

近代生物科学研究的重要工具 ——同步辐射

陆祖荫

一、近代生物学的重要性

“21世纪是生物学的世纪”这个看法，自从遗传工程突起以来，逐渐已为人们普遍接受。生物学近年来重新崛起，重新为人们注意，是跟它本身发生的重大变革分不开的。以五十年代 Watson 和 Crick 证明 DNA 为双螺旋结构为分界，生物学从传统的生物学进入了近代生物学的阶段，开始从宏观转入从微观的角度来研究生命现象。这样就必然导致研究方法、研究手段上重大的变化。引入了大量近代物理和化学研究的实验技术和仪器设备，吸收了近代物理和化学的观点、思想和方法。物理、化学和生物学结合在一起研究生命现象，使生物学从一门描述得不太精确的科学发展成为比较精确而定量的实验科学，产生了生物物理、生物化学等边缘学科，导致了强有生命力的生物工程的发展。

研究生物学的重要性有两个方面：它是生物工程的基础学科。从研究 DNA 而发展的遗传工程，研究蛋白质而发展的酶工程(酶是蛋白质)，研究细胞而发展的细胞工程，都雄辩地说明了近代生物学这个基础学科的重要性。它和生物工程的关系可以比作核科学中裂变物理和反应堆工程的关系一样。

近代生物学是一门基础学科，但是这门基础学科与应用的关系十分密切。例如研究红血球细胞膜的缺陷，人们发现与这些缺陷相对应，有二、三十种血液病(例如溶血病等)和非血液病(例如情感性精神病)。研究 DNA 的缺陷，发现它对应着色盲、白花病、镰刀形贫血等千种以上的遗传病。在生物体中，一些基本的、低层次、微观的单位，如生物大分子，细胞器，和细胞等的状态往往直接影响到高层次的宏观的器官、系统、甚至生物个体。因此研究生物学本身可以直接为国民经济和人民健康作出贡献。生物学的这个特点是比较突出的，在物理学中，物质分为分子、原子、基本粒子等不同层次。但是要从基本粒子研究直接联系到国民经济，联系到实际应用比较困难，需要通过间接的、曲折的途径。根据以上两个特点，我们不难了解为什么生物学在近年来受到了人们极大的重视。

二、同步辐射是生物学研究中十分适用、十分理想的光源

高能电子在加速器中以接近光速的速度作圆

周运动时，发射的电磁辐射称为同步辐射，它集中在朝前的一个很小的角度内，一般是 20 秒到 3 分左右(图 1)，方向性极强。它的强度要比大功率的 X 光机(60 KW)的特征辐射强一千倍，比它的连续谱辐射强一百万倍。而且同步辐射波长范围很宽，从可见光、紫外光、真空紫外，软 X-射线一直到硬 X 射线。也就是说波长范围从 0.1 埃一直到几千埃。我们可以根据实验的需要选用合适的波段，而用一般 X 光机是做不到这一点的。同步辐射束是连续的毫微秒脉冲，可以利用它研究极快的过程。由于同步辐射有上述四个特点，因此它迅速地在各方面得到了广泛的应用。正像吴健雄 1976 年在美国物理学年会上所说：“(她当时是美国物理学会会长，也是第一个女会长)“同步辐射应用到生物学、固体物理和化学物理。真正打开了出乎人们能够想象的新天地”。“在生物大分子、细胞和组织的研究上应用同步辐射，生物物理学的另一个大突破看来已经不远”。

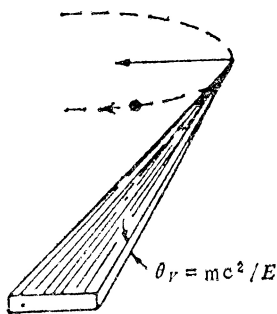


图 1 高能电子作圆周运动时的同步辐射

为什么说生物物理学会因同步辐射的应用而发生大突破呢？这是因为同步辐射的一些特点，对于研究生物样品特别有利。和固体样品相比，生物样品有几个特点：(一)含水。生命离不开水。研究活细胞就离不开水。这样在实验中水往往带来很大的本底干扰。设法排除本底讯号的干扰，提高仪器的灵敏度，是实验成败的一个关键。同步辐射利用它连续谱的特性，可以选择对水吸收系数小的波段，可以巧妙地躲开水的干扰。(二)不稳定。生物本身是在不停地变化发展中。我们要求尽量接近活体状态来进行试验。这样，试验时间就不能太长，热效应不能太大，以防止样品变性。以往由于光源很弱，做 X 射线小角衍射往往要几小时、几十小时，不仅丢失了生物动态的信息，而且还可能因时间过长、样品变性甚至死亡。而同步辐射比常规 X 光源强几个数量级，在几个毫秒内就可以取得足够的信息，很适合研究象肌肉收缩等的动态过程。(三)生物样品量有时很少，利用同步辐射有些生物反应只需要几个分子就可以完成。

同步辐射恰好有这样针对性解决问题的本领，所以它是一种很理想的光源。因此利用同步辐射进行生物研究的兴趣越来越大。现在在有些加速器同步辐射工作上，生物研究工作几乎占一半以上。

三、同步辐射在分子生物学各个领域中的应用

1. 真空紫外

真空紫外对光生物的研究有着重要的应用地位。特别是在辐射损伤问题上，细胞容易吸收紫外线，尤其是细胞中的 DNA。用大肠杆菌做实验，它的 DNA 吸收紫外线之后就会发生辐射损伤。DNA 中的单链可能断开，相邻的嘧啶单体会形成二聚物，使细胞发生突变、甚至死亡。所以人们认为辐射损伤是个很严重的问题。研究 DNA 的损伤和修复，对于认识遗传病有重要作用。

此外，利用紫外引起的突变来育种也是一个值得开展的领域。农业上利用 γ 射线辐射育种，选出了鲁棉一号这样的优良品种。

2. X 射线荧光分析

用 X 射线激发样品中的原子，使原子内壳层电子电离，导致原子发射特征的谱线。根据谱线的位置和强度，可以定出样品中所含原子的种类和含量。这种方法称为 X 射线荧光分析。

同步辐射的 X 光极强，因此可以分析样品中微量的元素，灵敏度可达 10^{-9} 克/克。人体中有许多微量元素对人体健康至关重要。例如地方病大骨节病在病人的红血球膜上硒的含量低于正常人的水平。但正常人的含硒量也很低，用荧光分光光度计去测量，已经到了仪器灵敏度的下限 (10^{-8} 克/克)，无法进行病人血液含硒量的测定。而用同步辐射进行 X 射线荧光分析，则可以解决这个问题。

同步辐射因为准直程度高，可以得到直径为微米量级的 X 光束——微探针，对于研究一些微小的生物样品特别有利。

3. X 射线小角散射

测量生物大分子稀溶液的 X-光散射，在散射角接近 0° 时，散射强度正比于散射分子的电子数的平方，也就是近似地正比于分子量的平方。从强度与散射角正弦平方的关系，可以求出分子的迴转半径。例如 α -乳清蛋白有五种可能的构形，算出了它们相应的迴转半径 R_G (图 2)。从小角散射测得迴转半径为 34 埃，因此构形 (d) 是最可能的。由于只要几个毫秒就可以获得足够的数量，因此利用小角散射研究动态过程是很有潜力的。

4. X 射线小角衍射

X 光射到排列有序的原子阵列上时，各个原子的散射波互相干涉。当散射角满足 $a \sin \phi = k\lambda$ 时，相干波产生衍射的极大值 (图 3)。图中 a 为原子间距，

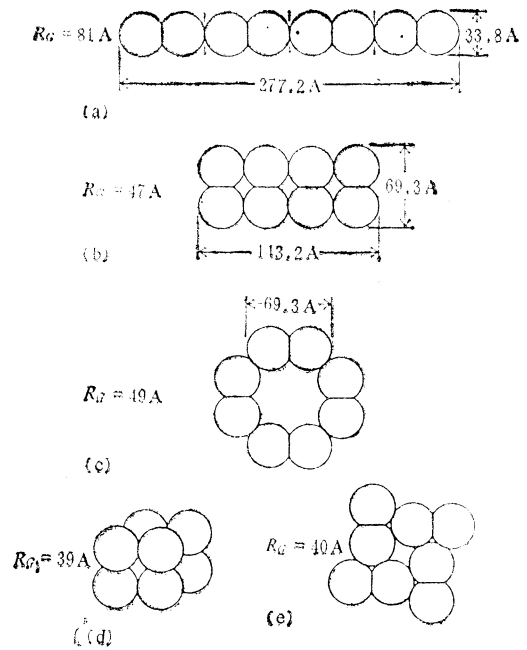


图 2 α -乳清蛋白几种可能的构型

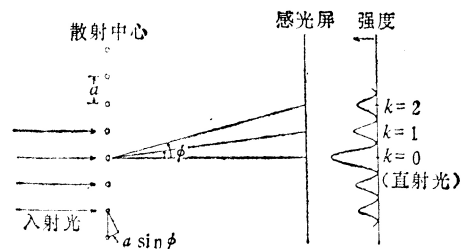


图 3 射线自-单行原子的散射。在由 $a \sin \phi = k\lambda$ 给出的方向上，相干干涉产生衍射极大，这里 a 是散射原子间的重复距离

λ 为 X 光波长， $k = 1, 2, 3, \dots$ 。根据衍射花样可以推算出样品的电子密度分布，从而得到结构的模式。

分子生理学的核心问题是研究在位的和生理功能有密切关系的分子，如蛋白质分子等的结构和它们在生理活动进行过程中的变化，X 射线衍射技术可以用于研究未经任何处理的、活的生物组织中分子的结构和排列方式。因为分子结构中涉及的周期大多在 20 埃以上，所以小角衍射特别重要。用一般 X 光源拍摄一张衍射图往往需要几小时、几十小时，因此也无法观察动态过程，同步辐射的强源和时间特性为衍射工作开辟了新的广阔前景。

5. 扩展 X 射线吸收精细结构 (EXAFS)

X 射线射在样品靶原子上，产生的光电子波被邻

近的原子反射，两者相干，使得靶原子对 X 射线的吸收曲线在吸收限的高能一侧呈现精细结构(图 4)，简称 EXAFS。在生物学上，可以利用 EXAFS 来检验从晶体学研究得知的结构，测定吸收原子与近邻原子之间的距离，研究由于底物结合导致的原子间距变化，确定未知结构等等。

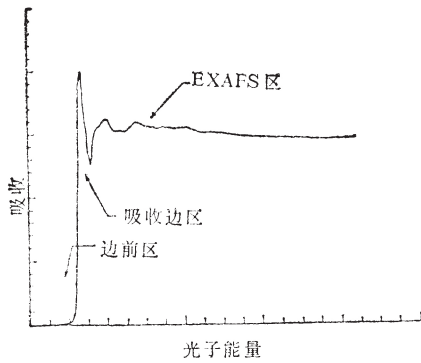


图 4 EXAFS 谱

表 1

蛋白质	EXAFS 的结论
红氧化还原蛋白 (Fe)	Fe-S=2.26 Å
血红蛋白 (Fe)	
与氧结合 (HbO ₂)	Fe-N=1.968 Å
脱氧时 (Hb)	Fe-N=2.055 Å
固氮酶 (Mo) 活性 Mo-Fe 部位	Mo-S=2.35 Å
	Mo-Fe=2.73 Å

许多重要的酶都有金属原子中心，例如血红蛋白有铁原子，叶绿素有镁原子，固氮酶有钼和铁原子。利用 EXAFS 能够研究它们的近邻原子的种类、数目和与中心原子之间的距离，从而为阐明这些酶的结构提供重要的信息(表 1)。

6. X 射线扫描显微镜

用光学显微镜观察生物样品，分辨率不够高，为了加大样品的光学反差，样品常常需要染色。此外，通常还要求样品在脱水状态下以便观察。用电子显微镜观察生物样品，分辨率可达几个埃，但样品厚度只能是 0.1~1 微米左右。对于稍大一些的生物样品，例如大小为几个微米的细胞，就无法观察其整个活体。扫描显微镜可以观察厚度为 10 微米左右，含水的生物样品，而且有足够的分辨率。在观察整个活细胞时无需切片，这是它突出的优点。

生物体中含量较高的元素除氢以外，是氧、氮和碳，它们的 K 吸收边波长分别为 23.5、31.3 和 43.5 埃。表 2 列出了一些生物物质与空气对 X 射线的线性吸收系数。可以看出，当 X 射线波长大于氧吸收边

表 2 一些生物物质的 X-射线线性吸收系数(微米⁻¹)

波长(Å)	水	碳氢化合物	蛋白质	核酸
14	0.560	0.719	0.524	0.768
23	1.93	2.54	1.88	2.71
(氧吸收边为 23.5 Å)				
24	0.112	1.02	1.38	1.36
27	0.151	1.36	1.84	1.82
30	0.198	1.73	2.38	2.34
(氮吸收边为 31.3 Å)				
31	0.215	1.92	1.90	1.74
37	0.336	2.92	2.88	2.63
42	0.458	3.91	3.85	3.50
(碳吸收边为 43.5 Å)				
44	0.521	0.624	0.522	1.19
52	0.782	0.941	0.769	1.69

(23.5 埃)时，水的吸收系数大大下降，水变得透明了。这样就使我们有可能观察含水的样品(这对活体研究是至关重要的)，而避开了水对观察的干扰。

从表上可以看到，不同的物质因含碳、氮的量不同，在碳、氮吸收边上下的吸收系数也各有差异。因此，选择适当的波长(23—44 Å)，我们就可能在不染色、不脱水的情况下观察活的生物样品。从表上可以看到，在这段波长范围内，吸收系数大致为 1/微米，所以样品的厚度可以取为几个微米。

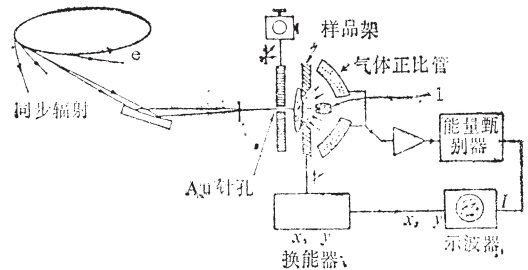


图 5 软 X 光扫描显微镜示意图

图 5 是软 X 射线扫描显微镜装置的示意图。现在分辨率为 100~1000 埃。

在中央直接领导下，中国科学院高能物理研究所和中国科技大学正在建造两台可以提供同步辐射的加速器。台湾也在建造一台同步辐射装置。相信这三台装置建成后必将促进我国的生物科学，特别是生物物理学的大发展。