

## 光散射技术在蛋白质晶体生长研究中的应用和进展

解莹 戴国亮\*

(中国科学院力学研究所国家微重力实验室 北京 100080)

**摘要** 光散射技术广泛应用于生物大分子的晶体生长研究中,它包括静态光散射和动态光散射两种。利用静态光散射可以测定蛋白质溶液渗透的第二维里系数;利用动态光散射可以测定蛋白质溶液的平动扩散系数,获得溶液中蛋白质粒子的流体力学半径及分布情况,分离蛋白质结晶的成核与生长过程,研究大分子的聚集行为和晶体生长的动力学。借助光散射技术可以实现蛋白质晶体生长过程的动态控制。近些年光散射仪器向着小型化、轻便化的方向发展,光散射技术不断得到改进,日益完善,不仅用于地面实验,也应用于空间领域蛋白质晶体生长的研究中。

**关键词** 光散射 晶体生长 蛋白质 微重力

### The Application and Development of Laser Light Scattering in the Investigation of Protein Crystal Growth

Xie Ying, Dai Guoliang\*

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

**Abstract** Laser light scattering has been widely applied in crystal growth of macromolecule. It includes two different methods, static light scattering and dynamic light scattering. Static light scattering can measure the osmotic second virial coefficient of protein solution. Dynamic light scattering allows for determination of the translational diffusion coefficient and provides information about the size and distribution of molecules in solution. It can separate nucleation and growth processes in protein crystallization. It also can be used to investigate aggregative behaviors and the kinetics of crystallization in macromolecular systems. So the dynamical crystallization processes may be controlled. In the recent years, laser light scattering instruments become portable and miniaturization. The technique grows gradually perfect. It is used not only in the terrene experiments, but in the space experiments of protein crystal growth.

**Key words** Light scattering, Crystal growth, Protein, Microgravity

光散射技术广泛应用于生物、化学等方面的研究,尤其对蛋白质溶液晶体生长的研究,体现了其独特的优势。近些年来,光散射技术有了很大的改进,不仅用于地面实验,在空间领域的蛋白质晶体生长研究中也有了很多的应用。

随着重组 DNA 技术的发展和表达体系的完善,在过去的几年里,人们所知道的蛋白质的数目有了很大增长,同时对蛋白质结构的研究也要求有可以获得高分辨率 X 射线衍射的蛋白质晶体。这种情况迫使蛋白质晶体生长工作者必须对蛋白质晶体生长机理进行更透彻的研究,以便减少对未知蛋白质生长条件探索的时间,生长出优质蛋白质晶体。光散射技术具有检测速度快、无破坏性、测定方便<sup>[1]</sup>等优点,因此,从 1978 年开始就被应用于蛋白质晶体生长的研究中<sup>[2]</sup>。

解莹 女,25岁,硕士生,现从事蛋白质结晶方面的研究。 \*联系人, E-mail: dspr@imech.ac.cn

2004-02-04 收稿,2004-07-15 接受

光散射通常分为静态和动态光散射。静态光散射 (Static Light Scattering, 简称 SLS), 可直接测量蛋白质的分子量, 获得蛋白质单体或聚合体的信息, 也用于测定不同蛋白质的理想配比。动态光散射 (Dynamic Light Scattering, 简称 DLS), 主要可获得溶液中蛋白质粒子的流体力学半径及分布情况。

## 1 原理

### 1.1 静态光散射(SLS)

通过蛋白质溶液的渗透第二维里系数与结晶传导的关系<sup>[3,4]</sup>来判断晶体生长的可能性, 获得蛋白质之间相互作用的一个信息。渗透的第二维里系数由下式给出:

$$= RT C_p (1/M_w + B_{22} C_p + \dots)$$

其中,  $\pi$  为渗透压,  $C_p$  为蛋白质溶液的浓度 (质量/体积),  $M_w$  为蛋白质的分子量,  $B_{22}$  为渗透的第二维里系数,  $R$  为理想气体常数,  $T$  为绝对温度。

第二维里系数可以提供蛋白质-蛋白质间的相互作用和与结晶有关的行为。利用静态光散射, 还可以测定蛋白质溶液的渗透第二维里系数与 pH 和电解质浓度的关系<sup>[5]</sup>, 如图 1。

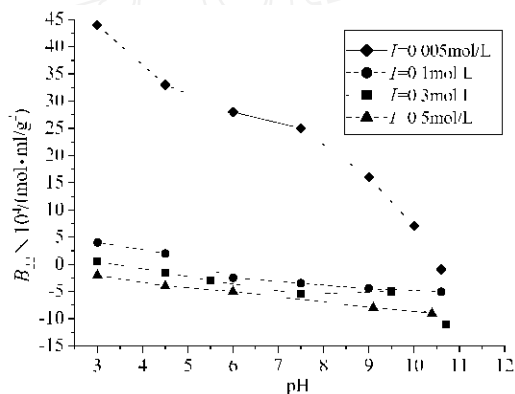


图 1 溶菌酶溶液渗透第二维里系数与 pH 和电解质浓度的关系<sup>[5]</sup>

Fig. 1 Osmotic second virial coefficients measured for lysozyme solutions as a function of pH and electrolyte concentration<sup>[5]</sup>

### 1.2 动态光散射(DLS)

由于散粒在悬浮液中随机运动, 使光强随时间产生脉动。使用数字相关处理器处理这个脉动信号可以得出颗粒运动的扩散系数  $D_1$ :

$$D_1 = \langle \Delta r^2 \rangle / 2 K^2$$

其中,  $\langle \Delta r^2 \rangle$  为平均衰减速率,  $K$  为散射波矢量,  $K = [4 n \sin(\theta/2)] / \lambda$ ,  $\theta$  为散射角,  $\lambda$  为真空中入射光的波长,  $n$  是散射介质的折射系数。

如果大分子有球状外形, 它的流体力学半径 ( $R_h$ ) 可以在无限稀释的条件下由 Stocks-Einstein 方程给出:

$$R_h = kT / 6 \pi \eta D_1$$

其中,  $k$  为 Boltzmann 常数,  $\eta$  是溶剂粘度,  $T$  是绝对温度。

光散射运用的数据处理方法有: 级数展开、用已知的  $G(\lambda)$  拟合、双指数分布等。经数据处理可获得溶液中的粒径分布。

## 2 应用

由于光散射的特殊性, 对样品的制备有严格的要求, 测量前必须经过很严格的除尘处理。通常

在蛋白质晶体生长研究中,样品需要在 12000r/min 的离心机中离心几十分钟,取上层清液,再用孔径 0.1~0.2 $\mu\text{m}$  的滤膜过滤后置于散射池中<sup>[6]</sup>。

光散射技术在蛋白质晶体生长中的应用,主要有以下几个方面。

## 2.1 晶体成核与生长阶段的控制

结晶包括成核、生长两个阶段,分离成核与生长可以优化晶体生长。为达到这一目的,常采用改变温度<sup>[7]</sup>降低过饱和度或在成核条件下存放一定时间后稀释母液<sup>[8]</sup>等方法。然而不管采取什么方法,在显微镜下可见晶体时,已经形成许多晶核<sup>[7]</sup>。气相扩散(vapour diffusion)、渗析(dialysis)、批量(batch)等生长晶体的方法都不能将这两个阶段彻底的分离<sup>[9]</sup>。从成核开始,蛋白质单体成为聚集体,在光散射下观察时可发现蛋白质溶液的光散射强度增加<sup>[9]</sup>,区分出了蛋白质结晶过程中的成核和生长两个阶段<sup>[8]</sup>。因此可以将溶液的一个或多个参数如温度、蛋白质浓度等调整到最佳以减缓形成过饱和的速率,从而获得大的单晶,实现结晶过程的动态控制。另外利用光散射可以探测溶液中蛋白质分子的不同状态,如探测蛋白质成核之前的状态<sup>[2,10]</sup>和蛋白质结晶<sup>[9,11]</sup>。

## 2.2 测定平动扩散系数,研究粒径变化

动态光散射可用于测定溶液中做 Brownian 运动的大分子的平动扩散系数<sup>[12]</sup>,移动蛋白质分子的单色光的色散性体现了运动过程中的密度涨落,光散射信号可以提供溶液中蛋白质行为的定量信息。

光散射技术已经成功用于观察蛋白质溶液中颗粒的尺寸变化<sup>[13,14]</sup>。图 2 即是利用 DLS 探测沉淀剂浓度变化时溶液中的聚集体的大小分布的变化<sup>[14]</sup>。光散射也成功用于成核诱导时间的测定<sup>[15]</sup>,还可用于探测溶液中蛋白质分子相互作用的情况。为使蛋白质从成核状态进入生长状态,研究成核条件下过饱和蛋白质样品聚集体变化与时间的关系,可得到何时稀释样品的信息<sup>[7]</sup>,因此许多实验室用该技术来测定稀释后的蛋白质样品的单分散度<sup>[16,17]</sup>。

DLS 还用来研究溶液中分子的聚集行为,提供分子或其聚合物的大小、形状和尺寸分布的信息<sup>[18,19]</sup>。生物大分子结晶成核和晶体生长过程都与分子聚集密切相关,溶液的单分散性与结晶的好坏也密切相关,因此通过 DLS 检测纯化后的生物分子溶液的单分散性<sup>[20~22]</sup>可有助于培养出蛋白质晶体,特别是对于难以生长晶体的蛋白质。例如磷酸甘油酸激酶(PGK)的结晶,在原晶体质量不高的情况下,通过加入不同底物或类似物,最后筛选到单分散的复合物得到高质量的晶体<sup>[23]</sup>。

DLS 还用于晶体生长的动力学研究。

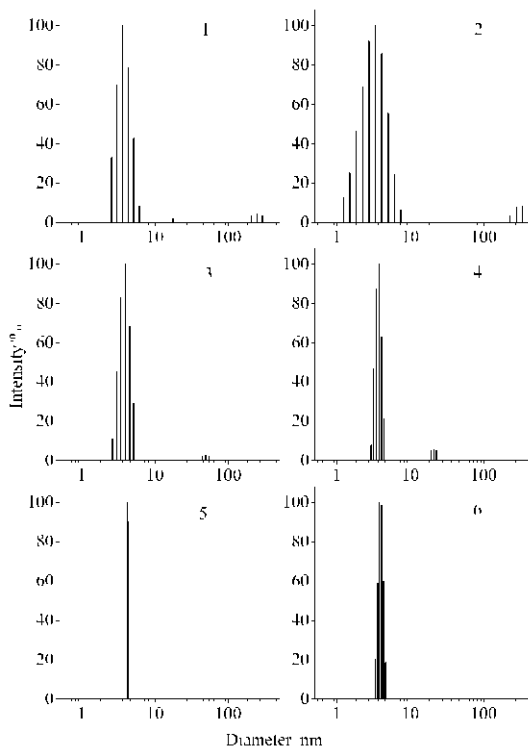


图 2 DLS 测量的含不同浓度 NaCl 的 25mg·mL<sup>-1</sup> 溶菌酶溶液中的聚集体分布情况<sup>[14]</sup>

Fig. 2 Distribution of aggregates in 25mg·mL<sup>-1</sup> lysozyme solution with different NaCl concentrations measured by DLS<sup>[14]</sup>

1、2、3、4、5、6 分别代表 NaCl 浓度为  
0、0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5mol L<sup>-1</sup>

Mikol 等<sup>[9]</sup>探测了蛋白质结晶的动力学。Malkin 等<sup>[24]</sup>通过蛋白质的聚集、溶解与温度关系的动力学观测,得到蛋白质沉淀剂浓度的平衡条件,从而获得蛋白质的溶解度相图。

### 2.3 晶体与无定形沉淀的判断

DLS 可以用于判断蛋白质溶液是趋于得到絮状沉淀还是生长出晶体<sup>[25]</sup>。这一点也可以用 SLS 的第二维里系数来判断,一般而言,第二维里系数负值小,有利于形成晶体<sup>[3,41]</sup>;负值大,易于形成无定形沉淀。

## 3 进展

### 3.1 光散射技术的改进

在 DLS 发展中,人们不断地探索方法、设备的改进,使得这一技术越来越成熟。在光的散射过程中,存在着复合光散射现象,即多次散射,而且粒子的浓度越高,复合散射越强,对数据的破坏性也越强。美国 NASA Lewis 科研中心开发了一种高级技术发展方案,采用抑制复合散射的激光光散射测定粒子大小,扩大了溶液的浓度范围,可以测定溶液中 3nm ~ 3 $\mu$ m 的粒子。减小复合光散射的一个方法是使样品在很强的复合散射的条件下模拟扩散过程的光子转移,扩散光子转移,扩散波谱(Diffusing Wave Spectroscopy)技术<sup>[26]</sup>是广为熟知的方法。另外的方法就是运用互相关(cross-correlation)技术<sup>[27,28]</sup>,从探测信号中分离单色散光,三维互相关(3D cross-correlation)设备可以在很不透明液体中抑制复合光散射<sup>[29]</sup>。另一个减小复合光散射的方法是在浓溶液中引入微小探针,与标准 DLS 相比,用光纤发射光束探测散射光的小探针尺度明显变小<sup>[30]</sup>,尤其在探测诸如蛋白质溶液成核这样复杂的体系<sup>[31]</sup>,这种微型仪器用处更为显著。这是由于蛋白质只有大量获得时才能满足传统 DLS 设备所需体积;过饱和度逐渐增加意味着存在一个一定程度上不透明的液体阶段,传统的 DLS 无法检测到合理的信号。Ansari 等采用了光纤探针<sup>[32]</sup>探测蛋白质的聚集、成核和结晶,得到了常规 DLS 无法得到的结果。这种光纤探针除了传统的 DLS 性能,还可以进行小角度静态光散射。它利用较低的激光功率,减小了通常的光学线性与振动隔离问题。这种探针也可与微型显微镜连用而用于观察宏观蛋白质晶体。Ansari 等<sup>[32]</sup>详细介绍了这种光纤探针,并与传统的 DLS 相比较,分析了其优越性,如传统 DLS 只能探测球状粒子稀溶液的性质,而光纤探针可以探测 35% ~ 40% (w/V) 浓度的结晶样品。

共振光散射技术是传统光散射技术的又一个进步,其广泛应用于研究大分子和小分子的不同状态<sup>[33,34]</sup>,从 1996 年发展至今,共振光散射广泛应用于溶液中核酸和蛋白质<sup>[35]</sup>的痕量研究,光散射强度测定一般使用浊度仪,Pasternack 发展了应用普通荧光分析仪探测共振光散射<sup>[36,37]</sup>,简化了检测过程,并且灵敏度高,选择性好。Arsenazo-DBC 是一种稀土元素与其它金属离子的灵敏的颜色指示剂<sup>[38]</sup>,实验中发现蛋白质与 Arsenazo-DBC-Al 相互作用几乎不会导致 Arsenazo-DBC-Al 的吸收变化,但是 Arsenazo-DBC-Al 信号提高到 410nm,基于这一现象发展的共振光散射技术,可以用来有效测定人体血清样品的蛋白质总体含量<sup>[39]</sup>。

此外,还有用超小角度光散射研究 QUAR 在 H<sub>2</sub>O 和 D<sub>2</sub>O 中的结构<sup>[40]</sup>,多角度激光散射探针与紫外联用,利用分析凝胶过滤高效蛋白质液相色谱分离的方法直接获得低聚物的物理分子量和构型数据<sup>[41]</sup>,等等。

### 3.2 空间应用

培养稳定生长的高质量蛋白质晶体的一个主要问题是由于地球重力原因而导致的小而有缺陷的晶体。重力对晶体生长的影响主要有两个方面:(1)晶体生长过程中,由于重力作用,低密度溶液上升,产生浓度梯度,密度梯度导致浮力产生瑞利对流;与之相关的是晶体邻近面的扰动,这种扰动

在通过晶体表面时可能会产生不均匀生长,也可能在溶液中产生复杂成核点;(2) 溶液中晶体生长隶属于沉降,重力条件下将导致晶体的不对称生长和共生。

空间蛋白质晶体生长实验最早开始于上世纪 80 年代中期。俄罗斯卫星(Photon 和 cosimar-2)<sup>[42~44]</sup>、MIR 空间实验站<sup>[45]</sup>、中国空间飞行器(cosimar-1<sup>[46]</sup>, FSW-2<sup>[47]</sup>)以及美国的航天飞机<sup>[48~52]</sup>上都进行过该项实验。大部分实验结果表明,微重力环境下生长的蛋白质晶体平均尺寸较大,质量也较好,适于做 X-射线衍射分析。

微重力条件下的光散射与地面实验有相似的应用,如悬滴气相扩散法生长蛋白质晶体时采用光散射仪进行观察与研究<sup>[53]</sup>。由于空间实验的特殊之处,需要进行实验的设备轻便小巧。NASA 发明了一种袖珍激光光散射设备,可采用静态或动态光散射技术进行微重力研究<sup>[54]</sup>。目前,空间蛋白质晶体生长设备中光散射仪基本已成标准配置,如 1994 年 2 月,NASA 的 STS60 蛋白质晶体生长设备中装入了激光光散射仪,用以探测胰岛素晶体成核,所获得的光散射数据可以解释一些微重力条件下对晶体成核的影响与变化<sup>[55]</sup>。

在蛋白质研究领域,光散射技术得到广泛的应用,占据不可或缺的地位,但是我们也该看到它的不足之处。作为一种技术,其自身需要在发展中不断更新、完善,而且它只能够用来表征蛋白质的某一方面的性质,要全面的表征蛋白质,还必须与其它仪器,如原子力显微镜、共聚焦显微镜等共同使用。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] M Aivaliotis, P Samolis, E Neofotistou et al. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, 1615: 69 ~ 76.
- [ 2 ] Z Kam, H B Shore, G Feher. *J. Mol. Biol.*, 1978, 123: 539 ~ 555.
- [ 3 ] A George, W W Wilson. *Acta Crystallogr.*, 1994, D50(4): 361 ~ 365.
- [ 4 ] A George, Y Chiang, B Gao et al. *Meth. Enzym.*, 1997, 276: 100 ~ 110.
- [ 5 ] B L Neal, D Arthagini, O D Velez et al. *J. Cryst. Growth*, 1999, 196: 377 ~ 387.
- [ 6 ] S Candau, R Zana. *J. Coll. Interf. Sci.*, 1981, 84(1): 206 ~ 219.
- [ 7 ] F Rosenberger, S B Howard, J W Sower et al. *J. Cryst. Growth*, 1993, 129: 1 ~ 12.
- [ 8 ] E E G Saridakis, P D Shaw Steward, L F Lloyd et al. *Acta Cryst.*, 1994, D50: 293 ~ 297.
- [ 9 ] V Mikol, E Hirsch, R Geg é. *FEBS Lett.*, 1989, 258: 63 ~ 66.
- [ 10 ] C W J Carter, E T Baldwin, L Frick. *J. Cryst. Growth*, 1988, 90: 60 ~ 73.
- [ 11 ] M Zulauf, A D 'Arcy. *J. Cryst. Growth*, 1992, 122: 102 ~ 106.
- [ 12 ] S Baritaki, G N Tzanakakis, J Alifragis et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, 63: 830 ~ 837.
- [ 13 ] V A Bloomfield. *Annu. Rev. Bioeng.*, 1981, 10: 421 ~ 450.
- [ 14 ] 戴国亮, 胡文瑞. *化学学报*, 2003, 63: 60 ~ 65.
- [ 15 ] A J Malkin, A McPherson. *J. Cryst. Growth*, 1993, 128: 1232 ~ 1235.
- [ 16 ] A D 'Arcy. *Acta Cryst.*, 1994, D50: 69 ~ 471.
- [ 17 ] T Berfors. *Crystallization: Techniques, Strategies and Tips*. T. Bergfors. La Jolla: International University Line, 1990: 27 ~ 50.
- [ 18 ] H H Weetall, A K Gaigalas. *Appl. Biochem. and Biotech.*, 1993, 41: 139 ~ 143.
- [ 19 ] H G Barth, R B Flippen. *Anal. Chem.*, 1995, 67: 57R ~ 272R.
- [ 20 ] H W Sun, M Swope, C Cnquin et al. *Protein Engineering*, 1996, 9(8): 31 ~ 635.
- [ 21 ] J D Phillips, F G Whitby, J P Kushner et al. *Protein Science*, 1997, 6: 1343 ~ 1346.
- [ 22 ] H Blanchard, Y Li, M cygler et al. *Protein Science*, 1996, 5: 535 ~ 537.
- [ 23 ] B E Bernstein, P A M Michels, H Kim et al. *Protein Science*, 1998, 7: 504 ~ 507.
- [ 24 ] A J Malkin, A McPherson. *Acta Cryst.*, 1994, D50(4): 385 ~ 395.
- [ 25 ] V Mikol, E Hirsch, R Geg é. *J. Mol. Biol.*, 1990, 213: 187 ~ 195.
- [ 26 ] D A Weitz, D J Pine. *Dynamic Light Scattering, The Method and Some Applications*. Oxford: Clarendon Press, 1993, 652 ~ 720.
- [ 27 ] M Drewel, J Ahrens, U Podschus. *J. Opt. Soc. Am. A*, 1990, 7(2): 206 ~ 210.
- [ 28 ] K Schätzel. *J. Modern Opt.*, 1991, 38(9): 1849 ~ 1865.
- [ 29 ] L B Aberle, S Wiegand, W Schröer et al. *Progr. Colloid Polym. Sci.*, 1997, 104: 121 ~ 125.
- [ 30 ] A J MacFadayer, B R Jennings. *Opt. Laser Technol.*, 1990, 22(3): 175 ~ 187.
- [ 31 ] R Peters, Y Georgalis, W Saenger. *Acta Cryst.*, 1998, D54(5): 873 ~ 877.

- [32] R R Ansari, K I Suh, A Arabshahi et al. *J. Cryst. Growth*, 1996, 168: 216 ~ 226.
- [33] Q E Cao, Z T Ding, R B Fang et al. *Analyst*, 2001, 126(8): 1444 ~ 1448.
- [34] C Z Huang, Y F Li, P Feng. *Anal. Chim. Acta*, 2001, 443: 73 ~ 80.
- [35] 李原芳, 黄承志, 胡小莉. *分析化学*, 1998, 26(12): 1508 ~ 1512.
- [36] R F Pasternack, C Bustmante, P J Collings et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115: 5393 ~ 5399.
- [37] R F Pasternack, P J Collings. *Science*, 1995, 269: 935 ~ 939.
- [38] B F Liu, L B Liu, J K Cheng. *Talanta*, 1998, 47(2): 291 ~ 299.
- [39] R P Jia, L J Dong, Q F Li et al. *Talanta*, 2002, 57: 693 ~ 700.
- [40] M R Gitting, L Cipelletti, V Trappe et al. *J. Phys. Chem.*, 2000, B104: 4381 ~ 4386.
- [41] B R Thomas, D Cater, F Rosenberger. *J. Cryst. Growth*, 1998, 187: 499 ~ 510.
- [42] S D Trakhanov, A I Grebenko, V A Shirokov et al. *J. Cryst. Growth*, 1991, 110: 317 ~ 321.
- [43] K Asano, S Fujita, T Senda et al. *J. Cryst. Growth*, 1992, 122: 323 ~ 329.
- [44] R Hilgenfeld, A Liesum, R Storm et al. *J. Cryst. Growth*, 1992, 122: 330 ~ 336.
- [45] R K Strong, B L Stoddard, A Arrott et al. *J. Cryst. Growth*, 1992, 119: 200 ~ 214.
- [46] V A Erdmann, C Lippmann, C Betzel et al. *FEBS Letters*, 1989, 259(1): 194 ~ 198.
- [47] R C Bi, L L Gui, Q Han et al. *Microgravity Sci. Technol.*, 1994, (2): 203 ~ 206, 214, Chapter 5.
- [48] W Litke, C John. *J. Cryst. Growth*, 1986, 76: 663 ~ 672.
- [49] L J Delucas, G D Smith, D C Carter et al. *J. Cryst. Growth*, 1991, 109: 12 ~ 16.
- [50] L J Delucas, M M Long, K M Moore et al. *J. Cryst. Growth*, 1994, 135: 183 ~ 195.
- [51] C Betzel, N Günther, S Poll et al. *Microgravity Sci. Technol.*, 1994, (3): 242 ~ 245.
- [52] A Auersch, W Litke, P Langand et al. *J. Cryst. Growth*, 1991, 110: 201 ~ 207.
- [53] G A Casay, W W Wilson. *J. Cryst. Growth*, 1992, 122: 95 ~ 101.
- [54] R B Rogers, W V Meyer, J X Zhu et al. *Appl. Opt.*, 1997, 36: 7493 ~ 7500.
- [55] M M Long, J B Bishop, T L Nagabhushan et al. *J. Cryst. Growth*, 1996, 168: 233 ~ 243.

读者 作者 编者

## 中国化学会《化学通报》优秀论文奖和优秀编审奖评奖启事

《化学通报》创始人戴安邦院士在 1994 年《化学通报》创刊 60 周年时提议并捐资设立了“中国化学会《化学通报》优秀论文奖和优秀编审奖”，用以表彰在《化学通报》上发表的优秀论文的作者和为办好《化学通报》做出贡献的编委、编辑、编务和审稿专家。今年将进行第三次评奖。

本次评选的优秀论文范围是在 2000 ~ 2003 年间于《化学通报》上发表的体现“新、基、通、普”特色、有较高学术水平、发表后被引用率较高和对科研、教学、生产和经济与社会发展有重要促进作用的论文。评选的优秀编审范围是从事《化学通报》编委、编辑、编务和审稿工作时间较长并做出较大贡献的同志。有关参评资格和评选条件请登录《化学通报》网站 [www.hxtb.org](http://www.hxtb.org) 主页查阅。

评奖委员会热诚希望广大读者、作者和审稿专家推荐或自荐在上述期间给您留下深刻印象和帮助最大的优秀论文和优秀编审人员。推荐或自荐的内容包括：被推荐的候选优秀论文的题目、发表日期；被推荐的优秀编审候选人从事《化学通报》工作的经历与业绩；并请附上相应证明材料以及推荐人的联系方式。推荐和自荐的截止日期为 2005 年 4 月底。推荐和自荐材料请寄：100080 北京 2709 信箱《化学通报》评审委员会王治浩先生，联系电话：010-62588928；010-62642357。

热切希望广大读者、作者和本刊新老编委以及审稿专家积极参与评选活动，并对评选工作提出宝贵意见。

中国化学会《化学通报》优秀论文奖和优秀编审奖  
评审委员会  
2005 年 1 月 20 日