

与地理生态条件、光照、管理等因素改变有关，它有利于植物体内合成活性成分。为获得较高含量的福斯可林，充分利用这一自然资源，造福人类，改良和培育毛喉鞘蕊花新品种，是一条行之有效的途径。

本工作色谱分析得到北京大学化学系黄爱今副教授的协助，本所张一芳同志绘图，在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Bhat S V *et al.* *Tetrahedron Letters*, 1977; 19: 1669
- 2 Noel J de Souza, *et al.* *Chem Wkly*, 1989; March 7, 34(26): 70
- 3 Noel J de Souza *et al.* *Medicinal Research Reviews*, 1983; 3(2): 201
- 4 Nippon Kayaku Co. *Jpn Chem Week*, 1989; March 2, 30(1507), 4
- 5 Filash, K Agarwal C. Robert E Parks. *Int J Cancer*, 1983; 32: 801
- 6 Agarwal Kailash *et al.* *Thromb Haemostasis*, 1989; 61(1): 106
- 7 Caprioli Joseph *et al.* *J Ocul Pharmacol*, 1989; 5(3): 181
- 8 Rupp R H *et al.* *Proceedings of the international symposium on forskolin: Its chemical, biological and medical potential*. 1985: 1—191
- 9 Mark E Goldman *et al.* *Life Sciences*, 1988; 42: 1307
- 10 HO R J, Sutherland E W. *Proc Natl Acad Sci*, 1975; 72: 1773
- 11 Gilman A G. *Cell*. 1984; 36: 577

人低分子肿瘤抑制物对 HL-60 细胞膜磷脂分子的作用

魏启胜 孙存普 丛建波 吴祖泽

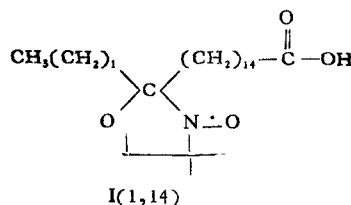
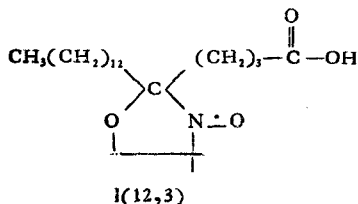
(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

关键词 人胎脑上清液, 低分子肿瘤抑制物, 脂肪酸自旋标记物, 电子自旋共振 (ESR) 波谱

胎儿脑组织中存在一种天然的低分子肿瘤抑制物, 这种抑制物可以选择性地抑制人和小鼠白血病细胞系, 而对正常人和小鼠的造血细胞影响较小^[1]。低分子肿瘤抑制物抑制肿瘤的首要条件是要与细胞膜接触, 这种接触是否会影响细胞膜的结构与功能, 进而抑制细胞的生长, 尚不清楚。为了分析抑制物的作用机理, 本文以 HL-60 作为靶细胞, 用电子自旋标记方法, 在 ESR 波谱仪上分别测定了胎脑上清液对细胞膜深、浅层磷脂分子的作用。

1 材 料 和 方 法

1.1 脂肪酸自旋标记物 I(12,3) 和 I(1,14) 均 购自美国 Aldrich 公司, 分子式分别为:



1.2 人胎脑低分子上清液的制备 孕龄 4—5 个月水囊引产的胎儿, 取出全脑组织, 用组织粉碎器制成匀浆, 按 20% (W/V) 的比例浸于双蒸水中, 于 4℃ 冰箱内放置 24h, 9600r/min 离心 20min, 分离出的上清液经滤膜 (MW = 10000) 超滤后, 取分子量小于 10000 道尔顿组分, 冰冻干燥, 即为冻干的低分子胎脑上清液 (FBS)。

1.3 人早幼粒白血病细胞系 (HL-60) 细胞的体外琼脂培养 在每个直径 30mm 的平皿中加入 1ml 由 RP MI-1640 培养液组成的培养体系, 其中含 30% 小牛血清, 0.2% 琼脂和适量的 HL-60 细胞, 置于 37℃,

含 5% CO_2 的空气和饱和湿度的二氧化碳孵箱内培养, 10 天后计数由多于 50 个 HL-60 细胞组成的集落数。

1.4 脂肪酸自旋标记物标记 HL-60 细胞膜及电子自旋共振(ESR)波谱的测定: 取传代 HL-60 细胞, 置于含 15% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 细胞浓度调至 $10^5/\text{ml}$, 处理组细胞悬液中加入不同浓度的 FBS, 对照组加入等量生理盐水, 经 37°C 培养 24h 后, 各组分别取 10^6 个细胞, 移至离心管中, $1500\text{r}/\text{min}$ 离心 5min, 弃上清, 每管中分别加入脂肪酸标记物 I(12, 3) 或 I(1, 14) 0.1ml ($10^{-3}\text{mol}/\text{L}$), 用 Tris-HCl (pH 7.4) 补充至 1ml (标记物终浓度为 $10^{-4}\text{mol}/\text{L}$), 充分分散细胞后, 置于 37°C 保温半小时, 离心弃上清。用 Tris-HCl 缓冲液洗涤三次后测定上清液中无标记物信号, 将标记好的细胞吸入石英毛细管中, 用 Bruker-ESP 300 型自旋共振波谱仪测定 ESR 波谱。微波功率: 10mW ; 扫场宽: 10mT ; 调制频率: 25kHz ; 调制幅度: 0.1mT 。

2 结果与讨论

2.1 体外培养条件下, FBS 对 HL-60 细胞生长的影响

我们以往的实验结果表明, 在体外培养条件下, 培养体系中加入一定量的 FBS, 培养 4d 后, HL-60 细胞的生长趋于停滞^[2]。为了探讨 FBS 对肿瘤细胞膜的作用, 我们将培养时间缩短为 24h, 从图 1 可见, 加入不同浓度的 FBS, HL-60 细胞总数与对照组相比未见

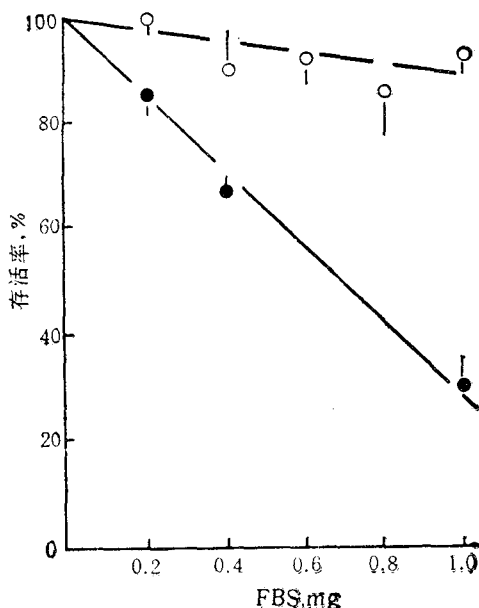


图 1 体外培养条件下, FBS 对 HL-60 细胞生长及集落生成能力的抑制作用

○—○: HL-60 细胞数
●—●: HL-60 细胞集落数 平均数±标准误

明显下降, 而存活细胞的克隆形成能力则随剂量的增加而明显降低, 说明经与 FBS 共同孵育 24h 后, 虽然 HL-60 细胞仍然存活, 但细胞的生物学功能已经受到了抑制。

2.2 FBS 对 HL-60 细胞膜脂流动性的影响

本文采用的脂肪酸自旋标记物 I(12, 3) 和 I(1, 14) 可分别插入细胞膜磷脂的浅、深层里, 自旋标记化合物的运动状态可以反映细胞膜脂质双层脂肪链的结构和运动行为。根据标记物分子中氮氧自由基的 ESR 波谱参数计算序参数和旋转相关时间, 计算公式参见文献^[3]。

图 2.3 表示用 I(12, 3) 和 I(1, 14) 标记的 HL-60 细胞膜及用 FBS 处理后的 ESR 波谱。



图 2 用脂肪酸自旋标记物 I(12, 3) 标记的 HL-60 细胞的 ESR 波谱

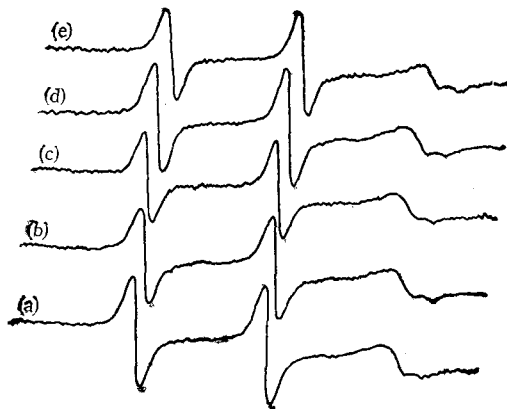


图 3 用脂肪酸自旋标记物 I(1, 14) 标记的 HL-60 细胞及用 FBS 处理后的 ESR 波谱

a: HL-60 + 0.2ml 生理盐水,
b: HL-60 + FBS 0.4mg/ml
c: HL-60 + FBS 0.6mg/ml
d: HL-60 + FBS 0.8mg/ml
e: HL-60 + FBS 1.0mg/ml

表 1, 2 分别列出了标记的 HL-60 细胞膜及 FBS 处理后的 ESR 波谱参数。

从表 1, 2 可见, HL-60 细胞膜脂序参数, 靠近极性端的浅层较大, 膜流动性较小; 而细胞膜深层较小, 膜流动性较大, 这与在中国地鼠肺细胞上测得结果相

表 1 脂肪酸自旋标记物 I(12,3) 标记的 HL-60 细胞及 FBS 处理后的 ESR 波谱参数

波谱参数	对 照 组	FBS 处理组 mg/ml				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
$A_{\max}^{1)}$	5.3320	5.2675	5.3406	5.3105	5.2890	5.4610
	5.2890	5.4180	5.3320	5.3320	5.5900	5.3965
$A_{\min}^{1)}$	1.8705	1.8275	1.8404	1.8490	1.8275	1.8490
	1.8490	1.8146	1.8090	1.8090	1.7451	1.8490
S	0.599	0.615	0.610	0.603	0.608	0.622
	0.600	0.628	0.619	0.619	0.674	0.614

1) $A_{\max}$, $A_{\min}$ 单位为 mT.

表 2 脂肪酸自旋标记物 I(1,14) 标记的 HL-60 细胞及 FBS 处理后的 ESR 波谱参数

波谱参数	对 照 组	FBS 处理组 mg/ml				
		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
$A_{\max}^{1)}$	3.2336	3.2293	3.2035	3.2250	3.2250	3.2551
	3.1906	3.1820	3.2207	3.2035	3.2164	3.1820
$A_{\min}^{1)}$	2.5456	2.5370	2.5585	2.5714	2.5800	2.5800
	2.4983	2.5585	2.5800	2.5595	2.5595	2.5370
S	0.0815	0.0826	0.0731	0.0743	0.0725	0.0782
	0.0837	0.0689	0.0800	0.0684	0.0755	0.0736
$\tau_c^{2)}$	17.06	13.69	16.28	13.79	13.34	14.47
	17.90	16.20	16.40	14.20	15.60	13.46

1) $A_{\max}$, $A_{\min}$ 单位为 mT, 2) τ_c 单位为 10^{-10} s.

似^[3]。当 HL-60 细胞经 FBS 处理后,浅层细胞膜脂序参数增加,深层膜脂序参数及旋转相关时间均减小,说明 FBS 作用于细胞膜,通过改变细胞膜磷脂分子的有序度,进而影响肿瘤细胞的生物功能。

人胚胎来源的低分子肿瘤抑制物是一种天然的生理性调节因子,分析表明,低分子肿瘤抑制物能够强烈地抑制 HL-60 细胞的 DNA 合成^[2]。以上的实验结果表明:在人胎脑低分子肿瘤抑制物与 HL-60 细胞的作用时间和浓度尚未达到杀灭肿瘤细胞的时候,已

对肿瘤细胞膜的结构有了明显的影响,提示低分子肿瘤抑制物通过影响肿瘤细胞膜的结构而抑制细胞生长,也是作用机制的一个重要方面。

参 考 文 献

- 1 Wei Qisheng, Wu Chutse. *Leukemia Res*, 1991; 15:25
- 2 Wu Chutse, Pei Xuetao, Cong Peijie. *Exp Hematol*, 1989; 17:304
- 3 Zhao Baolu, Zhang Qinggang, Zhang Jianzhong et al. *Kexue Tongbao*, 1983;28(3):392

国产临床诊断试剂用于自动生化分析仪的初步评价

李国君 沈文梅 王成彬 邓心新 蒋赐恩

(解放军总医院生化科,北京 100853)

关键词 临床诊断试剂,自动生化仪器分析

进口的自动生化分析仪一般都附有特定的配套试剂系统。为了能使国产试剂取代配套的国外试剂应用于该型仪器,我们经过反复研究、实验,先后成功地将 16 种国产试剂应用于日立 7150 自动生化分析仪,包括

终点法,如总蛋白 (TP)、白蛋白 (A1b)、总胆红素 (T-Bil)、直接胆红素 (D-Bil)、葡萄糖 (Glu)、肌酐 (Cr)、总胆固醇 (CH)、甘油三酯 (TG) 尿酸 (UA) 试剂,以及酶动力学法的谷丙转氨酶 (GPT)、