

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

出的只是一个宽度为18~50ps的高强度电子脉冲,它前后的“卫星脉冲”被聚束器(Buncher)消除,这就使待观察的瞬态过程的上限不受限制,单个脉冲的剂量增强(例如阿贡的35ps的单个电子脉冲可在受照体积内给出1500拉德的剂量),原初产物的年龄也确定了。下面是阿贡国家实验室和东京大学核工程实验室的微微秒脉冲射解装置的示意图。

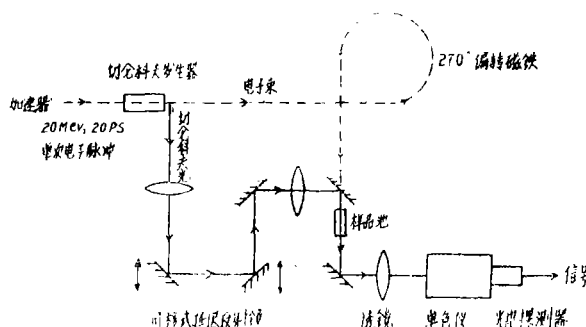


图1 美国阿贡国家实验室的微微秒脉冲射解装置
通过使电子束偏转270°和可移式反射镜系统,调节电子脉冲和作为分析光的切伦科夫光脉冲的时间间隔,观察的瞬态过程从100微微秒到3.5毫微秒(即 10^{-9} 秒)。

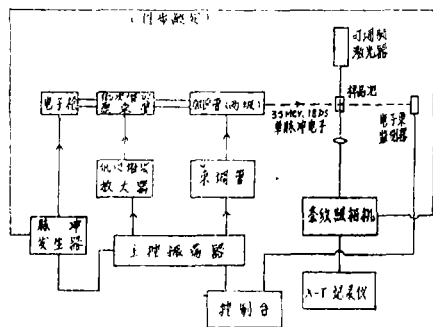


图2 日本东京大学核工程研究室的微微秒脉冲射解装置

采用低次谐波(1/6RF)聚束技术给出35兆电子伏、18微微秒的单个电子脉冲,目前仅测量脉冲照射后样品的光发射(荧光),今后将使用可调频激光器观察样品的瞬态吸收,记录系统采用了超高速摄像装置——条纹照相机(streak camera)。

(2)脉冲射解结合有时间分辨的共振拉曼散射

脉冲射解可以产生分子的三线态,例如在加入 10^{-2} 摩尔的萘作为能量传递剂的 β 胡萝卜素的苯溶液中,高能电子脉冲照射后1微

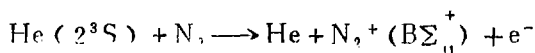
秒,可使 β 胡萝卜素分子的三线态达到最大浓度。共振拉曼散射可以给出分子振动能级的谱,从而给出结构的信息,于是,二者结合起来就能研究处于激发态的分子的振动能级和结构。美国得克萨斯大学快速动力学研究中心(CFKR)用Ven de Graaf静电加速器产生的4兆电子伏电子脉冲照射含多烯物质的苯溶液,脉冲过后2微秒用Nd:YAG激光器倍频产生的波长为531.8nm的7ns宽的激光拉曼探测脉冲激发样品,由于这时入射激光的波长落在了多烯三线态的激发谱区域内(β 胡萝卜素三线态分子的吸收最大值发生在波长525nm处),于是产生拉曼共振散射,这样就得到一个叠加有若干拉曼散射峰的瞬态光吸收谱,这些散射峰的位置反映了多烯分子三线态的振动能级和分子结构。

除上述两个突出的进展外,会上还报告了分辨时间达到毫微秒的测量电导瞬态变化的脉冲射解技术。微微秒的激光闪光光解技术也广泛用于辐射研究,特别是研究多聚体中的激发子和复合激发体。在细胞水平的研究方面,英国学者B.D.Michael报告了用气体快混合技术研究细胞致死损伤过程中氧的动力学行为,这种技术是用高压气体爆射的方法使氧气在短于1毫秒的时间内与充氮气氛的细胞接触,改变脉冲辐照时刻与充氧时刻之间的间隔,观察不同时间间隔下的细胞活存率,从而分析氧效应的动力学行为。

2. 研究动向

(1)用脉冲射解方法研究惰性气体激发分子被原子或分子退激的过程

这种研究的兴趣是与射线气体探测器以及气体电离的研究相连系的,日美科学工作者用Febetron706产生的600千电子伏的毫微秒电子脉冲照射He-N₂混合气,观察激发的氦分子He(2^3S)被N₂分子退激的Penning电离:



测量得到退激速率常数为 $(6.8 \pm 0.4) \times 10^{-11}$ 厘米³秒⁻¹。同样的方法还研究了氦分子的三种激发三线态 $\text{Ne}(^3\text{P}_2, ^3\text{P}_1$ 和 $^3\text{P}_0)$ 被 Ar 、 H_2 和 N_2 分子退激的过程。

(2) 研究电子的溶剂化过程 (或在水溶液中的水化过程)

溶液在电离辐射或紫外线 (简称 UV) 照射下产生的自由基中, 溶剂化电子 e^-_{solv} 有着特殊的重要性, 70 年代以来受到广泛的研究。最早的微微秒脉冲射解表明, 电子的水化过程在 10^{-11} 秒以内即已完成。其它一些研究则表明水合电子 e^-_{aq} 的“前身”有着与它很不相同的物理化学特性, 由于苯是只和溶剂化电子前身反应的净化剂, 并且反应效率与电子的能量水平有密切关系, 因此常用它来研究电子的溶剂化过程。日本东京技术学院的冈崎提出: 电离辐射在液体中产生的高能电子通过与溶剂分子的碰撞损失能量而慢化, 最后与溶剂达到热平衡, 其中经历了三个阶段: 准自由态电子 e^-_{qf} , 定域态电子 e^-_{Loc} 和溶剂化电子 e^-_{solv} 。

阿贡实验室用微微秒脉冲射解 (20 兆电子伏、30 微微秒的电子脉冲) 观察了电子净化剂对水和醇中溶剂化电子产额的影响, 研究了浓度效应和溶剂化时间, 认为乾电子 (即溶剂化电子的前身) 可能不是一种。

(3) 激发态和能量传递的研究

日本东京大学工学院田畑米穗等用微微秒脉冲射解, 通过对 PPO (2,5-diphenyloxazole) 在液体环己烷中闪烁发光的观察, 研究能量从激发的环己烷分子到 PPO 分子的传递, 发现这种传递包含一个快成分和一个慢成分, 而慢传递可被 CCl_4 和 $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ (三乙醇胺) 淬灭。测出能量传递率常数为 $4 \times 10^{11} \text{M}^{-1} \text{秒}^{-1}$, 环己烷激发单线态的寿命约 3×10^{-10} 秒。

阿贡实验室用微微秒脉冲射解研究烃溶剂中芳香类有机溶质第一激发单线态的发光动力学, 他们特别研究了亲代离子的复合过

程 (即 $\text{A} \xrightarrow{\text{电离}} \text{A}^+ + e^- \xrightarrow{\text{复合}} \text{A}^*$) 在形成激发态时的相对贡献。

(4) 激发子 (excimer) 和复合激发体 (exciplex) 的研究

一个激发单线态分子可以通过近程作用与一个处于基态的同种分子结合成二聚体, 这时一部分激发能变成分子间的结合能, 因此它的激发能低于正常的激发分子, 这种激发二聚体叫做“激发子”, 它的发射光谱发生红移。日本学者用微微秒脉冲射解研究了聚乙烯咔唑 [Poly (N-vinylcarbazole), 简称 PVCZ] 在溶液中三种不同激发态的形成过程, 看到 PVCZ 分子内两种不同的激发子, 一种激发子的发光峰在 420nm, 另一种在 380nm, 且两种激发子的形成速率和寿命各不相同。

大阪大学化学系的冈田则用微微秒闪光解研究了 (P-N, N-二甲基替苯胺) —— $(\text{CH}_2)_n$ —— (1-蒎基) 和 (P-N, N-二甲基替苯胺) —— $(\text{CH}_2)_n$ —— (9-蒎基) 的分子内的复合激发体 (一个激发单线态分子与一个异种基态分子的结合体), 发现这些复合激发体的动力学行为依赖于 CH_2 链的数目、溶剂的极化率和粘度。

(5) 脉冲射解研究生物系统中的快速反应。

除了用脉冲射解研究辐射对生物分子损伤的自由基机制, 还有不少工作是用这种技术来研究生物系统中的快速生化反应。英国学者 Swallow 报告了与酶的作用机制有关的单电子反应, 他对三羧循环和氧化磷酸化作用中作为电子受体 ($2e^- + \text{H}^+$) 的氧化型辅酶 I NAD^+ 和作为电子给体的还原型辅酶 I NADH 之间的电子传递过程作了研究。用脉冲射解可以从 NAD^+ 还原产生自由基 NAD^\bullet : $\text{NAD}^+ + e^-_{\text{q}} \longrightarrow \text{NAD}^\bullet$, 也可以由 NADH 经 Br_2^- 氧化产生 NAD^\bullet : $\text{NADH} + \text{Br}_2^- \longrightarrow \text{NAD}^\bullet + 2\text{Br}^- + \text{H}^+$, 因此, 在一定的条件下, 用脉冲射解的方法可以经单电子

反应驾驭如下的反应:



这为研究辅酶 I 的作用机制提供了很好的手段。

他还用脉冲射解研究了在各种底物(包括类固醇、脂肪酸、药物和致癌物质)的羟化作用中十分重要的一种细胞色素 C-P450 (Fe^{+3})以及它与底物的络合物(Fe^{+3}RH), 测量了各种自由基与它们的反应率常数。

以色列学者 M. Farragi 报告了脉冲射解在蛋白质化学上的应用, 他利用阴离子自由基(例如 Br_2^\bullet , $(\text{CCNS})_2^\bullet$, ...) 与氨基酸的选择性反应, 对核糖核酸酶、溶菌酶、 α 胰凝乳蛋白酶和胰蛋白酶上的组氨酸残基作了研究, 只要组氨酸残基处于活性部位, 就能观察到它与阴离子自由基形成的瞬态产物。他还研究了电子与蛋白质的作用, 发现电子总是攻击蛋白质的表面, 而不进入内部与活性部位相结合。

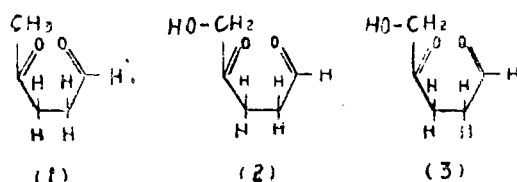
二、生物分子和生物系统的辐射化学

本次大会对生物分子和生物系统的辐射化学安排了一次专题讨论会和六次论文报告会, 共有论文 36 篇, 内容不仅涉及到辐射对 DNA 及其组分的损伤、蛋白质(包括酶)的辐

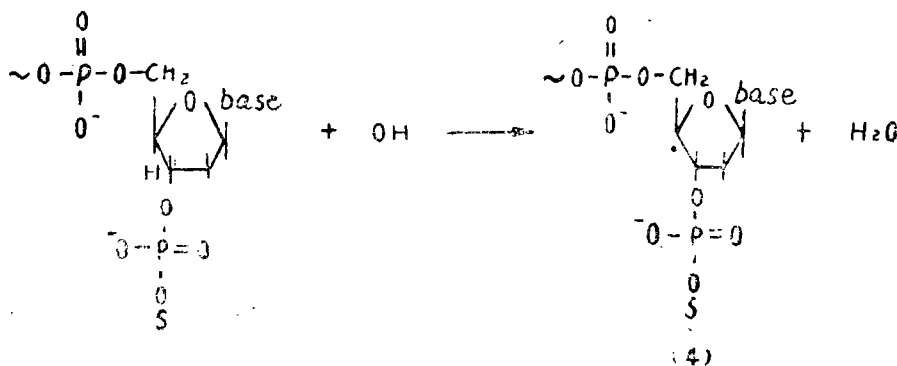
射化学和敏化剂、防护剂的分子机制, 而且涉及生命起源的化学进化过程中的辐射化学。现就其中的某些典型工作谈一点国际动向。

1. OH^\bullet 自由基在水溶液中引起 DNA 链断裂的机制的研究

西德马克思·普朗克协会辐射化学研究所的 Schulte-Frohlinde 对 OH^\bullet 自由基在水溶液中引起 DNA 链断裂的机制提出了一个新的看法。他用 γ 射线射解鱼精 DNA 和小牛胸腺 DNA 的 N_2O 链和水溶液, 从射解产物中分析提取出三种糖, 其结构式分别如下:

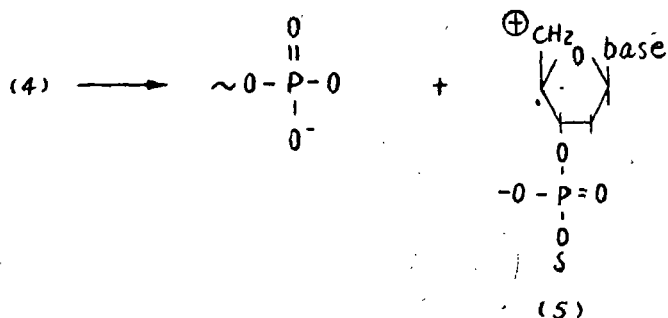


照射 N_2O 链和 DNA 水溶液时, CH^\bullet 和 H^\bullet 将攻击 DNA, 几乎所有的 H^\bullet 和大部分 OH^\bullet 加在碱基的 4~5 双键上, 但有 10~20% 的 OH^\bullet 与糖核反应, 其中大约 $\frac{1}{3}$ 的反应是从脱氧核糖的 C-4 位上抽出 H 原子, 链断裂就是从这儿开始的, 这个过程可表示为:



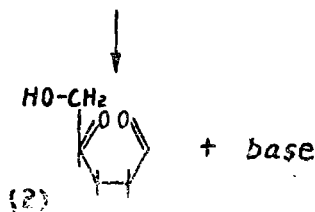
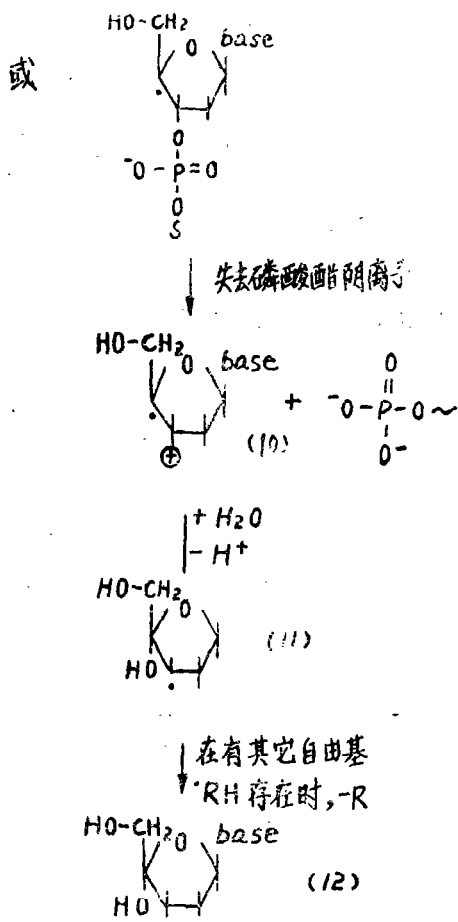
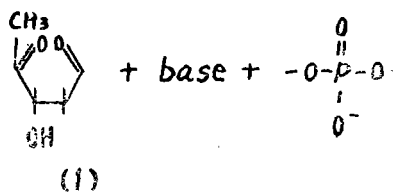
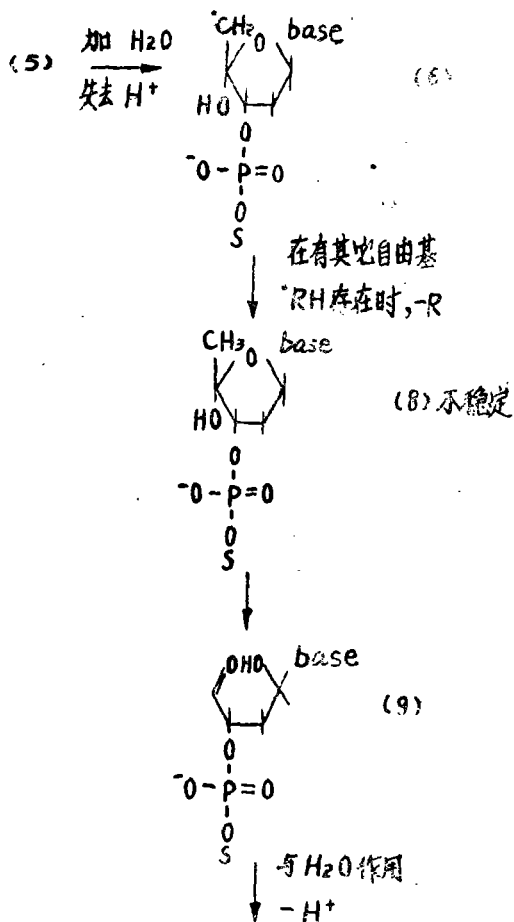
注: 图中 OH 应为 OH^\bullet

C-4' 自由基(4)经过杂环与糖—磷酸键的断 开产生一个自由基阳离子:



(5)是一个碳正离子的中间产物,在水的作
用下进一步反应:

这个DNA链断裂的机制还有待进一步实
验检验。



2. 双螺旋DNA内碱基损伤的研究

许多实验事实表明,对 OH^\bullet 自由基的攻击而言,双螺旋DNA内的碱基部分地受到保护。但是在 N_2O 饱和的 Br^- 溶液中却没有这种保护效应,这时对碱基的攻击主要是 $\cdot\text{Br}_2^-$ 。美国加州大学核医学和放射生物学实验室用脉冲射解对这个现象进行了研究,他们发现,在 N_2O 饱和的含 Br^- 的双链ADN溶液中,碱基氧化的产额(被破坏的碱基数/拉德)和不存在 Br^- 时单链DNA的情况或双链DNA在大剂量照射后的情况一样。实验表明,有 Br^- 存在时,碱基或核苷酸的碱基被部分氧化,但去氧核糖部分不受影响。此外, Br^- 溶液中的氧部分地抑制了碱基组分的氧化,并完全抑制了DNA的氧化。这些结果说明,在 Br^- 溶液里DNA的碱基部分可能是由于电子传递机制($\text{碱基} \xrightarrow{e^-} \cdot\text{Br}_2^-$)所破坏,这种机制完全不同于 OH^\bullet 的攻击机制(即 OH^\bullet 加在5~6双键上),这种机制在辐射敏化剂的作用中可能有重要意义。

3. 氨基酸、生物体的有机酸和糖的辐射离解

为了解释植物荷尔蒙乙烯的生物合成的机制,西德学者用脉冲射解和X射线射解的方法研究了 OH^\bullet 或 O_2^- 与蛋氨酸及其衍生物的反应,测定乙烯的产生。在S-腺苷-蛋氨酸的情况,只有当 OH^\bullet 、 O_2^- 和 O_2 同时存在时才有乙烯形成,这个发现说明在植物激素的生物合成过程中有活化的氧参加。

一些作者报告了抗坏血酸和叶酸(维生素Bc)水溶液的射解,测量了抗坏血酸(AH)被过氧羟自由基(HO_2^\bullet)氧化的速率,用放射色层分析和光谱技术测量叶酸、氨基苯甲酸和谷氨酸的射解产额以及 OH^\bullet 、 e_{aq}^- 和 H^\bullet 分别的贡献。

日本学者报告了在有甲酸钠存在时(即有 CO_2^{-2} 离子时)葡萄糖、果糖和戊糖的射解,他们用气相色谱——质谱联用技术分析甲酸离子浓度变化时射解产物的变化。在低

浓度 CO_2^{-2} 下观察到对糖的保护作用(因为 $\text{CO}_2^{-2} + \text{OH}^\bullet \longrightarrow \cdot\text{CO}_2^- + \text{OH}^-$, OH^\bullet 被净化),在高浓度下,由于 $\cdot\text{CO}_2^-$ 的作用,加速了糖的降解。

4. 关于酶的辐射钝化的研究

酪氨酸酶,它可以催化各种单酚和双酚的氧化形成黑色素。实验比较了在无 e_{aq}^- 净化剂、 N_2O 饱和(即全部 OH^\bullet)、 $\text{N}_2\text{O} + \text{MeOH}$ (全部 OH^\bullet 和 e_{aq}^- 均被净化)和 Cu^{+2} 存在等不同条件下酪氨酸酶的钝化效率,证明酪氨酸酶的钝化主要是由 e_{aq}^- 造成,而 Cu^{+2} 有保护作用。

天冬氨酸激酶,它是一种变构酶,在天冬氨酸的氨基酸生物合成中催化第一反应。实验用 $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线照射,观察酶的催化和调节功能的下降,并观察该酶对苏氨酸和ADP等变构抑制剂的敏感性是否受辐射的影响。

5. 蛋白质的辐射化学

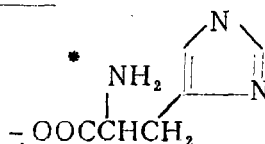
美国Berkeley劳伦兹实验室连系高蛋白食品的辐射消毒,研究氨基酸主链的辐射解,发现辐射产生了一股动植物蛋白来源中没有的 α, α' 双氨基酸,这种双氨基酸是否有害,还有待进一步生物实验。

Dorfman和Faraggi用脉冲射解研究含组氨酰基 $^\bullet$ 的肽和蛋白质的单电子还原,观察到与电子-咪唑环加成物有关的360nm波长的瞬态吸收谱。他们发现这个电子-咪唑加成物对蛋白质的结构很敏感,因此可以用这个自由基的形成作为起催化作用的活性部位上组氨酸残基 $^\bullet$ 的探针。

还有一些工作用闪光光解和脉冲射解研究细胞色素C的直接光还原: $\text{RH} - \text{Fe}^{+3} \longrightarrow \text{RH} - \text{Fe}^{+2}$,研究 Fe^{+2} -细胞色素C及肌红蛋白被 $\cdot\text{Br}_2^-$ 自由基的氧化。

6. 辐射敏化和防护的分子机制的研究

英国学者Fielden用两个硝基化物敏化剂TMPN (tetramethyl-piperidin-4-ol-



$$\begin{array}{l}
 T + OH^{\cdot} \rightarrow T(OH)^{\cdot} \xrightarrow{+O_2} T(OH)O_2^{\cdot} \\
 \quad \quad \quad \downarrow +NPPN \quad K=8 \times 10^{18} M^{-1} \text{秒}^{-1} \\
 P' \leftarrow P (\text{不稳定产物}) \\
 \quad \quad \quad K=1.1 \times 10^8 \text{秒}^{-1}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 DNA + OH^{\cdot} \rightarrow DNA(OH)^{\cdot} \xrightarrow{+O_2} DNA(OH)O_2^{\cdot} \\
 \quad \quad \quad \downarrow +NPPN \quad K \geqslant 10^8 M^{-1} \text{秒}^{-1} \\
 P' \longrightarrow P (\text{不定稳产物})
 \end{array}$$

(第六届国际辐射研究大会中国代表团成员 沈恂整理)

9