

简 报

不同转移表型肺腺癌细胞磷脂酰肌醇的合成

彭愈生 马玉彦 于敬海*

(哈尔滨医科大学肿瘤研究所, 哈尔滨 150040)

陈美征 张 静

(黑龙江省病毒研究所, 哈尔滨)

关键词 磷脂酰肌醇 (PI), 肺腺癌细胞系 (AGZY_{83-a}), 高转移性肺腺癌细胞亚系 (Anip₁₂₁₁), 转移表型

Fidler 于七十年代从 B₁₆ 瘤细胞系分离出转移性高低不同的细胞亚群。又证实某些信息分子可使其互变。许多学者对高转移性和低(或不)转移性癌细胞的酶、脂类等进行了比较^[1], 但迄今为止, 对两者生物学特性的差异尚无定论。本文通过同位素标记法, 对高转移性及低(或不)转移性肺腺癌细胞磷脂酰肌醇(PI)的合成进行了研究。证明两者有明显差异。

材 料 和 方 法

磷脂酰肌醇等标准品系 Sigma 产品, RPMI 1640 培养液为 Life Technologies 产品, [³H] 肌醇为 New England Nuclear 产品, 其它试剂均为国产分析纯。

将高转移性肺腺癌细胞亚系 (Anip₁₂₁₁) 和低(或不)转移性肺腺癌细胞系 (AGZY_{83-a}) 置于 RPMI 1640 液中, 补充 15% 小牛血清加链霉素 1×10^3 U/1000ml, 青霉素 1×10^3 U/1000 ml。在 37℃ 培养箱中充以 5% CO₂ 进行培养。将 [³H] 肌醇加入细胞培养液中 ($10 \mu\text{Ci}$ [³H] 肌醇/ 5×10^6 细胞/ml), 37℃ 培养 7h。按时取出培养瓶, 离心, 弃去上清液, 用冷的等渗磷酸盐缓冲液洗。加甲醇/氯仿/水 (0.35:0.7:0.2, 体积比) 提取磷脂。3500 r/min 离心, 取氯仿层, 氮气吹干, 加入少许氯仿/甲醇 (5:1) 点样, 标准品于同一薄层板同时点样, 进行薄层分离。展开剂用氯仿/甲醇/氨水 (13.5:6.5:1.0 体积比)。将 [³H] 色斑刮下, 测放射活性。用 Lowry 法进行蛋白含量测定。

实 验 结 果

Anip₁₂₁₁ [³H]PI 的合成, 由图 1 所示。7h 内 cpm 值随时间延长呈直线上升, 由 1h 的 12543 增至 7h 的

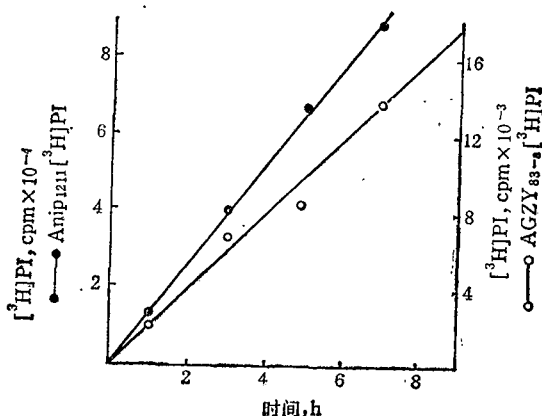


图 1 Anip₁₂₁₁ PI 和 AGZY_{83-a} PI 中 [³H] 肌醇的掺入 86958。

一定数量细胞 (5×10^6), [³H]PI 的含量及每毫克蛋白质 [³H]PI 的含量见表 1。保温 7h [³H]PI 含量达 $0.49 \text{ nmol}/5 \times 10^6$ 细胞, 每毫克蛋白质 [³H]PI 的含量达 0.88 nmol 。

AGZY_{83-a} [³H]PI 的合成 (图 1), [³H]PI 含量随时间的延长逐渐增加。保温 7h 内, [³H]PI 含量的增加呈直线上升的趋势。 [³H]PI 的 cpm 值由 1h 的 2018 增至 7h 的 13520。一定数量细胞, 每毫克蛋白质 [³H]PI 的含量见表 1。保温 7h [³H]PI 含量达 $0.07 \text{ nmol}/5 \times 10^6$ 细胞, $0.117 \text{ nmol}/\text{mg}$ 蛋白质。

讨 论

现已证实 PI 代谢和某些信息分子作用的机理密

* 哈尔滨医科大学化学教研室。

表1 Anip₁₂₁₁ 和 AGZY_{83-a} 相同细胞数及每毫克蛋白质中 [³H]PI 的含量

保温时间 (h)	[³ H]PI nmol/5 × 10 ⁶ 细胞		[³ H]PI nmol/mg 蛋白质		P
	Anip ₁₂₁₁	AGZY _{83-a}	Anip ₁₂₁₁	AGZY _{83-a}	
1	0.07±0.011	0.01±0.0004	0.13±0.012	0.017±0.0009	<0.01
3	0.22±0.01	0.03±0.0056	0.39±0.012	0.057±0.0042	<0.01
5	0.37±0.015	0.04±0.006	0.67±0.00017	0.068±0.003	<0.01
7	0.49±0.031	0.07±0.0026	0.88±0.0047	0.117±0.003	<0.01

均数±标准误 (SE)

(n = 3)

切相关。转移性癌细胞的形成也需信息分子作用,但信息分子、PI 代谢和转移之间的关系还是一个谜。因此,对转移性癌细胞中 PI 代谢的研究,不仅有利于不同转移表型癌细胞的鉴别,更有助于转移机理的探讨。

实验表明, Anip₁₂₁₁ 和 AGZY_{83-a} PI 中 [³H] 肌醇的参入有明显差异。按相同细胞数 (5 × 10⁶) [³H] PI 含量计算,保温 1h,前者为后者的 7 倍。3h,前者为后者的 7.3 倍。5h,7h 分别为 9.25 倍、6.3 倍。按每毫克蛋白质 [³H] PI 含量计算,保温 1h,前者为后者的 7.6 倍。3h 为 6.8 倍。5h,7h 分别为 9.8 倍、8 倍。以上结果证实 Anip₁₂₁₁ 中 [³H] 肌醇的参入明显多于 AGZY_{83-a}。这可能是由于前者 PI 标记效应比后者表现突出,或/和前者 PI 合成酶 [CDP-1, 2-二酰基-sn-甘油: myo-肌醇 3-磷酸转移酶 (EC2. 7. 8. 11)] 活性较高所致。PI 作为 PI 代谢库^[2]中磷脂酰

肌醇 4, 5-二磷酸 (PIP₂)^[3] 的前身,两者含量保持一定平衡。因此, Anip₁₂₁₁ 为 PIP₂ 的生成提供了更丰富的资源,可以推测,高转移性癌细胞可能需要更多的 PIP₂。

综上所述,两种细胞 PI 的合成有明显的差异。此差异是两种不同转移表型肺癌细胞所具有的和信息传递密切相关的特征之一。

参 考 文 献

- 1 Nicolson G L. *Biochim Biophys Acta*, 1982; 695: 113
- 2 Whitman M. *Biochim Biophys Acta*, 1988; 948: 327
- 3 彭愈生. 细胞生物学杂志(增刊), 1988; 11

[本文于 1989 年 12 月 4 日收到,

1990 年 3 月 19 日修回]

(上接第 76 页)

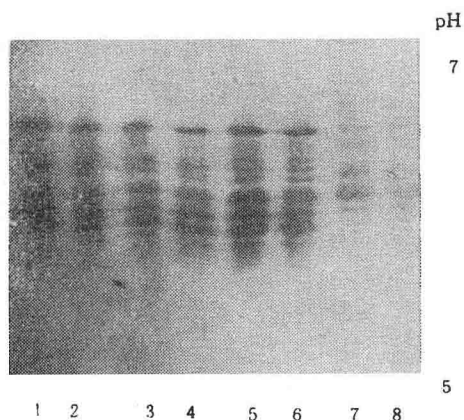


图1 人眼晶状体可溶性蛋白质等电聚焦电泳图谱

1—6 是不同处理时间的样品, 7, 8 是对照(未处理)样品

解质制成等电聚焦凝胶,测定人眼晶状体可溶性蛋白质,实验结果表明电泳图谱清晰(图1),重复性好,国产与进口试剂效果相同,不同批次的两性电解质,其电泳谱带稍有不同,但不影响结果分析。

二、配制凝胶,有些学者加入表面活性剂(Triton X-100)^[2],我们的实验结果表明,加入表面活性剂,对试验结果没有影响,但使制胶溶液很易产生气泡,所以不加表面活性剂为好。

三、染色液的微粒,一定要用滤纸滤去,否则微粒附在凝胶表面,不易洗脱。

四、凝胶等电点的测定,可用等电聚焦电泳的标准蛋白质对照,或用表面电极测定,限于条件,我们未进行此两项实验。我们将精密 pH 试纸剪成小条,电泳完毕后,将其插入凝胶的边上,按所显示的颜色记下所在位置 pH 值后,将凝胶固定染色,这样可以大概知道蛋白质的等电点。

参 考 文 献

- 1 邹辉琼,陈章林,邓水生. 生物化学与生物物理进展, 1989;16(5): 401
- 2 殷勤伟,薛社普. 细胞生物学杂志, 1989;11(2): 85

[本文于 1989 年 10 月 24 日收到,

1990 年 1 月 9 日修回]