

# 温度和 pH 对嗜盐菌紫膜吸收和圆二色谱的作用

陈云俊 王敖金 高孝舒\*

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

嗜盐菌紫膜可见光区域的圆二色谱由二部分重迭组成<sup>[1]</sup>, 一部分是较宽的正带, 它来自细菌视紫红质分子内视黄醛和菌蛋白之间相互作用, 另一部分是由对称的正带、负带组成的激子带, 它来自膜内相邻细菌视紫红质分子生色团的相互作用。因此, 紫膜的圆二色谱可反映膜上蛋白的晶体结构和构象变化, 被认为是研究嗜盐菌紫膜结构变化的一种天然探针。本文用圆二色谱和吸收谱观察了温度和 pH 对光适应紫膜结构的影响。

## 材料和方法

嗜盐菌的培养和紫膜的分离, 提纯主要参照 Becher 和 Cassim<sup>[2]</sup> 的方法。光适应紫膜的制备为在测试前, 将紫膜悬浮液用 400W 卤钨灯透过 6cm 厚的 1.1% CuSO<sub>4</sub> 水溶液和 OG<sub>2</sub> 滤片, 照射 6 分钟。用 HITACHI 556 双光束、双波长分光光度计测量吸收光谱, 用 DICHROGRAPH III 型圆二色仪测量圆二色谱。

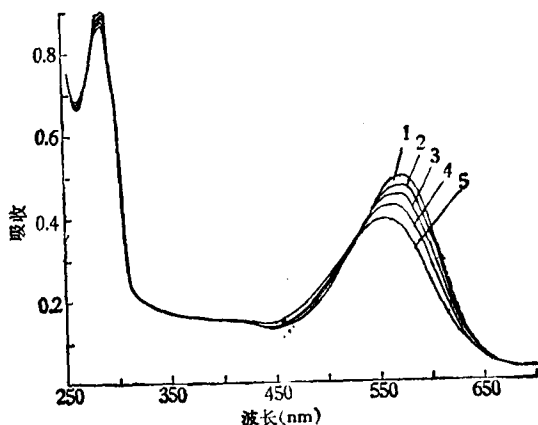
## 结果和讨论

### (一) 温度对紫膜的作用

如图 1 a 所示, 当温度从 16℃ 升至 70℃ 左右时, 光适应紫膜 (0.02M 磷酸钾缓冲液, pH 7.0) 吸收峰明显的兰移, 峰位从 570 nm 移至 553 nm, 280 nm 的吸收亦有所下降。圆二色谱的变化如图 1 b 所示, 随着温度的升高, 正负带同时减小。上述反应是可逆的, 当从 70℃ 恢复至室温时, 吸收光谱和圆二色谱可完全恢复, 表明紫膜在此温度范围未发生变性, 热稳定性较好。当升至近 90℃ 时, 激子峰完全消失, 仅留有正带。冷却后, 其紫外峰与可见峰之比从原来的 1.8 上升至 3.5, 说明在此高温生色团有一

定损失。

Jackson<sup>[3]</sup> 等人用 DSC 研究紫膜相变的结果也表明, 在低于 80℃ 时反应可逆, 高于 80℃



(a)

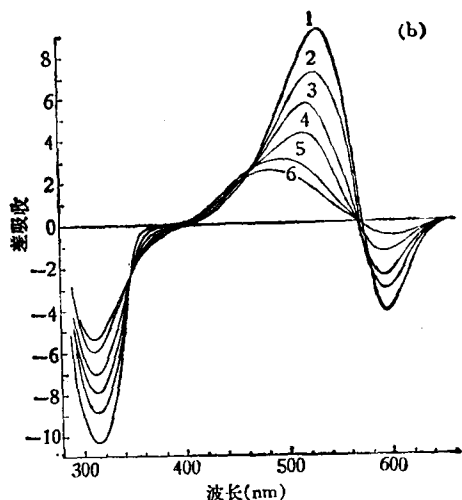


图 1 不同温度对紫膜吸收光谱(a)和圆二色谱(b)的作用

(a) 1. 16℃ 2. 32℃ 3. 41℃ 4. 50℃ 5. 68℃  
(b) 1. 19℃ 2. 40℃ 3. 57℃ 4. 70℃ 5. 80℃  
6. 88℃

\* 中国科技大学 1977 届学生。

时生色团发生分解。由此看来, 80℃ 以下圆二色的减小主要由于温度的升高增加了膜上蛋白分子的活动性, 加大了它们之间的平均距离, 使分子间相互作用减小, 从而导致激子带减小。而在高于 80℃ 时, 除了上述因素外, 生色团的部分损失直接破坏了相邻蛋白分子上的生色团之间的相互作用, 因此如同视杆外段盘膜的圆二色谱, 仅留有正带, 激子带完全消失。

另外应说明的是, 在此实验中由于紫膜放入测量槽内的时间较长, 因此所观察到的上述变化还包括有暗适应过程<sup>[4]</sup>。但对照实验表明, 温度引起的变化仍是主要的。

## (二) 不同 pH 对紫膜的作用

用加进微量 HCl 或 NaOH 溶液的方法调紫膜悬浮液的 pH。光适应紫膜在酸性影响下

的吸收和圆二色谱如图 2a 和 2b 所示。当 pH 值小于 7 时, 吸收峰有明显的红移现象, 峰位从 570nm 移至 590nm, 相应地圆二色谱也同样出现红移, 且激子相互作用依然存在。有关细菌视紫红质分子的颜色来源及其变化还是一个正在探索的问题。有报道认为<sup>[5]</sup>, 该蛋白生色团吸收峰的位置取决于视黄醛的 Schiff 碱键的质子化和生色团周围环境平衡离子的分布。游离态视黄醛分子的吸收峰一般在 370nm—380nm; 而和菌蛋白生成质子化的 Schiff 碱键后红移至 570nm。各种测量表明在中性条件下, 视黄醛的 Schiff 碱键是处于质子化状态的, 所以 pH 值的降低不会使视黄醛质子化状态本身发

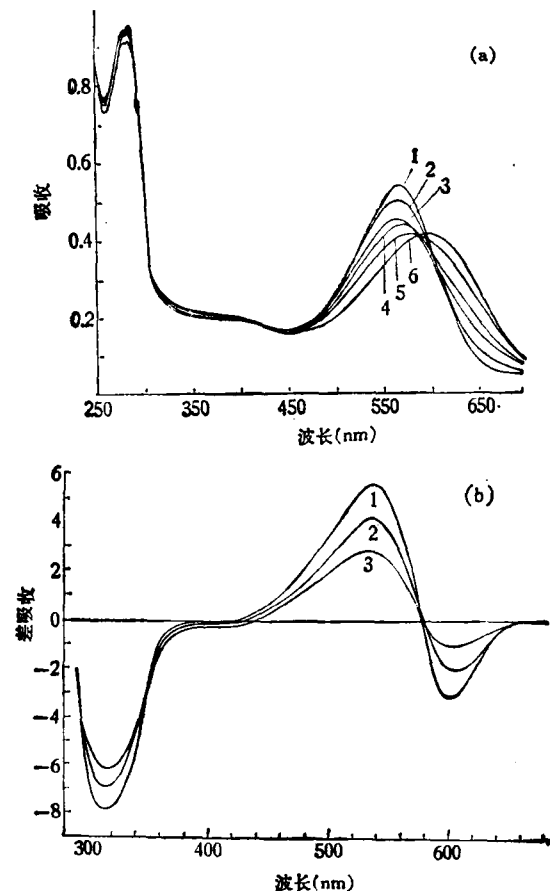


图 2 酸性对紫膜吸收光谱(a)和圆二色谱(b)的作用  
(a) 1. pH7.0 2. pH4.6 3. pH4.0 4. pH3.7 5. pH3.2 6. pH2.9  
(b) 1. pH7.0 2. pH4.0 3. pH3.7

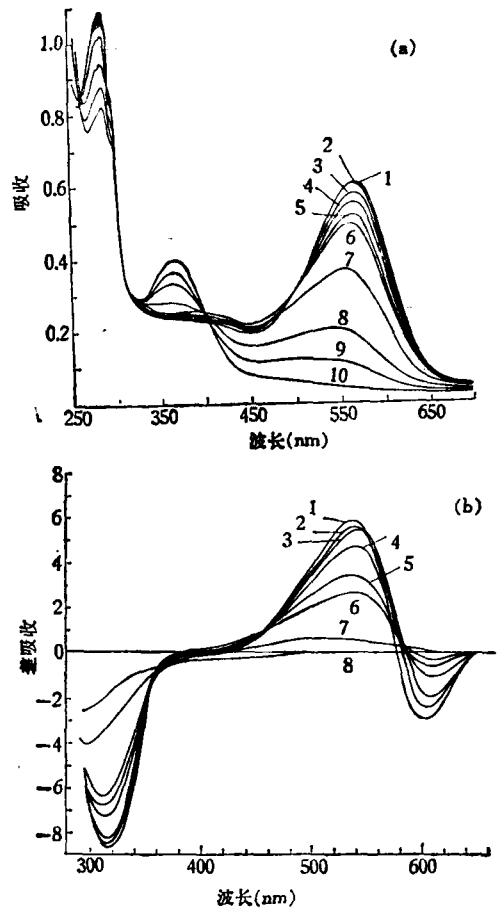


图 3 碱性对紫膜吸收光谱(a)和圆二色谱(b)的作用  
(a) 1. pH7.0 2. pH8.9 3. pH10.0 4. pH10.4 5. pH11.0 6. pH11.3 7. pH11.8 8. pH12.0 9. pH12.2 10. pH12.4  
(b) 1. pH7.0 2. pH9.7 3. pH10.3 4. pH11.6 5. pH12.0 6. pH12.2 7. pH12.4 8. pH12.5

生改变,很可能是蛋白上的可电离基团的质子化改变了生色团周围环境的平衡离子的分布,从而导致了吸收和圆二色谱的红移。

当 pH 值低于 3.7 时,紫膜悬浮液内开始出现兰色丝状聚合物,进而形成兰色颗粒状悬浮物,因此时散射较大,无法记录到真正的圆二色谱。但是当 pH 值恢复至中性时,光学活性可基本恢复。由此看来低 pH 值仅影响到紫膜蛋白上的可电离基团电荷数目的变化,而并不引起分子本身结构的破坏。

碱性对紫膜的影响如图 3a 和 3b 所示, pH 值在 7.0—9.0 范围变化时,吸收和圆二色谱基本都没有变化,表明光适应紫膜对碱性有相当的稳定性,并对埋藏其内的质子化 Schiff 碱键起了保护作用。

当 pH 从 9 升至 11.3 时,吸收峰略有兰移,圆二色谱的正负带略有下降,但此变化是可逆的,表明在此 pH 范围内仅涉及到膜蛋白分子的三级结构变化。当 pH 高于 11.3 时,则可见吸收峰很快下降,同时伴有 370nm 吸收峰的出现。紫外吸收亦发生了较激烈的变化。且圆二

色谱的正、负带也明显减小,趋于形成单个的正带,最后当 pH 升至 12.5 时,570nm 吸收峰基本消失,圆二色性也完全消失。和强酸的作用明显不同的是,强碱最后会导致紫膜蛋白结构的不可逆破坏。实验中 370nm 吸收峰的出现和圆二色性的全部丧失表明强碱不仅使 Schiff 碱键非质子化,而且使其完全暴露于水的环境中,从而失去了和蛋白分子的相互作用,致使紫膜分子完全丧失了光学活性。

本实验承邹惠君和六室离心机组同志协助,特此感谢。

## 参 考 文 献

- [1] Becher, B. and Ebrey, T. G.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **69**, 1—6, 1976.
- [2] Becher, B. and Cassim, J. Y.: *Prep. Biochem.*, **5**, 161—178, 1975.
- [3] Jackson, M. B. and Sturtevant, J. M.: *Biochemistry*, **17**, 911—915, 1978.
- [4] Becher, B. and Cassim, J. Y.: *Biophys. J.*, **16**, 1183—1200, 1976.
- [5] Honig, B. and Ebrey, T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **76**, 2503—2507, 1979.

[本文于1983年8月23日收到]

# 辐射对三种类型的淋巴细胞 DNA 及 RNA 合成能力的影响

刘克良 苏燎原 薛智谋 陶明山\* 耿勇志

(苏州医学院放射损伤学教研室)

正常人外周血淋巴细胞,包含不同的亚群,分别执行细胞免疫、体液免疫及维持免疫平衡等重要功能。辐射损伤后免疫功能受抑制。利用同位素双标记技术<sup>[1]</sup>,以 <sup>3</sup>H-TdR 及 <sup>14</sup>C-UR 示踪,观察不同剂量 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  线照射后,血中三种不同类型的淋巴细胞,在体外培养转化过程中 DNA 及 RNA 的合成能力,比较两种标记化合物在不同类型淋巴细胞中的掺入率;并依据辐射对三种不同类型淋巴细胞中, DNA 及 RNA 两种生物大分子合成的受抑程度,反映血

中三种类型淋巴细胞的辐射敏感性。

## 一、实验方法

正常人外周血 6 毫升,肝素抗凝,每份血分装 4 瓶,<sup>60</sup>Co- $\gamma$  线照射,距离 70 厘米,剂量率 75.9 拉德/分,分别照射 25、160、400 拉德三种剂量。培养在含三种不同分裂原的 RPMI1640 (日本)+13% 人 AB 血清及适量青、链霉素的

\* 核物理学教研室。