

了新的神经肽^[14]。根据计算,脑特有的 mRNA 有 30,000 种,因此现在已知的神经肽 30 多种仅占一小部份,寻找新的神经肽还有极大的机会。同样,采用两种神经原 cDNA 互相杂交的战略,还可以研究某种神经原特有的蛋白质或肽。这些研究有极大的开创性意义。

总之,由于重组 DNA 技术的到来,神经科学又进入了一个新的蓬勃发展的阶段。要赶上日益更新的科学发展步伐,神经科学工作者必须学习和熟悉分子生物学,同时加速培养有两方面知识背景的新的一代神经科学工作者。

参 考 文 献

[1] Nakanishi, S. et al.: *Nature*, 278, 423, 1979.

- [2] Noda, M. et al.: *Nature*, 295, 202, 1982.
[3] Comb, M. et al.: *Nature*, 295, 663, 1982.
[4] Roberts, J. L. et al.: *Trends Neurosci.*, 5, 314, 1982.
[5] Bloom, F. E. et al.: *Regulatory Peptides*, 1, 205, 1980.
[6] Rosenfeld, M. G. et al.: *Nature*, 304, 129, 1983.
[7] Noda, M. et al.: *Nature*, 299, 793, 1982.
[8] Noda, M. et al.: *Nature*, 301, 251, 1983.
[9] Noda, M. et al.: *Nature*, 305, 818, 1983.
[10] Salkoff, L. and Wyman R.: *Trends Neurosci.*, 6, 128, 1983.
[11] Noda, M. et al.: *Nature*, 312, 121, 1984.
[12] Hudson, P. et al.: *Endocrinology*, 108, 353, 1981.
[13] Gusella, J. et al.: *Nature*, 306, 234, 1983.
[14] Milner, R. J., Sutcliffe J. G.: *Nucleic Acids Res.* 11, 5497, 1983.

[本文于 1984 年 12 月 6 日收到]

激光生物学的概况及展望

赵 白

(山东海洋学院物理系, 青岛市)

引 言

用描述无生命物质基本运动规律的物理学定律,是否能完整地阐明生命过程?还是生命过程中尚蕴藏着未知的基本定律?从现有的实验结果和分析看来,这个问题的解决,有可能从激光机理中得到启发。同时,目前激光生物学的探索和发展虽还处在实验及唯象理论阶段,但即使个别环节的突破,其应用成果也可能引起社会生产力的巨大变革。例如,国际上目前正利用选择性光化作用对 DNA 分子实现“剪裁”与“拼接”的研究。这类人工改造生物品种如能成功,无疑会揭开人工合成生命物质以及工厂制造“生物产品”这样一个“工程生物”时代的序幕。

光与生物分子的相互作用,一般说来可分为三个过程进行研究:(1)生物分子吸收激发的原初过程(10^{-9} — 10^{-12} 秒);(2)吸收了光子的激活中心,其能量的弛豫过程(10^{-7} — 10^{-13}

秒),以及这一过程的化学变化与动力学性质;(3)构象弛豫过程(10^{-3} — 10^{-8} 秒)及整个系统(细胞体或生物体)的生理反应。研究这些过程的主要目的之一,是从分子、亚分子和电子水平上探索生物大分子中的能量迁移和相互作用,以及化学变化的机制。要获得这些微观过程的信息,主要依靠光谱技术。其中一些超快过程所要求的时间分辨光谱,目前只有超短脉冲激光及微微秒探测技术才能给出。因此,激光光谱技术是目前研究生化超快过程的唯一信息工具。另一个目的,是根据已查明的这些生化过程弛豫时间,不追索机制,只研究激光与不同生物分子的亚细胞物质或整个细胞相互作用后的生理反应,再根据这些生理反应进行开发应用研究。此处,激光只是作为一种引发生理反应的工具来应用。近期有关生物系统中相干电磁辐射的实验结果,使激光与生物学又发生另外一种重要关系,即用相干性概念来说明生命现象。提出这一思想是 1967 年由著名超导专家

Fröhlich 开始的。七十年代末八十年代初,一系列实验证实了细胞内存在反转分布相干储能的生物分子,并且细胞有相干辐射,于是引起了国际范围的重视。因为激光器的机理已为量子理论精确阐明,假若全部生命现象可以用相干理论来阐明时,那么生物学成为定量科学的理想就为期不远了。

以下按上述激光与生物学的三种关系,对激光生物学方法与原理及其重要结果作一概括性的介绍。

一、激光生物效应的应用研究

这类工作的特点是研究激光引发细胞体或生物体的整体效应及其应用。显然,因生命过程的机制尚未清楚,所以这类实验基本上是“机遇性”的。但从现已确认的许多富有成效的生物及医疗成果看来,其实用价值和经济效益不小。

激光生物效应一般说来有光效应、热效应、电磁效应、压力效应。其中影响生化过程的主要效应是光与热。两者究竟以何为主,主要因激光的脉宽、功率密度和波长而不同。其大体范围,可由生物分子的有关特征参量确定。实验已查明:不同生物分子的电子激发态与振动激发态的平均寿命 τ_e 在 10^{-9} — 10^{-14} 秒范围;生物聚合物中酶络合物的构象弛豫时间在 10^{-3} — 10^{-8} 秒范围^[1-3];不同生物分子的电子吸收带虽相互重叠,但在红外与紫外波段上已发现一些选择吸收。例如,胸腺嘧啶的 266nm、鸟嘌呤的 269nm 等。同时不少酶,在 330nm 辐照下,随波长变短而降低其活性。根据已知的波长与生物效应实验结果,和光生化各阶段的弛豫时间,即可按照需要来对激光的主要参数进行预选。例如,企图在“激发能”弛豫为“热能”的时间内,对样品进行高密度激发而不使活体受到损伤时,光脉冲的作用时间 τ 应满足 $\tau < \tau_e$; 激励强度 I 应满足 $I > \frac{1}{\tau\sigma}$ 。式内 σ 为靶分子的吸收截面,以 $\sigma \sim 10^{-16}$ [厘米²]量级为例计算,对亚微微秒(10^{-14} 秒)超短脉冲而言,其 $I \sim 10^{30}$ 光

子/秒·厘米²,近紫外波段它所相当的功率密度为 10^{11} 瓦/厘米²。在聚焦微束下,这是不难达到的。由此可见,利用高单色性、高功率密度、低能量的超短脉冲激光,就可能实现对活细胞进行分子一级的选择性激发,从而使被激活的分子优先“加热”,引发定向光生化作用,而不损伤活体细胞。作为生化的基础理论研究,是根据其生化反应结果来探讨吸收了光的分子,以何种方式和通过什么渠道,以何种速度来进行能量迁移。而在医疗、诱变育种、细胞学和遗传工程中,却可不去追索这些复杂的物理过程,而将注意力集中在这一作用的生理反应与异常的构象变化及其应用价值上这类应用,可按不同脉宽的激光器件,来分别加以讨论。

1. 超短脉冲激光 系指锁模激光器的输出脉冲,其脉宽参数在 10^{-10} — 10^{-12} 秒量级。八十年代初期,由碰撞脉冲压缩技术实现了 10^{-13} — 10^{-14} 秒的激光脉冲。目前的最高水平是贝尔实验室正在进行的 5×10^{-15} 秒指标。这类激光器目前主要用在超快过程的探测上。如上所述,它是可以与生物分子产生相互作用而又不损伤活体的最有力工具,并可实现光控生化反应,对样品的某种单体进行光解。但影响生化过程的因素很多。例如,长链的生物大分子,其链的卷紧程度到底能在什么水平上影响其能量迁移,现在并不清楚。那么对不同品种生物体内具有相同吸收波长的同类分子,激光引发的生理反应就不可能完全相同。生化反应是生物体中分子间复杂相互作用的总和,所有反应过程以及同一过程的几个基本阶段都具有各自的动力学特性,所以结构不同的样品,虽然其中同一单元得到相同的激发,也不能期望有相同的生理反应。但对结构相同的同一品种生殖细胞而言,在这种作用条件下,原则上应得到规律性反应。当然,目前距离能够根据机制预言结果还很远。所以实验从本质上讲仍然是机遇性的。例如,1979 年 Angelov 等曾实现了对 DNA 和 RNA 中的一种碱基进行的双光子光解^[4],并记录到所形成的稳定光解产物。但在极其复杂的生物活体结构与过程还未被清楚地理解,甚至很多方法的

合理性与意义也未被验证的情况下,是不能由这类非活体生物的结果来预言在活体的反应,所以这类研究并非毫无意义。但目前激光用于医疗与诱变育种等已见成效。而应努力摆脱过去那种完全盲目“试试看”的状况,并解决设备及测试仪器昂贵,熟练研究人员和技术人员缺乏的问题,以便使此项研究得以普及开展。

2. 连续激光与普通脉冲激光 激光器问世不久,连续激光与亚毫秒量级的脉冲激光即被用于研究生物效应或医疗及诱变育种。但因当时的条件所限,对激光的脉宽、波长、功率密度等,几乎没有预定的考虑和选择余地,只能运用一些已有的激光器件,根据辐照后样品的生理效应来确定这一工具的应用价值。生物体的复杂性,以及激光对它的作用与众多不同的环境影响又难以区分,所以当时非但实验的重复性差,有些结果的可信程度也令人可疑。只有在选择性微区损伤或汽化“手术”方面,达到了实用水平。国内直至目前,如诱变育种及部分医疗实验中,却仍未完全脱离这种早期的盲目机遇性状态。应注意的是,靠共价键形成的生物大分子,其空间结构的稳定性与生化过程,在很大程度上是由特征能量为1—100 [千焦耳/克分子]的弱键来决定的,例如氢键。纯热作用可以影响这些弱键进行催化。大部分从红外到可见光波段激光器的生物效应基本上是热效应,但不管从成本、加热效率和方便性哪方面考虑,红外加热都要比使用激光优越。因此,有没有必要用这类激光来加热整个细胞或生物种子,应当通过实验来判断。

3. Q 开关脉冲激光 这类激光脉宽的典型参数是毫微秒量级。它与生物分子相互作用时,光效应与热效应同时存在。 10^{-9} 秒是一般的原子激发态寿命,与生物光效应的原初过程相比已是“很长”了,所以光作用的宏观效应不容忽视。例如,在微束应用中,通过显微聚焦可将光束聚焦在靶面的微米范围内,其高斯峰点附近的功率密度高达每平方厘米百万兆瓦级,此光场内的电场强度可达 10^8 伏/厘米,这是原子内平均电场强度的量级。此时,电离、热、液

相汽化及汽体热膨胀的二次压力等等,一系列宏观组织损毁效应即会不同程度的存在。但激光的作用时间从宏观看来又“很短”,所以它并不影响其周围组织。因此可利用其改变或摧毁选定微区内的物质——通常是将作为遗传物质的染色体或作为能量中心的线粒体当作目标。像这样利用空间选择性损伤来进行细胞学和遗传学研究,除非空间分辨率的要求达到波长范围,是不必考虑激光波长的。更有意义的工作,应当是在样品的一切物理致伤阈值以下,利用其综合效应进行生物效应的研究。它的光效应可实现选择性光化反应进行定向催化;而其热效应则可影响其弱键的闭合变体,从而改变其生化激活特性。这类激光达到选择性高密度激发水平仅为[兆瓦/厘米²]级,这种水平的器件不仅技术成熟,而且相应的分析测试仪器也都有现成商品提供。因此,应用可调谐的短脉冲,对选定品种的胚乳或受精卵细胞核进行不同波长及不同能量的辐照,并记录其染色体变异及其他生理变化。对同一物种,可期望得到规律性的能谱——即在各个能产生变异或生理变化的波长上,激光不同功率密度的影响及其致伤阈值;及频谱——即不同波长的影响结果。根据此能谱及频谱即可确定在诱变或生理变化上有使用价值的波长及能量。对激光诱变育种工作来说,上述这类器件比目前使用的多种单一波长的连续或长脉冲器件有明显的优点。

利用染料或具有特定荧光的药物与生物分子组成络合物,则可通过激光与药物的作用来探测它的迁移或进行选择性光化治疗。激光诊断与摧毁肿瘤的血卟啉治疗已取得初步成效。由选择性光化作用的原理看来,使用高平均功率密度、低能量的短脉冲器件,在提高疗效与不损伤正常细胞两方面,都应比连续或长脉冲器件好。然而目前尚未见到两类器件动物实验的对比报道。

二、激光光谱技术在分子生物学研究中的应用

近代生物学逐步从分子、亚分子、量子水平

上揭示生物分子的结构、功能及能量转移、动力学性质等生命过程的机制与普遍规律。具有高时间分辨率(可达几十毫微微秒)、高空间分辨率(可达亚微米)、高光谱分辨率(可达百分之一埃)的激光光谱技术,就成为研究这些过程最有效的工具。近年来,国际上这方面的研究工作最活跃,发展也很快,文献也最多(本文末参考文献中的[5—11]只是其中一小部分)。现就最常用的几种重要方法作简要地说明。

1. 激光荧光光谱技术 利用元素的特征荧光光谱进行化合物中痕量物质的分析,在激光出现前就已是行之有效的经典方法之一。生物分子的电子吸收带相互重叠,具有宽阔的吸收带,因此它对激励光的波长要求并不严格。利用高功率密度的(超)短脉冲激光即可在不“损伤”样品情况下实现高密度激发,从而产生较强的荧光信号,检测到含量极低的物质。例如,对一些多环芳香烃化合物的检出限可达 10^{-12} 数量级^[8];利用其高空间分辨率,非但可对不同亚细胞组织的微量元素进行高精度测定,还可在不损伤活体的情况下测定不同时期的成分变化;利用其高时间分辨率,测量荧光分子的荧光衰减规律,即可分析与该分子有关的某些超快生化过程。也可用染料“标记”某种分子,利用染料的时间分辨荧光光谱,研究该分子的构象弛豫过程。

2. 激光拉曼光谱技术 生物大分子的振动能级与分子间的相互作用有关。因此标志这些能级跃迁的拉曼位移及其变化,能提供生物分子的构象与键的配置以及构象弛豫过程的信息。为了克服对活生物样品进行拉曼散射研究时强大的荧光及瑞利散射干扰,除了在检测分析仪器上应用了快速采样及微机控制的 Boxcar 积分平均器,来提取高速重复波形中完全被随机噪声淹没的信号之外^[12],在光谱技术上也采用了不少的新方法来提高拉曼强度和消除背景噪音。近年来较为成功而用途较广的是共振拉曼及相干反斯托克斯拉曼光谱(简称 CARS)。

A. 共振拉曼谱技术 将调谐激光器的波长调整到样品的某个电子吸收带上,进行选择

性激发,利用电子和振动跃迁的耦合可使喇曼线的强度提高 10^4 — 10^6 倍。这不仅使灵敏度有很大提高,而且当将波长调到一个复杂分子(例如蛋白质)的某一功能团特有的电子吸收带时,则拉曼共振增强的振动模被“固定”在这一功能团上。即可用以研究该功能团的结构与功能。在消除荧光干扰方面,可采用超短脉冲激励,并在检测器前加高速光电开关,使检测器只在激励后的 10^{-12} 秒量级左右记录信号。利用拉曼光产生时间(10^{-12} — 10^{-14} 秒)与荧光产生时间(10^{-8} — 10^{-9} 秒)之差来消除荧光干扰。当然,这一方法所需的设备都是目前尖端水平。

B. CARS 技术 近年来相继出现多种利用拉曼共振增强的四波混频光谱技术,其中应用较广的是 CARS 技术^[5]。它的基本方法是:将在传播方向上有一定角度差,频率为 ν_1 、 ν_2 的两束激光聚焦到样品上,若其中之一的频率(ν_2)可调,则当调谐至 $\nu_1 - \nu_2 = \Delta\nu$ 恰好与样品中拉曼活性分子的某条拉曼位移重合时,即可在一定的出射角上产生一束频率为 $\nu_3 = 2\nu_1 - \nu_2$ 的反斯托克斯相干辐射。其出射方向满足相位匹配条件,强度依赖于入射光强、共振线宽与共振分子数密度。它非但发射强度比普通拉曼高 10^3 — 10^5 倍,而且它是在一个方向出射,故收集效率也很高。出射方向又是与入射光分开,所以只用一简单的光阑即可消除入射光干扰。从频率上讲,它比入射光高,更比荧光频率高($\nu_3 > \nu_1 > \nu_2$),因此只需一片干涉滤光片,即可将荧光干扰减低 10^9 倍。当将 ν_2 进行快速扫描时,则 ν_3 强度随扫描频差 $\Delta\nu$ 的变化(即样品的 CARS)即可通过记录仪画出。为了使用方便,D. U. Murphy 等又改良为三光束 CARS^[13]。这些技术的发展,给分子生物学基础研究提供了方便的工具。

3. 激光光声光谱技术 这是七十年代才发展起来的一门新型技术。用它进行物质的定性、定量及化学变化中成份变化的分析时,灵敏度比一般吸收光谱方法高出几个数量级。所以它出现不久即用来进行生化样品的研究^[14]。原则上它也是一种吸收光谱。当将周期性的光脉冲

作用到样品上时,吸收了光能的分子可在无辐射跃迁中很快地(一般为 10^{-8} 秒量级)将其激发能弛豫为热能。此热能周期性地传给样品周围的介质分子,再由介质分子的动能触发微音器,从而产生一个频率与光脉冲重复率相同的声信号。用微音放大及自动记录仪,可快速得到检测结果。将入射光进行扫频时,所记录的变化声信号即样品的光声光谱。通常的吸收光谱仪是根据入射光强与透射光强之差来确定样品的吸收。这非但对弱吸收的测量误差很大,有时样品所须的预处理也是非常复杂的。尤其对结构成份异常复杂的生物样品,即便所探测的分子存在选择吸收,但因其它分子在该波长上的散射干扰,也会使普通的吸收光谱方法不能直接应用。因光声谱是直接测量样品所吸收的光能弛豫为热能的部分,故它和样品中散射物质的存在无关,这样就避免了样品不少的复杂预处理。有些生化样品可直接应用,而且对某些有化学引发反应的样品,可在其反应过程同时记录其“活性光声光谱”,用来研究反应过程中结构成分的变化。这类仪器突出的优点是:结构简单、使用方便、体积小、价格较低、可与计算机及记录仪方便地联机使用,以实现自动化快速分析。

三、用激光机理研究生命过程

早在1943年,量子力学的创建人之一薛定谔就发表了“生物是靠食负熵而生存”的观点。这也就是说,细胞靠新陈代谢所吸收的能量是以相干形态储藏起来。著名超导专家Fröhlich自1967年后,连续发表了一系列的理论性文章,用相干性解释活体的生命过程。显然,若将生物模型与物理模型相对比时,静有序性的超导、超流,倒不如动有序性的激光更接近生命现象。所以应用激光机理来说明生命现象就变得很自然了。如果实验完全确证了生命过程的相干性,生命科学的研究即将进入定量科学。所以这一理论的出现,立即引起国际范围的重视。这样一来,在理论上激光机理沟通了生物学与物理学,就像生化联接了生物与化学相类似。为

此,1982年底还召开了由Fröhlich主持的《生物学中的相干激发》国际学术会议^[25]。对此感兴趣的可参看文献[16—22]。

这些模型及理论的价值如何,要依赖实验证实。首先要解决的问题是:生物系统中是否存在反转分布物质?是否存在相干电磁辐射^[23,24]?

1980年Morgan等报道了二核苷酸荧光谱相对其单体荧光谱产生了一个无结构红移^[25]。因而证实了DNA分子可以在其碱基的堆垒相互作用下,形成只有激发态存在。这类在新陈代谢供能下形成的能级反转分布物质,与在光泵下激光介质的相干贮能是极其类似的。而具有选择性吸引力的酶可以将同类物质聚集起来。一旦能量超过某一阈值后,即可形成相干单模振荡,从而出现长距离的相位相关^[26]。这样一来,活体中的动有序性及高效率即可由相干理论得到解释。例如细胞在新陈代谢下使其内部分子出现有序分布及相互“联络”,当相干贮能达一定程度,细胞会突然分裂等等。既然这是所有生命过程的共同特征,那么在细胞分裂时就应当存在相干电磁辐射,而且所有活体都不应例外。部分生物细胞分裂时发射微弱紫外光的现象,早在1920年就已发现。但因当时光子探测器的落后,以及对生物体内的“超微弱光子辐射”(简称PE)意义不清,所以并未引起注意。直到有意识地要探测这一普遍规律时,才重新引起关注。1974年Popp研究室的年轻物理学家Ruth建成了一台到目前为止还是灵敏度最高的PE探测装置^[27],并开始了一系列实验。结果表明:除了极少数低级生物外,几乎所有被测生物细胞都存在PE;同类细胞的PE强度与细胞的活力(如繁殖、发芽能力、生命力、死亡等)以及环境温度或化学物质的作用等因素有关,但PE频谱结构却与这些因素无关;同时也发现另一些与细胞类型无关的普遍现象(如“光子存储”现象)。结果计算表明,PE控制着细胞内与细胞间的新陈代谢与功能调节以及信息传递^[24,28—30]。利用这些结果可对许多看来近乎“神秘”的生物现象作出解释。例如:细胞的致伤

修补;免疫反应;遗传调控;记忆的全息储存等等。当然,生命过程的物理论述要上升到完整的定量阶段,不仅还需大量实验验证,而且还需要一个理论的发展过程,但仅就目前的许多结果看来,还是非常吸引人的。

不管生命科学的理论沿着什么方向前进,随着科学的发展,描述物质运动高级形态的生物学与描述物质基本运动形态的物理学之间的“未知领域”逐步缩小以至消失,这是必然的趋势。而激光生物学在这个进程中正在发挥着一种无可替代的推动作用。因此它可以称为一个前景广阔的新兴学科。

参 考 文 献

- [1] 程极济等:《生物物理学》,人民教育出版社,508—542,1981。
- [2] A. H. 奥拉夫斯基等:《激光科学与技术》,Vol. 6, No. 2, 87—94, 1983。
- [3] Блюменфельд, Л. А.: *Проблемы Биологической Физики*, М., Наука, 1979。
- [4] Angelov, D. A. et al.: *Conf. Lasers in Photobiology and Photomedicine*, Florence, 1979。
- [5] Long, D. A. 《拉曼光谱学》,科学出版社。
- [6] Johns Hopkins: *Light and Life*, Baltimore, 1971。
- [7] Harrington, D. C. et al: *Anal. Chem.*, 48, 344, 1976。
- [8] Richardson, J. H. et al., *Anal. Chem.*, 49, 955, 1977。
- [9] Bradley, A. B. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 620, 1976。

- [10] 惠令凯等:《国外激光》,198, 1, 1982。
- [11] 会议报道:《国外激光》,196, 5, 1982。
- [12] 孙炳荣:《生物化学与生物物理进展》,55, 73, 1984。
- [13] Murphy, D. U. et al.: *Opt. Letters*, 4(6), 167, 1979。
- [14] Adams, M. J. et al.: *Analyst*, 101, 553, 1976。
- [15] Fröhlich, H. (edit): *Coherent Excitation in Biology*, Springer, Berlin, 1983。
- [16] 栉田孝司:《国外激光》,177, 1, 1980。
- [17] Barnothy, M. F., (edit): *Biological Effects of Magnetic Fields*, Plenum Press, New York, 1964。
- [18] Presman, A. S.: *Electromagnetic Fields and Life*, Plenum Press, New York, 1970。
- [19] Persinger, M. (edit): *Electromagnetic Fields Effects*, Plenum Press, New York, 1974。
- [20] Popp, F. A. et al.: *Collective Phenomena*, 3, 187, 1981。
- [21] Sheppard, A. R. and M. Eisenbud: *Biological Effects of Electric and Magnetic Fields of Extremely Low Frequency*, N. Y. University Press, New York, 1977。
- [22] G. M. Barenboim, et al: *Luminescence of Biopolymers and Cells*, Plenum Press, New York, 1969。
- [23] 李克学:《激光》,61, 41, 1982。
- [24] Popp, F. A.:《国外激光》,216, 1, 1963。
- [25] Morgan, J. P. et al., *Photochemistry and Photobiology*, 31, 207, 1980。
- [26] Popp, F. A.: *Umschau*, 8, 235, 1979。
- [27] Ruth, B.: *Dissertation*, Marburg, 1977。
- [28] Popp, F. A. and B. Ruth: *Arzneimittelforsch. Drug Res.*, 27, 933, (1977)。
- [29] Popp, F. A. et al. (edits): *Electromagnetic Bio-Information*, Urban and Schwarzenberg, München-Baltimore, 1979。
- [30] Slawinski, J. et al.: *Bio-Photon-Physics*, 4, 1, 1980。

[本文于1984年4月6日收到]

蛋白质结构的晶体学修正

毕 汝 昌

(中国科学院生物物理研究所,北京)

近十多年来,蛋白质空间结构的精确化,取得了显著进展。用于测定蛋白质和核酸等生物大分子三维结构的X射线单晶衍射法,通常采用同晶置换等实验方法,来获得结构的初始模型。由于各种原因,初始模型的原子坐标误差平均达0.3到0.5埃。这样的精度远不能满足结构

和功能研究的需要。蛋白质反应的分析指出,原子位置0.1埃数量级的变化,可以产生相当不同的蛋白质行为。酶的特异作用来源于活性部位的独特原子配置以及同底物结合中或以后的构象变化,这种变化有时小到用一般方法难以确定。为了测定这类原子水平的结构细节和微