

【研究简报】

生物超微弱发光图象的观测

谭石慈 邗 达

(华南师范大学激光生命科学实验室, 广州 510631)

关键词 生物超弱发光 图象 光电探测器

任何有生命的物质在进行新陈代谢的过程中, 都可以自发地或受外界条件诱导后发射出

2-甾烯在微生物酵素催化下加 C_5 糖而形成的。因此, 一个类似的机制对于长链藿烷似乎是有可能的, 即假设由细菌酶催多次将 C_5 糖键合到细菌藿四醇上。在本研究中观察到的 C_{30} - , C_{31} - C_{35} , C_{36} - C_{40} 到 C_{40} - C_{44} 藿烷和莫烷类的相对丰度逐步降低也是一个证据, 但因缺乏核试剂存在本假设也存在疑点。长链藿烷也有可能被视为一类新的分子的代表, 它在自然界的分布和地质意义均有待于进一步研究。

致谢 感谢英国 VG Biotech 的 David Little 博士帮助作 GC/MS/MS 分析, Kevin Collins 先生和 Fisons' 北京办事处舒放先生的安排和接待, 以及 Newcastle 大学 NRG 的 Paul Donohoe 先生的技术帮助。本工作作为中英科技合作研究的一个部分, 英国皇家学会和中国石油天然气总公司资助项目。

参 考 文 献

- 1 Rullkötter J, Philp R P. Extended hopanes up to C_{40} in Thornton bitumen. *Nature*, 1981, 292: 616~618
- 2 Ostroukhov S B, Aref'yev O A, Petrov A A. Hexacyclic monoaromatic hydrocarbons of petroleum. *Petrol Chem USSR*, 1983, 23(1): 53~60
- 3 Li M, Larter S R, Mei B, et al. Maturity assessment of "immature oils" produced from the Shahejie Formation of the Liaohe Basin, NE China. *Organic Geochemistry: Selected Papers From the 17th International Meeting on Organic Geochemistry*, Spain, 1995, 421~423
- 4 Lu S, He W, Huang H. The geochemical characteristics of heavy oil and its recovery in Liaohe Basin, China. In: Durand B, Behar F, eds. *Advances in Organic Geochemistry 1989*, Oxford: Pergamon Press, 1990. 437~450
- 5 Volkman J K, Alexander R, Kagi R I, et al. Biodegradation of aromatic hydrocarbons in crude oils from the Barrow Sub-basin of Western Australia. In: Schenck P A, De Leeuw J W, Lijmbach G W, eds. *Advances in Organic Geochemistry (1983)*, Oxford: Pergamon Press, 1984. 619~632
- 6 Moldowan J M, Seifert W K, Gallegos E J. Identification of an extended series of tricyclic terpanes in petroleum. *Geochim Cosmochim Acta*, 1983, 47: 1531~1534
- 7 Trifilieff S, Sieskind O, Albrecht P. Biological markers in petroleum asphaltenes: possible model of incorporation. In: Moldowan J M, Albrecht P, Philp R P, eds. *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, New Jersey: Prentice Hall, 1992. 350~369
- 8 Flesch G, Rohmer M. Prokaryotic hopanoids: the biosynthesis of the bacteriohopane skeleton. Formation of isoprenic units from two different acetate pools and a novel type of carbon/carbon linkage between a triterpene and D-ribose. *Eur J Biochem*, 1988, 175: 405~411
- 9 Dahl J, Moldowan J M, McCaffrey M A. 3-alkyl steranes in petroleum: evidence for a new class of natural products. *Nature*, 1992, 355: 154~157

(1996-05-06 收稿, 1996-09-04 收修改稿)

一种极其微弱的光子流,强度在 $10 \sim 10^4$ 光子/cm²·s, 波长在 180~800 nm 之间^[1]. 这种现象广泛存在于动植物中. 自从 1955 年 Colli 等人第一次用光电倍增管测量了生物的超微弱发光之后, 国内外的科学家对生物超微弱发光的理论和实验研究都很关注, 但由于受到光电探测器灵敏度的限制, 绝大多数的工作是探测生物样品超微弱发光的总强度, 记录的只是空间积分光强, 而不具备空间分辨能力, 即不能反映样品各部位的发光强度分布, 给生物超微弱发光的研究带来一定的困难和局限性.

随着光电探测器的发展, 从 90 年代开始, 在一些发达国家已开始对生物超微弱发光的图象进行观测, 这对生物的生长调控和新陈代谢状况的研究具有重要意义. 关于黄瓜种子发芽的超微弱发光图象^[2]以及黄豆芽在有丝分裂过程中的超微弱发光图象^[3]已经有所报道. 1995 年 12 月我们研制了一套超高灵敏度、低噪声的生物超微弱发光图象观测系统, 可同时得到发光总强度数据和空间分布信息. 利用该系统观测到绿豆芽、小葱和柑桔等的超弱发光清晰图象. 这在国内尚属首例, 而且清晰程度远好于国外的报道.

1 超高灵敏度、极低噪声的图象探测系统

系统装置如图 1 所示. 它主要由样品暗箱、变焦物镜(数值孔径 1:1.8, 口径 55 mm)、光纤微通道板象增强器(HM C3100)、等倍中继透镜(数值孔径 1.4)、制冷 CCD 探测器(TE-512TKB, Princeton Instruments, Inc.)以及计算机控制系统所组成.

样品暗箱内装有步进马达控制的三维调节平台, 便于对样品进行准确调焦. 生物样品经过变焦物镜成像后通过象增强器的光放大, 在出射荧光屏上的图象由中继透镜投射在制冷 CCD 探测器象面上, 再经数据采集系统进入计算机进行图象处理, 利用计算机软件 and 采集控制系统 ST-130 以及电子快门实现实时记录, 可获得样品超弱发光强度的二维和三维分布, 任意发光点的坐标和发光强度以及图象任意某一截面的光强分布等. 由于被探测的信号极其微弱, 要求探测系统必须具有极高的灵敏度和非常低的噪声, 我们利用光纤微通道板象增强器约 6×10^4 的象增强作用以及低温制冷的高灵敏度背向照明型 CCD 探测器(背景噪声 < 0.2 次·

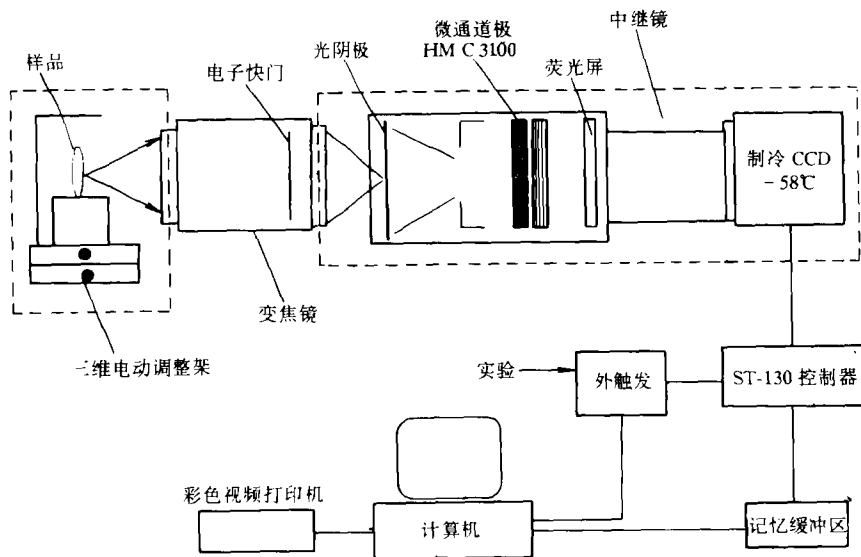


图 1 超微弱发光图象探测系统装置图

s^{-1} pixel, 即普通摄像 CCD 的 10^{-4}), 使得探测灵敏度达到可观测发光强度为 10 光子/ $cm^2 \cdot s$ 左右的超微弱发光图象. 实验中探测器的制冷温度和稳定度对信噪比的影响很大, 当制冷温度每降低 $7^\circ C$, 则背景噪声下降 50%, 若实验中探测器温度从室温 $18^\circ C$ 降至 $-60^\circ C$ 时, 噪声下降 2000 倍以上. 另外, 通过象面增益修正和背景噪声扣除等技术, 大大提高了测量系统的成像质量, 结合图象处理技术, 使所获得的超微弱发光图象具有非常低的噪声和较高的空间分辨率.

2 生物样品的超微弱发光图象

利用这套超弱发光图象探测系统, 我们对豆芽类、葱类和柑桔等的超微弱发光图象进行观测, 得到了一些生物样品的超微弱发光的清晰图象. 图 2(a) 为小葱在极低照度下的外形图, 图中 A 为葱头, 呈白色, 即在微光照下亮度最大, B 为葱叶, 呈绿色, C 为刚刚生长出来的嫩叶, 呈淡黄色. 图 2(b) 是小葱在正常光照条件下立即移入样品暗箱内, 经过 20 s 后在 10 s 内取样积累得到的超微弱发光图象. 比较图 2 的 (a) 和 (b) 清楚可见, A 处是小葱的储能部分, 超弱发光最弱, 而 C 处是小葱叶发育最快, 新陈代谢最旺盛的部位, 其超弱发光最强, B 处为发育成熟部分, 则发光较 C 处弱些. 图 2(b) 清楚地反映了小葱各部位在生长发育过程中的新陈代谢旺盛程度. 如果沿纵向把图象分成 256 个象素行, 我们选取其中第 14 行上的数据可以得到如图 3 所示的一维光强分布. 此图反映了生物样品小葱的幼叶和成熟叶超弱发光的相对强度分布, 可以看到幼叶的发光强度几乎是成熟叶的 2 倍.

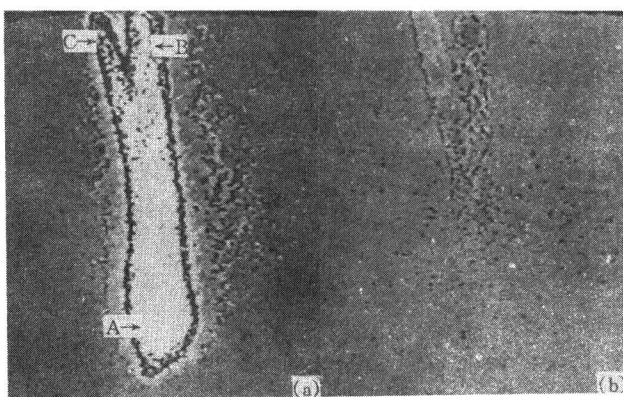


图 2 小葱的超微弱发光图象

我们还记录了柑桔的暗处理时间分别为 40, 66, 92, 118, 144, 170, 196 和 222 s 的超微弱

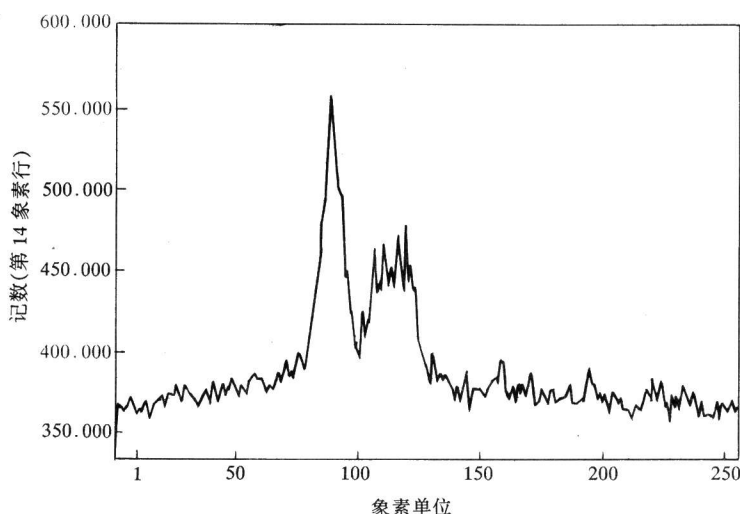


图 3 小葱幼叶和成熟叶的发光相对强度的一维分布

【研究简报】

·OH胁迫下稻苗体内脯氨酸积累及其
抗氧化作用

蒋明义 郭绍川 张学明

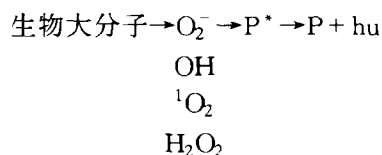
(湘潭师范学院生物系, 湘潭 411201)

关键词 ·OH胁迫 脯氨酸积累 抗氧化作用 水稻

脯氨酸(Pro)是植物蛋白质的组分之一, 并可以游离状态广泛存在于植物体中. 在干旱、盐

发光图象(图片略), 取样时间均为 10 s. 从结果可见, 柑桔的暗处理时间长达 222 s, 仍可采集到超微弱发光图象, 我们认为这基本上就是样品自发的超微弱发光水平. 在这 8 幅图象中, 记录柑桔同一部位的超弱发光相对强度分别为 86.5, 64.9, 55.8, 51.5, 45.3, 42.5, 39.2 和 36.9 次/s. 其数据呈双曲线衰减最后趋于平稳状态. 从生物样品的超微弱发光图象可以直观地看出: (1) 不同生物样品的超微弱发光强度不同; (2) 同一样品不同部位超微弱发光强度存在较大差异; (3) 不同样品光诱导发光衰减速率不同. 在测量生物样品中, 洋葱的超弱发光最强, 柑桔的超弱发光衰减最慢, 而绿豆芽的超弱发光衰减较快. 从实验结果可以看出, 新陈代谢较为旺盛的细胞超弱发光较强.

生物超微弱发光显然不同于其他物质在光激发后的自发辐射或受激辐射, 任何物质的感应荧光或磷光寿命都不会长于秒的量级(一般在毫秒量级). 很显然生物的超微弱发光与光合作用过程中的光学过程以及电子传递过程无关, 甚至与高能分子也称能量载体的 ATP(三磷酸腺苷)的初始产生无关, 它是生化反应过程中的产物, 反应生命活动过程中非平衡生化反应动力学的一些特征. 一般认为, 生化系统的发光机制很复杂, 在非平衡的生化反应链上可产生多种自由基, 经过演变, 2 个自由基复合时将产生激发态产物 P^* , 特别是生成单重态氧和激发态羧基^[1], 它们的退激发构成了生物系统的低水平发光, 而初始的光照只是提供了推动这个非平衡过程的能量. 其反应过程简单表示为:



参 考 文 献

- 1 沈 恂, 傅世密, 张月敬等. 生物系统超弱发光的探测: 绿豆、大鼠血液和 3T3 细胞的发光. 生物物理学报, 1988, 4: 98~102
- 2 Schauf B, Repas L M, Kaufmann R. Localization of ultraweak photon emission in plants. Photochemistry and Photobiology, 1992, 55: 287~291
- 3 Scott R Q, Usa M, Inaba H. Ultraweak emission imagery of mitosing soybeans. Appl Phys B, 1989, 48: 183~185

(1996-04-15 收稿, 1996-06-11 收修改稿)