

现代核分析技术在生命科学中的应用

杨瑞瑛

(中国科学院高能物理研究所 北京 100080)

摘要 本文叙述了近几年来现代核分析技术中,中子活化分析,同步辐射 X 射线荧光分析,扫描质子微探针,质子激发 X 射线荧光分析和扫描隧道显微技术的发展及其在生命科学研究中的应用。

关键词 微量元素 生物样品 核分析技术

生命科学研究工作的发展,从单元素到多元素,从宏观观察到微区分析,特别是近年来进入分子生物水平的研究,要求更灵敏、更准确的检测仪器来实现这一目的。现代核分析技术是目前非常活跃的一门应用科学,特别是在生命科学中的应用。一些成熟的、先进的核物理方法,在这一领域前沿研究中正发挥着或将发挥创造性的、革命性的作用。

1 活化分析

活化分析的原理、特点及一般的应用已在文章^[1]中有所介绍,下面仅就近一二年分子活化分析的发展作一介绍。

为了深入研究和揭示微量元素在生物体内的分布、代谢和生物功能,不仅要分析微量元素在各组织和体液中的含量,而且还常需要测定这些生物样品的各组成部分中的微量元素的含量及分布,有时还要分析微量元素的形态和价态。所谓分子活化分析是指将某些特效的元素形态分离技术(如萃取、离子交换等)与具有高灵敏度的中子活化分析方法相结合,实现元素化学形态和价态的分析。以及采用超速离心分离技术,凝胶色谱和电泳等方法与中子活化法相结合,使原来对器官、组织和体液中微量元素含量的分析变为对各种细胞、亚细胞、各种蛋白质、酶、核酸及糖等生物大分子中各种微量元素赋存状态的测定。

1.1 对地方病的研究

杨瑞瑛等人^[2~4]用萃取、共沉淀和离子交换的化学分离方法与中子活化相结合,完成了阿克巴盟地坤病区饮用水中无机三价砷(As(III))、五价砷(As(V))、甲基砷酸(MMA)和二甲基砷酸(DMA)4种化学态的测定。结果表明:病区饮用水中总砷的含量严重超过国家饮用水水质标准。井水中的砷

大多以无机砷形式存在,其中 As(III)为总砷的 62%~87%,有机砷的含量较低,MMA 和 DMA 所占比例之和为 1%~6%。虽然有机砷的毒性小于无机砷,但进入人体内的有机砷在酶的作用下脱去甲基而形成自由基,使机体产生有害的 O 和 OH,促使脂质氧化,从而损害膜细胞。因此有机砷在致病过程中的作用是不可忽视的。

丰伟悦等^[5~7]发展了两种新的中子活化法即用盐酸萃取法及半胱氨酸法分离甲基汞和无机汞,然后用中子活化法分别进行测量。此法的优点是灵敏度高和准确性好。他们用此法对严重汞污染地区第二松花江流域的 29 例产妇女发中汞进行了测定,结果表明,发现汞的分布范围为 0.38~2.01mg/kg,其中甲基汞为总汞的 60%~80%。由于甲基汞毒性极大,且生物学半衰期长,且容易通过各种生物膜而长期蓄积在人体内,因此对人体危害性很大。同时还对这 29 例子体头发中汞、硒水平及其相关性进行了研究。发现子体头发中的汞与母体相当,而子体中的硒大多比母体的高。硒与汞的摩尔比值子体比母体的高 40%,这表明子体能从母体中摄取较多的硒,以抵御汞的毒性。

1.2 对常见病的研究

1.2.1 糖尿病 目前的研究表明,微量铬对人体很重要,它可与蛋白质、核酸以及各种低分子量的配体结合,在糖代谢和脂代谢中起胰岛素增效剂的作用。发现补铬能够改善糖尿病患者的糖耐量和降低血脂、胆固醇。丰伟悦等^[8]以富集稳定同位素⁵⁰Cr³⁺示踪剂,用 Sephadex G-25 凝胶色谱法和中子活化法研究了 Cr(III)在正常和患糖尿病大鼠肝细胞液、血清及尿液中的贮存状态。发现:Cr(III)在大鼠血清中可迅速与血清蛋白结合,以某种特定蛋白质为载体将 Cr(III)运送到身体各处。在大鼠肝细胞液中,铬主要与高分子量蛋白质结合,并可能以

高分子量铬结合蛋白的形式储存在肝脏中。并发现糖尿病大鼠尿中低分子量铬络合物的排泄总量远高于正常组大鼠。这可能是造成糖尿病大鼠体内缺铬的原因之一。他们还用放射性示踪技术,通过灌胃方式研究了 $^{51}\text{Cr}^{3+}$ 在大鼠体内的代谢行为^[9],发现占灌胃量 99.6% 的 ^{51}Cr 从粪便排出,其吸收率 < 1%,进入体内 ^{51}Cr 的蓄积量是肝 > 肌肉 > 胰 > 骨骼 > 肾。据文献^[10]中报道,铬主要在肠道被人体吸收,对不同的铬盐其吸收率是不同的。以无机 Cr(III)形式的铬盐,只有 0.69% 的口服剂量被人体吸收。但如服用葡萄糖耐量因子(GTF)形式存在的生物活化铬,其吸收率高达 10% ~ 25%。丁文军等^[11]对富铬酵母中铬的化学种态进行了研究。表明总铬含量为 1582 $\mu\text{g/g}$ 的富铬酵母中,无机态的 Cr 占 16%,其中 Cr(III)为 232 $\mu\text{g/g}$,Cr(VI)为 24.5 $\mu\text{g/g}$,酵母细胞富铬过程中 84% 参与了酵母细胞的生物合成,促进生物转化,使富铬酵母中的铬主要以生物活性物质的形式存在。

1.2.2 胆结石 侯小琳等^[12]用中子活化测定了 22 例胆囊结石中的 Br、Ca、Cl、Cu、I、Mn、Na 7 种元素的含量。发现黑色煤渣样结石中 Br、Cl 和 Mn 含量极高,分别平均为胆固醇和胆红素类结石之相应含量的 5.5 ~ 6.9 倍、26 ~ 119 倍和 23 ~ 756 倍。而胆红素类结石中 Ca、Cu 和 Mn 含量远高于胆固醇类结石。碘在个别结石中含量极高,远高于体液和正常组织中的碘含量,个别样品比甲状腺的还高。

2 原子激发 X 射线荧光分析 (PIXE)

2.1 基本原理

当高能原子辐照某元素时,如果入射的高能粒子的能量大于被辐照元素原子的内层电子结合能,就可使内层电子电离,使原子处于激发态。根据量子力学的原理,激发态原子不稳定,将遵循一定的选择定则产生一系列的电子跃迁,同时发射出元素的特征 X 射线,使原子从激发态回到基态。根据 X 射线的能量进行定性分析,根据 X 射线的强度定量。

2.2 应用

沙因等人^[13]用 PIXE 测定了 48 只家兔在挠骨骨折愈合过程中骨骼中多种微量元素含量的变化。Fe 和 Sr 的含量分别成凸形和下凹形变化,故 Fe 和 Sr 含量的变化可作为骨折愈合过程的指示剂。在骨折愈合过程中发现骨骼和血液中的 Ca 相对含量

保持不变。这表明当某一部位骨折时,肌体全身并不存在缺 Ca 现象。故无法为补充 Ca 来治疗骨折的疗法提供依据。

刘年庆等人^[14]用 PIXE 和中子活化法测定了不同甲状腺激素水平病人红细胞中 K、Ca、Fe、Cu、Zn、Se 和 Pb,结果表明:红细胞中 Se 含量未见显著差异,Zn 的含量甲低组显著高于甲亢组和临界组,而正常组是介于甲低与甲亢和临界组之间。在甲亢组元素间存在显著相关性,而元素和甲状腺激素间未见显著相关性;而甲低组甲状腺激素水平与红细胞 Zn、Cu 和 K 的含量有显著的相关性。

刘希举等人^[15]用 PIXE 测定了山东胃癌高发地区栖霞县和低发区苍县主要食物面粉、玉米粉、甘薯、大白菜、白萝卜、黄瓜和大蒜中 Ti、V、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Ge、Se、As、Pb 和 Sr。t 检验 P 值表明,栖霞县玉米粉、面粉、甘薯、大蒜和黄瓜中 Ni 和 Cu 等强致癌物显著高于苍县($P < 0.01$),而对致癌物质有抑制作用的 Se 在高发区的 5 种主要食物中含量均低于癌症低发区。这可能是栖霞县地区胃癌发病率高的主要原因之一。

3 扫描质子微探针 (SPM)

3.1 原理

所谓探针即微束的同义词:就是用微米甚至纳米级的极细离子、质子或光子为人射光源,用以激发样品、产生信息,从而进行物质的组成、形貌、结构、化合态和精细结构等基本特性的微区分析。

质子微探针 (SPM):是将静电加速器产生的高能质子束,经准直、聚焦或微米束后对样品作扫描分析。高能质子与样品原子相互作用而释放出 X 射线,X 射线的能量和强度分布与样品微区的元素含量和结构状态密切相关,经计算机处理后绘制成元素等面线分布图。

陈友红等人^[16]使用扫描质子微探针及 PIXE 定量分析技术对我国广东南雄盆地白垩纪地层中的病态恐龙蛋壳化石样品的微米区域内元素成份进行了测定和研究,得到恐龙蛋壳微区内主要由 Ti、V、Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、As、Rb、Sr、Y、Zr、Sb、Ba 和 Pb 等微量元素组成。而他们的分布特征则不相同。其中 Cr、Mn、Ni、Co、Cu、Zn、As、Rb、Y、Zr、Pb 等元素主要分布于蛋壳的内层,而 Sr 则在蛋壳的外层富集。As、Pb、Mn、Sr、Zn 等有毒元素的局部富集,这可能是导致恐龙蛋的结构出现异常和病变,

并影响正常的孵化和胚胎发育,从而引起其后代灭绝的主要原因。

王基庆等人^[17]用质子微探针研究大气中单个气溶胶固体颗粒物元素的分布特征。对来自上海不同污染源的含 Pb 单个颗粒物的元素化学表征和元素浓度分布的研究表明: Pb 在不同污染源颗粒物中分布差异比较明显,从而推断出该市大气中 Pb 污染的现状及其来源,并查出一些弱 Pb 排放源对大气污染的贡献。

4 同步辐射 X 荧光分析及微探针

4.1 原理

同步辐射 X 射线光束的产生是由于高能电子即电子枪产生后在直线加速器进行加速后进入储备环,约束在储备环中加速。作加速运动的带电粒子会以电磁波的形式辐射能量。同步辐射就是这种电子在磁场中回转时沿轨道切线方向放出的一种电磁辐射。同步辐射光源斑点直径从几百微米到几微米。

4.2 应用

刘年庆等^[18]为了探讨急性肾脏损伤的致病过程中体内微量元素在肾脏分布的变化,以及促排肾中 Cd 后这些元素的变化,用同步辐射 X 荧光微束扫描经注射 CdCl₂ 导致急性中毒的大鼠和正常大鼠肾切片。结果表明: Cd 主要分布在肾脏的皮质,而髓质部分 Cd 的含量很低。用多元统计法对所测元素进行聚类分析,中毒鼠 Cd 与 Se 和 Ca 有相关。正常鼠的 Se 与 Zn、Cu 及 Mn 强相关,中毒后 Se 仅与 Cd 和 Cu 相关。中毒后用新药促排 Cd 后,使 Zn 和 Mn 去替换 Cd 和 Cu。此时 Se 与 Zn 和 Mn 又强相关性。这种行为说明 Zn 与 Cd 之间是拮抗作用。

吴应荣等^[19]用同步辐射全反射 X 荧光分析测定了 70 只小白鼠小肠细胞群中 K、Ca、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn 的含量,并给出了每个细胞的平均元素含量。

章净霞等^[20]用同步辐射 X 荧光分析研究沙土鼠正常脑和损伤脑切片组织中元素分布特征发布: 损伤脑组织和正常脑组织相比,元素含量发生不同程度变化。其中 Ni 和 Ti 两种元素含量有所增加,而 P、S、Cl、K、Ca、Fe、Cu、Zn 的含量均明显减少。表明细胞和组织受到自由基损伤时会产生一系列膜结构和功能的改变,从而造成各种元素和金属离子含量的变化。

5 扫描隧道显微术 (STM)

STM 的工作原理是利用量子理论中的隧道效应,将原子线度的极细探针和被研究物质的表面作为两个电极,当样品与针尖的距离非常接近时(通常小于 1 纳米),在外加电场的作用下,电子会穿过两个电极之间的势垒流向另一个电极,这种现象就是隧道效应。将针尖在样品表面扫描,运动的轨迹直接在荧光屏或纪录纸上显示出来,从而得到样品表面密度分布或原子排列的图像。

佟向军等^[21]用扫描隧道显微镜研究了经过 Zn²⁺ 诱导后,由兔肝中提取的金属硫蛋白 (MT) 的分子图像。每个 MT 分子都由两个大小相近的球状部分构成,这就是 α 和 β 两个结构域。每个结构域直径约 1.5 ~ 2.0nm。两个结构域的相对位置并不十分固定,有的距离近一些,分子的大小约 3.0nm; 有的距离远一些,分子的直径接近 4.0nm。分子结构域间的夹角也不同,有的 180°,为哑铃形; 有的小于 180°,呈电话筒形,有的甚至接近 90°。由此推测,自由状态的 MT 分子形态有一定的变化幅度,这可能是因为连接两个结构域的三肽链并不是刚性的,而是可以在一定程度上弯曲折叠,从而使两个结构域形态和夹角发生改变。在研究过程中发现,以哑铃形分子结构为最多,这可能是哑铃形构象最稳定。

参考文献

1. 杨瑞瑛, 现代仪器. 1998, 4. 1~5
2. 杨瑞瑛、叶军、王珂等, 核化学与放射化学. 1999, 21 (3): 184
3. 杨瑞瑛、叶军、张永保等, 核化学与放射化学. 2000, 22 (2): 112~117
4. Yango PY., Chemical Journal of Chinese Universities. 1999, 20 (5) 516
5. 丰伟悦、柴之芳、钱琴芳等, 核技术. 1997, 20 (6): 356~361
6. 丰伟悦、柴之芳、钱琴芳等, 核化学与放射化学. 1996, 18 (3): 187~191
7. Feng WY. Qian QF. Zhang PQ. et al., J. Radioanal. Nucl. chim. 1995, 195 (1): 67~73
8. 丰伟悦、钱琴芳、丁文军等, 核化学与放射化学. 1999, 21 (3): 731~736
9. 丰伟悦、丁文军、钱琴芳等, 核技术. 1998, 21 (12): 731~736
10. 丁文军、柴之芳、钱琴芳等, 微量元素与健康研究.

- 1997, 14 (2) 53~55
11. 丁文军、钱琴芳、柴之芳等, 分析化学. 1999, 27 (9) 1061~1064
 12. 侯小琳、朱邦举、柴之芳等, 核技术. 1998, 21 (3): 178~182
 13. 沙因、章佩群、王昕等, 核技术. 1998, 21 (6): 349~353
 14. 刘年庆、刘平生、徐青等, 核技术. 1999, 22 (2): 119~122
 15. 刘希举、刘清前、程杰等, 核技术. 1999, 22 (4): 228~232
 16. 陈友红、朱洁清、王晓红等, 核技术. 1997, 20 (3): 158~163
 17. 王基庆、郭盘林、李小林等, 中国科学院核分析技术开放实验室 1999 年年报. 65 页
 18. 刘年庆、刘鹏、徐清等, 核技术. 1998, 21 (7): 415~419
 19. 吴应荣、潘巨祥、李光城等, 核技术. 1997, 20 (3): 164~170
 20. 章净霞、吴本阶、黄萍等, 核技术. 1994, 17 (3): 158~163
 21. 佟向军、铁峰、任笑地等, 电子显微学报. 1993, 5: 404~409

Application of modern nuclear analytical techniques in life science

Yang Ruiying

(Institute of High Energy Physics Academy Sinica Beijing 100080)

Abstract This paper reviews the development of modern nuclear analytical techniques in recent years in China. It includes various methods of nuclear analytical techniques, such as neutron activation analysis, synchrotron radiation X-ray fluorescence analysis, scanning proton induced X-ray emission analysis and scanning tunneling microscope, for determination of trace elements of biological samples and their application to life science.

Key words Trace element Biological sample Nuclear analytical Techniques

(上接第 3 页)

数实现峰形拟合。仪器和样品的贡献由基本原理计算得到,完全不需要用“一定晶粒大小”的“无应力”标准样品。用一些基本参数就可以完成“无标样”实际结构分析。在这个基础上开发了它的应用程序。在“Bruker AXS”的产品中,叫做 TOPAS 程序包,在“理学电机”的产品中,就叫做基本参数法。

总之,新发展的 X 光源、高精度测角仪、特种样品台和附件、摄像/激光选区定位系统、Goebel 镜高强度平行光技术或单导管 X 光透镜技术和一维、二维探测器技术以及完善的软件系统,使现代多晶 X 射线衍射仪大大扩展了应用范围。

参考文献

1. 朱桂兰 何崇智,新型 D8 系列 X 射线衍射仪,钢铁研

- 究,2001.3
2. 施劲,使用高分辨平行光路系统的 X 射线衍射方法,私人通讯,2001.3
3. Bruker AXS Beijing Office,布鲁克 AXS X 射线分析仪器总览,2000.10
4. 理学/X 射线分析仪器综合样本,2001.3
5. Cheary, R. W. &Coelho, A. A., J. Appl. Cryst., 25, 109 ~ 121, 1992
6. Coelho, A. A. &Cheary, R. W., Powder Diff., 12(4), 100 ~ 106, 1997
7. Cheary, R. W. &Coelho, A. A., J. Appl. Cryst., 31, 851 ~ 861, 1998
8. Cheary, R. W. &Coelho, A. A., J. Appl. Cryst., 31, 862 ~ 868, 1998

Technology progress of polycrystal X-ray diffractometer

Yao Xinkan

(Central Laboratory, Nankai University Tianjin 300071 china)

Abstract This paper briefly introduced the technology progress in X-ray source, goniometer, optics, sample holders, accessories, detectors and software of polycrystal X-ray diffractometers in recent years.

Key words Polycrystal X-ray diffractometer Parallel beam optics