

研究工作

Mg²⁺对阿霉素引起心肌线粒体 F₁F₀ 变化的保护*

林治焕 李生广 曹懋孙 陈云俊 封朝阳 邓君鹏

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 抗肿瘤药物阿霉素 (ADM) 对心肌线粒体 F₁F₀-复合体呈现抑制而对 F₁-ATPase 无抑制, 这表明 ADM 可能是通过膜脂起作用的, 适当浓度 Mg²⁺ 能降低 ADM 对复合体的抑制. 经³¹P-NMR 和标记荧光探针 NBD-PE, DPH, MC-540 以及内源荧光等的测定, 结果表明 ADM 可能首先通过诱导 F₁F₀ 膜脂形成非双层脂结构, 继而影响了膜脂的堆积程度和流动性, 进而引起 F₁F₀-复合体酶蛋白构象的改变, 最终导致酶活力的降低. Mg²⁺ 则可能由于与 ADM 竞争与心磷脂的结合, 而对 ADM 引起 F₁F₀ 的变化产生保护作用.

关键词 心肌线粒体 F₁F₀-复合体, Mg²⁺, 阿霉素, 非双层脂, 构象

阿霉素 (adriamycin, ADM) 作为抗癌药物已被广泛的应用^[1], 但由于它对心肌产生慢性损害的副作用而限制了它在肿瘤治疗上的应用^[2], 有很多实验证明 ADM 对心脏的损害作用主要是作用在心肌细胞线粒体上^[2]; 进一步报导 ADM 作用的靶位点是线粒体的内膜^[3]; ADM 对线粒体损害的机理有如下几种: a. 抑制了线粒体的呼吸链如复合体 III 与 IV^[3]; b. 损伤了氧化磷酸化^[4]; c. 通过 NADH 脱氢酶对 ADM 还原所引起的脂质过氧化或微粒体的脂质过氧化导致心肌受损^[5]; d. 肌酸磷酸激酶代谢失常而导致了能量代谢的损伤^[6]. 无论如何这四种机理都证明了 ADM 对心肌细胞的损伤大多是发生在线粒体内膜上. 有很多证据说明 ADM 对线粒体的损伤是由于它与带负电荷的磷脂——心磷脂 (CL) 形成特异的高度稳定的复合物^[7]. 我们实验室曾报导 Mg²⁺ 能和带负电荷的心磷脂特异性的结合而激活猪心线粒体 F₁F₀-复合体^[8]. 本文目的是研究 Mg²⁺ 有否可能与 ADM 竞争结合线粒体心磷脂而抑制

ADM 的有害作用. 我们发现如先加入一定浓度的 Mg²⁺ 再加 ADM, 则 Mg²⁺ 能减轻 ADM 对 F₁F₀-复合体的抑制程度, 而 ADM 对 F₁-ATPase 基本不抑制. 进一步采用³¹P-NMR 谱的测定和 NBD-PE, DPH, MC-540 等标记膜脂的荧光探针来研究 Mg²⁺ 对 ADM 引起的 F₁F₀-复合体膜脂相变, 流动性, 分子堆积等变化的保护作用. 另一方面从测定膜蛋白内源色氨酸荧光的变化来研究 Mg²⁺ 的保护作用.

1 材料与方法

1.1 试剂与溶液配制

Adriamycin, ATP (99% 含量), NBD-PE, DPH 为 Sigma 产品, HEPES 为 Merck 产品, MC-540 为 Molecular Probes, Inc. 产品, MgCl₂, D₂O (GR) 为北京化工厂产品, 四氢呋喃为上海试剂厂产品, 其它试剂均为国产分

* 国家自然科学基金以及生物大分子国家重点实验室资助课题.

收稿日期: 1993-09-28, 修回日期: 1993-11-16

析纯, 溶液均用玻璃重蒸水配制。

1.2 猪心线粒体 F_1F_0 -复合体的制备

参照尤美莲和杨福愉^[9]方法制备。所得 F_1F_0 比活力为 4—6, 较亚线粒体活力大 4 倍, 其蛋白含量仅约为亚线粒体的 14%, 含脂量为 390 微克每毫克蛋白。

1.3 F_1 -ATPase 的制备

参考 Senior (1970 年) 法^[10]并作了一些修改^[11]。

1.4 水解活力和蛋白测定

F_1F_0 -ATPase 复合体和 F_1 -ATPase 水解活力采用酶偶联法测定^[12]。 F_1F_0 -ATPase 复合体蛋白测定按 Lowry 方法^[13]。

1.5 ^{31}P -NMR 样品的制备和测定^[14]

取上述制备的 F_1F_0 -ATPase 复合体, 加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 达到 30% 饱和度。110 000g 离心 30min 沉淀复合体, 弃上清, 复合体分别悬于由 D_2O 配制的不同反应液中, 使最后体积达 2ml, 内含 95mg 复合体蛋白。

1.6 荧光探针测定膜脂相变

用荧光探针 N-(7-nitro-2, 1, 3-benzoxadiazol-4-yl) phosphatidyl-ethanolamine (NBD-PE) 探测膜脂从脂双层向非双层脂相的转变。因为此探针进入膜脂后主要位于双分子层的头部, 因此它能探测头部周围环境的变化。在恒定条件下, 如双分子层向非双层脂的六角型 (H_{II}) 相的转变则荧光强度增高。 $\lambda_{ex}=455\text{nm}$, $\lambda_{em}=530\text{nm}$ ^[15]。

1.7 荧光探针 DPH 检测膜脂的荧光偏振度

荧光测定在 Hitachi 650-60 荧光分光光度计上进行, 30℃ 恒温: 激发波长 360nm, 发射波长 430nm 监测, 按 $P = (I_{0,0} - GI_{0,90}) / (I_{0,0} + GI_{0,90})$, $G = I_{90,0} / I_{90,90}$ (校正因子) 计算偏振度值^[16]。

1.8 Merocyanine-540 荧光探针测定膜脂堆积的紧密程度

激发波长选用 540nm, 记录发射峰位 583nm 处的荧光强度^[17]。

1.9 F_1F_0 -ATPase 复合体内源色氨酸荧光的测定

测试样品条件见表 2 和表 3, 在 Hitachi 650-60 荧光分光光度计上进行, 以 290nm 为激发波长, 300—400nm 进行扫描。

2 结果与讨论

2.1 ADM 对心肌线粒体 F_1F_0 及 F_1 活力的影响及 Mg^{2+} 的保护

在相同条件下, 我们比较测定了 F_1F_0 -ATPase 复合体在有无 ADM 存在下的活力, 并测定 Mg^{2+} 预保温后对 ADM 作用的影响以及 Mg^{2+} 的保护作用与其浓度的依赖性, 由于在制备 F_1F_0 -ATPase 复合体的过程中用胆酸盐处理过, 其呼吸链已不完整, 不会发生因 ADM 抑制呼吸链^[3]而影响了 F_1F_0 -ATPase 复合体的活力。

表 1 ADM 对心肌线粒体 F_1F_0 -ATPase 水解活力的影响及 Mg^{2+} 的保护

实验 编号	对照	+ADM ($\mu\text{mol/L}$)	+ Mg^{2+} (mmol/L),	+ADM ($\mu\text{mol/L}$)
1	5.2	2.1 (ADM 500)	3.0 ($\text{Mg}^{2+} 1 \times 1.67$, ADM 500)	
2	4.0	1.7 (ADM 333)	2.1 ($\text{Mg}^{2+} 1 \times 1.67$, ADM 333)	
			3.2 ($\text{Mg}^{2+} 2 \times 1.67$, ADM 333)	
			1.4 ($\text{Mg}^{2+} 3 \times 1.67$, ADM 333)	
3	3.4	2.1 (ADM 170)	2.9 ($\text{Mg}^{2+} 1 \times 1.67$, ADM 170)	

注: F_1F_0 水解比活力以 $\mu\text{mol ATP}$ 被水解每分钟毫克蛋白表示。

表 1 结果表明 F_1F_0 -ATPase 复合体受 ADM 作用后活力明显下降并与 ADM 的浓度有关, 从 170 $\mu\text{mol/L}$ 随浓度增加, 活力被抑制的程度加大。当浓度大于 333 $\mu\text{mol/L}$ 似乎抑制并没有更大的增强。 Mg^{2+} 对 ADM 的抑制有明显的保护作用, 其保护程度与 ADM 和 Mg^{2+} 浓度有关系, 在低浓度 ADM 时 (170 $\mu\text{mol/L}$), 1.67mmol/L Mg^{2+} 可将活力提高到对照的 85%, 而在 333 $\mu\text{mol/L}$ ADM 作用下, Mg^{2+} 的浓度要达到 $2 \times 1.67\text{mmol/L}$ 时保护作用最大,

Mg^{2+} 浓度为 $3 \times 1.67 \text{ mmol/L}$ 时, 不但拮抗 ADM 的作用反而趋向抑制. 这与 Mg^{2+} 激活 F_1F_0 -ATPase 的报导对 Mg^{2+} 的要求也有最适浓度是一致的^[18].

ADM 对 F_1 -ATPase 水解活力的影响实验结果是: $300 \mu\text{mol/L}$ 作用下, F_1 比活力为 24.6, $500 \mu\text{mol/L}$ ADM 作用下比活力为 22.0, 而对照的比活力为 22.7. 这结果说明 ADM 对 F_1 -ATPase 基本上无抑制作用. 可见 ADM 对 F_1F_0 -ATPase 复合体的抑制可能是通过作用在膜脂 (内嵌 F_0) 部分引起的. 很多文献报导^[7] ADM 对线粒体的损害是由于它与膜脂中带负电荷的磷脂——心磷脂形成稳定特异的复合物. F_1F_0 -ATP 复合体是氧化磷酸化最后一步合成 ATP 的关键酶, ADM 对 F_1F_0 -ATPase 的抑制与 ADM 损伤线粒体氧化磷酸化功能的报导^[4]是一致的.

2.2 利用 ^{31}P -NMR 及 NBD-PE 标记荧光观察 ADM 对 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂多形性的影响及 Mg^{2+} 的保护作用

一般来说液化的液晶具有非常强的多形性行为. 近年来对生物膜从双层脂向非双层脂的转变引起人们很大的兴趣. 这种多形性相变与膜脂执行融合, 转运等功能有关. 膜脂相变除用 ^{31}P -NMR, X 光衍射, 差示扫描量热计, 冰冻断裂电镜或红外谱方法外, 本文尚用 NBD-PE 荧光探针参入到膜脂中的方法, 当膜脂从双分子层向非双分子层相变时, 荧光强度增加.

待测四种样品分别在 Varian XL-200 型 NMR 仪上测定 ^{31}P -NMR 谱线, 使用 $\varphi 10 \text{ mm}$ 样品管, 采用反转门控去耦, 每次采样时间为 0.5s, 累加次数为 3000 次左右, 测试温度 $16-18^\circ\text{C}$, 以 86% 的正磷酸在 0ppm 的 ^{31}P -NMR 峰为标准.

图 1a 给出了对照的 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂的 ^{31}P -NMR 图谱, 谱线为不对称图形, 具有高场峰低场肩的典型的磷脂双分子层结构. 图 1c 系加 ADM 的 F_1F_0 -ATPase 复合体的 ^{31}P -NMR 图谱. 可以明显看出在接近 0 ppm 处有一各向同性信号产生, 形成一个新的峰肩, 而

当加 ADM 前加入 Mg^{2+} 则 F_1F_0 -ATPase 复合体的 ^{31}P -NMR 图谱中接近 0 ppm 处的新峰肩显著变小 (图 1b), 其谱线与图 4a 的对照相似, 而单独加 Mg^{2+} 的 F_1F_0 -ATPase 复合体的 ^{31}P -NMR 谱线与对照组的谱线 (图 1a) 大体相似, 仅峰形稍锐 (图 1d).

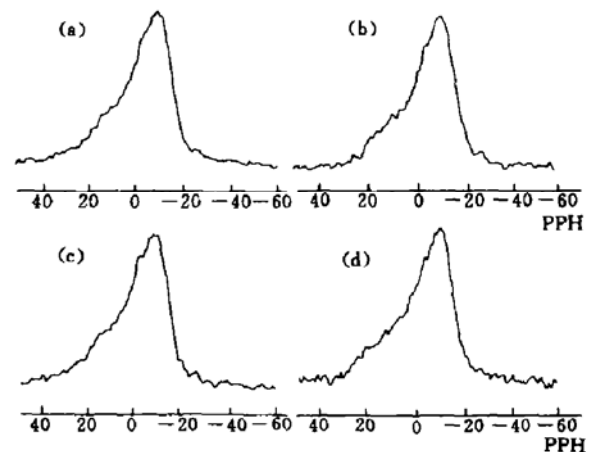


图 1 猪心线粒体 F_1F_0 -ATPase 复合体的 ^{31}P -NMR 谱 (80.98MHz)

(a) 对照样品 F_1F_0 在 STED 溶液中 (0.25 mol/L 蔗糖, 10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 0.2 mmol/L EDTA, 1 mmol/L DTT); (b) 加 ADM 前加 Mg^{2+} 50 mmol/L 预保温; (c) 在 3 mg ADM 作用下;

(d) 同 (a) 但加 50 mmol/L Mg^{2+}

四种样品分别在 Varian XL-200 型 NMR 仪上测定 ^{31}P -NMR 谱线, 使用 $\varphi 10 \text{ mm}$ 样品管, 采用反转门控去耦, 每次采样时间为 0.5s, 累加次数为 3000 次左右, 测试温度为 $16-18^\circ\text{C}$, 以 86% 的正磷酸在 0 ppm 的 ^{31}P -NMR 峰为标准.

近年来由于核磁共振波谱技术的发展, 用 ^{31}P -NMR 技术研究人工脂膜或生物膜, 可在 ^{31}P -NMR 图谱上显示不对称的线形图, 即带有低场肩高场峰的磷脂双分子层特征图谱, 以及区别于脂双层结构的六角形 (H_{11}) 相和各向同性运动相的谱线^[19]. 我们制备的猪心线粒体 F_1F_0 复合体的 ^{31}P -NMR 图谱为不对称谱线, 低场肩高场峰, 呈典型的磷脂双分子层结构 (见图 1a). 但当加入 ADM 后, 则 F_1F_0 -复合体的 ^{31}P -NMR 谱线中, 接近 0 ppm 处明显出现各向

同性运动信号, 并形成一个新的肩峰. 哺乳动物的心磷脂 (CL) 75—90% 存在于线粒体内膜双层的基质面, 占内膜脂总量的 25—50%^[20]. 心磷脂是线粒体内膜中主要的带负电荷的磷脂, 它富含不饱和脂肪酸并具有 H_{11} 相变能力的特点^[21]. 在我们的实验条件下, 加 ADM 后接近 0 ppm 处呈现的新的峰肩, 表明有各向同性组分形成. 有可能由于 ADM 诱导的 F_1F_0 复合体心磷脂 (CL) 部分地发生了非双层脂结构变化, 它受磷脂双分子层结构典型峰影响, 在接近 0 ppm 处形成了新峰肩. Kruijff^[21] 也曾报导过 CL 在细胞色素 c 作用下产生 H_{11} 相变. Nicolay 等在利用大鼠肝线粒体内膜囊泡 (inner mitochondrial membrane ghosts) 37°C 做实验时曾报导^[22] 其 ^{31}P -NMR 谱线主要为特征性双层脂结构, 但在经受着各向同性运动, 即有非双层脂结构产生. 膜脂多形性相变与样品含脂种类有关, 并受一些生物参数的调节如样品制备的温度, 测定温度等. 非双层脂可能在膜参与的功能中起调节的作用. 除此, 我们还测定了与磷酸盐区域的局部有序性相关的化学位移各向异性, 以便了解磷脂极性“头部”的运动自由度以及脂与蛋白的相互作用. 它用 $\Delta\sigma$ ($\Delta\sigma = \sigma_{\parallel} - \sigma_{\perp}$) 来表示, σ 为屏蔽常数, $\sigma_{\parallel}$, $\sigma_{\perp}$ 分别为磁场方向平行和垂直于分子对称轴的屏蔽常数. 从 ^{31}P -NMR 图谱可测出 $\sigma_{\parallel}$ 与 σ 的位置, 从而计算 $\Delta\sigma$ 值 (单位为 ppm).

结果表明加 ADM 组的 $\Delta\sigma$ 较对照组增加 2.7ppm (分别为 42.1 和 39.4ppm), 提示 ADM 可使 F_1F_0 复合体膜磷脂极性“头部”自由度较对照组受限, 即磷脂“头部”的运动更为有序. 加 Mg^{2+} 后再加 ADM, 则 Mg^{2+} 能保护磷脂“头部”的异常转动运动, 其 $\Delta\sigma$ 为 36.3. 单独加 Mg^{2+} 组与对照组的 $\Delta\sigma$ 接近为 38.5ppm. F_1F_0 复合体蛋白与磷脂结合程度也会影响 $\Delta\sigma$ 的值, 根据加 ADM 能增加 $\Delta\sigma$ 值, 可以设想 ADM 也可使得 F_1F_0 复合体蛋白与膜脂结合程度更为紧密, 而先加 Mg^{2+} 再加 ADM 可降低 $\Delta\sigma$, 保护 ADM 引起的 F_1F_0 蛋白与膜脂的这种异常的紧密结合.

表 2 结果表明 ADM 使 NBD-PE 标记的 F_1F_0 -复合体荧光峰较对照增强, 即表示 ADM 促使膜脂从双层脂向非双层脂转变, 而在加 ADM 之前加入 Mg^{2+} 与之保温, 则可拮抗 ADM 的作用, 这时荧光强度与单独加 Mg^{2+} 的接近, 单独加 Mg^{2+} 的实验结果其荧光强度与对照的相近. 这结果与 ^{31}P -NMR 测定的结果是一致的.

表 2 ADM 对 NBD-PE 标记荧光强度的影响
及 Mg^{2+} 的保护作用

样品	相对荧光强度 ($\lambda_{em} = 530\text{nm}$)	$\Delta\%$ (与对照比较)
对照	15.0	—
+ADM	20.0	33.3
+ Mg^{2+}	13.6	-9.3
+ Mg^{2+} + ADM	12.1	-19.3

注: 25-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ F_1F_0 复合体样品悬于 SET 溶液 (0.25mol/L 蔗糖, 2mmol/L EDTA, 10mmol/L Tris- SO_4 pH 8.0) 中, 加 ADM 时浓度为 170 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 加 Mg^{2+} 时浓度为 1.05mmol/L. 各种处理均为 30°C 保温 2min. 之后 0-4°C 透析, 30°C 水浴平衡 15min, 加 NBD-PE 30°C 保温处理 3min 测荧光强度. $\lambda_{ex} = 455\text{nm}$, $\lambda_{em} = 530\text{nm}$, 狭缝 5nm.

2.3 采用荧光探针 DPH, MC-540 检测 ADM 对 F_1F_0 膜脂结构的影响以及 Mg^{2+} 的保护作用

膜脂流动性也是用来表征膜脂结构的指标之一, DPH 是一般用来测膜脂流动性的灵敏的荧光探针, 用 DPH 标记 F_1F_0 复合体膜脂后测定荧光偏振度, 它能反映膜脂分子的运动与粘度, 偏振度越高, 流动性越小.

表 3 的结果表明与对照相比 ADM 可使 F_1F_0 -ATPase 复合体荧光偏振度增加, 即流动性下降, 而在加 ADM 以前加 Mg^{2+} 预保温可使荧光偏振度增加的程度下降, 即显著抑制了 ADM 引起的膜脂流动性的下降, 而加 Mg^{2+} 预保温的 F_1F_0 -ATPase 复合体的荧光偏振度与对照相比近似. 这结果说明 ADM 使 F_1F_0 -复合体从双分子层结构向非双分子层脂转变时膜脂流动性下降, Mg^{2+} 也表现出对这现象的保护

作用, 这与 ^{31}P -NMR 测的化学位移各相异性的结果是一致的。

MC-540 是另一种灵敏的荧光探针, 用来研究膜脂分子堆积紧密程度, 这种荧光探针进入到膜的疏水环境, 则荧光增强, 当膜脂分子堆积越疏松, 荧光探针分子越易于进入, 则荧光越强, 膜脂堆积的紧密度与 MC-540 标记荧光强度成反比。

表 3 ADM 对 DPH 标记荧光偏振度及 MC-540 标记荧光的影响及 Mg^{2+} 的保护作用

样品	DPH 荧光偏振度(P) ($n=6$)	MC-540 相对荧光强度 ($\lambda_{\text{em}}=583\text{nm}$)
对照	0.198 ± 0.001	74.0
+ADM	0.236 ± 0.005	51.8
+ Mg^{2+} + ADM	0.224 ± 0.002	57.5
+ Mg^{2+}	0.206 ± 0.003	65.8

注: 测 DPH 荧光偏振度时, 25—50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 样品悬于 SET 溶液中, 加 ADM 的浓度为 170 $\mu\text{mol}/\text{L}$, 加 Mg^{2+} 的浓度为 1.05mmol/L. 各种处理均为 30 $^{\circ}\text{C}$ 保温 2min. 后加 $10^{-5}\text{mol}/\text{L}$ DPH 溶于四氢呋喃 30 $^{\circ}\text{C}$, 30min 测荧光偏振度. $\lambda_{\text{ex}}=360\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}=430\text{nm}$.

测 MC-540 标记荧光时, 样品悬于 10mmol/L Tris-HCl 中, 同上各处理后每 ml 反应液加 5 μl MC-540 (1 mg/ml 溶于二甲亚砜中) 30 $^{\circ}\text{C}$ 保温 3min 后测荧光强度. $\lambda_{\text{ex}}=540\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}=583\text{nm}$.

从表 3 $\lambda_{\text{em}}=583\text{nm}$ 的发射荧光强度 (峰值) 比较可见, ADM 可以使 F_1F_0 -ATPase 复合体的荧光强度下降, 这意味着 ADM 使膜脂分子堆积比对照组紧密, 这与 ADM 使 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂流动性下降是一致的. 在加 ADM 之前加 Mg^{2+} 预保温也能使 ADM 的作用减弱, 这也表明 Mg^{2+} 对 ADM 影响膜脂堆积也有保护作用。

2.4 ADM 对 F_1F_0 -ATPase 复合体中色氨酸内源荧光的影响以及 Mg^{2+} 的保护作用

我们进一步比较了 F_1F_0 -ATPase 复合体在 ADM 作用下内源荧光的变化情况, 用 290nm 为激发波长时主要是内源色氨酸残基可吸收此能量而发射荧光. 因此只出现一个

330nm 的色氨酸残基的发射峰. F_1F_0 -ATPase 复合体在 ADM 作用下, 330nm 荧光峰强度不同于对照组, 表明 ADM 对 F_1 , F_0 中色氨酸残基的微环境有影响, 即 ADM 引起了 F_1 , F_0 构象的变化. 从图 2 也可见在加 ADM 与 F_1F_0 -ATPase 复合体预保温前先加 Mg^{2+} 与之保温则可削弱 ADM 对 F_1F_0 -ATPase 复合体的影响。

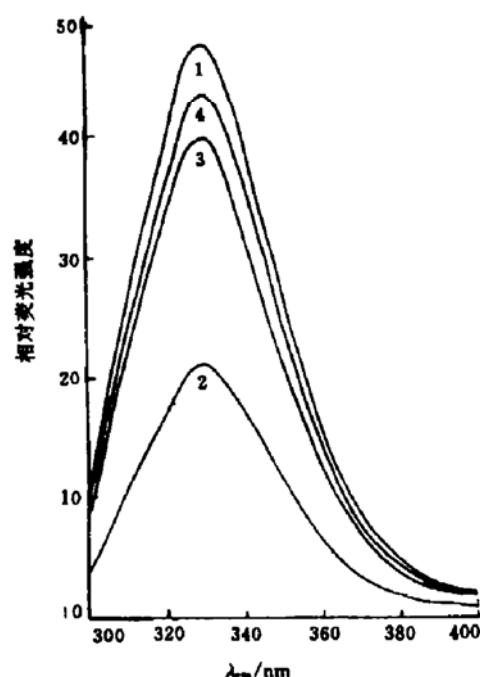


图 2 ADM 对 F_1F_0 复合体内源荧光的影响及 Mg^{2+} 的保护作用

1. 对照; 2. +ADM; 3. + Mg^{2+} + ADM;
4. + Mg^{2+} .

反应介质为 42mmol/L Tris-马来酸 pH8.0, 各样品 30 $^{\circ}\text{C}$ 保温 2min, 290nm 波长激发, 300—400nm 进行发射荧光扫描。

综合上述实验的结果可以推论: ADM 之所以只抑制 F_1F_0 -ATPase 复合体而不抑制 F_1 , 可能首先 ADM 通过与 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂上的心磷脂结合, 使富含心磷脂微区的膜脂结构状态发生变化, 从 ^{31}P -NMR 谱线的改变与 NBD-PE 标记荧光的变化表明 ADM 使 F_1F_0 -ATPase 复合体从双分子层向非双分子层脂相转变, 从 F_1F_0 -ATPase 复合体 ^{31}P -NMR 计算的化学位移各向异性表明 ADM 使膜脂极性“头

部”自由度较对照组受限, MC-540 标记荧光测定表明 ADM 使 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂堆积更为紧密, DPH 标记荧光测定表明 F_1F_0 -ATPase 复合体膜脂流动性下降. 色氨酸内源荧光的变化表明膜脂发生的这些物理状态的变化可引起相嵌于膜脂内的 F_0 的构象发生变化, 此变化也可传递到 F_1 , 引起其构象与功能的变化. 适当浓度的 Mg^{2+} 对 ADM 引起的 F_1F_0 -ATPase 复合体的上述所有变化均有保护作用. 对 Mg^{2+} 的作用研究一般都把它作为二价阳离子在膜脂的融合, 电荷的屏蔽方面起作用或单纯起蛋白-膜脂“盐桥”作用. F_0 深埋在膜脂内, Mg^{2+} 对 F_0 的直接作用可能性极小, Mg^{2+} 对膜脂的结合亲和力比对蛋白的亲和力大^[23], 因此可以认为 Mg^{2+} 对膜脂的作用是优先的直接的. 结合我们实验室曾报导 Mg^{2+} 有利于天然膜 F_1F_0 -ATPase 复合体的重组^[24], Mg^{2+} 主要通过膜脂使 F_1 , F_0 均处于最佳构象, 提示我们对 ADM 引起的心肌严重损伤的副作用, Mg^{2+} 可与膜上心磷脂结合而拮抗 ADM 引起复合体膜脂非双层脂结构的形成, 继而阻止膜脂物理状态的改变, 进而保护 F_1F_0 的构象, 从而起保护作用. Mg^{2+} 本身的影响在以上各指标中皆表现出与对照相似, 因而在本实验中的 Mg^{2+} 浓度本身可能不会对 F_1F_0 -ATPase 复合体产生什么副作用. Mg^{2+} 的这种保护作用尚有待整体实验进一步研究.

参 考 文 献

- 1 Young R C, Ozols R F, Myns C E. *N Engl J Med*, 1981; **305**: 139—153
- 2 Ferrans B J. *Cancer Treat Rep*, 1978; **62**: 955—961
- 3 Nicolay K, Timmess R T M, Spoelstra E *et al.* *Biochim*

- Biophys Acta*, 1984; **778**: 359—371
- 4 Miller M C D, Carafoli E. *Eur J Biochem*, 1984; **140**: 447—452
- 5 Engineer F N, Sherma H M, Chandradhar D. *Biochem Arch*, 1992; **8** (4): 267—272
- 6 Bhanumaethi P, Saleesh E B, Vasudevan D M. *Biochem Arch*, 1992; **8** (4): 335—338
- 7 Goormaghtigh E, Huart P, Brasseur R *et al.* *Biochem Biophys Acta*, 1986; **861**: 83—94
- 8 Ye Jingjing, Lin Zhihuan. *Biochem Int*, 1990; **22** (2): 219—226
- 9 尤美莲, 杨福愉. *生物化学与生物物理学报*, 1985; **1**: 29—35
- 10 Senior A E, Brook J C. *J Biol Chem*, 1970; **240**: 257—266
- 11 林治焕, 乌 恩, 孙 珊等. *生物化学与生物物理进展*, 1981; (1): 53—56
- 12 李生广, 孙 珊. *生物化学与生物物理进展*, 1983; (5): 53—58
- 13 Lowry O H, Rose Brough N J, Farr A C *et al.* *J Biol Chem*, 1951; **193**: 53—60
- 14 Nicolay K, Ronald Van der N, Jaco J F *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1985; **819**: 55—65
- 15 Hong K L, Baldwin P A, Allen F M *et al.* *Biochemistry*, 1988; **27**: 3947—3955
- 16 Shinitzky M, Barenholz Y. *Biochim Biophys Acta*, 1978; **515** (4): 367—373
- 17 黄有国, 杨福愉. *生物物理学报*, 1990; **6** (3): 894—899
- 18 叶京京, 林治焕. *生物物理学报*, 1986; **2** (3): 207
- 19 Cullis P R. *Biochim Biophys Acta*, 1979; **559**: 399
- 20 Daum G. *Biochim Biophys Acta*, 1985; **822**: 1—42
- 21 Ben de Kruijff. In: Schweig H G ed. *International Cell Biology*, Berlin: Springer Verlag, 1980—1981: 559—571
- 22 Nicolay K, Van der Neut R, Fok J J *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1985; **819**: 55—68
- 23 Graeror D C. *Biochemie*, 1980; **62**: 733—739
- 24 Li S G, Zhang Y, Lin Z H. *J Bioenerg Biomembr*, 1987; **19**: 273—283

tation. CpG dinucleotides of p53 and Rb gene are easily methylated. Hypermethylation of the tumor-suppressor genes, with consequent gene inactivation and the loss of the suppression of the cellular proliferation, has been postulated as one of the potential mechanism for oncogenesis.

Key words tumor-suppressor gene, retinoblastoma, p53, methylation of DNA

Roles of Corpus Callosum in Early Visual Information Processing. Diao Yuncheng. (*Laboratory of Visual Information Processing, Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (1): 50

Results of a series of studies by this research group on the functional roles of the callosal connections in primary visual cortices were reviewed. Based on these, a topographical projection model of the vertical retinal bilaterally projecting strip was proposed, which not only agrees well with experimental results but also explains the necessity of the corpus callosum: signals conveyed by these fibers compensate information loss in the cortex due to the existence of retinal bilaterally projecting strip.

Key words visual cortex, corpus callosum, retinal bilateral projection

Recent Progress and Prospect in the Studies of Cell Biophysics. Zhang Jinzhu. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (1): 55

Recent studies of cell biophysics have been introduced about cell ultrastructure effects of physical factors on living cells, cellular motilities, ion channels and cellular signalling. Some progress in methodology for studying living

cells are also reviewed. It has been emphasized that the main purpose of cell biophysics is to understand the nature of the living cell in order to explain why and how the cell is alive. Accordingly, some questions and problems on principles and methodology have been discussed in this article as well.

Key words cell, biophysics, progress, prospect

The Protecting Effect of Mg^{2+} on the Changes of Cardiac Mitochondrial F_1F_0 Induced by Adriamycin. Lin Zhihuan, Li Shengguang, Cao Maosun, Chen Yunjun, Feng Chaoyang, Deng Junpeng. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (1): 61
Adriamycin (ADM) is a widely used anticancer drug, but the chronic cardiotoxicity severely limits the use of it in the treatment of neoplastic disease. The experimental results obtained from F_1F_0 -ATPase activity assay, ^{31}P -NMR spectra measurement, fluorescent probe NBD-PE detection, packing and fluidity of membrane lipids and intrinsic fluorescence measurements can be summarized as follows: ADM induces the phase transition of mitochondrial membrane lipids at first, as a consequence affecting on the lipid packing and fluidity of the lipid molecules and then influencing the conformation of the F_1F_0 -ATPase and finally resulting in the decreasing of the enzymatic activity. And Mg^{2+} can protect all the effects induced by ADM thus reducing the harmful effect of ADM.

Key words cardiac mitochondrial F_1F_0 -ATPase complex, Mg^{2+} , Adriamycin, non-bilayer-lipid, conformation

Vacuum Ultraviolet Circular Dichroism Studies