

于离体的牛皮癣表皮细胞,具有抑制其细胞增生的效能^[21]。

近年发现动脉壁平滑肌细胞的异常增生是引起冠心病的重要原因——动脉粥样硬化的主要发病环节之一。似着眼于冠心病的防治,已有人提取平滑肌细胞抑素,获得初步成功^[22]。

抑素的应用面可能很广,但在实际应用中,或需考虑体内除抑素等细胞分裂抑制因子外,还有“抗抑素”等多种细胞增殖因子的存在^[20]。而且分子量较大的异种蛋白质类抑素,有否引起过敏反应等作用亦值得考虑。

目前抑素研究尚处于初级阶段,极大多数抑素未完全提纯,很多实验是用抑素的粗提取液进行的,其所得的结论,还有待于进一步澄清或证实。

与蛋白质类相比,抑素为分子量较小的肽类,引起过敏反应等可能性较小,且比较稳定,若能完全提纯,搞清其分子结构,当有可能化学合成。

总之,抑素的研究对探讨细胞繁殖与分化的基本调节原理颇为重要;且其应用面可能很广,对解决抗癌治疗与器官移植等重大临床问题具有一定意义,虽然目前问题不少,仍是值得探索的一项课题。

参 考 文 献

[1] Aardal, N. P. et al.: *Virchows Arch. Abt. B Cell*

Pathol., **24**, 27, 1977.

[2] Lenfant, M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **451**, 126, 1976.

[3] Attallah, A. M. et al.: *Exp. Cell Res.*, **105**, 137, 1977.

[4] Houek, J. C. (ed.): *Chalones*, Natl. Cancer Inst. Monograph, No. 38, 1973.

[5] Houek, J. C. (ed.): *Chalones*, Elsevier, Amsterdam 1976.

[6] Sassier, P. & Bergeron, M.: *Cell Tissue Kinet.*, **10**, 223, 1977.

[7] Apeffel, C. A.: *Cancer Res.*, **36**, 1527, 1976.

[8] Rytömaa, T. & Kiviniemi, K.: *Nature*, **222**, 995, 1969.

[9] Rytömaa, T. & Kiviniemi, K.: *Nature*, **220**, 136, 1968.

[10] Rytömaa, T. et al.: *Scand. J. Haemat.*, Suppl. **27**, 1, 1976.

[11] Gross, S.: *Clin. Chem.*, **23**, 299, 1977.

[12] 王序:《化学通报》1974年,第5期,第286页。

[13] Gonzalez, R. & Verly, W. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **73**, 2196, 1976.

[14] Houek, J. C. et al.: *Science*, **196**, 896, 1977.

[15] Bichel, P. & Barford, N. M.: *Cell Tissue Kinet.*, **10**, 183, 1977.

[16] Houek, J. C. et al.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **56**, 899, 1976.

[17] 北京医学院生化教研组:《北京医学院学报》,1976年,第1期,第58页。

[18] 童坦君:《国外医学参考资料》肿瘤分册,1976年,第4期,第147页。

[19] Iverson, O. H. et al.: *Cell Tissue Kinet.*, **10**, 71, 1977.

[20] 北京医学院生物化学教研组与生物物理教研组:《北京市肿瘤防治研究资料》,1976年,第2期,第41页。

[21] Chopra, D. P. et al.: *Brit. J. Dermatol.*, **90**, 37, 1974.

[22] Janakidevi, K. et al.: *Fed. Proc.*, **35**, 208, 1976.

[本文于1979年5月21日收到]

激素-受体分子互相作用的 SCATCHARD 图的数学分析

罗 荣 生

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

在生物化学和分子生物学中,一个常常遇到的独特现象是某种配基分子和另一种特异的结合分子之间的互相作用。例如激素和受体结合、抗原和抗体结合、底物和酶结合、生物素和抗生物素蛋白结合、氧和血红蛋白结合、cAMP

和蛋白质激酶调节亚单位结合等。甚至更为复杂的基因调节蛋白质(例如乳糖阻遏物)同细胞基因组专一区域之间的结合也可以认为属于这一现象。这种互相作用可以用一个可逆的结合反应来描述:



这里, P 表示配基分子(激素、抗原、底物等), Q 表示结合分子(受体、抗体、酶等), PQ 表示二者的复合物。当这个反应达到平衡状态时, 由质量作用定律:

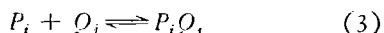
$$K = \frac{[PQ]}{[P] \cdot [Q]} \quad (2)$$

$[P]$, $[Q]$, $[PQ]$ 分别为平衡时游离态 P 、游离态 Q 和 PQ 的克分子浓度, K 称为耦合平衡常数, 是亲和力的指标。另一重要参数是结合分子 Q 上结合位点的浓度 q 。在特定的互相作用系统中, K 和 q 的值是常数。常用 Scatchard 图确定某一互相作用系统的参数。本文介绍 Scatchard 分析法的数学基础, 并以自己的工作, 孕酮-受体互相作用的实验数据加以说明。

一、数学模型

H. A. Feldman (1972) 和 Buller 等 (1976) 曾叙述了配基-高分子互相作用的基本数学理论。这种数学分析是在以下的假定条件下进行的: ① P 和 Q 是互相独立的, 而且不同的 P 之间(或 Q 之间)也是互相独立的; ② P 和 Q 之间的结合反应是等价的、可逆的、可达到平衡状态的, 不存在破坏平衡的因素; ③当采用放射性原子标记法以便准确地定量配基时, 标记 P 和未标记 P 的亲合力不变。

设反应系统中包含多种配基和多种结合位点, 一种配基可以同 $Q_1, Q_2, \dots, Q_m$ 等 m 种结合位点结合, 而一种结合位点又可以结合 $P_1, P_2, \dots, P_n$ 等 n 种配基, 每个反应均独立地达到平衡状态:



$$(i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots, m)$$

$$K_{ij} = \frac{[P_i Q_j]}{[P_i] \cdot [Q_j]} \quad (4)$$

配基 P_i 的总浓度应为游离态配基浓度 $[P_i]$ 和结合态配基浓度之和。

$$p_i = [P_i] + \sum_{j=1}^m [P_i Q_j] \quad (5)$$

同样地:

$$q_j = [Q_j] + \sum_{i=1}^n [P_i Q_j] \quad (6)$$

由 (4), (5) 二式,

$$p_i = [P_i] + \sum_{j=1}^m K_{ij} [P_i] [Q_j]$$

或

$$p_i = [P_i] \left(1 + \sum_{j=1}^m K_{ij} [Q_j] \right)$$

或

$$\frac{p_i}{[P_i]} = 1 + \sum_{j=1}^m K_{ij} [Q_j] \quad (7)$$

令一种配基 P_i 的结合态浓度与游离态浓度之比为 R_i , 即

$$R_i = \frac{p_i - [P_i]}{[P_i]}$$

从 (7) 式可推导出 R_i 的表达式为:

$$R_i = \sum_{j=1}^m K_{ij} [Q_j] \quad (8)$$

又由 (4), (6) 二式:

$$q_j = [Q_j] + \sum_{i=1}^n K_{ij} [P_i] [Q_j]$$

或

$$\frac{q_j}{[Q_j]} = 1 + \sum_{i=1}^n K_{ij} [P_i]$$

或

$$[Q_j] = \frac{q_j}{1 + \sum_{i=1}^n K_{ij} [P_i]} \quad (9)$$

将 (9) 式代入 (8) 式, 得

$$R_i = \sum_{j=1}^m \frac{K_{ij} q_j}{1 + \sum_{i=1}^n K_{ij} [P_i]} \quad (10)$$

方程式 (10) 反映了在复杂的配基-结合位点的反应平衡系统中, 配基在结合与游离两种状态之间的分布, 是我们作进一步数学推导的基础。

二、一种配基一种结合位点

一种配基一种结合位点的互相作用是常常遇到的最简单的情况。这时, $n = m = 1$, (10) 式简化成:

$$R = \frac{Kq}{1 + K[P]} \quad (11)$$

这里, R 是结合态配基浓度(设为 b) 与游离态

配基浓度 (设为 $[P]$) 的比值, 即 $R = \frac{b}{[P]}$, 因此 (11) 式又可改写成

$$R = Kq - Kb \quad (12)$$

如果以 b 为自变量, R 为应变量作图, 就是一条斜率为 $-K$, X 轴截距为 q , Y 轴截距为 Kq 的直线, 从而可以获得直线 Scatchard 图 (图 1)。因此, 根据实验数据作出的 $R \sim b$ 图, 可以很方便地得到平衡常数 K 和结合位点总浓度 q 。

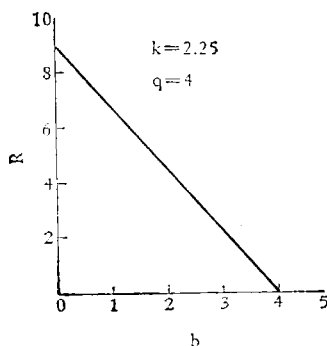


图 1 一种配基一种结合位点的理论 SCATCHARD 图

该直线负斜率等于耦合平衡常数 K , X -截距等于结合位点总浓度

三、一种配基两种结合位点

实验得到的 SCATCHARD 图有时会出现偏离直线的情况, 这一般可解释为存在不止一种配基或(和)不止一种结合位点。下面来分析一种配基, 两种结合位点的互相作用。这时, $n = 1, m = 2$, (10) 式的简化形式是:

$$R = \frac{K_1 q_1}{1 + K_1 [P]} + \frac{K_2 q_2}{1 + K_2 [P]}$$

代入 $[P] = \frac{b}{R}$ (由于同时存在两种结合位点 Q_1, Q_2 , 故 b 应为两种结合位点结合的配基的浓度之和, 即 $b = [PQ_1] + [PQ_2]$), 演算后可得:

$$K_1 K_2 b^2 + (K_1 + K_2) R b + R^2 - K_1 K_2 (q_1 + q_2) b - (K_1 q_1 + K_2 q_2) R = 0 \quad (13)$$

上式属于二元二次方程, 可用以下通式表示:

$$AX^2 + BXY + CY^2 + DX + EY + F = 0 \quad (14)$$

其中, $X = b, Y = R, A = K_1 K_2, B = K_1 + K_2, C = 1, D = -K_1 K_2 (q_1 + q_2), E = -K_1 q_1 - K_2 q_2, F = 0$ 。

它的两个判别式分别为:

$$\Delta = \begin{vmatrix} 2A & B & D \\ B & 2C & E \\ D & E & 2F \end{vmatrix} = 2K_1 K_2 (K_1^2 q_1^2 + K_1^2 q_1 q_2 + K_1^2 q_1 q_2 + K_2^2 q_2^2) \approx 0, \\ B^2 - 4AC = (K_1 - K_2)^2 > 0$$

由此可知, (13) 式应为双曲线, 其 Y 轴截距为 $K_1 q_1 + K_2 q_2$, X 轴截距为 $q_1 + q_2$ (见图 2)。如图所示, $K_1 q_1$ 和 q_1 代表一条渐近线的两轴截距, $K_2 q_2$ 和 q_2 代表另一条渐近线的两轴截距。

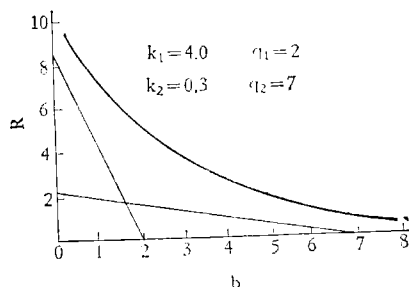


图 2 一种配基两种结合位点的理论 SCATCHARD 图

该曲线为双曲线, 渐近线的负斜率和 X -截距分别等于两种结合位点的耦合平衡常数和总浓度

重要的问题是, 怎样确定某个反应系统的参数 K_1, K_2, q_1, q_2 ? 当我们将观测值代入方程式 (13) 时, 就可以得到象 (14) 式那样的一系列二元二次方程式, 借助于电子计算机, 我们又可得到 A, B, D, E 的最佳配合值。这样, 结合作用的参数值就可按以下等式算出:

$$K_1 = \frac{1}{2} (B + \sqrt{B^2 - 4A})$$

$$K_2 = \frac{1}{2} (B - \sqrt{B^2 - 4A})$$

$$q_1 = \frac{-1}{2A \sqrt{B^2 - 4A}} (D \sqrt{B^2 - 4A} + 2AE - BD)$$

$$q_2 = \frac{-1}{2A \sqrt{B^2 - 4A}} (D \sqrt{B^2 - 4A} - 2AE + BD)$$

本文再介绍一种不需电子计算机也能颇为准确地得出结合参数的作图分析法,这是根据实验所得的双曲线在作图的基础上进行计算的方法。我们将双曲线向两端顺延,得到Y轴的截距,记为 γ ,以及X轴的截距,记为 δ 。此外,在双曲线两端处作两条渐近线,得到它们的斜率 $-\alpha, -\beta$ (参看图3)。令:

$$S = \frac{\delta}{\gamma} - \frac{1}{\beta}$$

$$T = \frac{\alpha}{\beta} + 1$$

$$U = \frac{\gamma}{\delta} - \alpha$$

则 K_1, K_2, q_1 和 q_2 的值分别为:

$$K_1 = \frac{-1}{2S} (T - \sqrt{T^2 - 4SU})$$

$$K_2 = \frac{-1}{2S} (T + \sqrt{T^2 - 4SU})$$

$$q_1 = \delta - \frac{\gamma - K_2\delta}{K_1 - K_2}$$

$$q_2 = \frac{\gamma - K_2\delta}{K_1 - K_2}$$

在 $\alpha \gg \frac{\gamma}{\delta} \gg \beta$ 的特殊条件下,四个参数有简便的近似解法,现证明如下:

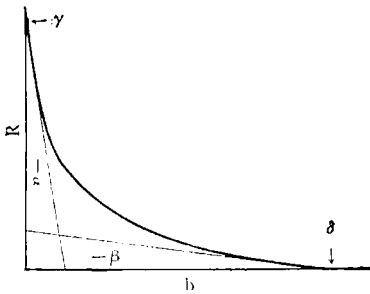


图3 非直线 SCATCHARD 图

作结合曲线的渐近线获得 α, β, γ 和 δ 的值

$$\begin{aligned} K_1 + K_2 &= \frac{T}{-S} = \frac{\frac{\alpha}{\beta} + 1}{\frac{1}{\beta} - \frac{\delta}{\gamma}} \simeq \frac{\frac{\alpha}{\beta} + 1}{\frac{1}{\beta}} \\ &= \alpha + \beta \end{aligned}$$

$$K_1 - K_2 = \frac{1}{S} \sqrt{T^2 - 4SU}$$

$$\begin{aligned} &= \sqrt{\left(\frac{T}{S}\right)^2 - 4 \times \frac{U}{S}} \\ &\simeq \sqrt{(\alpha + \beta)^2 - 4 \times \frac{\frac{\gamma}{\delta} - \alpha}{\frac{\delta}{\gamma} - \frac{1}{\beta}}} \\ &\simeq \sqrt{(\alpha + \beta)^2 - 4 \times \frac{-\alpha}{-\frac{1}{\beta}}} \\ &= \sqrt{(\alpha - \beta)^2} = \alpha - \beta \end{aligned}$$

由此,四参数的近似解应为

$$K_1 = \alpha,$$

$$K_2 = \beta,$$

$$q_1 = \delta - \frac{\gamma - \beta\delta}{\alpha - \beta},$$

$$q_2 = \frac{\gamma - \beta\delta}{\alpha - \beta}$$

四、讨 论

SCATCHARD 分析法是生物化学中广泛应用的经典分析方法。从 SCATCHARD 图的几何形状不仅可以提出配基-结合分子之间互相作用的某些性质,还可以准确地确定其作用参数,定量地表达这种反应。一般地说,直线 SCATCHARD 图表示最简单的一种配基,一种结合位点之间的结合。如果偏离直线,而且又肯定没有实验技术上的错误(如平衡状态被扰乱),那么可能就意味着:1. 配基之间的正协同效应(一种配基的结合促进他种配基的结合);2. 配基之间的负协同效应(一种配基的结合抑制他种配基的结合);3. 配基标记后亲和力改变;4. 多种配基或(和)多种结合位点。实际上前三种可能性是存在的。如果出现这三种情况,就违反了我们数学推导的假定条件,数学模型就不适用。我们要讨论的是最后一种情况。

当 SCATCHARD 图呈双曲线时,我们就可以尝试配合一种配基两种结合位点。有的文献中作者(Brinkman, 1972)直接将配基低浓度部分的直线当作高亲和力结合位点的行为,这是不恰当的。而且当 K_1, K_2 的差异愈小时,这种误

差就愈大。上述电子计算机法的结果准确,因为它完全是以数字运算为基础,但由于这种运算太复杂,缺少电子计算机便无能为力。作图分析法要依靠工作者“肉眼”的估计,准确性较差,但却极为简便。Berson 和 Yalow (1959) 很早就运用了这一方法。他们将双曲线两端的渐近线的负斜率近似地看作是 K_1 和 K_2 , 保持斜率不变,向左移动这两条直线,把它们在 Y 轴的截距之和调整到与曲线的 Y 轴截距相等。那么,这两直线在 X 轴的截距就分别是 q_1 和 q_2 。Buller 等 (1976) 比 Berson 和 Yalow 前进了一步,他们由作图引进了双曲线的四个参数 α , β , γ 和 δ 进行运算,得到更为准确的 K_1 , K_2 , q_1 , q_2 值,这可以说是介于作图和运算二者之间的方法。但我们发现, Buller 等的原文中计算公式有多处错误。另外, Buller 等的原文所述 $K_1 \simeq \alpha$, $K_2 \simeq \beta$ 这种近似算法的条件是 $\alpha \gg \beta$, 实际如上所述推导过程表明的,充分的条件应是 $\alpha \gg \frac{\gamma}{\delta} \gg \beta$, 仅有 $\alpha \gg \beta$ 是不够的。忽略 γ/δ 这个因素,近似解的误差就会增大。本文采用我们关于孕酮-兔子宫胞浆受体互相作用的实验数据为例来说明作图分析法的应用。图 4 示实验结果(黑点)及由实验结果配合的双曲线(曲线 2)。作图得到的 α , β , γ 和 δ 经计算后得到的参数为 $K_1 = 1.4 \times 10^9 M^{-1}$, $K_2 = 3.0 \times 10^7 M^{-1}$, $q_1 = 1.45 \times 10^{-10} M$, $q_2 = 22.0 \times 10^{-10} M$ 。将这四参数的值代入方程式 (13), 得到理论曲线(曲线 1), 可以见到它十分接近于实验曲线。该例 $\alpha : \frac{\gamma}{\delta} : \beta = 29:3:1$, 采用近似解法得到 $K_1 = 1.0 \times 10^9 M^{-1}$, $K_2 = 3.3 \times 10^7 M^{-1}$, $q_1 = 2.03 \times 10^{-10} M$, $q_2 = 22.0 \times$

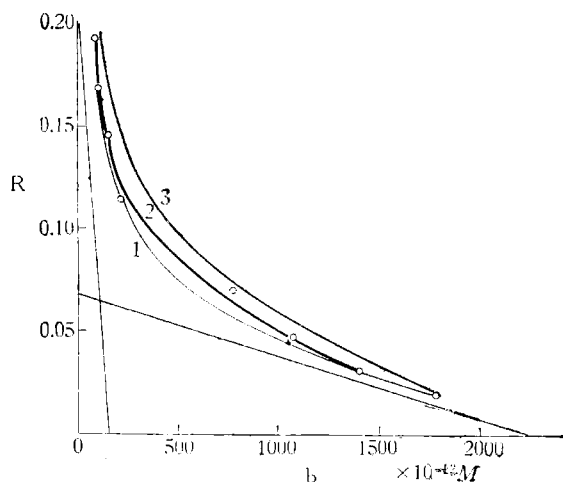


图 4 孕酮-受体(兔子宫胞液 0301) 互相作用实验数据的 SCATCHARD 图分析

曲线 2 为根据实验资料(实心圆点)所作曲线; 曲线 1 为根据渐近线参数计算法得出的一种配基两种结合位点理论曲线; 曲线 3 为根据渐近线位置调整法得出的一种配基两种结合位点理论曲线

$10^{-10} M$ 。这四个值规定的理论曲线(曲线 3)偏离实验曲线稍远一些。

最后强调一下,作图分析法主要依靠“肉眼”,误差是不可避免的,但可以采用反复尝试的办法逐步地逼近实验曲线。实际上,非直线 SCATCHARD 图两端的误差一般较大,所以在采用作图分析法时,尤其是确定 γ 和 δ 时,必须反复尝试,逐步逼近,直到理论曲线相当好地符合实验得到的点子为止,这样就能得到十分准确的参数值。

参 考 文 献

- [1] Feldman, H. A.: *Anal. Biochem.*, **48**, 317, 1972.
- [2] Buller et al.: *J. Steroid Biochem.*, **7**, 321, 1976.
- [3] Brinkman: *Cellular Uptake of Steroids*, 1972.
- [4] Berson and Yalow: *J. Clin. Invest.*, **38**, 1996, 1959.

[本文于 1979 年 1 月 4 日收到]

科技消息

左 旋 DNA

继 26 年前华生-克里克公布右旋 DNA 螺旋模型之后, 79 年 MIT Wang 及 Rich 等公布了左旋 DNA 片段。他们研究了六对 G-C 碱基对的片段(荷兰科学家合成), 由于片段很小, 因此用 X-线散射可得到高分辨图型。CIT 的科学家也在 4 个碱基对的片段看到了左旋结构, 但不完全相同。普

渡大学则在 1000 个 G-C 碱基对长片段同样看到了左旋结构。MIT 深入的工作已发现左旋的 DNA 可以有两种盘旋方式, 他们命名 α -DNA 与 β -DNA, 扭曲情况不同。垂直看底部鸟嘌呤的排列完全不同。

(摘自 *Sci. News*, **116** (25-26), 420, 1979)