

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крупская И. В., Живолуп А. Н., Патон Е. Б. Конструирование гибридных генов *lacZ* для изучения механизмов регуляции экспрессии генов *rplJL*-оперона *Escherichia coli* // Биополимеры и клетка.— 1990.— 6, № 2.— С. 91—100.
2. Gold L. Posttranscriptional regulatory mechanisms in *Escherichia coli* // Ann. Rev. Biochem.— 1988.— 57, N 1.— P. 199—233.
3. Minton N. P. Improved plasmid vectors for isolation of transcriptional *lac* gene fusions // Gene.— 1984.— 31, N2.— P. 269—273.
4. Патон Е. Б., Крупская И. В., Живолуп А. Н. Определение минимального сегмента рибосомного белка *L10 E. coli*, сохраняющего регуляторную функцию // Докл. АН СССР.— 1989.— 309, № 2.— С. 493—496.
5. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике.— М.: Мир, 1976.— 395 с.
6. Effects of heterologous ribosomal binding sites on the transcription and translation of the *lacZ* gene *Escherichia coli* / A. C. Looman, M. de Gruyter, A. Vogelaar, P. H. van Knippenberg // Gene.— 1985.— 37, N 1.— P. 145—154.
7. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование.— М.: Мир, 1984.— 424 с.
8. Trisler P., Gottesman S. Ion Transcriptional regulation of genes necessary for capsul polysaccharide synthesis in *Escherichia coli* K12 // J. Bacteriol.— 1984.— 160, N 1.— P. 184—191.
9. Carter P. Improved oligonucleotide site-directed mutagenesis using r113 vectors // Nucl. Acids Res.— 1985.— 13, N 12.— P. 4431—4443.
10. Yanisch-Perron C., Vieira J., Messing J. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: sequences nucleotide of the *M13mp18* and *pUC19* vectors // Gene.— 1985.— 33, N 1.— P. 103—119.
11. Nucleotide sequence of the ribosomal protein gene cluster adjacent to the gene for RNA-polymerase subunit in *Escherichia coli* / L. F. Post, G. D. Strycharz, M. Nomura, H. Lewis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— 76, N 4.— P. 1697—1701.
12. Codon usage tabulated from the GenBank genetic sequence data / T. Maruyama, T. Goyobori, S. Aota, T. Ikemura // Nucl. Acids Res.— 1985.— 14, N 1.— P. 151—190.
13. Secondary structure as primary determinant of the efficiency of ribosomal binding sites in *Escherichia coli* / A. C. Looman, J. Bodlaender, M. Gruyter et al. // Ibid.— 1986.— 15, N 13.— P. 5481—5497.
14. Zuker M., Stiegler P. Optimal computer folding of large RNA sequences using thermodynamics and auxiliary information // Nucl. Acids Res.— 1981.— 9, N 1.— P. 133—148.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 28.11.89

УДК 535.375

© Д. Н. Говорун, И. В. Кондратюк, Я. Р. Мищук,  
Н. В. Желтовский, 1990

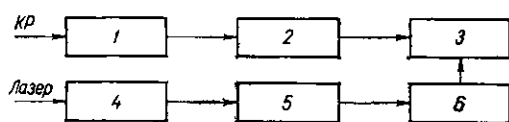
## ИСКЛЮЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕСТАБИЛЬНОСТИ МОЩНОСТИ ЛАЗЕРА НА ТОЧНОСТЬ РЕГИСТРАЦИИ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА БИОПОЛИМЕРОВ

Описан разработанный авторами двухканальный счетчик фотонов, предназначенный для эксплуатации в составе прецизионного КР-спектрометра, работающего в цифровом режиме, позволяющий практически полностью исключить влияние нестабильности мощности лазера на точность регистрации спектров. Анализируются некоторые аспекты его эффективного использования.

Одним из основных факторов, ограничивающих точность регистрации спектров комбинационного рассеяния (КР) света биополимеров, является нестабильность излучения лазера, используемого для их возбуждения [1].

Эффективным средством повышения точности регистрации спектров КР является построение структурно-функциональной схемы КР-спектрометра по принципу двухканального автоматического регулирования, когда сигнал КР в основном фотометрическом канале, ошумленный нестабильностью интенсивности лазерного излучения, регулируется сигналом опорного фотометрического канала, линейно отслеживающего нестабильность возбуждающего излучения, таким образом, что на выходе спектрометра реализуется частное от деления сигнала основного на сигнал опорного канала, пропорциональное сечению КР на данной частоте [2].

В литературе широко представлены различные схемы двухканальных лазерных КР-спектрометров, работающих в аналоговом режиме (см., например, работы [3, 4]). Так, в работе [3] описан аналоговый двухканальный счетчик фотонов, в котором в качестве регулирующего звена используется ждущий управляемый мультивибратор, позволяющий в широком диапазоне варьировать по обратно пропорциональной зависимости длительность генерируемых импульсов в основном канале сигналом опорного канала. Достаточно простая схема фотокомпенсации нестабильности мощности излучения лазера при регистрации спектров КР приведена в работе [4]: здесь фотоприемником опорного канала служит фотодиод, а в качестве регулирующего звена используется самодиспетчер, являющийся обычно оконечным аналоговым устройством спектрометра.



Блок-схема двухканального счетчика фотонов для прецизионного лазерного КР-спектрометра: 1, 4 — ФЭУ, работающий в одноэлектронном режиме; 2, 5 — предварительный усилитель импульсов; 3, 6 — счетчик-анализатор импульсов; 3, 6 — счетчик-анализатор импульсов

лизатор импульсов «Пульт-А», представляющий собой последовательно включенные основной усилитель импульсов, амплитудный дискриминатор, счетчик импульсов и цифровой индикатор

A block-scheme of two-channel photon counter for the precision laser Raman spectrometer: 1, 4 — photomultiplier tube in one-electron regime; 2, 5 — preliminary pulse amplifier; 3, 6 — counter-analyzer of pulses «Pult A», which consists of consecutively connected base pulse amplifier, pulse amplitude discriminator, pulse counter and digital indicator

В настоящей работе представлен разработанный авторами простой фотоэлектронный тракт для прецизионного КР-спектрометра, работающего в цифровом режиме, позволяющий практически полностью исключить влияние нестабильности мощности лазера на точность регистрации спектров.

Блок-схема устройства изображена на рисунке. Оно представляет собой двухканальный счетчик фотонов, в котором основной фотометрический канал, состоящий из последовательно включенных фотоэлектронного умножителя 1 (ФЭУ-79), работающего в одноэлектронном режиме, предварительного усилителя импульсов 2 (принципиальную схему см. в работе [5]) и счетчика-анализатора импульсов 3 («Пульт-А»), идентичен опорному фотометрическому каналу (элементы 4—6 соответственно). При этом счетчик импульсов 3 в основном канале работает в режиме внешнего управления (от счетчика 6 опорного канала) экспозицией набора импульсов, а счетчик 6 в опорном канале — в режиме преднабора, т. е. измерения времени накопления наперед заданного числа импульсов; счетчики 3 и 6 синхронизированы по входу управления «пуск»: счетчик опорного канала является управляющим (импульс управления вырабатывается в нем по истечении времени преднабора заданного числа импульсов), счетчик основного канала — управляемым по входу управления «стоп». Нетрудно видеть, что при такой организации фотоэлектронного тракта КР-спектрометра время (экспозиция) накопления импульсов счетчиком основного канала будет определяться временем набора наперед заданного количества импульсов (как правило, не менее  $10^5$  для достижения приемлемой статистической точности) счетчиком опорного канала, которое обратно пропорционально мощности лазерного излучения (так называемый режим «плавающей экспозиции»), что позволяет исключить влияние флуктуаций интенсивности излучения лазера на выходной сигнал спектрометра — содержимое управляемого счетчика, пропорциональное сечению КР на данной частоте.

Высокая эффективность шумоподавления предложенного устройства обеспечивается идентичностью амплитудно-частотных и фазо-частотных характеристик основного и опорного фотометрических каналов, включая регулирующее звено, в пределах частотного спектра флуктуаций интенсивности лазерного излучения. Естественно, что при этом необходимо также обеспечить (особенно в основном канале) превышение величины сигнала над темновым шумом ФЭУ не менее чем на 2 порядка. Это, как правило, достигается путем целенаправленного отбора ФЭУ [6] или применения современных средств снижения их темновых шумов [7], в результате чего величина последних может быть доведена до уровня не выше чем 1 имп/с. В конечном итоге эффективность шумоподавления определяется величиной временного дрейфа светочувствительностей ФЭУ основного и опорного каналов, составляя типичную величину порядка 1 %.

Дальнейшее повышение точности КР-спектрометра может быть достигнуто в слу-

чае необходимости за счет введения дополнительного канала автоматической подстройки светочувствительностей ФЭУ основного и опорного каналов путем одновременного периодического тестирования обоих ФЭУ пробным оптическим сигналом [8, 9]. При этом частота посылок выбирается достаточно большой (порядка  $10^{-2}$  с), с тем, чтобы светочувствительности ФЭУ оставались неизменными на временном промежутке между двумя последовательными тестированиями.

В заключение отметим, что наиболее перспективным для применения в качестве регулирующего звена является ПЭВМ. В этом случае открывается возможность работать в режиме реализации фиксированной точности измерений, что приводит к экономии времени регистрации спектра, а также применять высокоэффективные методы цифровой фильтрации дискретных сигналов.

## THE ELIMINATION OF THE INFLUENCE OF LASER POWER INSTABILITY ON REGISTRATION ACCURACY OF RAMAN SPECTRA OF BIOPOLYMERS

*D. N. Govorun, I. V. Kondratyuk, Ya. R. Mishchuk, N. V. Zheltovskiy*

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR

### Summary

The two-channel photon counter, worked out by the authors, is described. It is intended for the work in the composition of the precision laser Raman spectrometer in digital regime, which permits eliminating the influence of instability of laser power on the accuracy of spectrum registration. Some aspects of effective use of the photon counter are analyzed.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кэри П. Применение спектроскопии КР и РКР в биохимии.— М.: Мир, 1985.— 272 с.
2. Брандмюллер И., Мозер Г. Введение в спектроскопию комбинационного рассеяния света.— М.: Мир, 1964.— 628 с.
3. Счетчики фотонов для спектроскопии комбинационного рассеяния света / Д. Н. Говорун, И. И. Кондиденко, П. А. Коротков, В. М. Фомин // Вестн. Киев. ун-та. Физика.— 1980.— Вып. 21.— С. 69—75.
4. Фотоэлектронное устройство компенсации / П. А. Суббота-Мельник, П. А. Коротков, А. С. Скирда, Д. Н. Говорун // Инф. листок о науч.-техн. достижениях № 85-092.— Киев: УкрНИИНТИ, 1985.— 3 с.
5. Высококачественный усилитель импульсов для быстродействующего счетчика фотонов / Д. Н. Говорун, И. И. Кондиденко, П. А. Коротков, В. М. Фомин // Вестн. Киев. ун-та. Физика.— 1979.— Вып. 20.— С. 136—138.
6. А. с. СССР № 616534. Способ отбора фотоэлектронных умножителей для регистрации слабых световых потоков в одноэлектронном режиме / Д. Н. Говорун, И. И. Кондиденко, П. А. Коротков // Открытия. Изобретения.— 1978.— № 27.— С. 147.
7. Говорун Д. Н., Коротков П. А. Некоторые вопросы метрологического обеспечения фотометрии слабых световых потоков // Тез. докл. 5-й Всесоюз. конф. по фотометрии и ее метрологическому обеспечению.— М., 1984.— С. 242.
8. Говорун Д. Н., Коротков П. А. Двухканальный спектрометр комбинационного рассеяния света с автоподстройкой чувствительности // Инф. листок о науч.-техн. достижениях № 84-102.— Киев: УкрНИИНТИ, 1984.— 6 с.
9. Говорун Д. Н., Желтовский Н. В. Аппаратурный комплекс для исследования спектров комбинационного рассеяния света биополимеров // Тез. докл. 6-й конф. по спектроскопии биополимеров.— Харьков, 1988.— С. 98—99.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 11.12.89