介绍^[4]。

参 考 文 献

- 1 Govindjee R et al. *Biophysic J*. 1980; 30: 231
- 2 沈恂等. *生物化学与生物物理学报*, 1981; 13: 165
- 3 王能等. *生物物理学报*, 1986; 2: 32.
- 4 顾向明等. *生物物理学报*, 1989; 5(3): 274

[本文于 1989 年 11 月 10 日收到,
1990 年 1 月 8 日修回]

分出有两个电导态。自己设置阈限和幅限可以挑选出一种电导态进行处理。如对其中小电导态处理结果为:单通道电流 1.8pA;平均开启时间 $\tau = 1.3ms$,说明它们是一些窄脉冲;平均关闭时间 $\tau = 11.3ms$,说明出现几率比大电导态几率要小。

2. 只配以 A/D 接口,用通用计算机处理单通道数据是可能的 由此可以肯定这一程序的经济价值,而且可以根据自己所研究的问题来编制程序,这更增添了它的针对性和灵活性。

参 考 文 献

- 1 杨文修,赵明利. *生物化学与生物物理进展*, 1988; 15(3): 186
- 2 Sakmann B, Neher E. *Single-channel recording*. New York and London: Plenum Press, 1984: 191-263, 301-321

[本文于1989年9月23日收到,1990年1月31日修回]