

TCSA (tetrachlorosalicylanilide 四氯水杨基酰替苯胺) 的乙醇溶液处理过的。b 为未经处理的表皮。c 则是两者的差示光声光谱, 它反映表皮经 TCSA 处理后的变化。它也启示我们: 人体组织发生病变时, 组织的光声光谱可能提供有价值的信息, 使之成为早期诊断疾病包括癌症的有用工具, 这可能是光声光谱最有潜在价值的应用领域。

在生物化学研究中, 由于样品组成的复杂性, 溶解、分离、富集等前处理往往是不可缺少的。因此, 薄层层析纸层析、电泳等分离技术在生物化学中的应用比其他化学领域更为广泛和重要。光声光谱如与这些分离富集技术相结合, 则又从另一侧面在生物化学中获得广泛的应用。这可以薄层层析为例^[8]。由于薄层层析的吸

附剂硅胶 G 是不透明的和强烈光散射的物质, 因此不能在薄板上直接鉴定各种分离物, 而光声光谱的独特优点使它能够在薄板上作出鉴定。这就大大提高了这些分离富集技术的实用价值。

参 考 文 献

- [1] Rosenwaig, A.: *Anal. Chem.*, 47, 592 A, 1975.
- [2] Rosenwaig, A.: *Physics Today*, 28, 23, 1975.
- [3] Adams, M. J.: et al.: *Analyst*, 101, 73, 1976.
- [4] *Princeton Applied Research Model Photoacoustic Spectrometer* 说明书。
- [5] Rosenwaig, A.: *Opt. Commun.*, I, 305, 1973.
- [6] Rosenwaig, A.: *Science*, 181, 657, 1973.
- [7] Adams, M. J. et al.: *Analyst*, 101, 553, 1976.
- [8] Rosenwaig, A. et al.: *Anal. Chem.*, 47, 548, 1975.

[本文于 1980 年 10 月 16 日收到]

旋 转 函 数 计 算 程 序

毕汝昌 林政炯 高义贵

(中国科学院生物物理研究所七室)

目前, 用 X 射线衍射法测定蛋白质和核酸晶体结构, 通常采用同晶置换法和反常散射法来解决周相问题。但是这些方法都需要制备合用的重原子衍生物, 而这一步往往需要长时间的大量的筛选工作。另一种解决周相问题的途径是所谓的分子置换法^[1]。这种方法利用不同晶体学环境里的结构相似性来得到周相信息, 因而不需要重原子衍生物。分子置换法的应用, 近些年取得了较大的进展, 尤其是在测定不同种属、不同晶型和不同族系蛋白质分子结构方面, 它显示了更大的优越性。不久前, 用分子置换法测定未知结构的计算技术有了发展, 能有效地用于修正多亚基蛋白, 特别是病毒晶体的周相。

用分子置换法测定晶体结构的步骤分为三个阶段: 确定分子(或亚单位)在晶胞里的取向; 确定分子在晶胞里的位置; 进行分子置换, 解决周相问题。为确定分子的取向, 通常应用比较

帕特逊函数的方法。由衍射强度算得的帕特逊函数含有两种原子间向量群。一种是仅含有分子取向信息的分子内原子间向量群, 它们分布在以原点为球心, 分子最大线度为半径的球体内; 另一种是包含分子间距离信息的不同分子的原子间向量群, 它们大都分布在上述球体以外。旋转函数就是基于帕特逊函数的这种性质, 用对比前一种向量群的方法来确定分子的相对取向。按 Rossmann 和 Blow 的定义^[2], 旋转函数

$$R(C) = \int P_1(X_1) P_2(CX_2) dV \quad (1)$$

其中 $X_2 = CX_1$ 、取决于三个独立角度的旋转矩阵 $[C] = [\alpha][\rho][\beta]$, $[\alpha]$ 和 $[\beta]$ 分别为笛卡尔坐标和晶体坐标系里的相互转换矩阵, $[\rho]$ 是在笛卡尔坐标系里的旋转矩阵。由此可以看出, 两个相对旋转的帕特逊函数 $P_1(X_1)$ 和 $P_2(CX_1)$ 的乘积按围绕原点的体积 U 的积分值

就是 $R(C)$ 在这一旋转角度位置时的数值。显然，这个函数的极大值出现在当两个相同或相似结构的帕特逊函数在体积 U 内吻合最佳时，而这时的角度位置就给出这两个结构原来的相对取向。根据这个原理，用旋转函数可以确定一个类似物分子在未知晶胞中的取向，也可以确定多亚基蛋白中相同或相似亚基间的相对空间关系(四级结构)。如果两个结构的差异较大或很不相同， $R(C)$ 就没有突出的大值。在这个意义上讲，可以用旋转函数比较结构的相似性。

将帕特逊函数的傅立叶表达式代入(1)式，则可得到用倒易空间数据计算的旋转函数

$$R(C) = \sum_P |F_P|^2 \sum_h |F_h|^2 G(h, h'),$$

式中 $|F_h|$ 和 $|F_P|$ 分别相应于 $P_1(X_1)$ 和 $P_2(X_2)$ 的结构振幅， $h' = PC$ ；当积分体积 U 取以原点为球心， r 为半径的球体时，

$G(h, h')$

$$= \frac{3(\sin Hr - 2\pi Hr \cos 2\pi Hr)}{(2\pi Hr)^2}$$

式中 $H = |h + h'|$ 。 $R(C)$ 值的计算是一种繁琐的过程，通常采用近似方法来加快计算速度。由于(2)式中包含结构振幅的四次方，因而可以只挑选一些最大的 $|F_P|^2$ 项进行计算。另一个简化算法来自 G 干涉函数的性质——当 $Hr > 0.725$ 时， $G < 0.086$ ，因此按 h 的内层加和可只取距非整数点—— h' 最近的若干个 h 进行。这样做能大大减少计算时间。

为应用分子置换法研究去 B 链羧端五肽胰岛素晶体结构^[3]，我们参照 Tollin 和 Rossmann 等人的程序设计思想^[4]，先后在国产 TQ-16 和 013 大型通用数字电子计算机上，分别用 TQ-16 和 BCY (ALGO 型) 语言，编制了旋转函数的计算程序。图 1 是程序的粗框图。此程序可用于测定同一晶体

或不同晶体中相同或相似结构的相对取向，也可以用来确定已知模型分子在未知晶胞里的绝对取向。在后一种用途中，需计算由模型分子构成的模型晶体的结构振幅 $|F_c|$ ，算得的 $|F_c|^2$ 做为 $|F_h|^2$ 或 $|F_P|^2$ 用。我们的程序可以根据要求，挑一些原子，计算 $|F_c|^2$ 。该程序还具有选择近似计算条件方便，输出输入信息灵活等优点。为了节省计算时间，现有的程序文本是针对单斜晶系编写的，但只要稍加改动，便可适用于所有空间群的晶体。

我们曾用三方二锌猪胰岛素晶体 10 埃分辨率强度数据，对程序做了检验。在计算中，按 h' 的加和取围绕 $-h'$ 最近的 27 个倒易点阵点 h' 按 P 的加和取占数据总数 50% 的大的强度数据。在用极角度系统算得的 $R(X, \phi, \varphi)$ 图

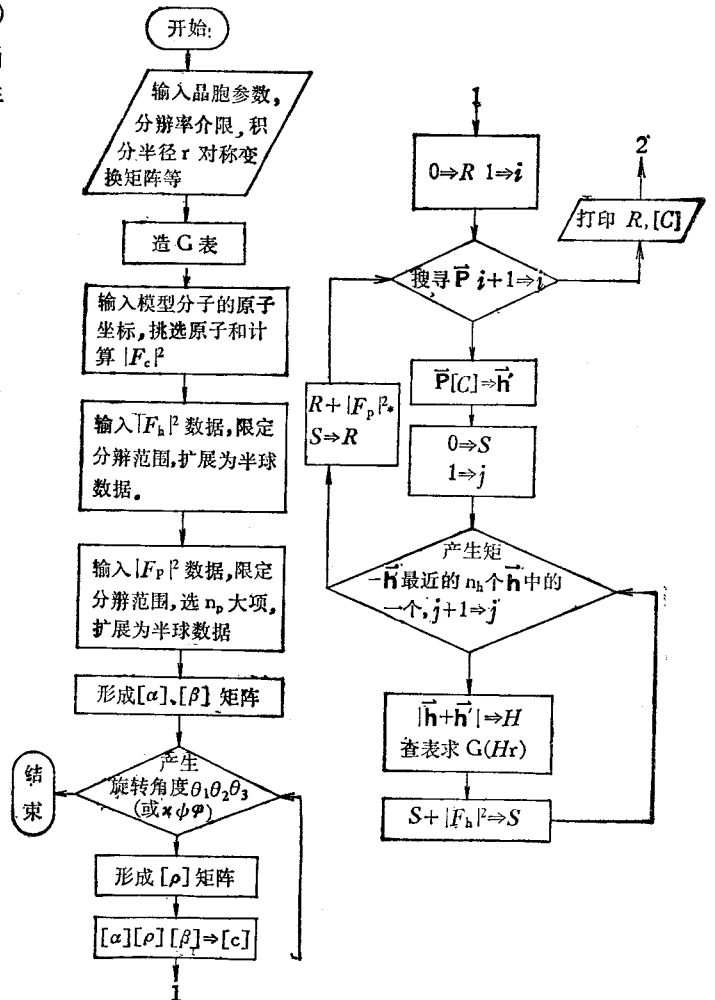


图 1 旋转函数程序方框图

上,除原点峰和晶体学三重轴引起的最高峰外,最大值位于 $X = 180^\circ$, $\phi = 90^\circ$, $\varphi = 15^\circ$ (见图 2(a)),数值均为原点峰的 80%。这表明在三方二锌猪胰岛素晶体的一个晶体学不对称单位里,两个胰岛素分子以非晶体学二重轴相关,该二重轴与晶体学三重轴垂直,且与 a 轴成 15° 的夹角。这个结果不但与我们以前用同晶置换

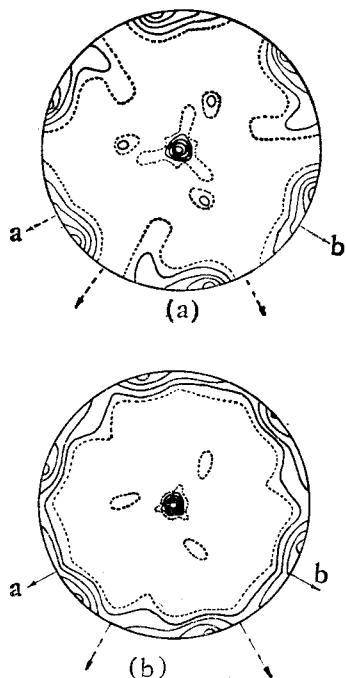


图 2 三方二锌猪胰岛素晶体旋转函数图
 $\kappa = 180^\circ$, 图中虚线箭头方向为非晶体学二重轴方向

法得到的晶体结构相符^[5],而且与霍奇金等人用同样方法获得的结果相一致^[6]。最近我们有幸得到了罗斯曼 (Rossmann) 的旋转函数 FORTRAN 语言程序的文本,并把它移植到 FELIX C-512 机器上,随后同我们的程序做了初步对比。图 2(b) 是使用 Rossmann 程序,用与上述模型检验相同的数据和相类似的计算条件,算得的三方二锌猪胰岛素晶体的自身旋转函数。从信息峰与原点峰以及同背景的比值等指标综合来看,两个程序的计算精度相当,据估算,我们的计算速度稍快,原因之一是罗斯曼 (Rossmann) 的程序采用了三斜晶系的通用形式。在天花粉蛋白质晶体的非晶体学对称性的研究中,采用 156 个 $|F_p|^2$ 大项和 27 个内层加和项,用我们的程序在 013 机上计算一个角度方位的 $R(C)$ 值约需 0.7 秒。

参 考 文 献

- [1] Rossmann, M. G.: *The Molecular Replacement Method*, 1972, Gordon and Breach, New York.
- [2] Rossmann, M. G. et al.: *Acta Cryst.*, **15**, 24, 1962.
- [3] 毕汝昌, 林政炯, 高义贵:《生物化学与生物物理学报》, 1980 年, 第 12 期, 第 165 页。
- [4] Tollin, P. et al.: *Acta Cryst.*, **21**, 872, 1966.
- [5] 胰岛素结构研究组:《中国科学》(试刊), 1972 年, 第 1 期, 第 3 页。
- [6] Dodson, E. et al.: *J. Mol. Biol.*, **16**, 227, 1966.

[本文于 1980 年 10 月 16 日收到]

一种简便提纯猪心线粒体可溶性腺三磷酶 (F_1) 的方法

林治焕 乌 恩 孙 珊 许桂珍 张 克

(中国科学院生物物理研究所)

线粒体内膜 H^+ -ATP 酶的头部,又称为可溶性腺三磷酶, 1960 年 Racker^[1] 确定它是氧化磷酸化的偶联因子 1 (F_1) 并首次自牛心线粒体中提纯,之后,从不同生物不同组织如鼠肝,酵母的线粒体、植物细胞的叶绿体、原核细胞如耐热菌、大肠杆菌的质膜中都得到了提纯的 F_1 。提纯这些 F_1 所用的方法虽各不相同但一般都较复杂费时^[2-5],我们采用简便快速的方法从猪心

线粒体提纯 F_1 , 并对它的催化特性、化学组成以及荧光性质等进行了测定与分析。

一、材料与方法

1. 猪心线粒体的制备 按 Green and Zeigler 方法作了修改^[6]。

2. ATP 酶活力的测定 是测定酶在 0.5 毫升[内含 Tris-马来酸 pH 8.0, 42mM, $MgSO_4$,