

第二届中南六省生命科学前沿
学 术 研 讨 会
论 文 集

湖 南 省 大 庸 市

一九九一年十月

目 录

论文文摘

一、肿瘤部分：

1. 4株鼻咽癌上皮细胞株的建立及生物学特性分析
..... 祝和成等 (1)
2. 具有双微粒与多种等臂染色体的鼻咽癌鳞状上皮细胞株
..... 李桂源等 (4)
3. 鼻咽癌特异的染色体缺失del(7)(pter→q³²)
..... 邓龙文等 (4)
4. c-kit原癌基因两个相邻EcoRI片段的核苷酸序列和结构特点
..... 胡维新等 (5)
5. 钙调素 (CaM) 在正常及肝癌组织中亚细胞水平的分布及含量变化的研究
..... 黄爱强等 (6)
6. 二甲基氨基偶氮苯 (DAB) 诱发大鼠肝癌过程中钙调素 (CaM) 环核苷酸磷酸二酯酶 (cAMP-PDE) 活性及蛋白含量变化的研究
..... 王志强等 (7)
7. 肝癌患者肝组织中HBV X的PCR扩增与x 蛋白在肝组织表达
..... 郭光惠等 (8)
8. 人体原代肿瘤干细胞MTT法快速化疗药物敏感筛选
..... 姚良权等 (9)
9. 异搏定对抗肿瘤基因化疗药物的增效作用
..... 姚良权等 (11)
10. 视网膜母细胞瘤患者及其一级亲属的基因组稳定性研究
..... 刘双珍等 (11)
11. 新的染色细胞毒恶性肿瘤体外药物敏感试验
..... 王振明等 (12)

12. 白血病细胞株和扁桃体细胞的生物学特性测析及单抗对其调控作用研究 ····· 苏 娜等 (13)
13. 血清碱性蛋白测定对恶性肿瘤诊断的研究 ··· 晏先开等 (14)
14. 用噬菌体法筛选抗癌药 ····· 童竞亚 (16)

二、分子生物学部分：

1. 酵母强启动子的分离和鉴定 ····· 刘飞鹏等 (17)
2. 酵母完整细胞的电穿孔高频转化 ····· 刘飞鹏等 (17)
3. 逆转录后聚合酶链反应扩增登革病毒2型核酸
····· 陈火胜 (18)
4. 人脑胶质瘤mRNA的分离纯化及其cDNA的全合成
····· 覃文新等 (18)
5. 人脑胶质瘤cDNA文库的构建 ····· 王 尧等 (19)
6. 双链质粒、DNA 的多点突变 ····· 张 晶等 (21)
7. 三种不同人组织细胞染色体上DNase-1敏感区的比较研究
····· 李桂源等 (21)
8. 以多聚酶链反应和分子杂交观察血蚊唾腺和胃中乙型肝炎病毒
的研究 ····· 郑煜煌等 (22)
9. 外源bcr基因导入K562 细胞的研究 ····· 梁 红等 (23)
10. 扩张型心肌病的免疫遗传学基础 ····· 李运有等 (24)
- ~~11. 分泌抗猪丹毒血清羊克隆抗体系文菌株的建立~~
····· ~~李运有等~~ (25)
12. 生物素标记核酸探针杂交检测灵敏度的比较研究
····· 陈嘉勤等 (25)

三、自由基与疾病部分：

1. 自由基损害与类风湿性关节炎 ····· 刘沛霖等 (26)
2. 心肌缺血 / 再灌注损伤与自由基作用的研究 ··· 吴 仪等 (27)

3. 中药“心脑血管新”抗动脉粥样硬化机理研究
——对人血管内皮细胞的保护作用 付 蕾等 (29)
4. 量子血疗对心脑血管疾病患者脂质过氧化及 TXA_2 - PGI_2 平衡
的调节 魏重琴等 (30)
5. 萎缩性胃炎脾虚证与 LPO、SOD 及铜锌锰的关系
. 王清云等 (31)
6. 煤矽肺病人血清和支气管肺泡灌洗液脂质过氧化物含量的观察
. 陈富生等 (32)

四、免疫学部分：

1. 小鼠红细胞对脾细胞增殖反应的影响 杨尚琪等 (33)
2. 干扰素作用机理的研究：2'-5'-三腺苷酸对巨噬细胞腺苷酸环
化酶活性的影响 尹桂山等 (34)
3. 去甲肾上腺素、新霉素对大鼠腹腔巨噬细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 和 Ia 抗原表
达的影响 黄建军等 (35)
4. P 物质对人类外周血单核细胞膜 HLA-DR 和 HLA-DQ 抗原表达的影响
. 俞雅华等 (36)
5. Graves 病病人外周血单核细胞膜 HLA-II 类抗原表达的改变
. 吴 岚等 (37)
6. 慢性淋巴细胞性白血病时 B 细胞的成熟
IV. 葡萄球菌肠毒素“超抗原”所致白血病性 B 细胞的 T 细胞依赖
性激活 段小初等 (38)
7. 雌二醇、睾酮对健康男性外周血单核细胞 HLA-DR、HLA-DQ 抗原
表达的影响 郑民安等 (38)
8. 葡萄球菌肠毒素超抗原刺激 CD2-阴性 T 细胞 . . 段小初等 (39)
9. 叔丁基氢过氧化物对巨噬细胞呼吸爆发的影响及云芝多糖的保
护作用 李 军等 (40)

10. 环孢素A对T淋巴细胞DNA 合成的影响 ····· 姜汉英 (41)

11. 人轮状病毒2型S₂ 株单克隆抗体的建立及性质研究
····· 钱益美等 (42)

五、胎肝部分：

1. 人胚肝核基质的制备及发育过程中组分的动态变化
····· 温博贵等 (43)

2. 胎肝细胞移植实验研究：(一)移植胎肝细胞在体内分布和存活的
示踪观察 ····· 赖慕贤等 (44)

3. 人肝细胞生长因子的纯化及性能研究 ····· 涂 强等 (44)

六、神经生理学部分：

1. 中华—I型神经电位诊断系统的可靠性探讨 ··· 冯 勃 (45)

2. 突触的可塑性研究——年龄对大鼠运动神经末梢发芽的影响
····· 许予明等 (46)

七、衰老与抗衰老部分：

1. 衰老小鼠中枢兴奋性氨基酸和NMDA受体的变化
····· 梁发权等 (47)

2. 益寿饮对衰老小鼠中枢兴奋性氨基酸和NMDA受体变化的影响
····· 梁发权等 (48)

3. 老年人血糖增高与细胞免疫功能的关系 ····· 杨志援等 (48)

八、激素、微量元素和酶：

1. 酵母中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性的测定
····· 郁正民等 (49)

2. 冠心病、非胰岛素依赖型糖尿病患者血清、尿五种元素的分析
研究 ····· 刘 鹏等 (50)

3. 高浓度的碘化物摄入对甲状腺组织形态和某些酶活性的影响
····· 朱惠民等 (51)

- 4.原发性高血压中医辨证分型与肾素、血管紧张素系统关系的初步探讨 林振武等 (51)
- 5.性激素对溶菌酶活性的影响 邓启辉等 (52)

九、计划生育部分：

- 1.SESA法检测不孕症患者体内抗精子抗体及其效果
. 张运华等 (53)
- 2.分泌抗猪卵透明带单克隆抗体杂交瘤株的建立
. 邓晓东等 (54)

十、细胞膜部分：

- 1.细胞膜局部力学特性和细胞内注射术 张三才等 (54)
- 2.我国正常人红细胞膜的唾液酸含量和巯基总量测定
. 刘俊凡等 (55)

十一、疟疾和再障部分：

- 1.GPA五肽和生脉液对约氏疟原虫入侵小鼠红细胞的体内抑制作用
. 周玉球等 (57)
- 2.人参总皂甙对实验性再障大鼠红细胞中己糖利用的影响
. 李 虹等 (58)

十二、载脂蛋白部分：

- 1.载脂蛋白A-I与磷脂酰胆碱重组高密度脂蛋白
. 李福芳等 (59)

综述摘要

- 1.分子生物学技术与生命科学前沿的形成 李桂源等 (61)
- 2.睾丸决定因子研究进展 肖广惠 (64)
- 3.积极优生的初步探索 卢光秀 (66)
- 4.再障红细胞的某些膜化学组成改变和代谢紊乱 . . 卢义钦 (67)

5. 逆转消化道肿瘤细胞化疗药物抗性的分子基础 · · · 姚良权等 (69)
6. 艾滋病的血清学诊断技术 · · · · · 黄仕和等 (71)
7. 治疗艾滋病的分子途径 · · · · · 黄仕和等 (71)
8. 基因工程和细胞工程的方法学侧面 · · · · · 张三才 (72)
9. 白细胞介素及其受体的研究趋势 · · · · · 秦椿华等 (73)
10. 膜表面受体分类的分子生物学基础 · · · · · 吕宝璋 (74)
11. 细胞因子的发育相关进化规律 · · · · · 贺福初等 (76)
12. 质粒的当代概念 · · · · · 王家睦 (77)
13. 昆虫病毒基因工程杀虫剂的最新进展 · · · · · 黄永秀等 (78)
14. 高血压研究与转基因动物 · · · · · 张卫国等 (79)
15. 胰岛素受体的结构与功能 · · · · · 何善述 (80)
16. 营养与癌的研究规划要点提纲的建议 · · · · · 苗 健等 (82)
17. 白化病的分子遗传学研究进展 · · · · · 孙仁山等 (84)
18. 药物的选择性打靶 · · · · · 汪世中等 (86)
19. RNA 编辑 · · · · · 彭朝晖等 (87)
20. 巨细胞病毒先天感染与宫内产前诊断 · · · · · 刘世平 (89)
21. 中医理论 (阴阳、五行、炁说等) 将得到现代科学解释
· · · · · 邱维泰 (91)
22. 细胞膜电容动态监测系统 · · · · · 曹忠升等 (93)
23. 生长因子的研究进展 · · · · · 黄 平 (95)
24. 氧自由基与冠心病 · · · · · 张 华 (96)
25. 灵芝所含微量元素及其免疫作用 · · · · · 李艳珠等 (97)
26. 超氧化物歧化酶 (SOD) 及其测定方法进展 · · · · 伍贤平等 (98)
27. 氧化修饰的 LDL 在动脉粥样硬化发生中的作用 · · 陈 瓊等 (99)
28. 大肠杆菌中的 rRNA 基因 · · · · · 王 苏 (101)

29. 细胞膜受体的“行为”

- 受体在细胞间迁移的假说 ····· 顾江宁 (102)
30. 跨膜生物信息传递与细胞癌变 ····· 尹桂山 (103)
31. B细胞恶性肿瘤独特型抗独特型研究概况 ····· 沈关心 (104)
32. 人体内亚硝基化及营养阻断 ····· 苗 健等 (106)
33. 儿童高血压早期防治研究进展 ····· 胡虞志等 (108)
34. 遗传病基因诊断中应用的点突变检测新技术 ····· 徐湘民 (108)
35. 衰老时神经内分泌和免疫系统的变化 ····· 张启兴 (109)
36. 碱性磷酸酶研究进展 ····· 邓学思等 (111)
37. 碳酸酐酶的结构与功能 ····· 庄景凡等 (112)
38. 褪黑激素的研究进展 ····· 陈炬光 (114)
39. 生物吸收的机理和应用 ····· 冯必钧 (116)
40. 维生素 B₁₂ 缺乏与肉毒硷代谢 ····· 夏晓凯等 (118)

一、肿瘤部分：

4株鼻咽癌上皮细胞株的建立及生物学特性分析

祝和成 姚开泰 李桂源 王福熙 文冬生 李韵萍 曹利

湖南医科大学肿瘤研究所 长沙 410078

鼻咽癌是我国南方的常见恶性肿瘤，建立系列的鼻咽癌上皮细胞株对于探讨鼻咽癌的发病机理、研究细胞分化与瘤基因的表达关系、EBV 在鼻咽癌发病过程中的作用，以及寻找鼻咽癌新的治疗手段等有着十分重要的意义。本文报导了 4株鼻咽癌上皮细胞株的建立及生物学特性观察和比较。这些细胞株已在体外生存2-3年，传100多代，表现出不同的生物学特性。分别命名为湖南鼻咽癌上皮细胞株1号(HNE₁)、2号(HNE₂)、3号(HNE₃)和湖南俄亥俄鼻咽癌上皮细胞株1号(HONE₁)。其中HNE₁和HONE₁为EBV阳性细胞株。现将这些细胞株的主要生物学特性报导如下：

一、形态学观察：在相差倒置显微镜下观察，细胞呈铺石样从组织块周围长出，形态多形性较著，多为多边形细胞，镶嵌状排列，多层重叠生长。HE染色后在高倍镜下可见细胞大小不一、核大、核仁多而清晰，多数细胞核浆比例大。偶尔可见多核巨细胞。分裂相多，丝裂指数为5-7%。电子显微镜下观察，多数细胞表面有微绒毛。管泡系统均呈不同程度的扩张。卵圆形或柱状细胞的核往往偏向一端，其顶部线粒体较为丰富，均肿胀或变性。偶见张力原纤维，多在核膜周围。HONE₁和HNE₂细胞有明显的桥粒；而HNE₁和HNE₃细胞只发现少量发育不良的桥粒，多数细胞为低分化鳞癌，少数细胞则偏向低分化腺癌。

二、细胞生长特性

1. 生长曲线：用各株第25代细胞所绘制的生长曲线，按公式

HNE_2 63hrs和 HNE_3 72.5hrs。

2. 集落形成率：4株细胞在软琼脂中均能生长，集落形成率无显著差异；在平皿中也能形成集落，但接种细胞数不同则平板集落形成率有差异。

三、核型分析：4株细胞的核型均为异倍体。 $HONE_1$ 染色体众数为92、 HNE_2 为84、 HNE_3 为94、 HNE_1 的染色体众数由第5代的74条演进为20代的101条。所有4株细胞都有不同程度的染色体异常，包括染色体易位、缺失、等臂、倒位等。更有趣的是，4株细胞都发生7号染色体长臂区缺失。

四、EBV抗原及DNA检查

1. EBNA及 EA/VCA 检查： HNE_1 和 $HONE_1$ 早代细胞均为EBNA阳性， HNE_2 和 HNE_3 则为EBNA阴性。晚代 HNE_1 和 $HONE_2$ 细胞的EBNA逐渐转为阴性，而从 $HONE_1$ 第5代细胞中克隆出来的 C_{40} 株EBNA则非常稳定，传至50几代其EBNA阳性率仍高达85-90%。用间接免疫荧光法检测EA/VCA， HNE_2 和 HNE_3 均为阴性， HNE_1 细胞中也未检测出EA/VCA， $HONE_1$ 细胞中只有0.1%的细胞 EA/VCA阳性， C_{40} 株约为1%。当用IUDR、TPA或 TPA加正丁酸钠诱导上述细胞时， HNE_1 细胞中仍未发现 EA/VCA表达，而 $HONE_1$ 和 C_{40} 细胞的EA/VCA表达率分别增加至10%和18%。

2. Southern印迹分析：用Southern印迹法检测 HNE_1 、 $HONE_1$ 和 HNE_3 细胞的 DNA，以 BamHI、EcoRI和HindIII限制性内切酶消化，以BamHE-W, H. Y. R, NJ和EcoRI片段A-K作探针。结果表明， HNE_1 和 $HONE_1$ 细胞均含有EBV基因组， HNE_3 则为阴性（ HNE_2 未检查）。 HNE_1 EBV DNA在 EcoRI区域与 B₉₅₋₈和 P₃ HR₁ 有所不同

同，当用BamHI消化和EcoRI作探针时，有一条约24—30kb的额外区带；而 HONE₁ 细胞EBV DNA在BamHI的基因图谱中与B₉₅₋₈非常相似，用Hind III消化时其C和D片段比B₉₅₋₈同一区域小，而H片段则大于B₉₅₋₈。另外HNE₁ 和HONE₁ 细胞均含有het EBV DNA。

3. Western印迹分析：检测HONE₁ 第23代和C₄₀第19代细胞均含有EBNE₁ 和EBNA₂；而HONE₁ 第 88代细胞的EBNA₁ 和EBNA₂ 均丢失。

五、异种移植：4株细胞分别移植于BALB/C裸鼠右腋皮下。3周后HNE₁ 细胞3/3长出肿瘤；HNE₂ 2/3长出肿瘤；HONE₁ 6/10长出肿瘤；而HNE₃ 细胞反复移植3次均未长出明显肿瘤。病理检查表明 HNE₁ 细胞接种至裸鼠后，大部分细胞分化为较好的鳞状细胞癌、有角化珠形成，HONE和HNE₂ 仍属低分化鳞癌；HNE₃ 虽未见肿块长出，但自接种部位取出一绿豆大结节，病理检查仍为低分化鳞癌。上述 4种鼻咽癌上皮细胞株都来自低分化鼻咽癌患者，但在体外培养过程中却表现出不同的生物学特性，这可能与个体差异有关。HNE₁ 和HONE₁ 都含EBV DNA，但在繁殖过程中EBV DNA不断丢失，可能EBV DNA基因组与细胞DNA结合不牢固，更可能由于EBV阳性细胞对胰酶消化较敏感，因而在传代过程中易被淘汰。但C₄₀克隆细胞EBV DNA十分稳定，这也许与C₄₀ EBV 阳性细胞占的比例大有关。组织培养中的 HNE₁ 细胞多数偏向低分化鳞癌，少数细胞则偏向低分化腺癌，但在裸鼠身上主要表现为高分化鳞癌，很可能这株细胞起源于分化程度较低的细胞，仍保留一些双分化特性，但以鳞化为主，在特定的环境下还可以角化。核型分析显示所有4株细胞的7号染色体长臂都有不同程度的缺失，是否与某种抗癌基因丢失有关还有待研究。

*：感谢湖南医科大学第一附属医院耳鼻喉科及肿瘤医院头颈科提

供癌组织标本

具有双微粒与多种等臂染色体的鼻咽癌鳞状上皮细胞株

李桂源 姚开泰

湖南医科大学肿瘤研究所 长沙 410078

双微粒染色体(double minutes, DMs)和均匀染色区(homogeneously staining region, HSR)是细胞基因组中两种基因扩增的重要表达方式。近年的一系列研究证明,有相当一部分恶性肿瘤细胞往往发生癌基因扩增,在基因组中出现DMs和HSR。等臂染色体在血液系统恶性肿瘤和某些实体瘤细胞中较常见,它在细胞恶性转化及其演进过程中的作用,目前已引起人们的高度重视,并认为这种类型的染色体引起细胞恶性转化的机制可能与基因剂量效应或基因活化有关,是细胞基因组内基因拷贝数增加的又一种表达方式。最近,我室对新建立的一株命名为HNE-1的鼻咽癌鳞状上皮细胞株进行了系统的细胞遗传学研究,发现HNE-1细胞株存在双微粒染色体(DMs)和i(3q)、i(4p)、i(5p)、i(6p)和i(xp)5种等臂染色体,提示HNE-1细胞基因组内有基因扩增及基因剂量的增加。这为进一步了解等臂染色体与DMs在致瘤基因形成过程中的细胞遗传学作用及鼻咽癌细胞基因组中基因拷贝数增加与细胞癌变的关系提供了较重要的资料。

鼻咽癌特异的染色体缺失del(7)(pter→q³²)

邓龙文 祝和成 李桂源 姚开泰

湖南医科大学肿瘤研究所遗传室 长沙 410078

我们对三株鼻咽癌上皮细胞株HNE-1、HNE-2和HNE-3进行了高分辨染色体显带分析,发现染色体缺失是鼻咽癌上皮细胞株中常见的染色体结构畸变之一。涉及的染色体有1号、3号、7号、17号等。特别

是7号染色体长臂部分缺失, 在HNE-1中表现为del(7)(pter→q³²), 出现频率为100%(20/20); 在HNE-2和HNE-3中表现为del(7)(pter→q²²), 其出现频率分别为90%(18/20)和85%(17/20)。新近在我所一株鼻咽癌转化细胞株中亦发现有7q³²到末端的缺失。在已报道的文献中, 鼻咽癌上皮细胞株 CNE1和NPC-TW039分别有7q³²的末端和7q²²到末端的缺失; 李旭(1985)在28例鼻咽癌活检组织中发现7例相同的7q³²到末端的缺失。根据上述资料, 本文首次提出 7号染色体长臂部分缺失可能是鼻咽癌特异的染色体结构异常, 其缺失的共同最小区是del(7)(pter→q³²); 并暗示着该缺失区域可能存在与视网膜母细胞瘤Rb基因相类似的新的肿瘤抑制基因, 在鼻咽癌的发生与发展中起重要作用。

c-kit原癌基因两个相邻EcoRI片段的核苷酸序列和结构特点

胡维新、F. CORNU, C. ANDRE, F. GALIBERT

湖南医科大学肿瘤研究所 长沙 410078

Laboratoire d'Hematologie Experimentale

UPR41. CNRS, Centre Hayem, Hospital St-Louis, PARIS, France

1986年有人分离出一株新的猫逆转录病毒HZ4 FeSV。这株病毒的基因组内含有一种新的, 被称为v-kit 的癌基因, 其产物属于蛋白激酶一类。在人、猫等动物的细胞基因组内能找到v-kit 癌基因的类似物c-kit原癌基因的存在, 而且还发现它在很多组织中表达。c-kit产物为编码 976个氨基酸残基的多肽链, 其结构与CSF-1R(巨噬细胞克隆刺激因子受体)及 PDGFR(血小板生长因子受体)十分相似, 为一种跨膜糖蛋白, 由细胞内部分, 跨膜部分和细胞外部分组成。细胞内部分具有酪氨酸蛋白激酶活性, 而细胞外部分则可能是一种接受调节信号的表面受体。v-kit 产物本身仅仅与c-kit产物、CSF-1R和PDGFR的细胞内部分相似。

本文采用鸟枪法 (shot gun) 并结合双脱氧法, 对人淋巴细胞基因文库中两个相邻的 EcoRI 片段 (3.7kb 和 4.6kb) 正负两股链的核苷酸序列进行了测定, 从已测出的 8322 个硷基对中, 其发现 7 个外显子和 8 个内含子。最大的外显子为 194 bp, 最小的 105bp。而内含子则大小悬殊, 最大的内含子为 2158bp, 最小的为 83bp, 外显子的硷基数约占硷基总数的 11%, 编码 303 个氨基酸残基, 还不到总氨基酸残基数的 976 的三分之一。假定的跨膜区域的 23 个氨基酸残基均在外显子 3 的编码区中间, 这个外显子编码的氨基酸多为疏水性氨基酸。从已得出的结果, 可以想象, 整个 c-kit 的结构是许多内含子和外显子相互交替组成, 结构复杂而且硷基数目巨大。本文所报道的内含子均具有 GT-AG 的结构特点, 即内含子均以 GT 开始, 以 AG 结尾, 这与其他作者已发表的内含子的基本结构相一致。通过对其核苷酸序列的分析, 还发现了其他一些有意义的结构。

钙调素 (CaM) 在正常及肝癌组织中 亚细胞水平的分布及含量变化的研究

黄爱强* 顾熊飞 徐晓利

中山医科大学 广州 510089

我们将纯种 Wistar 雄性大鼠, 分为对照组和肝癌组, 以及幼年组和老年组, 所用肝组织均经病理切片检查。CaM 及牛心 PDE-I 按本实验室常规制备, 质膜制备参照北京动物所和 Emmelot 改良法, 细胞核制备按 Liew 法。制品均达到纯度要求。细胞质可溶性部分按郑国昌定义制备。三种亚细胞结构均进行了 CaM、蛋白质、耐热蛋白质的测定, 并对匀浆及质膜进行了 5'-AMP 酶活性测定。结果总结如下:

1. DAB 诱发大鼠肝癌组织匀浆及质膜的 5'-AMP 酶活性下降, 但在幼年鼠肝和老年鼠肝之间无差异。

2. DAB 诱发大鼠肝癌组织匀浆蛋白质含量明显下降, 仅为正常的 50.3%; 质膜蛋白质含量也明显下降, 仅为正常的 74.3%。DAB 诱发大鼠肝癌质膜耐热蛋白质明显升高, 为正常的 2.4倍, 在细胞核及细胞质可溶性部分, 耐热蛋白质含量也明显升高, 分别为正常的1.2倍和2倍。
3. 正常幼年鼠肝匀浆蛋白质含量比老年鼠低, 但质膜蛋白质含量两者无差异。正常幼年鼠肝细胞质膜耐热蛋白质含量与老年鼠一致, 但在细胞核含量减少, 在细胞质可溶性部分则升高。
4. DAB诱发肝癌组织质膜、细胞核、细胞质可溶性部分的CaM含量均升高, 分别为正常的1.54倍、1.33倍和2.19倍。DAB 诱发肝癌CaM在质膜耐热蛋白质中的比例仅为正常的63%, 在细胞核与正常无差异, 在细胞质可溶性部分则升高, 为正常的1.11倍。
5. 正常幼年鼠肝细胞质膜CaM含量仅为老年鼠的56.7%, 但在细胞核 CaM含量升高, 为老年鼠的1.63倍, 在细胞质可溶性部分, 两者无差异。正常幼年鼠肝细胞 CaM在质膜耐热蛋白质中的比例仅为老年鼠的58.8%; 在细胞质可溶性部分仅为老年鼠的 69.7%, 但在细胞核中则升高, 为老年鼠的2.1倍。
6. DAB诱发肝癌组织亚细胞结构的CaM分布及含量变化, 存在总含量升高和重新分配两个特点。

本课题由国家自然科学基金资助

*: 90级硕士研究生

**二甲基氨基偶氮苯 (DAB) 诱发大鼠肝癌过程中
钙调素 (CaM) 环核苷酸磷酸二酯酶 (cAMP-PDE)
活性及蛋白含量变化的研究**

王志强* 顾熊飞 徐晓利

我们以 DAB 诱发大鼠肝癌，观察了饲养三个月、七个月和成癌后三个时期中肝、脾、脑和血液中CaM、高Km值PDE（以1mM cAMP作底物）的活性和蛋白质含量的变化。CaM 活性是测定匀浆总活性和匀浆离心后的上清液，沉淀部分的活性。cAMP-PDE的活性是测定其基础活性和激活活性；蛋白质含量分别测定其匀浆上清液的总蛋白质和热稳定性蛋白质的含量。以期探索肝癌组织和癌变过程中宿主其他组织的代谢情况。

实验结果表明：(1)在诱癌七个月后，肝组织上清液CaM 比活性逐渐增加，成癌后，上清液CaM的活性为正常肝的1.2倍，而沉淀中的CaM活性下降至正常肝的76%。因而CaM在上清液和沉淀两部分中活性的比值明显增加，提示 CaM的亚细胞水平分布发生改变。(2)在三个诱癌组中，肝组织PDE的基础活性和激活活性都显著下降，但肝癌组织中PDE的比活性与正常组无显著差异，而Ca²⁺依赖型PDE 活性相对增加。(3)随着诱癌时间延长，肝组织蛋白质含量逐渐减少，肝癌组织的蛋白质含量仅为正常肝的 64.7%，而热稳定性蛋白质却显著增加。提示癌变过程中基因表达发生了选择性的变化。(4)在三个诱癌时期中，血液、脾和脑组织的CaM、PDE活性和蛋白质含量也有所改变，但与肝组织的变化不相同。提示癌变过程宿主的代谢调节水平也出现相应的变化。(5)在成癌大鼠中，肝、脾和脑组织CaM的活性的改变与Ca²⁺依赖型PDE活性的变化呈现正相关。

本课题由国家自然科学基金资助

*：广州生物制剂研究所

肝癌患者肝组织中HBV X的PCR扩增与x 蛋白在肝组织表达

邹光惠 黄耀煌 童贻刚 李 琳 吴 霞 曹希贤

北京军区总医院分子生物学室和病理科 北京 100700

近年发现HBV DNA 基因常整合到肝癌细胞染色体中,而且整合位点常常位于X基因区而X基因表达产物具有反式激活作用,它对肝细胞转癌过程起重要作用。

我们应用PCR技术在体外扩增肝癌病人的肝组织中x 基因,并对X基因表达的 X蛋白分布进行观察。首先设计一对寡核苷酸引物,其中一条1387-1407,另一条1807-1787。各引物长20bp,所用X基因探针是从本室重组克隆质粒上用双酶BamHI-Bgl II切得X基因片段,用Boehringer生产地高辛非放射标记特异探针做杂交。标本采用固定包埋肝组织块切成5-10 μ M厚0.5cm²切片,先用二甲苯脱蜡,然后用95%酒精脱二甲苯3次。标本用蛋白酶K/SDS消化过夜,酚/氯仿抽提,乙醇沉淀,沉渣溶于T.E缓冲液中。处理样品加入PCR反应试剂后,在扩增仪器上进行35圈循环所得扩增产物在琼脂糖凝胶电泳、溴化乙锭染色、紫外灯下观察。根据分子量计算和酶切图分析与预期靶DNA相符。PCR扩增产物可以与地高辛标记X基因探针杂交。我们检测的15份肝癌组织标本中有13份阳性,HBsAg 阴性标本约有1/3可检出HBV DNA。应用 PAP组化方法同时观察X基因在肝细胞内表达X蛋白的分布。采用美国Feitelson教授惠赠化学合成HBV肽段制备X抗体,发现HCC和肝硬化和慢活肝的肝细胞中均有 X蛋白阳性着色,着色深浅对不同标本有区别。X 蛋白在胞浆和胞核中均有阳性着色,癌旁组织中心着色深,而免疫组化分析为X蛋白阴性的5份标本,做 PCR扩增时有4份X基因呈阳性,说明肝组织中有病毒 DNA整合。上述结果说明肝细胞癌变中肝内X基因整合及其表达X蛋白都可能对癌变过程发挥着重要作用。

人体原代肿瘤干细胞MTT法快速化疗药物敏感筛选

姚良权 吕新生