

管,其通透性都是高的^[11].再者有人在血管通透性比较高的肺泡表皮,肾小球和胎盘组织中均发现有高水平的 VEGF^[15].这些研究都使 VEGF 和癌性水肿结下了不能分隔的联系.

4 展 望

VEGFs 自发现以来,已经取得了令人激动的成果.人们发现除肿瘤外,胚胎发育,卵泡成熟,心血管疾病、关节炎等和血管生成及病变有关的疾病与 VEGFs 也有密切的关系.杨亚东等在动脉硬化斑块中检测到有 VEGF mRNA 的高表达^[7].对 VEGFs 进一步研究和利用,势必会对这些疾病的预防和治疗有重要价值,这要求我们寻找出在活体上可利用的、有效的阻断 VEGFs 活性的方法.一方面我们可以从基因调控上想办法,如抑制基因的转录活性,想法阻断第二信使通路的激活.另一方面可以用抗体中和 VEGFs 的作用,或想法阻断受体和它的结合.这样可能会对实体瘤的治疗和有效地控制癌性水肿创出一条新的路子.

遗传性的希佩尔-林道病 (ven hippel-lindau disease) 常伴有多发性肾透明细胞瘤和成血管细胞瘤,这二种瘤都有高表达的 VEGFs^[6].如果能进一步研究它们在基因结构上的改变和 VEGFs 在其中所起的作用,将有助于该病的治疗及弄清 VEGF 基因是否有改变.

根据 VEGFs 能促进新生血管生成的活性,可否能用 VEGF 为血栓患者更快更有效地建立新的侧支循环提供治疗,也可能为心肌梗

塞的恢复期治疗提供一条新的途径.另外还可作为体外难培养的血管内皮细胞减少培养上的难度.

参 考 文 献

- 1 Ferrara N, Henzel W J. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989; **161**: 851
- 2 Tischer E, Mitchell R, Hartman T *et al.* *J Biol Chem*, 1991; **266**: 11947
- 3 Myoken Y, Kayada Y, Okamoto T *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; **88**: 5819
- 4 Ferrara N, Winer J, Burton T *et al.* *J Clin Invest*, 1993; **91**: 160
- 5 Houck K A, Leung D W, Rowland A M. *J Biol Chem*, 1992; **267**: 26031
- 6 Berkman R A, Merrill M J, Reinhold W C *et al.* *J Clin Invest*, 1993; **91**: 153
- 7 杨亚东,周爱儒,李岱宗等. *高技术通讯*, 1993; **3** (5): 13
- 8 Millauer B, Witzigmann-voos S, Schnurch H *et al.* *Cell*, 1993; **72**: 835
- 9 Plate K H, Breier G, Weich H A *et al.* *Nature*, 1992; **359**: 845
- 10 Folkman J. *J Natl Cancer Inst*, 1990; **82**: 4
- 11 Dverak H F, Sioussat T M, Brown L F *et al.* *J Exp Med*, 1991; **174**: 1275
- 12 Kim K J, Li Bing, Winer J *et al.* *Nature*, 1993; **362**: 841
- 13 Breier G, Albrecht U, Sterrer S *et al.* *Development*, 1992; **114**: 521
- 14 Clatney K P, Wilkison W O, Spiegelman B M. *J Biol Chem*, 1992; **267**: 16317
- 15 Berse B, Brown L F, Van de Water L *et al.* *Mol Biol Cell*, 1992; **3**: 211
- 16 Roberts W G, Hasan T. *Cancer Res*, 1993; **53**: 153

RB 基因与肿瘤抑制

龚国胜 钱丽清*

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 RB 基因位于 13q14, 全长 150kb, 编码一个由 928 个氨基酸组成的分子量为 110 000 蛋白 (pp110RB). 它能特异性与 SV40 大 T, E1A 和 E7 结合. 在视网膜细胞中, RB 呈恒定组成性表达, 其

缺陷除引起 RB 外, 在骨肉瘤、乳腺癌、小细胞肺癌、软组织肉瘤及造血系统增生性疾病也有 RB 基因的突变. 把 RB 基因导入到基因缺陷的恶性肿瘤细胞能全部或部分抑制其恶性表现.

关键词 RB, 肿瘤抑制基因, 肿瘤抑制

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是一种高度恶性但可治愈的肿瘤, 起源于视网膜视锥或视杆细胞, 发病率为 1/20 000, 是儿童最常见的一种眼部肿瘤. 在遗传上 RB 可分为两类: 遗传性 RB (占 RB 部病人的 40%) 是常染色体隐性遗传, 每个子代有 50% 机率成携带者, 并且 90% 的携带者会发生 RB, 多发性或双侧 RB 是典型的遗传性 RB. 另外, RB 携带者发生其他部位的原发性肿瘤的机率极高, 如骨肉瘤和软组织肉瘤, 并且常常致死. 相反, 非遗传性 RB 往往是单侧单发性, 对其他肿瘤的易感性并不高. 然而, 大约有 15% 单侧 RB 是遗传性.

根据临床资料分析, Comings^[1] 认为两次丢失即可灭活能抑制 RB 形成的两个等位基因, 即具有一个 RB 突变的等位基因的个体, 只要视网膜母细胞的另一个 RB 等位基因发生第二次突变就会发生 RB. 在至少一个视网膜细胞, 发生第二次突变的机率高达 90%, 细胞发生突变的机率完全是随机的, 因此会出现双侧多发性 RB. 在散发性病例, 一个视网膜母细胞的两个 RB 等位基因的两次突变分别是两次随机突变, 第二次突变的机率很低, 并且往往发生于新生儿. 不仅 RB, 还有 Wilms 瘤、肾癌、脑膜瘤、听神经瘤和某些结肠癌等都支持二次突变的观点. RB 第二次事件是 13q14 上的 RB 基因位点的第二个拷贝丢失, 原因可能

有: 整条 13 号染色体丢失; 镜下可见的该部位缺失、亚显微缺失或突变; 发生体细胞重组. 最终结果是使细胞不存在正常的 RB 基因拷贝, 肿瘤细胞不合成 RB 蛋白, 或合成异常的 RB 蛋白. 对遗传性 RB 病人的视网膜母细胞进行核型检查发现少部分病人有 13 号染色体长臂的丢失, 在 RB 肿瘤细胞也检测到这种丢失. 在 RB 家系调查中发现家系的正常个体有双侧染色体 13q14 存在, 而 RB 患者仅有一侧 13q14.

1 RB 基因的结构

酯酶 D 基因也精确地定位于染色体 13q14^[2], 与 RB 基因紧密连锁. RB 基因全长 150kb, 包括中间一个 200kb 的大间区, 有 27 个外显子及 26 个内含子 (图 1), 外显子-内含子交界处是保守的 GT-AG 序列. 内含子和外显子的长度相差很大, 内含子 15 的全长序列已测定, 长 80bp, 是最小的内含子, 内含子 17 是最大的内含子, 长约 70kb, 最小的外显子 24 仅长 31bp, 而最大的外显子 27 长达 1889bp, 其中包括一个终止密码 (核苷酸 2924—2926). RB cDNA 末端 poly (A) 尾巴上游 16bp 处有一保守性多聚腺苷化信号 AATAAA. 比较外显子的交界处以及推断的氨基酸序列提示 RB 蛋白含有明显不同的功能区, 包括外显子 23 编码的 Pro 丰富区^[3,4].

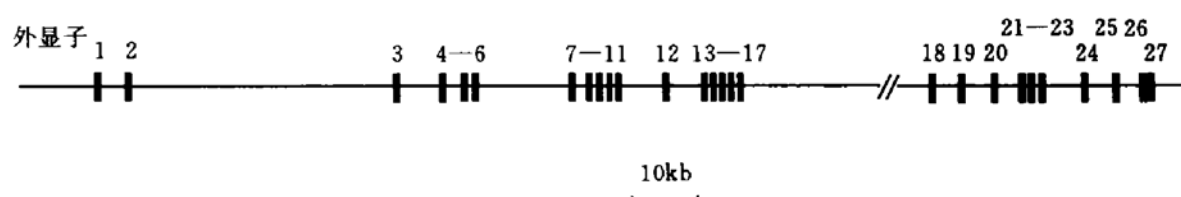


图 1 RB 基因的结构

外显子 1—27 的长度分别为 257, 127, 116, 120, 39, 68, 111, 143, 78, 110, 78, 88, 117, 57, 32, 77, 197, 119, 146, 146, 105, 114, 164, 31, 143, 50 及 1889bp.

RB cDNA 全长 4757bp, 有一个长的阅读框架, 其翻译起始点位于核苷酸 139—141 的 ATG, 因为从此点翻译的 RB 的分子量与体外 RB 基因的产物大小相当; 只有在 RB cDNA 5' 段 200bp 的核苷酸存在的条件下, 体外才能翻译出全长 RB 蛋白. 从此 ATG 翻译的蛋白有 928 个氨基酸, 分子量为 106 000. 一个 G+C 丰富区 (85%, 核苷酸 166—225) 编码一个特异序列 (AATAAAAAAEPPAPPPPPP, 肽段 10—29) 可能与特定功能有关; 另外, 从推断的氨基酸序列可以看出它含有一个类似其他核酸结合蛋白的亮氨酸-拉链 (leucin zipper) 样结构^[5].

RB 基因的第二个外显子含有 5' 端非翻译序列和起始 Met, cDNA 的长度 (4758bp) 与 mRNA 的长度 (4.7kb) 一致说明转录确实起始于这个外显子, 那么启动子也必然存在于这里, 体外实验证明转录起始点位于 cDNA +1 位^[4]. RB 基因启动子含有一个 G+C 丰富区, 缺乏 CCAAT 或 TATA 序列, 这些特征普遍存在于看家基因 (house-keeping gene).

应用抗 RB 蛋白多克隆抗体进行免疫沉淀发现正常细胞内的磷酸化 RB 蛋白的分子量是 110 000 (pp110RB), 在 5 种 RB 细胞没有发现 pp110RB. SDS-PAGE 显示分子量在 110 000—114 000 之间 RB 蛋白为非均一条带. 分子量大小的差异是因为磷酸化的程度不均一, 蛋白质印迹 (Western blotting) 也证实分子量在 110 000—116 000 的 RB 蛋白为非均一条带. 如果对 RB 蛋白进行脱磷酸处理, RB 蛋白是均一的分子量为 110 000 条带. 免疫细胞化学和细胞成分分离鉴定证明 RB 蛋白存在于细胞核. 鉴于 RB 蛋白的重要功能, 人们推测它可能在其它基因调控中起重要作用, 体外也发现 RB 蛋白可与 DNA-纤维素柱结合.

RB 蛋白能特异性与三种 DNA 肿瘤病毒 (SV40, 腺病毒和人类 16 型乳突状瘤病毒) 的转化蛋白结合, 即与 SV40 的大 T, E1A 和 E7 结合. 另外 SV40 大 T 抗原能优先结合非磷酸化的 RB 蛋白^[6], 说明 RB 蛋白的磷酸化是一

种有意义的化学修饰. 这些转化蛋白可能通过结合非磷酸化 RB 蛋白以阻断其生物功能. 然而, 这个推测有待进一步证实.

2 RB 基因的灭活机制

Y79 是第一个用来进行 RB 研究的细胞株, 最初发现 Y79 的 RB 基因结构大体上正常但有较小 (4.0kb) 的 RB mRNA 转录产物. 对其 cDNA 进行序列分析发现其丢失了相应于外显子 2—6 的 470bp 的核苷酸^[7], 染色体组 DNA 分析也同时发现相应于外显子 2—6 的 50kb 等位基因丢失^[8]. 因此, 杂合子外显子 2—6 的丢失是 RB 基因灭活的机制之一, 在 Y79 细胞株缺乏正常大小的 RB mRNA 及 RB 蛋白.

对丢失序列的末端进行序列分析表明 Y79 中 RB 的丢失并非与同源序列重组, 而是其本身的非正常重组而导致. 在 MDA-MB468 乳腺癌细胞也有这种丢失^[8], 这种丢失可能导致染色体折叠蛋白引起着丝点内在性组合. Vanin 等提出拓扑异构酶 (Top II) 会引起这种丢失.

在 RB “12”, LA-RB 74, LA-RB 125 和骨肉瘤 OHS-50, KS 81 以及小细胞肺癌 H 889 细胞株都常常有外显子 13—17 的丢失^[9—11], 在乳腺癌 BT-549 细胞株也有相应位置的丢失^[12], 外显子 13—17 的丢失会导致丢失点以后的基因发生读码漂移, 使翻译提前终止, 因而没有 RB 蛋白表达. 这一区域可能是突变的热点, 或者是 RB 功能的重要区. 以前认为外显子 1 是突变的热点, 因为在 Y79 和其他两种 RB 细胞株 WERI-RB 27 和 RB 335 都有相应染色体基因的重组而丢失.

在一些男性乳管癌和绝经前妇女乳管癌发现 13 号染色体标志丢失, 但没有 11 号染色体丢失. 乳管癌 MDA-MB 468 细胞的 RB 基因有两个拷贝的外显子 5—6 的 5kb 序列, 其转录产物 mRNA 也相应增大, 从而造成读码漂移, 翻译提前终止, 没有 RB 蛋白翻译^[3]. 在一个典型的软组织肉瘤: Synovial 肉瘤的新鲜

组织中也检测到增大的 RB mRNA^[13]. 家族性乳腺癌可能与 RB 等位基因外显子 3—27 (长约 200kb) 的丢失有关^[8].

大多数肺癌无遗传倾向, 小细胞肺癌有明显染色体 3p14-21 的丢失, 此段可能含有小细胞肺癌抑制基因 (SCLC). 有些肺癌有 13 号染色体标志的丢失^[14]. 原发性肺癌有 RB 基因结构表达的异常, 这可能与 RB 重组、丢失、点突变以导致 RB 基因灭活有关^[11], 其机理与 RB 相似. 乳腺癌和小细胞肺癌与遗传性 RB 无关, 但是如何解释这些癌症病人的 RB 基因突变呢? 因为 RB 病人不会活到足够长的时间至再发生第二次癌症, 如原发性乳腺癌或小细胞肺癌. 3 和 11 号染色体分别含有小细胞肺癌和乳腺癌抑制基因, RB 基因的灭活在这些肿瘤

的发生中仅起到次要作用.

膀胱癌 J82 有较小的 RB 蛋白, 它不能与 E1AA 结合, 进一步证实其 mRNA 的外显子 21 丢失, 因为染色体基因的内含子 20 的剪接位点 AG 突变为 GG 造成异常转录^[15]. 在前列腺癌也有 RB 蛋白的缺失, 其缺失部位也是 21 外显子, 但内含子 20 的剪接位点没有发生突变^[16], 因此其 RB 基因是以一种与上述不同的机制而灭活的.

在一组造血系统增生性疾病如红细胞增多症、骨髓纤维化、骨髓发育不良、白血病综合征和慢性淋巴细胞白血病等有染色体 13q 的丢失, 有些白血病和淋巴细胞株有 RB 基因产物的异常^[17], RB 基因的失活可能也与这些肿瘤的发生有关. 肿瘤组织中 RB 基因的突变见表 1.

表 1 肿瘤组织中 RB 基因的突变机理

肿瘤细胞株	突变机理	参考文献
Y79, WERI-RB27, RB355	外显子 1 丢失	[7,8]
Y79, 乳腺癌 MDA-MB468	外显子 2—6 丢失, mRNA 及蛋白变小	[7,8]
RB“12”, LA-RB74, LA-RB125, 骨肉瘤 OSH-50, KS81, 小细胞肺癌 H889, 乳腺癌 BT-549	外显子 13—17 丢失, 读码漂移, 翻译提前终止	[9—12]
乳腺癌 MDA-MB468	两拷贝的外显子 5—6, 读码漂移, 翻译提前终止	[3]
乳腺癌 MDA-MB468	外显子 3—27 丢失	[8]
膀胱癌 J82, DU145, 前列腺癌	外显子 24 丢失, RB 蛋白变小	[15,16]
骨肉瘤 Saos-2	外显子 21—27 丢失, mRNA 及蛋白变小	[10]
小细胞肺癌, 造血系统增生性疾病, 乳管癌, 软组织肉瘤等	不明	[17]

对肿瘤组织的分析显示 RB 基因的灭活有多种方式, 包括 RB mRNA 完全缺失、表达大小异常的 RB mRNA 不能翻译为 RB 蛋白或表达大小异常的 RB 蛋白. 如果 RB 基因的活性有赖于其基因的正常产物, 那么 RB 蛋白的完全缺乏无疑会导致基因的失活. 然而, 突变的异常 RB 蛋白是没有功能的, 但这些异常 RB 蛋白对研究 RB 蛋白的功能及生化特性是有意义的. 例如, 骨肉瘤 Saos-2 细胞的 RB 产物是一个 C 端缩短的分子量为 95 000 蛋白, 与正

常 RB 蛋白相反, 它不能与 SV-40 大 T 抗原结合形成复合物, 被丢失的区域相应于 RB 基因外显子 21—27. 正常 RB 蛋白能够抑 Saos-2 细胞致癌性, 而 Saos-2 细胞株的 RB 基因无疑是灭活的. 因此, RB 蛋白的 C 端区域对于 RB 蛋白的抑制肿瘤活性显得重要.

J82 和 DU145 细胞的突变 RB 蛋白因丢失外显子 21 编码的 35 个氨基酸而不能与 SV-40 大 T 抗原和腺病毒 E1A 形成复合物, 正常 RB 蛋白也能抑制 DU145 的致癌性, 因此这一丢

失的区域也是 RB 蛋白的肿瘤抑制活性的重要区域. 可见, 突变 RB 蛋白有助于研究 RB 蛋白的结构与功能的关系.

3 RB 基因的功能

RB 基因是第一个被克隆的肿瘤抑制基因, 然而对其功能的研究才刚刚开始. 目前有两种观点认为: a. RB 基因的产物是一个负生长调控因子, 其缺陷将引起细胞无限生长与繁殖; b. RB 蛋白有促进细胞分化的作用, 限制细胞的生长与繁殖. 两种假说都认为 RB 基因的产物对其他基因具有调控作用. 以前的研究证明 RB 蛋白存在于细胞核, 能与 DNA 结合, 并且与一些细胞核癌基因产物如 myc 和 fos 相似, 野生型 RB 蛋白在体外能使 Saos-2 或 WERI-Rb 27 细胞形态改变并生长缓慢. 那么, RB 基因到底是主分化还是增殖, 现在还不十分清楚.

RB 基因在增殖的正常细胞和肿瘤细胞、分化组织(如成人脑)都有表达, 并且其启动子具有看家基因的特征. 因此, 没有发现 RB 基因的明显转录调控因素. 另外, SV40 大 T 抗原优先与非磷酸化 RB 蛋白结合说明磷酸化是 RB 蛋白功能的重要调节因素^[6]. 有人观察到在快速分裂的的培养细胞中主要是以磷酸化 RB 蛋白为主, 在高密度培养细胞或整个组织中以非磷酸化形式为主. 为了进一步明确 RB 基因在细胞周期中的作用, Chen^[18]对植物血凝素刺激前和刺激后的外周淋巴细胞进行了研究, 发现非磷酸化 RB 蛋白仅存在于静止期细胞, 磷酸化形式出现在细胞进入 S 期时和 DNA 快速合成期. 在 G1/S 期之间的细胞中磷酸化 RB 蛋白达高峰, 过了 S 期后 RB 蛋白主要为非磷酸化形式. 因此, RB 蛋白的磷酸化程度与细胞周期有关, 但不知道它对细胞周期是正调节还是负调节.

表 2 其它肿瘤抑制基因

基因	染色体	活性	肿瘤
WT	11p13	锌-指状蛋白	Wilms 瘤
p53	17p	抑制 RAS 的转化作用, 与 SV40 大 T, E1A, E7 结合而被灭活、降解	小鼠红白血病, 结肠、脑、乳腺、肺、肝、膀胱等肿瘤
DCC	18q18-21	位于细胞表面, 属于 Ig 家族, 与神经细胞粘附因子同源	结肠癌
NF-1	11q11-12	与 rasGAP 及酵母 IRA 同源, 有 GAP 活性, 对 ras p21 专一	神经纤维瘤, 肉瘤
FAP	5q15-22	性质不明	结肠腺瘤, 结肠腺癌
SCLC	3p21	受体型蛋白磷酸酯酶	小细胞肺癌
K-REV I (RAP-1A)		21kD 蛋白, 与 p21 有 50% 左右同源性, 对抗 RAS 的转化活性	不明

有些细胞如 HL-60, U-937 和 MOLT-4 在外源因素的作用下能进行终端分化, 在这些细胞内, RB 蛋白全部呈磷酸化形式^[18]. 但不知道磷酸化的程度与细胞分化的正调节有关还是其本身受到细胞分化的调节. 在反转录病毒肿瘤 Saos-2 细胞中, 外源 RB 的引入能抑制肿

瘤, 并且能稳定表达外源 RB 基因. 当引入 RB 基因的 Saos-2 细胞注入到裸鼠肋部会长出小的骨样结节, 组织化学检查这些结节是成熟的骨组织并含有骨髓. 而没有外源 RB 基因的肿瘤细胞能引起大的成骨肉瘤^[19]. 可见, RB 蛋白能促进 Saos-2 细胞的分化, 也是 RB 基因抑

制肿瘤的机制。

除 RB 基因外, 人们还发现了一些与 RB 基因类似的其他肿瘤抑制基因 (表 2)^[20]。如果肿瘤抑制基因的失活是肿瘤的发病机制, 那么通过基因治疗以恢复肿瘤抑制基因的功能无疑是治疗这些肿瘤的一个新途径。尽管人们还不十分清楚一个或多个肿瘤抑制基因的灭活是否已足够使细胞癌变, 但对肿瘤细胞已失活的肿瘤抑制基因进行基因替换和修复以治疗临床恶性肿瘤已成为一个新兴的治疗手段。与传统治疗方法如细胞毒性治疗不同, 基因治疗将会永久性修复受损的基因, 并对正常细胞无损伤作用, 这一策略的最终实现有待新的突破。

参 考 文 献

- 1 Comings D E. Proc Natl Acad Sci USA, 1973; **70**: 3324
- 2 Sparkes R S, Sparkes M C, Willson M G *et al.* Science, 1980; **208**: 1042
- 3 Bookstein R, Lee E Y H P, To H *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1988; **85**: 2210
- 4 Hong F D, Huang H J S, To H *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1989; **86**: 5502
- 5 Landschulze W H, Johnson P F, McKnight S L. Science, 1988; **240**: 1759
- 6 Ludlow J W, DeCaprio J A, Huang C M *et al.* Cell,

1989; **56**: 57

- 7 Lee E Y H P, Bookstein R, Young L J *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1988; **85**: 6017
- 8 Bookstein R, Lee E Y H P, Peccei A *et al.* Mol Cell Biol, 1989; **9**: 1628
- 9 Friend S H, Horowitz J M, Gerbert M B *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1987; **84**: 9059
- 10 Toguchida J, Ishizaki K, Sasaki M S *et al.* Cancer Res, 1988; **48**: 3939
- 11 Harbour J W, Lai S H, Whang-Peng J *et al.* Science, 1988; **241**: 353
- 12 T' Aag A, Varley J M, Chakreorty S *et al.* Science, 1988; **242**: 263
- 13 Mendoza A E, Shew J Y, Lee E Y H P *et al.* Hum Pathol, 1988; **19**: 487
- 14 Yokota J, Wada M, Shimosato Y *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1987; **84**: 9252
- 15 Horowitz J M, Yandell D W, Park S H *et al.* Science, 1989; **243**: 937
- 16 Rappolee D A, Mark D, Banda M J *et al.* Science, 1988; **241**: 708
- 17 Fitchett M, Griffiths M J, Oscier D G *et al.* Cancer Genet Cytogenet, 1981; **24**: 143
- 18 Chen P L, Scully P, Wang J Y J *et al.* Cell, 1990; **58**: 1193
- 19 Huang H J S, Yee J K, Shew J Y *et al.* Science, 1988; **242**: 1563
- 20 Vogelstein B, Kinzler K W. Cell, 1992; **70**: 5

细胞电穿孔与电融合的机理及应用

汪和睦 汪 洲

(南开大学物理系, 天津 300071)

摘要 近十余年来, 由于细胞生物学家、分子生物学家、免疫学家与物理学家之间在学术上的相互渗透、共同实验, 已经开辟出一个生物物理技术的新领域。它既涉及细胞电磁场效应及其机理的基础研究; 同时作为一种新的生物技术, 又涉及对分子生物学、细胞生物学、免疫医学以及医药、食品、农业等方面的广泛应用。文章综述了本领域的最近进展。

关键词 细胞电穿孔, 细胞电融合, 生物技术

1 细胞电磁场效应及其机理的研究

1.1 单细胞电介质电泳频谱研究

在交流 (AC) 非均匀电场作用下, 细胞受

到电介质电泳力 F_{DEP} 的作用, 理论表明:

$$F_{\text{DEP}} = 2\pi a^3 \epsilon_0 \epsilon_1 R_e [K_{\text{eff}}^*] \nabla E^2$$

收稿日期: 1993-06-11, 修回日期: 1993-10-05

inflammation

The Newest Progress of Protein Kinase C. Yang Yu, Yu Bingzhi. (*Department of Biochemistry, China Medical University, Shenyang 110001*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; **21** (4): 308—312

Diacylglycerol (DAG), as the second messenger to activate protein kinase C (PKC), may be derived not only from hydrolysis of phosphatidylinositol (PtdIns), but also from hydrolysis of phosphatidylcholine (PC), in which phospholipases of the type C and D (PLC and PLD) participate. Fatty acids (FA), the products of phospholipases A₂ (PLA₂) also activates PKC. PKC has at least 10 subspecies and 3 group, namely classical PKC, new PKC and atypical PKC. PKC also participates in regulation of gene expression.

Key words protein kinase C, diacylglycerol, phospholipase C, phospholipase D, phospholipase A₂, subspecies

Vascular Endothelial Growth Factor and Tumors. Xiu Bo, Zhou Airu. (*Department of Biochemistry, Beijing Medical University, Beijing 100083*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; **21** (4): 312—317

Vascular endothelial growth factor (VEGF) with paracrine mechanism has recently been identified. Its growth-promoting activity is specific for vascular endothelial cells *in vitro*. VEGF also stimulates angiogenesis and increases blood vessel permeability *in vivo*. Because its bioactivity has a direct bearing on the growth of solid tumors, the researches on VEGF have been paid a good deal of attention and made good progress.

Key words VEGF, vascular permeability factor, vascular endothelial cell, tumor, gene

expression

RB Gene and Tumor Suppression. Gong Guosheng, Qian Liqing. (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; **21** (4): 317—322

The RB gene is located at chromosome 13q14 which spans more than 150kb, with one internal gap, and its product is a phosphoprotein of about 110kD which is constantly expressed in normal retina cells. The RB Protein can specifically bind to SV40 large T, E1A and E7 antigens. The deficiency of the RB gene is the cause of retinoblastoma. Besides, RB gene mutations are detected in osteosarcomas, breast carcinomas, small-cell lung cancer (SCLC), soft-tissue sarcomas and hematopoietic proliferative disorders. The tumorigenicity can be partially or totally suppressed by introducing the RB gene into the tumor cells.

Key words RB, tumor suppressor gene, tumor suppression

Mechanism and Application of Cell Electroporation and Electrofusion. Wang Hemu, Wang Zhou. (*Department of Physics, Nankai University, Tianjin 300071*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China), 1994; **21** (4): 322—326

In recent over ten years, owing to the mutual permeation and the coexperiments of biologists and physicists, a new field of biophysical technology was born and has grown up. It not only involves the basic study of cell electromagnetic effect and its mechanism, but also, as a new field in biotechnology, it relates to the wide application of many other fields, such as molecular biology, cellular biology, immunology, medicine, food and agriculture. The newest progresses in this field are summa-