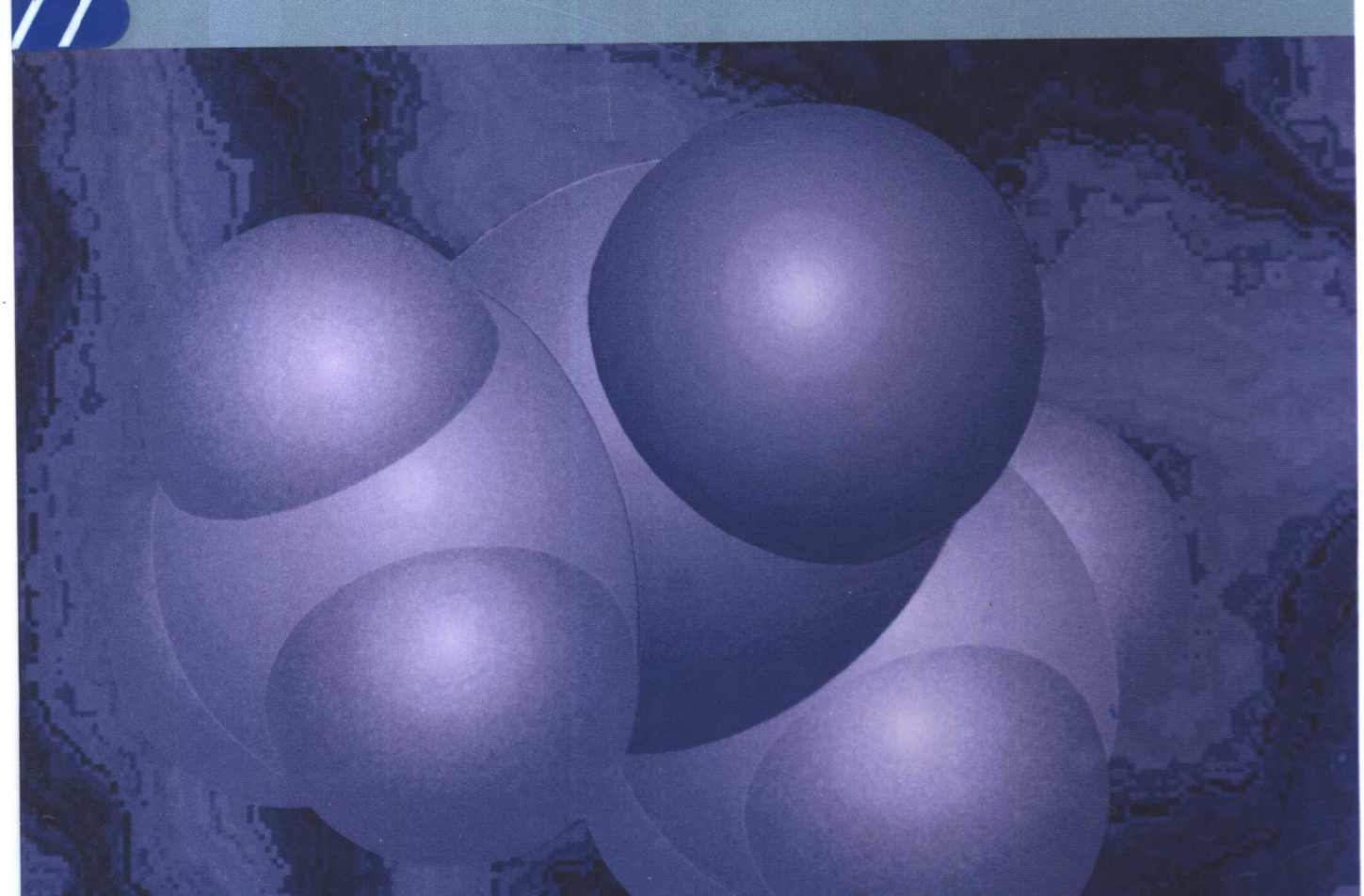


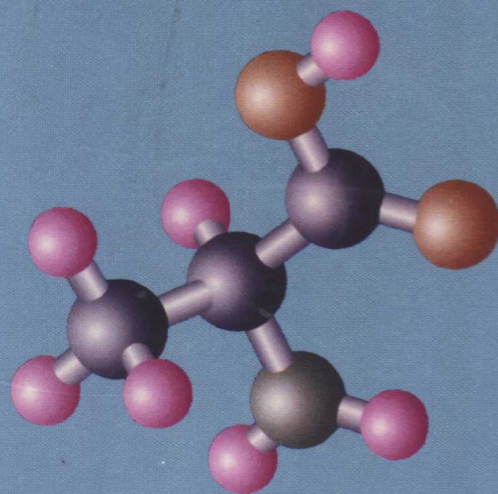


CHEMISTRY TODAY

今日化学

(2001年版)

《大学化学》编辑部 编



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

今日化学

2001 年版

《大学化学》编辑部编

高等教育出版社

内 容 提 要

本书是《大学化学》期刊的“今日化学”栏目自 1996 年到 2000 年的合订本。内容主要介绍当今化学各研究领域发展状况,化学及其交叉学科相互渗透的有关研究方向。文章内容新颖,叙述深入浅出。多数文章后给出参考文献,可供专业读者深入了解。文中作者均系各领域的专家,从而保证每篇文章都有独到的见解,可激发读者的深入思考。

本书可作为高等学校化学化工专业教师的参考用书及学生的课外读物,亦可作为中学化学教师及各领域化学工作者纵观化学现状和了解其研究发展趋势的一手材料。

图书在版编目 (CIP) 数据

今日化学: 2001 年版 /《大学化学》编辑部编. —北京: 高等教育出版社, 2002.1
ISBN 7-04-010420-2

I. 今... II. 大... III. 化学—普及读物
IV. 06-49

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 081869 号

今日化学(2001 年版)
《大学化学》编辑部 编

出版发行 高等教育出版社

社 址 北京市东城区沙滩后街 55 号

邮政编码 100009

电 话 010-64054588

传 真 010-64014048

网 址 <http://www.hep.edu.cn>

<http://www.hep.com.cn>

经 销 新华书店北京发行所

印 刷 中国农业出版社印刷厂

开 本 787×1092 1/16

版 次 2002 年 1 月第 1 版

印 张 23.25

印 次 2002 年 1 月第 1 次印刷

字 数 590 000

定 价 26.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

前 言

《大学化学》杂志中的“今日化学”栏目,重点刊登化学领域的综述和评论性文章,读者可以从中了解国内外化学专业的研究动向、最新研究成果和发展趋势,对广大师生拓宽知识面,丰富教学内容均有裨益。本刊曾将 1986~1995 年“今日化学”栏目的文章结集出版,读者反映很好。经编委会研究决定,现将 1996~2000 年“今日化学”栏目的文章再次结集,由高等教育出版社出版发行。

为了能反映当前学科的实际发展现状,全书汇集的文章均请作者重新审阅,对文章内容进行修改,增补了一些有关学科最新进展的内容,使“今日化学”名副其实。

全书共刊载 64 篇文章,其中 18 篇文章是由中国科学院、中国工程院、第三世界科学院院士撰写的。在本书文章的作者中,既有经验丰富、德高望重的化学界老前辈,又有年富力强、工作在教学、科研第一线的中年专家,也有才华初露的后起之秀。这些文章内容新颖、叙述深入浅出,有很强的可读性,既适合于大学和中学的化学教师、化学专业的本科生和研究生浏览,有利于他们开阔视野,活跃思维能力,增强从事化学研究的兴趣和创新精神;也可以让其他领域的科学工作者以及对科学技术感兴趣的人们阅读,有助于向非化学专业人员普及现代化学知识。

本书的出版得到了原作者的许诺和热情支持,得到了高等教育出版社给予的大力支持。《大学化学》编辑部孙绍芹、汪安负责了全书的编辑工作,在此一并致以衷心的感谢。

常文保
2001 年 9 月

2001/03

责任编辑 周传红
封面设计 王凌波
责任印制 杨 明

目 录

毛细管电泳	罗国安,王义明 (1)
加速器质谱法在生物医学中的应用	王海芳,刘元方 (6)
分子调控的概念及其意义	宋心琦,郭志新,周福添 (10)
环境化学的发展	刘静宜 (15)
糖工程及其化学	孔繁祚 (19)
C ₆₀ 的超薄有序膜	赵一雷,甘良兵,黄春辉 (25)
L-B技术在电化学研究中的应用	华炳增,陈衍珍,张樞宏 (30)
光敏离子载体——一类功能性超分子光化学体系	刘剑波,赵瑜,宋心琦 (34)
海洋微生物活性代谢产物化学	林永成,周世宁,乐长高 (40)
稀土螯合物探针及其在时间分辨荧光免疫分析中的应用	常文保,王敏灿,张柏林,等 (47)
多酸型层柱催化材料	胡长文,贺庆林,王恩波 (53)
沸石化学的新进展	朱建华 (59)
有序分子膜	邵子厚,梁映秋 (64)
信息存储的分子材料——自旋转换配合物	王红梅,廖代正 (70)
当代无机化学研究的几项重大进展	史启楨,高忆慈,唐宗薰,等 (75)
电子自旋共振光谱在研究血红素蛋白及其模拟化合物中的应用	焦向东,段新华,刘静 (81)
新药物分子设计的某些理论方法	焦克芳,胡远东 (85)
绿色化学的进展	朱清时 (96)
高性能导电高分子材料	石高全,李春,梁映秋 (101)
表面增强拉曼技术及 FT-拉曼的研究及应用	叶勇,胡继明,曾云鹇 (106)
疾病发生发展的化学机理	王夔 (111)
荧光探针在蛋白质研究中的应用	王守业,余华明,张祖德,等 (122)
无机材料化学学科探讨	曾人杰 (128)
三明治型金属卟啉、酞菁配合物分子材料	姜建壮,吴基培 (133)
计算机化学	许禄,胡昌玉 (140)
微波介电加热及其在化学中的应用	朱建华 (148)
巨磁电阻材料与信息存储及其对化学的挑战	严纯华,黄云辉,王哲明,等 (152)
新型氧化催化剂——含钛分子筛的研究	刘辉,刘兴云,徐筱杰 (157)
21 世纪理论化学的重要课题之我见	宋心琦 (163)
新药研究必须走多学科协作之路	张礼和 (168)
三明治型金属卟啉、酞菁配合物功能材料	姜建壮,吴基培 (173)
聚合物光接枝表面改性研究与应用	郭锴,李军,伊敏 (177)

分析化学已发展到分析科学阶段	高鸿 (183)
氢的新键型	周公度 (187)
单分子的光学检测及应用	应立明 (197)
由多晶材料得到类单晶衍射数据——介绍晶体衍射最新进展	段连运,江德恩 (203)
催化抗体	许金焜,沈赞聪,张宇锋 (207)
表面活性剂溶致液晶体系研究进展	李彦,张庆敏,黄福志,等 (212)
中国化学的发展与展望	白春礼 (217)
人类基因组和 DNA 序列分析新进展	程介克 (227)
充满希望的新世纪——21 世纪化学学科发展的一些看法	吴毓林 (234)
手性有机化合物与不对称合成	王剑波 (239)
试谈分析化学的明天	金钦汉 (246)
浅谈组合化学	董安钢,唐颐 (253)
展望化学之未来:挑战和机遇	唐有祺 (259)
生物体系活性氧及反应中间体研究进展	蔡汝秀,张珂,王俊,等 (263)
21 世纪化学的前瞻	徐光宪 (268)
复杂性——生命科学中的基本化学问题	王夔 (275)
生命科学进展中的化学研究机遇	张礼和 (281)
化学研究中的扫描探针显微学	万立骏,王琛,白春礼 (286)
从压电传感的发展看学科交叉创新	姚守拙 (290)
超微电极的新进展	古宁宇,董绍俊 (295)
微波化学	张寒琦,金钦汉 (301)

迎接时代的挑战 更新教育思想和观念	陈祖福 (306)
迎接知识经济时代 转变教育思想观念 振兴和创新高等教育	陈祖福 (315)
分析化学教学的发展	俞汝勤,梁逸曾 (324)
如何培养学生的创新素质	朱清时 (328)
理科化学大一“普通化学”的改革思考	申泮文 (333)
化学学科的现状 & 基础化学教育改革问题	宋心琦 (336)

臭氧层耗损:人类面临的重大环境问题——1995 年诺贝尔化学奖简介

.....	王会祥,唐孝炎 (344)
C ₆₀ 的发现和 Fullerene 化学——1996 年诺贝尔化学奖简介	施祖进,顾镇南 (349)
驱动生命之轮——1997 年诺贝尔化学奖简介	吴大庆,张庭芳 (354)
量子化学的第二次革命——1998 年诺贝尔化学奖简介	陈志达 (358)
飞秒化学的先驱者——1999 年诺贝尔化学奖简介	孔繁敖,熊轶嘉,吴成印 (362)

毛细管电泳*

罗国安 王义明

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)是自 20 世纪 80 年代末发展最快的分析化学研究领域之一。早在 1967 年就有人在大口径毛细管(内径 3 mm)内进行区带电泳(ZE)。1974 年提出电渗流可作为泵的设想,但直到 1981 年 Jorgenson 等^[1]在 75 μm 内径的毛细管内用高压电进行分离,阐述了有关理论,才创立了现代 CE。1989 年第一届国际毛细管电泳会议的召开,标志了一门新的分支学科的产生。短短几年内,由于 CE 符合了以生物工程为代表的生命科学各领域中对生物大分子(肽、蛋白、DNA 等)的高度分离分析的要求,从而得以迅速发展,正逐步成为各生命科学实验室及其他实验室中一种常用的分析手段。本文拟就毛细管电泳的原理、应用及展望,作一简要的介绍。

1 CE 基本原理和特点

CE 统指以高压电场为驱动力,以毛细管为分离通道,依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离的一类液相分离技术。其仪器装置简图见图 1,包括一个高压电源、一根毛细管、一个检测器和两个缓冲液贮瓶。在电解质溶液中,带电粒子在电场作用下,以不同的速度向其所带电荷相反方向迁移的现象叫电泳。CE 所用的石英毛细管,在 $\text{pH} > 3$ 情况下,其硅胶表面带负电,和溶液接触时形成了一双电层。在高电压作用下,双电层中的水合阳离子层引起溶液在毛细管内整体向负极方向流动,形成电渗流。带电粒子在毛细管内电解质溶液中的迁移速度等于电泳和电渗流二者的矢量和。阳离子先流出,中性粒子速度相当于电渗流速度。因电渗流速度一般大于电泳速度,故阴离子将在中性粒子之后流出。这就是毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, CZE)的分离原理。CZE 的迁移时间 t 可用下式表示^[1,2]:

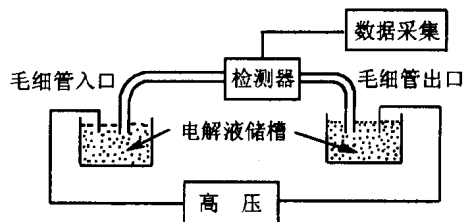


图 1 毛细管电泳仪示意图

$$t = \frac{L_d L_t}{(\mu_{ep} + \mu_{eo}) V} \quad (1)$$

式中 μ_{ep} 为电泳淌度, μ_{eo} 为电渗淌度, V 为外加电压, L_t 为毛细管总长度, L_d 为进样到检测器间毛细管长度。理论塔板数 N 为:

$$N = \frac{(\mu_{ep} + \mu_{eo}) V}{2D} \quad (2)$$

式中 D 为扩散系数。分离度 R 为:

* 刊于《大学化学》1996 年第 1 期第 1 页

$$R = 0.177(\mu_1 - \mu_2) \cdot \left[\frac{V}{D(\bar{\mu}_{ep} + \mu_{eo})} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

μ_1 、 μ_2 分别为二溶质的电泳淌度, $\bar{\mu}_{ep}$ 为二溶质的平均电泳淌度。

以上是最简单的公式。近年来随着大批色谱工作者转向 CE, 提出了各种模型来解释 CZE 中区带扩展及理论塔板高度模型, 热影响模型, 迁移速率和分离度模型^[3,4]。

从式(2)可看出 CE 的 N 与溶质的扩散系数 D 成反比, 而高压液相色谱(HPLC)的 N 与 D 成正比, 那么对扩散系数小的生物大分子而言, CE 的柱效就要比 HPLC 高得多。CE 比 HPLC 有更高的分离能力, 主要源于两个因素: 一是 CE 在进样端和检测时均没有像 HPLC 那样的死体积存在; 二是 CE 用电渗作为推动流体前进的驱动力, 整个流型呈扁平型的塞式流, 使溶质区带在毛细管内原则上不会扩散。而 HPLC 用压力驱动, 使柱中流型呈抛物线型, 导致溶质区带本身扩张, 引起柱效下降。

CE 将经典电泳技术和现代微柱分离有机地结合, 取得了比 HPLC 和平板凝胶电泳更多的优点。概括起来可谓三高二少一广。高质量灵敏度: 常用紫外检测器的检测限可达 $10^{-13} \sim 10^{-15}$ mol, 激光诱导荧光检测器则达 $10^{-19} \sim 10^{-21}$ mol。高分辨率: 每米理论塔板数为几十万, 高者可达几百万乃至几千万。高速度: 许多分析可在 10min 内完成, 有的可在 60s 内完成。所需样品少: 只需纳升(10^{-9} L)的进样量。成本低: 只需少量(几毫升)的流动相和低廉的毛细管。应用范围广: 除分离生物大分子(肽、蛋白、DNA 和糖等)外, 还可用于小分子(氨基酸、药物等)及离子(无机及有机离子等), 甚至可分离各种颗粒(如硅胶颗粒等)。

由于以上优点使 CE 成为近年来发展最快的分离分析方法。但这一技术仍处在发展阶段, 随着更多的研究和应用工作的开展, CE 有望成为 20 世纪 90 年代最佳分离分析工具。

2 CE 的分离模式

CE 现有 6 种分离模式。毛细管区带电泳分离机理是基于各被分离物质的净电荷与质量比(荷质比)间的差异。应用范围包括氨基酸、肽、蛋白、离子分析、对映体拆分和很多其他离子态物质的分析。

胶束电动色谱(micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC)由 Terabe^[5]于 1984 年建立。是唯一既能分离中性溶质又能分离带电组分的 CE 模式。采用表面活性剂(如十二烷基硫酸钠, SDS)在操作缓冲液内形成有一疏水内核、外部带负电的胶束相。利用溶质具有不同的疏水性, 在水相和胶束相(准固定相)间分配的差异得以分离。主要用于小分子、中性化合物, 手性对映体、各种药物等。

毛细管凝胶电泳(capillary gel electrophoresis, CGE)是将凝胶移到毛细管中作支持物进行的电泳, 由 Karger 等^[6]于 1987 年提出。不同体积的溶质分子在起“分子筛”作用的凝胶中电泳分离。常用于蛋白质、寡聚核苷酸、RNA、DNA 片断分离和测序及 PCR 产物分析。现在还有一种无胶筛分方法, 同样可达分离目的。

毛细管等电聚焦(capillary isoelectric focusing, CIEF)^[7]是用两性电解质在毛细管内建立 pH 梯度, 使各种具有不同等电点的蛋白质在电场作用下迁移到等电点的位置, 形成一非常窄的聚焦区带。已成功用于测定蛋白质等电点和分离异构体或用其他方法难于分离的蛋白质。

毛细管等速电泳(capillary isotachopheresis, CITP)采用先导电质和尾随电解质, 使溶质按其电泳淌度不同得以分离, 是一种较老的方式。现在可作为柱前浓缩方法用于富集样品。

毛细管电色谱(capillary electrochromatography, CEC)是将 HPLC 中众多的固定相微粒填充到毛细管中,以样品与固定相之间的相互作用为分离机制,以电渗流为流动相驱动力的色谱过程。虽然柱效有所下降,但增加了选择性,是一种有发展前景的模式。

CE 常用的两种定量进样方式为压差进样和电动进样。毛细管通常采用熔融石英毛细管,常用内径为 25 ~ 100 μm ,微量制备时可达 200 μm 。在分离蛋白时,为防止产生吸附,可用管壁改性,即用涂层的方法。高压电源须提供高达 30 kV 的直流电压,稳定性须在 $\pm 0.1\%$ 之内。在良好的恒温系统下,迁移时间的重现性可优于 0.5% RSD,此值取决于毛细管壁、缓冲液组成、pH 值和粘度、样品的性质和仪器的质量。定量分析常用峰面积,如条件控制好的话,可获得小于 2% 的 RSD。

3 CE 的检测器

由于 CE 中溶质区带超小体积的特性,对光学类检测器的灵敏度要求很高,可以说检测是 CE 的关键问题。一般来说 HPLC 有良好的浓度灵敏度,而 CE 提供较良好的质量灵敏度。现有的检测器可分成紫外(UV)、荧光、电化学、质谱、激光类和其他。电化学有电导和安培检测器两类。安培检测器是 CE 中灵敏度最高的两种检测器之一,但实现商品化困难。激光诱导荧光检测器(LIF)是另一种最灵敏的检测器,且已实现商品化。其他激光类检测器尚有激光光热光谱、激光拉曼光谱等。此外还有化学发光检测器、折射率检测器、放射性同位素检测器、激光圆二色检测器等。迄今为止,除了 ICP 和 IR 未作为 CE 检测器外,其他检测方法均已和 CE 联结。但已商品化的只有 UV, LIF 和 CE/MS 联用。

CE 中应用最广泛的是紫外/可见检测器,可分为两类:固定波长或可变波长检测器和二极管阵列或波长扫描检测器。第一类结构简单,灵敏度高于第二类检测器。第二类能提供时间-波长-吸光度三维图谱。可用来定性鉴别,特别适用于小分子分析如药物类的分析。有些商用仪器的二极管阵列检测器可做到在线纯度检测,即在分离过程中可得知每个峰含几种物质。

LIF 的检测灵敏度可比紫外高 1000 倍。虽然对某些样品需要衍生化,但同时又增加了选择性。DNA 序列分析必须采用 LIF,特殊的 LIF 可做到单分子水平检测。

将现今分离能力最强的 CE 和能提供组分结构信息的 MS 联用,是最令人振奋的技术。CE/MS 联用在肽链序列及蛋白结构、分子量测定等方面有卓越表现^[8]。目前国内已有了 CE/MS 联用。

4 应用与展望

CE 的应用从生物大分子、小分子及离子均有大量报道。它提供了一种用其他方法难以分离分析的微量样品的检测方法。本文只从几个特殊角度来介绍 CE 的应用。

4.1 CE 是一种纳技术^[9](nanotechnology)

纳技术是指在 10^{-9} 级别上进行研究的一门崭新的科学技术,将是 21 世纪初的关键技术之一。而 CE 是一种在纳升体积级别上进行研究的技术,必将会对纳生物学提供新的思路 and 手段。随着样品体积越来越小,尤其在生命活体中,采用 CE 的电渗进样,可控制精确的进样体积,再加上纳升级或更小的样品直接预处理和分析都可在毛细管里进行,在线检测表明 CE 可作为一种成功的纳分析技术。最成功的例子有单细胞分析^[10]。如 Ewing 等用电迁移方式将蜗牛的直径为几十微米的单个神经细胞吸入到毛细管内进行分析,测得内含大约 14 fmol 的多

巴胺,还用实验确证了多巴胺从细胞内泡囊里释放的机理^[10]。还有用 2 μm 内径的毛细管刺入单个细胞内,吸取细胞质进行分析,进样体积一般为 50 ~ 90 pL,最低可达 270 fL(10^{-15} L),检测限可低至 0.5 amol 的 5-羟色胺。还有报道用微透析管和 CE-LIF 在线联结,每隔 46s 定量测定鼠血透析液中抗癌药物 SR4233,研究其代谢过程。还有用 CE-LIF 测定了鼠脑和海马中的肠血管血性肽(VIP)的量,同时发现鼠小脑中无 VIP 存在^[11]。用 CE-荧光检测人的单个红细胞,发现其中血红蛋白(450 amol/cell)、碳酸酐酶(7 amol/cell)和高铁血红蛋白占显著地位。对 39 个红细胞进行单个测定结果发现,每个细胞所含上述 3 种蛋白的峰形和量的不同,反映了红细胞寿命的差异^[10]。在毛细管中采用荧光标记的抗体和快速免疫分析可进行微量样品的结合常数的测定^[12],是又一成功的例子。微量蛋白纯化制备也是一重要方面,但 CE 在制备能力上不如 HPLC,是其不足之处。现在依靠液体冷却,采用大口径毛细管(200 μm),一次运行分离纯化所得的蛋白足可供蛋白顺序仪测得其氨基酸序列。

4.2 LIF 应用广泛^[13]

LIF 检测器极大地拓展了 CE 的应用,解决了紫外检测灵敏度不够的难题。上面已讲到在单个细胞水平上进行化学物质的分析,因其进样量很少,现在一般利用电化学安培检测,特别是 LIF 的高灵敏度才能解决问题。甚至已有利用极端灵敏的 LIF 技术检出单个染色的 DNA 分子^[13]的报道。这方面的研究现正向着癌症的早期诊断等方向进行。LIF 不但灵敏度高于 UV,而且还可利用荧光试剂与待测物质间的选择性反应,减少电泳图上出峰的数目,如 Polio 病毒疫苗——Sabin 3 的反转录 PCR 产物中具有 53 个碱基对的片断,在 UV 检测时,有大量副产物峰共存,无法确定 Sabin 3 的峰。而用荧光试剂的选择性,在 LIF 的峰图上只有 Sabin 3 出峰,可以准确定量。至于对现在规模浩大的人类基因组计划而言,其关键就在于解决 DNA 测序的速度。而采用染色标记和强度识别技术,一次分离即可同时快速确定 4 种碱基,再结合毛细管阵列设计,采用 1000 根毛细管,将大大提高 DNA 测序的速度。已有报道商品 CE-DNA 测序仪即将推出。在蛋白分析及临床检验方面,以 CE-LIF 为基础的酶和免疫学检测具有极高的选择性和灵敏度。如人血清和尿样中亮氨酸氨肽酶(LAP)在临床上意义重大。利用 LAP 在毛细管中将无荧光的亮氨酸(4-甲氧基- β -萘胺)分解为具有荧光的 4-甲氧基- β -萘胺,用 LIF 测定,其检出限(3σ)约为 400 个 LAP 分子。CE 所用临床检验样品如尿液、血清等均可不加处理,直接进样。又如吗啡是海洛因和可待因的主要代谢产物,并以游离的形式或葡萄糖醛酸甙缀合物形式由尿中排出。利用吗啡与花青染料-Cy5 生成强荧光缀合物与抗体-抗原亲合反应及 LIF,可在 5 分钟内定量分析吗啡。现已有大量相对廉价而稳定的激光光源可供选用,解决了 LIF 中激发波长较少及价格问题,预期将成为 CE 分析中的热点之一。

4.3 CE/MS 崭露头角

CE 的高柱效和 MS 的高灵敏检测,使 CE/MS 成为生物分子分析的强有力手段。CE 和 MS 联结关键在于接口,目前已商品化的有电喷雾电离(ESI)和常压化学电离(APCI)两种接口。用 CZE 和四极质谱连接,测得了牛白蛋白二聚物的分子量信息,测定精确度为 $\pm 0.01\% \sim 0.05\%$,所需样品量约 100 fmol ~ 10 pmol^[14]。最近有报道用 CE-ESI-MS 测定了毒蛇唾液中分子量为 6000 ~ 9000 D 的近 80 种肽,CE 分离后,MS 测出其分子量并得以确证了一些已知肽^[15]。采用预浓缩-CE-MS 技术解决临床研究中药物代谢物的测定也已取得成功^[16]。对于体液中微量药物代谢产物,可采用 CE 中一些预浓缩技术,如堆积,场放大,等速电泳等。采用 CE-MS-MS 则可用于多肽序列分析。总之 CE/MS 将越来越多得到应用,因为它弥补了 CE 定性鉴定的

不足。

4.4 小分子及离子分析已成正宗

CE 开始是从解决 HPLC 分离生物大分子的效率问题出发,故主要对象是生物大分子。随着其发展,特别是 MECC 的出现,使 CE 在小分子分析中得到迅猛的发展。其中发展较快的是药物分析和手性分离。用 CZE,特别是 MECC 已成功分离了各类药物,如抗抑郁药、抗菌素药、巴比妥类等等。例如吗啡和可待因,在 HPLC 中难于分离,GC 需衍生化,而 MEKC 很容易就得到分离。手性对映体的分离,原本是 HPLC 的强项。CE 在这方面发展非常迅速^[17]。又对一种新型钙拮抗剂-86040,用 β -环糊精固定相 HPLC 分离度为 1.25^[18]。而用加入 β -CD 的流动相 CE 分离,其分离度达到 5.5。用二极管阵列检测器不但确证了两个主峰为 86 040 的左、右旋光体,而且高度分离并在线光谱检出了另外一对混在成品中的反应物手性对映体^[19]。

采用间接紫外方式可进行离子分析。已有在 3 分钟内分离 30 种阴离子,1.7 分钟内分离 19 种阳离子^[20]的报道。无论是柱效及分析时间均优于离子色谱,而且仪器简单,可以兼作其他分析用途。现已用于环境、水质及食品分析行业。

CE 是一门正在发展中的分析化学前沿学科之一。其本身在理论和实际应用上还有一些问题亟待解决,预计几年内将会成熟,使分析科学又增添一强有力的分支。

参 考 文 献

- 1 Jorgenson J W, Lukacs K D. *Anal Chem*, 1981,53:1298
- 2 Jorgenson J W, Lukacs K D. *Science*, 1983,222:266
- 3 Monnig C A, Kennedy R T. *Anal Chem*, 1994,66:280R
- 4 Lin B C, Xu X, Luo G A. *Science in China (Series B)*, 1994,37:807
- 5 Terabe S, Otsuka K, Ichikawa K, et al. *Anal Chem*, 1984,56:111
- 6 Cohen A, Karger B. *J Chromatogr*, 1987,397:409
- 7 Hjerten S, Liao J, Yao K. *J Chromatogr*, 1987,387:127
- 8 Kelly J F, Locke S J, Thibault P. *Discovery, Beckman Instrument, Inc*, 1993,2:1
- 9 Karger B L. *J CAP ELEC*, 1994,1:1
- 10 罗国安,王义明. *分析化学*, 1995,23:953
- 11 Gilman S D, Ewing A G. *J CAP ELEC*, 1995,2:1
- 12 Chen F T A, Sternberg J C. *Electrophoresis*, 1994,15:13
- 13 Schwartz H E, Ulfelder K J, Chen F T A, et al. *J CAP ELEC*, 1994,1:36
- 14 Loo J A, Udseth H R, Smith R D. *Anal Biochem*, 1989,179:404
- 15 Perkins J R, Tomer K B. *J CAP ELEC*, 1994,1:231
- 16 Tomlinson A J, Benson L M, Oda R P, et al. *J CAP ELEC*, 1995,2:97
- 17 王义明,罗国安. *分析化学*, 1995,23:850
- 18 王义明,罗国安. *药学学报*, 1995,30:854
- 19 Luo G A, Wang Y M, Ewing A G, et al. *J CAP ELEC*, 1994,1:175
- 20 Li S F Y. *Capillary Electrophoresis. Principles, Practice Applications*, Amsterdam: Elsevier Science Publishers B V, 1992:462

作者简介

罗国安:清华大学教授,博士生导师。

王义明:清华大学副教授。

加速器质谱法在生物医学中的应用*

王海芳 刘元方

加速器质谱法(accelerator mass spectrometry, AMS)是20世纪70年代末在国际上兴起的一项超灵敏分析测量技术,它将加速器技术与质谱技术相结合用于测量长寿命宇宙成因核素(例如 ^3H , ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{129}I)的同位素丰度比,从而推断样品的年龄或进行示踪研究。它具有灵敏度高,样品用量少,测量时间短的特点。

AMS在地质年代学、岩石发生学、火山学以及考古学和古人类学等领域有着广泛的应用,这些领域的应用是基于测年或定代(dating)原理。近10年来,AMS的应用范围已被扩展到核物理、材料科学、环境科学、海洋学、大气学及生物医学等领域,这类应用可被称为非测年(non-dating)应用。

大多数AMS是由串列静电加速器构成的特殊的质量分辨系统。它的主要构成是:(1) 铯溅射负离子源;(2) 由一系列注入磁铁、透镜、导向仪组成的低能注入系统;(3) 高压端内装有电子剥离器的串列加速器;(4) 由磁四极透镜、静电四极透镜、主分析磁铁、静电分析器等组成的高能分析系统;(5) ΔE - E 气体探测器;(6) 计算机数据获取系统。与传统的质谱计不同,AMS用加速器可将离子加速到 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8 \text{ eV}$ 。能量的提高使得采用电子剥离技术(可以消除分子干扰),采用多种新的同量异位素分离技术及重离子探测器(可鉴别不同核素而有效地抑制本底)成为可能,这样它的灵敏度比普通的质谱计要高几个数量级,可测到 $10^3 \sim 10^5$ 原子/样品。对于 $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ 的探测限是 1.7×10^{-15} ; $^{10}\text{Be}/^9\text{Be}$, $^{26}\text{Al}/^{27}\text{Al}$ 探测限也可达 10^{-15} ,因此AMS也被称为超高灵敏度质谱计。另外,由于AMS的探测效率高,所需的样品及测量时间少,如测量 ^{14}C 的样品量一般为1 mg,甚至少到几十微克,达到1%统计误差所需时间也只有十几分钟,大大优于传统的放射性衰变计数法。

用于生物医学示踪研究时,AMS比普通的放射性核素示踪测量技术更优越。当核素的寿命很短或很长时,采用普通的放射性核素示踪测量技术很困难。但长寿命核素 ^{14}C , ^{26}Al , ^{41}Ca 等却可以用AMS技术直接计数测量,从而大大提高了低活度放射性核素的测量灵敏度以及测量效率和精确度。AMS中示踪用样品量极少,使得将人直接作为研究对象成为可能。

早在1978年的第一次AMS国际会议上即已提出将AMS用于生物学研究,但直到1987年,D. Elmore才具体阐述了AMS在生物医学领域的可能应用途径,并建议用 ^{26}Al 示踪研究铝的神经毒性及用 ^{14}C 标记化合物进行放射自显影研究。至今已有几十篇文献资料报道了AMS在生物医学领域的应用研究工作,涉及的核素主要是 ^{14}C , ^{26}Al , ^{41}Ca 。这方面的开创性工作是由美国Lawrence Livermore国立实验室(LLNL)于1990年完成的。他们用 ^{14}C 示踪研究了环境水平剂量毒物的遗传毒性以及药物代谢动力学等。在1993年,我们用北京大学的 $2 \times 6 \text{ MV EN}$ 型静电串列加速器质谱仪,着手研究了烟草中烟碱(尼古丁)及其衍生物与遗传物质DNA的加合

* 刊于《大学化学》1996年第1期第6页

作用。

AMS 在生物医学领域中的应用主要是两方面：一是通过标记示踪研究毒物、药物、营养物质的代谢和与生物大分子的相互作用；一是研究某些元素的代谢、毒性等。应用最多的核素是 ^{14}C ，有关 ^{14}C 标记化合物进行示踪研究的工作列于表 1。

表 1 用 ^{14}C 示踪的 AMS 在生物医学中的应用情况

^{14}C 标记物	研究性质	研究内容	样品 ^{14}C 丰度	实验室	发表年份
2-氨基-3,8-二甲基咪唑[4,5-f]喹啉 (MeIQx)	环境水平外来物与 DNA 的加合	小鼠肝细胞中 DNA 与 MeIQx 的加合	富集	美国国立列弗莫实验室 (LLNL)	1990
2,3,6,7-四氯二苯二噁啉 (TCDD)	环境水平外来物与 DNA 的加合	小鼠肝细胞中 DNA 与 TCDD 的加合	富集	LLNL	1990
4-(甲亚硝胺)-1-(3-吡啶)-1-丁酮 (NNK)	环境水平外来物与 DNA 的加合	小鼠肝细胞中 DNA 与 NNK 的加合	富集	北京大学	1994
3-(1-甲基-2-吡咯烷基)-吡啶 (烟碱)	环境水平外来物与 DNA 的加合	小鼠肝细胞中 DNA 与烟碱的加合	富集	北京大学	1994
2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4,5-f]吡啶 (PhIP)	低剂量毒物在动物体内的代谢过程	小鼠肝、肺、心等组织细胞中 DNA 与 PhIP 的加合并测量粪便、血液中的 PhIP 含量	富集	LLNL	1992
畸变细胞中的精蛋白	蛋白质化学研究	测量畸变精子中的精蛋白量	富集	LLNL	1990
苯	外来物与蛋白质和 DNA 的加合	小鼠骨髓中染色体蛋白质、DNA 与苯的加合	富集	LLNL	1997
乙酰乙酸乙酯	外来物与蛋白质的加合	与蝶螺嗅觉蛋白的加合；采用微孔和 TLC 盘分离及直接燃烧制源	富集	LLNL	1994
正-烷烃	毒性病理	石油引起皮肤角质化的病理研究	贫化 (来自石油)	美国加州大学旧金山分校、LLNL	1992

肿瘤的形成原因是当今医学领域中非常活跃的研究课题。微量的外来物与体内遗传物 DNA 发生加合作用，是引起癌症的一个重要因素。已有一些方法用于动物体内 DNA 加合物的测量，其中 ^{32}P 后标记法的灵敏度最高，为 1 个加合物/($10^8 \sim 10^{10}$ 个核苷酸)。而 AMS 法的灵敏度比 ^{32}P 后标记法高 1 至 3 个数量级，所以我们可以用它研究环境水平外来物与 DNA 的加合作用。LLNL 实验室在研究了烧烤牛肉中杂环胺类 MeIQx 致癌作用的基础上，合成了 ^{14}C 标记的食物致癌剂 MeIQx，用极低剂量 (约 500 ng/kg 动物体重) 投给实验小鼠。一定时间后，提取小鼠肝中 DNA 分子，将它制成石墨样品后，用 AMS 测量 ^{14}C 含量，从而获得了 MeIQx 环境水平剂量与 DNA 加合物之间的量效关系。500 ng/kg 的剂量相当于 70 kg 体重的人吃 100 g 牛肉所吸取的 MeIQx 的量，其结果是在 10^{11} 个核苷酸分子中发现有 1 个 DNA-MeIQx 加合物。可见，用

AMS 技术现在可直接获得环境致癌物的量效关系,而在过去只能从高剂量毒物的动物实验结果进行不可靠的外推。

在我们实验室也用 AMS 法测量了烟碱及其亚硝基衍生物 NNK 与小鼠肝细胞 DNA 加合作用。NNK 是烟叶中具有遗传毒性的强致癌物,普遍存在于未燃烧的烟叶中和吸入的烟气流中。国外曾用放射免疫分析法测定过动物体内 NNK 与 DNA 的加合,但受分析灵敏度的限制,投入的 NNK 最小剂量为 1 mg/kg 体重,这大致相当于一个人每天吸 20 支烟所受暴露剂量的 10 000 倍,所以由此很难推测环境水平剂量的 NNK 对人体的危害。我们采用 AMS 进行 NNK-DNA 加合测量,灌胃法投给小鼠的最小剂量只有 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重,即一人每天吸 40 支烟所获取的 NNK 量。测量结果表明,在很小剂量下,NNK-DNA 仍有加合,加合量与剂量呈较好的对数线性关系。灌胃法对烟碱的研究表明,烟碱可能首先转化为亚硝胺化合物,再在体内转化为亲电子的亚硝基碳鎓离子,然后与 DNA 结合。检测灵敏度达 1 个加合分子/ 10^{11} 个核苷酸,达到国际先进水平。深入的研究工作仍在进行之中。

AMS 不仅可以用于外来物与生物大分子相互作用的研究,也可用于环境水平剂量的毒物或药物代谢动力学研究。LLNL 实验室用此法研究了环境水平毒物 PhIP 的代谢过程。PhIP 也是存在于肉类食品中的一种有致癌作用的杂环胺。为了了解从食物中摄取的 PhIP(10^{-9} 数量级)对人体的危害,他们用 AMS 研究了它在小鼠体内各组织中的分布和清除动力学过程。结果发现,PhIP 在生物组织中的分布和代谢过程与剂量有关。低剂量时,投药 3 小时后各组织中 ^{14}C 量达到最高,而高剂量时则需 12 小时后才达到峰值,即低剂量毒物的半生物期比高剂量时短得多。这一结论同时说明低剂量毒物药物的代谢动力学研究不能由高剂量实验结果进行外推。

^{26}Al 也是 AMS 测量应用较多的核素,对长寿命核素 ^{26}Al 的测量极限可达 10^{-18} g(相当于 6×10^4 个原子)。人们发现铝和肾病有关,并怀疑它与老年痴呆症有联系,但由于人体的铝含量很低,过去没有灵敏的方法测量因而无法进行细致深入的研究,AMS 的建立和发展促进了铝的生物效应的研究。Pennsylvania 大学的 O. Meirav 等人利用此法研究了动物体内铝的代谢,将 ^{26}Al 投给小鼠,测不同时间收集的血样、尿样的 $^{26}\text{Al}/^{27}\text{Al}$ 之比,发现 ^{26}Al 投给动物后的一两天内下降速度最快,之后慢慢下降。由此不难想象,若直接投给人体 1.1 Bq 的 ^{26}Al ,其放射性低于自然界本底的千分之一,可以用 AMS 观察人体铝的代谢过程及其毒性。J. Barker 等让人口服 ^{26}Al ,研究确定了在人体血液中转铁蛋白是特征的载带铝的蛋白。R. R. Johnson 等人研究了正常人和尿毒症患者体内铝代谢动力学,为尿毒症患者不正常的铝清除能力的研究提供了参考数据;R. Flack 等正开展 ^{26}Al 示踪铝佐剂在人体内溶解情况的研究。C. B. Dobson 等人则研究了细胞中铝与 DNA 的结合及对 DNA 功能的影响。

钙在人体的代谢过程也是人们关注的研究课题,这主要由于它与人体骨消溶病密切相关。由于检测手段的限制,过去钙的示踪研究很有限,采用 AMS 法可以长期观察人的骨钙消溶现象,为人类治疗此病提供依据。D. Elmore 等人首先以 ^{41}Ca 作示踪,用 AMS 法研究了狗体内 ^{41}Ca 的代谢过程。其后, R. R. Johnson 等开展了人体内骨钙消溶的研究。他们静脉注射 126 ng ^{41}Ca 到人体中,通过 AMS 跟踪测量尿样中 ^{41}Ca 含量,研究时间长达 900 天。

AMS 有种种优点,但也有受制约的地方,如可供选择的核素很有限,即使可被测量,其灵敏度也因元素不同,加速器质谱仪本身品质的限制而有很大差异。样品需转化为特定的化学形式(如 ^{14}C 需转化为石墨),且实验系统很易被污染。此外,AMS 只能测量一些示踪核素的含

量,无法得到有关生物大分子结构等方面信息。因此 AMS 与其他技术如高压液相色谱、放射免疫分析和色层分析等手段结合起来,才能充分发挥其高灵敏度、样品用量少、用时少的特长。瑕不掩瑜,AMS 在生物医学领域的研究中越来越受到人们的重视,应用范围也在不断扩大。

参 考 文 献

- 1 Liu Yuanfang, Guo Zhiyu, Liu Xinqi, *et al.* *Pure & Appl Chem*, 1994, 66: 305
- 2 郭之虞. 加速器质谱学. 见: 现代核分析技术及其在环境科学中的应用. 北京: 原子能出版社, 1994: 79

作者简介

王海芳: 北京大学讲师。

刘元方: 北京大学教授, 博士生导师, 中国科学院院士。

分子调控的概念及其意义*

宋心琦 郭志新 周福添

1 引言

随着化学研究的不断深入,对分子的某些性质进行调控已引起了人们的极大兴趣。实际上,生物体内的许多功能是通过分子调控实现的。例如原核和真核细胞的基因表达受调节蛋白质的调控, Ca^{2+} /钙调蛋白、蛋白激酶 11 可调控蛋白质的磷酸化^[1], G 蛋白偶联受体通过激活 cGMP 磷酸二酯酶来调控细胞内 cGMP 的浓度^[2]等等。

我们提出的分子调控(Molecular Regulation)的概念,指的是通过外界因素的作用(例如辐照、络合、溶剂极性等),实现对分子的某些性质,例如反应通道的选择,活性部位的迁移,能量耗散方式的优化等的有力的指令性干预。就某种程度而言,这种调控更具有分子工程学(Molecular Engineering)的特点。

超分子化学的兴起和发展使复杂分子的调控成为可能^[3~5]。超分子化学是有关分子组合(Molecular Assemblies)以及分子间键的化学,是化学与物理学、生物学的新的结合点。在超分子化学中,分子识别(Molecular Recognition)无疑是最重要的概念。这一概念被形象地比喻成锁和钥匙(Lock and Key)的关系,对应于生物学中的底物和接受体(Substrate and Receptor),以及配位化学中的受体和给体(Acceptor and Donor)或者主体和客体(Host and Guest)。而分子调控正是建立在分子识别基础之上的超分子体系所特有的功能。

分子调控可视为分子识别的直接结果。即当客体通过分子识别作用于主体之后,主体分子的性质将产生预期的变化,从而使化学家们可以有意识、有目的地控制特定分子的性质。而当化学家们在需要进行调控的分子上有选择地结合一个具有超分子特性的基团时,就可以通过这个基团,实现对其性质的有效调控。反过来,主体分子也可以通过超分子作用来对客体分子(离子)产生调控作用。可用图解的形式表示,如图 1 所示。

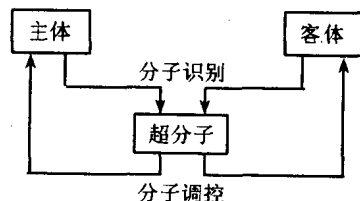


图 1 分子调控示意图

客体对主体的分子调控可以影响其基态及激发态的性质。例如,冠醚及双吡啶盐的键合表现出有趣的选择性^[6],通过盐效应可以改变激发态性质^[7],以及超分子体系可以控制化学反应性等等^[8]。同样地,主体亦可调控客体的性质。例如,控制客体离子的输运特性^[9],调控客体的发光性质^[10]。下面我们从几个方面举一些具体的实例。

2 生色体及荧光体的分子调控

在生色体及荧光体上连接某些冠醚取代基团,使生色体及荧光体具有超分子性质,可以通

* 刊于《大学化学》1996 年第 2 期第 1 页