

大黄酸及大黄素和牛血清白蛋白的相互作用^①

于岚岚^a 杨冉^a 冉瑜^a 李建军^a 屈凌波^{②a, b}

^a 郑州大学化学系 郑州市科学大道 100 号 450001)

^b 河南工业大学化学化工学院 郑州市中原路 195 号 450052)

摘 要 采用荧光猝灭和红外光谱方法考察了两种大黄蒽醌类化合物(大黄酸和大黄素)与模型蛋白牛血清白蛋白之间的相互作用。结果表明,大黄酸和大黄素主要通过静电作用与牛血清白蛋白形成基态化合物,从而使其内部荧光猝灭,并获得了二者相互作用的结合常数、结合位点数及大黄酸和大黄素与色氨酸结合的空间距离。金属离子对这两种大黄蒽醌类化合物与牛血清白蛋白的结合具有一定的影响。红外光谱显示大黄酸和大黄素均可引起牛血清白蛋白二级结构的变化。通过比较大黄酸、大黄素和其他几种大黄蒽醌类化合物发现酚羟基的个数以及 C(3) 位取代基的极性对于化合物的活性具有重要意义。

关键词 大黄酸; 大黄素; 牛血清白蛋白

中图分类号: O657.33; O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2011)06-2741-07

1 引言

血清白蛋白是人体内重要的运输蛋白,具有运载各种内源代谢产物和外源药物小分子等生理功能。任何药物在进入体内后,首先与血液中含最丰富的血清白蛋白产生迅速、可逆的结合,然后被运输到作用靶点发挥药效。结合后的药物不易穿透毛细血管壁、血脑屏障及肾小球等多种生物膜,从而对药物在体内的分布与代谢产生重要影响。同时,药物与白蛋白的结合率和结合能力的不同决定了药物储留于血浆中含量的不同,从而影响到药物的药效发挥。因此研究药物与血清白蛋白的相互作用,对于了解药物在生物体内的分布、代谢等情况以及设计开发具有高活性、低毒性的药物分子都具有重要意义。大黄蒽醌类化合物是许多中草药中具有多种生物活性的有效成分,具有抗菌消炎、抗病毒、抗癌、保肝利胆、降低血压、清除氧自由基、抗衰老等多方面作用^[1]。本文采用大黄酸和大黄素为研究对象(结构见图 1),对两种化合物和血清白蛋白的相互作用进行研究,并和其他常见的 3 种大黄蒽醌类化合物进行比较,探讨分子结构的特征对大黄蒽醌类化合物和血清白蛋白相互作用的影响。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

F-4500 荧光分光光度计(日本 Hitach 公司); UV-8453 紫外分光光度计(美国 HP 公司); NEXUS-470 傅里叶红外光谱仪(美国 Thermo Nicolet 公司)。

① 国家自然科学基金(21002093);教育部留学回国人员科研启动基金资助项目;中国博士后科学基金资助项目

② 联系人,电话:(0371) 67767051; E-mail: qulingbo@zzu.edu.cn

作者简介: 于岚岚(1979—),女,辽宁省大连市人,讲师,博士,主要从事生物化学分析工作。

收稿日期: 2011-03-24; 接受日期: 2011-04-19

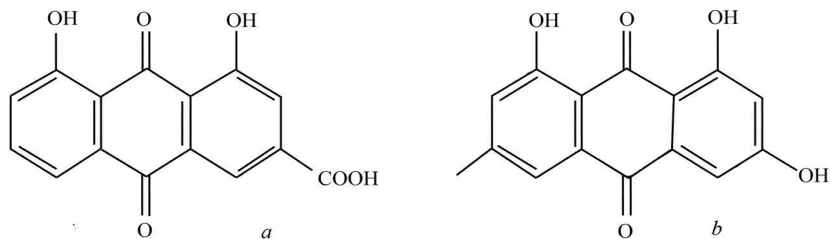


图 1 大黄酸(a)和大黄素(b)的结构

牛血清白蛋白(BSA, 美国 Sigma 公司, 纯度 $\geq 98\%$)用 pH 7.4 Tris-HCl 缓冲溶液(含 $0.1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl)配制成 $5 \times 10^{-4}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液, 实验时用缓冲液稀释到合适的浓度; 大黄酸、大黄素(上海友思生物技术有限公司, 纯度 $\geq 98\%$)分别用二甲基亚砷配制成 $1 \times 10^{-3}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 工作液, 实验时用缓冲液稀释到合适的浓度; 含各种金属离子的氯化盐溶液均用 pH 7.4 Tris-HCl 缓冲溶液配制。实验中其他试剂均为分析纯。实验用水为二次去离子水。

2.2 实验方法

2.2.1 荧光光谱测定

在若干支 10mL 的比色管中, 依次加入 $100\mu\text{L}$ $5.0 \times 10^{-5}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BSA 溶液和不同体积的药物小分子工作液, 最后用 Tris-HCl 缓冲溶液(pH= 7.4)定容到 5mL。将比色管分别置于恒温仪中, 调节水温至 26°C 和 37°C 并保持 5min。在激发波长为 284nm 下, 扫描荧光光谱。狭缝宽度为 2.5nm/5.0nm。

2.2.2 紫外吸收光谱测定

在 pH 7.4 条件下, 以 Tris-HCl 缓冲溶液(pH= 7.4)为参比, 扫描浓度为 $2.0 \times 10^{-6}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的大黄酸及大黄素溶液的紫外吸收光谱。

2.2.3 金属离子对相互作用的影响

依照上述荧光测定的实验方法, 在配制的一系列溶液中分别加入适量的 KCl(或 MgCl_2 、 CuCl_2 和 AlCl_3), 然后用 Tris-HCl 缓冲溶液(pH= 7.4)定容, 使得金属离子的最终浓度为 $3.0 \times 10^{-5}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以加入金属离子的 BSA 溶液的荧光强度为 F_0 , 计算结合常数。

2.2.4 红外光谱测定

在 pH 7.4 下采用平衡透析法将 BSA 和大黄酸或大黄素的混合溶液(摩尔比 1:1)透析 24h 后, 用冻干法将其混合溶液冻成粉末, 最后用红外光谱仪扫描 BSA, 大黄酸或大黄素-BSA 复合物的红外光谱。

3 结果与讨论

3.1 大黄酸、大黄素对牛血清白蛋白荧光光谱的影响

BSA 属内源性物质, 主要体现为色氨酸的荧光。当激发波长为 284nm 时, 大黄酸及大黄素对牛血清白蛋白荧光光谱的影响见图 2。随着大黄酸及大黄素浓度的增加, BSA 在 340nm 附近的荧光强度有规律地猝灭。说明大黄酸及大黄素与 BSA 可能存在有相互作用。色氨酸的荧光最大发射波长对环境非常敏感。大黄酸及大黄素的加入并未引起 BSA 的最大发射波长出现明显的移动, 因此可以推断 BSA 中色氨酸的微环境改变不大。



图 2 大黄酸(a)、大黄素(b)对牛血清白蛋白荧光光谱的影响(26℃)
a 中曲线 1→9 中 $C_{\text{大黄酸}}(\mu\text{mol/L}) = 0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3.0, 3.6, 4.2, 4.8$
b 中曲线 1→10 中 $C_{\text{大黄素}}(\mu\text{mol/L}) = 0, 0.5, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0$ 。

3.2 荧光猝灭类型的判断

荧光猝灭的过程主要分为静态猝灭, 动态猝灭及二者的联合猝灭方式。为了确定大黄酸和大黄素对 BSA 荧光的猝灭类型, 将过程按动态猝灭处理, 由 Stern-Volmer 公式^[12]

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q]$$
 (1)

式中: F_0 和 F ——分别为不加和加入猝灭剂后蛋白的荧光强度; K_q ——扩散碰撞猝灭速率常数 ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$); τ_0 ——猝灭剂不存在时蛋白分子的平均荧光寿命, 10^{-8}s ; $[Q]$ ——猝灭剂的浓度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); K_{sv} ——动态猝灭常数 ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$)。以 F_0/F 对 $[Q]$ 作曲线, 得 Stern-Volmer 曲线(见图 3), 相关参数见表 1。由表中可知, 随着温度的升高, 复合物稳定性降低, 猝灭常数减小, 这是典型的静态猝灭特征, 推测大黄酸和大黄素对 BSA 的猝灭主要为形成新的复合物的静态猝灭, 而非由于分子扩散及碰撞所引起的动态猝灭。此外, 大黄酸和大黄素对 BSA 的猝灭速率常数均大于猝灭剂对生物大分子的最大扩散碰撞猝灭速率常数 $2.0 \times 10^{10} \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[13], 因此可以判断大黄酸和大黄素对 BSA 的荧光猝灭为静态猝灭类型。

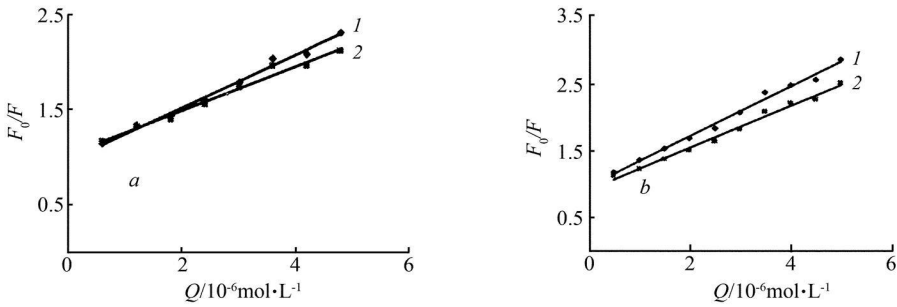


图 3 大黄酸和大黄素与 BSA 作用的 Stern-Volmer 曲线
a——大黄酸; b——大黄素。
1——26℃; 2——37℃。

表 1 大黄酸和大黄素与 BSA 作用的扩散碰撞猝灭速率常数及动态猝灭常数

化合物	26℃			37℃		
	K_q	K_{sv}	相关系数	K_q	K_{sv}	相关系数
	($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$)		($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$)	
大黄酸	2.69×10^{13}	2.69×10^5	0.9941	2.39×10^{13}	2.39×10^5	0.9906
大黄素	3.66×10^{13}	3.66×10^5	0.9953	2.91×10^{13}	2.91×10^5	0.9906

3.3 结合常数及结合位点数的确定

对小分子与蛋白质的结合,采用多位点结合的计算模型对大黄酸和大黄素与 BSA 的结合过程进行处理,即通过方程式(2)求出大黄酸和大黄素与 BSA 作用的结合常数和结合位点数^[4]:

$$\lg\left(\frac{F_0-F}{F}\right) = n\lg K_A + n\lg\{[Q_t] - [P_t]\frac{(F_0-F)}{F_0}\} \tag{2}$$

式中:[*Q_t*]与[*P_t*]——分别为小分子和蛋白的总浓度;*K_A*——结合常数;*n*——每个蛋白分子上的结合位点数。用lg[(*F₀*− *F*)/*F*]对lg{[*Q_t*] − [*P_t*](*F₀* − *F*)/*F₀*}作拟合曲线获得*K_A*和*n*,结果列于表2。在相同的条件下,大黄素对BSA的结合能力高于大黄酸。两种化合物对BSA的结合位点数均接近于1。比较几种常见的蒽醌类化合物的结合常数可知,对BSA的结合能力比较为:大黄素> 大黄酸> 芦荟大黄素^[5]> 大黄素甲醚^[6]> 大黄酚^[7]。

表 2 大黄酸和大黄素与 BSA 作用的结合常数和结合位点数

化合物	26℃			37℃		
	<i>K_A</i>	<i>n</i>	相关系数	<i>K_A</i>	<i>n</i>	相关系数
	(L • mol ⁻¹)			(L • mol ⁻¹)		
大黄酸	3.14×10 ⁵	1.01	0.9968	2.69×10 ⁵	0.90	0.9942
大黄素	4.41×10 ⁵	0.93	0.9978	3.30×10 ⁵	1.05	0.9959

3.4 主要作用力类型的确定

静电作用力、疏水作用力、氢键和范德华力等是小分子与生物大分子的主要作用力类型。根据小分子与生物大分子结合反应过程的热力学参数焓变Δ*H*、熵变Δ*S*和吉布斯自由能变Δ*G*的数值大小可判断二者相互作用的主要作用力类型^[8]。反应的Δ*H*和Δ*S*存在如下关系:

$$\ln(K_2/K_1) = (1/T_1 - 1/T_2) \Delta H / R \tag{3}$$

$$\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T \Delta S \tag{4}$$

当温度变化不大时,焓变Δ*H*可以看作是一个常数,利用(3)式和(4)式,可获得在不同温度下的热力学参数,从而可以判断小分子和BSA结合的主要作用力类型(见表3)。*ΔG*< 0, *ΔS*> 0,表明大黄酸和大黄素与BSA的结合均为自发反应过程。*ΔS*> 0, *ΔH*< 0说明大黄酸和大黄素与BSA之间主要是静电作用力。大黄酸和大黄素均含有多个羟基,因此在与BSA作用时可能也存在有氢键作用。

表 3 大黄酸和大黄素与 BSA 作用的热力学参数

	<i>t</i> (°C)	Δ <i>H</i> (kJ • mol ⁻¹)	Δ <i>S</i> (J • mol ⁻¹ • K ⁻¹)	Δ <i>G</i> (kJ • mol ⁻¹)
大黄酸	20	− 6.55	82.83	− 30.83
	37		82.83	− 32.23
大黄素	26	− 20.29	40.25	− 32.33
	37		40.24	− 32.77

3.5 大黄酸和大黄素与 BSA 分子间能量转移效率及结合空间距离

依据 Foester 偶极-偶极非辐射能量转移理论,当供体的荧光发射光谱与受体的吸收光谱有一定程度的重叠,且二者间的最大距离小于7nm 的范围内时,将会发生非辐射能量转移现象,从而使荧光体荧光猝灭^[9],能量转移效率为:

$$E = R_0^6 / (R_0^6 + r_0^6) = 1 - (F/F_0) \tag{5}$$

式中:*R₀*——能量转移效率*E*= 50%时的临界距离,nm;*r₀*——供体偶极中心与受体偶极中心之间的距离,nm;其中:

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>
$$R_0 = 8.8 \times 10^{-8} \sqrt{K \cdot N \cdot \Phi_f} \tag{6}$$

式中: $K^2 = 2/3$; $N = 1.336$; $\Phi = 0.118$; J ——供体荧光光谱与受体吸收光谱的重叠积分, 其表达式为:

$$J = \int_0^\infty F_\lambda \epsilon \lambda^4 \Delta\lambda \int_0^\infty F_\lambda \Delta\lambda \tag{7}$$

式中: F_λ ——受体和供体浓度为 1 : 1 时荧光供体 BSA 在波长 λ 处的荧光强度, ϵ ——受体大黄酸和大黄素在波长 λ 处的摩尔吸光系数, $\Delta\lambda$ ——计算时分割的波长跨度。

实验结果表明, 大黄酸和大黄素的紫外吸收光谱与 BSA 的荧光光谱存在明显的重叠(图 4), 说明二者之间可能发生了非辐射能量转移。经计算, 大黄酸和大黄素与色氨酸残基间的结合距离分别为 2.94nm 和 4.09nm。能量转移效率 $E = 50\%$ 时的临界距离 R_0 分别为 2.55nm 和 2.58nm。大黄酸和大黄素与色氨酸残基间的结合距离 $r < 7\text{nm}$, 说明大黄酸和大黄素与 BSA 之间可以发生有效的能量转移, 但 $r > R_0$ 表明它们对 BSA 内源荧光的猝灭主要由静态猝灭引起的而不是由能量转移而引起, 即静态猝灭为主, 能量转移为辅共同导致了 BSA 内源荧光的猝灭。大黄素与色氨酸残基间的结合距离较大黄酸与色氨酸残基间的结合距离大, 但结合常数却较大, 因此可见大黄素更容易和 BSA 中的色氨酸残基产生相互作用。

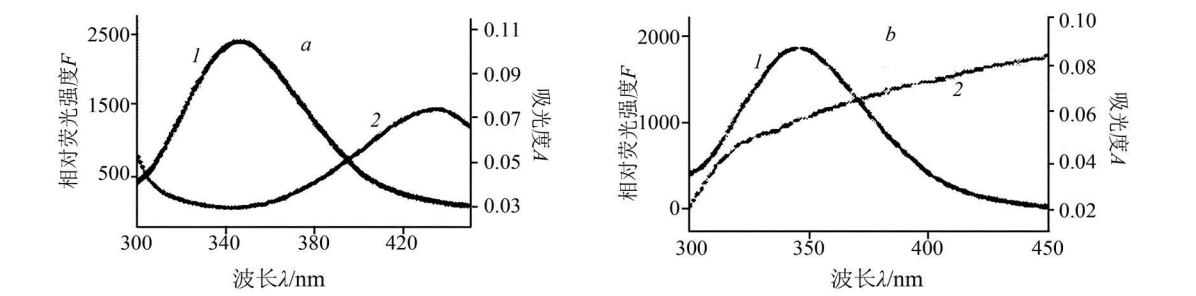


图 4 等摩尔浓度的 BSA 的荧光光谱(1)和受体的紫外吸收光谱(2)重叠图
a——大黄酸; b——大黄素。

3.6 常见金属离子对大黄酸和大黄素与 BSA 结合的影响

许多微量金属离子也参与人体中的各种重要的生命活动, 因此本实验考察了常见的几种金属离子对大黄酸和大黄素与 BSA 结合的影响(见表 4)。结果表明在金属离子存在下, 结合常数均不同程度的升高, 说明这几种金属离子对大黄酸和大黄素与 BSA 的结合均起到促进作用。

表 4 金属离子对大黄酸和大黄素与 BSA 结合作用的影响(26℃)

化合物	金属离子	K'_A ($L \cdot mol^{-1}$)	相关系数	K'_A / K_A
大黄酸	K ⁺	5.36×10^5	0.9964	1.71
	Al ³⁺	3.36×10^5	0.9945	1.07
	Mg ²⁺	1.08×10^6	0.9982	3.44
	Cu ²⁺	6.98×10^5	0.9980	2.22
大黄素	K ⁺	1.22×10^6	0.9917	2.77
	Al ³⁺	5.00×10^5	0.9931	1.13
	Mg ²⁺	5.32×10^5	0.9853	1.21
	Cu ²⁺	5.89×10^5	0.9927	1.34

3.7 大黄酸及大黄素对牛血清白蛋白结构的影响

傅里叶变换红外光谱技术是研究氢键的强有力手段。蛋白质的二级结构与其分子内形成的氢键紧密相关。蛋白质在红外区有若干特征吸收带, 主要有酰胺 I 带(1600~1700cm⁻¹)和酰胺 II 带

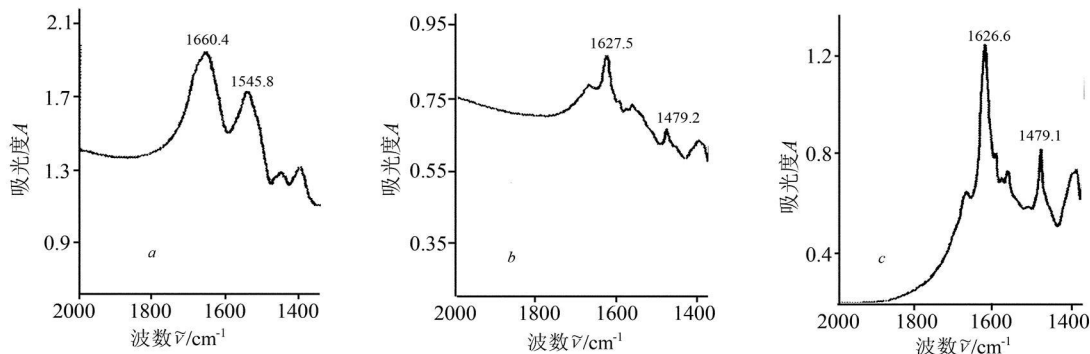


图 5 BSA(a)、大黄酸-BSA 复合物(b)和大黄素-BSA 复合物(c) 的红外光谱

($1600\text{--}1500\text{cm}^{-1}$), 其中酰胺 I 带对于研究蛋白质二级结构最有价值。酰胺 I 带主要是由蛋白骨架肽链 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动引起的, 酰胺 II 带则包含了 $\text{C}-\text{N}$ 的伸缩振动和 $\text{N}-\text{H}$ 的弯曲振动信息^[10]。图 5 为 BSA 以及大黄酸-BSA、大黄素-BSA 复合物的红外光谱图。由图 5 可知, 大黄酸和大黄素与 BSA 作用后引起了蛋白质二级结构的变化, 1660cm^{-1} 附近的峰减弱, 1627cm^{-1} 附近的峰增强, 这种结构上的变化提示牛血清白蛋白的 α -螺旋结构减少, β -螺旋结构增加, 这可能是由于大黄酸和大黄素与 BSA 形成复合物时导致肽链上羰基氢键网的重排, 从而引起 BSA 二级结构的变化。

3.8 5 种大黄蒽醌类化合物的结合常数和分子结构的关系

通过比较几种常见的大黄蒽醌类化合物的结合常数得这几种化合物对 BSA 的结合能力为: 大黄素 > 大黄酸 > 芦荟大黄素 > 大黄素甲醚 > 大黄酚, 而药理学研究表明, 大黄素、大黄酸和芦荟大黄素均具有较强的抗菌消炎及抗癌活性。因此药物与 BSA 相互作用的能力在一定程度上和药物的活性具有一定的关系。有研究报道指出羟基是大黄蒽醌类化合物主要的活性基团, 药物与 BSA 相互作用的能力是表现药物活性的一种形式^[11]。因此推测出羟基的个数和位置与两者的结合能力具有一定的相关性。在本实验考察的几种化合物中, 大黄素具有最多的酚羟基(3 个), 而其与 BSA 的结合能力也最强, 可以推测酚羟基的个数对于化合物的活性具有重要意义。大黄素比其他化合物多一个羟基, 因此大黄素的结合常数最大。BSA 中许多无荧光的酸性和碱性氨基酸可解离成正或负离子, 在多数情况下这些解离的氨基酸残基主要分布在球状蛋白质的表面, 但也可能出现在蛋白质分子内部。对于蒽醌类化合物, 由于与白蛋白的结合主要是静电作用为主, 所以这些化合物分子的极性大小将成为一个主导因素, 影响与白蛋白的结合能力。C(3) 位取代基极性强弱的顺序: $3\text{-COOH} > 3\text{-CH}_2\text{OH} > 3\text{-OCH}_3 > 3\text{-CH}_3$, 这与它们各自的结合常数大小顺序比较吻合。由此可见, 取代基极性的强弱对于化合物和蛋白的结合能力具有重要的作用, 极性越强, 结合越强。

4 结论

本文采用荧光猝灭及红外光谱的方法研究了大黄酸和大黄素与牛血清白蛋白之间的相互作用。结果表明, 大黄酸和大黄素主要通过静电相互作用和 BSA 形成基态化合物, 从而引起 BSA 的荧光猝灭, 但小分子的存在并不影响色氨酸的微环境极性。大黄素和 BSA 中色氨酸的空间距离较长但结合能力较强, 说明大黄素和 BSA 中色氨酸残基之间存在较强的相互作用。大黄酸和大黄素均可引起牛血清白蛋白二级结构的变化。通过比较大黄酸、大黄素和其他几种大黄蒽醌类化合物发现, 酚羟基的个数以及 C(3) 位取代基的极性对于化合物的活性具有重要意义。本研究对于进一步研究大黄蒽醌类化合物和蛋白的作用机制以及药物设计、优化具有重要的参考价值。

参考文献

- [1] 丁玉玲. 大黄蒽醌类的研究概况[J]. 时珍国医国药, 2005, **16**(11): 1160—1162.
- [2] Lakowicz J R, Weber G. Quenching of Protein Fluorescence by Oxygen: Detection of Structural Fluctuations in Proteins on the Nanosecond Time Scale[J]. *Biochemistry*, 1973, **12**(21): 4171—4179.
- [3] Ware W R. Oxygen Quenching of Fluorescence in Solution: An Experimental Study of the Diffusion Process[J]. *Journal of Physical Chemistry*, 1962, **66**(3): 455—458.
- [4] Liu B S, Zhao F L, Xue C L *et al.* Studies on the Antagonistic Action Between Chloramphenicol and Quinolones with Presence of Bovine Serum Albumin by Fluorescence Spectroscopy[J]. *Journal of Luminescence*, 2010, **130**(5): 859—864.
- [5] 王敬政, 贺吉香, 江崇球. 芦荟大黄素与血清白蛋白的相互作用[J]. 分析化学, 2001, **29**(7): 782—784.
- [6] 孟丽艳, 杨冉, 屈凌波等. 荧光光谱法研究大黄素甲醚与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2009, **44**(5): 1058—1061.
- [7] 孟丽艳, 屈凌波, 杨冉等. 紫外吸收光谱和荧光光谱法研究大黄酚与牛血清白蛋白相互作用机制[J]. 理化检验(化学分册), 2009, **45**(10): 1169—1173.
- [8] Ross P D, Subramanian S. Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability[J]. *Biochemistry*, 1981, **20**(11): 3096—3102.
- [9] Foerster T, Sinanoglu O. *Modern Quantum Chemistry, vol III*[M]. New York: Academic Press, 1966. 93—137.
- [10] 田建袞, 谢余襄, 赵彦春等. 光谱法研究迷迭香酸和牛血清白蛋白的相互作用[J]. 化学试剂, 2010, **32**(4): 311—314.
- [11] 周远鹏, 江茉莉. 大黄的药理研究概述[J]. 中药药理与临床, 1991, **7**(4): 41—48.

Interaction of Rhein and Emodin with Bovine Serum Albumin

YU Lan-Lan^a YANG Ran^a RAN Yu^a LI Jian-Jun^a QU Ling-Bo^{a,b}^a(Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, P. R. China)^b(College of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450052, P. R. China)

Abstract The interaction between two anthraquinones (rhein and emodin) and model protein (bovine serum albumin) was investigated by fluorescence quenching technique and infrared spectroscopy. The results showed that rhein and emodin mainly formed ground-state complex with bovine serum albumin by electrostatic interaction, which led to the quenching of intrinsic fluorescence of bovine serum albumin. The binding constant, number of binding site and the distance between rhein, emodin and tryptophan residue were determined. Some metal ions had effect on the binding of these two anthraquinones and bovine serum albumin. The infrared spectra showed that both rhein and emodin induced secondary structure change of bovine serum albumin. The interaction was also compared with other three anthraquinones, which indicated that the number of phenolic hydroxyl group and the polarity of the substituent group on C(3) had a significant effect on the activity of the compounds.

Key words Rhein; Emodin; Bovine Serum Albumin

过期《光谱实验室》期刊免费赠送启事

本部尚有一些过期(2007及以前)的期刊,凡同行中有需要者均可免费赠送,但邮费(含包扎费和人工费)自付,每6本(不同卷、期)为1个单元,约重2.0—2.5kg,收费(可用邮票支付)20元。

有意者来信告知收件人姓名及详细地址,同时将邮票放在信封中挂号寄来。

联系地址:北京市延庆石河营东街10号楼201室《光谱实验室》编辑部,邮政编码:102100,电话:(010)52513126。

《光谱实验室》编辑部