

克邻硝基酚和 8 克新熔化并研成粉末状的氯化锌,置 120—130℃ 内保温。用水泵减压蒸发反应 20 分钟,得深红色反应液,自然冷却后,用 200 毫升水和 200 毫升苯的混合液振摇,吸去灰黄色水层,深红色苯层,用水洗二次(每次 200 毫升),再用冰冷的 2N 氢氧化钠洗三次(每次 200 毫升)。以便除去过量的邻硝基酚。最后用水将苯层洗至 pH = 6,淡黄色苯层在 40℃ 水浴中减压蒸发除去苯。残留物加少量乙醇,继续减压蒸发,直至将苯完全除净,结晶用最少量无水乙醇加热溶解,0℃ 放置过夜。次日,用布氏漏斗过滤收集结晶,结晶置真空干燥(P_2O_5)。产物 10 克,产率约 40%,熔点 160℃;旋光 $[\alpha]_D^{20} + 170^\circ$ (在氯仿中 $C = 1.0$)^[3]。

4. 邻硝基酚- α -D-半乳糖苷 在 250 毫升三角烧瓶中,放置 4 克四乙酰基-邻硝基酚- α -D-半乳糖苷,200 毫升无水甲醇,成悬浮液,在冰浴中冷至 0℃,滴加 4 毫升 0.4N $Ba(OH)_2$ 甲醇溶液,使其反应液 pH = 9,在 0℃ 放置 24 小时,并经常摇动,直至固体全部溶解(若有部分不溶可添加适量 0.4N $Ba(OH)_2$)。然后将水解液用阳离子树脂去钡纯化:在直径为 2 厘米的玻璃层析柱中,装入 732 树脂,树脂层高为 6 厘米,用 2N HCl 处理 $[H]^+$ 型、用水洗至中性,用甲醇脱去树脂中的水,将树脂浸没在甲醇中。将水解液流经树脂(流速 40 毫升/分)。收集流出液,而后用 100 毫升甲醇洗柱,充分洗下产品,收集液在 30℃ 水浴中减压蒸发除去甲醇,结晶用最少量无水乙醇加热溶解,0℃ 下放置过夜。次日用布氏漏斗收集结晶。此结晶再用最少量无水乙醇纯化一次,置真空干燥(P_2O_5),得

1.6 克。产率 62%;熔点 145—147℃;旋光 $[\alpha]_D^{20} + 224^\circ$ ($C = 0.8$ 在水中)^[3]。

几点说明

1. 在制备四乙酰基-邻硝基酚- α -D-半乳糖苷时,我们采用减压蒸发的方法除去反应过程中释放出来的乙酸,使反应单向进行,从而使这一步的产率由 5% 提高到 40%。应注意的是:用此方法制备的乙酰基-苯酚- α -D-葡萄糖苷需要反应两小时,而制备四乙酰基-邻硝基酚- α -D-半乳糖苷只需二十分钟,如时间过长产品将会碳化。

2. 我们用上述方法制备的四乙酰基-邻硝基酚- α -D-半乳糖苷的熔点 160℃,旋光 $[\alpha]_D^{20} + 170^\circ$,比文献报道熔点是 175—176℃ 旋光 $[\alpha]_D^{20} + 178.5^\circ$ 为低,但不必进一步纯化,因这并不影响最后产品的质量。

3. 最后产品用阳离子树脂去钡纯化时,应在低于 4℃ 的条件下进行,以免产品分解。

4. 邻硝基酚及其衍生物,紫外线照射下有显色反应,因此,可根据柱上的流出液滴在滤纸上烘干后,用紫外灯照射是否显出紫色斑点,判定是否已全部洗净。

参考文献

- [1] Erwing and Koenig.: *Bor.*, **22**, 2207, 1889.
- [2] Hudson, C. S., and Parker, H. O.: *J. A. C.*, **5**, 37, 1589, 1915.
- [3] Porter, C. J., Holmes, R.: *J. Gen. Physiol.*, **37**, 271, 1953.

[本文于 1979 年 6 月 12 日收到]

日本生物物理学研究的发展

李 晔

(中国科学院生物物理研究所)

生物物理学是一门内容丰富,正在发展中的边缘学科,目前还没有公认的一致定义。就

日本科学家们来说,他们的看法大体上是这样的:生物物理学是运用物理学的观点和方法研

究生命现象的一门学科。它研究生物大分子的物理性质和结构,试图在分子水平上,甚至在亚分子水平上,揭示生命现象的奥秘,弄清生命活动的机制。其方法首先是将生命现象模型化,然后运用物理学的观点或采用电子计算机模拟等进行研究。它与分子生物学、生理学、生化学、遗传学,分子进化论等协同进行研究,并向这些学科渗透。

1951年蛋白质 α 螺旋模型及1953年DNA双螺旋模型问世后,分子生物学取得惊人的进展。这对日本也产生了积极影响。于是成立了新的科研机构,出版了新书刊,学术气氛空前高涨。例如当时小林物理研究所,每周都召开座谈会,会上发表讲演的有科学家小谷正雄、杉田元宜、渡边得之助、冈小天等人。冈小天谈关于生物学,一连几讲很受欢迎。会上还有人介绍了欧美科学家的著作,如Schrödinger的《什么是生命?》(“What is Life?”),以及Rashevsky的《数学生物学》(“Mathematical Biology”)等。这是日本物理学家研究生物学的开端,也是日本生物物理学的萌芽阶段。

五十年代后期,随着量子力学、计算技术等飞速发展,推动许多科学工作者在更高水平上,从物理学途径研究生命现象。如1958年Kroopf和Hubbard试用量子论解释视色素视紫红质的最大吸收波长红移现象。又如在肌红蛋白和血红蛋白的晶体结构分析方面,采用电子计算机解决了复杂体系的研究困难。另外理论方面信息论、不可逆过程热力学和统计力学及固体物理理论取得了很大进展,各种光谱学测量仪器也飞速地发展起来。在上述形势的影响下,以小谷正雄为首的开拓者们共同努力,1960年12月创立了日本生物物理学会。小谷正雄任第一届委员长(现改称会长)。当时会员约1600名。学会的机关刊物《生物物理》(日文)于1961年7月创刊。另外1962—1966年还发行了《日本生物物理研究团体年度报告》(“Annual Report of the Research Group on Biophysics in Japan”)。

学会成立初期,面临的最迫切问题是确定

科研体制,及如何培养年轻的一代生物物理学工作者。因此《生物物理》自创刊以来登载了生物科学五年计划方案以及生物物理学的未来规划和生物物理所建所方案等。当时还到札幌、大阪、福冈等地调查,并征集生物物理学长期研究课题。最后于1965年初成立了生物物理特定研究设施,共分物性、分子遗传、分子生理、细胞生物物理、生物功能五个研究部门,于1967年在京都大学设立了生物物理系,在大阪大学设立了生物工程系;并于1968年向政府提出申请成立生物物理基础研究所。

虽然至今日本尚未建立生物物理所,但前后制订的几个建所方案及征集的长期研究课题等,对日本生物物理学研究的发展,却起了指导作用。还应指出,生物物理特定研究设施贡献很大。这些设施开展研究活动六年后,在日本奠定了三方面的基础:即物性、分子生理、分子遗传。但这些内容不完全属于生物物理学的研究范围,因而该设施撤销,将其工作划归到其他单位。

1971年2月为了纪念生物物理特定研究设施的结束,举行了物性专题讨论会,并召开了生物物理报告会。从这些学术活动来看,由于测量仪器与电子计算机相配合,在下列各方面取得很大进展:分析核酸、蛋白质等的电子结构;研究光合作用的电子转移及酶反应过程的电子理论;关于线性生物大分子螺旋一线团的转变;生物大分子的变性、再生的统计力学的研究;关于电解质溶液基本方程式(Poisson-Boltzmann)的研究;采用X射线研究酶及其中间体以及RNA的结构;用电子显微镜研究生物膜的结构及其相变;采用紫外、红外、电子自旋共振、圆二色性、核磁共振、激光拉曼等研究生物体分子的电子结构,分子状态及其变化等;以温度跃迁法等手段研究生物体系反应的动力学过程和弛豫过程等。在理论和实验方面获得显著成果的是:酶反应、光合作用以及视觉原初过程的机制;蛋白质的刚性、柔性、变性和再生;膜结构的转变现象等。

从日本生物物理学历届年会内容可以看

出, 年会早期的内容较分散, 多是启蒙式的探讨; 近来的内容较专一, 多为专题性的讨论。当前日本较侧重研究物性、视觉、肌肉、肌动蛋白等, 而生物膜的研究往往与肌肉的研究密切结合, 并着重研究可兴奋膜。这与国际上生物物理学工作的主流基本上是一致的。

第六届国际生物物理会议于 1978 年 9 月在日本京都举行, 会前在《生物物理》上以专栏介绍目前国际上生物物理学几个方面的研究现状, 如吉沢透的《关于光物理过程 II (视紫红质) 研究的现状》; 外山敬介的《大脑中视觉信息研究的现状》; 香川靖雄的《关于生物膜组装研究的现状》等。大会收到的论文共 1200 多篇, 从中选出 124 篇分别在 24 个专题讨论会上宣读, 其中日本的就有 23 篇。还应指出的是本届国际会议新增专题, 如光物理过程, 生物能力学, 量子生物物理学, 环境生物物理学, 超细胞生物物理学等专题讨论中, 日本都有论文宣读。会后, 日本生物物理学会又邀请了参加国际会议的各国科学家进行了学术讨论。在讨论中有人认为近年来在国际范围内, 给人印象较深的有: Monod-Wyman-Changeux 的变构理论; Glansdorff-Prigogine 的关于耗散结构的热力学理论; Eigen 的自组织与进化论。另外, 微微秒快速反应技术的发展, 使光合作用的研究以及视觉原初过程机制的研究进入了一个新阶段。Hopfield 和 Jortner 关于光合作用系统中分子间电子转移理论的研究很引人注目。有人还提出, 物性研究方面今后的重大课题之一是生物大分子在水溶液中的性质, 特别是在电解质溶液中所表现出的统计力学和热力学性质, 与微观信息方面的互相联系。这次国际会议在日本召开, 对日本生物物理学的发展、机构的建立、人才的培养都起了很大推动作用。

目前日本生物物理学的研究工作分散在高等院校, 研究单位及工业企业部门等进行, 其中有一些重点单位。例如京都大学生物物理系, 设备完善, 实力很强, 许多名教授, 如寺本英、吉沢透、大西俊一、小关治男等都在该系任职, 主要研究理论生物物理、量子生物物理、生物大分

子的反应动力学等。东京大学一向是将生物物理的研究工作放在物理系里进行, 有关的研究室共三个: (1) 和田昭允研究室: 研究生物大分子的结构与功能, 并研究有关的新仪器, 开拓新技术、新方法; (2) 堀田凯树研究室: 着重研究中枢神经系统与行为的关系; (3) 江桥节郎、若林健之研究室: 研究肌肉收缩的生物化学。三个室工作的角度各不相同, 和田研究室侧重从物理学角度开展研究, 堀田研究室侧重从生物学角度, 而江桥、若林研究室则居中。大阪大学生物物理工程系设有大沢文夫研究室, 研究生物体运动的分子机制; 低等生物的行为; 生物膜兴奋现象, 细胞的离子调节机理等; 而大沢文夫本人从事肌动蛋白的研究已有近 30 年的历史。名古屋大学物理系设有理论生物物理研究室, 右卫门佐重雄在该系工作。另外, 京都大学化学研究所, 东京大学脑研究所、医学研究所; 名古屋大学分子生物学研究所; 静冈大学电子学研究所; 大阪大学生物系、物化生理系; 九州大学生物系; 东京理学院; 自治医学院; 国立癌症中心研究所; 国立基础生物学研究所细胞生物学研究室; 东京肿瘤研究所; 三菱化成生命科学研究所; 物理与化学研究所; 国立农业科学研究所昆虫学部; NHK 广播公司科学实验实验室等等, 也都进行生物物理方面的研究工作。

综上所述, 自学会成立 19 年来, 日本生物物理学也有了很大发展, 会员已达两千多人, 研究人员及研究经费也增加不少, 除发行《生物物理》外, 1969 年起又出版了《生物物理进展》(“Advances in Biophysics”) 以及年会的文摘《稿集》等。目前日本生物物理研究工作虽是分散在许多单位进行, 但因有学会的领导, 在学科的规划布局、大型新仪器的研制, 新实验技术的使用, 理论与实践的结合等方面加以组织或协调, 因而, 发展迅速, 成果累累, 人才辈出, 就其水平而论, 与国际水平也不相上下。

参 考 资 料

- [1] 右衛門佐重雄等: 《生物物理》, Vol. 18 (6), 4—7, 49—50, 1978。

(下转 44 页)

物^[9]。LamB 基因是麦芽糖操纵子 (malB) 中的一个结构基因。麦芽糖操纵子受 cAMP-CRP 的调控。当细菌的 cAMP 水平降低时, 麦芽糖操纵子的转录受到抑制, λ 吸附蛋白的合成就减少, λ 噬菌体的吸附能力也随之下降^[10]。

葡萄糖效应是微生物学中一个熟知的现象。葡萄糖能降低细菌中的 cAMP 水平, 从而关闭掉许许多多的启动子, 抑制诱导性蛋白质的合成。大肠杆菌的麦芽糖操纵子也受葡萄糖的抑制。因而当培养基中加入葡萄糖时, LamB 基因的转录受到抑制, 细菌不能合成吸附蛋白, λ 噬菌体的吸附力就大大降低。但如果加入麦芽糖和 cAMP, 大肠杆菌又会合成吸附蛋白^[11]。因此, cya^- 或 crp^- 突变型在不加 cAMP 时对噬菌体是具有抗性的。这方面的研究对防止细菌培养中的噬菌体感染和选育抗噬菌体的细菌品系具有实际意义。

四、cAMP 对 λ 噬菌体作用于寄主细菌基因的影响

噬菌体与其寄主的基因活动是相互影响着。A. M. Wu 等^[12]报道, λ 噬菌体能抑制其寄主大肠杆菌半乳糖操纵子的表达, 从而降低寄主中 β -半乳糖苷酶的合成速率。当培养基中加入外源性 cAMP 时, 合成速率即可恢复到原来水平。 λ 噬菌体可能降低寄主细菌中的 cAMP 浓度。对于噬菌体 N4, 也发现了同样的

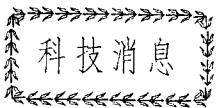
情况。

此外, 当缺乏 cAMP 时, λ 噬菌体即易进入裂解发育途径。 λ 噬菌体利用寄主细菌的基因因为它工作, 而关掉它所不需要的寄主基因。但在野生型 $cya^+ \cdot crp^+$ 寄主中或供应外源性 cAMP 的情况下, 这时如果没有其它诱导裂解的因素, λ 噬菌体通常进入溶源化发育途径, 它与寄主的 DNA 同步复制, 寄主细菌的基因仍然正常地工作, 甚至还可得到 λ 噬菌体从外面带进来的其它基因, 并加以利用, 获得新的功能。这一点, 对遗传工程是具有重要意义的。

参 考 文 献

- [1] 劳为德:《生物化学与生物物理进展》, 1978 年, 第 5 期, 第 32 页。
- [2] Grodzicker, T. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **69**, 366, 1972.
- [3] Rao, R. N. & Raj, C. V.: *Mol. Gen. Genet.*, **125**, 119, 1973.
- [4] Belfort, M. & Wulff, D.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **71**, 779, 1974.
- [5] Pastan, I. et al.: *Bact. Rev.*, **40**, 527, 1976.
- [6] Jordan, E. et al.: *ibid.*, **55**: 521, 1973.
- [7] Rolfe, B. et al.: *Mol. Gen. Genet.*, **120**, 1, 1973.
- [8] Peterkofsky, A.: *cyclic nucleotides in Bacteria*, [2], p. 1, 1976.
- [9] Hofnung, M.: *Genetics*, **76**, 169, 1974.
- [10] Pearson, M. L.: *Virology*, **49**, 605, 1972.
- [11] Ryter, A. et al.: *Excerpta Medica, Sec. 4, Microbiol.*, **29**, 358, 1976.
- [12] Wu, A. M. et al.: *Bacteriophage Lambda*, p. 589, 1971.

[本文于 1978 年 11 月 9 日收到]



科技消息

有高缠绕的 DNA 存在的定量测定弛豫

闭环 DNA 含量的方法

——改进的“开闭酶”荧光测定

这里描述的方法系利用最近发现的蛇毒磷酸二酯酶单链内切酶活力的改进荧光检定法。单链特异内切酶具有可作用于 PM₂ DNA (DNA I), 使它转变成开放型 DNA, 但不能作用于弛豫的 DNA (DNA I') 的特点。DNA I' 由荧光方法定量测定(利用它的共价键

闭环 DNA。DNA I + DNA I' 混合物中 DNA I' 的百分比的测定可达 $\pm 1\%$, 这方法也用来测定被 SV40 感染的猴细胞中半纯化的“开闭酶”活性。DNA I 含量在 0—0.4 μg 范围内呈线关系, 灵敏度达 $\pm 0.01 \mu\text{g DNA I'}$ 。

摘自“Anal. Biochem.”, **93**, 346—354, 1979

(上接 801 页)

- [2] 6th Int. Biophysics Cong. Abstracts, Kyoto, Japan, 1978.
- [3] 小谷正雄: 生物物理学年表,《生物物理实验ハンドブック》,吉岡書店, 527—536, 1970.
- [4] 《全国试验研究机关名鉴》, 1977—1978 年度版。
- [5] 日本生物物理年会第 1、2、3、16、17 届《预稿集》。

[本文于 1979 年 12 月 6 日收到]