

也如此) 15° 以上(75° 以下)时, 其 ME 存在区明显地小于前者。

以上实验结果令人颇感兴趣的是如下的推论: 既然 ME 存在区域的大小可以度量 ME 的强度, 因此我们可以推论, 当适应图对是垂直方位与水平方位时它们所产生的 ME 最强, 而当适应图对倾斜时 ME 就变弱。Campbell 等人(1966)在人的视觉系统对栅条分辨力的研究中证明了, 当受试者观看不同方位的黑白栅条目标时, 他们的分辨能力是不一样的, 对栅条方位是倾斜时的分辨能力要低于栅条方位处于水平、垂直时的分辨能力。他们认为这种差异性是由于视觉神经系统中某些方向的不等性(inequality)所致^[4]。他们的实验结果与我们的结果有相似之处, 它们都表现出如图 3 所示的在垂直、水平方向的值要高于倾斜方向的值。换句话说: 人的视觉系统对垂直、水平栅条的敏感

性高于对倾斜栅条的敏感性。这一敏感性不仅包含对栅条频率的分辨能力, 而且也包含栅条图形的 McCollough 颜色后效应的强弱。

如图 3 所示, 当适应图对偏离 0° 、 90° 后, 随着偏离角度的增加, ME 存在区就变小, 直到偏离 45° 时减为最小。但是可以想象, 并不是当适应图一旦偏离直立(或横卧)位置后视觉的不等性就明显地表现出来, 以致在统计学上具有显著性的差异。因此, 我们会提出问题: 视觉最敏感的范围究竟有多大?

参 考 文 献

- [1] McCollough, C.: *Science N. Y.*, 149, 1115, 1965.
- [2] 齐翔林、赵冠美、汪云九: 《生物化学与生物物理进展》, 1981年, 第3期, 第57页。
- [3] Stromeyer, C. F.: *Visual Res.*, 3(12), 717, 1972.
- [4] Campbell, F. W.: *J. Physiol.*, 187, 427, 1966.

【本文于1981年7月31日收到】

瞬态荧光、瞬态电色变与磷酸化系统

孙 炳 荣

(中国科学院上海分院测试计算中心)

王维光 赵贤端

(中国科学院上海植物生理研究所)

在光合作用研究中, 广泛应用活体内色素荧光变化, 探测色素吸收光能与原初光化学反应及其他化学反应间的关系^[1,2], 又应用光诱导叶绿体中 515nm 吸收变化进一步追述原初光化学反应的机制, 及其与其他反应的联系^[3]。通过这些研究, 观察到活体内叶绿素荧光严格地受光合作用过程(如光能转化、电子传递、放氧等)控制, 而在波长 515nm 处光诱导吸收变化, 同样也受光合作用的光化学过程控制。本文以菠菜叶绿体为材料, 通过不同闪光持续时间的单闪激励实验, 看到瞬态荧光变化 ΔF_0 , 瞬态 P_{515} 光诱导吸收变化与 ATP 形成之间有一定的函数关系, 同时发现瞬态荧光变化 ΔF_0 与瞬态 P_{515} 光诱导吸收变化, 也有一定关系。

材 料 和 方 法

新鲜菠菜叶, 在 0.4M 蔗糖、0.05 Tris、0.01 M NaCl、pH7.8 的缓冲液中研磨后, 用四层纱布过滤; 滤液经低速离心去渣后, 上清液再做高速离心, 制得的叶绿体悬浮在缓冲液中; 存低温处待用。

瞬态荧光变化 ΔF_0 以及 P_{515} 光诱导吸收变化测定混合液 3ml, 其中包含 Tris 0.05M (pH7.8), NaCl 0.35M, MgCl 0.05M, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 10 $\mu\text{moles/ml}$, ADP 10 $\mu\text{moles/ml}$, pi 10 $\mu\text{moles/ml}$, chl20—30 $\mu\text{g/ml}$; 在实验过程中不加的试剂, 用缓冲液代替。

测定装置见参考文献[4]。在实验中, 脉冲

光源由 1300W/120V 溴钨灯和一组快门组成;快门速度为 $\frac{1}{500}, \frac{1}{200}, \frac{1}{100}, \frac{1}{25}, \frac{1}{5}$ s。当测定 ΔF_0 时,脉冲光源为激励光源,不同脉冲持续时间由照相机快门速度控制。激励光中心波长在 430nm(用蓝紫玻璃获得)。荧光检测波长为 685 ± 5 nm,用单色器获得。光检测器为 EMI9558B 光电倍增管。光电倍增管获得的荧光信号经放大后,在 SR-8 双踪示波器上显示记录。当测定 p_{515} 光诱导变化时,作用光源的脉冲光源与荧光激励光源相同,其波长 > 630 nm(用红玻璃获得)。监测光源与文献[4]相同,其波长为 515nm(由干涉滤光片和单色器获得)。 P_{515} 吸收变化信号由 EMI9558B 光电倍增管接收,馈入放大器后显示记录。在实验中,激励光和作用光光能量都大于 10^5 尔格/cm²,监视光能量不大于 200 尔格/cm²。

做上述测定后的样品,分别立即加热杀死,再按文献[5、6]的方法,测定对应闪光持续时间所形成的 ATP 量。实验在室温下进行。

结果和讨论

1. 磷酸化系统对瞬态荧光的猝灭

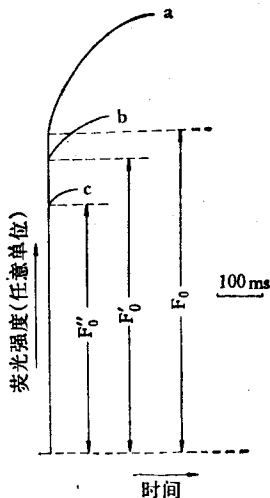


图 1 磷酸化系统对瞬态荧光的猝灭作用

图 1 是用连续光(蓝紫光)激励时,磷酸化对瞬态荧光的猝灭。图中(a)是叶绿体悬浮液的荧光诱导曲线,其瞬态荧光值为 F_0 ; (b)是在(a)中加入 $FeCy$ 即 $Fe(CN)_6^{3-}$ 后的荧光诱导

曲线,其瞬态荧光值为 F_0' ; (c)是在(a)中加入 $FeCy + ADP + pi$ 的荧光诱导曲线,其瞬态荧光值为 F_0'' ; 由图看到 $F_0 > F_0' > F_0''$, 即磷酸化系统对瞬态荧光有明显的猝灭作用。

为了进一步证明上述的猝灭作用,我们用 10^{-3} s 量级的脉冲闪光激励反应系统。结果见图 2。图中(a)是叶绿体悬浮液用 2×10^{-3} s 脉冲持续时间的闪光激励发射的荧光衰减曲线,其瞬态荧光强度为 F_0 。曲线(b)、(c)分别是在(a)中加入 $FeCy$, $FeCy + ADP + pi$ 后的荧光发射衰减曲线。它们的瞬态荧光强度分别为 F_0' , F_0'' 。由图可知 $F_0 > F_0' > F_0''$ 。这一结果进一步证明,磷酸化系统对瞬态荧光有明显的猝灭作用。

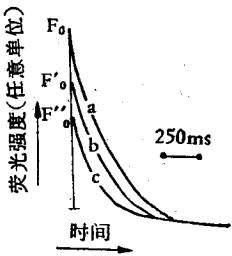


图 2 单闪光下磷酸化对瞬态荧光的猝灭

2. 磷酸化与瞬态荧光变化 ΔF_0 间的关系

用不同的闪光持续时间(10^{-1} — 10^{-3} s),测定 $FeCy + ADP + pi$ 反应系统对瞬态荧光猝灭(图 3)。可以看到,有 $FeCy$ 存在的磷酸化系统,瞬态荧光变化 $\Delta F_0 = F_0 - F_0''$ 依赖于 ATP 的

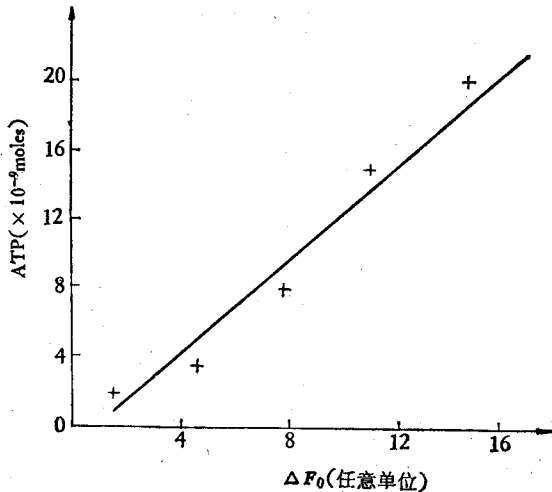


图 3 ATP 形成与 ΔF_0 的关系

形成。它们之间的关系可用下式表示:

$$y_{ATP} = 0.9(x_{\Delta F_0} - 0.8) \quad (1)$$

式中 y_{ATP} 、 $x_{\Delta F_0}$ 分别表示 ATP 形成及 ΔF_0 变化。由式(1)可知,在一定的实验条件下,ATP 形成与 ΔF_0 间有严格的定量关系。

3. ATP 形成与瞬态 P_{515} 光诱导吸收变化间关系。

用 $10^{-1}-10^{-3}$ s 内不同闪光持续时间诱导 515nm 吸收变化与 ATP 形成的实验结果见图 4。ATP 形成与瞬态 515nm 变化 $\Delta I/I$ 间关系是线性函数,其表达式为:

$$y_{ATP} = x_{\Delta I/I} - 2 \quad (2)$$

式中 $x_{\Delta I/I}$ 表示瞬态 515nm 吸收变化。

如果将归一化后的 $\Delta I/I$ 对归一化后 ΔF_0 作图,则 $\Delta I/I$ 与 ΔF_0 之间的关系也是线性的,其表达式为:

$$y_{\Delta I/I} = x_{\Delta F_0} + 0.7 \quad (3)$$

式中 $y_{\Delta I/I}$ 、 $x_{\Delta F_0}$ 分别表示归一化后瞬态 515nm 吸收变化及瞬态荧光变化。

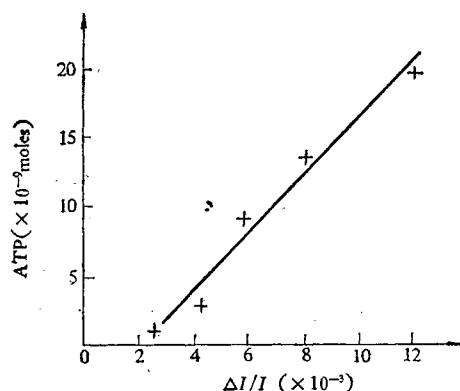


图 4 光诱导 ATP 形成与瞬态 $\Delta I/I$ 间关系

综上所述,可以看出 $\Delta I/I$ 、 ΔF_0 都受 ATP 形成控制(在一定实验条件下),而 $\Delta I/I$ 与 ΔF_0 间也有一定联系。这些关系很自然地把原初光能转化过程,原初光化学过程与 ATP 的形成联系起来。如果将(1)、(2)、(3)式进行比较,发现它们几乎有相同的斜率,这表明在我们的实验条件下, ΔF_0 与 $\Delta I/I$ 及 ATP 的形成有极好的平行关系。它反映了活体内色素吸收光能,然后转化光能直至生成可测的化学反应产物,三者之间有着定量关系。另外,由式(1)、(2)、(3)及图 3、4 可以看出,三种情况都有截距,其中图 3、4 有负截距。这说明,ATP 的形成落后于 ΔF_0 和 $\Delta I/I$ 的产生,也即 ATP 的形成需要一定的能量“阈值”,只有超过这一能量阈值后,才能形成 ATP。式(3)有正截距,其值 $< 2 \times 10^{-3}$ (把归一化值还原成 $\Delta I/I$ 值)。这意味着,当瞬态荧光变化 $\Delta F_0 = 0$,即不存在瞬态荧光猝灭时,也不可能有 ATP 形成,而 $\Delta I/I$ 可以存在,但其值应小于 2.2×10^{-3} (见图 4)。这与实验结果完全吻合。

参 考 文 献

- [1] Diner, B. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **423**, 479, 1976.
- [2] Petty, K. M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **547** 463, 1979.
- [3] Witt, H. T.: *Quart. Rev. Biophys.*, **4**, 442, 1971.
- [4] 孙炳荣等:《生物化学与生物物理进展》,1981年,第2期,第65页。
- [5] 李立人等:《生物化学与生物物理进展》,1980年,第6期,第124页。
- [6] 孙炳荣等:《分析化学》,1981年,第3期,第357页。

[本文于 1981 年 7 月 5 日收到]

学术动态

一个分设在五国的研究所

Ludwig 肿瘤研究所是一个国际医学研究机构,成立于 1971 年。它的总部设在瑞士苏黎士,下设八个分部。这八个分部设在权威科学家所在国的医院内。这些国家是英国(萨顿、剑桥)、瑞士(洛桑、伯尔尼)澳大利亚(悉尼、墨尔本)、比利时(布鲁塞尔)、加拿大(多伦多)。这个所每五年订一次全所研究规划,讨论经费问题。这些分部研究的主要内容有:人乳腺、肺及生殖细胞癌;免疫学的细胞与激素观;人癌有关淋巴细

胞分化及功能,以及单克隆抗体问题;抗肿瘤药物的研究;骨髓移植及化疗;白血病 hypertransfusion;激素及抗激素作用规律及受体的作用;实体癌的干细胞的生化与分化;单克隆抗体治疗癌、癌变过程细胞表面变化;人癌流行病学研究。

[摘自 *Trends in Biochemical Sci.*,
1982, Feb., 7(2), 44—46]