

分子磷/毫克蛋白/小时)。

二、实验结果与讨论

表 1 实验结果表明:

(1) 大脑皮层 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力在发育过程中随年龄的增长而增加。由新生至成年皮层的 Ca-ATP 酶活力分别为 2.3 和 3.3 微克分子磷/毫克蛋白/小时, 酶活力增加 42.3% ($p < 0.01$), Mg-ATP 酶活力分别为 2.00 和 3.61 微克分子/毫克蛋白/小时, 酶活力增加 80.5% ($p < 0.01$)。但在老化过程中该二酶的活力无变化。

(2) GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 在体外对不同年龄大鼠大脑皮层匀浆的 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力皆有显著的提高作用, 如对新生动物大脑皮层 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力分别升高 46.6% 和 44.0%; 成年的分别升高 30.6% 和 26.9%, 老年的分别升高 23.4% 和 49.5%。

由以上结果可以看出, 大脑皮层 Ca^{++} 、

Mg^{++} 激活的 ATP 酶活力随发育过程而升高, 而在老化过程中不变。GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 对该二酶的活力在发育和老化过程中皆有显著的提高作用。虽然 GABA 对老年大鼠大脑皮层匀浆 Ca-ATP 酶活力的增高值 (23.4%) 似有比成年和新生大鼠的酶活力增高值 (30.6% 和 46.6%) 低, 以及对成年大鼠皮层匀浆 Mg-ATP 酶活力的增高值 (26.9%), 又有比新生和老年的酶活力增高值 (44.0% 和 49.5%) 低的趋势, 但这种程度上的不同经统计学处理, p 值皆 > 0.2 。因此, GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 对大脑皮层匀浆的 Ca^{++} 、 Mg^{++} 激活的 ATP 酶活力的增高作用不因年龄不同而改变。

参 考 文 献

- [1] Tappaz, M. L.: *Amino Acids as Chemical Transmitters* (Ed. Frode Fonnum), Plenum Press, 193, 1978.
- [2] Hess, H. H. et al.: *J. Neurochem.*, 3, 287, 1959.

[本文于1981年3月13日收到]

利用扰动角关联方法研究输铁蛋白分子的核辐射损伤

倪新伯 徐金龙 金汉生 尹端让 胡妙君

(中国科学院上海原子核研究所)

由于辐射生物学的发展, 人们对辐射对生物大分子、单细胞和高等生物的作用机理了解的越来越深刻, 但是距离透彻了解还差得很远。

当今人们经常利用多种实验手段, 从各个侧面揭示事物的微观特性。本工作将扰动角关联这个核技术方法, 用于生物大分子核辐射损伤的研究。以 ^{111}In 作为核探针, 标记在输铁蛋白分子上, 经不同剂量的 γ 射线照射后作扰动角关联测量, 观察输铁蛋白分子参量的变化, 以期为此领域的研究提供一个揭示分子内部结构情况的生物物理方法。

本实验的初步结果表明, 扰动角关联方法

用于生物大分子核辐射损伤机理的研究是有用的, 而且具有较高的灵敏度。

一、基本 原 理

一个放射性原子核, 通过中间核态级联放出两个 γ 射线的 γ - γ 角关联, 在一个无场的空间中, 只依赖于级联 γ 跃迁有关的三个能级的自旋(初态 I_a , 中间态 I_b 及末态 I_c) 和 γ 射线的多极性 (L_1 和 L_2), 此时角关联函数可以写成:

$$W(\theta) = 1 + \sum_{K=2,4,\dots} A_K P_K(\cos\theta) \quad (1)$$

这里 $W(\theta)$ 表示在 γ_1 和 γ_2 之间夹角为 θ 时的相对辐射几率, $P_K(\cos\theta)$ 是勒让德多项式。 K 的最大值等于 $2L_1, 2I_1, 2L_2$ 中的最小值, 而且必须大于零的偶数。 A_K 由级联跃迁三个能级的自旋和 γ 辐射的多极性所决定。

但原子核是一个高速转动的带电体, 它具有自旋和相应的磁矩、电四极矩。 本实验将 ^{111}In 离子标记在溶液中的输铁蛋白分子上, ^{111}In 通过电子俘获衰变到 ^{111}Cd 的激发态, 然后级联放出二个供扰动角关联测量用的 γ_1 和 γ_2 。 在溶液中, 由于分子的布朗运动, 在放射性核的位置上产生一个随时间而变化的电场梯度, 这个电场梯度将与 ^{111}Cd 第一激发态的电四极矩相耦合, 电四极矩将绕着电场梯度进动, 于是角关联被干扰, 测得的角关联系数由 A_K 衰减成 $A_K G_K(t)$, 此时角关联函数被表示为

$$W(\theta, t) = 1 + \sum_{K=2,4,\dots} A_K G_K P_K(\cos\theta). \quad (2)$$

这里 $G_K(t)$ 为扰动角关联衰减因子。 由于输铁蛋白分子很大, 在溶液中只能作缓慢的旋转扩散, 因而衰减因子可用电四极相互作用的进动基频率 ω_c 来描写^[1]:

$$G_2(t) = (1/5) \exp(-t/\tau_c) [1 + (13/7) \cos \omega_c t + (10/7) \cos 2\omega_c t + (5/7) \cos 3\omega_c t] \quad (3)$$

$$\omega_c = [3/2I(2I-1)](e^2 q Q / \hbar). \quad (4)$$

其中 q, Q 分别为电场梯度和电四极矩, e 为电子的电荷, I 为 ^{111}Cd 第一激发态的自旋, τ_c 为分子旋转关联时间。

对于时间积分扰动角关联衰减因子为

$$\begin{aligned} G_2 &= \frac{1}{\tau_N} \int_0^\infty e^{-t/\tau_N} G_2(t) dt \\ &= (5\tau_N)^{-1} \left[(c)^{-1} + (13/7) \left(\frac{c}{c^2 + \omega_c^2} \right) \right. \\ &\quad + (10/7) \left(\frac{c}{c^2 + 4\omega_c^2} \right) \\ &\quad \left. + (5/7) \left(\frac{c}{c^2 + 9\omega_c^2} \right) \right]. \end{aligned} \quad (5)$$

其中 $C = \left(\frac{1}{\tau_N} + \frac{1}{\tau_c} \right)$, 这里 τ_N 是级联 γ - γ 跃迁中间核态的寿命。

实验就是测出扰动角关联函数 $W(\theta, t)$, 然后与相应的理论公式拟合, 抽取出衰减因子或电场梯度、溶液分子的旋转关联时间等参量, 进而将这些参量与溶液生物大分子构型, 结合金属离子的解离常数或某些固体样品晶格特性参量通过一些数学表达式联系起来, 就可进行微观研究。

二、样品制备及实验方法

利用我所回旋加速器产生的 31 Mev 的 α 粒子, 通过 $^{109}\text{Ag}(\alpha, 2n)^{111}\text{In}$ 核反应生产 ^{111}In , 再经化学分离, 制备成无载体的 $^{111}\text{InCl}_3$ 溶液。 再将商用的被铁饱和的输铁蛋白去铁, 然后将 $^{111}\text{InCl}_3$ 溶液与去铁后的输铁蛋白放在 $\text{pH} = 5$ 的醋酸-醋酸钠缓冲液 (0.2M) 中, 使 ^{111}In 离子标记到去铁的输铁蛋白上。 分别装入测试管, 经受 ^{60}Co 源不同剂量的照射, 然后供扰动角关联测量。 所用样品经聚酯纤维素薄膜电泳, 比较放射性电泳图谱及胺黑 10B 染色电泳图谱表明: ^{111}In 离子与输铁蛋白结合率 70—80%, 并且照射后结合率没有倾向性的变化。

图 1 是我们的实验装置方框图。 ^{111}In 经电子俘获衰变到 ^{111}Cd 激发态, 然后级联放出 γ_1 和 γ_2 , γ_1 和 γ_2 分别由两个 NaI(Tl) 探头测量, γ_1 探头由 2 英寸 NaI(Tl) 晶体配合 EMI 9758 光电倍增管组成; γ_2 探头由 3 英寸 NaI(Tl) 晶体配合 EMI9758 光电倍增管组成。 γ_1 探头距样品 5cm, γ_2 探头距样品 7cm, 探头装有磁屏蔽。

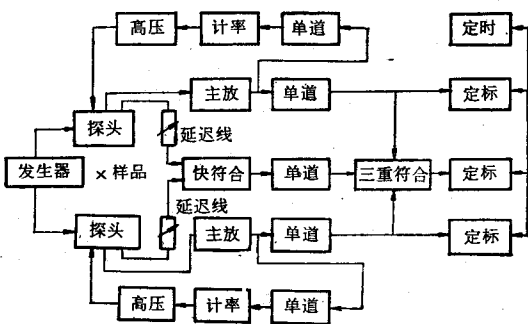


图 1 积分扰动角关联实验装置方框图

在实验中固定 γ_1 探头, 以样品为圆心旋转

τ_2 探头变换两探头之间的夹角 θ 。快慢符合分辨时间分别为 100ns 和 1 μ s。在三重慢符合前面的三个单道均为定时单道,可改变输出脉冲讯号的时间。实验中 θ 角取 90°、110°、130°、150°、170°、180°; 在每个角度测得符合计数,并通过单探头计数校正,偶然符合校正及探头立体角校正,最后用最小二乘法与理论公式拟合,得出角关联系数 A_2G_2 值,再由未扰动的角关联系数 A_2 理论值解出 G_2 值。

三、实验结果

实验结果见图 2 和图 3。图 2 为不同剂量辐照后测得的衰减因子 G_2 值,可见随着剂量增大逐渐下降。图 3 是用 ATP 作为竞争剂,分别测量经过辐照和未经辐照条件下二个对照样品的角关联衰减因子。随着溶液样品中 ATP 浓度的增加,二样品的 G_2 值不断改变。实验表明

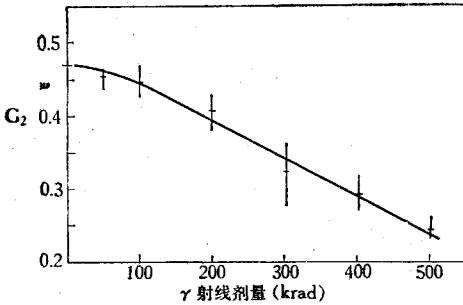


图 2 ^{111}In 标记输铁蛋白溶液样品测得的扰动角关联衰减因子 G_2 与辐射剂量关系曲线

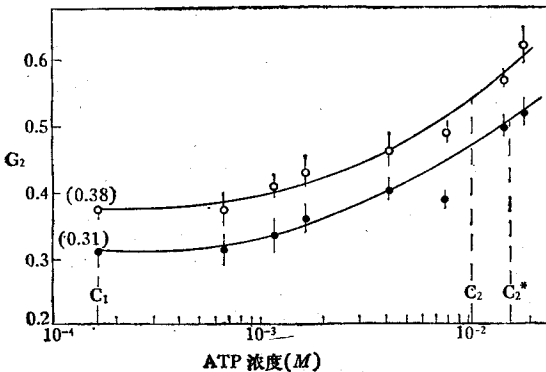


图 3 输铁蛋白和 ATP 对 ^{111}In 离子的竞争结合

ϕ : 经 500Krad 辐照的 ^{111}In -Tf 溶液样品
 ϕ : 未经辐照的 ^{111}In -Tf 溶液样品, 输铁蛋白浓度 $C_{\text{Tf}} = 100\mu\text{M}$

辐照过的输铁蛋白结合 ^{111}In 的解离常数减小。

四、分析与讨论

金属离子在结合部位上的电四极相互作用频率 ω_e 具有 100 兆周或更大的量级,而 c 按照上面给出的恒等式估计仅是 10 兆周以下,可见 $\omega_e^2 \gg c^2$ 。于是公式 (4) 在实际应用中只需保留第一项,则

$$G_2 = (5\tau_N)^{-1}(c)^{-1} = \frac{1}{5} \frac{1}{1 + \tau_N/\tau_c} \quad (5)$$

而 $\tau_c = 1/6D$, D 是球形分子旋转扩散系数,由 Stokes-Einstein 方程给出

$$6D = (KT/cV\eta) \quad (6)$$

这里 η 为溶液粘滞系数, K 为波尔兹曼常数, T 为绝对温度, V 为分子体积。故分子旋转关联时间可用分子等效半径 a 表示:

$$\tau_c = (4\pi a^3/3KT)\eta_0$$

由于样品是在相同条件下制备和测量的,所以 η 、 T 参量在不同的样品中可认为是相等的。图 2 的实验结果说明分子辐照随着剂量增大,其等效半径减小。这表明输铁蛋白经 γ 射线辐照后,与生物功能密切相关的分子构型发生变化,有可能是辐照后引起肽键、氢键断裂,导致一级结构或高级结构的变化。通常 γ 射线照射后生物分子活性降低,因而推测分子一级结构有改变。另外电子自旋共振也发现生物大分子辐照后自由基浓度增加,证明有键断裂现象。本实验的结果与这些一致。

样品中 ^{111}In 结合输铁蛋白的结合率 70—80%, 即溶液中有一小部分 ^{111}In 是自由离子,它的 G_2 值接近 1。而 ^{111}In 结合 ATP, 其角关联衰减因子 $G_2 \approx 0.7^{[2]}$ 。于是图 3 的实验结果可作如下分析: 当溶液样品中 ATP 浓度增加时,首先 G_2 值稍下降,这表明加入样品中的 ATP 首先与游离的 ^{111}In 结合。当 ATP 浓度增加到 c_1 时,样品中已不存在游离的 ^{111}In 了。于是继续增加 ATP 浓度时,二个样品的 G_2 值均不断增加,这是由于 ATP 不断地把被输铁蛋白结合的 ^{111}In 夺过来与自己结合,当二样品 ATP 浓度分别增加到 c_2 和 c_2^* 时,二样品中的 ATP

分别把结合于输铁蛋白的二分之一数量的 ^{111}In 夺过来与自己结合,于是二样品结合 ^{111}In 的解离常数可近似表示^[3]:

$$K_{Tf} = C_{Tf}K_{ATP}/C_2,$$

$$K_{Tf}^* = C_{Tf}K_{ATP}/C_2^*.$$

这里 K_{Tf} 和 K_{Tf}^* 分别为未经辐照和辐照过的输铁蛋白与 ^{111}In 结合的解离常数。 K_{ATP} 为 ATP 与 ^{111}In 结合的解离常数。 C_{Tf} 为样品中输铁蛋白的浓度。实验表明 $C_2^* > C_2$, 所以 $K_{Tf}^* < K_{Tf}$,

即辐照后的输铁蛋白结合 ^{111}In 的解离常数减小。这个实验结果,在其它文献中尚未见到过。

参 考 文 献

- [1] Marshall, A. G.: et al.: *J. Chem. Phys.*, **56**, 1226, 1972.
- [2] 杨锦晴、倪新伯、蒋大真、刘根宝:《核技术》, 1979 年, 第 4 期, 第 72 页。
- [3] Sastry, K. S. R. et al: *Hyperfine Interactions*, **4**, 891, 1978.

[本文于 1981 年 6 月 19 日收到]

贫氘水对小麦萌芽的影响

要福增 吴元芳 李永键 钱宝根 高秀芳

(中国科学院上海原子核研究所)

自然界的水是氘水和氕水的混合物,其中氘水约占万分之一点五。由于水在生命活动中占有极重要的地位,因此这 150PPM 的氘水在生命活动中的行为和作用正在引起人们的关注。T. Redston Griffiths 认为^[1]这样水平的氘浓度可能对活体的老化以及和时间相关的其它生化过程会产生影响;由于技术上的困难,尚未从实验上确证这种观点。另外, Gleason^[2]、Каблутин^[3] 等人曾将冰水和雪水产生的某些生物现象解释为低氘的原因。本文叙述了用小麦直接在贫氘的水中进行萌芽的试验,发现贫氘水中小麦萌芽有增快的效应。

方 法 和 结 果

1. 方法

含氘量为 10PPM 的水(吉林省化学公司提供),普通无离子水(本所);麦种:选麦-7 号、杨麦-1 号、杨麦-2 号、龙麦-71-175 号、京麦-17、辽麦-6 号。

将实验用的小麦种子真空干燥,测得其含水量均为 4%。使用前将种子用无水乙醇浸泡 20 分钟后真空除去乙醇。把每个品种的小麦分为若干组,每组二份各 50 粒,一份作实验,另

一份作对照。实验和对照麦种在外观和重量上都挑选近似的。然后将各组小麦放入相同的发芽器皿中,分别为 50 毫升玻璃烧杯、50 毫升聚乙烯塑料烧杯、直径 9.5 厘米培养皿,均经过严格清洗和灭菌处理。在每个容器中各加入不同氘浓度的水 10 毫升,加盖保持恒温。每隔一定时间,观测一次萌芽情况(这里的“萌芽”是指麦粒露白)。

为避免贫氘水与空气中的水份进行同位素交换,我们采用了增加发芽水量和低温发芽。实验证明贫氘水与空气中水份的交换可以忽略。

2. 结果

(1) 不同品种的小麦在氘浓度为 10PPM 和 150PPM 的水中萌芽数与温度、水质关系以及半数萌芽时间列于表 1,在贫氘水中龙麦-71-175、杨麦-2 号、京麦-17 号、辽麦-6 号的萌芽明显加快。

(2) 为研究温度对萌芽速度的影响,以龙麦-71-175 为对象,置其在 11℃、15℃ 的恒温箱中,发现在低温下贫氘水对萌芽促进作用更为明显(见表 1)。

(3) 不同重量的龙麦 71-175 比较其萌芽