

活力保持 94.8%，残余氨基为 64%。由此确定本文最适修饰时间，溴化氰法为 12 小时，均三嗪和高碘酸钠法分别为 1 和 4 小时，与文献^[2,7,8]基本一致。可见用不同方法活化的修饰剂其偶联反应的能力是不同的。为了在较好地保持酶活力的前提下有更多的自由氨基被修饰，则需要根据不同活化方法选择不同的修饰时间。

荧光光谱及其残余的活力和氨基测定表明，残余自由氨基越少，即修饰程度越高，酶活力越低，荧光强度变得越弱，它们之间有着一定相关性。荧光强度的降低可能是由于修饰剂分子对酶分子中的荧光发射基团的屏蔽效应和修饰剂本身的羰基、羟基的淬灭作用^[13]。

各种修饰酶均具有较强的抗酶解、抗冻融、抗稀释变性的能力，这可能是由于修饰剂分子的屏蔽作用。肝素和右旋糖酐的修饰酶又优于 PEG 修饰酶。这可能是由于多糖的羟基等极性基团的存在使其在水溶液中容易形成溶剂化层，这对酶分子会有一定的稳定和保护作用。

总之，溴化氰法偶联反应最为温和，可以在较好保持酶活力的前提下使酶学某些性质得到改进。但是不同修饰剂其分子结构不同，对于

酶分子改造也各有其特点。因此如何根据需要选择或改进现有的修饰剂和修饰路线值得进一步探索。

参 考 文 献

- [1] Sovoca, K. V. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **578**, 47, 1979.
- [2] 芦原義弘、西村裕之、稻田祐二: *化学の領域*, **33**(1), 44—45, 1979.
- [3] 伊賀善郎: *公開特許公報*, 昭 **54**, 113488.
- [4] 村上彰弓: *公開特許公報*, 昭 **55**, 26878.
- [5] 金凤燮: 《吉林大学研究生論文集刊》, (2), 114, 1982.
- [6] 曹淑桂, 程玉华: 《吉林大学自然科学學報》, (1), 122, 1984.
- [7] Axen, R., et al.: *J. Biochem.*, **18**, 357, 1971.
- [8] Flemming, Ch., et al.: *Acta. Biol. Med. Ger.*, **30**, 177—182, 1973.
- [9] Abraham, Abuchowrki, et al.: *J. B. C.*, **252**, 11, 3578—81, 1977.
- [10] 《吉林大学上海医学院尿激酶鉴定会材料》, 1978.
- [11] Habeeb, A. F. S. A.: *Analytical Biochemistry*, **14**, 328—36, 1966.
- [12] Reiner, R. R. et al.: *Enzyme Engineering*, Vol. **4**, 111, 1978.
- [13] 鲁子贤: 《蛋白质化学》, 102 页, 科学出版社, 北京, 1981.

[本文于 1984 年 3 月 19 日收到]

胰岛素-牛血清蛋白对蟾蜍跨皮静息电位的效应

李宏钧 周汉清

(复旦大学生物系, 上海)

近年来一些工作者研究了肽激素对细胞和组织电过程的影响, 包括胰岛素对可兴奋细胞和上皮组织静息电位的效应。例如 Zierler^[1]发现胰岛素能提高鼠骨骼肌的静息膜电位。Lantz^[2]等人发现胰岛素对心肌亦有类似作用。deMello^[3]和 Moore^[4]观察到胰岛素引起蛙缝匠肌细胞的超极化, 而 Rehm^[5]等人则检测了蛙的胃粘膜对胰岛素作用的电反应。本文作者以蟾蜍离体皮肤为对象, 试图查明胰岛素对上皮细胞的作用, 以进一步探究细胞静息电位的变化和膜透性之间的关系。

材 料 和 方 法

以上海郊区中华蟾蜍为实验材料。标本制备、实验装置和测试条件基本与前一工作^[6]相同。

胰岛素结晶(上海生化制药厂)经聚丙烯酰胺凝胶电泳显示为单点, 证明质纯。出厂效价 28.18 单位/毫克。用 0.1% 牛血清蛋白配成 4 单位/毫升的贮藏液放冰箱中保存, 实验时再按需要稀释成各种浓度备用。牛血清蛋白(上海牛奶公司综合厂产品)电泳单点质纯。

(20—25%),反应时程长(60—120分钟);而牛血清蛋白的变化幅度小(10—15%),且为时短暂(30—60分钟),这反映出两种药物活性的明显差异。

讨 论

实验结果表明,无论是胰岛素的牛血清蛋白溶液(I_{ns} -BSA)或分别用胰岛素任氏液(I_{ns} -R)与牛血清蛋白任氏液(BSA-R)单独处理蟾蜍离体皮肤,对TEP均有影响,但程度不同。如果以TEP上升比值为指标,则以上三种药物作用于外表面时分别为31.5%、25.2%、14.4%,内表面时则为15.3%、19.5%和11.5%。可见牛血清蛋白对皮肤内、外表面的作用都是低水平的,而含有胰岛素成分的两种药物溶液的效应都相当高。

从以上结果还可以看到对药物的反应,通常是外表面比内表面强烈。这表现为外表面TEP上升幅度大、变化快、持续时间短,而内表面的TEP峰值低、变化迟缓、持续时间长。例如,上述三种药液作用皮肤内外表面时,二者TEP变化的比值差分别为16%、6%和3%,说明皮肤外表面的灵敏度高,识别力强,对 I_{ns} 敏感。这可能意味着皮肤内外表面药物受体分布的不对称。

此外,根据Ussing^[7,8]和Helman^[9,10]两栖类皮肤离子运输模型,也可以就皮肤内外表面对药物反应的差异作出说明。按照该模型的观点, Na^+ 和 K^+ 的被动扩散和 Na^+ 的主动运输是构成皮肤上皮细胞电活动的基础。在我们的条件下,胰岛素和牛血清蛋白对皮肤电位的影响也是通过改变细胞透性(膜电导)和离子主动运输的进程来实现的。Moore^[4]和我们新近发表的工作^[11]表明, I_{ns} 可以引起蛙和蟾蜍肌细

胞静息膜电位的超极化,但牛血清蛋白则无影响。蟾蜍皮肤不仅内外表面对 I_{ns} 的反应有差别,而且BSA亦有作用。这显然是与皮肤本身特点有关。由于蟾蜍皮肤生发层(Stratum germinativum)中极性细胞内外侧膜结构与功能的差异^[12,13]对上皮组织离子的跨膜运输和TEP的形成起着重要作用,因此膜内外表面的反应会有不同。虽然 I_{ns} 和BSA均可能改变极性细胞外侧膜透性,增强离子电导,但 I_{ns} 还可通过激励细胞内侧膜上的ATPase^[4,11],提高钠泵的工作能力,促进膜的主动运输。

最后,从表1还可以看到,皮肤内外表面TEP反应的大小同 I_{ns} -BSA溶液浓度,并无明显的依从关系,以皮肤外表面对 I_{ns} 的反应为例,低浓度的效果似比高浓度尤为显著。这种情况可能反映出皮肤外表面的受体同药物结合有某种限度。

参 考 文 献

- [1] Zierler, K. L.: *Science*, **126**, 1067, 1957.
- [2] Iantzi, R. C. et al.: *Biophys. J.*, **25**, 301a, 1979.
- [3] deMello, W. C.: *Life Science*, **6**, 959, 1967.
- [4] Moore, R. D.: *Amer. J. Physiol.*, **236**(5), c249, 1979.
- [5] Rehm, W. et al.: *Fed. Proc.*, **20**, 193, 1961.
- [6] 李宏钧,周汉清:《生物化学与生物物理进展》,1984, 1, 58.
- [7] Ussing, H. H. et al.: *Acta Scand. Physiol.*, **23**, 110, 1951.
- [8] Ussing, H. H. et al.: *Acta Scand. Physiol.*, **42**, 298, 1958.
- [9] Helman, S. I. et al.: *J. Gen. Physiol.*, **74**, 105, 1979.
- [10] Helman, S. I.: *Fed. Proc.*, **38**, 2743, 1979.
- [11] 李泳棠,周汉清,李宏钧:《生物化学与生物物理学报》17,319,1985.
- [12] Whittsburg, G.: *J. Gen. Physiol.*, **47**, 795, 1964.
- [13] Koefoed-Johnsen, et al.: *Acta Scand. Physiol.*, **27**, 38, 1952.

[本文于1984年4月24日收到]

中日双方会议领导人还就这次会议与今后的交流与合作举行了会谈。双方认为这次会议是成功的,是中日生物物理学工作者友好交往的里程碑。双方初步商定今后每两年轮流在两国召开此种会议一次;第二届双边会议将于1987年在日本召开。

[生物物理学会办公室]

(上接第80页)

长、科学院生物物理所所长)大沢文夫(大阪大学、名古屋大学教授),大会学术委员会共同主席徐京华(中国生物物理学会副理事长、上海生化所研究员)寺本英(京都大学教授),大会秘书长沈淑敏(中国生物物理学会秘书长、生物物理所研究员)朝倉昌(日本生物物理学会会长、名古屋大学教授)等。