

# 放射生物学的原初反应以及辐射对生物分子 高级结构的损伤

本文仅就用电子顺磁共振研究放射生物学的原初反应以及辐射对生物分子高级结构的损伤作了初步小结。其中穿插了一些在日本各研究所参观访问的所见所闻。现分述如下：

## 一、放射生物学的原初反应

(一) 用电子顺磁共振研究原初反应的概况

从本届会议来看，脉冲射解和顺磁共振是研究放射生物学原初反应用得最多的两种技术。用顺磁共振方法研究瞬间存在的自由基结构的依据是：把自由基固定下来，不让它跑掉，然后测定其结构。固定自由基的方法有：冰冻干燥、低温（77°K以下）和自旋陷阵法。因此，用电子顺磁共振技术研究自由基，并不是在照射后自由基的形成时间 $10^{-6}$ 秒左右。但各国科学家都认为，测定固定起来的自由基确实可以看出原初反应的真实过程。正因为如此，在本届国际辐射研究会上，用顺磁共振研究原初反应的报告达35篇之多。

(二) 研究技术的新进展

### 1. 自旋陷阵法

自旋陷阵法是在自旋标记法问世之后而衍生出来的一种新技术，最近才较多地应用于放射生物学。这种方法的原理是：把自旋陷阱剂放在生物分子的溶液中一起照射。自旋陷阱剂将把照射中产生的生物分子的不稳定自由基变成稳定的自由基。然后，用液相色谱等方法把各种稳定自由基分开，并测定其化学结构。进而用ESR（顺磁共振）波谱仪测定各种稳定自由基的电子结构。

自旋陷阵法的优点：①能测定同时存在的几种自由基或自由基演化的中间阶段；②

由于此法把不稳定自由基变成了稳定自由基，因而可在室温下测定。正是由于此法有这些特点，近年来才得到了较广泛的应用。

2. 低温下测定受照射生物分子晶体的自由基结构。

这种方法的使用是比较广泛的。目前常用的低温已不仅是77°K（液氮温度），而是低到4°K（液氦）或1.6°K。常用的生物分子晶体，不仅有多晶，而且还有单晶。

使用这种方法的目的是：①温度越低，自由基越不活泼，用顺磁共振测出的结果就更能反映原初阶段的变化。而且测定的灵敏度也越高。②生物分子的晶体样品可以消除许多不必要的干扰，使测定结果更为可靠。③使用晶体样品便于与量子化学的运算结合起来进行研究，从而得出更精确的结果。④在低温下照射某些生物分子的晶体，经常观察到有选择的自由基对的出现。许多学者认为，研究这种现象不仅对于弄清放射生物学的原初过程有意义，而且对阐明酶学反应的机制也有重大意义。

### 3. 脉冲核磁共振的应用

脉冲核磁共振是近年来发展起来的一种新技术。它的交变电磁场是脉冲式的，因而记录系统必须用电子计算机。与通常的核磁共振仪比较，这种改进的好处是：①提高了仪器的灵敏度。②可以方便地测出自旋-晶格弛豫时间 $T_1$ 和自旋-自旋弛豫时间 $T_2$ 。从照射前后弛豫时间的变化就能得知生物分子的交联或降解程度。由于脉冲核磁共振的这些特点，法国科学家A·Charlesby认为，运用此法可以方便而快速地测出受照分子的交联或降解程度，并找出它们与剂量之

间的关系。他也作了相应的实验来证实他的想法。

### (三) 原初反应的概念和早期化学阶段

#### 1. 原初反应的概念

法国科学家 Teoule 等认为, 电离辐射对有机体作用的时间划分是:

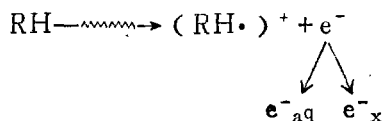
物理阶段  $\leq 10^{-13}$  秒, 物理化学阶段  $\sim 10^{-10}$  秒, 化学阶段  $\sim 10^{-8}$  秒, 生物学阶段 从秒到若干年。他认为, 生物分子的自由基反应主要是在化学阶段发生的。而原初反应主要是指化学阶段之前发生的事情。也就是在1秒钟之内发生的事情。

#### 2. 早期化学阶段

早期化学阶段是指自由基反应最原初的阶段。按直接作用和间接作用二种情况分述如下:

①直接作用——生成阳离子自由基和电子。

电离辐射如直接命中生物分子, 其反应为:



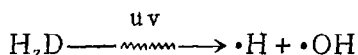
RH——生物分子;  $e^-_{aq}$ ——水合电子;

$(\text{RH}\cdot)^+$ ——阳离子自由基;  $e^-_x$ ——受体带的电子。这就是直接作用的一般情况。

#### ②辐射对水的作用

电离辐射命中水分子, 其反应为:

$\text{H}_2\text{D} \xrightarrow{\text{辐射}} e^-_{aq} + \cdot\text{H} + \cdot\text{OH} + \text{其它}$   
水受紫外线照射的反应如下:



$e^-_{aq}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{H}$ 等自由基进一步与生物分子的反应就是间接作用。

### (四) 各种自由基反应简介

这一部分简要介绍在早期化学阶段之后, 各种自由基反应及其后果。中间过程从略。

#### 1. 阳离子自由基

由直接作用产生的阳离子自由基非常活泼, 很快就失去一个质子而成为中性自由

基。DNA的中性自由基将导致DNA的严重损伤。如: 双链或单链断裂。至于中间过程, 不同的材料来源, 不同的照射条件, 得出了不同的结果。

#### 2. 阴离子自由基

电子与生物分子作用生成阴离子自由基。美国科学家 Cerutti 认为, 阴离子自由基有三种可能的去向: ①电子转移; ②质子附着于其上; ③自由基与自由基的结合。

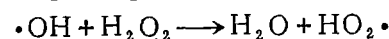
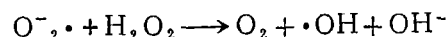
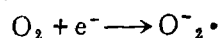
#### 3. $\cdot\text{H}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基

这两种自由基与生物分子的反应主要是附着反应。即: 打开生物分子的双键, 附着于其上而生成生物分子的自由基。

这两种自由基与DNA碱基部分反应的概率为80%, 与戊糖部分反应的概率为20%。一位德国科学家提出了一种 $\cdot\text{OH}$ 自由基攻击DNA的戊糖部分, 经九步中间反应而导致链断裂的机制。

#### 4. 氧效应

氧气是一种很好的电子受体。氧在水中的反应如下:



由氧效应派生出来的上述三种自由基如与DNA作用, 可导致链断裂、交联或生成二聚体等损伤。

#### 5. 可恢复的自由基反应

许多科学家认为, 自由基反应并不一定都会造成损伤, 有一部分自由基反应是可恢复的。会上提出的可恢复的自由基反应至少有十余种。

## 二、辐射对生物分子高级结构的损伤

在第六届国际辐射学会上, 对生物分子(主要是DNA)一级结构的损伤, 多用离心、粘度测定或磷酸键(游离的)数目的测定来判断。除这方面有大量的工作外, 对DNA分子高级结构的损伤也开始有些报导。

德国学者Hagan 和日本学者 Okazawa 发现,受照DNA的园二色性椭圆度减少,熔点温度和溶解度降低,出现了增色效应。认为这是由于两条DNA链之间的联系松弛所致。说明辐射不仅对一级结构有损伤,对二、三级结构也有损伤。

Nakanishi用扫描电镜观察到DNA超结构(即分子间的聚集状态)的变化。正常

DNA每个棒状纤维单元的直径为2100 Å。照射之后,有的缩小到1900 Å,而有的又增大到2600 Å。同时也发现照后DNA的表面更加粗糙,但透明度却有所增高。

总之,关于辐射对生物分子高级结构的损伤的研究工作还是很初步的。还有待今后进一步的深入和阐明。

(第六届国际辐射研究大会中国代表团成员 纪极英整理)

## 快速反应动力学研究与生物分子和生物系统的辐射化学

辐射化学方面的研究工作在第六届辐射研究国际会议上占有十分突出的位置,属于辐射化学课题的讨论会和论文报告会的次数分别占总数的24%和21%,仅次于生物学课题。其中又以快速反应动力学研究和生物分子生物系统的辐射化学最为显眼,这是因为要从分子水平上阐明辐射对生物系统的损伤,认识辐射通过自由基的产生和一系列后续反应对生物系统的间接作用(这种间接作用在含水系统中往往起着主要的作用),了解辐射敏化和防护的机理,就必须了解生物系统的辐射化学。另一方面,生命现象的很多方面,例如视觉、光合作用、酶的催化、代谢过程中的三羧循环和氧化磷酸化、细胞色素C的氧化和还原都是与分子的激发、能量的传递和电子的传递相连系的,而辐射化学的方法和技术能够比较方便地在生物系统中产生一个短暂的非平衡态,在这个非平衡态中进行着能量和电子的传递。众所周知,电离辐射是产生激发态和水合电子 $e^-_{aq}$ 最有效的手段。

经典的辐射化学是以分离和分析辐射化学产物并推断其作用机制为特点的,但人们往往希望直接观察激发态的跃迁、自由基和各种瞬态产物的形成和消失,希望直接观察一系列辐射化学反应过程的中间产物,这就

是所谓的快速反应动力学。1949年发明的闪光光解技术和1960年建立的脉冲射解技术(pulse RadioLysis)使这种观察成为可能。与此同时发展的流动技术、冰冻样品的ESR技术和其它各种快速动力学光谱技术都促进了辐射原初过程的研究。以微微秒脉冲射解工作为例,上届大会上只有加拿大学者Hunt的一篇报告,这届大会上有关这方面的报告则不下10篇。下面将从快速反应动力学研究和生物分子、生物系统的辐射化学两个方面介绍这届辐射研究大会所反映的国际动态。

### 一、快速反应动力学研究

#### 1. 技术方面的进展

##### (1)脉冲射解

目前世界上有微微秒脉冲射解的国家已有加拿大(一台)、美国(三台)和日本(两台),这方面的技术进展以美国的阿贡国家实验室和日本的东京大学为代表。目前的技术比Hunt73年建立的所谓“内频脉冲射解”有了很大的改进,Hunt的直线加速器给出的是一系列宽度20ps(ps表示 $10^{-12}$ 秒)间隔350ps的电子脉冲,观察的瞬态过程最长只能到350微微秒,并且还有原初辐解产物年龄不确定的缺点。现在美日两国都发展了单个微微秒电子脉冲技术,即加速器给