

表5 Vit E 和亚硒酸钠对膜巯基的保护作用

| 试 剂 \ 管 号       | 1    | 2    | 3    | 4    |
|-----------------|------|------|------|------|
| 红细胞膜 (ml)       | 1.0  | 1.0  | 1.0  | 1.0  |
| MDA (ml)        | —    | 1.0  | 1.0  | 1.0  |
| Vit E (ml)      | —    | —    | 1.0  | —    |
| 亚硒酸钠 (ml)       | —    | —    | —    | 1.0  |
| 膜巯基含量 (nM/mgpr) | 80.8 | 62.6 | 70.1 | 58.0 |

MDA 处理的红细胞易于溶血,溶血度随 MDA 浓度加大而增高。

红细胞膜经 MDA 处理后,在 SDS 电泳图谱上膜收缩蛋白(区带 1.2)及区带 3 都有明显减少,在分离胶前沿出现高分子聚合物,当 MDA 浓度加大到  $60\mu\text{M}$  时,不仅在分离胶前沿,而且在浓缩胶前沿也有高分子聚合物出现。说明 MDA 浓度高时,分子聚合加剧。从巯基测定结果可见随着 MDA 浓度加大,巯基含量趋向减少,可能区带 1.2.3 形成二硫键的聚体,这种聚体在 SDS 中也难以解链,以区所带 1.2.3 逐渐减少而高分子聚合物逐渐增多。Hochstein<sup>[8]</sup>, Jain<sup>[9]</sup> 等报告中也发现红细胞膜经过氧化作用后出现高分子聚合物,与本实验结果一致。Hoshsein 提出老化红细胞与红细胞过氧化的结果相似,他认为细胞长期受过氧化损伤是细胞老化的原因之一。

血红蛋白经 MDA 处理后,随着 MDA 浓度增加,在等电聚焦的电泳图谱中,可清楚地看到 HbA, HbA<sub>2</sub> 逐渐减少。在等电点 pH

6.5—6.7 处出现新的蛋白质。这结果与醋酸纤维膜电泳结果一致,当 MDA 处理后也是 HbA 逐渐减少,而出现一个在电场中泳动较快的带(图 3 中的 B 带),可能这 B 带是 HbA 氧化断裂的产物。

抗氧化剂 Vit E 和亚硒酸钠可降低 MDA 使红细胞产生溶血。从本实验结果看来, Vit E 对膜巯基有保护作用。Lucy<sup>[10]</sup> 报道 Vit E 是生物膜组成成分之一。VitE 缺乏的病人,其红细胞对过氧化作用比正常人红细胞敏感<sup>[11]</sup>。亚硒酸钠虽可降低红细胞的溶血,但对红细胞膜的作用尚不清楚,还有待进一步研究。综合以上结果,可见 MDA 对红细胞的影响是多方面的,不仅对红细胞膜有影响,对 Hb 也有影响,从而导致红细胞溶血。

## 参 考 文 献

- [1] 潘华珍等: 待发表。
- [2] Dodge, Z. T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **100**, 119, 1963.
- [3] Fairbank, G.: *Biochemistry*, **10**, 2606, 1971.
- [4] 荣康泰: 未发表资料。
- [5] 陈松森: 《血液方法学讲义》, 中册, 70 页 1981。
- [6] Basset, P.: *Blood*, **51**, 971, 1978.
- [7] Carrel, W. R.: *Brit. J. of Hematol.*, **30**, 259, 1975.
- [8] Hochstein, P.: *Federation Proceeding*, **40**, 183, 1981.
- [9] Jain, S. K.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **201**, 683, 1980.
- [10] Lucy, J. A.: *Ann. New York Acad. Sci.*, **203**, 4, 1972.
- [11] Groso, S.: *Seminars in Hematol.*, **13**, 187, 1976.

[本文于 1983 年 5 月 20 日收到]

## 玉米籽粒超弱发光及其抗冷性研究

杨 起 简

(北 京 农 学 院)

1954 年 L. Colli 发现利用高灵敏度的光电倍增管装置可以探测到植物自身发出的超微弱光<sup>[1]</sup>。随后又发表了许多这方面的研究结

果<sup>[2-5,9]</sup>。这种广泛存在于生物体内的自发化学发光与机体代谢活动、能量转化之间的内在联系,以及利用生物体超弱光作为代谢指标的研

究，正在引起许多生物学工作者的重视。近年来，国内曾报道了人体体表超弱光的研究<sup>[10]</sup>，而对于植物超弱光研究及其在农业上的应用报道极少。

植物的超弱发光与环境关系极为密切，常随温度、氧浓度、pH 值的变化而不同<sup>[2]</sup>。这种差异有可能为作物抗逆性育种提供一种新的鉴定方法。我们研究了不同温度下玉米籽粒萌动时超弱发光的变化以及低温萌动时玉米品种间的发光差异，试图用于玉米抗寒品种选育上。现将这项研究的阶段性结果介绍如后。

一、仪器和方法

测量装置以国产 GDB-52D 型光电倍增管为光能转换器。光电倍增管与前置放大器(FJ-328G 型探头改装)将光子转换放大为电脉冲，再经脉冲放大，甄别后定标计数，以测定超微弱光强度。

光电倍增管前装有凹型样品槽，可以放入直径不大于  $\phi 28$  毫米的液闪测量瓶。透光窗子孔对角线长 50 毫米，放入液闪测量瓶后间隙小于 1 厘米。测量时样品放在液闪测量瓶内，样品距离窗口的几何条件基本一致。高压选择 1200 伏，测量时间为 10 秒，自动计数。每个样品测试 3—5 个计数，取平均数定值。低温处理的各样品从冰箱内取出到开始测量时间大致相等。探头用多层黑红相间的棉布暗袋包扎，置样品后严格避光测量。

对全部空测量瓶及其升降温过程中的脉冲计数进行测定，以排除误差。对脉冲计数进行了方差分析。测瓶的脉冲计数略高于本底噪声，但测量瓶之间差异不显著。

二、结果与分析

1. 室温(25℃)和低温(6℃)下玉米籽粒萌动时超弱发光强度的比较

随机抽取“80115 号”(内蒙地方品种)玉米籽粒，分别放在室内和 6℃ 冰箱内，加水使之萌动后每日定时测量其超弱发光强度。

结果表明，玉米籽粒吸水萌动时，室温下发

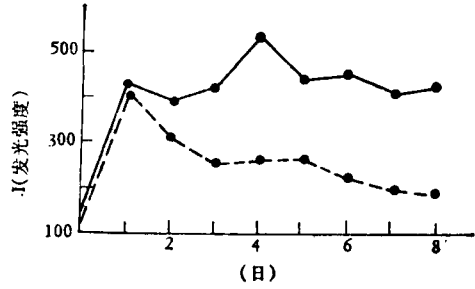


图 1 “80115” 品种玉米籽粒室温和低温萌动发光比较  
---室温(25℃) -----低温(6℃)

光强度高于低温下的发光强度(图 1)。室温下连续 8 天发光强度基本处于同一水平。低温浸种第 1 天内发光强度与室温发光强度差异不显著；处理时间延长，低温下发光逐渐减弱。萌动 7—8 天的籽粒，室温下发光强度为低温的 3 倍以上。

2. 不同品种 6℃ 低温处理时萌动是发光比较

不同品种对萌动时的低温抗性不同。抗寒性强的品种，低温下吸水萌动迅速。我们将“80115 号”(内蒙地方品种，较不耐寒)和“80124 号”(自苏联引进抗寒品种；即“стерилин”)这两个品种的籽粒加水后放入测量瓶中，在 6℃ 冰箱内恒温处理，连续测试 10 天。由图 2 可见，“80124”籽粒发光强度高于“80115”。将数据进行方差分析，两品种间连续萌动发光差异显著 ( $P < 0.01$ )。

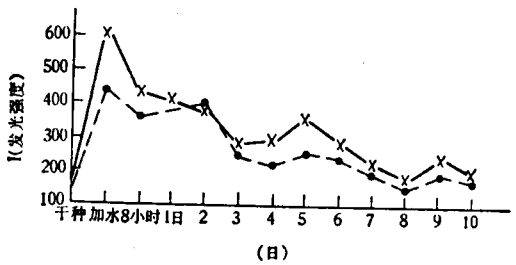


图 2 两品种低温处理(6℃)连续吸水萌动发光比较  
×—×—×“80124” -----“80115”

同时测定了两个品种的籽粒在低温萌动时的吸水量。一般认为玉米籽粒吸水为风干重的 44% 即可萌动<sup>[8]</sup>。表 1 表明，“80124”籽粒第一天低温吸水达 44.7%，而“80115”在第三天才达 44.3%，即“80124”的低温吸水速率与发光

表 1 两品种低温吸水重量测定(%)

| 品 种   | 时 间 | 吸 水 率 |      |      |      |      |      |      |     |     |
|-------|-----|-------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|
|       |     | 8 小时后 | 1 日  | 2 日  | 3 日  | 4 日  | 5 日  | 6 日  | 7 日 | 8 日 |
| 80115 |     | 24.3  | 35.3 | 41.0 | 44.3 | 47.2 | 51.8 | 53.3 | 55  | 55  |
| 80124 |     | 28.8  | 44.7 | 53.3 | 57.2 | 61.4 | 67.7 | 69.3 | 71  | 72  |

表 2 1980 年田间生长调查

| 品 种   | 项 目 | 出 苗 率 (%) | 6 月 7 日   |     | 6 月 23 日  |     |
|-------|-----|-----------|-----------|-----|-----------|-----|
|       |     |           | 出苗高度 (cm) | 叶片数 | 出苗高度 (cm) | 叶片数 |
| 80115 |     | 66        | 18        | 5   | 56        | 11  |
| 80124 |     | 70        | 33        | 6   | 80        | 12  |

强度均高于“80115”。

播前用 0℃ 低温处理 10 天, 6℃—10℃ 低温下播种, 田间试验结果表明, “80124” 的出苗率和苗期长势均比 “80115” 强(表 2)。

### 3. 变温处理不同品种, 粒籽萌动时发光强度比较

将“80115”和“80124”籽粒各取二份加水后放入冰箱, 在 9℃ 低温下处理 1 小时, 立即进行超弱光测定, 随后依次在 5℃, 0℃, -0.5℃ 分别处理 1 小时后测定, 然后再使温度回升至 5℃, 9℃ 测定。结果表明(图 3): 发光强度随温度降低而降低。当回升到 5℃ 和 9℃ 时, 发光强度基本上恢复到结冰前的程度。由此可见, 萌动时期置于 0℃ 下 1—2 小时对其代谢活性

影响不大。“80115”在 0℃ 时发光值最低, “80124”在 -0.5℃ 时发光值最低。

同一品种的两次测定的发光强度差异并不显著 ( $P > 0.05$ ), 表明同一品种的发光呈现稳定状态, 而且“80124”品种的发光强度显著高于“80115”, 表现出较大的品种差异。

另一试验是将“80115”和“80124”的玉米籽粒均各分为四组, 分别放入 -2℃, 0℃, 5℃, 9℃ 中, 加水使之萌动, 测定不同温度对籽粒连续吸水萌动时发光强度的变化, 以求得不同品种在低温下萌发的临界温度, 结果见图 4。

在 -2℃, 0℃ 和 5℃ 时, “80124”籽粒的发光曲线显著高于“80115”, 而 9℃ 下两品种间发光差异前两天不明显, 第三天“80124”的发光强度才高于“80115”, 表现出较大的发光差异(见图 5)。

上述试验结果可归纳如下:

(1) “80115”低温吸水萌动以 9℃ 为好; 5℃ 以下影响吸水萌动速率。

(2) “80124”除 -2℃ 外, 0℃, 5℃, 9℃ 三种处理时发光值接近; 与“80115”相比, 有可能把萌动的起始温度由 9℃ 降到 5℃ 以下。

### 4. 降温对玉米幼根发光的影响

Тарусов 和 Агавердиев 等人认为, 低温范

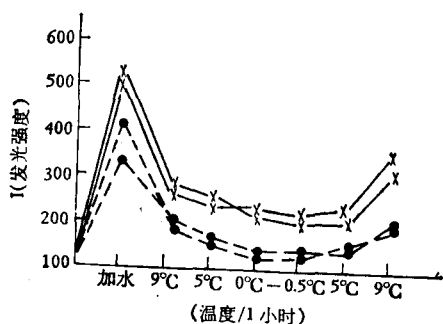


图 3 两品种变温处理时发光强度变化

—x—x—“80124” ————“80115”

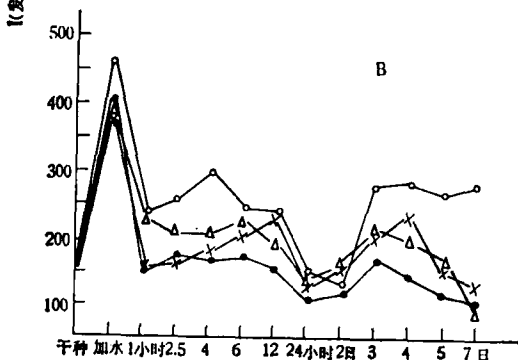
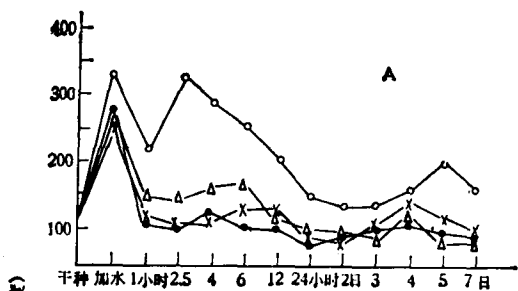


图4 两品种在四种温度下水萌动发光比较

A: 80115 B: 80124

●—●—2°C ×—×—0°C ▲—▲—5°C  
○—○—9°C

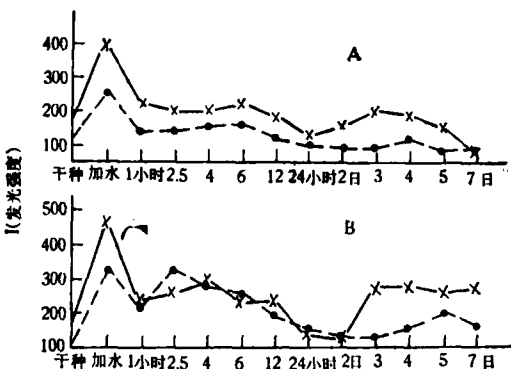


图5 两品种在不同温度下发光强度比较

—×—×—“80124” ————“80115”

A—5°C B—9°C

围内幼根的超弱发光和最低温度发光点与品种的抗寒性有关<sup>[2,4]</sup>。对此我们进行了试验。把四个品种“80109”,“80124”,“80108”,“80105”加水萌动,室温下避光培育10天,待长出根、叶(黄化苗)后直接测试。仪器探头伸入冰箱,用小型吹风机给测量瓶降温,用点温计直接记录到瓶

内温度。试验结果表明,四品种降温时幼苗发光强度有差异,降温时起始发光点也差异较大。

Агавердиев 等认为,当发光处于最低值时进一步降低温度,幼苗(根)发光随降温而表现增强的现象称为“闪光现象”<sup>[6]</sup>。限于我们的设备不能继续降温,未能对这一现象进行观察。

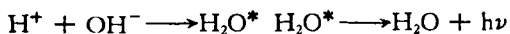
### 三、讨 论

1. 适当早播是北方寒冷地区增产措施之一,因而常选育低温下萌发能力强的玉米品种。玉米籽粒在低温萌动时表现出的品种间发光强度的差异与品种抗寒性表现一致,为筛选抗寒品种提供一种简捷的鉴定方法。

2. 一般认为,超弱发光是分解代谢的结果。低温下有机体代谢缓慢,故同一品种低温发光低于室温发光。不同品种在抗冷性能上的差异,通过发光有所表现。在发芽与栽培试验中此点也得到印证。“80115”在9°C为最低最适发芽温度,而“80124”在5°C下能较好萌发;把两品种相间种植,9°C时,两品种都能很好出苗,而在5°C时,“80124”出苗率为87%,而“80115”仅为49%。本试验中,由于没有进行标准光源的测定,各品种的发光强度为相对数值。在定量方面的试验将是确定鉴定指标的关键,有待继续探讨。

3. 生物体超弱发光产生的机理,目前尚无定论。以Тарусов为代表的一种见解认为超弱发光本质是由于机体内不饱和脂肪酸的氧化作用产生过氧化自由基,当它们复合时释放出光子<sup>[3,9]</sup>。脂类氧化发光可能在生物超弱发光中占主导地位,但生物氧化、还原反应中也产生自由基,故有机体还应存在其他发光途径。

我们用盐酸和氢氧化钠(A. R.)进行酸碱中和反应,同时测其超弱光强度。发现纯化学反应中也有超弱光产生的现象。中和反应在滴定瞬间发光急剧加强,且浓度为20%的酸与20%的碱发生反应时其发光强度比浓度均为3%时要强得多。反应时,当氢离子和氢氧根离子结合成为水分子的过程中,放出热量,同时有超弱光产生。



而向氢氧化钠和盐酸溶液滴入蒸馏水没有发光产生。Владимиров 等曾证明,许多化学反应都具有蓝绿光谱和紫外光区范围内的超弱发光<sup>[7]</sup>。

生物体内最易氧化、数量最多的是碳水化合物,且脂类、蛋白质和碳水化合物之间有代谢循环的关系,氧化的最终产物是  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{CO}_2$ 。氧化形成  $\text{H}_2\text{O}$  时是否有发光产生,上述的放热发光效应在体内发光占有何种位置,发光是否为代谢程度的综合反应,这些问题均有待研究。

此工作在内蒙古农牧学院进行,由耿庆汉副教授指导,特此致谢。

### 参 考 文 献

[1] Colli, L. et al.: *Experiment.*, 11/12, 479—481,

1955.

- [2] Тарусов Б. Н., и др.: *Сверхслабое свечение биологических систем. Изд Моск. Унив.*, 1967.
- [3] Тарусов Б.Н. и др.: *Труды. моип.*, 36, м. 1972.
- [4] Агавердиев А. Ш., и др.: *Докл. А. Н. СССР.*, 163, № 4, 1965.
- [5] Гасанов Р. А., и др.: *Научн. докл. высш. биол. науки.*, № 3, 1963.
- [6] Китлаев Б. Н., и др.: *Труды. МОИП.*, 36, М., 193. 1972.
- [7] Владимиров Ю.А., и др.: *АН. СССР. изд. «наука»*, м., 1966.
- [8] Гэн Чин-хань: «Изменчивость кукурузы в зависимости от степени зрелости семян, предпосевного охлаждения и сроков посева», Харьков., 1959.
- [9] 李庆国等: «生物化学与生物物理进展», 1, 66, 1981.
- [10] 严智强等: «生物化学与生物物理进展», 2, 1979.

[本文于 1983 年 3 月 16 日收到]

## 猪心线粒体 $\text{F}_1$ -ATP 酶的水解活性与色、酪氨酸残基相关的构象的关系\*

林治焕 李生广 孙 珊 许桂珍

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

线粒体  $\text{H}^+$ -ATP 酶具有双向功能,即 ATP 的合成与 ATP 的水解。 $\text{H}^+$ -ATP 酶的头部  $\text{F}_1$  具有催化这二种功能的活性部位,  $\text{F}_1$  的活性表现位与它结合核苷酸的类型、数目以及亲和力有关<sup>[1]</sup>。至于  $\text{F}_1$  分子活性部位中什么结构与这两种功能有关,目前尚不肯定。自 1960 年以来关于线粒体  $\text{F}_1$  的水解功能与其结构中氨基酸残基关系的研究,多采用特异的化学试剂去修饰某些氨基酸残基,然后测其水解活力被抑制的情况。Senior<sup>[2]</sup> 认为不是含—SH 基的半胱氨酸而是酪氨酸残基,还可能包括色氨酸残基与 ATP 的水解有关。也有报道认为是与组氨酸、谷氨酸或精氨酸残基有关<sup>[3]</sup>。现在蛋白质结构与功能的研究已深入到研究蛋白质在溶液中执行生理功能时与其构象的关系。很多研究指出,

线粒体  $\text{F}_1$  在溶液中与核苷酸或  $\text{Mg}^{++}$  作用后构象发生了改变。70 年代前后不少人以金轮霉素作为构象的荧光探针,去探测  $\text{H}^+$ -ATP 酶复合体,或  $\text{F}_1$  分子与各种配基结合后构象的改变<sup>[3]</sup>。我们的工作是利用四种有机溶剂以及一些  $\text{F}_1$  水解作用的抑制剂研究  $\text{F}_1$  水解作用与构象的关系。

猪心线粒体  $\text{F}_1$  在不同的激发波长作用下,其内源荧光光谱能显示其结构中酪氨酸与色氨酸的荧光峰。与水混溶的有机溶剂如甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺 (DMF) 和二甲基亚砜 (DMS) 等,由于它们能够引起  $\text{F}_1$  分子构象改变,从而影响其内源荧光,并且因为这些溶剂又是  $\text{F}_1$  水

\* 本文主要内容曾在 1981 年 11 月第四次中国生物化学学术会议宣读。