

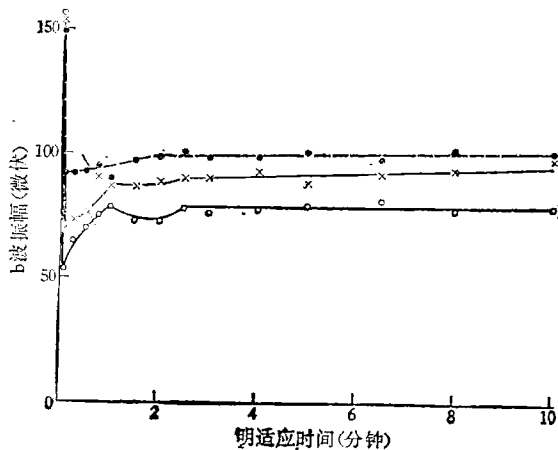


图5 蛤蚧 ERG-b 波振幅在明适应过程中的变化

纵坐标为 b 波振幅(微伏),横坐标为明适应时间(分钟)。曲线 I 的 $\log I_B = -3.452$, $\log I = -2.171$, 是四次实验结果的平均值。

曲线 II 的 $\log I_B = -0.741$, $\log I = -1.528$, 是四次实验结果的平均值。

曲线 III 的 $\log I_B = 0$, $\log I = -0.643$, 是三次实验结果的平均值。

讨 论

蛤蚧在明适应过程中,无论明适应光的强度如何,其视网膜的敏感度都先下降,而后又部分恢复。只是在弱明适应光的情况下,恢复不明显。关于这一恢复机制,杨雄里等^[4]认为在混合型网膜中是视锥细胞的适应特性,是视锥细胞在这种情况下从视杆细胞对其抑制中解脱出来所致。据 Kleinschmidt 等^[5]的推测,蛤蚧视网膜中那种比较小的视杆细胞,似具有视锥细胞的适应特性,如在高强度背景光时,辨增阈并无饱和的趋势。也有工作表明,这些细胞的一

部分所含视色素的吸收光谱峰值为 470—480 nm^[6],而在明视时,蛤蚧的 ERG-b 波光谱敏感度峰值确实有向短波方向位移的倾向^[7,8,9]。Dodt 等^[10]的工作也早已表明蛤蚧的 ERG 兼有暗视和明视系统的特征。Walls 提出的演变学说(transmutation theory)^[2]认为,夜行的壁虎是从昼行的祖先演变来的,其视细胞处于从视锥细胞向视杆细胞转变的一种中间状态,在形态学上兼有两种特征,这可能就是蛤蚧兼有明视、暗视特性的原因。

本实验得到章正廉、谈曼琪、齐翔林、刘宗汉、雷志才及洪善贤(昆明298厂)等同志帮助,谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Tansley, K.: *Vision Res.*, 4, 35, 1964.
- [2] Crescitelli, F.: *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. VI/1, Springer-Verlag, New York, 1972, 245.
- [3] 杨振玉、杨雄里:《生物化学与生物物理进展》,1978年,5期,14页。
- [4] 杨雄里等:《生物化学与生物物理进展》,1978年,10卷,15页。
- [5] Kleinschmidt, J. and Dowling, J. E. *J. Gen. Physiol.*, 66, 617, 1975.
- [6] 马万禄、蔡浩然、张允芝、赵东坡:《科学通报》,1975年,24期,1137页。
- [7] Crescitelli, F.: *Ciba Foundation Symposium Colour Vision*, 1965, 301.
- [8] Crescitelli, F.: *Vision Res.*, 6, 129, 1966.
- [9] 马万禄、张允芝、蔡浩然:《蛤蚧视网膜电图b波的光谱敏感性》,待发表。
- [10] Dodt, E. and Jessen, K. M.: *J. Gen. Physiol.*, 44, 1143, 1961.

[本文于1980年2月5日收到]

蛋白质晶体结构测定通用程序之一

——差值帕特逊法确定蛋白质同晶型衍生物中重原子位置

宋 时 美 李 军

(中国科学院生物物理研究所)

多对同晶置换和反常散射法是目前测定生物大分子晶体结构的主要方法。这一方法可以概括为以下五个步骤;

1. 培养出适用于衍射的蛋白质晶体。
2. 制备两个以上与蛋白质母体同晶型的重原子衍生物。

3. 测定衍生物中重原子位置, 并进行重原子参数的初步修正。

4. 利用概率法求出蛋白质母体相角, 并用重原子参数与母体相角交替修正法修正蛋白质母体相角。

5. 计算并分析最佳电子云密度图, 从而获得蛋白质空间结构。

在此法中, 除应具备合乎要求的蛋白质晶体和重原子衍生物以外, 还必须有一套较好的计算程序。其中又以确定蛋白质同晶型衍生物中重原子位置程序和计算蛋白质母体相角程序最为重要。虽然国外也有同类程序, 但不适用于目前国产电子计算机。在过去的二钨猪胰岛素晶体结构测定中, 我国晶体学工作者曾在 109 丙机上用机器语言编过 R3 空间群的计算程序, 为当时结构测定工作做出了贡献。现在, 我们又吸取了国内外程序的优点, 并结合了当前国产电子计算机的特点, 在 013 大型电子计算机上使用 BCY 算法语言编制了一套新的通用程序。本文将其中的一个介绍如下:

一、方法概要

在同晶置换法中, 帕特逊函数法主要是用来测定衍生物中重原子的位置。为了避免向量峰相互重叠所造成分析上的困难, Kartha^[1] 等提出了差值帕特逊函数法。

1. “同晶”差值帕特逊函数

在向量三角形 ABC 中, 如图 1

$$(F_{PH} - F_P) = F_H \cos(\alpha_{PH} - \alpha_H) - 2F_P \sin^2((\alpha_{PH} - \alpha_P)/2)$$

式中 F_{PH} —蛋白质重原子衍生物结构因子的模。

F_P —蛋白质母体结构因子的模。

F_H —重原子结构因子的模。

α_{PH} —衍生物的相角。

α_P —蛋白质母体相角。

α_H —重原子的相角。

由于 $\sin^2((\alpha_{PH} - \alpha_P)/2)$ 的值很小, 所以上式可近似写成:

$$(F_{PH} - F_P) = \Delta F_{iso} \approx F_H \cos(\alpha_{PH} - \alpha_H)$$

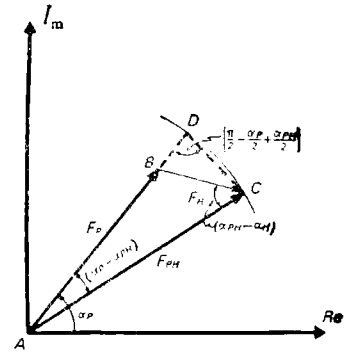


图 1

将余弦项用指数形式展开后平方:

$$\begin{aligned} \Delta F_{iso}^2 = & \frac{1}{2} F_H^2 + \frac{1}{4} (F_H^*)^2 \exp(2i\alpha_{PH}) \\ & + \frac{1}{4} (F_H)^2 \exp(-2i\alpha_{PH}) \end{aligned}$$

式中

F_H^* —重原子结构因子的共轭复数。

第一项在向量图中的 $\pm(\mathbf{r}_{H_i} - \mathbf{r}_{H_j})$ 处给出高为 $\frac{1}{2} f_{H_i}, f_{H_j}$ 的重原子向量峰。第二项和第三项在图中给出背景。(这里 $\mathbf{r}_{H_i}, \mathbf{r}_{H_j}$ 是第 i 个和第 j 个重原子的位置, f_{H_i}, f_{H_j} 分别为它们的散射因子。)

2. “反常”差值帕特逊函数

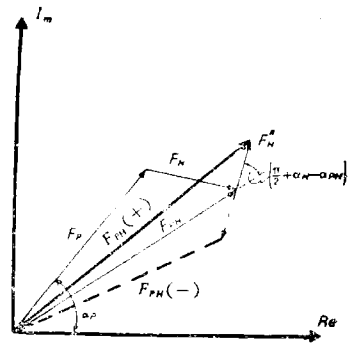


图 2

从图 2 可见

$$\begin{aligned} F_{PH(+)}^2 = & F_P^2 + (F_H^+)^2 \\ & + 2F_P F_H^+ \cos\left(\frac{\pi}{2} + \alpha_H - \alpha_{PH}\right) \end{aligned}$$

$$F_{PH}^{2(-)} = F_{PH}^2 + (F_H'')^2 - 2F_{PH}F_H'' \cos\left(\frac{\pi}{2} + \alpha_H - \alpha_{PH}\right)$$

式中

$F_{PH}^{(+)}$, $F_{PH}^{(-)}$ 分别为倒易空间正、负半球衍射的 F_{PH} 。 F_H'' 是重原子反常散射虚部分量的向量和的模。假设

$$\frac{1}{2} [F_{PH}^{(+)} + F_{PH}^{(-)}] \approx F_{PH},$$

则可导出

$$\begin{aligned} (F_{PH}^{(+)} - F_{PH}^{(-)}) \\ = \frac{2f''}{f'} F_H \sin(\alpha_{PH} - \alpha_H) \end{aligned}$$

令

$$\Delta F_{ano} = [F_{PH}^{(+)} - F_{PH}^{(-)}] \cdot \frac{f'}{2f''}$$

则

$$\Delta F_{ano} = F_H \sin(\alpha_{PH} - \alpha_H)$$

上式的正弦项用指数形式展开后再平方:

$$\begin{aligned} (\Delta F_{ano})^2 &= \frac{1}{2} F_H^2 - \frac{1}{4} (F_H^*)^2 \exp(2i\alpha_{PH}) \\ &\quad - \frac{1}{4} (F_H)^2 \exp(-2i\alpha_{PH}) \end{aligned}$$

式中第一项与“同晶”差值向量图一样给出重原子之间的向量峰,第二项和第三项给出背景,所不同的是它与“同晶”差值向量图的背景正好相反,峰变谷,谷变峰。

3. “同晶”加“反常”差值帕特逊函数

如果将 $(\Delta F_{iso})^2$ 与 $(\Delta F_{ano})^2$ 相加则得

$$\begin{aligned} (\Delta F_{iso})^2 + (\Delta F_{ano})^2 &= F_H^2 [\cos^2(\alpha_{PH} - \alpha_H) \\ &\quad + \sin^2(\alpha_{PH} - \alpha_H)] = F_H^2 \end{aligned}$$

同时利用向量三角形也可直接导出

$$\begin{aligned} F_H^2 &= F_{PH}^2 + F_P^2 \\ &\quad - 2 \left[F_{PH}^2 F_P^2 - \frac{K_a^2}{4} (F_{PH}^{(+)} - F_{PH}^{(-)})^2 \right]^{1/2} \end{aligned}$$

在以 F_H^2 为系数的向量图中,理论上只给出重原子之间的向量峰而背景相消,实际上由于实验误差的存在,背景只是小一些而已。

在本程序中采用的帕特逊函数公式为

$$\begin{aligned} P(uvw) &= \frac{2}{V_c} \sum_{h=-\infty}^{+\infty} \sum_{k=-\infty}^{+\infty} \sum_{l=0}^{+\infty} F(hkl)^2 \\ &\quad \cdot \cos 2\pi(hu + kv + lw) \end{aligned}$$

为了便于对比分析,程序中给出可供选择的五种系数是:

- 1) $(\Delta F_{iso})^2 = (KF_{PH} - F_P)^2$
- 2) $(\Delta F_{ano})^2 = (F_{PH}^{(+)} - F_{PH}^{(-)})^2 \frac{K_a^2}{4}$
- 3) $F_H^2 = F_P^2 + K^2(F_{PH}^{(+)} + F_{PH}^{(-)})/2$
 $- \left\{ 2F_P^2 [K^2(F_{PH}^{(+)} + F_{PH}^{(-)})] \right.$
 $\left. - \left(\frac{K_a \omega}{2} \right)^2 [K^2(F_{PH}^{(+)} - F_{PH}^{(-)})^2] \right\}^{\frac{1}{2}}$
- 4) F_P^2
- 5) F_{PH}^2

此外,为了适应重原子法测定小分子晶体结构的需要,程序中设立了只输 F^2 数据的控制开关,可以直接计算向量图。其中 F^2 是一般小分子结构因子的模。

以上几个公式中, ω 是权函数,根据反常散射数据实验误差估计给出。 $K_a = \frac{f'}{f''}$, 采用威尔逊统计法求出^[2,3]。 K 是母体与衍生物的强度的相对比例常数,采用张华同志^[4]推导的公式:

$$\begin{aligned} K &= \frac{K_{PH}}{K_P} = \frac{2 \sum_{i=1}^n F_{Pi} F_{PHi}}{\sum_{i=1}^n F_{PHi}^2} \\ &\quad \times \left\{ 1 \pm \left[1 - \frac{3}{4} \frac{\sum_{i=1}^n F_{Pi}^2 F_{PHi}^2}{\left(\sum_{i=1}^n F_{Pi} F_{PHi} \right)^2} \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \end{aligned}$$

式中 n 为衍射点数。当 $F_H \rightarrow 0$ 时,此式取负号。

二、程序结构

关于傅里叶级数的运算,目前常用的方法有:1) 逐点算法,2) Beavers-Lipson 法,3) 查表法,4) 快速傅里叶法(FFT法)。我们采取的基本是 B-L 法,为了既适应 230 个空间群的需要,又能节省存储单元和计算时间,对输入的独立区衍射数据,用与空间群对称性相关的矩阵进行变换,并利用循环技巧,使得该程序与单一空间群的程序相比,在占用存储单元和计

算时间上没有显著增加,而适用范围却大大扩展了。

为了便于使用,程序中设置了控制台开关,以便自由选择所要计算的 $P(uvw)$ 图的种类和截面方向。并可在算完一种图后无需重新输入数据,只要变换控制台开关,即可进行另一种图的计算。

该程序的计算步骤用框图表示如下。

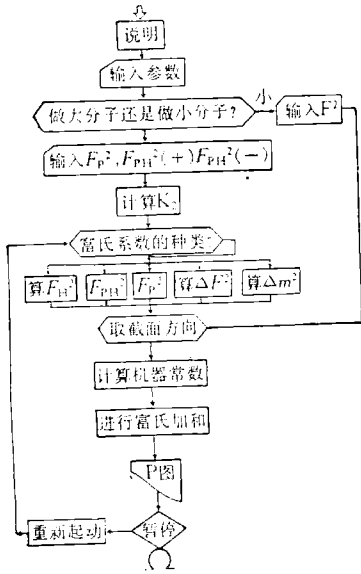


图 3

三、程序功能

差值帕特逊函数程序适用于 230 个空间

群,可以计算以 $(\Delta F_{iso})^2$ 、 $(\Delta F_{ano})^2$ 、 F_H^2 、 F_{PH}^2 、 F_P^2 、 F^2 为系数的六种向量图;每种向量图又可自由选择 a 、 b 、 c 三个方向。

四、讨论

该程序编成后,经过模型数据验算,并在 B 链羧端去五肽胰岛素晶体结构测定的计算中得到实际应用^[5]。根据 013 机内存分配情况,凡独立区衍射点数不超过一万的均可使用该程序计算。

此外,我们还编制了与此程序在结构上相同的通用电子云密度程序。该程序同样能适用于 230 个空间群,可通过控制台开关自由选择 a 、 b 、 c 三个截面方向,计算一个或连续几个方向的电子云密度图。该程序不仅可以单独使用,而且可与“通用概率法计算蛋白质母体相角程序”(另文发表)联合使用。

参 考 文 献

- [1] Kartha, G. et al.: *Acta Cryst.*, **18**, 745, 1965.
- [2] Matthews, B. W.: *Acta Cryst.*, **20**, 230, 82, 1966.
- [3] Dodson, E. et al.: *Acta Cryst.*, **B27**, 2402, 1971.
- [4] 张华:《科学通报》,1979 年,19 期,899 页。
- [5] 王家槐等:《科学通报》,1980 年,8 期,369 页。

[本文于 1979 年 12 月 25 日收到]

受照狗血清-菲啶溴红络合物的荧光变化

陈逸诗 严国范 曹恩华 袁志安

(中国科学院生物物理研究所)

自六十年代后期 Lepecq 提出利用荧光探针菲啶溴红 (Ethidium Bromide) 测定微量核酸的荧光方法以来^[1],已广泛应用在生物组织细胞样品中核酸测定上。1972 年 Richard C. K. 用菲啶溴红染料测定了正常人血浆中核酸的含量^[2]。1979 年我们曾用此法测定组织中微量的

核酸^[3]。随后又试用菲啶溴红荧光方法观察受照动物一年内血清-菲啶溴红荧光强度的变化。现将后一工作结果介绍如下。

一、材料和方法

(1) 动物 成熟狗,雄性,杂种;大白鼠,雄