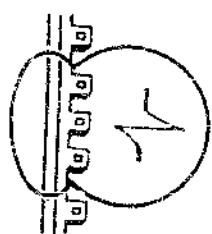


中国生物物理学会

第六届全国生物物理学学术会议
论文摘要汇编



1990年5月·苏州

中国科学院植物研究所

十年来中国植物研究所的工作
进展很快，特别是在栽培植物方面，
国内、外学术交流也很频繁，成果很成
绩显著，今后将会有更大的发展。
就为我国工业化建设作出了重要
贡献。今后将更需要有更深入的研
究，才能满足生产发展的需要。
希望有志于植物栽培学的研究者，
能有成就，今后将更需要有更深入的研
究，才能满足生产发展的需要。
希望有志于植物栽培学的研究者，
能有成就，今后将更需要有更深入的研
究，才能满足生产发展的需要。

一九八一年九月

孙其峰

中国生物物理学会

第一届理事会名单

理事长 贝时璋
副校长 林克椿 徐宗华 程极济
秘书长 沈淑敏

理事

(按姓氏笔划排列)

王天铎 方世国 吴云鹏

贝时璋

刘育民 李昆 吕克定 孙复川

林克椿

程极济 陈惟昌 杨文修 杨福愉

徐宗华

沈淑敏 李德平 邵承鲁

沈淑敏

杨同堂 吴云鹏 李赋铸

杨同堂

杨福愉 郑荣梁 徐宗华

程极济

梅镇安

为台湾省保留一个理事名额

第二届理事会名单

名誉理事 贝时璋
理事长 梁栋材
副校长 林克椿 徐宗华 程极济
秘书长 沈淑敏

理事

(按姓氏笔划排列)

王书荣 方世国

贝时璋

卢侃 刘育民 孙复川 吴元德 吴云鹏

梁栋材

吕克定 李昆 吕克定 孙复川 吴元德 吴云鹏

林克椿

程极济 陈惟昌 杨文修 杨福愉 郭承鲁

杨同堂

郑荣梁 赵南明 施永德 梁栋材 黄秉究

徐宗华

梅镇安 翁元凯 蔡嘉坤 程极济
为台湾省保留一个理事名额

第三届理事会名单

理事长 王书荣
副校长 林克椿 王大成 程极济
秘书长 沈钧贤 吕克定 梁永德

理事

(以姓氏笔划排列)

王大成 王书荣

王书荣

卢侃 曲直 纪极英 寿天德 吴本玠

梁栋材

江丕林 孙琦 吴元德 汪云九 郭承鲁

林克椿

程极济 陈惟昌 林克椿 郑荣梁 何镇陆

徐宗华

罗江复 张志鸿 张志均 郑荣梁 陈惟昌

梁栋材

施永德 翁元凯 赵南明 蔡嘉坤 程极济

徐宗华

黄秉究 黄秉究 徐宗华 黄秉究

注: * 为常务理事(十一人)

大 会 総 述 报 告

邹承鲁

中国科学院生物物理研究所，生物大分子国家重点实验室

尽管改变分子结构对酶活性的影响已有广泛的研究，但以前的作者多数将注意力集中于酶侧链基团的化学修饰。近年来新发展的蛋白质工程技术，也只是致力于研究一级结构的改变对生物功能的影响。在另一方面，虽已普遍意识到分子构象的完整对酶催化活性的重要性，并且已经有不少作者对由于热、酸和变性剂引起酶分子伸展的过程和机制做了大量的深入的研究，但却很少对变性过程中构象变化与活性变化进行比较，研究二者之间的关系。我们对肌酸激酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶、及牛胰核糖核酸酶等，在变性剂，如盐酸胍、脲，的存在下，以及热变性时，活性丧失和分子的构象变化及解离聚合的程度与速度，进行了比较。发现这些酶的失活都发生在可观察的构象变化之前(1)。

整个分子构象变化的标志，是根据酶分子的紫外吸收、内源荧光、圆二色光谱的变化和内埋疏基暴露的测定，并以光散射、聚丙烯酰胺、超速离心等作为测定分子聚合状态的方法。对于酶活性的迅速变化，则采用本实验室建立的，在变性剂存在下用停流仪测定底物反应的方法(2)。用这个方法，可以测定一级反应速度常数不超过 50 秒⁻¹ 的快反应。

肌酸激酶在比较低的变性剂(0.3 M 盐酸胍、2 M 脲)浓度下，已经大部分失活时，却还监测不到整个分子的构象变化，酶分子伸展仅在较高变性剂的浓度下才发生。在 0.5 及 1 M 盐酸胍溶液中，酶失活的一级反应速度常数分别为 3、6 及 4.3 秒⁻¹，高于相同条件下分子伸展的速度约 2—3 个数量级。肌酸激酶通常以二聚体形式存在，但即使在能令酶全部失活的 1 M 盐酸胍浓度下，酶的二聚体也没有解聚为单体，说明在此条件下酶的失活不是由于二聚体解聚所引起。稳定性研究也给出类似结果。

上述结果表明，酶活性部位的构象远较酶分子其他部分更为脆弱，更容易被变性剂所破坏。不同条件下，用各种方法监测酶分子构象变化所给出的伸展程度及速度都各不相同，说明伸展不是一个“全或无”的过程。

对于整个分子为 4 个二硫键所维系，分子量较小，以单体形式存在的牛胰核糖核酸酶的研究也得到类似的结果。在 2 M 盐酸胍中，构象尚未发生变化，酶活性已迅速大部丧失。失活几乎是瞬同完成的，反应速度即使在停流仪中，也无法准确测定。表示其一级反应速度常数应在 50 秒⁻¹ 以上。由于在稀释除去变性剂时，其复活过程是一个慢反应，因此快速失活应该是由于酶分子构象的变化，而不是一个简单的盐酸胍作为变性剂的抑制作用。

用我们以前发现的，在甘油醛-3-磷酸脱氢酶活性部位形成的类光 FAD 衍生物作为探针，测定其在 410 nm 处紫外光的变化可以看出，在低变性剂浓度下酶活性部位的变化大体上和活性丧失同步，表明失活是活性部位的构象变化所引起。和牛胰核糖核酸酶类似，甘油醛-3-磷酸脱氢酶在热变性时，活性丧失的一级反应速度常数也在 50 秒⁻¹ 以上。为了完全排除酶活性丧失是酶的可逆抑制所造成，进行了热变性的研究。结果表明，在一定 pH 条件下，酶在 38.5°C 的失活，解聚和构象伸展是一个多相过程。在快相失活阶段，用圆二色性及光散射等方法，还完全观察不到酶分子的伸展或解聚。由于完全没有可能做为抑制剂物质的存在，也就不存在快相失活是抑制作用的可能性。酶的失活只能是由于在整个酶分子还没有受到明显影响以前，在活性部位发生的构象变化所引起。

我们对于血浆凝蛋白酶、胰凝乳蛋白酶，和一些其他酶的研究表明，虽然在失活和酶整体分子伸展时所需变性剂的浓度差，或在相同的变性剂浓度下二者的速度差，都各不相同，但总的结果是类似的，即活性丧失先于分子整体的构象变化。虽然文献中也有一些活性丧失与构象伸展同

步的报道，但多数作者没有注意到，所观察出的活性是由于在测活时变性剂被稀释及底物的存在，而引起复活或部分复活的可能性(3)。在热变性研究中，通常是采用定时取样迅速冷却，然后测活的方法。此时更无法排除热变性实际上是可逆的，而所测得的活性是冷却后的复活或部分复活的可能性。

这些情况都会造成活力测定偏高，因而引起活性丧失和构象变化不可逆性。这些情况都会造成活力测定偏高，因而引起活性丧失和构象变化不可逆性。这些情况都会造成活力测定偏高，因而引起活性丧失和构象变化不可逆性。在我们的研究中，对于这些可能性都给予了适当的注意。实际上，我们的结果还表明，在甘油醛-3-磷酸脱氢酶热变性时，其快相失活确实是可逆的。

虽然不同的酶可以有不同的性质，但根据我们的结果看来，上述这些酶的活性部位，可能是处于对化学变性剂或物理变性因素所引起的构象微扰敏感的局部区域，由较弱的次级键所维系，相对整个酶分子来说更具柔性，或可运动性。因此，在变性过程中，当酶分子的整体构象还没有受明显影响以前，已大部分被破坏，因而造成酶活性的丧失。对所研究的酶来说，活性部位的柔性或可运动性，很可能正是酶表现其催化活性的一个必要的因素。

参考文献：

1. Tsou, C. L. Trends Biochem. Sci., 11, 427 (1986).
2. Tsou, C. L. Adv. Enzymol., 63, 381 (1988).
3. 第二章，科学通报，34, 321 (1989).

生物膜研究的前沿问题

林志强

(北京医科大学)

前言

生物膜的研究已经成为分子生物学的一个重要组成部分，这不仅仅是由于生物膜本身是集中体现生命的各种基本过程的场所，例如物质转运、能量转换与信息传递等，而且是把现代分子生物学的研究成果延伸应用于最基本的生命单位——细胞的第一个重要所在。这种延伸不是简单地把分子生物学现有的成就加以应用就能做到的，而是必须考虑到膜本身的特殊环境以及膜与细胞内所产生各种生物效应。除此以外，应用对膜研究所获得的成果已经有可能在农业、医学以及工程中加以应用，对其实现的了解有可能促进新技术的发展。因此在生物物理学以及生命科学的许多学科的各种国际会议中，膜的研究经常占有重要地位。

最近十几年来，膜的研究有两个很突出的特点值得关注。第一是认识到生物膜中的各种成分(特别是脂和蛋白质)都具有各种不同的运动，而不是静止的，因此生物膜本身所具有的物理—化学性质必须通过这些运动才能深入理解。第二是上述运动具有很高的时间尺度，从几十个小时到 10^{-13} 秒都有，而且不同的功能在不同的时间和局部空间中发生。因此动力学的研究以及相应手段的开发成为当前的重要发展方向。

以下提出几个作者认为是生物膜研究中的重要前沿课题，仅供参考。

一、膜蛋白结构与功能的新问题
对膜蛋白的特殊特点是，由于它们的两亲性质，在水环境中能成为膜双层，从而成为细胞或细胞器的屏障，而起所有重要生物学功能作用的是膜蛋白。这是一种滑极的、流动的现象，它只为膜蛋白提供合适的环境条件。

然而十多年前发现，有一些膜在水化时并不形成双层，例如质膜中的磷脂酰乙醇胺(PE)、线粒体内膜中的心磷脂(CL)，在合适条件下，它们形成其它结构，特别是六角形磷脂(H_3P)相，即一种膜可在此层与非双层之间转变，因此被称为膜的多型性。这一发现得力于X射线衍射，特别是 ^{31}P —核磁共振和电镜冷冻断裂技术。到目前为止对人工膜的研究已相当充分，从水化度和分子形状提出了形成非双层的机理。

如此，为何生物膜中必须有这样非双层膜，特别是在线粒体内膜、支原体膜、光合作用膜中所占成分相当可贵？其功能意义已经从膜融合、物质转运等方面开始研究，但是令人信服的证据仍然不足。

对这一问题的研究有可能或真有对膜作用的看法。解决此问题目前有两种途径，一是改进技术，发展新方法，努力在活细胞膜中寻找非双层结构的证据；另一种是改变膜中非双层成份，从功能变化中寻找非双层膜的功能意义，非双层膜及其功能意义的研究将进一步改变人们对膜结构功能关系的傳統观点。

二、膜蛋白研究深入发展的要求

无论是膜上的酶、载体、通道还是作为电子传递实体的组合，其共同点是蛋白在膜中的构于水环境，而是基本处于脂环境之中。因此关于膜与蛋白的相互作用、特别是蛋白在膜中的构

象研究将成为上述对受体功能作用的共同需要。

1、膜蛋白构象及其变化的研究。膜蛋白构象可以化学与物理两条途径解决：化学途径着重从cDNA克隆化找出膜蛋白的一级结构，物理途径试图直接测定构象及其改变与动力学。二种途径共进为此提供了有前途的一种手段，分子力学将能以帮助，并把这些研究结合起来，但目前还刚刚起步，特别是在膜蛋白构象研究中所使用的方法扩展到膜中时，复杂程度增大，在方法上还需要有所突破。此外关于构象与功能之间的关系，是同时还是不同步发生，目前还有争论，有待进一步研究澄清。这类问题的研究有助于了解蛋白对膜脂适时的构象变化及诱导的传递，受体的作用机制和亲水的分子机制，也有助于理解蛋白对膜脂适时的构象变化与力学和引起所起的作用等国际瞩目的新问题。

2、通道的研究。通道的分子生物学研究已经成为近年来生命科学各学科共同关注的新课题，在历次国际会议上都占有重要地位。通道对离子的选择性通过选择性电压，通道可兴奋细胞产生动作电位，调节神经系统的调控作用，实现神经—肌肉收缩偶联，以及调节兴奋—抑制的递质各种功能（分泌、受精、吞噬、信息过程）的关键因素。通道的分子生物学研究同样有结构与功能两方面，同样有生化和生物物理学两种途径。结构研究从生化方面要求解决结合及其作用（一级结构），而从生物物理学方面则要求全面搞清楚在膜内外的空间构象；在功能方面则是要采用明暗体门控与电压门控这两类通道的控制机理和通道选择性的来源及其启动过程，目前已分别对 K^+ 通道、 Na^+ 通道、 Ca^{2+} 通道等分别进行了细致研究。进一步将从这类研究中寻找出它们的共同点（通道构成的基本物理原理）和差异之处（对不同离子的选择性），并提出合理的模型，基于通道结构的复杂性，亚单位的组合及其相互作用，保守性区域及活性部位的作用以及通道组合中氨基酸侧链的作用方式显然都是研究的重点。

3、受体的研究。受体这一概念在生理学、生物化学、药理学、细胞学、免疫学等许多生物医学学科中应用得非常广泛，用来说明膜和许多大小分子都具有的一种特异的作用，不论是多肽、激素、各种药物、毒物，以及许多小分子都是如此。甚至还将有许多物质，也许现在我们尚未发现，等到发现之后它们和膜上的特异作用部位也会被称为这些未知物的受体。因此，现在应该更对受体的确切意义及其存在形式重新作出探讨的时候了。否则就无法理解一个细胞膜上竟然能够容纳得下如此众多的、专一和一些配体作用的蛋白质，更无法理解细胞能事先安排好多少种类还没有被发现的物质的受体。关键在于了解：膜上是否具有一些基本结构，它们能适应和多种物质的作用，这物质肯定无一定数量？这些物质上有无起不同受体作用的部位？是不是这些部位构象的改变是起不同受体作用的关键因素？这些部位的构象真该于蛋白质多肽链、甚至个别氨基酸及其侧链，还是取决于蛋白质上的根基？这需要做大量的分析、比较的研究，也需要研究配体—受体作用前后受体本身的构象变化，以及膜中起调节作用的其它蛋白（比如G蛋白与激酶）的改变。把极其多样化的生物学效应加以归纳总结，从中找出共同的物理学（也许还有化学）规律，是生物物理学的基本任务。

应该着重指出，在研究上述几个基本问题时，由于细胞本身过于复杂，必须利用人工膜来简化，使因素单一，条件易于控制，从而得到较为明确的结论。所以所谓生物膜的研究必然将包含脂质体、平面膜以及重相体系等人工膜在内。另一方面，膜结构与功能的研究又不能局限于孤立的膜本身，许多功能，连同膜结构在内，不仅与发生在膜内的过程有关，也和细胞内各种介质、细胞与细胞器有关。例如信息传递和细胞膜下胞浆中的骨架蛋白至细胞核都有一定联系。因此研究生物膜需时刻不忘其在整个细胞活动中 的意义，才能较应用各种精密物理测量和研究的结果成为真正具有生物学意义的结果，这实际上也是生物物理学的主要任务。

三、生物膜研究的实践意义

这方面的工作具有一些诱人的前景，但真正地在实践中应用还有许多工作要做，可能考虑到的有下列几方面：

1、利用人工膜（脂质体）、特别是蛋白膜对非极性溶剂的作用作为导向工具，诊断及治疗疾病；

2、根据膜的结构与识别原理以及高效能量利用制作生物芯片等人工器件的可能性；

3、模拟起动能作用的片段的工作原理，制作具有催化活性的类催化剂。

平行又分离的视觉信息处理中枢机制(摘要)

李天德

(中国科学技术大学 生物系 视觉研究实验室)

自然科学家最初的问题可能要属大脑了，视觉皮层是目前人类对自身大脑皮层研究得最透彻的脑区。50 年代末，在 Hubel 和 Wiesel 开拓性的工作的带动下，多年来各国科学家对视觉系统的研究日益深入，大大增进了人们对脑的结构和功能关系的理解。本文评述了 30 年来，特别是近年来这一领域的研究成果（包括作者最新成果），说明中枢视觉信息处理本质上是一种平行处理过程，但是它又是一种由低级往高级逐步升级的处理过程。

一、初级视皮层和皮层下的信息处理

(1). X、Y 和 V 通道，猫视网膜神经节细胞按其功能性质可分为 X、Y 和 V 三大类（对应的形态学类型为 β 、 α 和 γ 细胞），猫背 LGN 神经元亦可分为 X、Y 和 V 三类，它们平行地、分离地接受其视网膜的同类型神经节细胞的输入。LGN X 神经元只投射到皮层 17 区，Y 神经元只投射到 17 和 18 区，主要是 18 区，V 神经元投射到 17、18 和 19 区，主要是 19 区。由于 X、Y 和 V 神经具有截然不同的生理功能（如感受野大小、空间总和性质、对比敏感度、单突传导速度、反应的时间模式等），故也就形成了从网膜到视皮层的平行处理通路。

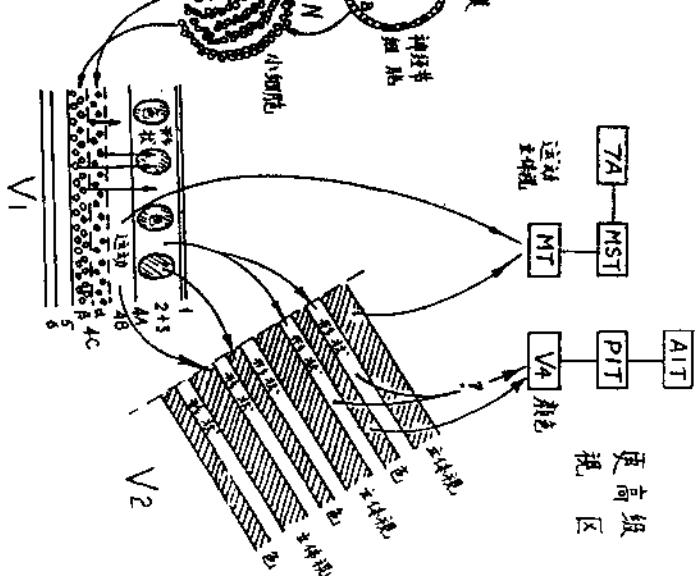
(2). ON 和 OFF“通道”，在视网膜，ON-中心和 OFF-中心细胞是一种均匀镶嵌式的排列，其总数基本相等，而在 LGN 它们开始呈现一定程度的分离；在猫 A、AI 层，ON-中心细胞多集中在浅层，OFF-中心细胞则多集中在深层。Schiller 等在猩猩网膜水平细胞、双极细胞处用药物（ α -氨基- γ -酮酸丁酸，APB）选择性地阻断 ON-通道，可以取消神经节细胞、LGN 和视皮层细胞的 ON 反应，但对 OFF-中心细胞的反应和视皮层细胞方位、方向选择性则毫无影响。这些说明 ON- 和 OFF- 通道从 LGN 到视皮层是充分地平行分离的。深层的行为实验也支持了上述结论。

(3). 左、右眼信息通道：猫背 LGN 分为三层，其 A、C 层仅接受对侧眼输入，AI 层仅接受同侧眼的信息输入，深 LGN 共分 6 层，其 1、4、6 层只接受对侧眼的信息输入，2、3、5 层仅接受同侧眼的信息输入。视皮层中细胞多为双眼输入细胞，但大多数细胞总是呈现对某眼输入刺激的反应占优势。视皮层的左、右眼优势柱是交替平行排列的，因此来自 LGN 的左、右眼信息主要是分别地投射到视皮层左、右眼优势柱，与其对应的细胞产生连接的。双眼视觉信息是立体视觉产生的基础。最近 Pettigrew 等证明猫的不同的视差信息处理是经 X、Y、V 通道分别地处理的。

(4). 空间频率通道：无论猫的视网膜和 LGN 的 X 和 Y 型细胞都分别对高、低空间频率的光栅刺激敏感，深视网膜 A、B 型细胞及其支配的在 LGN 的对应的大细胞 (magno

cell) 和小细胞 (parvocell) 层细胞也分别呈现出对低、高空间频率反应的是有差异。光栅适应的心理物理实验证有力地支持了视信息是按空间频率强弱不同的多通道进行分析处理的。现已有充分的实验证据表明猫和猴的皮层 17 区均存在跨空间频率功能柱，在同一柱内的细胞量化空同频率相同。

(5). 色色信息处理通道，在视网膜感受器细胞水平，颜色信息即已被三种光谱敏感性不同的（红、绿、蓝）视锥细胞所分别处理，保持型和平底型双极细胞处理颜色信息，而杆型双极细胞无色觉。在神经节细胞水平，深 B 型节细胞处理颜色信息，故接受其平行投射的 LGN 小细胞层细胞司色觉信息处理，而 A 型节细胞无色觉，故平行地接受其输入的 LGN 大细胞层细胞亦无色觉。经 LGN 小细胞层细胞所处理的颜色信息在 17 区的细胞色素氧化酶染色斑点 (blobs) 内的皮层细胞得到进一步的加工处理，如下图所示。



等分析了大量的神经节细胞的树突野分布的形状及其向心分布方式后，认为拉长的、朝向的树突野分布是神经节细胞方位敏感性的解剖学基础。每天德和 Leventhal 近期对 LGN 方位敏感性作出了迄今为止最详尽的研究，结果表明 LGN 神经元具有与视网膜神经节细胞相似的敏感性强度和最优方位向心分布规律，此外还有一部分 LGN 细胞呈现最优方位切向分布规律（这类细胞最近已被证明为皮层下丘所支配）。更有意义的是，他们发现在有相似最优方位的细胞在 LGN 内部已经聚集在一起，进行了初步的分类编组。由此可见视皮层分离的信息处理之前，LGN 已开始了对所有的视觉感受性质作出了最初的分类和组织，方位敏感性也不例外。LGN 相应仅被当作一种简单的中继站的观念以及方位敏感性被当做皮层细胞独有的生理特性的传统看法，需要修正。

二、皮层 17 区 (V1)、18 区 (V2) 内的形状、颜色、运动和深度视觉的平行处理

应用细胞色素氧化酶染色技术在视皮层研究揭示，第 17 区皮层 2、3、5、6 层显示出斑点状暗点 (blobs)；18 区皮层出现垂直于 17 和 18 区交界线方向上平行地排列的、交替的亮暗条纹 (stripes)，仔細观察还可以发现，深色条纹还可以分为宽的和窄的两类。Livingstone 和 Hubel 使用电生理结合解剖学方法，对 17 区的斑点和 18 区的条纹进行了一系列的深入的研究，提出了形状、颜色、运动和深度视觉信息在 17、18 区内进行分离处理的机制，其简图如前面所示。

V2 以后更高级的皮层的信息处理通路，目前正是神经科学家们热衷研究的课题。现已知道至少有 25 个皮层区域与视觉信息有关，这些视觉有关的皮层区域总的说来可以属于两个大的通向，一条信息通路包括 MT (中颞区) 和 MST (上内颞区) 区等，主要功能涉及运动和立体视觉等分析功能，另一条通路包括 V4 (视 4)、VP (颞后) 区和 IT (下颞)，其主要功能涉及形状和颜色信息处理。虽然研究正在铺开和深入之中，但这两条视觉信息平行处理通路中，很明显存在着若干层次上的分层。

(中国科学院生物物理研究所)
江丕林
在人类探索生命奥秘的历史进程中，往往由于某些新仪器手段或新技术方法的出现而奠定了生物学发展的里程碑。显微镜的发明使人们发现了细胞是由细胞组成的，X 射线衍射技术的运用使人们发现了 DNA 的双螺旋结构，就是两个辉煌的实例。
生物体的多层次结构十分复杂，有精巧的形态处理，如蛋白质和能量转换的功能，对生命的了解愈深，就愈尖端的自然科学和技术科学各学科的革新成就为手段，愈深入观察和探索复杂的生命现象，也就对各学科提出更多的要求。

生命科学与其它学科的这种相互促进，不断发展的过程，在很大程度上表

现为各种新技术、新方法在生命科学研究中的应用。

生命现象的特点，决定了生命探测技术的发展方向。首先要了解生物体的各种运动，接着之，要提高各种分析手段的空间分辨率能力。由光学显微镜到电子显微镜，到电子显微镜的进展过程，就是不断提高分辨率的过程。激光显微技术和光电子显微技术，则可增加图像质量，提高观察图像的清晰度。

由于计算机和图像处理技术的推动，显微技术又有了新的发展。图像增强系统可以在光学显微镜的基础上，看见原来所不能分辨的细节，如活细胞中微管的运动、小颗粒扩散等，有可能完成细胞膜之外光动能探针的过程。共聚焦显微技术用光学方法对样品切片，有可能对大块组织或薄片内很多单细胞成像，一系列光学切片的像，可以三维重构立体图像。扫描隧道显微镜，可以观察细胞甚至大分子的表面状况，其分辨率已达纳米水平，而且直分辨率已达原子尺寸。电镜三维重构，对带膜蛋白、病毒蛋白、类病毒蛋白、染色体等已获成功。其次，要真地反映生命过程的本质面目，就要使观察对象尽可能接近自然的生理状态，在观察时减少对生命过程的外界干扰，还要反映动态过程。

生物体内不同部分之间相互影响显著，其各部分的具体状态与在位时全有差别，因此发展各种技术能检测生物样品含量及处在位时的条件。

X 射线晶体学是生物大分子结构测定最精确的方法。二维 NMR 技术已用于测定很多种蛋白质在溶液中的构象。人们还要探索直接测细胞膜上蛋白质构象的方法。由于电子显微镜样品要脱水，人们设法用高压电镜表现观察样品含水样品。图像增强技术也可用来观察活细胞的亚显微结构。用流式细胞光度术可以不必分离细胞组合而得到其十多种物理、化学参数。

并光谱、波谱技术与显微技术结合起来，可以在活细胞内大分子的结构和功能。平均场显微光度计、变光显微镜等，进而又有共聚焦显微镜、圆二色显微镜、核磁共振显微镜。正在发展的 ESR 显微镜可以检测自由基在体内的分布，有助于了解各种原因致病的机制。再与时间分辨技术结合，就形成了一个活细胞内分子动力学研究的各种显微荧光技术，如 FRAP、原生电池、发光相关光谱等。

生物体的多层次结构不是静止不变，而是不断地运动着，生物大分子的整体在局部结构的运动状态与其活性和功能密切相关。因此要建立动力学研究手段，提高光谱、波谱技术的时间分辨能力，发展动态光谱技术，研究生物大分子、分子聚集体、细胞器和细胞的动态行

生物物理仪器技术的发展动向

为和相互作用过程。

涉及到范围的红外光谱、激光破碎等技术已应用于研究生物体内相互作用和较缓慢变化的过程。利用从紫外到可见范围的初步辐射，对某些生物体内的活细胞进行了显微光学研究和脉冲拉曼光谱研究。

由时间分辨率光谱技术，可通过荧光强度、振幅和发光光谱的时间变化来研究生物大分子的光响应过程、构象的力学、活性部位的环境等。再与显微结合，可研究光敏细胞表面及膜上分子力学。

毫秒(10^{-3} 秒)光谱技术已大量用于研究光合作用以及褪色素及类胡萝卜素如光化学事件、研究血红蛋白、DNA 的能量转换及运动等等。毫秒时间分辨率的光谱技术测量颜色分子的转动光谱，可用于研究血红蛋白及卟啉。时间尺度从皮秒到飞秒，即从 10^{-12} 到 10^{-15} 秒的高时间分辨率的方法，刚开始用于生物系统。

采用同步辐射 X 射线源及位置灵敏探测器，可使 X 射线衍射技术得到亚毫秒甚至更快的时问分辨率，时间分辨 X 射线衍射技术可以记录 DNA 由 D 向 B 结构转变的过程。进入九十年代，这一趋势将续发展，使分子生物学面临更加迅速发展的新机遇。

用高能单能脉冲源信号观察生物系统的响应，可以研究瞬态自由基的形成和衰变过程，响应时间 <100 味纳秒。结合 ESR 是该技术，期望有可能检测由电离辐射引起的自由基，以至三重态分子的空间分布及其随时间的变化，以进一步在细胞及亚细胞水平阐明辐射损伤的机理。

快速光谱技术的发展主要有三个方向。一是产生超短脉冲，以提高时间分辨率；二是扩宽激光的频率范围，增加光谱种类；三是将时间分辨与空间分辨相结合，对活细胞进行时空动态分析。

用高能单能脉冲源信号观察生物系统的响应，可以研究瞬态自由基的形成和衰变过程，响应时间 <100 味纳秒。结合 ESR 是该技术，期望有可能检测由电离辐射引起的自由基，以至三重态分子的空间分布及其随时间的变化，以进一步在细胞及亚细胞水平阐明辐射损伤的机理。

分子生物物理是 80 年代发展迅速、成就突出的一个学科领域，它的一些主要成就已变成在分子水平上更深入阐明生命本质以及了解一些重要生命现象分子机理的关键，并与新一代生物技术(如蛋白质工程)的开拓与发展密切相关。近年来，以三维水平的生物大分子结构及其与功能的关系为中心，对这一研究领域的兴趣已迅速扩展到分子生物学家、免疫学家、药物学家、合成化学家、理论化学家以及蛋白质工程学家等各方面。进入九十年代，这一趋势将续发展，使分子生物学面临更加迅速发展的新机遇。本文主要对这一分支学科的几个重要前沿领域作一简要回顾与展望。

生物大分子的晶体结构、蛋白质晶体学

迄今，生物大分子完整而精确的三维结构信息的主要来源仍然是以 X 射线分析的技术为中心的晶体结构分析。截至 1988 年 10 月的统计，原子坐标已经存入国际蛋白质数据库的分子总数是 459，包括蛋白质 416，核糖 33(tRNA 8, DNA 25)，多聚 10。在蛋白质中，属于序列上不同类的大约是 100 多种，其中，大约 100 多种是 1988 年存入的。此外，已经预告 1988 年将有 170 种坐标进入数据库。这清楚显示，蛋白质晶体结构分析正在成为与蛋白质研究有关领域的重要常规方法，蛋白质晶体学对其它领域的影响和作用正逐步扩大。

近年来，这一领域有一系列影响重大的研究成果。包括：(1)第一个膜蛋白(紫菌光合反应中心)的三维结构被测定，细胞光合作用光反应的分子机理得以阐明。(2)第一个动物感染病毒(人感冒病毒)以及 AIDS 病毒蛋白的三维结构被测定，病毒感染的结构基础得到了解，对感冒病毒的疫苗设计提供了希望。(3)第一个抗体-抗原复合物(猪胰岛素-A 抗体的三维结构得到测定，导致人新抗体设计获得成功，同时首次测定人白细胞抗原 HLA-A2 的结构，使细胞调节的免疫反应的分子基础得到阐明。这两方面构成了对免疫反应结构机制的深刻了解，具有重要的医学应用前景。(4)首次测定 tRNA-Gln 合成酶+tRNA-Gln(ATP)复合物的结构，奠定了理解 tRNA 合成酶与 tRNA 专一性识别的结构基础。(5)测定了一系列转录调控蛋白及其与 DNA 复合物的结构，揭示 DNA-蛋白质识别和相互作用的结构机理。

目前，蛋白质晶体学中几乎每一个技术方面都在迅速发展。特别是，同步辐射的光谱的运用给“Laue 照像”技术带来生机，使其可能发展成为崭新的衍射数据收集新技术。可在 10^{-8} ~ 10^{-10} 秒完成数据收集。这将从根本上改变蛋白质晶体学的面貌，真正获得蛋白质分子的瞬时和动态图景。

生物大分子的晶体结构、二维精调共振

过去十年，二维 NMR 快速发展。目前，它是测定蛋白质晶体结构的唯一方法。对分子量小于 2 万的较小蛋白质分子，其方法和技术都已发展得较为成熟，但对中等大小的分子仍有一系列技术困难有待解决。迄今，已有 20 多个不同的球蛋白结构被 2D-NMR 方法测定，其总含残基数在 33~1198，已测定结构的最大分子量为 1 万 2 千，这些结构中，大约一半目前还没有相应的晶体结构。另有 20 多个不同的多肽分子的 NMR 结构也被测定。

分子生物物理研究的一些前沿领域

王大成
(中国科学院生物物理研究所，北京 100080)

它们常在溶液中含有肌醇以诱导结构形成。

在目前报道的NMR结果中，最好的精度（结构簇中平均的主链 rms偏差）是0.9 Å。相当数量的NMR结构与晶体结构比较表明，二者是非常相似的，显示NMR作为小蛋白质结构测定方法的正确性。但至少有三个蛋白质，已报道其NMR结构与晶体结构有重要差别，表明NMR并非X射线分析的附属品，而是一完全独立的结构测定方法。NMR分析有可能产生不正确的局部结构，至少已有一例报道，是值得认真重视的。

最近，已有将二维分析扩展到三维NMR以提高分辨率的报道。将同核和异核三维NMR分析用于同位素标记的蛋白质样品，可测定分子量为27.5 kD的蛋白质结构。运用同位素标记小配体与大量蛋白质相结合，NMR分析很可能测定大于3万分子量的蛋白质结构。二维NMR不仅是结构测定的有力工具，而且有更广泛的用途。它可以在10秒~几千秒的时间范围，提供蛋白质的动力学参数，从而使研究溶液中蛋白质的运动性及功能意义成为可能。同时，二维NMR方法与其它技术的结合，使其正在发展成为研究蛋白质折叠分子机理的有力手段。

核酸与蛋白质的专一辨认和相互作用

一般说来，对蛋白质生物合成的了解，在生化水平已相当清楚。但是，对基因调控的空间序列和遗传密码翻译过程中分子机制的详细阐明，必须涉及其生物学过程，其中心是核酸（包括DNA和RNA）与蛋白质的专一辨认和相互作用。近年来这方面研究已取得重要进展。

目前，至少已有7个DNA结合蛋白和5个这类蛋白与其作用DNA（操纵基因片段）复合物的三维结构得到测定。精确的空间结构图象揭示，与DNA结合的蛋白质的基本模式是“螺旋—转折—螺旋”(helix-turn-helix motif)。DNA-蛋白质辨认主要归因于蛋白质的辨认螺旋的氨基酸残基与暴露在DNA主链中辨认位置的功能基团间的专一性相互作用，包含相互依赖的氢键、范氏作用、离子相互作用。没有发现简单的辨认密码。更广泛的研究发现还有其它两种与DNA结合的蛋白质模式：锌指(Zinc-finger)模式和亮氨酸拉链(Leucine zipper)模式。

遗传密码翻译如果需要字母，它就存在于tRNA合成酶与同类tRNA的专一性辨认中，这一辨认机理有时被称“第二遗传密码”。最近，Yale大学的一个研究组首次测定了tRNA-Gln合成酶与tRNA-Gln和ATP复合物的晶体结构。精确定地显示出分子与tRNA分子间结合和作用的详细图景，使人们首次清晰地直接“看到”遗传密码翻译中的关键一步。这为“第二遗传密码”的解译奠定了坚实的基调，是这一领域的一个里程碑。

最近，已经对核蛋白的三维结构发起了攻击。核蛋白由两个大小不等的亚基组成，它们由于蛋白质生物合成的启动而结合，又因这一过程的终止而解离。核蛋白简称为蛋白体分子量为230万，含46个蛋白质和3条RNA链，这是目前核X射线分析研究的最复杂体系。已经成功地获得活性核蛋白体的单晶体，并初步报道了低分辨率结构解析的结果，深入的研究正在进行中。

上述三方面研究构成关于基因转录、调控和翻译的分子机构和分子机理的完整图景，未来十年的迅速推进必将使我们对这一系列重要问题的认识达到一个崭新的高度。

遗传信息的第二次翻译：蛋白质折叠

一个基因编码一个功能蛋白。目前，从编码基因的核苷酸序列翻译成多肽链的氨基酸序列的过程已相当清楚。但是，这样形成的肽链多肽链的一端信息如何进一步翻译成具有三维特征的天然结构，还相当不清楚。这涉及一级结构与高级结构的关系，是近年来引起越来越多重视的新的话题，常称之为蛋白质折叠问题。蛋白质折叠研究实际涉及两个方面：体内新生肽链的折叠和体外变性蛋白的重新折叠。前者由于方法和技术上的困难，目前所知很少，当然我们关于蛋白质折叠的知识大多来自后一方面。

蛋白质折叠既受热力学的制约，又受动力学驱动和控制，这是目前多数人接受的观点。利用各种方法寻求折叠的中间体并确定其特征以了解折叠的机理和途径，这是目前研究的热点。对于新生肽链的折叠，已有边合成边折叠、先合后折叠、先折叠后调整等模型提出。对天然和变性蛋白的分析指出，折叠的最早阶段是成簇，簇的类型与最终的结构类型相关，折叠的基本单位是折叠，折叠是特位相关的等。近年来关于折叠是如何开始的实验研究已有一些重要的发现，并由此提出了关于折叠途径的模型。

蛋白质工程与反向生物学

蛋白质工程是本世纪80年代初诞生的一个新兴科学领域，其主要内容是通过有控制的基因修饰或基因合成，对现有蛋白质加以定向改造，设计、构建并最终生产性能比自然界存在的蛋白质更加优良、更加适合人类社会需要的蛋白质新品种。蛋白质工程是一边缘性很强的领域，它的产生和发展与分子水平的结构生物学密切相关，也是当前分子生物学研究的重要前沿。作为新一代遗传工程，作为一种新型的强大研究手段，蛋白质工程不仅对于生物新技术新领域的开拓与发展，而且对于一些基本生物学问题的深入了解和最终阐明，都具有重要意义。

蛋白质工程研究尚处于初期的基礎阶段，一些重要的技术、方法、理论都有待确立。目前，基因定位突变已发展成常规的技术方法，大量突变体蛋白研究并在各有关研究中发挥越来越大的作用。分子剪接已成为改造蛋白质分子的有效途径，并在新型机体的构造等研究中得到实际应用。位置专一地将非天然氨基酸导入蛋白质的新方法也已出现。在应用上， β -干扰素、白细胞介素-2、粘草杆菌蛋白酶、木瓜蛋白酶等的改造，均已获得有其价值的结果。

蛋白质工程面临的最大挑战也是振奋人心的目标，是创造自然界中不存在的优良蛋白质，这就必须进行从预定功能→期望结构→目标基因的研究，从而推动反向生物学的兴起和发展。目前一些简单蛋白质的从头设计和合成，包括 α 螺旋、 β 折叠等结构、纤维蛋白、胰岛素等，都已获得不同程度的成功。特别是DuPont公司一个小组设计和构建成功一因螺旋黄嘌呤，其稳定性比天然结构还高。以此为标志，在这一方向上已跨过了第一个里程碑。目前，在设计的蛋白质中引入活性的研究也在进行。这一方向的深入发展，必将成为未来生物学和新一代生物技术的开拓产生深刻影响。回顾近年，分子生物物理学成绩显著，展望今后，这一领域面临崭新的发展机遇。

在这里挑战与机会并存，艰辛与硕果同在，正期待着在科学道路上不懈攀登的人们。

辐射生物物理若干问题

的研究概况

郑秀龙

(第二军医大学放射医学研究所 上海)

辐射等环境因素对生物组织的损伤及其防护方法,是当今受到普遍关注的探讨生命科学的一大课题之一,其中分子机制是辐射生物学的基础。尽管国内外有关辐射生物学的研究作了大量的工作,但是到目前为止,许多有关辐射生物学的问题,还未获得解决。根据现代生物学的观点,机体的各种生理功能,均与构成生物体的DNA大分子结构有关。因此,只有从细胞分子水平上阐明机体各种功能能受辐射损伤而引起的生物效应,才能揭示其本质与辐射性。

近二十多年来,辐射生物学研究的发展更为迅速广泛,因原子簇射,现仅就下述几个问题概要的介绍:

一、生物分子的辐射早期损伤及其与辐射剂相互作用的分子机制

近年来由于多种断端的快速测定期技术的发展,可用以从不同角度(紫外线吸收)和不同时域(微秒到毫秒)研究辐射生物大分子产生的各种瞬态活性中间粒子的微观性质及其变化过程,如产生各种复杂的离子、激发态及其转变成自由基的反应。目前已能用毫微秒毫秒光谱的激光光脉冲毫秒光谱,毫微秒光脉冲电子能谱及毫微秒毫秒光脉冲电子加速器等检测手段来研究生物分子自由基等瞬态产物和变化过程以及其与辐射防护剂和增敏剂相互作用机制包括清除叶啉体有害自由基的动态反应过程,这就使研究生物分子的辐射损伤机制有了这几个新量级,解除了辐射的原始损伤机制和修正了一些旧有的观点,突出的例子是已将认为辐射与化学致癌机理不同,1963年采用快速混合技术与脉冲辐射技术研究发现两者均能使机体产生自由基损伤DNA分子而致癌。又如60年代就发现NEM是辐射增敏剂,但一直认为其增敏机制是NEM与体内的辐射剂-SH基结合而降低了内源-SH基而增敏的,但后来用脉冲辐射技术显示它的增敏作用是通过电子转移至NEM的氧化机制,而NEM与体内-SH基结合的时间远大于它起增敏作用的时间。

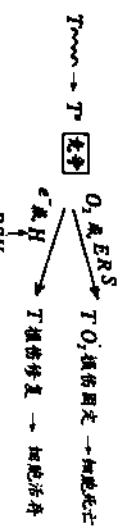
随着各种时间分辨率技术的发展,现已认识到生物体内包括活性氧在内的内源自由基以及辐射诱发的各种外源自由基,对细胞、组织的损伤可导致各种生物功能障碍和病害(如白内障、癌症等)。但是其增敏机制还不清楚,因此研究辐射诱发生物体内产生的自由基有害物质时DNA生物大分子损伤的分子机制及辐射方法、辐射剂量率和辐射剂的瞬态性质广泛的微观结构及其动态变化过程和能量与电荷的转移;研究和阐明DNA生物大分子与上述生物体相互作用的微观过程和作用机制以及分离和鉴定这些最终稳定的分解产物,对进一步阐明生物大分子辐射损伤及其与辐射剂相互作用的分子机制和辐射方法有着重要的意义。研究和探测辐射产生的各种离子、激发态和自由基在生物体内的时间和空间上的动态过程和反应活性等,已成为生命科学前沿的重要研究内容。

二、机体内部基因的竞争作用

人们早已发现底分子、细胞或组织水平上,辐射效应随周围环境中氯浓度的增加而增加,这说明存在某种效应,它在电离辐射引起DNA等生物大分子和细胞损伤过程中起着极重要的作用。

用临床治疗中已发现它能直接影响到肿瘤乏氧细胞的敏感性,乏氧细胞对射线的敏感性受影响治疗效果的重要因素之一,因此,致敏的研究受到人们的重视。

子在50年代Alexander等已提出氯致应激机制的竞争模型。真是深浅的增敏剂,它通过在辐射中产生的高活性分子自由基而使靶分子自由基氧化损伤固定下来,不易修复而导致细胞死亡。而在乏氧条件下,靶分子自由基可被缺氧电子提供氢原子的还原作用,使辐射产生的自由基熄灭,以达到修复或保护作用。这两个过程可由下列简式表示:



T: 原分子 RSH: 含巯基化合物 ERS: 亲电子增敏剂

同样在乏氧下辐射,若有ERS存在可代替氯而使靶分子自由基损伤固定下来,与巯基的保护作用相竞争,亦可用上述竞争模型来解释。

目前文献中作用的实验证据较多,下举一例以示说明。DNA的主要成分胸腺嘧啶(T)在去氯化铯溶液中,避免了有氯化铯(ClO₄)抑制抑制时,GSF对辐射产生的胸腺嘧啶二聚(TG)形成的影响如下表。由表内(2)可见当溶液中加入GSF时,它与水解酶产生的OH及

臭氧(T)在去氯化铯溶液中受辐射(GSF+MISO时TG形成的G值变化

加入物	[加入物]/[T]	G(TG)
无 (1)		0.10
GSH (2)	1.0	0.00
MISO (3)	1.0	0.43
GSF+MISO (4)	1.0	0.22

减少了TG的形成,已形成的TG还可被其供氢或供电子转移而修复,故不形成TG,GSF为单。当加入MISO时,所形成的TG的电子供体与OH反应回形成TG,产率增加,G值亦增加(3)。当同时加入GSF与MISO时(4),TG的产率介于(2)与(3)之间,说明两者作用同的相互竞争。其反应速率极快,凡有T/GS的半衰期的反应时间,单用解离速率解释,只能应用快速混合技术或脉冲辐射技术才能测得。

现在人们根据竞争原理,从减少细胞内GSF水平以提高乏氧细胞的增敏作用出发,应用

DEM等疏基类药物或GSF合成剂制BSO,均可增强辐射对肿瘤乏氧细胞的杀灭作用;相

反增加细胞内GSF量则可提高细胞对辐射的防护作用。

三、DNA辐射损伤修复及其修复机制的研究

越来越多的研究结果表明:DNA辐射损伤与修复的研究不仅对放射生物学具有重要的基

对医学意义、且对指导抗肿瘤发生的辐射损伤和肿瘤治疗中提高疗效均有实用价值。此外最近发现DNA 损伤修复与皮肤癌、衰老及遗传等多种疾病密切相关，已逐渐成为临床各科诊治基础，并应用于环境、农药中毒等学科研究中，历次国际辐射研究学术会议中此类论文约占 1/3 多，美国橡树岭等四大国家实验室也转向此领域，国内外不少研究室所每克 DNA 分子水平上作了很多工作并逐渐联合起来对生物学进行研究。现在已从 DNA 大分子辐射损伤的研究深入到单个基因的损伤及其与功能间的关系。美国 LCN-TENZI 实验室已采用不同电荷和能量的重金属离子如⁶⁰Fe 粒射真核细胞后，已能测出估算出：当辐射诱发 DNA 的 2 个 dSb 发生在 80 基以内时，可促使细胞转化；而当发生在 20 基以内时，则可导致细胞死亡。并进一步用限制性内切酶试验证实了两种 dSb 辐射末端不同，均由基因原损伤所致。

DNA 损伤后的修复重点在研究修复机制中修复酶的作用，至今已发现 15 种不同的修复酶，并已有实验证明了受损细胞 DNA 损伤后的主要由 DNA 聚合酶 I 和非 DNA 聚合酶 II，还证实了某些增效剂和 CEM 是通过抑制 DNA 损伤而增强了辐射对癌细胞的杀伤作用。

最近深入采用基因重组法探索使用正常基因修复辐射 DNA UV 辐射后修复基因有独特的修复，即用 HeLa S3 细胞的正常基因特异表达 DNA UV 辐射后的修复过程中主要由 DNA 聚合酶 I 和非 DNA 聚合酶 II 参与，还证实了某些增效剂和 CEM 是通过抑制 DNA 损伤而增强了辐射对癌细胞的杀伤作用。

上述研究不仅能从分子或亚分子水平提出辐射对生物体损伤作用及其与修复剂相互作用机制的新规律或新观点，而且为控制某些疾病的的发生和发展提供可行的方法。

本文部分内容由上海医大联合实验室李其基、张加山及金一平等教授提供，特此感谢。

发光法测量活性氧和抗氧化剂

胡天喜

(华东师大大学生物系)

活性氧是指由真的单电子还原和脂质过氧化所形成，性质活泼的一些分子的总称，主要有两种含氧的自由基，即羟自由基(OH[·])和超氧化阴离子(O₂^{·-})，其次为两种过氧化氢，即过氧化氢(H₂O₂)和过氧化丙酮(ROOH)。研究表明，活性氧与机体的许多功能，诸如吞噬作用、细胞分裂、消灭、解毒、免疫、炎症保护相关，从而涉及辐射损伤、细胞衰老、心血管病变、免疫失调等疾病，可以说它是机体病变的早期的物理化学过程的产物，对于疾病的早期防治有特殊的意义，所以深受人们的重视。当今已出现了一门发展迅速、格外受人们关注的新学科——自由基生物学与医学。

机体在代谢过程中不断地产生活性氧，适量的活性氧是维持机体的正常生命活动所必需的，过量了就会导致病变。与活性氧产生的同时，机体中也不断地合成抗氧化物质，称为抗氧化剂和自由基的清除剂，它们能清除活性氧的能量，清除自由基，机体正常的氧化和抗氧化是矛盾对立的统一，往往处于平衡状态，一旦平衡失调，就会导致病变。

研究活性氧，自由基的常用方法是微弱光谱、光谱学、光化学法及化学分析法，这些方法有的简单，有的灵敏度差，分析的手续麻烦，应用上受到了某些限制，近年来发展出化学发光的方法，它有灵敏、快速、简便、价廉等优点，颇受人们重视，本文简述了这一方法的进展。

一、体外化学反应产生的活性氧和自由基

产生 O₂^{·-}、OH[·]、O₃、H₂O₂ 的化学反应体系多种多样，有酶促反应和非酶促的反应，有产生 O₂^{·-} 的体系：

① 产生 O₂^{·-} 的反应：① 活性条件下 H₂O₂ 的氧化，② 光照光敏剂（例如血卟啉）。

活性氧、自由基相互反应，在释放能量的过程中会产生化学发光。

有发光法时，活性氧的能量可以转移给发光素，使发光素发光，增强化学发光的强度。

已有不少报导指出，某些药物可以掠夺自由基的能量，清除自由基。例如超氧化歧化酶，清除 O₂^{·-}，从而降低化学发光的强度。反之，以化学发光的强度为指标，可以了解药物的抗氧化和清除自由基的能力。我国科学工作者，已用这些发光体系筛选出一批抗氧化性能优良的药物，包括中草药。

二、生物体内的活性氧、自由基及自由基的清除剂

组织体、微粒体、细胞膜、细胞等的生物膜，如有脂蛋白双层结构，内含多聚不饱和脂肪酸，肝、肺、脾、肾、心等器官组织内膜也富含脂质，存在多聚不饱和脂肪酸。体液，尤其是血清和血浆，也存在不饱和脂肪酸，其与多聚不饱和脂肪酸反应可以形成脂质过氧化物(Lipid peroxide, ROOH)，其中最主要的是过氧化物和内过氧化物，脂质过氧化是个链锁的反应过程，一旦启动就很快地扩大。过渡金属离子如亚铁离子，脂质过氧化物加速其

反应，反应产物中往往出现 O_2 ，单线态氧很不稳定，易被还原性物质为三线态氧，伴随着产生超氧发生。 O_2 单分子回到 O_2 时，产生1269nm的红外光。 O_2 双分子反应时产生634nm和703nm的红光。 O_2 分子与双键相关作用，生成1,2-二氯丁烷(dioxetane)，它分解时产生激发态的簇基，簇基的簇基回到基态时产生380~460nm的蓝紫光。超灵敏的光子计数器可以测到这种超弱光。植物、药品、器官或再灌流所致的组织与浆的发光的变化，可以代表机体的脂质过氧化，与常规的脂质过氧化的TBG法相比，发光测量法具有灵敏、方法简便、此量的简单等优点，是很有应用前景的一项指标。

2. 细胞的化学发光

(1) 呼吸细胞 血液中的嗜中性白细胞和单核细胞，肺泡和腹膜巨噬细胞，在受到血清因子刺激时如胆、酵母多糖、免疫复合物的刺激时， δ -半胱氨酸脱羧酶、NADPH氧化还原酶、组织氧化酶等，用氯化亚铁或氯化亚铜时，能生成 $\cdot O_2$ ，形成各具自由基和活性氧。有学者说，光量子学在无光时，会产生较强的化学发光现象，测量化学发光的强度，半衰期，峰值发光强度，可以间接地了解机体的细胞和体液的免疫功能。

(2) 其它细胞 天然杀伤细胞(NK细胞)杀灭肿瘤细胞，巨噬细胞，淋巴细胞转化过程中，也涉及到自由基和活性氧，有学者说时，同样也伴随着化学发光。

(3) 抗氧化剂和自由基清除剂 细胞化学发光现象是个产生自由基和活性氧的过程，所可用自由基的清除剂如SOD、CAT、GST-PX、甘露醇、 β -胡萝卜素、维生素E等来测定各类自由基的存在和能量转换过程，消除了自由基，化学发光也就减弱，某些药物若抗氧化，消除自由基的作用，可以扶正机体的免疫功能，起着防病和治病的作用。

3. 肌官的缺血再灌流

缺血、心、肺、肝、肠缺血时黄嘌呤脱氢酶转变为黄嘌呤氧化酶，三磷酸腺苷降解为次黄嘌呤、黄嘌呤，为产生自由基创造了条件，再灌流恢复供血时，真分子大量进入组织，很容易产生 O_2^- 进而产生其它自由基和活性氧。此过程中组织中的SOD也发生激烈地变化，所以用黄嘌呤氧化酶一昔来测定发光体系和萤火虫发光素发光体系很容易测到缺血再灌流过程中 O_2^- 、SOD及ATP的变化。SOD、阿司匹林、维生素E、山莨菪碱等药物有抑制黄嘌呤酶的转化和清除自由基产生的作用，使用药物后，发光指标会出现相应的变化。

缺血再灌流过程中，自由基所启动的脂质过氧化加剧，离体器官的缺血重灌流是研究自由基和自由基清除剂的一个很好的模型。化学发光法研究活性氧和抗氧化剂选择上述所述，这里不再详述。首先仪器最好带光源测定量装置，以便将线上分析自由基和活性氧的性质和类型，为抗氧化剂的性质和含量。

理论生物物理若干问题与现状

王宜榆

(中国科学院生物物理研究所，北京)

理论生物物理不同于理论生物学及数学生物学，更不是计算机的应用。如果把生物物理视为是以生命物质及其活动规律作为研究对象的物理学，从这个观点看，在我国三十年前早有理论生物物理似乎不很踏实，这是因为当时的实验数据手段使得确定定量地困难，只有实验数据限制到一定程度，才有理论的需求，当实验数据迫切了。然而我们仍受到严重限制。首先，生命物质是极不均匀的物质，反映在分子、细胞及组织的层次上是由多底的物质组成。其次，这些多底的物质在空间的分布是模糊的无序和准无序的。这些使理论应用已有物理理论研究遇上很大困难。

我们不能避免开这些困难，否则就不能取得进展，因此理论生物物理应结合现代生物学关心的主要问题发展，主要研究课题应是：

结构(分子、等…)-性能，动力学-功能

结构性能与动力学的研究，都应服务于功能的解释，根据作者的工作背景与科学兴趣，对下述若干问题提出看法：

一、生物高分子

文献上常有运用晶格力学研究DNA的运动模式，所用DNA式分子大都是均聚物或共聚物，利用双螺旋对称性，作为复杂的非均匀聚合物的DNA的动力学研究的开始，是可行的道路。Suzuki等研究溶液内DNA螺旋部分的长程相互作用，它是确定DNA纵向运动的主要因子，特别是对DNA螺旋部分的螺旋部分，他们考虑溶液内的DNA链末端与正离子所束缚，水壳内反离子浓度约为5M，足以中和DNA的电荷密度，由于DNA的原子的局部电荷，故存在长程排斥相互作用，故引入横向电场，而DNA的运动方程还要考虑水壳内有与DNA相反电荷的群团，理论计算结果和纵向速度的实验值(2 $\times 10^{-5}$)很好一致。此外，理论还预测一些高等单元(plasmid)爆发，类似于高维带电系统的是plasmid。

应用基于经验函数的分子动力学方法于DNA研究也是有意义的，特别是DNA与小蛋白的相互作用，这方面的工作仍很少见。

最近RNA 动力学研究有很大进展，实验发现真核基因内，编码的序列(外显子)常被非编码的内含子所阻断，这种基因转录后产生前体RNA，再经特异的剪接—连接反应产生功能的RNA。前体RNA 在体内能在没有蛋白质存在的情况下自连，说明分子内催化，这时RNA 的折

进结构在其自身的另一部分参与反应，催化RNA的发现有巨大的意义，它可能发现某些催化的新原理（对RNA酶或“聚所有的酶”，其次回答了生命起源中先有核酸还是先有蛋白质的问题）。

为设计改造RNA酶，RNA工程学已被提出，其分子设计的理论基础RNA结构预测亦正进行，二级结构预测是朝向三维结构的第一步，RNA有许多二级结构的motifs，包括短螺旋、GU配对、未配对的末端核苷酸、末端精配及loop等。计算这些成份的总的自由能，使其最小，得预测二级结构，精确度70%，三维结构预测法正研究。

有些蛋白质的反应中心是相对小的无色团单元，嵌在蛋白质材料内的，类似于凝聚颗粒，即像有带氨基或基团的杂质。虽然已有许多高分子半胱氨酸晶体结构已知，人们也深爱蛋白质运动是功能所不可缺的，但究竟蛋白质运动怎样贡献功能？困难在于缺乏结构动力学这样关联到反应的尝试，必须在动态结构模型与结合配体的参数之间建立关系，这是蛋白质动力学研究的目的，这方面最近有推好的成就。

实验发现，肌红蛋白(Mb)在低温时围绕某个确定的平均三级结构，被冰冻到大数目的构象子态中的一个上，一个蛋白的构象子态有同样的总体结构，执行同样的功能，差别在于结构扭曲和功能执行的速率，即蛋白的构象子态有较小的子态，对外发生四层 α -螺旋 $\alpha_1^*, \alpha_2^*, \alpha_3^*, \alpha_4^*$ ， β 层只出现于 α_1^*, α_2^* ，其中的运动是运动的而其它三层是非运动的。同时并没有蛋白质力学与构象子态的基本理论，Eliel & Karpus用分子动力学法在MB上计算发现构象子态存在的证据，另一途径是采用凝聚物物理学观点，认为这类冰冻现象类似于玻璃与自旋玻璃，多种介稳态的存在是这些系统的普遍特征，Stein已形成构象子态的模型分子的簇集模型论，定性预测一致于实验观察。

球状蛋白质折叠是分子生物学的中心问题，折叠是遗传信息翻译为蛋白的最终阶段，完全理解蛋白质折叠导致从一级序列预测三维结构，因而在生物工程中有重要应用，这也是实验与理论目前亟然研究的问题。

接近生理条件，较小蛋白显示“全或无”行为，不连续地从未折叠相到折叠相，较大蛋白的侧链子此现象的原因引出了存在domain结构，远高于生理条件下存在较复杂的“错折叠”相，多指微力学模型推论为存在“中间体”。

由于无序系统热力学的发展，折叠也成为自旋玻璃统计力学强热研究的向题，Byngelsson等首先考虑每个氨基酸可以表示成10个状态，即若肽链除了最近邻残基间的相互作用外，存在长程相互作用如疏水力，它使得链内区造成二个氨基酸接在一起，作者采用随机能梯度计算其热力学行为，发现相图内折叠区，未折叠区以及错折叠区，错折叠可能关系到蛋白的不可逆性。Garel等把折叠问题联系于多态Potts自旋玻璃，计算结果表明始链不折叠，中等链段自旋玻璃或转变折叠，长链按Hoffmann式转变折叠。

很多酶反应体系于通过蛋白分子能量的释放，存储与输出，ATP结合在蛋白特定位置与水反应释放 8.4 kJ/mol 能量，一个假说是能量在蛋白转移或驱动激发，即所谓“振动(havington型)生理性相作用的能级转换的量子理论”，此后Sjöhl, Takano, Vicens对此理论作了发展，然

而最近Olson等完全用蛋白的经验势函数写出的运动方程研究，结果表明没有哪个方向传播的证据。

二、生物膜方面

从生物物理讨论至少有二个主要问题，膜可视为二维多层份液体，在细胞或细胞存在的蛋白膜内可看到相变和相分离，膜的输送及膜上的酶的活性皆受相变所影响，因此，膜相变是理论与实验的重要问题，目前，脂双层及含蛋白质的双层膜均有相变理论研究，另一主要问题是离子跨膜运输或离子通道问题，脂双层是电绝缘体，对小一离子通过有不可渗透的壁垒，离子通道为离子跨膜提供低能的路径，目前膜输理论主要有Membrane-Punk理论与Fyring的速率理论，以及分子动力学计算，新的理论形式例如布朗动力学亦在发展中。

三、神经网络

人的大脑感知能力如何记录记忆，识别、学习，归纳推理是怎样完成的？它们的物理基础是什么？神经生物学实验只能测到神经元的电化学活动，我们能从大量神经元的这类活动说明新的感知能力或者吗？神经网络研究、大脑工作原理，显然这是理论生物物理另一重要领域，Hopfield采用神经元的兴趣或抑制，它们的前后来的连接，神经生物学者同意的分类记忆方式及Hebb学习律等，构造的神经网络理论显示出很好的模拟记忆，模式识别，误差校正，编码等能力，并完全能用电器及光学器件实现，从而在50年代中期掀起神经网络研究高潮，Hopfield网络物理意义鲜明，可视为多粒子系统动力学，每个被标记的模式是动力系统的吸引子或叫场的能量局部微小值，如考虑突触的耗散速度的随时间的稳定性，网路又化为聚类生物学中自旋玻璃问题，神经网络的学习，也为统计力学的宏观研究提供一个例子。

目前要取更多的生物学事实，正如Hopfield理论作一系列深入研究与发展，学习与记忆随时间变化的信息，“注意”机理的体现，推理预测能力等新的智能均在研究与考虑。神经网络研究对新一代计算机设计和智能机器人发展有很大意义。值得注意的是最近像立体视觉与运动预测等这些视觉信息加工问题，用统计物理方法研究都取得好结果。

简短结束语：理论生物物理仍处于发展的婴幼儿时期，其发展密切关连到凝聚态物理学的发展，某些研究问题的解决对生物工程和信息科学有巨大实用意义。

Z-11

学习与记忆是人类取得与存储知识的重要智能活动。正电子断层扫描(PET)的实验证明，大脑海马是学习与记忆的关键部位。海马的神经元网络比大脑其他部位神经网络简单，神经元的种类较少，而且规则的大鼠海马(Hippocampus)模型，具有数十年丰富的研究历史，是研究生物神经网络的代表进行重点研究是适宜的。海马神经元树突上的突触，其规则的功能组合排列。在CA3区主干树突的基部，有许多来自齿状回的齿状纤维突触簇，每一突触簇可具有十多个突触。其神经递质为谷氨酰胺，是兴奋性的突触，由于突触后膜含有电压与化学敏感的NMDA受体，可以对不同来源的输入信息加以整合，出现长程增强效应，使突触的连接增强并能维持较长时间，这可能是记忆的物质基础。齿状纤维突触簇只限于海马和小脑，是一种特殊的结构，我们认为很可能是神经信息的载体以备将来标记(海马)和技巧记忆(小脑)。

神经计算机与生物神经网络

中日友好临床医学研究所生物物理研究室

陈推国

应用信息科学、计算机科学等最新的科学理论、方法和技术，以阐明大脑的高级功能和工作原理，正受到极大的重视。神经网络信息存储与加工机理的研究，是生命科学前沿中最重要的研究领域。但目前有关脑的信息编码与提取的过程几乎一无所知。我们认为攻克大脑“思维之谜”的关键是弄清大脑信息存储载体和大脑信息编码方式这两个最基本的问题，这可能成为神经元学说与神经离子通道之后，神经科学的新突破口，使脑信息加工的研究建立在客观的定量基础之上。

人工神经网络，亦称神经计算机(Neurocomputer)的飞速发展，给生物神经网络的研究，带来了新的冲击和希望。神经计算机和目前的顺序执行程序指令的 Von Neumann 式计算机不同，它是由大规模的人工神经元以交联互连矩阵组成的网络。由于采用大规模的平行处理机制而具有极高的运算速度，并具有高度的容错性，即使有一部分神经元损坏，也不影响整个神经网络的工作。特别通过学习，可以动态调整神经元突触的连接强度以实现联想记忆和决策推理等高级智能活动。目前神经计算机发展的速度很快，不仅有各种类型的电子神经计算机，而且还有光学神经计算机(Optical Neurocomputer)，以进一步提高运算速度。但是，现在的人工神经网络，只是生物神经网络的十分简化的模型，它仅反映神经元的权重的权值调整与递加以及神经元的阈值性质，还没有从EPSP和IPSP的相互作用、神经递质与各类型突触之间的相互作用、不同离子通道之间的相互作用、神经调质(Neuromodulator)与神经递质之间的相互作用等。至于从分子神经生物学的水平来研究基因与生物神经网络的信息加工与存储的关系问题，更没有涉及。我们认为将人工神经网络研究的新理论、新方法，结合生物神经网络的特点，对脑功能进行深入研究，并加深对人脑智能活动规律性的认识，可望取得新的突破。同时，对人工智能科学的发展以及设计智能度更高的神经计算机，都有重要意义。智能工程学的巨大进展，将大大推进社会生产力的发展。

由于生物神经网络的模型复杂，目前尚缺乏十分有效的研究方法，所以难度很大。因此选择合适的生物神经网络作为研究对象，进行点阵式的组合多端输入与多端输出的记录方法，结合电子计算机的分析技术，对生物神经网络的活动规律，进行深入的分析，并应用电子元件与计算机软件，对真动物神经元进行模拟研究时深入了解生物神经网络的特性和活动规律，具有重大意义。

$S^j = | X_{ik}^{j,i} |$

$j=1, 2, \dots; i=1, 2, \dots; m; k=1, 2, \dots; n.$

$X_{ik}^{j,i}$ 为第 j 个事件第 i 个输入神经元在第 k 步时的分量，可取 0 或 1 值。当 $n=1$ 时，只有空间编码，此时，时空编码即简化为空间编码向量。为了验证在生物神经网络中的编码方式，可以采用海马脑切片或海马神经元定位培养皿成的接触式网络，用点阵式集成电极按一定时空编码进行学习训练，记录其稳定的特征输出。如果对不同编码样本能具有某种分类的特征输出，则可以初步判定生物神经网络输入的编码特征。至于脑内记忆信息编码方式及其表示，可能更为复杂。根据神经计算机信息存储的模式，不同的记忆事件存储在不同突触连接强度的格局之中。Hopfield 提出，根据突触连接强度和神经元的输出与阈值，可计算出其能量函数分布图，不同记忆事件即存储于能量的极小值区域中。提示输入后，即自动进入相应的极小值，从而将记忆内容读出。在生物神经网络中，不可能测得每个突触的连接强度，只能用间接的方法证明在学习过程中，突触连接强度出现变化时，突触小泡的数量增多。也有人证实，在长程增强效应时突触后膜的厚度增加。我们认为，如能找到在长程增强中突触内神经递质浓度增加的证据，则可对突触连接强度增加的情

的基础，进行确切的判定。由于突触连系强度的变化，不仅决定于神经递质与其受体的相互作用，离子通道开放数量的变化和突触后电位幅值的相应改变，同时对神经递质受神经调质的调节作用亦是始以关键的重视。少量神经调质的释放，可以促进神经递质的大量释放，对突触连系强度的变化起放大与调节作用。因此对神经调质的合成、释放与作用的机理，也要进行深入的研究。此外，已经知道转氨基的释放，使细胞内转氨基的数目增多，不仅可以促进神经递质的释放，而且可以引起一系列的生化反应，促进蛋白质合成和一些基因的表达。所以也有可能由于受体基因的表达增强，促使受体合成的数目增加，从而增强突触的连接强度。因此一组多因素的学习记忆机制，从输入刺激时空编码，各神经系统与神经递质的释放，不同神经递质与受体的结合，转氨基通道与兴奋性或抑制性通道的开放，EPSP或IPSP的产生及其相互作用，神经元突触连系强度的变化，转氨基激活的系列生化反应和基因表达强度的变化，受体蛋白合成数量的变化以及整体神经网络格局的變化等，对这一系列的生物物理与生物化学过程，都需要进行深入的研究，才能逐步揭示脑功能活动的机理。在进行系列机制研究的同时，应对所得结果进行归纳，用电子或分子计算机软件模拟真实的生物神经网络的动态过程。我们曾经推导出多个突触后电位的递加方程为：

$$P(t) = \sum (\Lambda(\text{Exp}(-k_1(|-t|_o)) - \text{Exp}(-k_2(|-t|_o)))) R(t_o, L)$$

长程增强效应突触连系强度变化的动力学方程为：

$$dQ/dt = q_1 n_1 n_2 - m Q (1 - Q/Q_m)/t$$

对于神经调质与突触连系强度与神经元输出的关系，可用以下方程描述：

$$Y_j(t) = \frac{1}{2} \left[\sum M_{ij} A_{ij} I(Y_i) p_{ij}(t) + u_j(t) - \beta_j(t) \right]$$

我们还用电子人工神经元对突触后电位递加过程进行了模拟以及用晶体管集成电路模拟长程增强效应中突触连系强度变化的动力学过程，取得了与生物神经网络十分相似的结果。目前生命科学的研究发展趋势正向着最基本的（分子神经生物学）和最复杂的（脑功能活动原理）的两级发展。可以预期，将人工神经网络和生物神经网络结合起来进行综合研究，必能大大推进人脑智能与人工智能学科研究的发展。

（国家自然科学基金资助项目。）

生物流变学进展

王公瑞 吴云鹏
(重庆大学)

摘要 生物流变学是一门新兴的交叉学科。本文概述了近年来国际上在本门学科的重要进展。血流流变学是更为活跃的分支之一，对神经生物流变学、粘液的流变性质、分子水平的生物流变学研究动态作了介绍。

1948 年在第一届国际流变学会议上，A. L. Copley 提出了生物流变学“Bioreology”这一名词。40 多年过去了，生物流变学已发展成为一门完善的交叉学科，成立了有九十个会员国参加的国际生物流变学会并出版了“Bioreology”国际刊物，每三年定期召开国际性的学术会议。直至 1989 年已召开了第七届国际生物流变学会议。

我国的生物流变学是近十多年才发展起来的。1979 年 10 月邓小平视察回国讲学，播下了生物力学和生物流变学的种子，1980 年在中国生物物理学学会下，成立了生物流变学专业委员会，在中国生物医学工程学会和中国力学学会下设了生物力学专业委员会。十多年来我国在血流流变基础理论与临床应用、细胞流变特性、肝血流流变学、生物组织力学、肾及关节力学等各方面都展开了实验与理论研究，形成了一支强大的研究队伍，培养了一批研究人才，在第七届国际生物流变学会上，我国提交论文 17 篇，居第三位，在国际上有一定影响。

在生物流变学的研究中，血流和血管流变学为主题的研究最为广泛，最为深入，与基础医学和临床医学的关系也最为密切，因而形成单独的分支学科“血流流变学”。促进血流流变学发展的动力是临床的需要，尤其是人们试图寻找一种（或一系列）能够预测心脏血管血栓形成发生的血流流变学指标。而血流流变学之所以为临床医学界所重视，又是因为血流的流变性质是血液组成本身生化、物理性质及它们之间的相互作用的一种宏观反映。这种宏观特性，既能由于其宏观统计平均的本质而振然特异，也可能因为它们发生了各组元之间的相互作用而变得愈加灵敏，能反映出原组元分析所不能显示的一些细微的差别。前者使得血流流变学的研究具有普遍的实用意义，后者则使得人们觉得有希望找到一些特征性强的血流流变学指标，而用于某些疾病的诊断。

血流流变学包括三个层次：血流的宏观流变性质；血细胞（红细胞、白细胞及血小板）的流变性质；分子水平（尤其是多种血浆成分）的流变学问题^[1]。

血流宏观流变性质的进展表现在：血流粘度及血浆粘度测量技术已开始应用于临床，对急性心肌梗塞、高血压、糖尿病、动脉粥样硬化、糖尿病等疾病都反映出血流粘度变化。在粘度测量中已重视到规范化问题，国际血液标准化委员会提出了血浆粘度测定的标准化建议^[2]，对采血、抗凝剂、采血后血样的处理、粘度计的性能、测定温度、测定方式及结果的分析等都作了详细的的规定。我国也已开始在讨论规范化的问题。

红细胞流变学是近几年来发展最快的一个领域，红细胞的变形由于与微循环的关系密切而倍受重视。在观察方法、病理生理研究及药物治疗方面都有迅猛的进展。按照国际血液学标准化委员会的建议^[3]，红细胞变形的测定方法可归为两大类，即在较大容积内使红细胞经受剪切的方法（粘度测定法、激光与射线法）及使红细胞通过狭窄通道的方法（灌流法、微吸管法）。上述方法使用的仪器有两种：(1) 在恒定流速下，测定红细胞悬浮液通过滤膜时的压差改变；(2)