

细胞电泳技术及其在生物学和医学中的应用

梁子钧 施永德

(上海第一医学院生物物理教研组)

细胞电泳技术是通过测定细胞的表面电荷性质和密度,来研究细胞表面的结构和功能变化的一种精细的和灵敏的生物物理学方法。大量的实验资料表明,细胞的表面不仅是许多重要的生物现象发生和进行的场所,而且它本身又是这些重要过程和反应的直接参与者,同时它的结构和功能也相应地发生变化。研究细胞表面的方法很多,如电子显微镜、X射线衍射、旋光色散和圆二色性、核磁共振等,均能从不同角度提供关于细胞表面结构和功能的资料。但上述诸方法也有一个共同缺点,即它们所揭示的细胞表面结构与自然状态下的活细胞的表面结构相比,尚有一定的差异。细胞电泳技术与上述诸方法不同,其优点之一,就是它能使细胞在完整无损的自然状态下、在外来因素减少到最低限度的相对稳定环境中,通过测定活细胞的表面电荷,对由于各种因素而引起的细胞表面的结构、组成和功能的变化进行精细研究和定量分析。从理论上讲,细胞电泳技术在一定的条件下,能够探测细胞表面微小范围内(深为10埃、宽为5埃)的电荷密度差异,而细胞表面上的电荷密度的任何差异,归根结底,反映着细胞表面的组成或结构上的差异。由此可见,细胞电泳技术,除了能够使我们从细胞水平上,了解细胞表面对生物体内的许多重要过程产生的影响外,也能通过对决定着细胞表面所带电荷的各种可电离基团的测定和分析,使我们从分子水平上,探讨构成细胞表面的基本成分的一些生物高分子(如蛋白质、核酸、类脂、糖类等)的结构特点及其在各种因素作用下发生反应和变化的机制。因此,近年来,国内外应用细胞电

泳技术,特别是将它与研究细胞表面结构和功能的其它方法配合应用来研究细胞表面的组分、结构和功能日益受到重视,取得了较快的进展。现就细胞电泳技术的基本原理和影响因素、装置和方法及其在生物学和医学中的应用综述如下。

一、基本原理和影响因素

细胞电泳技术的原理与一般纸上电泳的原理基本相同,都是以多相系统(例如细胞悬液、蛋白质胶体溶液等)在外加电场的作用下,发生分散相(例如悬浮的细胞或颗粒物质)对分散介质(例如各种溶液)的相对位移为基础。然而,两者不同的是,后者的实验目的是从纸上析出或测定电泳物质,而前者的实验目的是在显微镜下直接观察悬浮于溶液中的细胞或颗粒物质在电场作用下的移动,并根据移动的方向(即向阳极或向阴极)来测定细胞或颗粒物质表面所带电荷的性质(即负电荷或正电荷),根据移动的速度来测定细胞或颗粒物质的电泳率。电泳率一般系指细胞或颗粒物质的移动速度与外加电场强度的关系,可以根据下式计算:

$$W = \frac{U}{E} \quad (1)$$

式中, W ——细胞或颗粒物质的电泳率;
 U ——细胞或颗粒物质在时间 t (秒)内移动的距离(微米),一般用微米/秒表示; E ——外加电场的电位梯度,即导体单位长度的电压降,或称为电场强度,可根据下式计算:

$$E = \frac{V}{r} \quad (2)$$

式中, V ——电压(伏); r ——两个电极间的距离(厘米)。电场强度一般用伏/厘米表示。

因此, 细胞或颗粒物质的电泳率的单位为(微米/秒)/(伏/厘米)。换言之, 所谓电泳率也就是细胞或颗粒物质在单位电场强度(伏/厘米)、单位时间内移动的距离(微米/秒)。

式(1)中的电场强度 E 也可更为精确地用下式计算:

$$E = \frac{i}{S\lambda} \quad (3)$$

式中, i ——电流强度; S ——电泳观测小室的横截面积; λ ——溶液的导电率。这样, 式(1)则变为:

$$W = U \times \frac{\lambda}{i} \times S \quad (4)$$

在一定条件下, 悬浮于溶液中的个别细胞或颗粒物质, 在表面上虽然都带有一定的电荷(例如大多数活细胞表面是带有负电荷), 但把悬浮液作为一个整体来看, 在电学上却是中性的, 这表明溶液中含有与细胞或颗粒物质表面电荷相反的电荷, 而且由于相反的两种电荷之间的相互吸引, 而在细胞或颗粒物质的周围形成一个所谓“双电层”。当细胞或颗粒物质在电场作用下发生移动时, 在它们周围的“双电层”之间出现一种电位, 即电动电位或简称 Zeta 电位。

实验表明, 细胞或颗粒物质的电泳率与 Zeta 电位之间具有等值关系, 因此, 测出电位梯度 V 和细胞或颗粒物质的移动速度 U , 就可以根据下式计算 Zeta 电位:

$$\zeta = \frac{U \times 4 \pi \eta}{V \times \epsilon} \quad (5)$$

式中, η ——溶液的粘度; ϵ ——溶液的介电常数。

能够影响 Zeta 电位以及电泳率数值的因素, 除溶液粘度、介电常数等外, 尚有溶液的酸碱度、温度、渗透压、离子强度和离子价数以及细胞或颗粒物质在电泳观测小室内的部位等, 其中细胞或颗粒物质在观测小室内的部位的改变有着更为重要的意义。实验表明, 细胞或颗粒物质在观测小室内的部位距室壁愈近, 所测得的电泳率愈低; 距室壁愈远, 所测得的电泳率

亦愈高, 结果, 形成一个以室壁处为最低值的对称抛物线。这是因为在深度为 1—2 毫米的玻璃观察小室内, 当有电流通过该小室时, 除了发生细胞或颗粒物质对溶液的相对移动(电泳)外, 同时发生溶液对玻璃观察小室壁的相对移动(电渗)的缘故。由此可见, 通常所观察到的细胞或颗粒物质在电场中的移动, 并非单纯是由电泳作用所引起, 而是由电泳和电渗这两个因素所引起的。对于测定真实的电泳率来讲, 电渗作用的存在无疑是一个严重干扰。但是, 根据经典的流体力学定律, 在观测小室两端密闭的条件下, 由于电渗作用引起的液体沿室壁的流动, 可被小室中央反方向的液流抵消, 通过小室液体的净流动必定是零。因此, 就可以在小室的某一深度上, 找到一个液体流动等于零的地方。这个地方一般称为“静止深度”或“静止层”。位于“静止层”上的细胞或颗粒物质在电场中的移动速度, 由于排除了电渗作用引起的液体流动的干扰, 反映该细胞或颗粒物质的真实电泳率。这样, 将显微镜聚光于小室的“静止深度”上, 只测定这一深度内的细胞或颗粒物质的移动速度, 就成为细胞电泳技术的基本要求之一。“静止深度”可以从理论上进行计算或从实践中加以测定。

细胞或颗粒物质的电泳率除与 Zeta 电位成正比关系外, 与表面电荷密度亦呈一定关系, 但这一关系是间接的。换言之, 测出电泳率的数值就可以计算出 Zeta 电位的数值, 而测出 Zeta 电位的数值又可以计算出表面电荷密度。对于悬浮于 1-1 价或 2-2 价电解质(例如氯化钾或硫酸镁)溶液中的细胞或颗粒物质, 不论 Zeta 电位数值的大小, 其表面电荷密度可由下式计算:

$$\sigma = 2 \sqrt{\frac{NDKT}{2\pi \times 1,000}} \times \sqrt{c} \times \sinh \frac{Ze\zeta}{Kt} \quad (6)$$

式中, c ——电解质浓度(克分子/升); z ——离子价; N ——阿伏伽德罗常数; K ——玻耳兹曼常数; T ——绝对温度; e ——电子电荷的绝对值; D ——介电常数; $\sinh = \frac{1}{2}(e^x - e^{-x})$ 。

这个公式已广泛地用于计算细胞或细菌的表面电荷密度。例如,人的红血球在 pH 7.4, $M/15$ 的磷酸缓冲液中,其电泳率为 1.31 (微米/秒)/(伏/厘米), Zeta 电位为 0.0168 伏,而按照上述公式计算出的表面电荷密度则为 $4,500$ (静电单位/厘米²)。

二、细胞电泳装置和测量方法

细胞电泳装置的种类虽然很多,但它的基本结构是由直流电源、电极系统、细胞悬液的排灌系统以及可用显微镜直接观测细胞在电场中移动的观测小室等部分组成。观测小室是细胞电泳装置的最关键部分。根据观测小室的两端是否与空气相通,所有的细胞电泳装置基本上可分为两大类,即开放型和密闭型。

1. 开放型细胞电泳装置

图 1 的 A 和 B 为两种开放型的细胞电泳装置。在第一种装置(A)中,细胞悬液的排灌系统是在一块宽的载物片上,由四块薄盖玻片粘合一起做成的长方浅槽,上面再盖上一块薄的盖玻片,构成观测小室。电极是由金属铜和饱和硫酸铜溶液组成的去极化电极,并通过灌满 1—3% 琼脂的虹吸管与盛有 10% 氯化钾溶液的小烧杯相联。小烧杯又通过虹吸管与观测小室相联。

在第二种装置(B)中,细胞悬液的排灌系统,是由一块矩形玻璃板制成,上面挖一个长 6 厘米、宽 2 厘米和深 0.5 毫米的矩形浅槽,在中央部分盖上一块薄的盖玻片,即成观测小室。电极是用金属铂片,并通过“棉线桥”与细胞悬液相联,以免产生气泡。

开放型细胞电泳装置的优点是:(1)结构简单,制作容易,便于推广;(2)经济,不易损坏,操作简便;(3)所需细胞悬液的量比较小,约 1—2 毫升。缺点是:(1)由于观测小室的两端是开放的,因此,在观测小室中极易产生机械性的液体流动和悬浮细胞的机械性的“漂移”;(2)不宜根据经典的流体力学公式准确计算出细胞的真实电泳率,因为该公式不适用于两端开放的观测小室;(3)细胞(特别是较大的细胞)

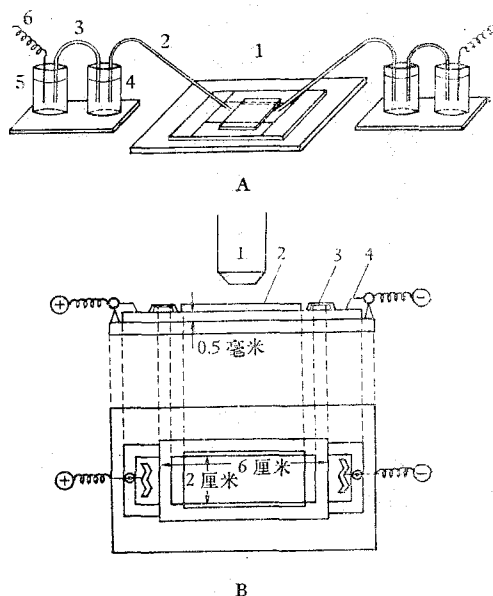


图 1 两种开放型细胞电泳装置的示意图

A: 1——由载物片和盖玻片构成的观测小室; 2——琼脂虹吸管; 3——琼脂联结管; 4——盛有饱和氯化钾溶液的小杯; 5——盛有 10% 硫酸铜溶液的小杯; 6——铜电极

B: 1——显微镜物镜; 2——观测小室; 3——棉线; 4——铂电极

容易沉积于小室底部,而使实验工作中断。

2. 密闭型细胞电泳装置

密闭型细胞电泳装置根据观测小室的形状和结构的不同,又分为多种式样,其中最常用的有圆柱式和长方扁平式两种。

(1) 圆柱式细胞电泳装置 圆柱式细胞电泳装置的结构如图 2A 所示。它是一个 U 形玻璃圆管,管内灌满细胞悬液。U 形管底是一个长 10 厘米、内径 2 毫米的细玻璃管,其中央部分是供显微镜观测的地方,即观测小室。U 形管底的上部装有一根长玻璃棒,以固定 U 形管。观测小室的两端各装一个玻璃磨口活塞以密闭 U 形管。电极是金属铂片,它穿过玻璃活塞的中心直接浸泡在细胞悬液中。也可以用银-氯化银和饱和氯化钾溶液组成的去极化电极。它是通过安装在 U 形管底两侧、并与观测小室平行的两个玻璃磨口活塞与观测小室相联(见图 2B)。

圆柱式细胞电泳装置的缺点是不能同时观察细胞的形态变化,这是因为圆形玻璃管具有

凹面,从而使显微镜下的成像发生畸变。为了克服这一缺点,有人将圆形玻璃管的前侧或前后两侧用不同型号的金钢砂磨平(图2A下部);还有人将观测小室的内腔做成四方形。

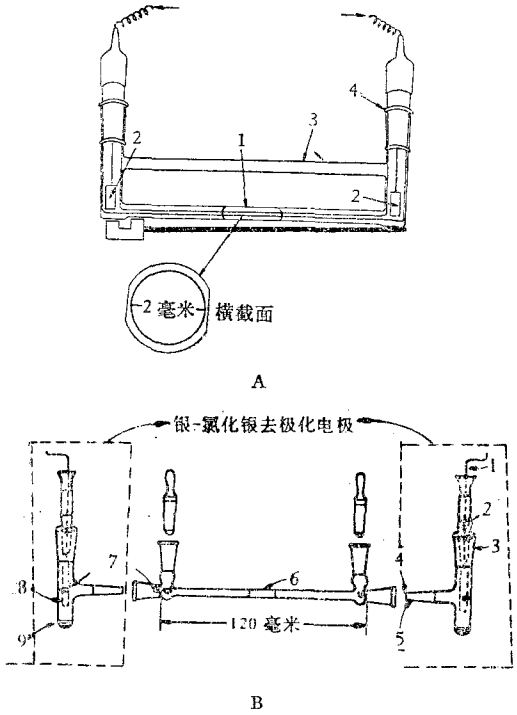


图2 两种圆柱式细胞电泳装置的示意图

- A: 改进后的巴氏圆柱式细胞电泳装置 1——观测小室; 2——铂电极; 3——固定用玻璃棒; 4——玻璃磨口活塞
- B: 巴(Bangham)氏圆柱式细胞电泳装置 1——银丝; 2——钠玻璃; 3——派列克斯玻璃; 4——玻璃磨口; 5——电极小室; 6——观测小室; 7——筛孔玻璃; 8——银片; 9——氯化钾结晶

(2) 长方扁平式细胞电泳装置 在这一类细胞电泳装置中,其结构如图3。它的观测小室系由两块0.6毫米厚的载玻片构成,沿载玻片的两边再用0.6毫米厚的细玻璃条焊接或粘合做成一个长方扁平的中空小室。宽与深之比大于20:1。小室的两端各通过一圆形玻璃管与三通玻璃磨口活塞联接。装在漏斗中的细胞悬液可以经三通活塞流入观测小室内,再经三通活塞的另一端排出。电极是用铜-硫酸铜溶液组成的去极化电极,并通过三通活塞的另一通路

与观测小室相联。这样,当细胞悬液流满观测小室之后,旋转一下三通活塞,观测小室则与装有铜-硫酸铜溶液的玻璃管接通,随着电流的导入,细胞发生移动。为防止硫酸铜溶液流入观测小室,污染细胞悬液,一般用熟石膏或琼脂液把两者隔开。

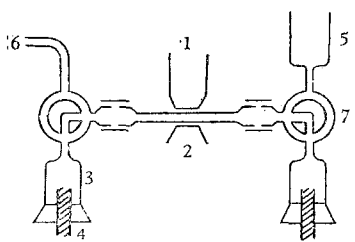


图3 长方扁平式细胞电泳装置的示意图

- 1——显微镜目镜; 2——显微镜聚光镜; 3——饱和硫酸铜溶液; 4——铜电极; 5——细胞悬液; 6——细胞悬液的排出口; 7——三通磨口玻璃活塞

总之,密闭型细胞电泳装置,在很多方面比开放型细胞电泳装置优越。但是,在实际应用中也发现它们具有下列一些缺点: ①由于采用两通或三通玻璃活塞来密闭观测小室的两端并与电极系统联接,结果使装置的结构复杂,某些部件与观测小室不成比例地庞大和笨重。②制造装置困难,工艺要求高,生产效率低。这是因为观测小室很小(深度小至0.5毫米),又是用人工焊接、粘合或磨平而造成的。③所需细胞悬液的量比较大,少者(如圆柱式)4毫升,多者(如长方扁平式)10—20毫升。这对于细胞电泳技术在医学临床上的应用,显然是一个极待解决的问题。④由于观测小室的深度是固定的,因此,不适用于大小相差悬殊的不同生物材料。⑤采用普通玻璃磨口活塞密闭观测小室的效果尚不十分可靠,结果不能根除非电场作用而引起的细胞的机械性“漂移”以及左右移动速度的差异。⑥由于细胞容易沉积于观测小室的底部,结果,为完成一次测量工作,即测得10—20个细胞的平均电泳率,往往不得不更换细胞悬液数次。这不仅增加了细胞悬液的需用量,而且延长了操作时间。

(3) 方形玻璃毛细管式细胞电泳装置 图4A为我们试制出的一种简便、微量的方形玻璃

毛细管式细胞电泳装置。在本装置中,细胞悬液的排灌系统以及观测小室是一个长6厘米、宽和深均为0.5—1.5毫米的正方形玻璃毛细管(见图4B)。用显微镜观测细胞电泳一般是在中央部分进行。细胞悬液的排灌和方形毛细管的清洗均比较简便。只要将方形毛细管的一端浸入细胞悬液中,由于毛细作用,细胞悬液迅速地充满整个管腔,所需细胞悬液的量很小,约为0.03—0.1毫升。管内细胞悬液的排除和毛细管清洗可用滤纸吸附或水泵抽除。

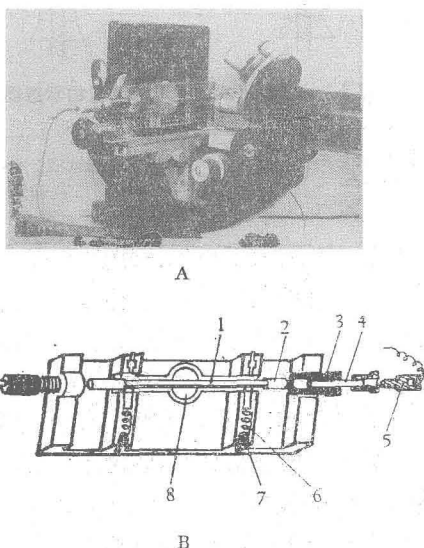


图4 方形玻璃毛细管式细胞电泳装置的外貌(A)和示意图(B)

1——方形玻璃毛细管; 2——琼脂联结管; 3——不透光的有机玻璃圆管; 4——氯化银电极; 5——电线插头; 6——固定方形玻璃管的弹簧夹; 7——有机玻璃螺丝; 8——观测圆窗; 9——金属导线

灌满细胞悬液的方形毛细管两端的密闭及其与电极系统的联接,是用内灌1—3%琼脂或明胶溶液的细塑料圆管,即琼脂联接管来实现的。这是本装置区别于其它细胞电泳装置的另一特点。琼脂联接管的长度为2—3厘米,内径与方形毛细管的外径相适应。琼脂联接管的一端紧密地套在方形毛细管的一端,以达到两端密闭的作用,而其另一端则与电极相联接,以避免电极直接浸泡在细胞悬液中产生气泡或防止电极溶液污染细胞悬液。

在观测时,先将两端以琼脂联接管密闭好

的方形毛细管用两个弹簧夹固定在长15厘米、宽2厘米和厚1厘米的有机玻璃支架上的一条长方形浅槽内,其中央部分有一圆孔,孔径1厘米,作为观察窗(见图4B)。整个支架夹在显微镜载物台上的移动器上,可以前后、左右移动,也可转动180°,使沉至小室底部的细胞又沿着反方向往下沉,以克服测量工作常因细胞沉积于室底而不得不中断的缺点。电极是氯化银电极,它是装在一个不透光的有机玻璃圆管内。测量工作是在显微镜下直接观察(放大倍数450×),并用秒表计算每个细胞移动一定距离所需要的时间,移动的距离可用目镜测微尺或显微网格标尺算出。每次实验至少要测量10—20个细胞,然后取其平均值,并算出标准误差。电源系由两块45伏乙电池并联而成,测量线路可见参考资料[1]。工作电压一般为30伏,电流强度因介质的不同而不同,当采用9%蔗糖溶液作为介质时为几个微安,若采用各种电解质溶液作为介质时,则为几个毫安。

方形玻璃毛细管是本装置的最关键部分,它不是手工焊接、粘合或磨平而制成的,它是用长50—60厘米、宽和深均为2—3厘米的粗方形玻璃管由机器拉细而制成。这种机器拉制的方法,不仅使制作观测小室容易、工艺简单和成批生产,而且又可保证拉制出的方形玻璃毛细管具有良好的均一性以及各种不同的规格(图5)。这样,就可以根据研究对象的大小不同,选择与其相应的方形毛细管作为观测小室。

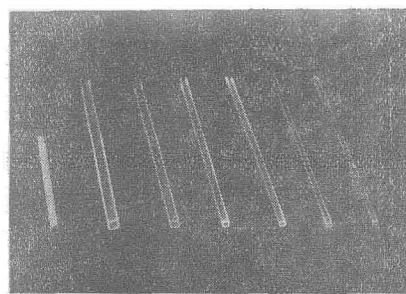


图5 各种不同规格的方形玻璃毛细管

图左1为普通火柴棒,作对比用

总之,本装置的优点是制作容易、操作简便、不易损坏,可以成批生产,可适用于大小相

差悬殊的不同生物材料以及所需细胞悬液的用量很小等。

三、在生物学和医学中的应用

1. 在细胞表面的生物化学和分子生物学研究方面的应用

细胞电泳技术广泛地用来鉴定细胞表面的不同组分和对不同细胞表面的分子结构和功能的差异进行细致的定量分析。这方面最突出的例子是应用从流感病毒和霍乱弧菌分离出的神经氨酸酶来处理红细胞,并观察它对红细胞电泳率的影响。结果发现,红细胞经神经氨酸酶处理之后,其电泳率明显降低。这是红细胞表面上的神经氨酸(它是涎酸的一种)被分解的结果。Piper^[2]正是应用细胞电泳技术和酶处理方法相结合,于1957年首先证明了,红细胞表面所带的负电荷主要是由细胞表面的糖蛋白或糖脂上面的涎酸或N-乙酰神经氨酸决定的。以后的许多研究工作^[3-4]不仅证实了Piper的观察,并进一步提出涎酸或N-乙酰神经氨酸在血浆中电离而产生的羧基($-COO^-$)是决定红细胞表面负电荷的主要带电基团。支持这一观点的实验证据是:红细胞经神经氨酸酶处理后,其电泳率可降低94%。神经氨酸对细胞表面电荷的决定作用,在白细胞、血小板以及某些癌细胞上亦相继得到证实。但是,根据最近的研究情况来看,决定这些细胞表面负电荷的带电基团,除涎酸上的羧基之外,尚有其它一些带电基团。例如,对于人的淋巴细胞和某些癌细胞尚有对核糖核酸酶敏感的磷酸基团,而对于人的血小板等,尚有对碱性磷酸酶敏感的磷酸基团。

关于神经氨酸及其带电基团的功能,目前尚了解得不多。但不少工作指出,从细胞表面除去神经氨酸会影响红细胞的存活及其表面上的抗原性质、影响白细胞的代谢并影响病毒与细胞表面的受体的结合,使病毒不能感染细胞和吸附在细胞上。另外,细胞的许多基本特性,例如细胞之间的粘着性和“接触抑制”、细胞在溶液中的稳定性以及细胞的畸变和癌变等,与细胞表面上的神经氨酸以及由它所产生的负电

荷亦有密切关系。

至于神经氨酸上的带电基团的功能,Gottschalk 提出它可能担负包裹细胞膜的蛋白质“髓心”的“结构外皮”的作用。

2. 在癌细胞表面特性和表面分子结构研究方面的应用

1956年Ambrose等首先应用细胞电泳技术确定了癌细胞和正常细胞的表面电荷之间存在差异。他们以田鼠肾脏和大鼠肝脏的正常细胞和癌细胞为材料,分别测定了它们的电泳率,结果发现癌细胞的电泳率明显地高于同类的正常细胞。这一事实表明癌细胞的表面较之正常细胞的表面,具有更高的电荷密度。Fuhrmann用大鼠的腹水型肝癌细胞和正常肝细胞作实验,亦获得类似的结果。

近年来的研究表明,癌细胞的许多特性,诸如细胞之间的浸润、“接触抑制”的丧失、粘着性的减弱、容易转移、无控制的增殖以及其恶性程度,均与其表面具有更高的电荷密度有关。但是,也有人指出,某些正常细胞的表面也具有较高的电荷密度。例如胚胎细胞、赘生细胞以及再生和增生组织的细胞等。因此,这些作者否认具有较高的表面负电荷是癌细胞的特性,而仅认为与细胞的一般增生过程有关。为了验证这一看法,Fuhrmann等比较了大鼠正常增生的肝细胞和腹水肝癌细胞经神经氨酸酶处理前后的电泳率变化情况,结果表明,正常增生的肝细胞经处理后,其电泳率无明显变化,而腹水肝癌细胞则相反,经处理后,其电泳率发生明显的变化,即比处理前降低了50%左右。此外,作者在小白鼠艾氏腹水癌细胞以及HeLa细胞上,亦观察到了类似结果。对人类的正常细胞和癌细胞的电泳率研究结果表明,上皮癌细胞的电泳率并不明显地高于同类正常细胞的电泳率,与此同时,间质瘤细胞却显示出比癌细胞还高的电泳率,而且在神经氨酸酶的作用下,其电泳率的变化亦更为明显。也有人对人类的HeLa细胞的电泳率与人类的羊膜细胞以及甲状腺细胞的电泳率以及它们在神经氨酸酶作用下的变化,进行了比较。结果表明,它们之间在电泳率上

虽无明显差异,但是在对神经氨酸酶的反应上,却有着明显差异,即 HeLa 细胞在神经氨酸酶的作用下,其电泳率的降低更为显著。

从上述事实中可以看出,尽管某些正常细胞(例如胚胎细胞等)的细胞表面具有更高的电荷密度,而某些癌细胞(例如 HeLa 细胞等上皮癌细胞)又可具有与同类正常细胞大体相同的电泳率,但是,经化学或酶处理后从它们的电泳率变化情况看来,癌细胞和正常细胞之间还是有明显差异的。当然,这一差异不是表现在细胞表面所带电荷的数量上,而是表现在细胞表面电荷的来源上,即决定于细胞表面电荷的表面组分及其带电基团的不同上。最近,寺崎武夫研究了胰蛋白酶对小鼠的红细胞和艾氏腹水癌细胞的电泳率的影响,结果表明,艾氏腹水癌细胞在胰蛋白酶的低浓度溶液(即 3×10^{-4} 毫升/毫克)中,其电泳率发生明显变化,而正常红细胞只是在胰蛋白酶的高浓度溶液(即 3×10^{-3} 毫升/毫克)中,其电泳率才开始发生明显变化。据此,作者认为,癌细胞和正常细胞对胰蛋白酶的敏感度的不同反映了它们的表面组分和分子结构的不同。还有一些实验表明,细胞表面组分和分子结构的不同亦见于癌细胞之间。例如, Kojima 等发现,涎酸酶能使大鼠腹水型肝癌细胞的电泳率发生明显的变化,但对大鼠实体型肝癌细胞却无此作用;与此同时,硫酸软骨素酶则相反,能引起大鼠实体型肝癌细胞的电泳率发生明显变化,但对大鼠腹水型肝癌细胞的电泳率却无明显影响。这些实验表明,腹水型肝癌细胞和实体型肝癌细胞的表面电荷的组分及其带电基团是不相同的:对于腹水型肝癌细胞来讲,决定其表面电荷的组分是涎酸;而对于实体型肝癌细胞来讲,则是硫酸软骨素。

鉴于某些癌细胞(例如艾氏腹水癌细胞、HeLa 细胞、大鼠腹水癌细胞 TA-3、人的支气管癌细胞等)的电泳率对涎酸酶的作用十分敏感,并且发现它们的表面均含较多的涎酸,因此, Gasic 提出癌细胞表面带有比正常细胞更多的负电荷,这与癌细胞表面比正常细胞有更多的涎酸,从而在血浆中电离出更多的带电基团

(羧基等)有关。

关于癌细胞表面的涎酸组分的功能, Sanford 认为细胞表面的涎酸以及由它产生的细胞表面的较高负电荷具有遮蔽癌细胞表面的抗原的作用,使其免于被宿主的免疫力破坏; Bagshawe 用一系列化学方法或酶处理癌细胞,结果指出,从癌细胞表面除去涎酸组分,可减少 TA-3 腹水型癌细胞的扩散和转移,使原是处于被遮蔽状态的抗原暴露出来,从而提高肿瘤特异性抗原的强度并加强机体对癌细胞的免疫反应; Gasic 推测作为涎酸来源的糖组分是以多糖链的结构形式存在于细胞表面上,其末端残基在附近的带电基团的作用下而引起一定范围内的变动,这就形成了癌细胞表面的抗原决定簇。

3. 在免疫学研究方面的应用

早在 1921 年, Coulter 就应用细胞电泳技术研究了抗体-抗原反应过程中细胞表面电荷密度的变化,结果发现红细胞经抗体作用之后,其电泳率明显降低。以后, Sachtleben 等用同一生物材料,亦获得了类似结果。最近,蔚田等在体外实验方面,用抗豚鼠红细胞的兔血清作用于豚鼠的红细胞,观察到豚鼠红细胞的电泳率明显降低,而且在红细胞数量恒定的条件下,致敏红细胞电泳率的降低数值与抗体量呈一定的平行关系;在体内实验方面,将家兔抗血清注入豚鼠腹腔内,引起免疫性溶血性贫血,并同时伴有豚鼠红细胞电泳率的明显降低。临床方面,对 18 例(男 8 例,女 10 例)温性抗体型自体免疫性溶血性贫血患者的观察结果表明,患者的红细胞电泳率明显地低于健康人。其中有些患者经肾上腺皮质激素的治疗,随着抗人体球蛋白试验的逐步转阴性以及溶血像、Ht 等的明显改善,其红细胞的电泳率亦逐步接近于正常值。这表明红细胞电泳率的变化不仅对该病的诊断,而且对判断该病的药物疗效均有一定意义。

在细胞免疫方面最近有些人成功地将细胞电泳技术应用于人类肿瘤共同抗原的研究以及人类肿瘤细胞免疫学的早期诊断中。近年来, Field 等从人类的大脑或外周坐骨神经中提取出一种碱基蛋白,即所谓“脑源因子”。他们认为这

种“脑源因子”是人类肿瘤的一个共同抗原。在体外实验中,他们将这种共同抗原加入到含有从肿瘤患者的外周血液中分离出的淋巴细胞以及从豚鼠腹水中分离出的巨噬细胞的培养液中,经过40分钟的培养,测定豚鼠巨噬细胞的电泳率,结果发现它的电泳率明显变慢。这是由于肿瘤患者的淋巴细胞表面的受体与其相应的共同抗原发生细胞免疫反应时,淋巴细胞本身释放出一种物质,它可降低豚鼠巨噬细胞的表面电荷而致。他们称这种物质为“巨噬细胞电泳变慢因子”。如将肿瘤患者的淋巴细胞换为健康人或非肿瘤患者(除少数神经实质性损伤患者之外)的淋巴细胞,则豚鼠巨噬细胞的电泳率无明显变化。这是因为健康人或非肿瘤患者的淋巴细胞表面不存在专与肿瘤共同抗原发生反应的受体的缘故。Field等人的这一工作结果发表之后,迅速地得到了其它实验室的证实。例如,Pritchard等对48例肿瘤患者和27例健康人进行同样的研究表明,豚鼠巨噬细胞的电泳率在48例肿瘤患者的实验组内,其变慢率在13—29%之间,而在27例健康人的对照组内,其变慢率不超过3.4%。最近,Field等又发现从肿瘤组织中提取出的碱基蛋白(即肿瘤的共同抗原)与健康人的大脑或坐骨神经中以及肿瘤周围组织中提取出的碱基蛋白相比,前者对肿瘤病人的淋巴细胞具有更强的作用,而对神经实质性患者的淋巴细胞则相反,它不起任何作用。这样,不仅进一步提高了肿瘤诊断的有效率,同时亦最大限度地降低了假阳性率。总之,这项工作如能得到进一步证实,实验方法和步骤如能得到进一步简化,尤其是病人的采血量现为15毫升如能有所减少,无疑将为临床医学提供一个可靠而灵敏的肿瘤细胞免疫学诊断方法。

新近,我们与华山医院神经病研究室,应用上述自制的简便、微量细胞电泳装置,使病人的采血量减少至5毫升,并从恶性脑胶质瘤组织中提取碱基蛋白作为肿瘤的“共同抗原”,测定了35例肿瘤病人(其中肺癌脑转移等全身性恶性肿瘤7例、髓母细胞瘤等恶性脑瘤10例和脑膜瘤等良性脑瘤18例)、7例非肿瘤病人和18

例正常人的外周淋巴细胞对豚鼠巨噬细胞电泳速度的致缓作用。初步结果表明:7例全身性恶性肿瘤病人均显示出明显的致缓作用,其致缓率为14.6%—27.0%,平均为20.1%;10例恶性脑瘤病人9例明显致缓,1例缓解病例轻度致缓,致缓率为6.0%~39.1%,平均为23.8%;18例良性脑瘤,16例有明显致缓作用,占88.8%,对良性肿瘤的假阳性提示,从脑恶性胶质瘤组织中提取的碱基蛋白可能与从正常人脑组织中提取的基本类同;7例非肿瘤病人,6例未显示出明显的致缓作用,1例脑脓疡出现假阳性;18例正常人,除1例72岁老妇外,其余17例均不具有明显的致缓作用,致缓率仅在4.5%—3.6%(双步温培法),平均为1.8%。

4. 在其它方面的应用

在微生物方面,细胞电泳技术(尤其是与化学或酶处理方法结合应用)可提供某些药物、抗菌素和消毒剂等对细菌的表面组成、结构和功能的影响的资料;可用于分析某些外源物质(例如抗血清等)在细菌表面上的吸附作用;以及由于细菌的粗糙型“R”菌落变体与相应的光滑型“S”菌落变体之间在电泳率上的差异,亦有助于检出细菌群体的不均匀性和鉴定细菌的变异。

在病毒方面,细胞电泳技术可用来研究病毒与感染细胞的表面结构和功能变化的关系;了解病毒与感染细胞上的特异性受体的结合;探测特异性受体的分子结构上的特点以及鉴定病毒颗粒(例如流行性感冒病毒颗粒)的血球凝活性。

在放射生物学方面,细胞电泳技术对于研究电离辐射所引起的细胞表面的细微结构的破坏、细胞表面上的酶系统的失活和细胞内钾离子的外溢以及存在于细胞表面上的一些活性化学基团的氧化,尤其是对于了解巯基(—SH)和氨基(—NH₂)对机体放射敏感性和放射损伤中的作用,都是一个重要工具。

最后,在血液学方面,细胞电泳技术除用于研究血液的各种有形成分(红细胞、白细胞等)的电泳率及其在各种生理、病理条件下的变化

外,尚广泛地用来探讨在止血和血栓形成中起着重大作用的血小板的表面电荷和表面分子结构与血小板的粘附和凝集的关系;了解各种物理因素、各种化学物质和药物、代谢抑制剂和代谢产物等对血小板的表面电荷和表面分子结构的影响,以及阐明存在于血小板表面上的各种活性化学基团,其中主要是巯基($-SH$)和磷酸基($-OPO_3 H^-$)在血小板的粘附和凝集中的作用。

结 束 语

综上所述,近十余年来,由于深入研究细胞表面的结构和功能的需要,细胞电泳不论在测量装置和测定方法的改进及其应用范围的扩大方面,均取得了较快的进展。目前,它已开始深入到生物学和医学研究的更多领域中,成为从分子水平上探讨细胞表面在各种生命活动中的作用的有力武器。

由于细胞电泳技术能够使细胞处于完整无损的自然状态下进行研究,而且可在正常状态和病理状态以及机体的免疫状态下对细胞作出鉴定,从而来诊断疾病和判断药物的疗效,这就

为细胞电泳技术在医学临床中的应用开辟了广阔的前景。但是,直到目前为止,细胞电泳技术在应用上,尚局限于一般生物学的实验研究上,在医学临床中的应用尚不够广泛,仅处于开始的阶段。这主要是由于细胞电泳的测量装置比较复杂、制作比较困难、样品用量大、影响因素比较多、操作比较烦、不易掌握以及数据分析复杂费时的缘故。由此可见,进一步改进细胞电泳技术的测量装置和测定方法,使它成为诊断和防治疾病以及病因学研究的有力工具,也是促使生物物理学密切结合医学临床实践的一个重要方面,同时也是摆在生物物理工作者以及临床工作者面前的一项重要任务。

参 考 资 料

- [1] Тарусов, В. Н.: *Практикум по общ. биофизике*, 1, 1959.
- [2] Piper, W.: *Acta Haemat.*, 18, 414, 1957.
- [3] Eylar, E. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 237, 1962, 1962.
- [4] Seaman, G. V. F.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 100, 493, 1963.

[本文于 1974 年 11 月 1 日收到]

(上接第 28 页)

能做进一步的分析。本文用 HA 柱层析直接分离大肠杆菌溶菌物,不但能获得较纯的 DNA,而且分离开来的 RNA 及蛋白质还可以进行测定及进一步的分析。例如不同浓度 KPB 洗脱峰的蛋白质经透析浓缩后可以进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,便于研究各种蛋白质与 DNA 的亲合程度,与 DNA 复制的关系等。此外,从放射性同位素标记前体培养的细菌中可以分离获得放射性标记的 DNA。如用放射性同位素标记的 RNA 或蛋白质前体培养细菌,亦能分

离出放射性标记的 RNA 或蛋白质。对于进行 DNA 复制的调节控制研究提供了有利条件。有关这方面的工作正在进行中。

参 考 资 料

- [1] Richards, G. M.: *Anal. Biochem.*, 57, 369—376, 1974.
- [2] Schneider, W. C.: *Methods in Enzymology*, 3, 680—681, 1957.
- [3] Mejbbaum, M.: *Z. Physiol. Chem.*, 258, 117, 1939.
- [4] Lowry, O. H., et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275, 1951.

[本文于 1975 年 3 月 29 日收到]

(上接第 30 页)

(如结构蛋白等)与细胞核、细胞质的合成产物得以迅速起作用。换言之,延伸结构的末端可能象是一个“船坞”,在这里通过核-质-线粒体

系统的协同作用,逐步装配成一个新的线粒体。这种假说还需通过生物化学、细胞化学等方面的研究加以验证。