

YIXUE SHENGWUWULI XUE

医学生物物理学

林克椿 吴本玠 主 编

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社

Q6

LKC

16/3/22

医学生物物理学

主编 林克椿 吴本玠

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社

(京)新登字147号

图书在版编目(CIP)数据

医学生物物理学/林克椿, 吴本玠主编. —北京: 北京
医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996

ISBN 7-81034-493-5

I. 医… I. ①林… ②吴… II. 人体-生物物理学
IV. Q6

中国版本图书馆CIP数据核字(95)第07413号

北京医科大学 联合出版社出版发行
中国协和医科大学
(100083 北京学院路38号 北京医科大学院内)

责任编辑: 沈淑敏 暴海燕

北京市兴顺印刷厂印刷 新华书店经销

* * *

开本 787×1092 1/16 印张18.75 字数 480千字
1996年6月第1版 1999年1月北京第2次印刷 印数 2001—5000册
定价: 29.40元

前 言

(修订版)

生物物理学是20世纪50年代以后迅速发展起来的、以物理学的思想、理论和方法研究生命现象的一门边缘学科。它的出现不仅推动了整个生命科学向更为精确和定量化的方向发展,而且对于医学的认识以及疾病的诊断、治疗和预防手段的现代化也产生了深刻的影响。医学院校的学生需要学习生物物理学知识和技术的必要性已被逐步认识和接受。

为了满足医学生物物理学教学的需要,我们在北京医科大学廿多年教学的实践基础上,组织了本校生物物理系7位教授和2位副教授共同编写了本书的第一版。我们的主导思想是,既要比较系统地介绍生物物理学本身的理论框架,也要照顾到医学实践的需要,同时又要尽可能避免和其它基础医学学科不必要的重复。另一方面,技术在生物物理学的发展中占有重要地位,为了避免在讲述本学科各章内容时技术原理及方法占去太多时间,我们选择了应用比较广泛的荧光、核磁与顺磁这三种技术单独成章,置于各章之前。

自从1996年第一版由北京医科大学和中国协和医科大学联合出版社正式出版以来,已在北医大各系本科生中应用过三届。学生普遍反映核磁与顺磁共振这二章由于写得过于简练,学习困难较大。因此在这次修订时作了较大的改动。同时对于各章之间的衔接或者明显过时或有错误之处也作了少量改动。尽管如此,修订版必然还会有不尽人意之处,希望同行和读者们批评指正。

林克椿、吴本玠

1998年11月于北京医科大学

绪 论

——生物物理学及其在近代医学中的意义

生物物理学是20世纪中叶以后迅速发展起来的一门由物理学与生物学相互结合而形成的边缘学科。它应用物理学的基本理论、方法与技术研究生命物质的物理性质，生命活动的物理规律，以及物理因素对机体的作用。生物物理学的产生推动了整个生命科学，使其向精确的、定量化的方向发展，对生物学研究的现代化具有重要意义，并影响了医学的各个领域，在逐步深入对疾病的认识和提供近代化的诊断、治疗和预防手段方面正在不断发挥其重要作用。

生物物理学的产生与发展

长期以来，人们习惯于把自然科学划分为各自独立的一些学科，例如物理学、化学和生物学等，这是根据每门学科所研究的自然界中运动形式的特殊性而决定的。物理学研究物质运动的最简单的形式，如物体的位移、形变、振动、光和电磁现象等；化学研究的是原子（及分子）之间的化合与分解，从而形成性质上完全不同的物质的运动；生物学则研究最高级的运动形式，即发生在活体中的各种现象，包括生长、发育、代谢、遗传与疾病等等，而且认为各种运动形式都各有其特殊的规律。但是这种界限在科学技术进一步发展之后却变得逐渐模糊起来。比如化合物的产生是一种化学现象，但物理学的发展证明，化合涉及到原子（和分子）外围电子的运动与相应的力的作用，要了解化合和分解的机理必须研究电子运动的物理规律。又如活体中的代谢是生命运动特有的表现之一，但这种代谢的分子基础却是重要生物分子（蛋白质、脂类和核酸）的一些化学变化，这些变化常常是在体内存在的催化剂——酶的作用下产生的。这就说明，高一级的运动形式总是以较低级的运动形式作为基础的。各种运动形式除了各有其特殊性之外，还具有共同性。正是这种共同性促进了物理学与化学结合，从而形成一门边缘学科物理化学；化学和生物学结合，形成另一门边缘学科生物化学。边缘学科的形成，是较高级运动的研究能够深入一步发展的需要，但它也使研究低级运动形式的学科适应新的要求而不断完善。所以人们常说边缘学科（或交叉学科）是自然科学发展的生长点，就是从这个意义上提出来的。

从理论上说，边缘学科的出现具有必然性。但某一门边缘学科具体在什么时候出现，是需要具备一定条件的，这主要取决于像物理学这样研究较低级运动的学科在理论和技术上所取得的重大突破。没有量子力学的创立，就不可能有化学键的近代理论；没有X射线衍射技术的建立，也不可能奠定现代分子生物学的基础，更不可能带动生物医学领域中的许多学科相继深入到分子水平。

生物物理学作为一门边缘学科的发展同样符合以上所述的规律。它的出现有其必然

性，这是因为生命现象不仅有它的化学基础，也同样具有其物理基础。例如血细胞具有变形性，使它能顺利地通过毛细血管；血液的粘滞性常常反映了活体的机能状态；生物大分子具有一定的空间结构，具有磁性和偶极性；由分子结合而成的聚集体(如膜)具有易流动的性质。这些都属于生命物质的物理性质。而体液或气体在体内的流动，神经细胞中电位的产生和传导，肌肉的收缩与舒张，生物体内能量、物质与信息的传递，以至于外界因素(光和高能辐射等)对机体作用等等，都涉及生命活动的物理运动规律。生物学以物理学作为基础，这就是生物物理学作为一门边缘学科能够产生和发展的根据。

但是物理学和生物学的相互结合，其发展趋势和速度却不能不受到历史条件的限制。到目前为止，一般人对生物物理学的了解仍然很少，这和这门学科发展历史不长是有密切关系的。实际上，边缘学科的产生都不是突然发生，而是逐渐积累起来的。生物物理学中个别问题的研究出现得较早，例如17世纪时Kircher就描述过生物发光的现象，Borrelli在他所写的《动物的运动》一书中，已经利用力学原理分析了血液循环和鸟的飞行。18世纪Galvani发现了肌肉收缩与电刺激之间的关系，经过Volta、Du Bois-Reymond的实验研究开拓了生物电这一领域。19世纪时，Mayer在热学方面的研究导致能量守恒定律的建立，而他正是注意到热带地区人静脉血的颜色比高纬度处居民明亮，并从研究热、功和生理过程的关系开始的。Helmholtz研究了肌肉收缩，测定了神经脉冲的传导速度，研究了视觉与色觉。Tyndall用光散射法检验了Pasteur关于细菌作用的概念。这二位科学家都深信生物学是适于用物理学研究的领域，他们都被认为是早期的著名生物物理学家。

这种逐步积累的方式到了20世纪发生了前所未有的迅速转变，这种转变归根结底来自物理学在本世纪内的巨大成就以及工程技术日新月异的飞速发展。相对论、量子力学、基本粒子理论、凝聚态物理学、自动控制理论和非平衡态热力学的出现为从宏观和微观两种不同角度探讨生命体系奠定了坚实的理论基础；各种光谱、波谱与衍射技术、激光、电子计算机与图像处理的应用为生物物理学深入了解和分析物理性质和物理过程提供了有力的手段；而随着核武器的出现，核能的和平应用，超声、微波、激光和环境污染等和人类健康关系的研究也迫切需要从理论和实践两方面加以解决。这三者相互结合使得生物物理学在本世纪中叶以后能够在一个全新的基础上形成和发展。这个新领域的概貌——尽管目前还在形成过程之中——可大致描述如下：在微观方面，力图从分子水平(包括分子下的电子水平)阐明生物大分子的结构与功能，以及由此出发研究细胞与组织水平的各种活动(输运、识别、收缩、传导、感觉、进化等)的机理，也包括外界各种物理因素对机体作用的原初物理与物化过程。从宏观方面，则从一个体系的整体(所谓体系，可以指一个大分子、细胞、机体乃至群体)的观点，用统计物理、热力学与调节控制的理论阐明其物理规律。这二者又互相结合，互相补充。但从目前来看，则以前者作为这门学科发展的主流。

在边缘学科的发展中，具有远见卓识的一些科学家的推动作用也是不可忽视的重要因素。在近代生物物理学的建立过程中，可以举出两个例子来加以说明。一个是著名的量子物理学家Schrödinger，他在1942年的讲演《生命是什么》中，就提出了遗传物质是一种有机分子，它的突变具有不连续的形式，还提出了“负熵”的概念，为量子生物学和不可逆过程的热力学提供了新思想。几十年的历史发展证实了他的预言。另一个是著名的生物化学家Szent Györgyi，他对生命科学在生理、生化、药理等许多学科的研究基础上，最终得出这样一个结论：要彻底了解生命过程，必须深入到电子这个层次。为此他连续写了几本小册

子鼓吹他的观点，并与量子物理和量子化学家合作，为量子生物学和近代生物物理的建立做了许多工作。正如他们所说，这样做是冒着很大风险的（他们两人都在各自的领域中获得过诺贝尔奖），但正好说明他们都是深切了解不同学科相互结合的必要性的先驱者。

生物物理学的内容

生物物理学究竟包含哪些内容，至今还存在着不同的看法，这也是任何一门新学科在发展过程中必然会经历的一个阶段。但从近年来这门学科发展的现状，以及历次国际生物物理会议的内容来分析，大体上可以划分为：

一、分子生物物理

分子生物物理主要研究生物大分子的结构，特别是它们的空间结构，大分子在溶液中的构象及其变化，以及结构、构象与功能之间的关系；研究大分子内部以及大小分子之间的相互作用，特别是生命现象中所常见的特异相互作用；研究水在生物体系中的状态与功能意义；研究生物体系中的能量状态及其对能量的吸收、储存、转移与转化；研究生物分子聚集态的形成与物理性质等等。鉴于生命现象的各种表现都和生物分子密切相关，因此分子生物物理的基本知识已成为其它许多领域的基础。

二、膜与细胞生物物理

细胞是生物体的基本单位，细胞生物物理是研究发生在细胞中的各种过程的物理基础，包括细胞内外物质、能量与信息的传递，细胞连接、细胞识别、细胞分化以及活性物质在细胞中的调节作用等。在细胞生物物理中，膜的生物物理研究占有极重要地位，这不仅因为膜的分子基础比较清楚，其结构、分子运动等已经能在分子生物物理的基础上加以说明，而且由于膜本身具有物质通透、能量转换与信息传递等多种重要功能，并与疾病及药物作用密切相关而受到重视。膜生物物理已成为分子与细胞生物物理之间的桥梁。

三、感官与神经生物物理

生命进化过程中出现的对内外环境作出反应的神经系统，连同有关的感觉器官在高等动物特别是人体内已发展到高度复杂的程度，其结构标志是出现大脑皮层，功能标志则是最有效的信息处理、存贮与决策。当前，感官与脑的问题已成为神经生物学的注意中心。作为整个神经生物学的一个组成部分，神经生物物理主要研究分子水平与网络水平的活动，包括离子通道的结构与控制机制；各种感受器对环境信息与能量的转换、编码、结构与功能的关系、感觉传导机制；神经递质及其受体、神经通路和神经回路的研究，以及学习和记忆的神经与分子基础等等。

四、理论生物物理

理论生物物理是运用数学和理论物理学研究生命现象的一个领域，它既包括量子生物学和分子动力学等微观方面的研究，也包括对进化、遗传、生命起源、脑的功能活动及生物系统的复杂性等宏观方面的研究。

五、生物控制论

控制论奠基人维纳(Wiener)早就对控制论下了定义：“控制论——关于机器与生物信息通讯与控制的科学”，指出生物信息的接受、编码、传递、加工、存贮、提取、控制及反馈等一系列动态过程，这些就是生物控制论的研究内容。目前，生物系统辨识方法及其改进和

它在生物医学功能系统研究中的应用；神经网络的研究；分子信息理论和免疫控制理论等是该分支的主要研究方向。

六、生物力学与生物流变学

生物力学与生物流变学运用现代力学理论和方法，对生物体的结构、功能、受力、应变与运动等给以定量关系的表达。生物力学对骨、关节、脊柱、皮肤、运动的研究，生物流变学特别是血液流变学的研究在临床医学与基础医学方面的进展，已对医学的发展起到了重要的具有实际意义的作用。

由于宇航科学在最近以及今后迅速发展的需要，关于生物（特别是人）在微重力作用下的生理与病理改变的基本规律的研究，已成为人们普遍关心的课题，也是生物力学中的一个新兴的分支，值得引起重视。

七、生物物理仪器与技术

仪器技术本身可以为任何学科所用，它们本身并不带有学科的特征。但在生物物理的研究中，由于研究有生命物质的物理性质和物理规律，对物理仪器与技术的要求就更显得突出，而且为了解决特定的生物学问题，常常需要设计制作新的仪器。除此以外，一项重要技术的突破常能给生物物理学的发展起到不可估量的推动作用。其中最明显的就是X射线衍射技术，用于核酸与蛋白质空间结构的测定，开创了整个分子生物学（也包括分子生物物理学）的新时代。为了进一步解决更接近于活体条件的大分子溶液构象，已先后应用了圆二色技术、核磁共振与电子自旋共振技术等等，其中核磁共振甚至还在向活体测量和成象的方向发展。因此生物物理仪器与技术在本学科中占有重要地位，成为整个学科中一个重要的组成部分。

把生物物理的内容按照上述方法加以区分显然还是不够完善的，但对这门学科内容的广泛性已经有所反映。应该指出，上述各个部分的发展是不平衡的。有些部分由于它所依据的理论或技术手段的进展，往往自成系统，甚至独立发展，例如生物控制论、生物流变学等。此外，由于实际需要，生物物理学的某些部分也常和其它有关学科结合，生长出新的学科，例如生物医学工程。这些情况或多或少反映了近代科学飞速发展以及为适应实际需要，从而比以前更容易促成边缘学科的建立和发展的特点。

新学科在其诞生的初期，它本身的系统性和特征是在逐渐形成的，而它所研究的课题则显然和老的学科有着千丝万缕的联系。这就容易说明生物物理学尽管是一门独立学科，但和其它许多学科有着密切联系，其中特别是生理学、生物化学和细胞学。不能根据所研究的生物学问题来区分学科，因为这是所有生命科学共同课题，例如生物大分子与细胞的结构与功能、神经传导、肌肉收缩和感觉等等。重要的是生物物理学充分运用了物理学的理论、技术、思考和分析问题的方法，以及所研究对象的物理性质和物理规律，为此就必须掌握和运用较多的近代物理与工程技术知识。另一方面，近代生命科学的发展综合性很强，单纯只依靠一个方面的知识是不够的。因此生物物理学也只有和其它学科相互联系、相互补充、并且密切注视其它学科的新发展，才能使其本身不断完善和成熟。

生物物理学在医学中的意义

医学属于生命科学这一范畴，但以人为对象，即研究人在正常与疾病条件下的各种规

律, 因此它的发展必然受到生物学本身发展的影响。医学的一些分科从基础学科的解剖、组织、生理、生化、药理、病理到临床的内科、外科、妇产科、儿科和诊断学、治疗学等各门学科, 已经有了百十年甚至更长的历史并已基本定型。在我国, 不仅其名称、甚至其内容几十年来都变化不大。对于疾病的认识, 过去人们主要是从现象的观察和经验积累来定性地了解, 并解决其诊断、治疗和预防问题。近代生命科学的特征已经不仅从化学、而且从物理学的角度加以探讨, 形态和机能之间的划分在逐渐消失, 学科间交叉的现象日益明显。这就不能不直接影响医学科学的各个分支以及整个教育体系。要求一个医学工作者能够根据近代生命科学的理论认识和分析问题, 运用近代各种物理的、化学的以及生物学的方法进行诊断和治疗。其中生物物理学知识将起到重要的作用, 而这也正是现行医学教学中薄弱的环节之一。以下从三个方面说明生物物理学与医学发展的关系。

一、医学基本问题的研究

基础医学中的许多近代概念近30年来已经发生了巨大变化。现在人们都理解蛋白质和核酸在生命科学中的意义, 生物化学已经能分析许多大分子的化学组成了, 但是大分子完成其功能还必须有一定的空间结构, 在这方面, 生物物理学发挥了重大的作用。例如蛋白质变性时, 通常出现 α 螺旋、 β 折叠和一部分无规卷曲的总的结构大体上展开成为无规则状态的现象, 但其化学组成并无变化。核酸在其复制或合成蛋白质时, 它的构象也在发生改变。结构与构象维持和改变的原因以及它们的具体测定, 都是生物物理学能够胜任的任务。在生命现象中, 特异相互作用(或者称为识别)是一种普遍而又重要的现象。例如抗原与抗体的作用, 酶与底物的作用, 配体与受体的作用等等, 过去只能用“锁和钥”的关系来形象地说明它们在形状上相互匹配。生物物理的研究告诉我们, 分子都有活动性, 不是一成不变的刚性物质, 特异作用既和二者之间的强相互作用(例如电荷之间的引力)有关, 也和许多弱相互作用有关, 前者决定两种分子的定位, 后者进一步决定它们之间精细的、互相适应的结合。这样就不仅能说明类似的分子和同一大分子之间特异作用的强弱为什么不同, 也给设计新的分子增强作用提供了思路, 这在药物设计中具有重要意义。近代医学中还提出了细胞膜受体的概念, 认为各种活性物质(也包括药物和毒物)首先作用于膜的受体, 然后对细胞产生效应。受体是一种存在于膜上的大分子物质(肽或蛋白), 每种作用物都在膜上有各自的受体。如果真是如此, 那么许多物质都对细胞有作用, 细胞膜是无法容纳如此众多的受体的, 何况新的作用物质还在不断地被发现。可能的研究途径是了解少数膜上的大分子、特别是它们存在的结构, 以及在和各种物质相互作用时改变构象以适应和这些物质的作用。这也是今后生物物理学将能发挥作用的课题。

再以临床医学的问题作为例子。对许多疾病至今还不了解其产生的机理, 因而在正确诊断与有效措施的设计上缺乏依据。其中最突出的例子是肿瘤, 成千上万的研究人员已经花费了几十年甚至更长时间, 也积累了一些经验。但彻底认识这一类疾病仍然有待时日。其中一个很重要的原因是对癌变机理的了解不够, 特别是在细胞与分子水平上的机理, 例如癌细胞的特征、肿瘤生长的规律、浸润与转移的机理、环境因子的作用方式、药物如何产生特异杀伤作用以及肿瘤免疫的基本理论等等。这些问题需要许多学科从不同的角度加以探讨。生物物理学虽然是一门年轻的学科, 但对这一问题也显示了很大的兴趣。例如近年来通过各种途径已经了解癌细胞的一些特征, 如细胞膜流动性增大, 通透性增大, 细胞表面电荷变化, 细胞内水的结合状态改变等等。1981年国际生物物理会议中就有被称为“疾病的生化与生

物物理”的专题讨论会，其中报告了用各种手段、特别是电子自旋共振技术研究白血病人血液中出现异常讯号，认为这种讯号和抗坏血酸自由基有关。自由基就是带有不成对电子的基团，它不仅在肿瘤中占有重要地位，而且还和许多疾病有关，例如射线的作用、致癌物质的作用、细胞吞噬过程、活性氧的作用以至于衰老过程等等。自由基寿命短但活性强，在研究自由基的产生和转变中，电子自旋共振是一种极有效的手段。现在已经了解许多病理过程和它有关。早在1973年美国就已举行过“自由基病理学”的讨论会，这反映了生物物理学在疾病研究中能够起到作用的又一个侧面。

联系医学问题的生物物理学在其许多领域中都能找到例子，例如血液的粘度、血细胞的形变等血液流变学问题在许多疾病中都有所反映；关于细胞膜的物理性质在膜毒理学中、在心血管疾病和肌肉萎缩等疾病中、在药物作用机理研究中都占有重要地位。甚至量子生物物理这样一种理论性很强的分支，也在致癌化合物的结构特征与致癌活性关系，以及药物的结构与效应关系方面做出了出色成绩。生物物理学和许多实践问题相互联系，其中与医学的联系无论在国外或在国内都是比重最大的一个主要方向。

二、诊断方法的研究

在疾病机理的研究中，常常能够找到一些有意义的指标，在进一步深入研究之后，有可能为诊断或辅助诊断提供手段和依据。例如关于血液粘度的测量在诊断红细胞增多症、慢性白血病、急性心肌梗塞与冠状动脉栓塞、糖尿病等方面都有明显的价值，有些已在临床上应用。X射线用于透视是人所共知的手段，它利用不同密度组织对同一波长X线吸收的不同来达到显示体内图像的目的。它的最新进展是计算机辅助的断层扫描（称为X-CT）。目前又利用超声波在体内吸收和反射的不同进行超声诊断，利用定位在不同部位的放射性同位素所发出的射线进行同位素扫描诊断，这些都已成为行之有效的方法。

近代医学对于诊断提出了很高的要求：要求检测对象易取（尿、血、痰等）、量少、特异性强、准确、快速、无损伤等等。当然要求一项诊断技术能全面达到上述要求显然很困难，但如能在某一方面做到其它方法所不能及的程度，那么这种方法也是值得称道或推广的。例如核磁共振技术现在已能无损伤地探测活体中的ATP代谢和测定细胞内的pH，最近几年还用它来达到透视成像的目的，它能区别软组织，对机体无损伤，而且它和计算机结合所成图像不仅是一种解剖图像，还因其和代谢有关而成为一种生化图像，在对脑部疾病的诊断上已明显优于X-CT。因此，尽管它价格昂贵，各国仍竞相研究和应用，并有取代X线诊断的趋势，值得重视。再如1974年英国的Cercek夫妇用荧光偏振的方法测定肿瘤病人淋巴细胞胞浆的有序程度，发现正常人或非恶性肿瘤病人淋巴细胞用植物凝集素（PHA）刺激后，偏振度明显下降，而恶性肿瘤病人则无变化；反之用肿瘤碱性蛋白刺激，则前两种人无变化，后者明显下降。这种方法阳性率高达98%，在准确性方面很突出，但比较费时。预期在各方面改进之后将会得到更广泛的应用。此外应用放射免疫技术和生物发光技术，对某些生物活性物质的检测可以达到 $10^{-14} \sim 10^{-16}$ g/L的浓度，这是目前任何其它方法所不能达到的。这对微量物质的检查显然因其高灵敏度而受到重视。总之，现代诊断技术所提出的高要求，生物物理学将能发挥重要作用。

三、治疗研究

利用生物物理原理和物理因素进行治疗在过去已经有一定成效，其中一些已用于临床。例如理疗中广泛应用了电磁波的各种波段，如超高频、高频、X射线和γ射线等等。目前已

经开展了一些利用基本粒子治疗恶性肿瘤的方法，例如中子和质子。尽管产生这些粒子需要加速器等贵重设备，但由于它可以控制受照深度和集中照射等优点，临床上乐于使用。利用紫外线杀菌是常用的手段，近来很受重视的是血卟啉在光照下的治癌作用。这在生物物理学中实际上就是一种被称为光动力作用的现象，因为血卟啉只起能量传递者的作用，光能被吸收后通过它传递给需要杀伤的细胞，而且经常必须在有氧条件下进行。了解这些原理对于应用血卟啉治癌将具有指导作用。还有一些方法也已开始应用，例如用微波局部加热癌组织以杀死癌细胞，而把对正常细胞的损伤尽可能减轻到最低程度。对于一些有一定疗效的方法如磁疗等，尽管其机理还不甚清楚，其研究也受到重视。

即使是利用化学药物或酶等进行治疗，也有一些生物物理问题值得深入研究。当前由于考虑到某些药物毒性大、吸收少等缺点，正在开展所谓脂质体载药的研究。脂质体是由类脂组成的一种人工膜，药物等可包在其中输入体内，通过血液循环到达病变部位，这样就可由于脂质体的稳定性而更有效地使用药物。最近日本已成功地把酶包入脂质体，它能通过血脑屏障，治疗脑内因缺乏这种酶而引起的疾病（称为神经节苷脂储积症），引起国际上广泛重视。人们现在正在设法在脂质体上带各种分子，试图使其进入体内后和特定部位（如肿瘤）结合，释放药物。所有上述工作都需要对人工膜的物理性质有较深入的了解，才能达到预期效果。由于这类研究具有明显的经济效益，各国都在竞相研究，但互相保密，这更需要我们自己作出努力。可以预期，这类研究在不久就将陆续取得一定成效。

林克椿

目 录

前 言

绪 论

第一章	荧光分光光度术	(1)
§ 1	荧光与荧光光谱	(1)
§ 2	荧光分光光度术	(2)
§ 3	荧光分光光度计与影响荧光测量的因素	(5)
§ 4	荧光分光光度术在生物医学中的应用	(10)
第二章	核磁共振技术	(15)
§ 1	原理	(15)
§ 2	参量与实验方法	(17)
§ 3	应用	(20)
第三章	电子自旋共振技术	(24)
§ 1	原理	(24)
§ 2	参量与实验方法	(25)
§ 3	应用	(29)
第四章	分子生物物理	(33)
§ 1	生物大分子的各级结构	(33)
§ 2	分子内与分子间的相互作用力	(51)
§ 3	生物大分子的能态与能量转移	(60)
第五章	膜生物物理	(65)
§ 1	膜脂的组成	(65)
§ 2	脂质分子在水化状态下的聚集形式	(69)
§ 3	人工膜	(72)
§ 4	脂双层的物理性质	(74)
§ 5	膜脂分子的运动	(77)
§ 6	膜脂与膜蛋白的相互作用	(80)
§ 7	脂质体的应用	(81)
§ 8	生物膜	(83)
第六章	细胞粘着	(92)
§ 1	研究方法	(92)
§ 2	细胞粘着的生物物理学基础	(96)
§ 3	粘着分子	(99)
§ 4	细胞粘着过程及其影响因素	(101)
§ 5	细胞粘着的意义	(104)

第七章	膜受体	(107)
§ 1	受体的基本性质	(107)
§ 2	受体的结构	(110)
§ 3	受体与配体结合引起的细胞膜变化	(118)
第八章	细胞膜表面电荷与细胞电泳	(123)
§ 1	细胞膜表面电荷	(123)
§ 2	双电层结构和zeta电位 (电动电位)	(123)
§ 3	细胞电泳	(125)
§ 4	细胞电泳在生物学和医学研究中的应用	(128)
第九章	跨细胞膜的物质运输	(134)
§ 1	被动运输	(134)
§ 2	主动运输	(140)
§ 3	整批运输	(146)
§ 4	膜通透异常的实例	(149)
第十章	细胞膜离子通道	(154)
§ 1	概述	(154)
§ 2	主要研究方法	(155)
§ 3	钠离子通道	(162)
§ 4	钾离子通道	(169)
§ 5	钙离子通道	(174)
§ 6	氯离子通道	(180)
第十一章	细胞pH	(185)
§ 1	细胞pH的测量	(185)
§ 2	细胞内pH调节	(190)
§ 3	细胞pH调节的机能意义	(199)
第十二章	自由基与医学	(204)
§ 1	自由基、氧自由基的概念	(204)
§ 2	有机体中自由基的生成	(209)
§ 3	脂质过氧化作用与生物膜	(223)
§ 4	自由基与DNA损伤	(227)
§ 5	机体内抗自由基防御系统	(229)
第十三章	电磁生物物理	(234)
§ 1	电磁场与生物系统相互作用的物理基础	(234)
§ 2	生物系统的电特性	(237)
§ 3	生物电磁剂量	(243)
§ 4	射频电磁场的生物效应	(244)
§ 5	射频电磁场生物效应的机理	(247)
§ 6	电磁生物物理在生物医学中的应用	(249)
第十四章	生物控制论	(252)

§ 1	控制论的基本概念·····	(252)
§ 2	控制论的形成和基本内容·····	(257)
§ 3	控制论的基本方法·····	(264)
§ 4	控制论对生物医学的重要作用·····	(278)

第一章 荧光分光光度术

荧光分光光度术 (spectrophotofluorimetry) 又称荧光光谱术, 它属于光谱技术中的一种发射光谱术。其原理是电磁波和物质作用后, 物质首先吸收电磁波的能量, 然后再重新发射电磁波。激发用的电磁波波段大约在 $(1\sim 8)\times 10^2\text{nm}$ 之间范围, 也就是紫外与可见光波段。以光子形式重新发射的电磁波, 它的光谱、强度、偏振程度及寿命等和被研究物质的结构、构象、物理状态、分子运动等密切相关。正因为如此, 荧光光谱术不仅在物理学、化学中有着广泛的应用, 而且在生物学、医学等领域中, 与核磁共振、电子自旋共振、红外光谱等技术共同配合, 在生物大分子结构、生物膜、细胞生物物理等研究中, 成为不可缺少 的技术。

本章将简要地介绍荧光分光技术的基本原理、主要参数、测量技术及其在生物、医学中的应用。

§ 1 荧光与荧光光谱

一、荧光的产生

为了说明荧光产生的机理, 首先必须了解分子的能态与能级分布。一个简单分子的能级包括电子能级、分子振动能级与转动能级。分子通常处于能量状态最低的基态。它被激发 (excitation) 后, 处于能量状态较高的激发态。分子的能级 E , 应为电子能级、分子振动能级及分子转动能级的总和。即

$$E = E_e + E_v + E_r$$

式中 E_e 为电子能级, E_v 、 E_r 分别为分子的振动、转动能级。 E_e 大约为 1eV 数量级, E_v 、 E_r 分别为 $10^{-1}\sim 10^{-2}\text{eV}$ 和 $10^{-4}\sim 10^{-5}\text{eV}$ 数量级。

图1-1表明了一个简单分子的电子能级与振动能级。基态用 s_0 表示, s_1 、 $s_2\cdots$ 等表示第一、第二电子激发态 (excited state), 在每一个电子态都有不同的振动能级, 用 ν_0 、 ν_1 、 $\nu_2\cdots$ 表示。在每两个振动能级之间还可能有不同的转动能级, 在图中没有再表示出来。各种能级都是分立的, 它们之间有一定的差异, 不能任意, 因此它们之间的转变 (跃迁) 是量子化的。吸收现象发生在 s_0 的最低振动能级与 s_1 、 s_2 等不同的电子能级及其相应的振动能级之间。这一过程只需 10^{-15} 秒。分子吸收能量后处于激发态的分子通过各种非辐射过程丢失能量,

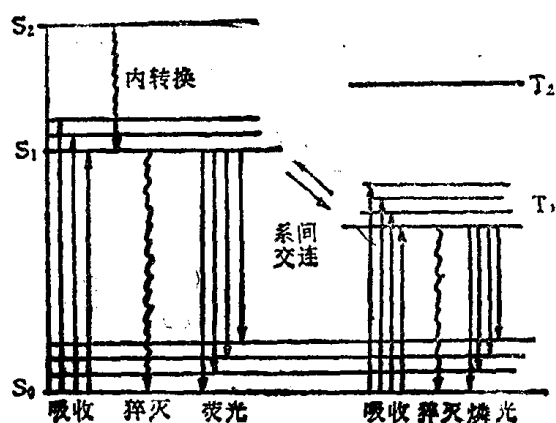


图1-1 吸收、荧光与磷光

首先到达 s_1 的最低振动能级, 这一过程称为内转换 (internal conversion), 发生在 10^{-11} 秒

内。从 S_1 的最低振动能级其能量以光子形式放出而回到基态的不同振动能级，这一发射(emission)过程称为荧光(fluorescence)，发生在 10^{-9} 秒内，如以非辐射形式丢失能量则称为猝灭(quenching)。在上述几种过程中跃迁电子的自旋方向都没有改变，它和基态能级上另一个电子的自旋相反，互相配对，这一状态称为单态(singlet state)，一般在s的右下角加1作为标记，如 s_1 、 s_2 ...等。但当它们消耗部分能量而使其自旋反向，这一过程称为系间交连(intersystem crossing)。所形成的能态称为三重态(triplet states, 用T表示)。由 T_1 的最低振动能级向基态的跃迁几率很小，因为2个电子自旋方向相同，不再配对。这时高能态的能量可通过猝灭丢失，也可通过发射，回到基态称为磷光(phosphorescence)，时间可在 10^{-4} 秒到几秒之间。因此荧光寿命短，磷光寿命长。

以上说明了荧光产生的机理以及荧光、磷光的区别。

二、荧光光谱与吸收光谱

我们知道，每一物质由于其独特的结构，有各自的吸收光谱。荧光是分子吸收光以后重新发射的光能，因而可以理解发射的荧光也必然有与吸收光谱相应的荧光光谱。荧光光谱是怎样产生的？它和吸收光谱有什么关系？下面将进一步分析这个问题。

由于吸收和发射(包括荧光和磷光)都可以发生在不同的振动能级之间，所以无论吸收或者发射都发生在一定的波长范围之内，而不只是一种波长，这就是产生光谱(spectrum)的原因。在一定的温度下，虽然分子可以处于不同的振动能级，但其分布则不均匀，一般遵从玻尔兹曼(Boltzmann)分布，即分布在其中某一振动能级几率最大，分布于其上或其下的几率逐渐减小。因此吸收谱和发射谱都有峰出现，如图1-2所示。

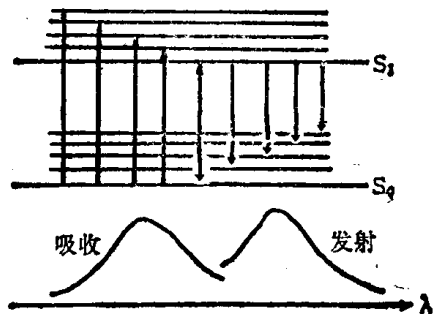


图1-2 光谱的形成

从图1-2可以理解，吸收光谱可以是一个峰，它对应的吸收只是从 S_0 的最低振动能级至 S_1 的各振动能级；吸收光谱也可以是两个峰或多个峰，这时它对应的吸收不只是从 S_0 至 S_1 ，也有从 S_0 至 S_2 或更高的电子能级的各振动能级。而荧光的产生是 S_1 向 S_0 各振动能级的跃迁，也就是说，已吸收了光处在 S_1 各振动能级或 S_2 各振动能级的分子，首先必须以内转换的形式

将能量释放至 S_1 ，然后从 S_1 回到 S_0 的各振动能级发射光子，因而其荧光光谱必然在吸收光谱的长波方向或低频方向。另外，在一定的温度下，分子处于不同振动能级的几率(无论哪个电子能级)是一定的，基态和激发态大致相同，所以荧光光谱的形状和吸收光谱存在镜像对称的关系，它的对称面是0-0跃迁，即从 S_0 的最低振动能级至 S_1 的最低振动能级。

§2 荧光分光光度术

荧光分光技术是应用较广泛的一大类技术，通过各种参数的测量或计算可得到各种所需的信息，本节介绍荧光强度、荧光光谱、荧光偏振与荧光寿命等参数及其意义。荧光技术不仅能应用于荧光物质的研究，也可应用于不发荧光物质的研究，例如大多数氨基酸、脂类和核酸等都不发荧光。这些物质的荧光研究，要归功于荧光探针(fluorescence probe)

的出现,因而本节还将介绍各种常用的荧光探针及其在生物学和医学研究中的应用。

一、荧光分光光度测量中的参量

(一) 荧光强度 (fluorescence intensity, F 有时用 I 表示) 与量子产率 (quantum yield, φ)

在一定的激发波长 λ_{ex} 作用下,发射的荧光定义为荧光强度,由于发射的荧光为一光谱,所以荧光强度常常是指发射的某一波长的荧光。测量得到的 F 不是光能量的绝对大小或光子数,而是一种相对强度。

F 和吸收光强 I_0 及物质的量子产率有关。

$$F = I_0 \varphi \quad (1.1)$$

φ 即量子产率或发光效率。

$$\varphi = \frac{\text{发射光子数}}{\text{吸收光子数}} \quad (1.2)$$

从(1.2)可见, φ 表示某种物质的发光本领。 φ 愈大,发光本领愈高。但任何物质的 φ 不会大于1,只能小于1。需要注意的是,同一物质在不同环境下, φ 不同。

根据 Lambert-Beer 定律, I_0 可用下式表示

$$I_0 = I_0 - I \quad (1.3)$$

I_0 为入射光强; I 为透过光强,它与样品的浓度 c 、光程 L 及物质的吸收系数或称消光系数 ϵ 成反比关系。 $I = I_0 10^{-\epsilon c L}$ (1.4)

$$\therefore I_0 = I_0 - I_0 10^{-\epsilon c L} = I_0 (1 - 10^{-\epsilon c L}) \quad (1.5)$$

$$F = \varphi I_0 (1 - 10^{-\epsilon c L}) \quad (1.6)$$

从(1.6)可见, F 和 φ 及 I_0 成正比。 ϵ 为物质的消光系数,对每一物质为一常数。 L 为样品的光程,相当于样品杯的厚度,也为一常数, F 与它们无关,唯一有关的是 c 。

F 与 c 的关系较复杂。当 c 很低时, $10^{-\epsilon c L}$ 可近似为 $1 - \epsilon c L$ (级数 $e^{-x} =$

$$1 - x + \frac{x^2}{2!} - \frac{x^3}{3!} + \frac{x^4}{4!} \dots\dots) \text{这时 } F = \varphi I_0 \epsilon c L \quad (1.7)$$

F 与 c 成正比。当 c 较大时, $10^{-\epsilon c L}$ 变小,甚至可忽略不计。

$$F = \varphi I_0 \quad (1.8)$$

这时 F 与浓度无关, c 再增大 F 也不再增强。(图1-3)表示 F 与 c 的关系。实际测量时,由于浓度增高,荧光分子碰撞增多, F 反而被猝灭。因而用荧光进行定量分析时,应采用正比区域的浓度范围。

(二) 荧光光谱

广义的荧光光谱包括激发光谱 (excitation spectrum) 与发射光谱 (emission spectrum)。

激发谱是指 F 与激发波长的关系 (图1-4a)。理论上激发谱的峰位和谱形应和其吸收谱相同。实际上由于二者测量方式不同 (见下文),两谱略有不同。每一物质有其特异的激发谱。

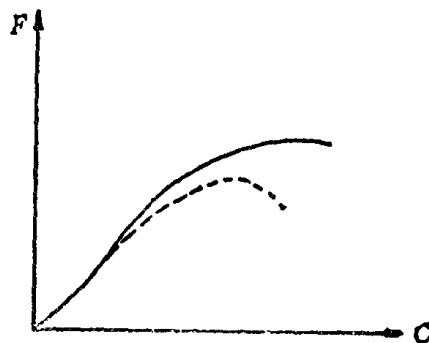


图1-3 荧光强度与浓度的关系