

激光选择性杀灭癌细胞作用的研究

食管癌细胞中 DNA 含量约比正常细胞高十倍。假如能找到这样一种波长的光,只有 DNA 吸收它,而细胞的其它成分不吸收它,用这种光同时照射癌与正常细胞。显然,癌细胞的温度升高将比正常细胞高十倍。例如正常细胞从 37℃ 被加热到 47℃,在完全相同的条件下癌细胞就可以被加热到一百多度。这样,就达到了只烧死癌细胞而不损伤正常细胞的目的。

经过多次、反复的实验研究,证明上述的这种波长确实存在,其最优值是 1.06 微米。

如以 k 表示这种选择性杀灭系数,则

$$k = \frac{\text{癌的温度升高}}{\text{正常细胞的温度升高}}$$

对人体食管癌细胞进行了多次实测, $k = 13$ 。

由方程式:

$$\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} = a^2 \frac{\partial^2}{\partial x^2} u(x,t) + \frac{F}{c\rho}$$

解出最优激光脉冲宽度为: 670 微秒

由方程式:

$$Q = \frac{1}{(1-\xi)} [c \cdot \Delta t + c\pi] \frac{1}{4} \cdot \pi \cdot \phi^2 \cdot \rho \cdot d$$

算出激光功率为 20 焦耳。

将食管癌患者手术摘除的食管剖开,在与上述设计指标很接近的激光器 (JGB-1 型) 上进行试验,得到了预期的结果。

如根据此原理研制出一种治疗仪用于食管癌、喉癌、肠癌、宫颈癌等的治疗,有可能得到较好的疗效。

这一研究成果是在 1980 年 2 月 22 日中国科学院生物物理研究所学术委员会召开的题目论证会上提出的。

目前,中国科学院生物物理研究所,北京市光电技术研究所,中国医学科学院日坛医院,河南医学院已组成应用这种新原理的治癌协作组,正在积极建造此种治疗仪,并即将开展临床实验。

(中国科学院生物物理研究所 徐业林)

组织肌酸激酶电泳——用无机磷试剂显色同功酶区带

苏美昆 魏素珍

(河北新医学基础医学研究所)

肌酸激酶 (CK) [E. C. 2.7.3.2] 同功酶为二聚体分子,包括 M 及 B 两个亚单位。可组成 CK-MM, CK-MB 及 CK-BB 三种同功酶分子。在各种动物中,它们以不同比例分布于各器官组织中。胚胎期及初生时,组织中的 CK 同功酶谱型尚有更迭。

CK 同功酶电泳检测常用 NADH₂ 存在时硝基兰四氮唑还原法显色酶活性区带,或检测 NADH₂ 的荧光斑。这两种方法试剂昂贵,国内难购得。因此限制了目前国内在医学及基础医学实验研究中的使用。D. H. Deul (1964) 曾用钼酸铵-硫酸亚铁铵显色琼脂电泳 CK 同功酶区带。但因染色带扩散、底板着色快以致区带不易辨认,而未被采用。

本文用醋酸纤维膜电泳分离同功酶,其后利用酶促反应中生成的磷酸肌酸在酸性环境中不稳定而放出无机磷。再用磷试剂显色 CK 同功酶区带。试剂价廉,易购得,故可推广。区带分离清楚,显色清晰,效果较好。现将方法介绍如下。

材 料 和 方 法

一、材料 1. 醋酸纤维膜 浙江黄岩曙光化工厂出品,规格 2 × 8 厘米。

2. 电泳槽缓冲液 (pH8.8) 三羟甲基氨基甲烷, 2.889 克, 巴比妥钠 4.870 克, 巴比妥酸 1.233 克, 双重蒸馏水溶解后加至 1000 毫升。

3. 提取液 10mM KCl (内含 1mM 乙二胺

四乙酸钠及 0.1 mM 2-巯基乙醇)。

4. 底物凝胶板 24 mM 肌酸, 2 mM ATP, 2 mM 硫酸镁, 96 mM 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液, pH9.0, 总体积 8 毫升内含琼脂糖 90 毫克, 铺成 7.5×8.5 厘米的胶板。4℃ 保存, 24 小时内使用。

5. 显色凝胶板 1.25% 钼酸铵 (1.5N 硫酸溶液), 0.25%, 1, 2, 4-氨基萘酚磺酸 (100 毫升内含 0.25 克, 1, 2, 4-氨基萘酚磺酸, 14.5 克亚硫酸氢钠, 0.5 克亚硫酸钠)。用 0.5 克活性炭脱色后备用。

取琼脂糖 68 毫克加双重蒸馏水 4.2 毫升, 水浴融化, 待冷至 50℃ 时加钼酸铵溶液 1.5 毫升, 氨基萘酚磺酸溶液 0.3 毫升, 铺成 7.5×8.5 厘米胶板。临用时配制, 避光保存。

6. 兔及大白鼠脑、心肌、骨骼肌 动物于放血处死后立即取组织标本, 贮于 -15℃ 备用。

二、方法

1. 酶溶液制备 组织标本经生理盐水洗净, 每克湿重组织加 3 毫升提取液, 制成匀浆。离心 $7,000 \times g$, 20 分钟。取上清液电泳。

2. 醋酸纤维膜电泳 将已在电泳槽缓冲液中浸湿的醋纤条取出。于糙面近阴极端 1/3 处点样 3—5 微升。电压 20 伏/厘米, 通电 15—20 分钟, 温度 4℃。

3. 酶温育 将电泳完毕的醋纤条的点样面贴在底物胶板上。对照醋纤条贴在对照胶板上 (除无肌酸外, 其余成分与底物胶相同)。温育时间 20 分钟, 温度 37℃。

4. 显色 将温育过的底物胶板与显色胶板重合紧贴, 于 25℃ 暗处温育 30 分钟, 可见蓝色区带, 即用光密度计检测。

三、结果和讨论 按上述方法可检测出组织标本中 CK 同功酶活性区带。CK-BB 迁移率大致与血清清蛋白相同, CK-MB 与 α_2 球蛋白相同, 而 CK-MM 与 γ 球蛋白相同。在 原点部位呈现的酶活性区带为线粒体 CK 同功

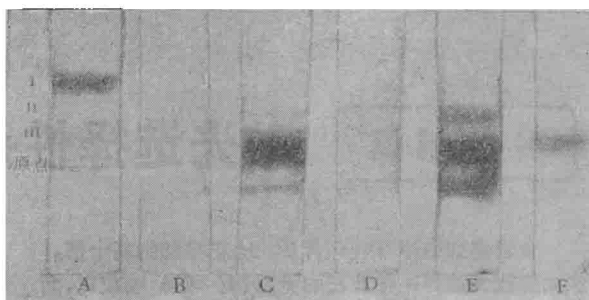


图 1 兔心肌、脑、骨骼肌的电泳图谱

A. 兔脑提取液; B. 兔脑提取液(无肌酸); C. 兔骨骼肌提取液; D. 兔骨骼肌提取液(无肌酸); E. 兔心肌提取液; F. 兔心肌提取液(无肌酸); I. CK-BB; II. CK-MB; III. CK-MM; 原点线粒体 CK

酶。

图 1 为兔心肌、脑、骨骼肌的电泳图谱。

图 2 为大白鼠心肌、脑、骨骼肌的电泳图谱。

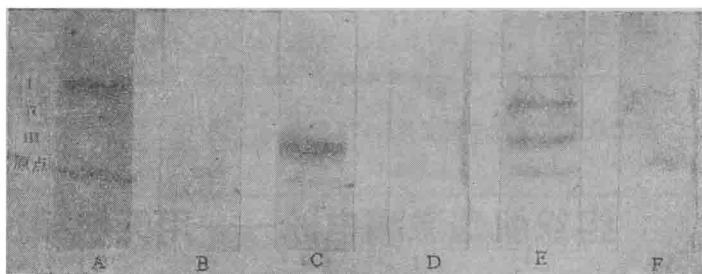


图 2 大白鼠心肌、脑、骨骼肌的电泳图谱

A. 脑提取液; B. 脑提取液(无肌酸); C. 骨骼肌提取液, D. 骨骼肌提取液(无肌酸); E. 心肌提取液; F. 心肌提取液(无肌酸); I. CK-BB; II. CK-MB; III. CK-MM; 原点线粒体 CK

从兔的三种组织所得的酶谱与 Sherwin 和 Armstrong 的 CK 谱型一致^[1]。本研究, 兔心肌电泳谱相当脑 CK-BB 的位置上有一条着色很浅的 CK 区带, 且着色程度变异较大。可能由于 CK-MB 稳定性差, 在制备酶溶液过程中两分子 MB 杂交成 MM 和 BB。这种在温和条件下的杂交 Morin 曾予评述^[2]。

在兔的心肌、骨骼肌提取液电泳谱上, 原点均有线粒体同功酶可检出。

本法所得大白鼠三种组织 CK 同功酶与 Van der Veen 和 Willebrands 结果相同^[3]。所有这三种组织的电泳谱, 于原点均有线粒体 CK 同功酶。

CK 同功酶电泳显色或荧光检测均有非特异性显色及荧光。本法主要受 ATP 酶分解 ATP 释出无机磷的干扰。光密度计检测时必须从样本值中减去空白对照数值。以下示兔脑 CK、兔心肌 CK 及空白对照的光密度曲线 (图 3 及图 4)。

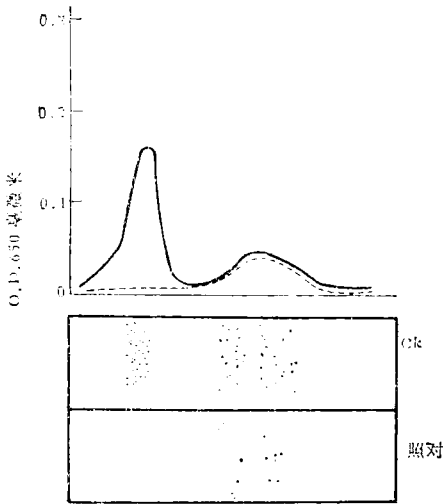


图 3 兔脑 CK-BB
—— CK, --- 对照

在定量检测时要注意显色温度, 一般以 25℃ 为宜。时间 30 分钟为宜。因为随时间推移, 区带着色程度可加深, 底板于数小时后逐渐呈浅蓝色, 乃至较深的蓝色。且区带渐渐扩散。

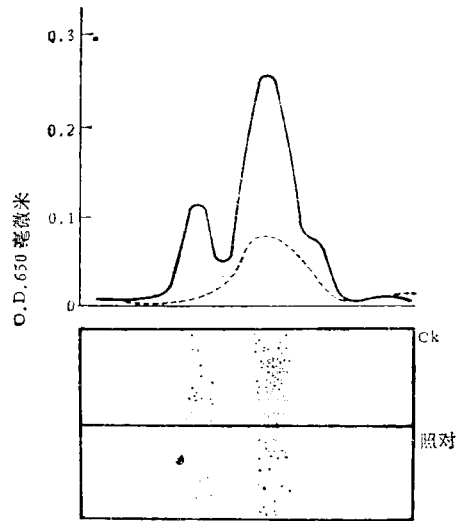


图 4 兔心肌 CK-MM 及 CK-MB
—— CK, --- 对照

我们曾用本法检测急性心肌梗塞患者血清 CK 同功酶。1 例患者于发病后 24 小时取血, 经电泳检出 CK-MM 及 CK-MB 同功酶。

本方法也可用于其它能在酶促反应中产生无机磷的一些酶或同功酶的检测。

主要参考文献

- [1] Armstrong, J. B. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 3105, 1977.
- [2] Morin, L. G. et al.: *Clin. Chem.*, **23**, 646, 1977.
- [3] Van der Veen, K. J. & Willebrands, A. F.: *Clin. Chim. Acta*, **13**, 312, 1966.

[本文于 1979 年 2 月 15 日收到]

电离辐射对小鼠某些脏器铁蛋白浓度的早期影响*

李 建 武

(北京大学生物医学系)

铁蛋白 (Ferritin) 含铁 17—23%, 主要分布于肝、脾和骨髓中, 肾肠和胎盘等脏器中亦有少量铁蛋白。它是某些高等动物机体内铁的重要和优先的储备形式, 其数量占总储铁量的 65%, 其中的铁极易为机体所动用。它也有血管加压和抗利尿等作用。

从 1940 年起, 许多研究者对其在动物体内的分布、贮备、某些理化性质和生理功能等曾进行过大量的工作。Michalis, L. (1947), Mazur, A. (1955) 曾先后全面地总结了这些研究

* 本工作完成于 1964 年。