

NaCl 对液-液扩散法生长溶菌酶晶体的影响

戴国亮* 胡文瑞*

(中国科学院力学研究所 国家微重力重点实验室 北京 100080)

摘要 用动态光散射法研究了不同浓度 NaCl 对液-液扩散法生长溶菌酶晶体的影响,并测量了晶体生长前后体系的 Zeta 电势. 结果表明,NaCl 浓度较高时,在溶菌酶溶液-凝胶界面处会发生液液分层现象,溶液中一直存在较大的聚集体,生长出的晶体质量较差. 而在合适的 NaCl 浓度下,随着溶液 Zeta 电势降低,溶液中溶菌酶的大聚集体发生解聚集,生长出的晶体质量较高.

关键词 动态光散射, Zeta 电势, 液-液扩散, 晶体生长, 溶菌酶

Effect of NaCl on Liquid/Liquid Diffusion Lysozyme Crystal Growth

DAI, Guo-Liang* HU, Wen-Rui

(National Microgravity Laboratory, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract Liquid/liquid diffusion is one of the often-used methods in protein crystal growth, which is affected by precipitant concentration. The knowledge of how the precipitant affects the protein crystal growth process is useful to improve the crystal quality. Dynamic light scattering is a powerful tool in studying crystal growth. It is used in this work to reveal the interaction between NaCl and lysozyme molecules/aggregates, which in some degree, can also be described by Zeta potential of protein solution. Concentrations of lysozyme are 15, 25, 35 mg \cdot mL⁻¹, and those of NaCl in agarose are 0.12 kg \cdot L⁻¹ and 0.10 kg \cdot L⁻¹. The results show that there exists liquid/liquid demixing at lysozyme solution-agarose gel interface when NaCl concentration is 0.12 kg \cdot L⁻¹, and some "sea urchin" liked crystals appear. When NaCl concentration decreases to 0.10 kg \cdot L⁻¹, the "sea urchin" liked crystals disappear and the crystals are all tetragonal. From the dynamic light scattering results, it is believed that the liquid/liquid demixing at the lysozyme solution-agarose gel interface has changed the distribution of NaCl in lysozyme solution by us. So, both existence of large aggregates (larger than 1 μ m) of lysozyme and the appearance of "sea urchin" liked crystals are all for lacking of efficient high concentration of NaCl. The Zeta potential of lysozyme solution under several conditions has been measured in our experiments. The Zeta potential decreases at the appropriate crystal growth condition, which reveals that more Cl⁻ are combined with lysozyme molecules. The more combined Cl⁻ is, the smaller the lysozyme aggregates in solution are. That accords with the results of dynamic light scattering.

Keywords dynamic light scattering, Zeta potential, liquid/liquid diffusion, crystal growth, lysozyme

对晶体生长的研究,已有许多文献报道^[1~5]. 由于光散射是一种实时、无损的研究方法,因此近二十年来国外陆续开展了采用光散射法对蛋白质晶体生长的研究^[6~9]. 通过动态与静态光散射研究,得到了一些优化蛋白质晶体生长的结论,并对几个蛋白质可能的生长机理进行了报道^[10~12]. 在蛋

白质晶体生长方法中,除了常用的批量法和汽相扩散法外,液-液扩散法也是较为常用的方法之一. 由于此法可有效减少因密度梯度导致的对流^[13],因此空间微重力晶体生长实验常采用此法生长晶体^[14,15]. 本实验室为了未来的空间微重力蛋白质晶体生长实验,几年前开始对晶体生长的地面实

* E-mail: dspr@imech.ac.cn

Received August 12, 2002; revised December 5, 2002; accepted December 28, 2002.

国家自然科学基金(Nos. 1978920, 30270302)和国家科学技术委员会攀登计划(No. 95-ytr-34)资助项目.

验进行比较系统和深入的研究,其中用动态光散射法研究溶菌酶晶体生长的工作已经开展了数年,并且采用自制的样品池研究了用批量法和汽相扩散法生长溶菌酶晶体的过程^[16,17].

一般认为,选择了合适的生长蛋白质晶体的沉淀剂后,沉淀剂对晶体生长的影响,主要是通过影响形成过饱和的速率来完成的^[17],而这一过程与沉淀剂和蛋白质分子(或聚集体)的相互作用密不可分.深入了解沉淀剂和蛋白质分子(或聚集体)之间的相互作用,对优化晶体生长条件,提高晶体质量大有益处.我们以前的工作^[16]表明,采用动态光散射可以在一定程度上揭示出蛋白质晶体生长过程中溶液中聚集体的变化情况.迄今为止,文献中鲜见用动态光散射研究液-液扩散法生长蛋白质晶体.另外,Zeta 电势反映了溶液中颗粒所带电荷的情况,它的变化可从一个侧面反映出沉淀剂与蛋白质相互作用的程度.为此,本文选用溶菌酶生长晶体最常用的沉淀剂 NaCl,结合动态光散射和 Zeta 电势的测量,考察了在液-液扩散法生长溶菌酶晶体的过程中 NaCl 和溶菌酶的相互作用情况,以此来研究 NaCl 对溶菌酶晶体生长的影响.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

液-液扩散法中,NaCl 溶解于一定浓度的琼脂糖凝胶中,然后逐渐向溶菌酶溶液中扩散.本实验中所用琼脂糖凝胶浓度为 0.003 kg L^{-1} ,NaCl 浓度为 0.12 kg L^{-1} 和 0.10 kg L^{-1} .样品池中溶菌酶溶液与琼脂糖凝胶的体积比为 3:1(或 2:1).琼脂糖凝胶与溶菌酶均溶于相同的缓冲溶液中.所用缓冲溶液为 50 mmol L^{-1} 醋酸盐缓冲溶液,pH 4.5.母鸡蛋白溶菌酶从美国 Sigma 公司购买(已经过 3 次重结晶),未作进一步处理.实验时将一定量溶菌酶粉末直接溶于缓冲溶液中,配成相应浓度的溶菌酶溶液,离心、过滤,取上层清液于 4℃ 保存.实验中所用化学试剂均为分析纯,并在使用前离心 15 min (13000 r/min),再用 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜(美国 Millipore 公司)过滤,以尽可能地除去灰尘.BF200SM 动态光散射仪(美国 Brookhaven 仪器公司),所用光源是波长 488 nm 的 Ar^+ 激光器(上海亿奥激光公司生产,150 mW).恒温循环器是 LTD6G 型(英国 Grant 仪器公司).样品池用光学玻璃制成,底面为正方形,边长 5 mm,高 75 mm,壁厚 1 mm.用 Zeta PALS(美国 Brookhaven 仪器公司)和 Pd 电极测量 Zeta 电势.

1.2 实验方法

用微量注射器取约 70 μL 琼脂糖凝胶溶液于样品池中,然后放置 4℃ 冰箱中约 10 min,待凝胶溶液完全凝固后取出.用微量注射器取约 210 μL (或 140 μL)溶菌酶溶液,以使溶菌酶溶液与琼脂糖凝胶的体积比为 3:1(或 2:1).用封口膜密封样品池口后,将样品池置于光散射仪的散射腔中,立即开始动态光散射测量.固定散射角度为 90° .散射腔中的十氢萘和样品溶液用恒温循环器恒温(18 ± 0.1)℃.实验时通

过调节样品池插入散射腔中的深度,以使激光束的位置尽可能靠近溶菌酶溶液与凝胶的界面.一般情况下,激光束的位置在溶液-凝胶界面上方 2~3 mm 处.

实验过程中每隔 5 min 采集一次数据,每次采集时间为 5 min.实验全过程由计算机自动控制.以随机附带的计算软件 NNLS (non-negatively constrained least squares: multiple pass) 解析数据.动态光散射给出的实验结果,其 X 轴反映的是发生散射的颗粒的直径分布情况,Y 轴反映的并非光强绝对值,而是各粒径颗粒的散射光强百分比(以最强的散射光强作为 100%).

测量 Zeta 电势时,恒定样品温度为 18℃,每个样品测量一次 Zeta 电势,一个 Zeta 电势值由多个相同样品测量值平均而得.测量生长出晶体后溶液的 Zeta 电势时,所用溶液是将生长出晶体后的溶液低速离心后所取的上层清液.

2 结果与讨论

2.1 不同 NaCl 浓度下的不同浓度溶菌酶的晶体生长情况

为描述方便起见,将晶体仅在溶液-凝胶界面处出现(或溶液中尚未出现晶体时)与晶体遍布整个溶液时,溶液中的大颗粒分别称之为“聚集体”(其大小比真实聚集体要大些,详见文献^[16])和“晶体”.

我们研究了 NaCl 浓度为 0.12 kg L^{-1} 和 0.10 kg L^{-1} ,溶菌酶溶液浓度为 15、25 和 35 mg mL^{-1} ,溶菌酶溶液与琼脂糖凝胶体积比为 3:1 条件下,晶体生长的情况.NaCl 浓度为 0.12 kg L^{-1} 时,三种浓度的溶菌酶溶液生长出的晶体中都出现了“海胆”状晶体(图 1a),而且晶体都只在溶液-凝胶界面处的溶菌酶溶液中出现.但是将 NaCl 浓度由 0.12 kg L^{-1} 降为 0.10 kg L^{-1} 后,虽然生长出的晶体也只在溶液-凝胶界面处出现,但三种浓度的溶菌酶溶液生长出的晶体的形貌全都是四方型,未见“海胆”状晶体(图 1b).文献^[18,19]分别报道了批量法和汽相扩散法生长溶菌酶时,发现在一定条件下会生长出这种形状怪异的“海胆”状晶体.我们用液-液扩散法生长时也出现了这种现象,说明“海胆”状晶体的出现和消失,与生长方法没有关系,而只是和特定的晶体生长条件相关.“海胆”状晶体的出现,说明实验时的条件(温度、NaCl 和溶菌酶浓度)低于溶菌酶溶液与 NaCl 溶液的共存线,从而在溶液-凝胶界面上发生了液-液分层^[18].“海胆”状晶体的出现,表明生长出的晶体质量不高(不适于做 X 射线衍射).

图 2 是用动态光散射监测的几种条件下液-液扩散法生长溶菌酶晶体的结果.NaCl 浓度为 0.10 kg L^{-1} 时,由于结果的相似性,我们以 25 mg mL^{-1} 溶菌酶的结果作为代表.图 2e 是 25 mg mL^{-1} 溶菌酶直接溶解在缓冲溶液中(不含 NaCl)的结果,它反映的是液-液扩散法生长晶体前溶液中的情况.图 2e 表明,溶菌酶溶液中存在的聚集体分布范围很宽,从几纳米到几千纳米都有.按照我们以前的结论^[16],由于溶

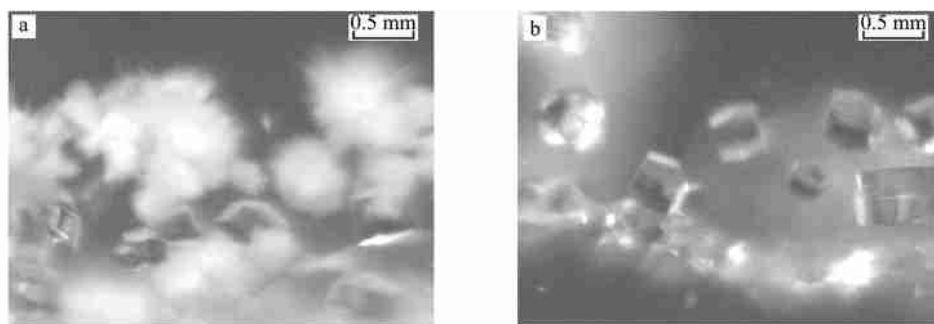


图1 25 mg mL⁻¹溶菌酶在不同 NaCl 浓度下液-液扩散法生长出的晶体

a—0.12 kg L⁻¹ NaCl, “海胆”状晶体与四方晶型晶体共存; b—0.10 kg L⁻¹ NaCl, 仅有四方晶型晶体

Figure 1 Crystal morphology in the case of 25 mg mL⁻¹ lysozyme crystal growth using liquid/liquid diffusion method under two different NaCl concentrations

a—0.12 kg L⁻¹ NaCl, “sea urchin” liked and tetragonal crystals; b—0.10 kg L⁻¹ NaCl, only tetragonal crystals

液中缺乏足够高的 NaCl 浓度,溶菌酶分子之间的电场相互叠加,从而有很多的溶菌酶分子发生聚集,并且聚集的程度是不同的.因此才有如此广泛的聚集体分布.这种聚集体分布很广的情况在液-液扩散法生长溶菌酶的初始和结束阶段都出现了(图 2a, b, c, d).图 2 中较特殊的是图 2d₁,即 NaCl 浓度为 0.10 kg L⁻¹ 时晶体生长初始阶段的情况.此条件下,溶菌酶溶液中主要是几纳米和几百纳米等较小的聚集体,大聚集体并未出现.此条件下溶液中的 Cl⁻ 浓度较图 2 中其他条件下的 Cl⁻ 浓度要大(解释见后),大的聚集体都已发生了解聚集,从动态光散射的结果看就是溶液中未出现大的聚集体.另外,我们注意到在图 2d₁ 的实验中,总散射光强与图 2e 相比并未发生变化,但图 2d₁ 实验中较小聚集体的散射光强在总的散射光强中所占比例增大,这从另一个侧面说明了图 2d₁ 实验中大的聚集体解聚成了相对较小的聚集体,使较小的聚集体数量增加而使总散射光强未发生变化.

那么为什么在 NaCl 浓度较大时(0.12 kg L⁻¹) 反而不发生大聚集体的解聚集呢? Cl⁻ 是由溶液-凝胶界面处向溶菌酶溶液中扩散的,在不发生液-液分层的情况下,按照 Fick 定律,Cl⁻ 浓度在溶菌酶溶液中是呈梯度分布的,扩散源 Cl⁻ 浓度高则溶液中相同截面上 Cl⁻ 浓度相应也高.因此与凝胶中 NaCl 浓度为 0.10 kg L⁻¹ 相比,当 NaCl 浓度为 0.12 kg L⁻¹ 时,在散射体积(激光束在样品池中所占体积,本实验中,其约占总体积的 0.03%,故可近似认为是一个很薄的截面)中 Cl⁻ 的浓度要高些,对于溶菌酶溶液中聚集体的解聚集作用也要强些,不出现大聚集体的可能性要更大.但是由于 NaCl 浓度为 0.12 kg L⁻¹ 时,发生了液-液分层的情况,Cl⁻ 浓度在溶菌酶溶液中的分布不再遵循 Fick 定律,更多的 Cl⁻ 滞留在溶液-凝胶界面处,整个溶菌酶溶液中可以与溶菌酶分子相结合的 Cl⁻ 浓度较不发生液-液分层时要低,解聚集的作用也相应减弱了.

为了佐证我们的解释,我们将溶菌酶溶液与琼脂糖凝胶的体积比降为 2:1,分别进行了 15, 25, 35 mg mL⁻¹ 溶菌酶溶液在 NaCl 浓度为 0.12 kg L⁻¹ 时的液-液扩散晶体生长实验.从显微镜下观测的结果表明,生长出的溶菌酶晶体分布

在整个溶菌酶溶液中,尤其以溶液-凝胶界面处为多.我们选 25 mg mL⁻¹ 溶菌酶溶液作为代表,人为地将整个生长过程(从加入样品到生长出晶体)等分成 8 个部分(各部分的时间间隔约为 30 min),取这 8 个时间点的动态光散射结果作图.图 3 是上述条件下用动态光散射监测的结果.图 3 中从 1~8 是随着晶体生长的进行,溶液中聚集体的分布情况.从图中可见,在晶体生长的起始阶段,溶液中既有较小的聚集体(小于 10 nm)也有大的聚集体(10000 nm 左右)(见图 3 中 1),但随着时间的推移,大的聚集体消失了(图 3 中 2).因为此时在溶菌酶溶液中,尽管也发生了液-液分层的现象(出现了“海胆”状晶体),但由于降低了溶液与凝胶的体积比,溶液中 Cl⁻ 的浓度仍能逐渐增大到使溶菌酶的大聚集体逐渐发生解聚集的程度.但是随后溶液中又逐渐出现 100 nm 至近 1000 nm 的聚集体分布(图 3 中 3, 4),这应该是在 Cl⁻ 作用下,溶液中的溶菌酶晶核上逐步堆积溶菌酶分子聚集体而产生的很微小的晶体.随着晶体生长过程的进行,溶液中出现的晶体的尺寸越来越大,这些晶体所产生的散射光强在总散射光强中所占比例也越来越大(图 3 中 5, 6).在晶体生长的结束阶段,光散射结果反映出溶液中出现了大的颗粒,且其散射光强占总散射光强的比例很大.由于此时溶液中已经遍布溶菌酶晶体,因此这时光散射反映的大颗粒已经不是溶菌酶的聚集体,而是溶菌酶的晶体了(图 3 中 7, 8).尽管受到液-液分层的影响,但溶液与凝胶的体积比减小仍然改变了溶液中各部分的 Cl⁻ 浓度,并且最终使 Cl⁻ 浓度增大到足以使溶菌酶达到过饱和并最终生长出晶体的程度,从而最终影响了晶体的分布.这说明在液-液扩散法生长晶体时,通过调节溶液-凝胶的体积比或凝胶中 NaCl 的浓度,最终改变生长溶液中 Cl⁻ 浓度,从而影响生长出的溶菌酶晶体的质量(形貌)与生长的位置.

2.2 Zeta 电势的结果

溶菌酶的结晶过程是溶液中的溶菌酶分子或聚集体不断地而且是有序地往晶核上堆积的过程.由于每个溶菌酶分子在适宜生长晶体的条件下带 10 个正电荷^[20],因此上述有序堆积过程中必定要克服由于相同电荷所产生的静电势

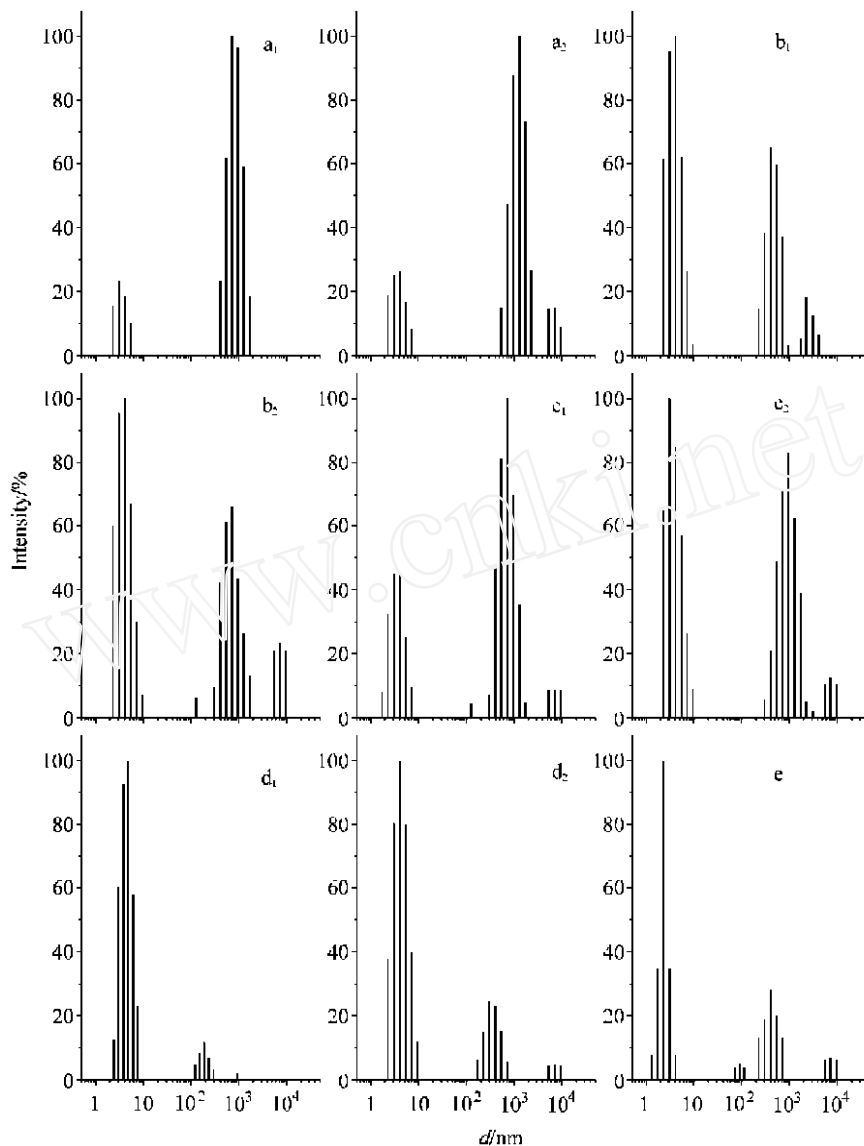


图2 液-液扩散法生长溶菌酶晶体时溶菌酶溶液中聚集体大小分布的变化

a_1, a_2 — 15 mg mL^{-1} 溶菌酶溶液,凝胶中含 0.12 kg L^{-1} NaCl; b_1, b_2 — 25 mg mL^{-1} 溶菌酶溶液,凝胶中含 0.12 kg L^{-1} NaCl; c_1, c_2 — 35 mg mL^{-1} 溶菌酶溶液,凝胶中含 0.12 kg L^{-1} NaCl; d_1, d_2 — 25 mg mL^{-1} 溶菌酶溶液,凝胶中含 0.10 kg L^{-1} NaCl; e— 25 mg mL^{-1} 溶菌酶溶于缓冲溶液中. 1 为晶体生长的初始阶段(加入样品后 30 min); 2 为晶体生长的结束阶段(生长出晶体). X 轴是对数坐标

Figure 2 The change of aggregates distribution in solution in lysozyme crystal growth process using liquid/ liquid diffusion method

a_1, a_2 —the case of 15 mg mL^{-1} lysozyme solution and 0.12 kg L^{-1} NaCl in agarose gel; b_1, b_2 —the case of 25 mg mL^{-1} lysozyme solution and 0.12 kg L^{-1} NaCl in agarose gel; c_1, c_2 —the case of 35 mg mL^{-1} lysozyme solution and 0.12 kg L^{-1} NaCl in agarose gel; d_1, d_2 —the case of 25 mg mL^{-1} lysozyme solution and 0.10 kg L^{-1} NaCl in agarose gel; e—the case of 25 mg mL^{-1} lysozyme in buffer solution. 1—The initial stage (30 min after the sample added) of crystal growth process; 2—the final stage (after the appearance of crystals) of crystal growth process

垒^[21]. 溶菌酶溶液中颗粒(或聚集体)的 Zeta 电势值就定性地反映了这种静电势垒的大小. 实验结果表明,溶菌酶浓度不同而其余条件相同的溶菌酶溶液,其 Zeta 电势值基本相同. 以 25 mg mL^{-1} 溶菌酶为代表,表 1 中列出了其在不同条件下 Zeta 电势的变化情况. 表 1 表明,在缓冲溶液中加入一定量的 NaCl 后,Zeta 电势有所下降,而且随着 NaCl 浓度的增大,Zeta 电势值下降得越多. 当 NaCl 浓度超过 0.02 kg L^{-1} 时,在电极上很易发生电解反应而造成 Zeta 电势测量的不准确,因此未给出 NaCl 浓度超过 0.02 kg L^{-1} 时的 Zeta 电势值.

由于在溶液中溶菌酶分子带正电荷,一部分 Cl^- 吸附到溶菌酶分子上,形成了溶菌酶- Cl^- 复合物^[22],造成了溶菌酶所带净电荷值的下降. 也就是说,一定量 NaCl 的加入在一定程度上降低了结晶所需要克服的静电势垒. 如果和动态光散射的实验结果相对照,溶菌酶- Cl^- 复合物的形成使溶液中较大的聚集体发生了部分解聚集,1000 nm 左右聚集体在散射光强中所占比例增大. 这相当于晶体生长的初始阶段(见图 2). 表 1 还表明,生长出晶体后,溶液的 Zeta 电势大幅度下降至 5.9 mV . 这说明结晶时有更多的 Cl^- 吸附到溶菌酶分子

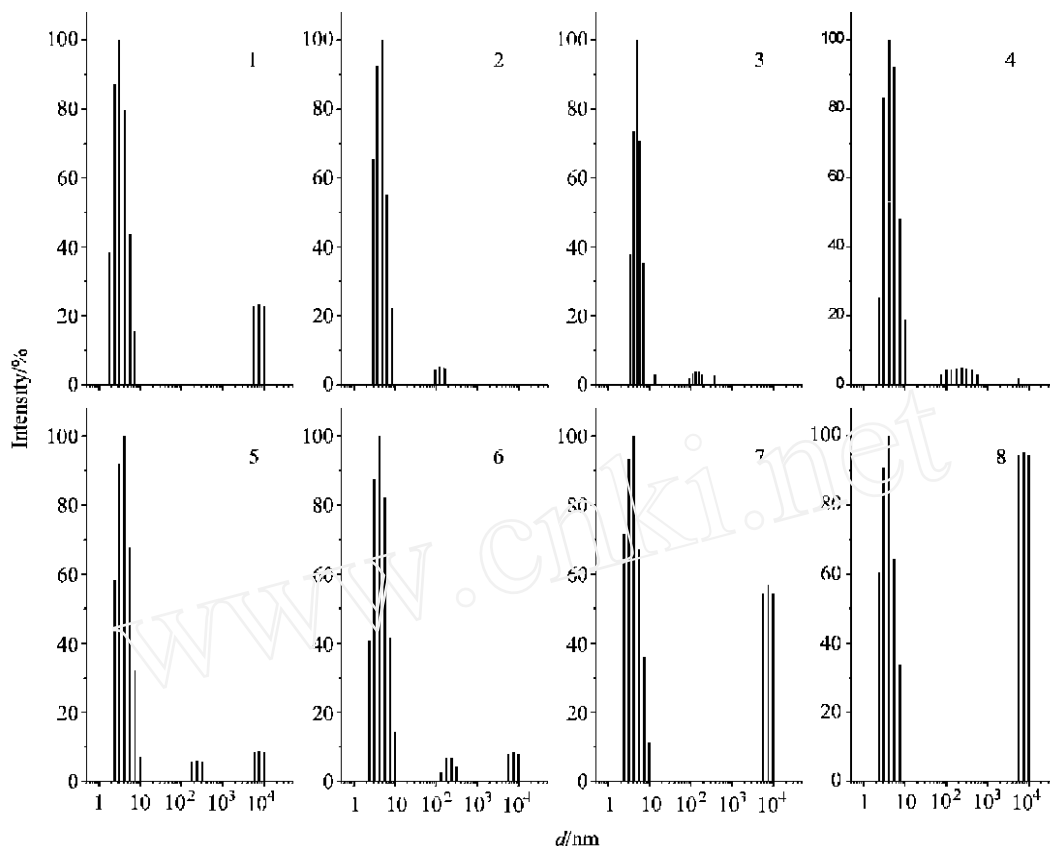


图3 液液扩散法生长 25 mg mL^{-1} 溶菌酶晶体时溶液中聚集体大小分布的变化
1~8 分别代表晶体生长全过程的8个部分(各部分的时间间隔约为30 min), X轴是对数坐标

Figure 3 The change of aggregates distribution in solution in the 25 mg mL^{-1} lysozyme crystal growth process using liquid/liquid diffusion method
1~8 represent in sequence 8 parts of crystal growth process (time interval of each part is about 30 min)

上,文献[23]的实验结果也证明了这一点。 Cl^- 吸附到溶菌酶分子上导致 Zeta 电势的下降也佐证了我们前面对图3所示的晶体生长过程的解释。

表1 25 mg mL^{-1} 溶菌酶在不同条件下的 Zeta 电势值

Table 1 Zeta potential of 25 mg mL^{-1} lysozyme solution under different conditions

	Zeta potential/mV
缓冲溶液(不含 NaCl)	15.6
缓冲溶液(含 0.005 kg L^{-1} NaCl)	14.7
缓冲溶液(含 0.02 kg L^{-1} NaCl)	13.6
液-液扩散法生长出晶体后的溶液 ^a	5.9

^a 液-液扩散法的生长条件: 50 mmol L^{-1} 缓冲溶液,凝胶中含 0.10 kg L^{-1} NaCl,溶菌酶溶液与琼脂糖凝胶的体积比是 2:1。

3 结论

动态光散射的结果表明,通过调节溶液-凝胶的体积比或凝胶中 NaCl 的浓度,最终可改变生长溶液中 Cl^- 浓度,从而影响生长出的溶菌酶晶体的质量(形貌)与生长的位置。如果凝胶中 NaCl 浓度适宜,则溶液中溶菌酶的聚集体会发

生解聚集,生长出的晶体质量比较好。如果凝胶中 NaCl 浓度较高,溶菌酶溶液中出现的液-液分层现象反而导致了溶液中 Cl^- 浓度的降低,大聚集体不发生解聚集,晶体通常只在溶液-凝胶界面处产生,并且可能会出现“海胆”状晶体,造成晶体质量的下降。溶液中 Cl^- 浓度的改变造成的 Zeta 电势值的变化反映出 Cl^- 吸附到溶菌酶分子上的情况。溶菌酶分子上吸附的 Cl^- 越多,溶液中大聚集体存在的可能性就越小,Zeta 电势就越低,结晶也就越容易发生。

致谢 本工作中液-液扩散法生长溶菌酶晶体的实验方法由中国科学院生物物理研究所仓怀兴副研究员提供,在此表示感谢。

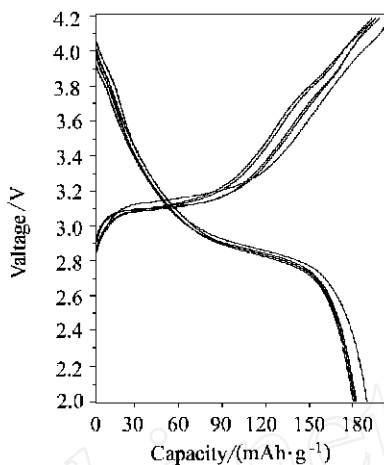
References

- 1 Michinomae, M.; Mochizuki, M.; Ataka, M. *J. Cryst. Growth* **1999**, *197*, 257.
- 2 Weber, P. In *Advances in Protein Chemistry*, Vol. 41, Eds.: Afinsen, C. B.; Richards, F. M.; Edsal, J. T.; Eisenberg, D. S., Academic Press, New York, **1991**, p. 63.
- 3 Durbin, S. D.; Feher, G. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1996**, *47*, 171.

- 4 Vekilov, P. G.; Rosenberger, F.; Lin, H.; Thomas, B. R. *J. Cryst. Growth* **1999**, 196, 261.
- 5 Rosenberger, F.; Vekilov, P. G.; Muschol, M.; Thomas, B. R. *J. Cryst. Growth* **1996**, 167, 1.
- 6 Malkin, A. J.; McPherson, A. *Acta Crystallogr.* **1994**, D50, 385.
- 7 Schaper, A.; Georgalis, Y.; Umbach, P.; Raptis, J.; Saenger, W. *J. Chem. Phys.* **1997**, 106, 8587.
- 8 Boyer, M.; Roy, M.-O.; Jullien, M. *J. Cryst. Growth* **1996**, 167, 212.
- 9 Kam, Z.; Shore, H. B.; Feher, G.; Moo, J. *Mol. Biol.* **1978**, 123, 539.
- 10 Malkin, A. J.; Cheung, J.; McPherson, A. *J. Cryst. Growth* **1993**, 126, 544.
- 11 Saikumar, M. V.; Gatz, C. E.; Larson, M. A. *J. Cryst. Growth* **1998**, 187, 277.
- 12 Baird, J. K.; Hill, S. C.; Clunie, J. C. *J. Cryst. Growth* **1999**, 196, 220.
- 13 Robert, M. C.; Provost, K.; Lefauchaux, F. In *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins: A Practical Approach*, Eds.: Ducruix, A.; Gege, R., Oxford University, New York, **1992**, p. 128.
- 14 Wagner, G.; Linhardt, R. *J. Cryst. Growth* **1991**, 110, 114.
- 15 Cang, H.-X.; Bi, R.-C. *J. Cryst. Growth* **2001**, 232, 473.
- 16 Dai, G.-L.; Dong, X.-Q.; Sun, Z.-W.; Hu, W.-R. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2001**, 17, 531 (in Chinese).
(戴国亮, 董向群, 孙祉伟, 胡文瑞, 物理化学学报, **2001**, 17, 531.)
- 17 Dai, G.-L.; Dong, X.-Q.; Sun, Z.-W.; Hu, W.-R. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2002**, 18, 70 (in Chinese).
(戴国亮, 董向群, 孙祉伟, 胡文瑞, 物理化学学报, **2002**, 18, 70.)
- 18 Muchol, M.; Rosenberger, F. *J. Chem. Phys.* **1997**, 107, 1953.
- 19 Galkin, O.; Vekilov, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 156.
- 20 Roxby, R.; Tanford, C. *Biochemistry* **1971**, 10, 3348.
- 21 Holmes, A. M.; Baird, J. K.; Holliday, S. G.; Clunie, J. C. *Acta Crystallogr.* **1997**, D53, 456.
- 22 Steinhardt, J.; Reynolds, J. A. In *Multiple Equilibrium in Proteins*, Eds.: Jacinto, S.; Jacqueline, A., Academic Press, New York, **1969**, p. 319.
- 23 Elgersma, A. V.; Ataka, M.; Katsura, K. *J. Cryst. Growth* **1992**, 122, 31.

(A0208123 SHEN, H.; LU, Z. S.)

A New Cathode Material for Lithium Ion Batteries: the Synthesis and Properties of Layered $\text{Li}_{0.78}\text{Ni}_{0.3}\text{Mn}_{0.7}\text{O}_2$

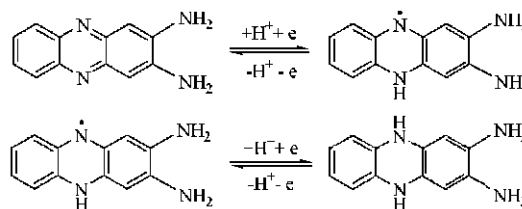


The layered $\text{Li}_{0.78}\text{Ni}_{0.3}\text{Mn}_{0.7}\text{O}_2$ with O2-type structure, as a new cathode material for rechargeable lithium ion batteries, has been synthesized by a modified process of solid-state reaction and ion exchange method. The material shows a high capacity above $150 \text{ mAh} \cdot \text{g}^{-1}$ at the 20th cycles between 2.4 ~ 4.2 V.

ZHONG, Hui; XU, Hui; WANG, Wen-Cheng;
ZHOU, Yan-Fang

Acta Chimica Sinica **2003**, 61(4), 510

An Electrochemical and Thin-layer Spectroelectrochemical Study of 2,3-Diaminophenazine

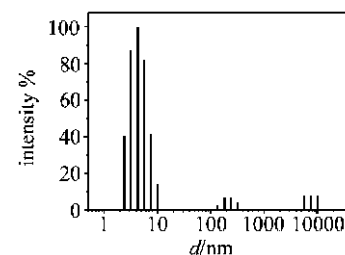


The electroreduction of 2,3-diaminophenazine is not followed by chemical reaction. The reduction process occurs via an $\text{H}^+ \text{eH}^+ \text{e}$ electrochemical mechanism and leads to 2,3-diamino-5,10-dihydrophenazine as product.

JIAO, Kui; CUI, Guang-Lei; YANG, Tao;
NIU, Shu-Yan

Acta Chimica Sinica. **2003**, 61(4), 514

The Effect of NaCl on Liquid/Liquid Diffusion Lysozyme Crystal Growth



Dynamic light scattering and Zeta potential measurements of lysozyme solution under different conditions are performed to investigate the interaction between precipitant NaCl and lysozyme molecules/aggregates. The results reveal the effect of NaCl concentration in lysozyme solution on the morphology and distribution of lysozyme crystal.

DAI, Guo-Liang; HU, Wen-Rui

Acta Chimica Sinica **2003**, 61(4), 520