

γ -氨基丁酸对不同年龄大鼠大脑皮层 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力的影响

张 瑾 梁世英 张建伟

(中国科学院上海生理研究所)

γ -氨基丁酸(GABA)是脑中一种抑制性神经递质,它在神经元活动中具有重要的功能^[1]。小鼠大脑皮层的 GABA 随年龄的增长而增加,而 Ca^{++} , Mg^{++} 激活的 ATP 酶又是脑代谢中两个重要的酶^[2]。在脑发育和老化过程中 GABA 的变化是否与 Ca^{++} 、 Mg^{++} 激活的 ATP 酶活力有关,目前不清楚。本文比较了 GABA 对不同年龄大鼠大脑皮层的 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力的影响。

一、实验方法

1. 实验动物 不同年龄的大鼠: 1) 新生动物, 出生后 3—5 天, 2) 成年动物, 出生后 3—4 个月, 3) 老年动物, 出生后 1.5—2 年。动物断头处死, 在低温下(0° — 4°C)迅速取出左右两半球皮层分别匀浆。

2. 匀浆的制备 制备匀浆用 0.2M 甘氨酸甘氨酸缓冲液, $\text{pH} = 7.4$ (甘氨酸甘氨酸溶液加固体 Tris 调至 pH 为 7.4 置冰箱中备用)。大脑两半球皮层分别称重后迅速放入盛有甘氨酸甘氨酸缓冲液的匀浆管中在冰浴中分别匀

浆, 脑组织与缓冲液的重量比为 1:20。取一半球皮层的匀浆做对照, 另一半球皮层的匀浆加 GABA。

3. 酶活力的测定

(1) 酶反应保温液 Ca-ATP 酶与 Mg-ATP 酶反应保温液中脑匀浆与反应液的体积比为 1:10。GABA 的最终浓度为 4×10^{-6} 克分子/毫升保温液。Ca-ATP 酶反应液总体积为 1.0 毫升。各试剂的最终浓度: 底物 Na-ATP 为 0.005M, NaCl 为 0.003M, 甘氨酸甘氨酸为 0.1M, CaCl_2 为 0.003M。Mg-ATP 酶反应液总体积 2 毫升, 其中除不含 NaCl 和 CaCl_2 外, 尚含有 0.007M 的 KCl 和 0.007M 的 MgCl_2 。

(2) 酶反应条件 在 37°C 保温 20 分钟。

(3) 测定方法 酶反应 20 分钟后用冰冷的三氯醋酸终止反应, 3000 转/分, 离心 10 分钟, 1) 取上清液用修改的 Fiske 和 Subbarow 微量方法测无机磷酸; 2) 沉淀消化后用 Folin 方法测蛋白含量。

(4) 酶活力的表达 酶活力以 1 毫克蛋白在 1 小时内水解的磷的微克分子表示之(微克

表 1 GABA 对不同年龄大鼠大脑皮层 Ca-ATP 及 Mg-ATP 酶活力的影响

	Ca-ATP 酶活力				Mg-ATP 酶活力			
	对 照	+GABA	变化%	p 值	对 照	+GABA	变化%	p 值
新生	2.32 ± 0.21 (10)	3.40 ± 0.28 (10)	+46.60	<0.02	2.00 ± 0.28 (9)	2.88 ± 0.41 (9)	+44.00	<0.05
成年	3.30 ± 0.25 (15)	4.31 ± 0.32 (15)	+30.61	<0.02	3.61 ± 0.32 (17)	4.58 ± 0.28 (17)	+26.87	<0.05
老年	3.12 ± 0.1 (9)	3.85 ± 0.2 (9)	+23.40	<0.01	3.19 ± 0.16 (9)	4.77 ± 0.29 (9)	+49.53	<0.001

() 内数字表示实验动物数目, 酶活力以微克分子磷/毫克蛋白/小时表示。

分子磷/毫克蛋白/小时)。

二、实验结果与讨论

表 1 实验结果表明:

(1) 大脑皮层 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力在发育过程中随年龄的增长而增加。由新生至成年皮层的 Ca-ATP 酶活力分别为 2.3 和 3.3 微克分子磷/毫克蛋白/小时, 酶活力增加 42.3% ($p < 0.01$), Mg-ATP 酶活力分别为 2.00 和 3.61 微克分子/毫克蛋白/小时, 酶活力增加 80.5% ($p < 0.01$)。但在老化过程中该二酶的活力无变化。

(2) GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 在体外对不同年龄大鼠大脑皮层匀浆的 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力皆有显著的提高作用, 如对新生动物大脑皮层 Ca-ATP 酶和 Mg-ATP 酶活力分别升高 46.6% 和 44.0%; 成年的分别升高 30.6% 和 26.9%, 老年的分别升高 23.4% 和 49.5%。

由以上结果可以看出, 大脑皮层 Ca^{++} 、

Mg^{++} 激活的 ATP 酶活力随发育过程而升高, 而在老化过程中不变。GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 对该二酶的活力在发育和老化过程中皆有显著的提高作用。虽然 GABA 对老年大鼠大脑皮层匀浆 Ca-ATP 酶活力的增高值 (23.4%) 似有比成年和新生大鼠的酶活力增高值 (30.6% 和 46.6%) 低, 以及对成年大鼠皮层匀浆 Mg-ATP 酶活力的增高值 (26.9%), 又有比新生和老年的酶活力增高值 (44.0% 和 49.5%) 低的趋势, 但这种程度上的不同经统计学处理, p 值皆 > 0.2 。因此, GABA (4×10^{-6} 克分子/毫升) 对大脑皮层匀浆的 Ca^{++} 、 Mg^{++} 激活的 ATP 酶活力的增高作用不因年龄不同而改变。

参 考 文 献

- [1] Tappaz, M. L.: *Amino Acids as Chemical Transmitters* (Ed. Frode Fonnum), Plenum Press, 193, 1978.
- [2] Hess, H. H. et al.: *J. Neurochem.*, 3, 287, 1959.

[本文于1981年3月13日收到]

利用扰动角关联方法研究输铁蛋白分子的核辐射损伤

倪新伯 徐金龙 金汉生 尹端让 胡妙君

(中国科学院上海原子核研究所)

由于辐射生物学的发展, 人们对辐射对生物大分子、单细胞和高等生物的作用机理了解的越来越深刻, 但是距离透彻了解还差得很远。

当今人们经常利用多种实验手段, 从各个侧面揭示事物的微观特性。本工作将扰动角关联这个核技术方法, 用于生物大分子核辐射损伤的研究。以 ^{111}In 作为核探针, 标记在输铁蛋白分子上, 经不同剂量的 γ 射线照射后作扰动角关联测量, 观察输铁蛋白分子参量的变化, 以期为此领域的研究提供一个揭示分子内部结构情况的生物物理方法。

本实验的初步结果表明, 扰动角关联方法

用于生物大分子核辐射损伤机理的研究是有用的, 而且具有较高的灵敏度。

一、基本 原 理

一个放射性原子核, 通过中间核态级联放出两个 γ 射线的 γ - γ 角关联, 在一个无场的空间中, 只依赖于级联 γ 跃迁有关的三个能级的自旋(初态 I_a , 中间态 I_b 及末态 I_c) 和 γ 射线的多极性 (L_1 和 L_2), 此时角关联函数可以写成:

$$W(\theta) = 1 + \sum_{K=2,4,\dots} A_K P_K(\cos\theta) \quad (1)$$