

100S, 而从贮存于 0℃ 10 天的细胞核中释出的单链 DNA 就短得多, 其峰值为 18S (图 4)。图 4 是预期的细胞核在贮存过程中 DNA 上缺口或裂隙不断增加, 它们与 DNA 聚合酶 β 活性的激活相平行。

三、讨 论

DNA 聚合酶 α 的活性与复制活性密切相关, 说明此酶主要与 DNA 复制有关^[1]。DNA 聚合酶 β 与复制活性之间无相关性。有人曾证明用某些因素诱导 DNA 修复合成, 可使静止细胞中 DNA 聚合酶 β 活性上升。例如, 缺乏 DNA 聚合酶 α 的大鼠神经细胞核用紫外线照射后可导致 DNA 聚合酶 β 活性升高 7—10 倍^[8]。是否会有少量的 DNA 复制, 这个可能性并未完全排除^[8], 至少可以说, DNA 聚合酶 β 主要与 DNA 修复有关。因此当细胞核于 0℃ 贮存期间, DNA 聚合酶 β 活性升高 8 倍——它与单链 DNA 长度的变短相平行, 这很可能是内源性核酸酶解过程促进了 DNA 修复作用。已知 DNA 聚合酶 β 选择性地延长裂隙 DNA 的 3'-OH 末端^[1], 可以得出结论, 在细胞核的贮存过程中 DNA 的裂隙形成是激发 DNA 聚合酶 β 活性的唯一原因。虽然裂隙 DNA 均为 DNA 聚合酶 α 和 β 所喜好的引物/模板, 令人惊异的是, 只有 DNA 聚合酶 β 为核酸酶解所激发。由此推测, 除了 3'-OH 末端的产生之外, 尚有其他更特异的机制促进 DNA

聚合酶 β 活性升高。促进 DNA 聚合酶 β 活性的结合蛋白质^[9,10], 很可能参与这种作用。

最后需提出, 当分离的细胞核用低盐缓冲液、高盐缓冲液 (2M NaCl) 以及含非离子洗涤剂缓冲液洗后, 仍有大部分的 DNA 聚合酶 β 的活性保留在核基质中, (待发表的资料)。可见, 用细胞核提取物为材料分析 DNA 聚合酶 β 活性的系统中, 低估了 DNA 聚合酶的正常水平。

参 考 文 献

- [1] Kornberg, A.: *DNA Replication*. p. 206, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1980.
- [2] Waqar, M. A. et al.: *Nucl. Acids Res.*, **5**, 1933, 1978.
- [3] Granzow, Kopun, M. et al.: *An experimental model for studies on secondary invasion in vitro* (ed. E. Grundmann) Vol. 4, p. 43, G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1980.
- [4] Hershey, H. V.: *Biochim. Biophys. Acta*, **479**, 246, 1977.
- [5] Werner, D. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **608**, 243, 1980.
- [6] Dube, D. K. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **561**, 369, 1979.
- [7] Lynch, W. E. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **287**, 28, 1972.
- [8] Hübscher, U. et al.: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **43**, 625, 1978.
- [9] Duguet, M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 1660, 1978.
- [10] Blue, W. T. et al.: *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **84**, 603, 1978.

[本文于 1983 年 3 月 25 日收到]

丁酸钠等对小鼠腹水型肝癌全组蛋白电泳图谱 及 DNA 含量的影响

张绍斌 宋兰芳 常金珍

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

Pieler 等^[1] 用丁酸钠等诱导药物作用于小鼠神经母细胞瘤细胞系, 发现在抑制细胞分裂, 诱导形态分化和一系列生化变化的同时, 出现

组蛋白 H1⁰ 的积累。一般认为, 组蛋白 H1⁰ 是在分化程度高, DNA 合成不旺盛的组织中才含有的一种赖氨酸丰富的组蛋白, 它在细胞分

裂活跃的组织如胸腺、癌细胞系中则很少或完全缺如。它和 DNA 合成呈反相关。为了探讨丁酸钠等药物抑制癌细胞的机制,及组蛋白H1⁰与 DNA 合成的关系,我们首先比较了小鼠腹水肝癌和正常小鼠肝全组蛋白的电泳图谱,并观察了丁酸钠等药物对小鼠腹水肝癌细胞的全组蛋白电泳图谱及 DNA 含量的影响。

一、材料与方 法

1. 动物与试剂 本所常规饲养之昆明小白鼠,体重 25 克左右。丁酸钠为 BDH 产品。硫杂脯氨酸为 Sigma 产品。羟基斑蝥胺为天津科技进修学院王祖陶同志所赠。其它化学试剂均为分析纯。

2. 癌细胞接种与给药 小鼠腹水型肝癌按常规方式接种。丁酸钠等三种药物均以生理盐水配制。丁酸钠以两种方式给药:一是把取出的腹水肝癌细胞培养在含有 20% 小牛血清的 1640 培养液中,按最终浓度 10mM 给药;另一种是于癌细胞接种后第 8 天腹腔注入,100mM 丁酸钠 2ml/只小鼠。硫杂脯氨酸 (200mg/kg 体重)和羟基斑蝥胺 (100mg/kg 体重),按同一方式给药。给药后 8 小时取出癌细胞进行全组蛋白制备和 DNA 含量测定。

3. 全组蛋白的抽提 基本按 Johns^[2] 方法。由腹水肝癌细胞分离细胞核主要参照 Mendecki 等^[3]非离子去污剂裂解细胞的方法,依次以生理盐水,低渗缓冲液 (10mM Tris-HCl, pH 7.6—10mM KCl, 1mM MgCl₂) 洗涤细胞,膨胀的细胞再悬浮在含有 Triton X-100 的非离子去污剂裂解液 (50mM Tris-HCl pH 7.6—130mM KCl—6.5mM MgCl₂—6.5mM 巯基乙醇—0.13% Triton X-100—13% 蔗糖)中,以 0.25N HCl 抽提细胞核中全组蛋白。小鼠正常肝直接用裂解液在机动玻璃匀浆器内匀浆制备核,其余步骤与癌细胞相同。

以上操作均在 0—4℃ 进行。低渗液,裂解液和 0.25 N HCl 都含蛋白酶抑制剂 NaHSO₃ (50mM)。

4. 醋酸尿素聚丙烯酰胺凝胶电泳 电泳按

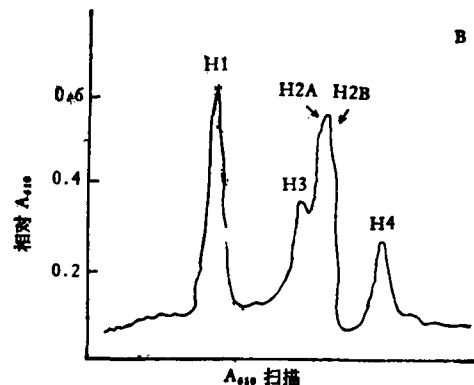
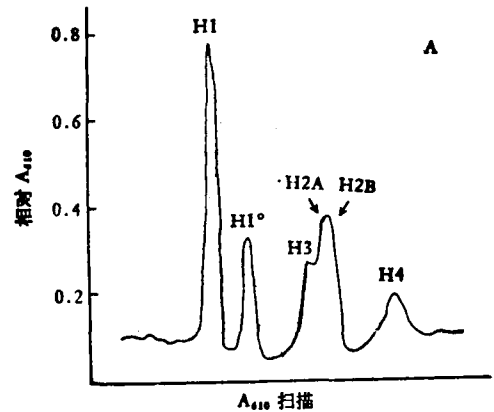
Panyim 和 Chalkley^[4] 方法,电泳管 0.6 × 11cm,制胶液胶浓度为 12%,尿素 6.0M,电极缓冲液为 0.9N 乙酸。电流 1.5mA/管,电泳 4 小时。染色液为 0.1% (W/V) 考马斯亮蓝 R₂₅,的甲醇醋酸水溶液 (50:10:40)。脱色液为甲醇:醋酸:水 = 10:10:80。

凝胶条扫描在南通 CNT-200 分光光度计扫描仪上进行。

5. DNA 含量测定 收获的细胞加固定液 (甲醇:冰醋酸 = 3:1) 固定 1 小时。洗两次后以适当浓度滴在玻片上,Feulgen 法染色,涂片以 5N HCl 水解 Schiff 试剂染色,树胶封片。最后核被染成粉红色。在附有计算机的 MSP V-2 型显微分光光度计上进行测定。每组测 50 个细胞。根据 DNA 含量和细胞数算出每群体细胞 DNA 的平均含量和组织图。

二、结 果

1. 从图 1 可以看出,正常小鼠肝有一条腹



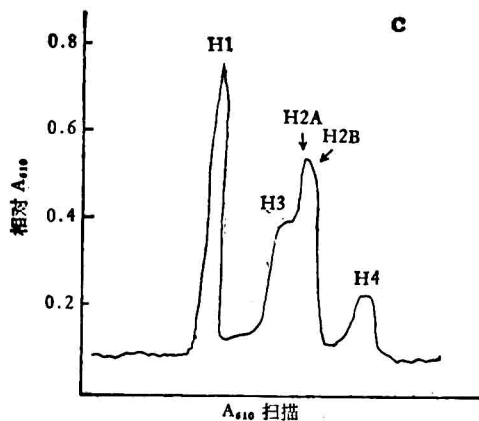


图1 全组蛋白电泳胶条光密度扫描图谱

- A. 正常小鼠肝
B. 小鼠腹水肝癌细胞
C. 体外给丁酸钠 17 小时后小鼠腹水肝癌细胞扫描速度 (纸速) $60 \times 100\text{mm/小时}$, 电泳条件见文内

水肝癌所没有的蛋白带, 其迁移率大于组蛋白 H1 而小于 H3, 为组蛋白 $H1^0$ 。

2. 药物对小鼠腹水型肝癌全组蛋白的影响。丁酸钠组: 两种给药方式都未能诱导小鼠腹水肝癌组蛋白 $H1^0$ 的合成(图 1C, 图 2), 但从图 1C 可以看出, 体外培养的腹水细胞于给丁酸钠 17 小时后, 其全组蛋白电泳扫描图在两处出现了可见的变化。H3 和 H4 的电泳带都有所拖宽, 即都出现一些慢运动成分; 在 H4 处实际是呈现两条相邻的细带 (扫描未能显示出来)。这一变化可能是丁酸钠抑制去乙酰化酶活性使 H3 和 H4 超乙酰化的结果。

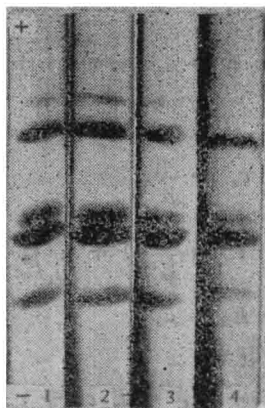


图2 体内给药后小鼠腹水肝癌细胞全组蛋白电泳图谱

1. 丁酸钠组 2. 斑蝥胺组 3. 硫杂脯氨酸组 4. 不给药的对照组

在体内给药组未见此明显的变化, 很可能是药物在体内代谢或浓度不够之故。

硫杂脯氨酸和羟基斑蝥胺组: 在本实验条件下均未能引起全组蛋白电泳图谱的可见变化。

3. 药物对小鼠腹水型肝癌细胞 DNA 含量的影响。由表 1 可以看出, 与对照组相比, 小鼠腹水肝癌细胞经三种药物处理后, DNA 含量明显下降, 四倍体和非整倍体细胞数也都明显

表1 小鼠腹水型肝癌细胞用药前后 DNA 平均含量、四倍体数和非整倍体数的变化*

药物名称	DNA 含量 (%)	四倍体 (%)	非整倍体 (%)
对照	50.17	30	8
硫杂脯氨酸	38.18	2	2
丁酸钠	43.95	4	2
羟基斑蝥胺	39.38	2	0

* 均为 50 个细胞的平均值

下降。

三、讨 论

自 Panyim 和 Chalkley^[5] 提出艾氏腹水癌细胞不含 $H1^0$ 以来, 有人发现在 HeLa^[6]、神经母细胞瘤^[1]等细胞系也不含 $H1^0$, 但未见小鼠腹水肝癌的有关报道。本文实验表明, 小鼠腹水肝癌细胞也不含有组蛋白 $H1^0$ 。考虑到 $H1^0$ 在基因调控中的可能作用以及腹水肝癌细胞全组蛋白电泳方法的简便易行, 虽然本实验条件下丁酸钠等药物未能诱导出 $H1^0$, 但我们仍觉得腹水肝癌全组蛋白电泳有可能成为检测诱导分化药物和抗癌药物效果的一个指标。

许多研究都指出, 丁酸钠的诱导作用依赖于药物的浓度和癌细胞的类型。本研究中丁酸钠未能诱导 $H1^0$ 的可见增加, 可能是药物浓度不适宜, 或作用时间不够所致。但它却使 H3 和 H4 出现慢运动成分。已知丁酸钠通过抑制去乙酰化酶活性而使核小体组蛋白 (主要是 H3 和 H4) 超乙酰化^[7]。H3 和 H4 乙酰化的位置分别都在氨基末端的 4 个赖氨酸残基上^[8], 很可

能这些慢运动成分就是每个分子增加了四个乙酰基(分子量增加 172)的 H3 和 H4 的超乙酰化形式。超乙酰化会引起 DNA 转录的增加和新蛋白质的合成。但看来和 H1⁰ 并不存在简单的正相关。

丁酸钠体内给药未能诱导组蛋白发生任何可见的改变,但和另两种药物相似,均使小鼠腹水肝癌细胞的平均 DNA 含量下降。这与文献上关于丁酸钠具有抑制癌细胞分裂和生长速度的功能的报道是一致的。据称硫杂脯氨酸是具有逆转作用的以质膜为作用点的抗癌药^[9], 本实验未观察到它使 H1⁰ 出现的逆转作用。它使 DNA 含量下降,提示它的抗癌作用可能也是通过对 DNA 合成的抑制来实现的。有人用 ³H-TdR 掺入法证明羟基斑蝥胺有抑制 DNA 合成的作用^[10],我们取得与此一致的结果。

本实验中 DNA 受到抑制的同时,看不到 H1⁰ 合成的出现和增加,这一点与某些人认为

H1⁰ 含量与 DNA 合成呈反相关的看法不一致。看来这种反相关的关系值得进一步探讨。

斑蝥胺是天津科技进修学院王祖陶教授赠送,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Pieler, C. et al.: *Eur. J. Biochem.*, **115**, 329, 1981.
- [2] Johns et al.: *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **181**, 209, 1968.
- [3] Mendecki et al.: *Biochemistry*, **10**, 895, 1971.
- [4] Panyim, S. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **130**, 337, 1969.
- [5] Panyim, S. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **37**, 1042, 1969.
- [6] Pehrson, J. et al.: *Nature*, **285**, 43, 1980.
- [7] Vidali, G. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **75**, 2239, 1978.
- [8] Isenbero, I.: *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 159, 1979.
- [9] Gosalvez et al.: *Biochem. Soc. Trans.*, **7**, 191, 1979.
- [10] 李德华等《中华医学杂志》**60**, 410, 1980.

[本文于 1983 年 4 月 6 日收到]

生物力学的粘弹性体模型浅析

朱孝华

朱木兰

胡瑞娟

(苏州大学) (苏州医学院) (苏州丝绸工学院)

在力学中,为突出被研究物体的主要矛盾,忽略次要因素,常将物体理想化,如刚体、弹性体、粘滞流体等“理想模型”。

生物组织的力学性质比较复杂,在一定条件下也可以理想化,用一些新的“理想模型”描述其特性,研究其运动规律。

很多物质具有滞后、弛豫和蠕变性质,这些性质统称为粘弹性。生物组织的粘弹性体模型有以下三种:

1. 麦克斯韦模型^[1], 是由一弹性系数为 μ 的线性弹簧与一阻尼延迟器连接而成。以 u 表示它的形变, $\dot{u}$ 表示形变速度,其两端受力 F 作用时有

$$\dot{u} = \frac{\dot{F}}{\mu} + \frac{F}{\eta} \quad (1)$$

η 为阻尼延迟器的粘滞系数,与流体粘滞

性和在流体中运动物体的几何形状有关。

2. 佛赫特模型^[1] 对佛赫特模型有

$$F = \mu u + \eta \dot{u} \quad (2)$$

3. 凯尔文模型^[1]或标准线性模型, 相应有

$$F + \frac{\eta_1}{\mu_1} \dot{F} = \mu_0 u + \eta_1 \left(1 + \frac{\mu_0}{\mu_1} \right) \dot{u} \quad (3)$$

令

$$\begin{aligned} \tau_e &= \frac{\eta_1}{\mu_1}, \\ \tau_\sigma &= \frac{\eta_1}{\mu_0} \left(1 + \frac{\mu_0}{\mu_1} \right), \\ E_R &= \mu_0 \end{aligned} \quad (3-a)$$

方程(3)又可表为

$$F + \tau_e \dot{F} = E_R \tau_\sigma \dot{u} + \tau_e \dot{u} \quad (4)$$

若粘弹性体所受外力 F 和发生的位移 u (即上述的形变)是时间的谐振函数,应用复数