

# 双通道PAM-100 荧光仪 ——Dual-PAM-100

## 同步测量P700 (PS I) 和叶绿素荧光 (PS II)

### 特点

- 声誉卓著的 PAM-101/102/103 的升级版
- 专业的 Dual-PAM 操作软件
- 自动测量模式下操作极其简单
- 创新的光-电配件使得仪器非常便携
- 整合式光源（红光、蓝光、远红光、单脉冲饱和和闪光、多脉冲饱和和闪光）
- 多版本可选，用于测量高等植物和微藻
- 利用饱和脉冲法测量 PS I 活性
- 同步测量 PS I 和 PS II 的量子产量
- 可以分析蓝藻的光合作用
- 可选配用于测量 $\Delta\text{pH}$ 、NADPH 和 P515 等的附件

### 功能

- PS I 和 PS II 的光化学量子产量
- 叶绿素荧光淬灭参数
- 系统间电子传递动力学
- 系统间电子载体库的大小（特殊的 ST/MT 方法）
- 围绕 PS I 的环式电子传递动力学
- PS I 和 PS II 能量传递的光响应曲线
- 荧光快速上升相（线性时间和对数时间）
- 测量 PQ 库的还原态
- 测量光系统 II 的吸收截面积

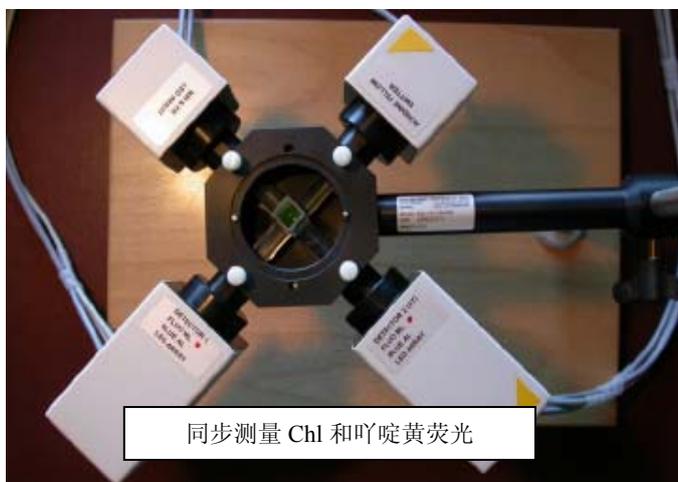
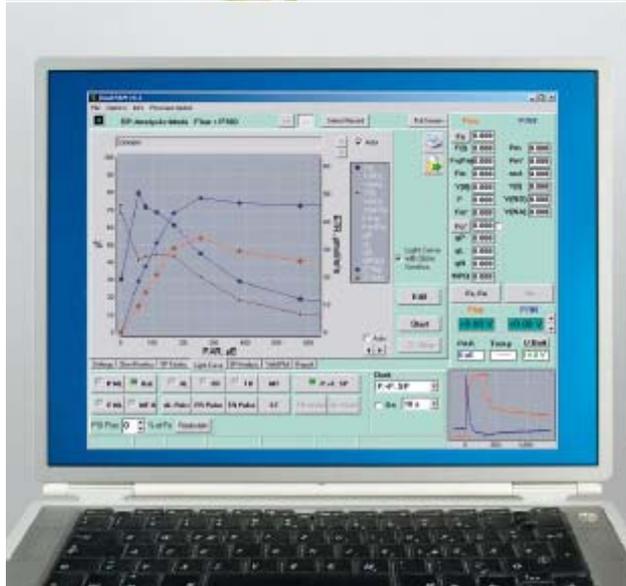
## Dual-PAM-100: 一套空前强大的测量系统

1985 年开始商品化的全世界第一台调制荧光仪 PAM-100 被几代科学家所广泛采用。Dual-PAM-100 相当于两台 PAM-100 的功能。一方面，它继承了 PAM-100 的所有优点，可以进行复杂的叶绿素荧光分析（PS II 活性）；另一方面，它还可以通过测量 P700 的吸收变化来检测 PS I 的活性。特别需要强调的是，**Dual-PAM-100 可以在完全同步的情况下测量叶绿素荧光和 P700 吸收变化。**此外，通过特殊的激发-检测单元还可以测量叶绿体或微藻的许多重要光合参数，如跨膜质子梯度 $\Delta\text{pH}$ （通过 9-AA 荧光或吡啶黄荧光）、类囊体膜的电势（通过类胡萝卜素的差示吸收，“P515”）和 NADP 的氧还状态（通过 NADPH 荧光）等。如果需要极高的灵敏度可以通过连接光电倍增管检测器实现。

与 PAM-100 相比，**Dual-PAM-100 的主要特点：**

- Dual-PAM-100 完全由电脑控制，通过专业的 Windows 操作软件 DualPAM 进行。
- DualPAM 除了基本的系统操作外，还提供许多特定的**测量程序**。
- 所有**必需的光源**（激发叶绿素荧光的红光和蓝光、测量 P700 的近红外光、红色和蓝色的光化光、单脉冲与多脉冲饱和和闪光、远红光）均整合在基础系统中，不再需要复杂的电缆连接。
- 采用了专为 Dual-PAM-100 设计的许多新光-电配件，使得**激发-检测单元和整合式光源非常便携、非常便于安装和拆卸**。
- 所有的光源都可通过软件在  $2.5 \mu\text{s}$  的时间分辨率下控制。
- 测量光的**频率范围非常大**（1 Hz~400 KHz），因此同一个测量光源既可以用于测量  $F_0$ ，也可以用于诱发快速动力学（如荧光快速上升相或闪光弛豫动力学）。
- 用户可将针对特殊实验/样品的**仪器设置存储**起来，此后可在完全相同的设置下重复实验。
- **叶绿素荧光和 P700 的信号变化完全同步**，并且是用**同一个检测器**检测，且不会互相干扰。
- 测量**蓝藻**时注意：用**红光激发 PS II 的荧光**，用**蓝光或远红光激发 PS I**。

Dual-PAM-100 的这些特点开启了**基础光合作用研究和应用光合作用研究的新途径**。过去，同步测量 PS I 和 PS II 的量子产量需要很强的专业背景和熟练的操作技巧，只有光合作用领域的少数专家会这项技术。现在，即使是初学者，也可迅速掌握同步测量 PS I 和 PS II 活性的技术，不再需要复杂的操作技巧。



## Windows 操作软件 DualPAM 的用户界面及其应用

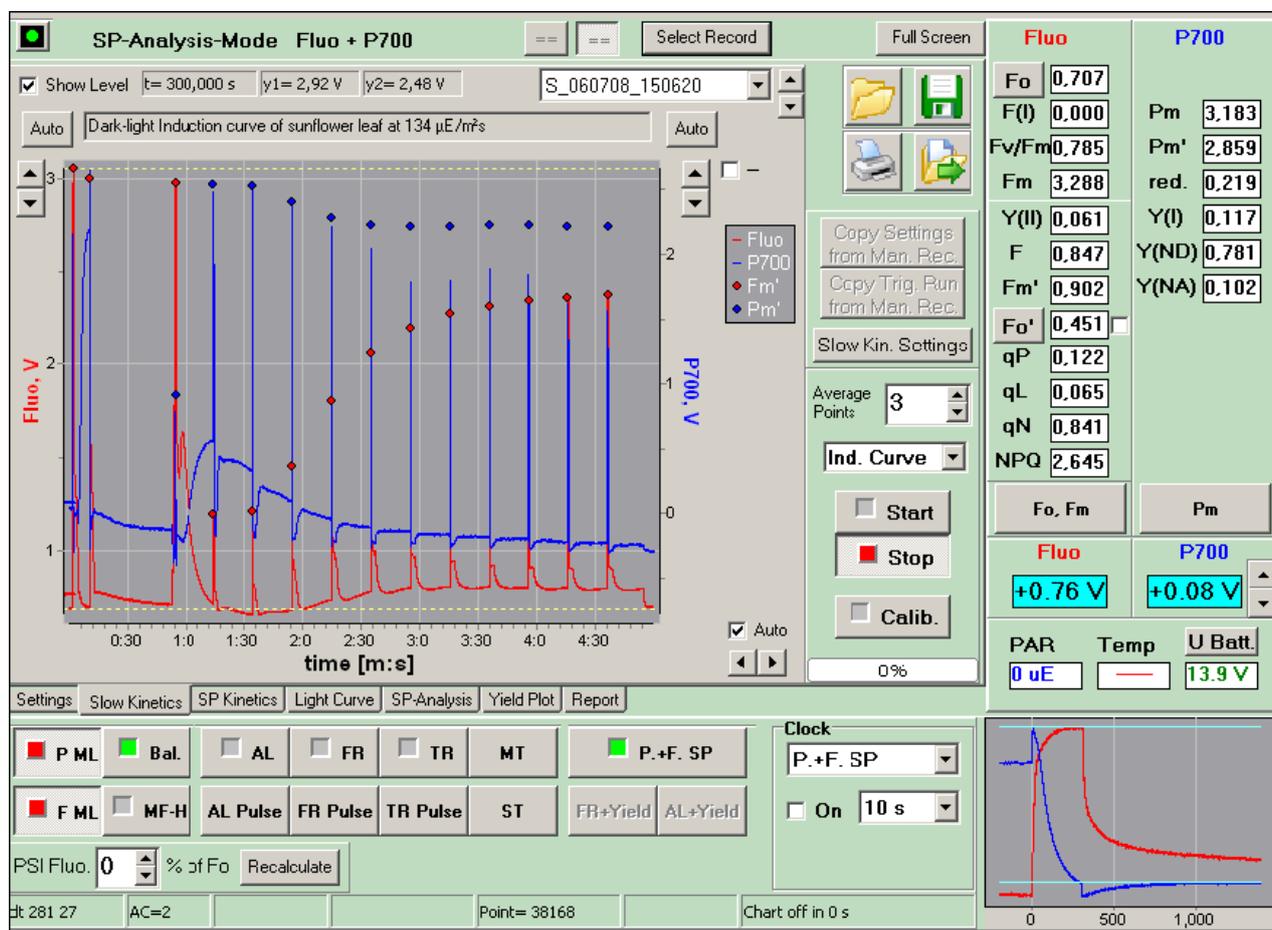


图 1

Dual-PAM-100 既可以单通道模式分别测量叶绿素荧光或 P700, 又可以双通道模式同步测量叶绿素荧光和 P700。为叶绿素荧光淬灭分析设计的饱和脉冲法 (Schreiber *et al*, *Photosynth Res*, 10: 51-62, 1986), 被用于测量 PS I 的量子产量 (Klughammer & Schreiber, *Planta*, 192: 261-268, 1994)。类似于 Fo 和 Fm 的测量, 通过饱和脉冲法可以测量出 Pm (见图 2)。知道 Pm 后, 就可得出任意状态下 P700 的还原程度 (P700red.) 和 PS I 的量子产量 (Y(I))。类似于 Fm' 的测量, 通过饱和脉冲法可以得出 Pm'。同时, 由 Kramer 等 (Kramer *et al*, *Photosynth Res*, 79: 209-218, 2004) 提出的 PS II 激发能分配理论也被应用于 PS I (见图 4)。

同步测量叶绿素荧光和 P700 变化可以反映发生在 PS II 和 PS I 的两个连续的光反应以及它们之间的电子传递情况。跨膜质子梯度  $\Delta pH$  既可以引起叶绿素荧光的非光化学淬灭 (Fm 向 Fm' 的淬灭), 又可以引起 P700 的氧化。当 Calvin 循环运转后, CO<sub>2</sub> 被固定, ATP 逐渐消耗,  $\Delta pH$  也逐渐消失, 这可以从 P700 的再还原和非光化学淬灭的弛豫 (Fm' 逐渐上升) 看出来。

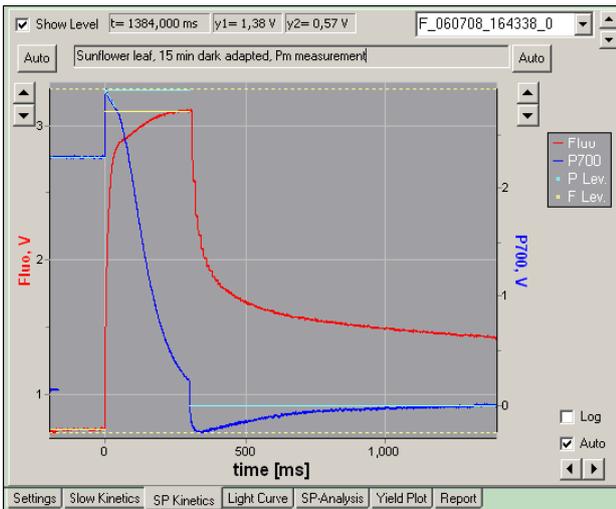


图 2

PS I 参数的分析是基于特殊的 **Pm** 测量步骤，首先用远红光（蓝藻用蓝光）照射一段时间，然后打开饱和和脉冲诱发 P700 从完全的氧化态到完全的还原态。

**Pm** 的测量类似于 **Fo** 和 **Fm** 的测量。

注意：即使在高时间分辨率下，**P700** 的信号质量也与荧光信号质量相当，信号的漂移几乎可以忽略不计。因此，利用 Dual-PAM-100 得出的 **P700** 信号完全等价于荧光信号。

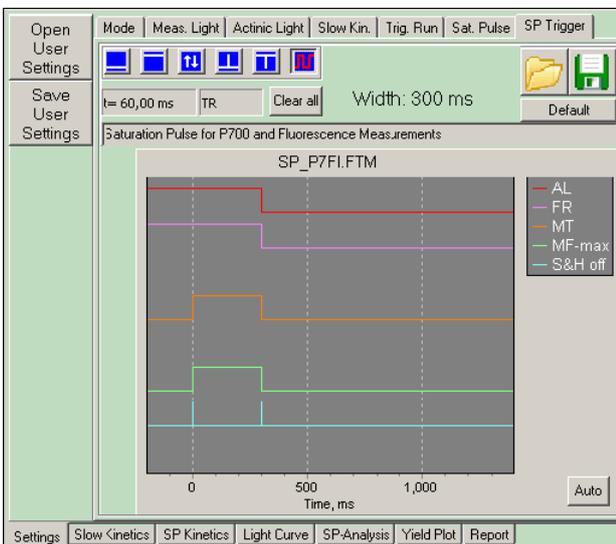


图 3

Dual-PAM-100 的软件界面友好，对测量参数的设置弹性很大。如 SP Trigger 窗口可用于设计同步测量 P700 和荧光的饱和脉冲。程序设定的时间分辨率为 **2.5 μs**。

注意：在不同的应用中，可以存储的 **Trigger** 文件和 **User Settings** 文件是无限的。这样在进行重复实验时可保证所有的仪器设置完全相同。

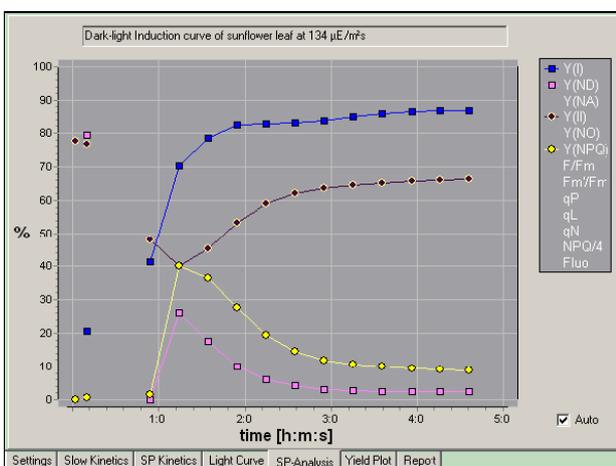


图 4

基于 Kramer 等的**激发能分配**理论，针对 PS I 也可得出 **3 个互补的量子产量**：

$$Y(I)=1-Y(ND)-Y(NA)$$

**Y(I)**: PS I 的光化学量子产量

**Y(ND)**: 由于供体侧限制引起的 PS I 非光化学能量耗散的量子产量

**Y(NA)**: 由于受体侧限制引起的 PS I 非光化学能量耗散的量子产量

$$Y(II)=1-Y(NPQ)-Y(NO)$$

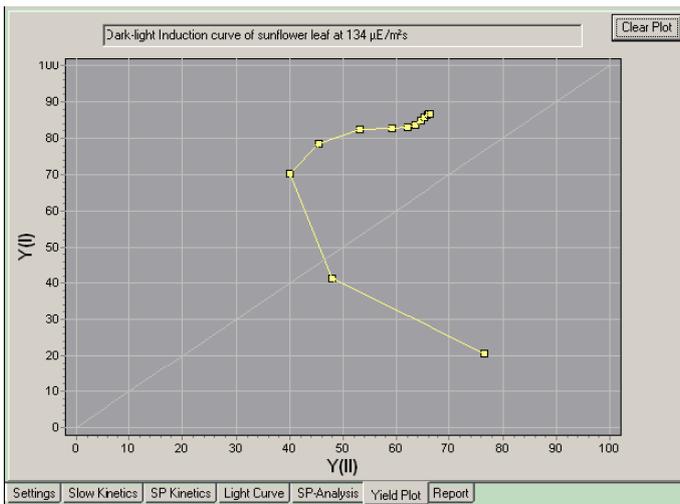


图 5

在 Yield Plot 窗对同步测量的  $Y(I)$  和  $Y(II)$  变化自动做图。

图 5 中的数据来自于图 1 的慢相荧光诱导动力学。

数据的差异反映了两个光系统的不平衡，这种不平衡在光诱导过程中发生动态变化。

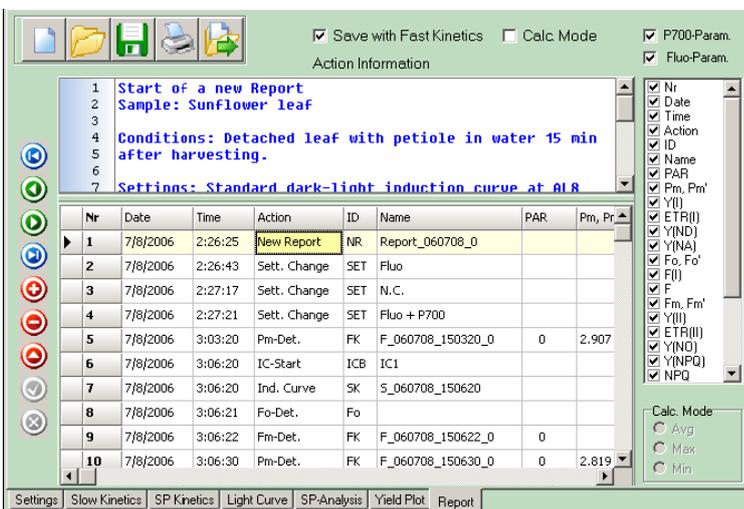


图 6

所有的数据自动存储在报告文件 (Report File) 中，用户可以将其存到硬盘里或导入表格文件 (如 Excel) 中。

报告文件包括慢相动力学和每次打开饱和和脉冲时的快相动力学，这样可以对存储的数据进行更全面的分析。

用户可以编辑报告文件。

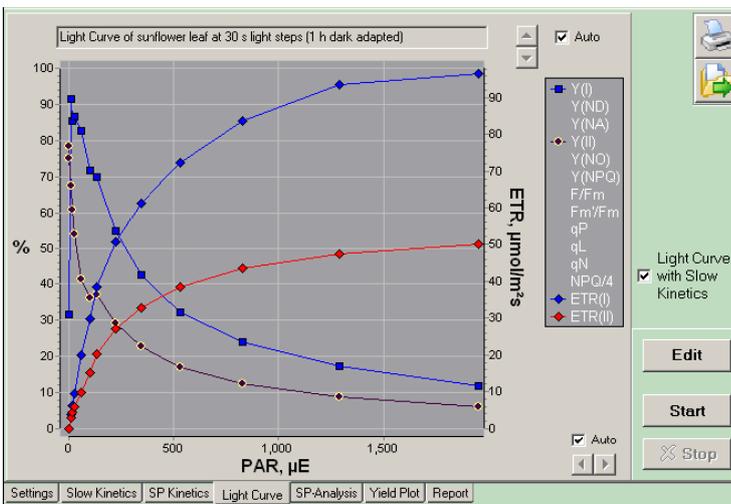


图 7

光响应曲线提供了电子传递能力和两个光系统间的限制的详细信息。软件可以自动做各种荧光参数和 P700 参数的光响应曲线。

量子产量  $Y(I)$  和  $Y(II)$ 、电子传递速率  $ETR(I)$  和  $ETR(II)$  的差异可能与环式电子传递、能量分配的差异和/或 PS I/PS II 的比值有关。

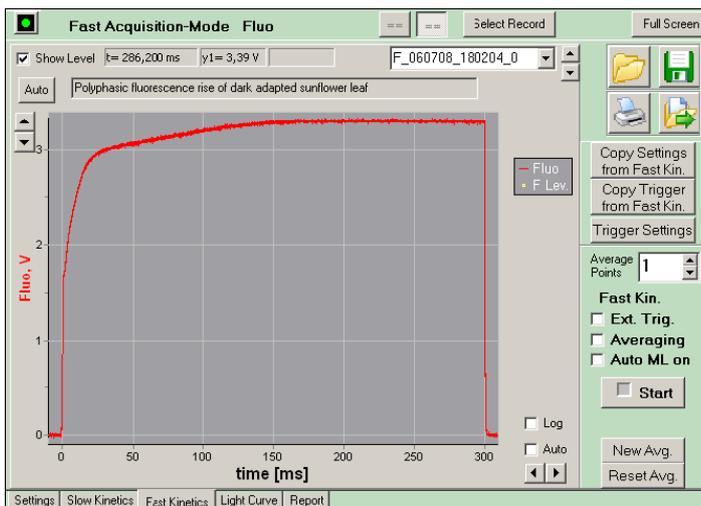


图 8

在单通道快速获得数据模式下和 400 KHz 高频调制测量光时，打开连续的饱和光可以测量荧光快速上升动力学。

不同的上升相 (Fo-I<sub>1</sub> 相, I<sub>1</sub>-I<sub>2</sub> 相, I<sub>2</sub>-F<sub>m</sub> 相) 反映了在 PS II 的不同电子传递步骤。

打开/关闭测量光和最大频率的 Trigger Settings 已预先设置好 (见图 3)。

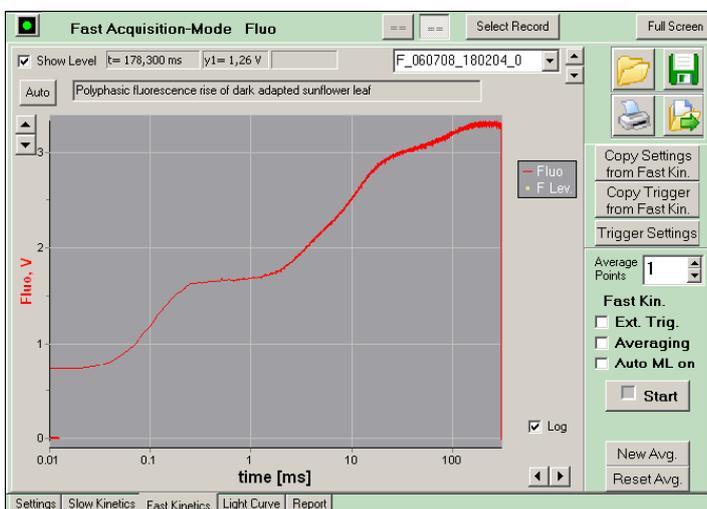


图 9

将横坐标设为对数时间可以观察荧光快速上升动力学的快相。在给定的饱和光强下 Fo-I<sub>1</sub> (光化学相) 的半上升时间约为 100 μs。I<sub>1</sub>-I<sub>2</sub> 相和 I<sub>2</sub>-F<sub>m</sub> 相是“热相”。

通过这些相的变化可以获得 PS II 光学有效截面积和供体侧与受体侧状态的信息。

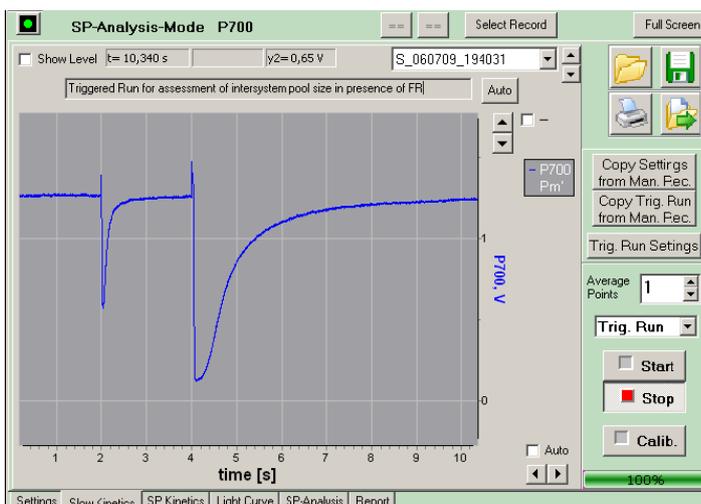


图 10

所有的仪器设置和时间依赖性变化均保存在报告文件中，以后可以重新打开。

将复杂的手工操作步骤记录下来后，以后可以通过自动 Triggered Run 来完整重复这个过程。

图 10 示出了一个测量 P700 的 Trigger Run，通过这个在有远红外背景光时应用单脉冲和多脉冲闪光的测量过程可以估计系统间电子载体库的大小。

## 技术参数

### DUAL-C

#### 主机

- **微处理器:** 2x AVR-RISC (8MHz) + 4MB SRAM; 可以存储 256000 个数据 (12 位)
- **PC 界面:** 兼容 USB 1.1 和 USB2.0
- **用户界面:** 安装 DualPAM 软件的 Pentium 电脑
- **电源供应:** 可充电铅酸电池 (12 V/2Ah); 电池充电器 MINI-PAM/L (100~240 V 的交流电)
- **电量消耗:** 基础操作 160 mA
- **大小:** 31 cm × 16 cm × 33.5 cm
- **重量:** 4.5 Kg

### DualPAM

#### Windows 软件

- **电脑配置需求:** 1 个 USB 接口; 至少 128 M 内存; Windows XP 操作系统

### DUAL-E

#### 测量头与 P700 近红外发射器

- **P700 双波长发射器:** 830 nm 和 875 nm
- **远红光 LED:** 720 nm
- **板载芯片 LED 阵列:** 连续光化光, 635 nm, 最大光强  $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR; 单脉冲饱和闪光, 最大  $200000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR, 5~50  $\mu\text{s}$  可调; 多脉冲饱和闪光, 最大  $20000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR, 1~1000 ms 可调
- **大小:** 10.5 cm × 5.5 cm × 7 cm
- **重量:** 400 g (包括 1 m 长数据线)

### DUAL-DB (蓝光) 或 DUAL-DR (红光)

#### 测量头与检测器

- **荧光发射器:** 460 nm (DUAL-DB); 或 620 nm (DUAL-DR)
- **蓝色 LED:** 460 nm, 做为蓝色光化光, 最大光强  $700 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR
- **板载芯片 LED 阵列:** 连续光化光, 635 nm, 最大光强  $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR; 单脉冲饱和闪光, 最大  $200000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR, 5~50  $\mu\text{s}$

可调; 多脉冲饱和闪光, 最大  $20000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR, 1~1000 ms 可调

- **信号检测:** PIN 光电二极管, 带特制脉冲放大器, 专为测量 P700 和叶绿素荧光设计, 最大时间分辨率 10  $\mu\text{s}$
- **大小:** 15 cm × 5.5 cm × 7 cm
- **重量:** 500 g (包括 1 m 长数据线)

### ED-101US/MD

#### 检测悬浮液的光学单元 (可选)

- **设计:** 黑色铝合金制, 中部可装 10×10 mm 样品杯; 可以连接测量头 DUAL-DB (DUAL-DR)、DUAL-E 和微型磁力搅拌器 US-MS; 还可以连接两个额外的测量头 (如吡啶黄荧光、NADPH 荧光或 P515 吸收)
- **安放:** 安装在特制铁架台 ST-101 上
- **重量:** 750 g

### ED-101US/T

#### 为 ED-101US/MD 设计的控温装置 (可选)

- **设计:** 中间开 10×10 mm 孔 (安装在 ED-101US/MD 的上部) 的隔层; 可外接循环水浴 (用户自配) 来控温
- **重量:** 250 g

### US-MS

#### 磁力搅拌器 (可选)

- **设计:** 可连接到光学单元 ED-101US/MD 的底部 (恰好在样品杯底部), 需电源 (115~230 V 的交流电)

### US-SQS/WB

#### 球状微型光量子探头 (可选)

- **设计:** 直径 3.7 mm 的球状探头安装在直径 2 mm 的光纤上; 探头可深入样品杯中。可与主机连接。