

周期改变而波动。在 S 期,酶 I 活力最高,而酶 II 活力明显降低;而在 G1 期则酶 II 活力明显增高,酶 I 活力下降。有些报道认为肿瘤细胞与正常细胞相比,蛋白激酶 I 活力无明显变化,而蛋白激酶 II 活力显著降低。我们实验表明 L 615 白血病小鼠脾内蛋白激酶活力明显降低,但这是否与蛋白激酶 II 活力降低有关,尚待研究。

参 考 文 献

- [1] Anderson, W. B. et al.: *Adv. Cyclic Nucleotides Res.*, 5, 681, 1975.
- [2] Krebs, E. G.: *Curr. Top. Cell Regul.*, 5, 99, 1972.
- [3] Cho-Chung, Y. S.: *Influence of Hormones on Tumor Development* (Kellen, J. A. et al. eds),

- Vol. 1, p. 56, CRC Press, Cleveland.
- [4] John, E. W.: *Biochem. J.*, 92, 55, 1964.
- [5] Corbin, J. D. et al.: *J. Biol. Chem.*, 218, 1813, 1973.
- [6] Lowry, O. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.
- [7] Cho-Chung, Y. S.: *J. Cyclic Nucleotides Res.*, 6, 163, 1980.
- [8] Majumder, G. C. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 74, 1140, 1977.
- [9] Ortez, R. A. et al.: *J. Cyclic Nucleotides Res.*, 4, 87, 1978.
- [10] Fossberg, T. M. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 187, 372, 1978.
- [11] Malkinson, A. M. et al.: *Biochem. J.*, 168, 319, 1977.
- [12] Costa, M. et al.: *J. Biol. Chem.*, 251, 3313, 1976.

[本文于 1984 年 12 月 20 日收到]

植物生长激素的细胞凝集效应

聂延富 董今才 唐盘昌

(山东大学微生物研究所, 济南)

凝集素的发现已近 100 年。最初 H. Stillmark 发现蓖麻籽提取液可使红细胞凝聚。后来发现不但在植物种子中,而且在植物的其他部位如马铃薯块茎、番茄汁、延命菊叶子、某些葫芦科植物的韧皮部以及病毒、细菌、真菌、无脊椎动物和脊椎动物各类组织如兔肝,小鼠腺胸、牛肺、人肝中都含有凝集素,其中以豆科植物凝集素的含量最丰富,如大豆、刀豆蛋白质中凝集素占 1.5—3%^[1,2]。

凝集素能凝集红血球、淋巴细胞、成纤维细胞、癌细胞、精子和细菌,有的还有清除血中糖蛋白,促细胞分裂,免疫和毒性等作用^[1,2]。鉴于豆科植物凝集素含量高、分布面广,并能凝集、识别根瘤菌^[3]使其便于侵入根部促进细胞分裂形成根瘤;而 2,4-D 也能凝集、诱导根瘤菌使其侵入由 2,4-D 促细胞分裂形成的根瘤原基中,在小麦等植物上结根瘤^[4]。从而想到 2,4-D 是否兼具凝集素的作用。一般凝集素多由生物体中提取,而人工合成的激素很少引起人们的注意,而我们初步发现经 2,4-D 处理后的根表面附着的根瘤菌远比未处理的对照组多而难冲洗掉,而且 2,4-D 还可以使根瘤菌分散的菌体凝集。为了进一步确证其凝集效应,我们选用了动物细胞进行实验,并比较了 2,4-D 与抗血

清、PEG 等的凝集作用。

材 料 与 方 法

一、材料

1. PEG、NAA 和 2,4-D (均为国产试剂)溶液的配制 一般认为 PEG 分子量为 400—6000,浓度由 40—60% 时,可使细胞融合^[6]。悬浮细胞的融合率为 6%,单层细胞为 10—20%。PEG 6000 毒性小,但浓度大于 50% 时毒性增大,可损伤细胞膜^[6]。为了与 NAA 和 2,4-D 作比较,三者的浓度均采用 0.5%。但 NAA、2,4-D 难溶于水,用生理盐水配好的 5% 溶液,经加热灭菌后,仍有大量沉淀,故实际为饱和溶液。PEG 亦用生理盐水配制、灭菌。冷却后在室温下使用。

2. S-180 腹水瘤细胞抗血清的制备 为了观察 NAA 和 2,4-D 对小鼠 S-180 腹水瘤有无疗效,用抗血清进行比较。抗原取自用致死量瘤细胞攻击后七天的小白鼠腹水,用生理盐

表1 试验分组表

反应物 \ 组别	对照组 (1)	抗血清组 (2)	NAA 组 (3)	2,4-D 组 (4)	PEG 组 (5)	抗血清组 II (6)
癌细胞	✓	✓	✓	✓	✓	✓
生理盐水	✓	✓	—	—	—	✓
抗血清	—	✓	—	—	—	✓
NAA	—	—	✓	—	—	—
2,4-D	—	—	—	✓	—	—
Peg	—	—	—	—	✓	—
血细胞(或血液)	✓	✓	✓	✓	✓	—

注:“✓”表示加入的反应物;“—”不加反应物;(2)组反应液体积为 4 ml,其他组为 3 ml,反应物浓度不尽相同,NAA,2,4-D 虽均为饱和溶液。(2),(5),(6)三组只是参考性的,主要是(1),(3),(4)三组。

水稀释一倍,按常规法^[5]免疫加里弗里亚等白色家兔,制得的抗血清,用长凝集试验(即二倍法试管凝集试验)稀释法测得其滴度为 400 左右。

3. 癌细胞与血细胞来源 小鼠 S-180 腹水细胞取自山东医科所被瘤细胞攻击后 4—7 天不含血液的腹水细胞。血细胞取自同一小鼠尾端或健康小鼠尾端的血和带血的 S-180 腹水瘤细胞,均经低速生理盐水洗涤离心,按 1:1 用灭菌生理盐水制成悬浮液使用,试验均经多次重复,并各设相应的对照。

二、方法

分别在(1)→(6)支灭菌小试管中,按上表依次加入反应物(加入的量均为一体积)。本身带血的瘤细胞只加一个体积的量。因结果相同,不再列表。

反应物加完后,在 25—30℃ 时,充分振摇。然后各取两滴加到载玻片上,继续摇动载玻片待肉眼看到有明显凝集块时,再加盖玻片并从其侧边加入酚酞蓝,用相差显微镜观察、照相。全部过程要在半小时内完成。

结果与讨论

一、2,4-D 与抗血清、PEG、NAA 凝集作用比较

对照组无论加入瘤细胞与血细胞或瘤细胞与血液均无任何凝集现象。在小鼠晚期带血的 S-180 腹水瘤抽出液中,加或不加生理盐水稀释,均未见有任何凝集现象,说明上述体系中无

细胞凝集物质。加抗血清者,由于抗原中除瘤细胞外还加有血细胞,因此由家兔制得的抗血清中含有两者相应抗体,但血细胞凝集后很快解体,只能看到瘤细胞凝集,个别血细胞也有进入瘤细胞者。PEG 和 NAA 的瘤细胞凝集和血细胞凝集现象不及 2,4-D 明显,但三者均能使瘤细胞吸附血细胞,并将血细胞吸入瘤细胞内,引起瘤细胞变形、膨大、解体,死亡。以上过程基本相似,而以 2,4-D 最为明显。至于对瘤细胞的凝集作用则与抗血清相似。但因对血球也有强的凝集作用,因此用于癌瘤的治疗试验有一定局限性(见图 1,2,3,4,5,及其说明,封 2)。

二、2,4-D 与 ConA 和大豆凝集素 Lectin 的作用比较:

ConA 能与瘤细胞膜表面糖类特异受体结合出现凝集现象,而对相同类型的正常细胞无此现象,这与瘤细胞无休止的分裂特性有关,由于瘤细胞的纺锤体比正常细胞形成得早,核的分裂准备跟不上,因而出现了多倍体等异常分裂细胞^[8]。

另外,豆科植物中凝集素含量很高,大豆中的凝集素能吸附和识别大豆互接族的根瘤菌,为其侵入根内在多倍体细胞内繁殖,形成根瘤创造条件^[9]。

2,4-D 是人工合成的外源植物激素,其作用比内源植物激素强 100 倍,2,4-D 可使植物形成多倍体^[10,11],诱导根瘤菌在小麦等植物上结根瘤^[11]。2,4-D 能激活和刺激已分化的细胞脱分

化,使核酸合成酶和纤维素等酶类的活性提高^[1],引起愈伤组织、多倍体细胞的形成、细胞壁纤维结构松散,可塑性增强、软化,使根瘤菌由变形根毛、根表层细胞和细胞间隙侵入根细胞,到更高倍的多倍体细胞中繁殖并促其分裂,为形成根瘤创造条件。此外还可能兼有大豆凝集素那样的凝集和识别根瘤菌的类似作用和 PEG 的细胞融合作用。

最近试验证明 2,4-D 不但能使瘤细胞,血细胞凝集而且可以使属于不同互接族的根瘤菌细胞凝集,并能使瘤细胞吸附并吞进血细胞,但是否为融合尚待进一步证明。而从吞入后瘤细胞死亡来看,显然与融合,胞饮及真正吞噬作用有别;与一般凝集素的作用也不一样。一般凝集素分子量大,2,4-D 是小分子而且不含糖和蛋白;一般凝集素的细胞凝集作用可被其相应的半抗体抑制,2,4-D 是否也有此特点有待证明。但从 ConA 不凝集正常细胞等现象来分析,2,4-D 的凝集作用可能与一般凝集素有不同的机理。

三、一般凝集素与 2,4-D 作用的某些相似点
凝集素分水溶的和膜上的两类,有促进淋巴细胞有丝分裂,介导细胞间粘着,使细胞识别外界物质等作用,这些作用都是基于糖专一性方面

的^[2]。2,4-D 显然没有这种糖结构的基础,但它也有凝集血细胞、瘤细胞、介导细胞与血细胞粘着(吸附),促进细胞分裂,形成多倍体细胞,凝集和识别某些细菌等类似一般凝集素的作用,以及类似细胞融合的作用,因此在植物激素与动、植物凝集素,以及细胞融合剂和抗血清的抗体抗原等的凝集作用之间,有何联系和机制上的本质区别,似均有深入探讨之必要。

参 考 文 献

- [1] 孙册:《生物化学与生物物理进展》1, 55, 1983.
- [2] 孙册:《生物化学与生物物理进展》3, 15, 1981.
- [3] Nutmann, P. S., 《豆类—根瘤菌的共生关系及其农业利用》,上海科学技术编译馆,102, 1965.
- [4] 聂延富,《自然杂志》5, 326, 1983.
- [5] 耿欣莲等,《兰州大学学报》(自然科学版),18(3), 81, 1982.
- [6] J. M. 劳森特著,上海植物生理研究所固氮研究室译,《根瘤菌实用研究手册》,上海人民出版社,25, 1973.
- [7] 武田胜男著,曹全金等译《癌的秘密》,江西人民出版社,140, 1981.
- [8] 中国科学院动物研究所细胞室编:《细胞》,科学出版社,137, 153, 1978.
- [9] 蒂曼著,陆定安译《细菌的生活》,科学出版社,246, 1966.
- [10] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室编译,《植物组织和细胞培养》,上海科学技术出版社,137, 1978.
- [11] 罗士韦等编:《植物激素》,上海科学技术出版社,1, 1963.

[本文于 1984 年 9 月 15 日收到]

(上接第74页)

程度可直接影响电位响应的线性。同时还发现空白电位有漂移现象,有待进一步解决。

在本工作开始之后,我们相继查到 Solsky^[4]和山本^[5]的研究报告。我们的实验结果与他们基本相同。实验结果证实抗体、抗原在电极表面相互作用能够引起电极电位的变化,并且电极电位的变化与溶液中相对应的配体浓度成正比。以往人们根据蛋白质在电场中移动的现象,发展了蛋白质电泳技术。蛋白质等生物大分子在电极表面相互作用的电化学性质,正在引起人们的关注。

免疫电极的发展不仅为免疫测定创造了一个快速方法,而且它能把抗体、抗原相互作用引起的化学变化转变成电信号,为免疫测定自动

化奠定了基础。

致谢: 中国医学科学院基础医学研究所王世中教授、第二军医大学微生物教研室叶天星教授、北京军区军事医学研究所郭时钦所长给予指导;河北医学院苏美昆、张荫芳、魏淑珍同志给予协作;北京军区军医学校张立、何文洲等同志参加部分工作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 黄德培等:《离子选择电极原理及应用》,第一版,新时代出版社,北京,1982年.
- [2] Mosbach, K.: *Methods in Enzymology* Vol. XLIV, Academic Press, New York, San Francisco, London, 579—618, 1976.
- [3] Rechnitz, G. A.: *Chemistry and Engineering News*, Jan. 27, 1975, 29—35.
- [4] Solsky, R. L. et al.: *Science*, 204, 1309, 1979.
- [5] Yamamoto, N. et al.: *Clin Chem.*, 26(11), 1569, 1980.
- [6] Hornby, W. E. et al.: *FEBS LETTERS*, 9(1), 8, 1970.

[本文于 1984 年 1 月 20 日收到]