

的分子,就有两个来自蛋白质降解的非标记分子同时进入细胞内库。由于 A_c/A_o 表示转膜浓度梯度, $A_i = 1620\text{dpm/nmol}$ 就意味着从细胞外库进入两个比放射性为 2700 的分子,将有三个来自细胞内库比放射性为 900 的分子一道装在 tRNA 上。然后,按下列方程

$$R_d = R_{cm} - R_{mc} \quad (17)$$

$$R_i = R_{mo} + R_{mi} \quad (18)$$

$$R_i = R_{mc} + R_{mo} \quad (19)$$

$$R_o = R_{cm} - R_{mi} \quad (20)$$

计算蛋白质降解及氨基酸转移速率,分别为:

$$R_d = 100, R_{cm} = 150,$$

$$R_{mc} = 50, R_{mo} = 50,$$

$$R_{mi} = 75, R_i = 100,$$

$$R_o = 75\text{nmol Val/min/L100}.$$

4. 间接法 前已述及,用衰减曲线法测定总蛋白质降解速率会受到更新速率不均一的影响;实验证明,只要掺入时间限制在数小时内,那么,从掺入速率测定总蛋白质合成速率就不受此影响^[8]。因此,可以从蛋白质合成与净增长之差间接估计降解速率常数:

$$K_d = K_i - K_g \quad (21)$$

式中, K_g 是蛋白质增长速率常数(增长速率被蛋白质质量除)。增长速率以蛋白质含量对时间作图求得。

第一次肯定动物体内蛋白质更新就是以同位素示踪实验为根据的。目前,同位素示踪法仍然是研究组织蛋白质更新的主要方法。随着蛋白质更新速率测定技术的发展,人们对蛋白质更新的机理、意义和调控的理解,定会出现新的飞跃。

本文承王世真教授审阅,谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Doyle, D. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 5449, 1969.
- [2] Peters, T. Jr. et al.: *J. Biol. Chem.*, **247**, 3858, 1972.
- [3] Garlick, P. J. et al.: *Biochem. J.*, **136**, 935, 1973.
- [4] Scornik, O. A.: *J. Biol. Chem.*, **249**, 3876, 1974.
- [5] Mathews, R. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, **248**, 1329, 1973.
- [6] Mathews, R. W. et al.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **61B**, 479, 1978.
- [7] Swick, R. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, **249**, 6836, 1974.
- [8] Garlick, P. J. et al.: *Biochem. J.*, **156**, 657, 1976.
- [9] Doyle, D. et al.: *Methods Cell Biol.*, **10**, 235, 1975.
- [10] Arias, I. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 3303, 1969.
- [11] Glass, R. D. et al.: *J. Biol. Chem.*, **247**, 5234, 1972.
- [12] Dice, J. F. et al.: In *Protein Turnover and Lysosome Function*, (ed by Segal, H. L. and Doyle, D. J.) p 105, Academic Press, New York, 1978.
- [13] Khairallah, E. A.: *ibid.*, p 89, 1978.

[本文于1983年9月19日收到]

小资料

透析袋处理

1. 把透析袋裁成适当长度(10~20cm);
2. 于大量 2% NaHCO₃, 1mM EDTA 溶液中煮沸十分钟;
3. 用蒸馏水把透析袋洗净;
4. 于蒸馏水中煮沸 10 分钟(或将透析袋放于充满水的容器中,高压灭菌 10 分钟);
5. 冷却, 5℃ 存放于水中。切记一定要浸于水中;
6. 使用之前,用蒸馏水洗净透析袋内外壁,拿透析袋应戴手套。

分光光度法测定 DNA 或 RNA 含量

若样品纯度较高(即蛋白质、酚、琼脂糖或其他核酸的污染量不大),用紫外分光光度法即简便又准确。测定时,于 260 nm 与 280nm 两个波长下读数。通过 260nm 的读数可计算出样品中核酸的浓度,即 10. D. 260 相当于 50 μg/ml 双链 DNA, 40μg/ml 单链 RNA 或单链 DNA 及 20μg/ml 寡核苷酸。通过 260、280nm 读数的比值(OD₂₆₀/OD₂₈₀)可确定核酸溶液的纯度,纯 DNA 和 RNA 制剂此比值分别为 1.8 和 2.0。如果核酸样品中蛋白质或酚污染,此比值会显著下降,用分光光度法无法定量。

[*Molecular Cloning*, 1982. 吕俊宣, 吴雷摘译]