

使 ATP 缺乏加重, 可导致细胞不可逆损伤^[1]. Mit 对氧自由基的毒性作用十分敏感, 将离体心脏悬挂于能产生氧自由基的溶液中, 发现 Mit 严重肿胀甚至崩解^[6].

ATP-MgCl₂ 可进入缺血心肌细胞内^[7], 有抗脂质过氧化效应^[8], 可直接供应能量, 清除活性氧自由基, 从而使 SR 膜 Ca²⁺-ATPase 活性增高, SR 摄钙增加, Mit 阻滞钙内流. SOD 是活性氧自由基清除剂, 可使 SR 膜 Ca²⁺-ATPase 活性增高, 抑制胞内钙浓度的增加. Verapamil 对钙通道的阻断作用, 有效地降低缺血再灌注心肌细胞内因钙过负荷触发的氧自由基的产生, 起到对心肌的保护作用^[6]. 本实验证明, ATP-MgCl₂, SOD 和 Verapamil 可增加离体缺血再灌注鼠心肌细胞内钙的积聚, 抑制 Mit 内钙的沉积, 从而推测 SR 在某种程度上

可减轻钙对 Mit 的毒性作用, 进一步说明此三种药保护 Mit 电子传递系统和维持高能磷酸盐化合物的水平, 可减轻心肌缺血和再灌注的损伤, 对心肌起到保护作用.

参 考 文 献

- 1 Klunger R A, Przyklenk K, Whittaker P. Circ, 1989; **80** (5): 1115
- 2 Fiskum G. Fed Proc, 1980; **39**: 2432
- 3 中国医学科学院心血管病研究所. 生物化学与生物物理进展, 1977; (3): 17
- 4 齐 鹰. 生理学报, 1992; **44** (4): 379
- 5 Stewart J R. J Thorac Cardiovasc Surg, 1983; **86**(2): 262
- 6 Burton K P. Am J Physiol, 1984; **246** (6): 776
- 7 金基焕. 中华医学杂志, 1990; **70** (1): 38
- 8 金基焕. 生物化学与生物物理进展, 1990; **17** (6): 476—477

二氮杂芴酮席夫碱两亲分子双层膜的特性*

邵子厚 钱向平 邹 娟 张根成

(南京大学配位化学国家重点实验室, 南京 210008)

摘要 合成了一类新型的成膜物质——二氮杂芴酮席夫碱两亲分子, 它可自组装为双层膜, 并具有良好的稳定性和振荡特性, 当膜两侧的溶液为 0.01mol/L AgNO₃ 时, 电流可达 4.0μA, 可望在分子电子器件的研究中得到应用.

关键词 二氮杂芴酮, 席夫碱, 两亲分子, 双分子膜

长期以来, 双层脂膜被广泛地用作为生物膜的模型, 并以各种天然及合成的化合物加以修饰, 在膜的离子运送、电子传递、分子识别、能量转换等方面提供了大量的有用信息^[1,2]. 近年来, 随着生物分子电子器件研究的开展, 世界各国的科学家们对于双层脂膜 (bilayer membrane, BLM) 在这方面的潜在应用颇感兴趣^[3-5], 但因其稳定性甚差, 给研究工作带来诸多不便, 因而, 设计并合成具有良好稳定性的两亲分子成膜物质就成为一个十分迫切的问题.

1 材料和方法

1.1 二氮杂芴酮席夫碱两亲分子的合成及表征

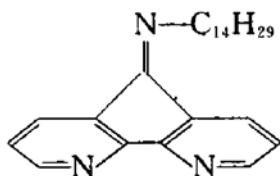
请详见文献 [6].

1.2 双层膜的形成

成膜方法如前所述^[7]. 二氮杂芴酮与十四烷基胺形成的席夫碱两亲分子

*国家自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1993-01-21, 修回日期: 1993-03-05



的 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 氯仿溶液为成膜剂, 膜两侧溶液分别为 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 的金属盐溶液, 以 3 支饱和甘汞电极分别为膜内外溶液的参比和辅助电极, 在 M273 型电化学分析仪上研究了双分子膜的 IV 特性. 所用的金属盐均为分析纯, 配制溶液的二次蒸馏水从石英亚沸蒸馏器制得.

2 结果和讨论

2.1 膜的稳定性

通常由卵磷脂或大豆磷脂所形成的 BLM, 其稳定性甚差, 膜的击穿电压一般仅为 200mV, 这就大大限制了 BLM 在研究工作中的广泛应用. 人们做了一系列的努力来提高它的机械和电学的稳定性, 但结果均不理想^[8], 直至 H. Ti. Tien^[9]得到了一种含有聚吡咯的卵磷脂双层膜, 使其强度和击穿电压均有很大提高.

我们认为, 为了从根本上解决 BLM 的稳定性问题, 关键的问题是如何设计并合成具有新型分子结构的两亲化合物. 从配位化学的观点来看, 具有氮、氧、硫等杂原子的有机配体作为亲水端的两亲分子, 因其可以与多种金属离子配位, 在形成 BLM 时, 会对溶液中的金属离子种类有更多的选择余地. 这就是我们选择 1,10-二氮杂菲作为母体来合成这类新型两亲配体的原因.

图 1 是当膜两侧溶液为 $0.05 \text{ mol/L CrCl}_3$ 的单电位扫描 IV 曲线, 由图 1 可知, BLM 的击穿电压高达 1.85V, 是聚吡咯-BLM 击穿电压值的 3 倍. 用其它过渡金属离子溶液作为膜两侧溶液时, 亦得到相近的结果. 这主要是因为, 在自组装为 BLM 的过程中, 分子之间除去碳氢长链的疏水相互作用外, 二氮杂芴酮之间的 $\pi-\pi$ 相互作用^[10], 以及它们与溶液中过渡金

属离子的作用均有利于提高两亲分子在液-液界面上的有序排列.

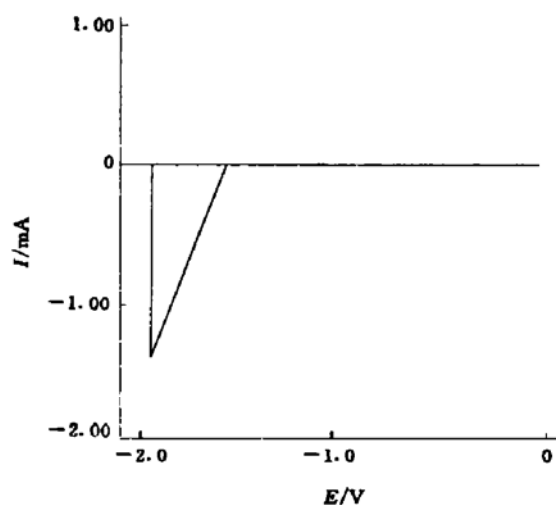


图 1 二氮杂芴酮席夫碱两亲分子所形成的 BLM 之稳定性

2.2 膜的振荡特性

继 P. Muller^[11]和 H. Pant^[12]等分别以直流电压和化学反应使磷脂 BLM 产生振荡以后, K. Yoshikawa^[13]在二油酰磷脂酰胆碱 (DOPC) 形成的 BLM 两侧溶液之间加以电压, 亦观察到电流的振荡.

图 2a 和图 2b 表明 BLM 两侧溶液分别为 0.01 mol/L Ag^+ 和 Cu^{2+} 时, 在一定的扫描速度下所记录的电流是随时间周期性改变的. 表 1 列出了不同金属离子作为 BLM 溶液时, 所得到的最大电流值. 从实验可知, 外加电压所引起的 BLM 电流值的周期性改变至少受到以下 3 个因素的影响:

第一个因素是成膜物质的种类, 正如在油水界面上的振荡研究所指出的那样, 当两亲分子的种类改变时, 油水界面上所产生的 I-V 振荡图形也会产生改变^[14]. 这是因为油水界面上的表面压取决于两亲分子的疏水链之间的 Vander Wall 相互作用及亲水基团之间的 Debye-Hückel 相互作用的大小. 从表 1 可见, 当成膜物质的亲水基为氮杂 15-冠-5 时, 在实验条件不变的情况下, 不仅测得的电流值大大降低而且电流振荡的形态也随之而异. 第二个因素

是膜两侧溶液中金属离子的种类, 对于由同一种两亲分子所形成的双层膜, 影响 BLM 界面性质的主要因素则应是亲水基团之间的相互作用, 由于不同金属离子与二氮杂芴酮的两个氮原子之间具有不同的配位相互作用, 所得到的

电流振荡图形也就具有不同的频率、振幅与波形. 第三个因素是电位扫描速度, 采用不同的扫描速度, 得到的振荡形态有所差异, 当扫描速度为 40mV/s 时所得到的图形最佳.

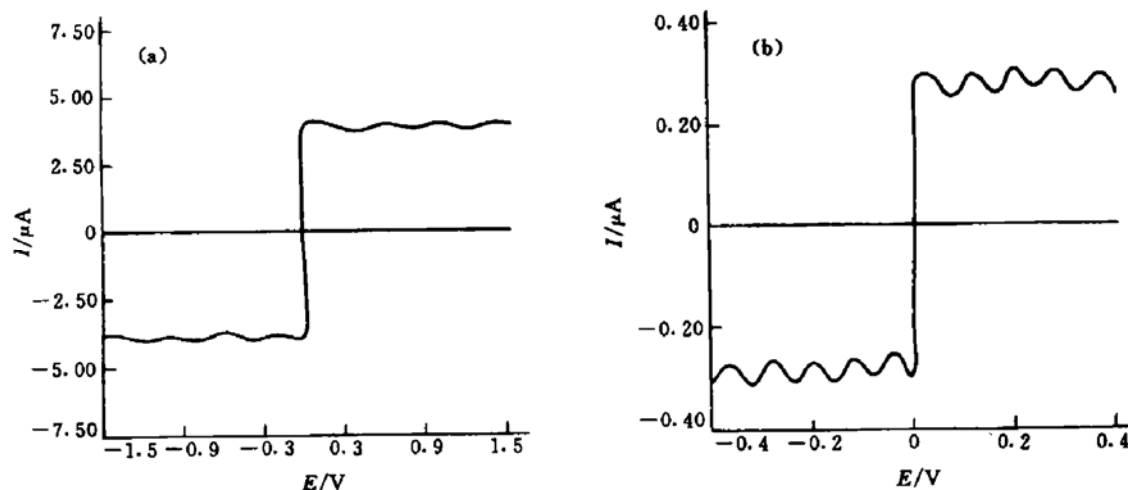


图 2 0.01mol/L AgNO_3 (a) 和 CuCl_2 (b) 为溶液时 BLM 的 I-V 曲线

表 1 不同金属离子作为 BLM 溶液时, 电位扫描过程中得到的最大电流值

金属离子	Ti^{3+}	VO^{2+}	Cr^{3+}	Mn^{2+}	Fe^{3+}	Fe^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Ag^+
最大电流/ μA	0.42	0.10	0.20	0.11	0.30	0.08	0.25	0.19	0.31/0.22 ^{*)}	0.20	1.00/0.12 ^{*)}

注: ^{*)} 亲水基为氮杂 15-冠-5.

对所研究的 11 种金属离子, 当电位扫描至

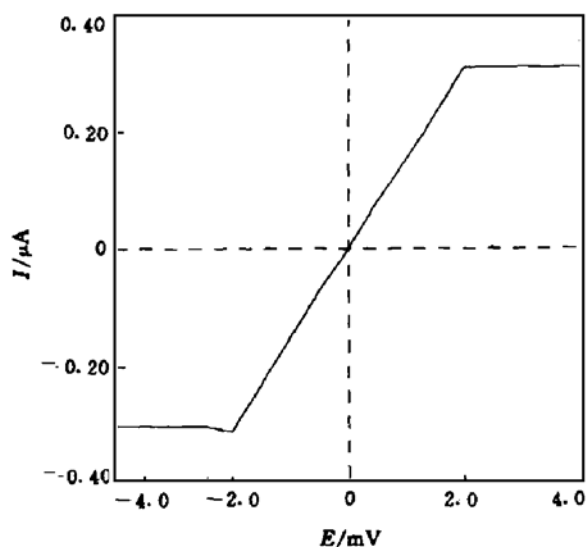


图 3 双分子膜在电位扫描过程中电流的突变

$V=0$ 时, 均会产生明显的电流突变. 其中, 以 Ag^+ 离子作为溶液时所产生的电流最大. 为了进一步弄清电流突变的过程, 以极慢的扫描速度 $v=0.1\text{mV/s}$, 在 $V=0$ 附近 $\pm 4\text{mV}$ 的范围内记录了 I-V 的变化, 从图 3 可见, 这个突变过程实际上反映了膜阻值的变化, 它是符合欧姆定律的, 从直线的斜率可以估算突变过程中的阻值为溶液阻值的 3—5 倍, 也就是说, 在整个扫描过程中膜处于两种不同的阻值状态.

总之, 我们所合成的二氮杂芴酮席夫碱两亲分子是一类很好的成膜物质, 由它们所形成的双分子膜具有良好的稳定性, 从而为进一步研究它们在分子电子器件中的应用提供了有利的条件.

参 考 文 献

- 1 Tien H Ti. Bilayer lipid membrane (BLM): theory and

- practice. New York: Marcel Dekker Inc, 1974: 662—672
- 2 Tien H Ti 著, 肖 科译. 人造双分子层膜. 北京: 高等教育出版社, 1987: 59—71
- 3 田心棣. 化学通报, 1989; 7: 1
- 4 邵子厚, 杨昌正. 生物化学与生物物理进展, 1992; 19 (4): 306
- 5 邵子厚, 李 邨, 杨昌正. 生物化学与生物物理进展, 1992; 19 (5): 391
- 6 Tai Zihou, Zhang Gengcheng, Qian Xiangping. Langmuir, 1993; 9: 1601
- 7 邵子厚, 余宝源, 朱德煦. 生物化学与生物物理进展, 1989; 16 (5): 365
- 8 Moellerfeld J, Prass W, Ringsdorf H *et al.* Biochim Biophys Acta, 1986; 857: 265
- 9 Janas T, Kotowski J, Tien H Ti. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1988; 19: 405
- 10 大勝靖一, 阿部克也. 化学工業, 1988; 1: 68
- 11 Muller P, Rudin D O. Nature, 1967; 213: 603
- 12 Pant H, Rosenberg B. Biochim Biophys Acta, 1971; 225: 379
- 13 Yoshikawa K, Fujimoto T, Shimooka T *et al.* Biophys Chem, 1988; 29: 293
- 14 Yoshikawa K, Matsubara Y. J Am Chem Soc, 1984; 106: 4423

工程菌噬菌体 T7 溶菌酶的纯化和性质*

华 陵 李殿君 许永瑞 钮择玲 崔道珊

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 用崔道珊等构建的噬菌体 T7 溶菌酶工程菌株, 培养物经超声破碎和 DE52, CM52 柱层析纯化, 我们得到电泳纯的 T7 溶菌酶, 分子量为 17000, 最适反应 pH 为 8.0. 其热稳定性欠佳, 保温 37℃, 5min 即丧失酶活 21%.

关键词 噬菌体 T7 溶菌酶, 纯化, 性质

溶菌酶广泛存在于自然界, 已知从最低等的病毒到人体的各器官、组织都含有溶菌酶. 由于这种酶能选择性地使对象微生物细胞壁溶解, 从而对生物体本身有保护作用. 通过对各种来源的溶菌酶进行比较研究, 发现不同来源的酶功能相似, 但作用机理有所差异, 目前将这类细胞壁溶菌酶分为糖苷酶型与肽和酰胺型两大类, 前者以卵清溶菌酶为代表, 后者以噬菌体 T7 溶菌酶为代表. 随着目前人类对用天然无毒防腐剂来代替有害健康的化学防腐剂及对无毒副作用的消毒剂、抗菌药的强烈要求, 探讨和研制具有食品防腐和医用价值的天然无毒蛋白已成为当前生物化学研究的重要课题, 溶菌酶无疑是一种有希望的研究对象. 我们选择了目前尚未进行过深入研究的噬菌体 T7 溶菌酶为目标, 利用崔道珊等^[1,2]构建的噬菌体 T7 溶菌酶工程菌株, 得到纯的噬菌体 T7 溶菌酶,

对其性质进行了一些研究测定.

1 材料和方法

1.1 材料

卵清溶菌酶为美国 Sigma 公司产品; Whatman DE52 及 Whatman CM52 系英国 Whatman 公司产品; IPTG (isopropyl β -D-thiogalactopyranoside) 诱导剂为美国 Sino-American Biotec. 公司产品; MES (2-N-吗啡啉乙磺酸) 为中国科学院生物化学研究所产品; 其它实验中使用的常用化学试剂均为国产分析纯或电泳纯产品.

1.2 制备溶菌酶测活底物

1.2.1 大肠杆菌 *E. coli* B 接种于 10ml TB 培养液中, 37℃ 摇荡过夜, 次日 1:200 稀释,

*国家自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1992-10-14, 修回日期: 1993-02-08

leaf structure of tRNA^{leu} was showed according to the Holley mode as well as the amount of free energy in the each of stems versus loops.

Key words bovine liver tRNA, nucleotide sequence, cloverleaf structure

The Change of Ca²⁺ in SR and Mit of Isolated Ischemia-Reperfusion Rat Heart. Che Chengri, Li Xiangshan, Jin Jihuan, Wang Mingyong, Li Suxiang, Li Dan. (*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Affiliated Hospital, Yian Bian Medical College, Yanji 133000*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (1): 73

The strength of radiation of ⁴⁵Ca²⁺ in sarcoplasmic reticulum vesicle (SR) and mitochondria (Mit) was measured by liquid scintillation counting method. Comparing the effects of ATP - MgCl₂, SOD and verapamil on the ⁴⁵Ca²⁺ concentration in SR and Mit which prepared from isolated ischemia reperfused rat hearts. The result showed that the ⁴⁵Ca²⁺ cpm of SR of the three groups were higher than that of control, while the ⁴⁵Ca²⁺ cpm of Mit of the three groups were lower than that of control. These results suggested that the three kinds of reagent could protect reperfusion injury of heart cell through enhance ⁴⁵Ca²⁺ storage in SR and inhibiting the ⁴⁵Ca²⁺ accumulation in Mit.

Key words ischemia-reperfusion, sarcoplasmic reticulum vesicle, mitochondria, calcium

Novel Properties of Bilayer Membrane Formed by Diazafluorenone Schiff Base Amphiphiles. Tai Zihou, Qian Xiangping, Zou Juan, Zhang Gencheng. (*State Key Laboratory of Coordination Chemistry, Nanjing University, Nanjing 210008*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (1): 76

A new kind of diazafluorenone Schiff base amphiphiles were synthesized. Bilayer membrane formed with these compounds possess good stability and oscillation properties. When 0.1 mol/L AgNO₃ presented in bathing solution and an electrical field was applied on this system, a maximum value of the current, 4.0 μA, was obtained. A possible application in the development is indicated.

Key words diazafluorenone, Schiff base, amphiphile, bimolecular membrane

The Purification and Characterization of Bacteriophage T7 Lysozyme of Recombinant Strains. Hua Ling, Li Dianjun, Xu Yongrui, Niu Zeling, Cui Daoshan. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (1): 79

The culture solution of recombinant strains of lysozyme was treated by ultrasonic wave, purified by DE52 chromatography and CM52 chromatography, a polyacrylamide gel electrophoresis pure T7 lysozyme of Mr 17000 was obtained, the optimal react pH is 8.0, 21% of total enzyme activity lost at 37°C in 5 min.

Key words T7 lysozyme, purification, characterization

Measurement of Creatine Kinase MM Isoforms by Chromatofocusing. Kong Qingyin, Yang Zhenhua, Yang Shude, Tang Zhiyi. (*Dept. of Laboratory Medicine, Beijing Hospital, Beijing 100730*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (1): 83

A rapid and sensitive method of isoforms of CK (EC 2.7.3.2) -MM in human serum by chromatofocusing was reported. The assay system involved Mono P (HR5/20) column, fast protein liquid chromatography (FPLC)