

表 1 不同影泡制剂的封闭度

影 泡 制 剂	NADH-Cytc 氧化还原酶活性* ($\bar{x} \pm SD$)		封 闭 度 %
	不 加 皂 素	加 皂 素	
(1) 5p8 影泡	0.053 $\pm$ 0.008(3)**	0.057 $\pm$ 0.01 (3)	7.0
(2) 10p7.4 影泡	0.05 $\pm$ 0.006(4)	0.061 $\pm$ 0.007(4)	18.0
(3) Mg ²⁺ -封闭影泡	0.025 $\pm$ 0.002(3)	0.076 $\pm$ 0.019(3)	67.1

* 还原辅酶 I: 细胞色素 C 氧化还原酶活性单位为 $\Delta O.D.$ 毫克膜蛋白⁻¹·分⁻¹。

** 括号内的数字表示实验次数。

表 2 Mg²⁺-封闭影泡制剂在速度区带离心前后的封闭度

测 定 方 法	分离前平均封闭度(%)	分离后平均封闭度(%)	
		上层区带	下层区带
(1) NADH-Cytc 氧化还原酶	67.1(3)*	100(3)	56.3(3)
(2) 3-磷酸甘油醛脱氢酶	65.7(2)	100(2)	56.4(2)

* 括号内的数字表示实验次数

为下层的 4 倍以上,呈红色,封闭度为 100%,总之,与 Steck 等人^[5]描述的 Mg²⁺-封闭影泡特征非常一致。可以认为封闭影泡集中在上层区带,至于下层区带,则主要是不封闭或不完全封闭影泡。

文中显微照片由顾福康同志摄制,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Teorell, T.: *J. Gen. Physiol.*, **35**, 669, 1952.
 [2] 李才元:《生物化学与生物物理进展》3, 62, 1982.
 [3] Schwoch, G. and Passow, H.: *Mol. Cell. Bio-*

chem., **2**, 197, 1973.

- [4] Bodemann, H. et al.: *J. Membrane Biol.*, **8**, 1, 1972.
 [5] Steck, T. L. and Kant, J. A.: *Methods in Enzymology*, **31**, 172, 1974.
 [6] 秦德安等:《生物化学与生物物理进展》, 5, 67, 1983.
 [7] Zamudio, I. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **129**, 336—1960.
 [8] Ferdinand, W.: *Biochem. J.*, **92**, 578, 1964.
 [9] Moore, R. B. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **211**, 179, 1981.
 [10] Frieden, C.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **24**, 241, 1957.

[本文于1983年12月26日收到]

数 据 处 理 程 序

——显微光度术生物医学应用程序研究之二

李素文 薛绍白

(北京师范大学生物系)

显微光度测量中积累的数据量大,而所配备的软件缺乏处理这些数据的功能。即使软件较全,也只给出单个细胞的一些信息,没有给出

群体分布的信息,往往需要在测量后花很多时间另作处理,因此数据处理程序的设计非常必要。数据处理程序分较通用和专用的两种,例

如作群体的平均值、标准差、 t 测验,组方图、双参数散点图显示,曲线的平滑处理,回归分析等,是较通用的,而另一些例如吸收测量中双波法和双区法程序、荧光扫描程序、原位电泳测量程序等,是比较专用的。本文主要介绍和讨论一些通用的数据处理程序。

一、数据获取方式

显微光度测量中获取的数据有三种:一是单个数据,例如在荧光、反射光或吸收测量中获取的;二是作光谱和带型分析中获取的数据;三是扫描测量中积累的数据。对于这些数据,必须编设获取数据的子程序,才能有效地存贮和利用。

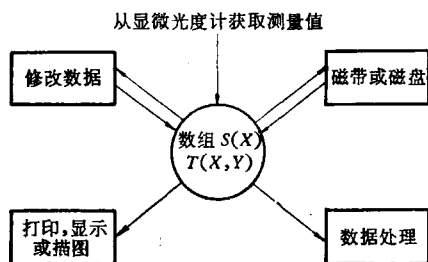


图1 数据获取和处理程序示意图

从图1中可以看出,它包括以下几个子程序:①设定数组,即计算机和显微光度计连机操作的任何一种测量程序,都应在其内设置存贮数据的数组,使测量数据依序进入数组,否则只是瞬时地显示或打印一下所测到的数据,数据处理时还得一个个数字敲进去,极为费时。②将数据从计算机内存写入磁带或磁盘的子程序;将数据从磁带或磁盘读入计算机内存的子程序。③修改数据的子程序。这个子程序应能消除或修改个别数据,补充一些同类的数据等。④数据打印或者在描图仪和显示终端上描出图形的子程序。

这些子程序的编设,使数据的存贮和调用十分方便,是设计各种数据处理方式的必要步骤,它充分发挥了计算机的记忆性能,大大地节

省了时间和劳动。

二、显微光度术常用的几种数据处理方法

1. 群体为一个正态分布时的处理。可以用一般数理统计方法设计简单的程序,作出平均值,标准差,标准误和变异系数。其公式为:

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$$

$$\sigma = \left[\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}}{N-1} \right]^{1/2}$$

$$\sigma_{\bar{X}} = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \quad C \cdot V = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

式中 X 为测量数据; N 为测量个数; $\bar{X}$ 为平均值; σ 为标准差; $\sigma_{\bar{X}}$ 为标准误; $C \cdot V$ 为变异系数。

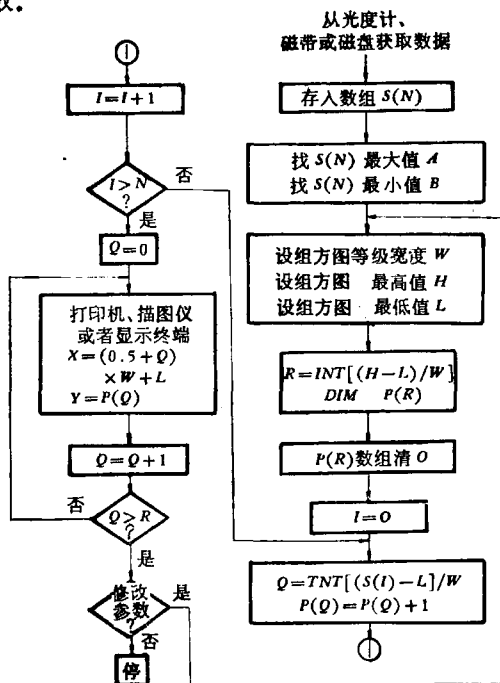


图2 组方图程序流程示意图

为了比较两个群体的差别是否显著,可以设计 t 测验程序、计算 t 值的公式为:

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\left(\frac{1}{N_x} + \frac{1}{N_y} \right)^{1/2} \left(\frac{\sum X_i^2 - N_x \bar{X}^2 + \sum Y_i^2 - N_y \bar{Y}^2}{N_x + N_y - 2} \right)^{1/2}}$$

式中 X_i 、 $\bar{X}$ 和 N_x 分别为第一个群体的测量数据、平均值和个数； Y_i 、 $\bar{Y}$ 和 N_y 分别为第二个群体的测量数据、平均值和测量个数。根据这几个公式，可以设计几个很简单的子程序，在连机操作或者脱机操作下都可以随时调用，立即打印或显示出统计结果。

2. 组方图程序设计。 对于非正态分布的群体，显微光度术常采用组方图处理（图 2）。

图 2 中数组 $S[N]$ 存放的数可以连机操作获取，也可以由磁带或磁盘读入。程序首先设置了求数组最大值、最小值的步骤是必要的，便于定出组方图的宽度和阈值。但是当比较几个数组时，可以定出共同的最高阈值和最低阈值，而不受每一个数组最大值、最小值的限制。最后根据外部设备的情况，可设计子程序，使能在打印机上打印、描图仪上描图或者在终端上显示。当比较几组实验时，利用组方图程序，观察峰值的移动和峰下面积的变化，可以获得很多信息。

3. 二维点图显示程序。 显微光度测量中，对于同一种物质可以获得两种或两种以上的信

息。例如在吸收光度测量中，可以同时测出细胞核的 DNA 含量和面积；荧光扫描测量时，可同时测出细胞核 DNA 含量和核质直径比；用吖啶橙染色可以同时测量细胞的 DNA 含量和 RNA 含量。处理这种数据可以设计一个二维点图显示程序。二维点图显示实际上就是将一个量作为横坐标，另一个量作为纵坐标，在描图仪或者在显示终端上描出或者显示出一个个座标点，省去了费时而又繁琐的手工画图。

图 3 中 E、F、G、H 座标校正因子是为适应各种描图仪和显示设备的适宜范围而设置的。利用同一张二维散点图，比较几个实验组，观察点子分布的不同区域，可以获得不同实验组和分布之间的相关信息。

三、数据处理程序的应用实例

图 4 和图 5 都是在 MPV II 显微分光光度计和 HP-9825S 计算机连机操作下进行的测量，获取的数据通过组方图程序和二维散点图程序在显示终端 Tektronix 4006-1 上获得的。

图 4 和图 5 均为用双区（一波）法^[1]程序测

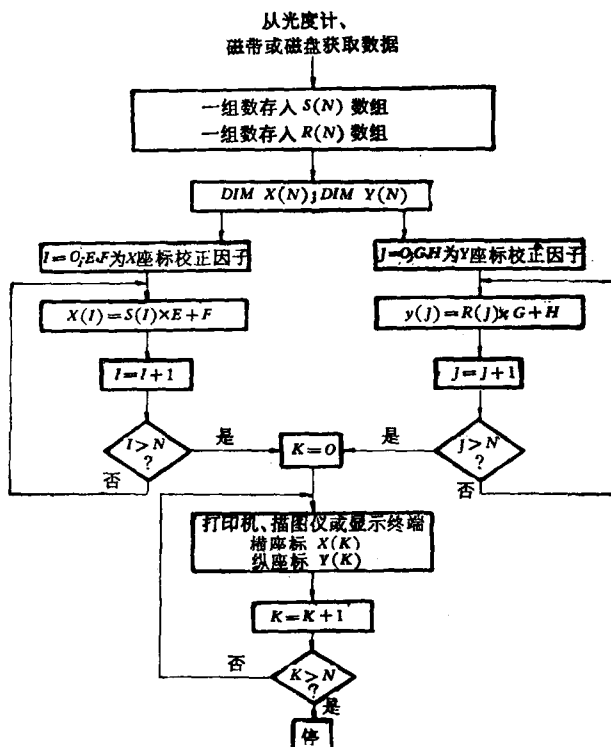


图 3 二维点图显示程序示意图

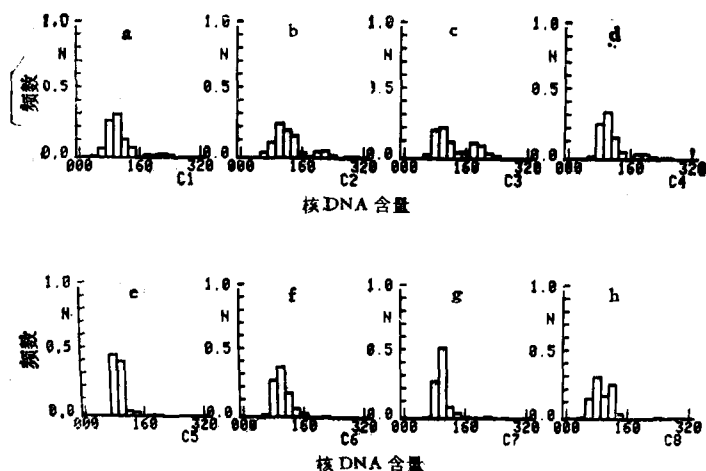


图4 两种细胞核的 DNA 组方图

a—d 为四例乳腺单纯癌。e—h 为四例乳腺腺癌(样品由山西省乳腺癌协作组李春华等提供)。

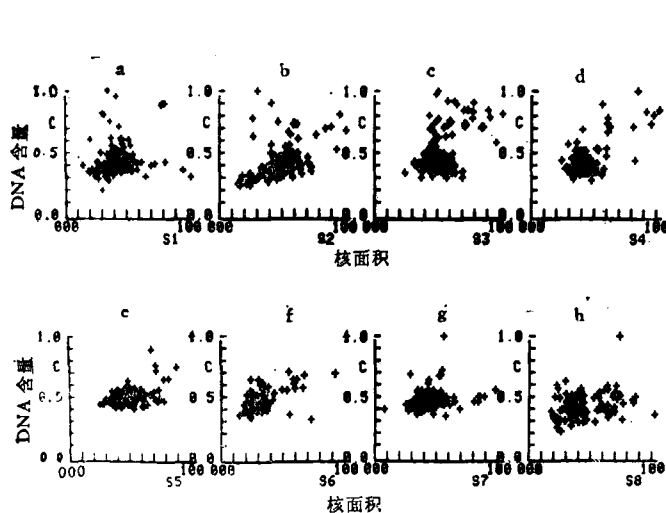


图5 两种细胞核 DNA 含量和核面积的二维散点图
本图注释同图4。

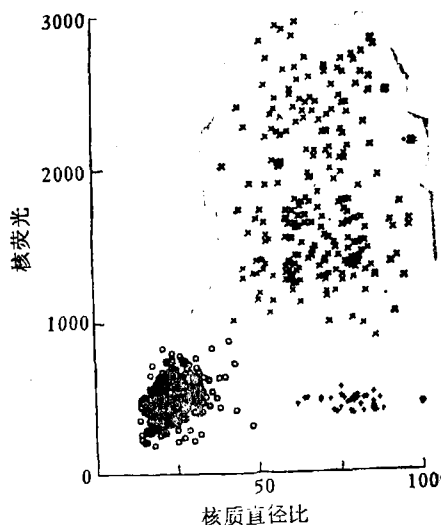


图6 人宫颈癌样品的核质直径比和核荧光的二维散点图

○ 间层鳞状上皮细胞; + 淋巴细胞,
× 增生、转移型恶性细胞。

量的结果。样品经 Feulgen 染色,每例测 100 个细胞。从组方图可以看出:恶性比良性的细胞核超二倍体 DNA 含量的细胞数量增多。从二维散点图更明显地看出:恶性比良性的无论是细胞核 DNA 含量,还是核面积分布都更为离散。

图 6^[2] 是用缝扫描荧光光度术测出的人宫颈癌样品经吖啶橙染色的二维散点图。利用缝扫描荧光光度术和二维散点图的数据处理,为

肿瘤预筛提供了很有价值的方法。

此外二维散点图程序对于两种测量值之间的关系,也可以凭直观作出粗略的估计。如果观察到二者有一定的相关性,可以再作直线回归,曲线回归或数据拟合。

上述几种处理程序是显微光度术中最常见最通用的,还有一些专用的联机操作和统计处理程序,例如荧光缝扫描程序、吸收测量中双波法和双区法程序,原位电泳测量程序等,限于篇

幅,不再赘述。

参 考 文 献

[1] Garcia, A. M. et al.: *Introduction to Quantitative*

Cytochemistry I, (Wied, G. L. et al.: eds.), 1966, 239—245, Academic Press, New York and London.
[2] Wheelless, L. L. et al.: *Acta Cytol.*, **19**, 460—464, 1975.

[本文于1983年10月17日收到]

液体闪烁计数器中 EMI 9635 QB 型光电倍增管分压条件的调试

张 廷 遼

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

DYS 系列低本底液体闪烁计数器, 均采用英国 EMI 9635 QB 型光电倍增管作主探测器, 该管具有量子效率高、噪声本底低等特点, 同时由于是石英端窗, 可以避免玻璃端窗中⁴⁰K对本底的贡献, 因而它是一种较理想的探测器件。光电倍增管的分压电路决定了管子各电极间的电场分布和强度, 它是影响管子工作的重要条件, 因此, 仔细调试并选择适宜的分压电路可以使倍增管在最佳状态下工作。本文将我们所做的分压条件调试实验的方法和结果作一介绍。

一、实验条件与方法

调试在液闪实验装置上进行, 两个探头水平放置在七厘米厚的铸铁室内, 外部未再加铅屏蔽。选用了一对蓝光灵敏度各为 $20\mu\text{A}/\text{lm}$ 的光电倍增管。信号幅度观测在日本 SS-6200 脉冲示波器上进行。³H、¹⁴C 充氮去氧密封标准样品由本实验室自制, 标准溶液是英国放射化

学中心生产的³H、¹⁴C-正十六烷。

我们采用³H、¹⁴C 标准样品为软 β 粒子辐照源, 在总电压不变的情况下, 分别调试了 R_1 、 R_2 、 R_{13} 和 R_{14} 四个分压电阻。图 1 是 9635 QB 光电倍增管分压电路图, 其中 R_1 、 R_{14} 是首末两个分压电阻, 对电子的收集具有重要影响, 故作重点调试。对所调的每个电阻一般改变了八个阻值, 观察所测指标的变化规律, 从中选出最佳的阻值范围。

二、实验结果

1. 分压电阻值对³H、¹⁴C 坪曲线的影响

液体闪烁计数器在测量一定强度的软 β 辐射源时, 一般也会出现一段坪区, 即在此区内计数率基本上不再随高压的增加而增加。坪曲线的到来说明此时光电倍增管处于把光阴极产生的每个光电子均能记录下来的工作状态, 因此, 液闪仪器能有一个好的坪曲线是重要

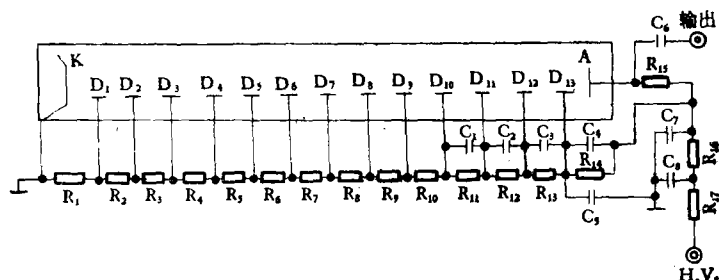


图 1 EMI 9635 QB 光电倍增管分压电路图

$R_1 = 2R - 3R$ $R_2 - R_{13} = R$ $R_{14} = 0.5R - R$ $R_{15} = 15\text{k}\Omega$ $R_{16}, R_{17} = 300\text{k}\Omega$
 $C_1 - C_4 = 510\text{pF}/250\text{V}$ $C_5, C_6 = 4700\text{pF}/3\text{kV}$ $C_7, C_8 = 0.01\mu\text{F}/3\text{kV}$