

男性节育药棉酚抗生育作用机理的研究

薛社普 中国医学科学院基础医学研究所细胞生物室主任 教授

一、前言

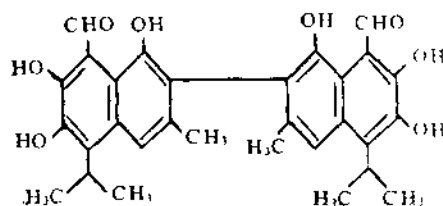
棉酚是锦葵科 (Malvaceae) 植物种子、根和茎中含有的一种黄色多元酚类化合物。国外利用棉子粉作为家畜饲料和配制儿童营养食品时发现了棉酚有一定的毒性。南美洲国家民间曾使用棉根皮煎剂作为堕胎和诱导月经药物, 此外, 还有以棉酚作为抗癌药物的报道。

我国科学工作者六十年代通过在产棉区的调查首先发现了食用粗制棉油可引起男性不育。以后, 男用节育药全国协作组(1978)通过大量动物实验证实棉油中的棉酚是抗生育作用的有效成分。并用精制的棉酚、醋酸棉酚和甲酸棉酚在多种动物进行抗生育试验, 对药物的作用部位、机理、代谢、药理及毒理等进行了广泛研究。1972年初次试用于临床, 1974年陆续以上述三种棉酚片剂在全国14省、市扩大临床试用, 迄今在超过1万例服药期1~8年的临床例中, 有效率达99.07%。在节育剂量下, 除出现0.75%低血钾症外, 并无其他严重毒副反应。这一发现在国际计划生育和男性学界引起了广泛的重视和兴趣, 它作为第一个经过万例试用的有效非甾体激素节育药出现于男性学界, 并为酚类化合物用于节育药开辟了一个新的研究领域。

二、棉酚的化学、生理性质及代谢

棉酚在其三种互变异构式中主要以其二萜酚醛形式存在, 分子量为518.54, 化学结构中含有酚基和羰基(图1), 容易与酸、碱、氧或其他生物化学功能基团起反应, 尤其容易与蛋白质中的赖氨酸ε基起反应而降减和

改变蛋白质的质量。棉酚可与酶蛋白本身结合或与其底物竞争而抑制酶的活性, 干扰离子代谢, 引起组织损伤和出现相应的毒性。棉酚可与铁离子整合而影响血红蛋白合成过程中铁的利用。然而其毒理仍未完全清楚。



分子式: $C_{30}H_{30}O_8$

分子量: 518.54

图1 棉酚的化学结构

棉酚在动物体内的吸收、分布、排泄及代谢状态有种属上的差异, 小鼠和犬一次口服 ^{14}C -棉酚后在血液中的半衰期较猴及大鼠为长, 在组织中的积蓄量亦较高, 因而对棉酚的毒性作用较敏感, 往往在生精上皮未出现损伤前便出现中毒症状。大鼠一次口服 ^{14}C -棉酚(20微居里/7.5毫克)后, 在体内的半衰期为60小时(图2), 19天内排出率占总剂量的97.74%。主要排泄途径为粪便, 19天内的排出率占总量的83.5%, 呼气占11.73%, 尿占2.51%。整体放射自显影显示口服后第1~2天标记物主要分布于胃肠道及肝脏; 第4天分布全身组织; 9天左右在主要脏器中活性达高峰(图3, 4, 5)。二周后才降至低水平。从在体内的清除速度看, 继续口服会造成在组织中的累积而引起毒性反应。脏器中以肝脏的浓度最高, 以下

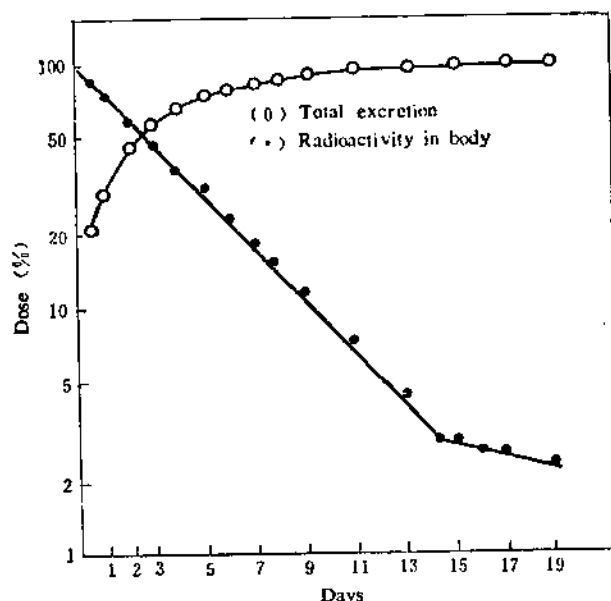


图2 大鼠一次口服 ^{14}C -棉酚(20微居里/7.5毫克)后每日从粪、尿及呼气中排出的总率(○—○)及体内的存留率(●—●)

依次为脾、肾、心、肺、胰、肌肉、脂肪及睾丸(表1)。睾丸中的浓度较其他主要脏器为低,而脑、脊组织则更低,说明可能与血脑和血脑屏障有关。

三、棉酚的抗生育作用及其靶子细胞类型

棉酚对各种动物(包括大鼠、小鼠、地鼠、豚鼠、家兔、犬、雄猴和猪等)的抗生育作用已有大量报道。各种动物之间对棉酚的种属性差异主要是对棉酚毒性反应的敏感性的不同。其中大鼠、金黄地鼠、雄猴及人类的睾丸生精细胞对棉酚的抗生育作用最为敏感,而家兔、小鼠、犬、豚鼠及猪则往往在出现抗生育作用(生精上皮受损)之前便中毒死亡。定量测定及整体放射自显影显示睾丸中棉酚含量较其他脏器为低(肝、脾、肾、心及睾丸的高峰浓度分别为1,192、716、705、398和372),而生精细胞的损伤则较任何体细胞严重。表明睾丸生精上皮是机

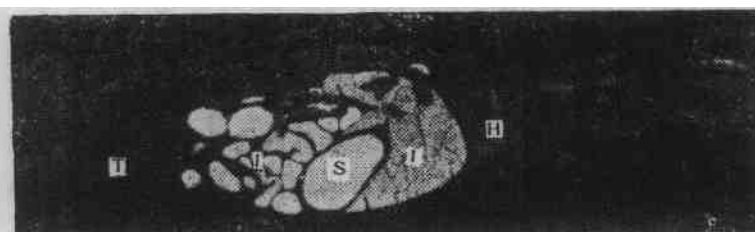


图3 大鼠一次口服 ^{14}C -棉酚后1天的整体放射自显图,图中白色为标记物分布部位。

C.结肠; H.心脏; L.肝; SPC.骨髓; I.小肠; S.胃; T.睾丸

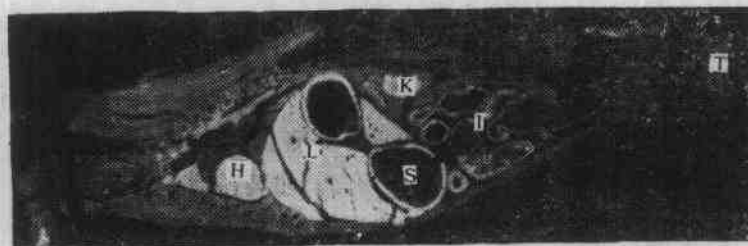


图4 大鼠一次口服 ^{14}C -棉酚后4天,标记物扩布至各脏器。

K.肾; T.睾丸



图5 大鼠一次口服 ^{14}C -棉酚后9天,体内各脏器组织的放射活性达高峰。

SP.脾

表1 一次口服 ^{14}C -棉酚(20微居里/7.5毫克)
后各脏器组织的放射比活性比较

脏器	日数	12小时	1日	2日	4日	9日	14日	19日
心		260	292	316	398	298	316	94
肝		978	1192	970	400	287	67	70
脾		313	388	494	718	546	360	170
肺		180	274	300	304	358	280	130
肾		314	420	536	708	360	100	86
胰		192	232	244	348	268	110	72
血液		574	386	374	374	308	170	46
肌		192	346	298	302	214	204	204
睾丸		270	294	256	284	372	118	78
副睾		234	206	246	168	176	136	72
附睾性腺		64	258	334	286	194	148	47
胃		820	372	274	314	304	68	58
十二指肠		882	768	554	468	252	108	62
结肠		334	340	384	332	152	112	66
胃内容物		2560	1780	528	882	208	148	88
小肠内容物		2770	2198	884	658	106	56	48
大肠内容物		3216	9256	1028	828	122	38	92
肾上腺		344	378	608	874	500	408	112
甲状腺		224	908	662	536	370	248	136
垂体		358	492	1272	1352	398	296	286
延脑		34	70	86	110	132	76	30
下丘脑		52	54	128	92	116	82	60
骨髓		62	90	216	148	154	20	44

注: (1) 每一数值为三只动物共六次测定的平均值。

(2) 均用标准源(^{14}C -正十六烷和 ^{14}C -胆固醇)作计数效率的校正。

体中对棉酚最敏感的组织, 生精细胞是最敏感的细胞类型, 棉酚对睾丸的选择性损伤, 不是由于睾丸中棉酚浓度高, 而主要是睾丸生精上皮对棉酚的敏感性较高有关。

大鼠口服15~30mg/kg/日甾体棉酚后4~5周出现不育, 起效时间与剂量大小有关。最先出现损伤的是服药2~3周后的精子, 变态各期精子细胞和中、晚期初级精母细胞, 呈现线粒体空泡化、核固缩、核膜皱缩、核区肿胀、脱位、核裂解和细胞溶解等病变。管腔中可见脱落细胞及精子头、尾断裂残块, 多核巨细胞和残影细胞等(图6a, b)。4~5周后, 大部细管萎缩变形, 上皮中的精子及精母细胞几乎全部脱落消失, 仅残存外周一层支持细胞和精原细胞(图7)。根据细胞学的观察, 我们将最易遭受损伤的精子、变态期精子细胞和中、晚期精母细胞称为棉酚的靶子细胞, 理由是: ①这些细胞对棉酚毒性最敏感, 出现损伤最早、最严重; ②这些细胞并合 ^{14}C -氨基酸的活动容易受到干扰; ③从靶子细胞的发生动力学推算, 理论上有效剂量作用于精子细胞和精母细胞导致不育的起效时间与本实验实际出现时间基本一致, 符合于药物引起靶子细胞损

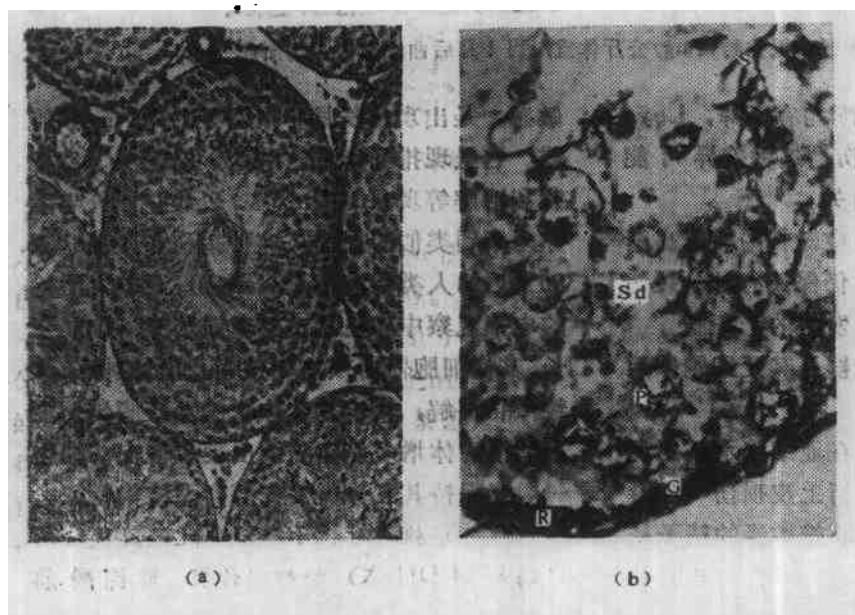


图6

(a)正常大鼠睾丸曲细精管横切面; (b)大鼠口服棉酚(30毫克/公斤体重/日)3周后的曲细精管横切面。
G.精原细胞; P.粗线期初级精母细胞; R.静止期初级精母细胞; S.精子; Sd.精子细胞



图7 大鼠口服棉酚4周后曲细精管切面

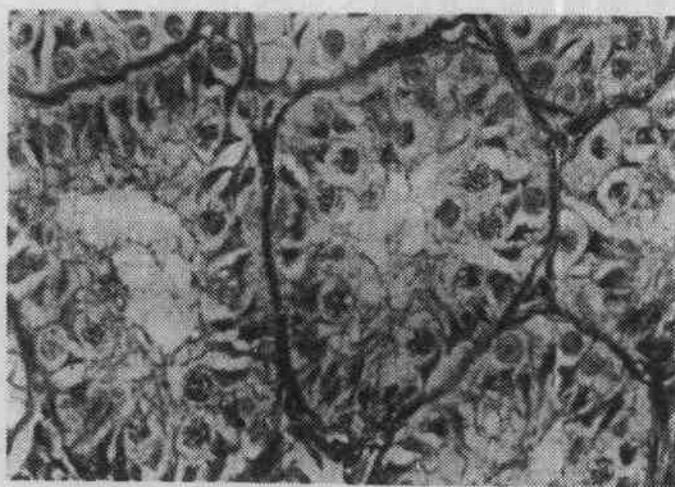


图8 雄猴口服棉酚(2mg/公斤体重/日)4月后曲细精管损伤图象

鼠服棉酚后血清LH及睾酮均有下降, Leydig细胞出现超微结构损伤, 这种差异可能与剂量及动物种属差异有关。

精原细胞在生精细胞中对棉酚有较高耐受阈值, 在抗生育剂量下仍保持有丝分裂能力, 停药后作为恢复精子发生的干细胞。

四、棉酚的靶子细胞器及其亚细胞作用位点

(一) 靶子细胞器 在亚细胞水平的观察, 显示大鼠服棉酚后生精上皮损伤一般沿管腔向基膜方向递减, 靠临管腔缘的精子及变态期精子细胞中段螺旋鞘线粒体对棉酚最

伤与出现不育时间的相关规律。

雄猴服棉酚(1~2 mg, 20mg/kg/日)后生精上皮出现损伤的部位、细胞类型及顺序与大鼠相同(图8)。金黄地鼠亦呈现类似的损伤状态, 但似较大鼠更为敏感。

人类临床志愿服药者睾丸活检以及精液中脱落细胞类型及顺序亦完全与大鼠一致。表明人、猴、大鼠的棉酚靶子细胞类型及作用部位相同。

抗生育剂量棉酚对间质细胞、支持细胞及附睾上皮未见有明显损伤作用。对生殖轴系的形态、组化反应及激素水平的测定亦未见有统计学意义上的干扰。最近有报道大

敏感, 是出现损伤最早最明显的靶子细胞器。它呈现排列紊乱、肿胀、嵴消失、空泡化和溶解等现象(图9)。以后, 国外学者亦观察到类似的损伤。这种损伤在服药30~50天后的人类精液精子(图10)及睾丸活检的电镜观察中亦见到。随着服药时间的延长, 其他细胞器的损伤如核帽及顶体肿胀, 颗粒液化溶解, 高氏复合体水肿及核膜皱缩变形和溶酶体增多等亦陆续出现。但支持细胞一般仍保持其三分体核仁等典型结构特征。

(二) 棉酚对精子线粒体乳酸脱氢酶同功酶X (LDH-X) 的抑制作用 服棉酚前

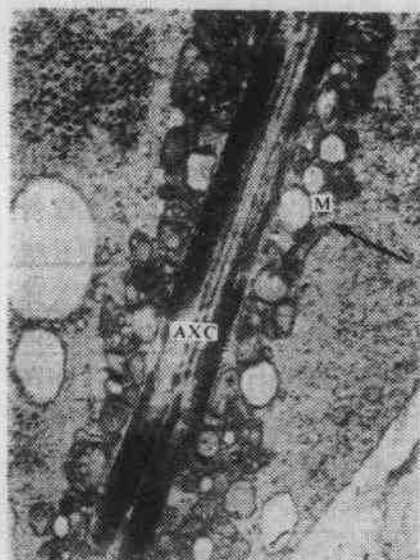


图9 服药4周示大鼠精子细胞线粒体出现损伤

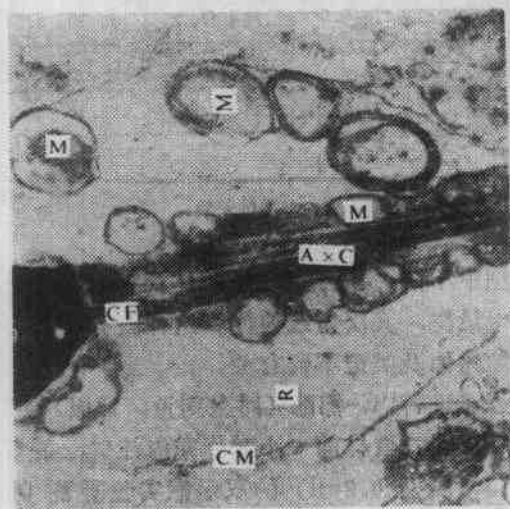


图10 服药30天人精子电镜图, 示螺旋线粒体损伤

人类精子螺旋线粒体在Preston法组化显色下LDH-X呈蓝紫色细粒状反应。服药30~50天后, LDH-X活性减弱或呈分布不均匀的粗粒状(图11a,b)。精浆上清在醋酸纤维素薄膜的电泳反应中呈现6条蓝紫色区带(LDH-5, -4, X, -3, -2, -1)(图12)。服药后区带LDH-X及LDH-1的活性明显减弱或消失, 但有个别差异。定量测定可见LDH-X占LDH总量的百分率明显降

减, 自身对比服药后30, 50及100天的平均值分别为42.6:31.1:10.2%, 即随服药时长而下降, 表明棉酚对线粒体LDH-X酶活性有抑制作用。最近Lee and Malling曾报道棉酚能选择性地抑制小鼠及人类精子的LDH-X, 抑制程度与剂量有关, 而且不可

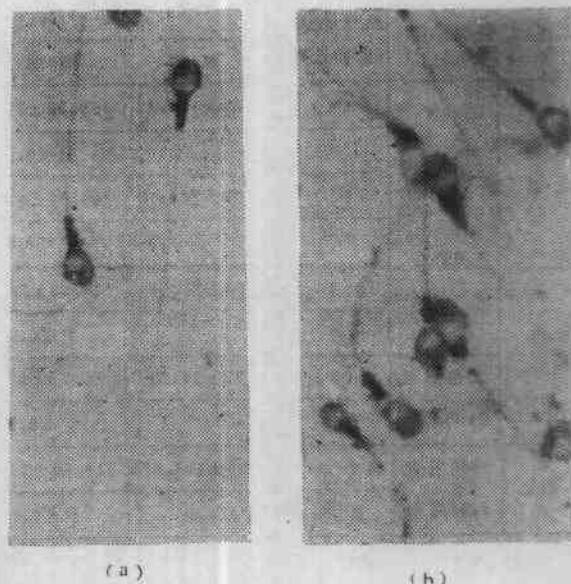


图11

(a) 服药前人精子中段LDH-X组化反应
(b) 服药50天后的改变

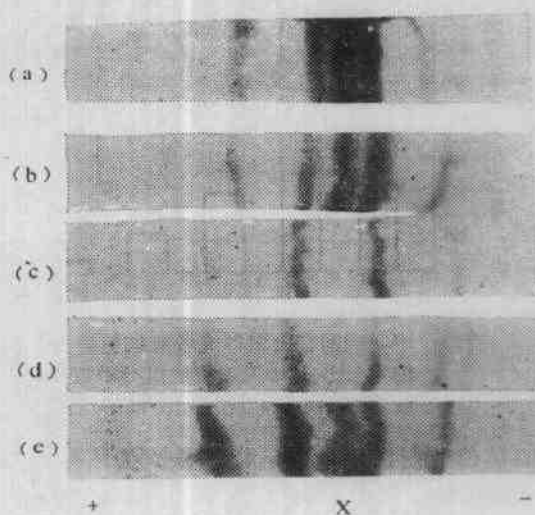


图12 服药前后人精子LDH同功酶的谱型
a,b. 服药前; c,d,e. 服药后100天

逆(但对谷胱甘肽S转移酶则为可逆性抑制)。有关抑制的特异性问题,我们正采用 ^{14}C -棉酚进行分析之中。

(三) ^{14}C -棉酚在睾丸亚细胞组分中的定位分布 为了分析棉酚的亚细胞作用位

点。对口服 ^{14}C -棉酚(25~50微居里/1.95~3.9毫克)后的大鼠睾丸及肝脏亚细胞组分分别以Beckmann LS-8000型液闪仪测定并比较其放射活性。结果见表2及图13。

从表中可见睾丸5种组分中,以线粒体

表2 ^{14}C -棉酚在大鼠睾丸和肝脏亚细胞组分中的定量分布

组织	剂量	服药日数 (动物数)	放射比活性 (dpm/毫克蛋白) ^①				
			线粒体	细胞核	细胞膜	微粒体	可溶性组分
睾丸	50微居里/ 3.9毫克	7(4)	692.42 ± 129.42	169.98 ± 27.30	224.08 ± 23.83	98.04 ± 15.25	44.75 ± 8.20
		P ^②		P < 0.05	P < 0.05	P < 0.01	P < 0.01
		9(5)	1071.03 ± 274.10	260.66 ± 67.57	245.00 ± 49.86	141.11 ± 37.56	36.04 ± 8.32
		P ^②		P < 0.05	P < 0.05	P < 0.01	P < 0.01
		11(4)	461.63 ± 28.61	148.22 ± 28.29	138.86 ± 8.46	75.55 ± 7.79	41.81 ± 7.79
		P ^②		P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001
肝脏	25微居里/ 1.95毫克	9(3)	311.27 ± 21.29	70.76 ± 5.49	98.43 ± 0.98	67.76 ± 27.70	15.39 ± 3.51
		P ^②		P < 0.01	P < 0.01	P < 0.01	P < 0.001
	20微居里/ 1.56毫克	2(7)	665.28 ± 194.37	519.98 ± 141.28	1422.62 ± 155.88	1708.25 ± 448.36	443.36 ± 48.06
		P ^③	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05		P < 0.05

① 为动物活性测定的平均值。

② P值为线粒体与其他四种亚细胞组分之间的差异。

③ P值为微粒体与其他四种亚细胞组分之间的差异。

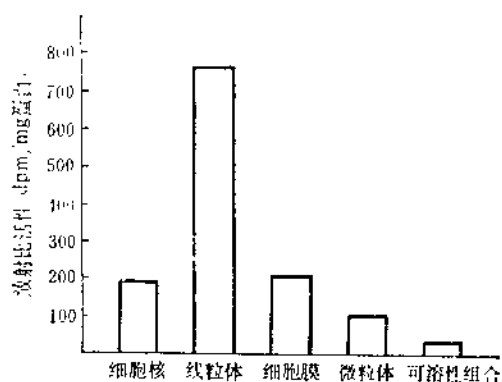


图13 ^{14}C -棉酚在大鼠睾丸各亚细胞组分中的定量分布(各亚细胞组分中放射活性均为三个时相相应组分的平均值)

的单位放射活性最高,以下依次为细胞膜、细胞核、微粒体及可溶性部分。线粒体的单位活性均比其他组分高2~3倍,差异有统计学意义($P < 0.005 \sim 0.001$)。 ^{14}C -棉酚在肝脏亚细胞组分中的分布状态与生精细

胞中不同,以分布在微粒体及细胞膜的组分中最高,其次为线粒体。这种差异可能与细胞结构及类型不同有关。

进行 ^{14}C -棉酚(同上剂量,口服)与 ^3H -哇巴因(取材前一小时作睾丸内注射,剂量为10微居里/0.3ml)的双示踪实验所测定的结果(表3),亦表明这二种示踪物均以在线粒体中的活性最高,与其他组分的差异有

表3 ^{14}C -棉酚和 ^3H -哇巴因示踪在大鼠睾丸亚细胞组分中的分布 ($n = 7$)

组 分	^{14}C -棉酚	^3H -哇巴因
线粒体	481.38 ± 44.96	3667.86 ± 370.37
细胞核	100.48 ± 11.51	1349.43 ± 171.31
细胞膜	164.15 ± 21.20	2038.29 ± 244.67
微粒体	78.82 ± 9.38	835.14 ± 112.32
可溶性组分 ^①	40.74 ± 3.55	2757.50 ± 391.24
P 值	< 0.001	< 0.001

① P值为线粒体与其他四种亚细胞组分之间差异。

② 可溶性组分与线粒体之间的差异, P值为>0.05。

统计学意义 ($P < 0.001$)。这些结果与上述服棉酚后线粒体首先受到损伤的结果一致,提示棉酚定位于线粒体与其损伤有关,而与棉酚结合的线粒体蛋白质(包括与 ^3H -哇巴因特异结合的 Na-K-ATP酶)可能是棉酚的结合位点和作用位点。为了验证这一假说,有关棉酚受体的工作正在进行之中。

(四) 棉酚对线粒体呼吸及氧化磷酸化功能的影响 用 Warburg 器测定了不同浓度棉酚对生精细胞离体线粒体的呼吸及磷酸化功能的影响,结果见图14。图中可见低浓度棉酚($20 \sim 40 \mu\text{M}$)对呼吸(耗氧率 ΔO)有轻度刺激作用,但随着浓度加大,耗氧率明显降减,在 $300 \mu\text{M}$ 时呼吸完全被抑制。无机磷(ΔP)和 P/O值 (氧化底物为琥珀酸)在加入低浓度棉酚后即开始降低,磷酸化反应在 $80 \mu\text{M}$ 时便完全被抑制。

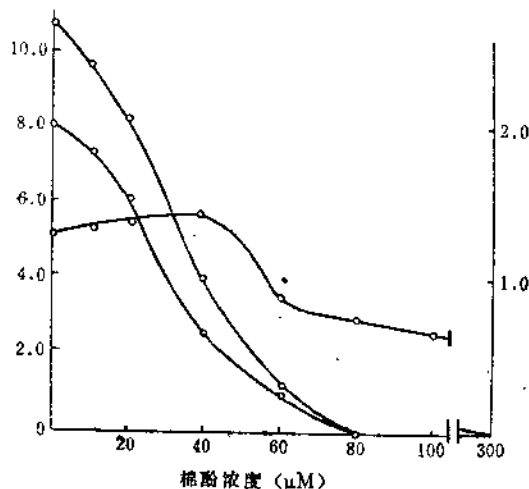


图14 棉酚对离体大鼠睾丸线粒体氧化磷酸化的影响

用Clark氧电极法测定的结果见表4及图15。

从表4可见线粒体呼吸亦在 $300 \sim 400 \mu\text{M}$ 时完全被抑制。

这些结果显示了棉酚抑制离体睾丸线粒体呼吸和氧化磷酸化功能,确证棉酚是一种解偶联剂,解偶联程度随棉酚浓度的上升而增高。对口服棉酚后分离的大鼠睾丸线粒体

表4 棉酚对大鼠睾丸线粒体呼吸的影响
(氧电极法测定)

棉酚浓度 (μM)	耗氧率($\mu\text{M}\text{O}_2/\text{mg蛋白质} \cdot \text{分钟} \pm \text{S.E.}$) ①	
	先加棉酚后加ADP	先加ADP后加棉酚
0	8.05 ± 1.02	16.76 ± 1.49
2	10.48 ± 0.96	16.03 ± 0.25
5	9.37 ± 0.95	11.79 ± 0.30
10	6.58 ± 0.51	6.66 ± 0.14
40	5.07 ± 0.49	2.23 ± 0.47
100	4.02 ± 0.65	1.05 ± 0.11
200	1.60 ± 0.13	0.76 ± 0.13
300	0.53 ± 0.32	0
400	0	0

① 表中数字为5次测定的平均值,氧化底物为 α -酮戊二酸。

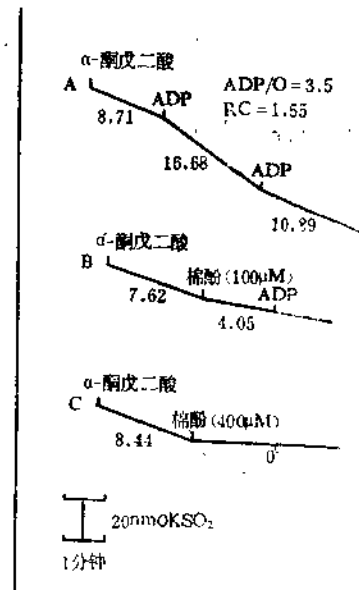


图15 棉酚对大鼠睾丸线粒体呼吸及氧化磷酸化的影响
(氧电极法)

图中曲线A为典型的线粒体呼吸图,曲线B表示加入 $100 \mu\text{M}$ 棉酚后呼吸受到一定程度抑制,再加入ADP亦不起刺激作用;曲线C为加入 $400 \mu\text{M}$ 棉酚后,呼吸完全被抑制。图中数字表示耗氧率,RC为呼吸控制率

亦得到类似的结果。对豚鼠肾细胞线粒体的测定,亦表明预服棉酚动物线粒体在离体情况下对外加棉酚抑制呼吸的敏感性显较对照

组为高。

在离体情况下,不论线粒体来源于肾、肝或睾丸,棉酚到达一定浓度即可抑制其呼吸和氧化磷酸化功能。但在体内情况下,由于棉酚分布状态与细胞类型有关,往往是生精细胞出现明显损伤之时,而心、肝、肾等脏器细胞仍未见任何病变。原因是变态期精子线粒体几乎裸露在外,容易遭受棉酚的直接作用,这可能是棉酚抗生育作用的一个重要亚细胞位点和作用环节。

五、棉酚抗生育作用的分子作用机理

(一) 棉酚对生精细胞的直接细胞毒作用 棉酚是一种具有干扰氧化作用的细胞代谢毒素,能降减氧化酶的活性;对呼吸链酶系及磷酸化过程起解偶联作用,高浓度时可完全抑制线粒体的呼吸和氧化磷酸化;降减能量产生及转换酶(如ATP酶,丙酮酸脱氢酶等)的活性,干扰能量代谢而抑制精子的运动;抑制Na-K-ATP酶而干扰钾代谢;抑制精子特异的LDH-X酶及顶体酶以及苹果酸脱氢酶和谷胱甘肽转硫酶。大鼠喂服抗生育剂量棉酚对体重、睾丸间质组织、性功能、附属性腺以及性激素水平并未引起严重影响,血相、血清中钠、氯、铁离子浓度及精浆中果糖量等均无明显改变。然而氨基酸并合活动及核酸代谢等环节则受到干扰,睾丸生精上皮中的靶细胞选择性地遭受破坏。根据棉酚这种局限于破坏生精细胞的性质,我们曾指出它是一种直接作用于睾丸的抗精子发生药物。大鼠的体内实验和一系列体外实验均得到类似的结论。在离体情况下,棉酚明显降减中国地鼠卵巢细胞(CHO)和人类淋巴细胞的成活率和DNA、RNA及蛋白质的合成;海胆精子和人类精子经一定浓度棉酚处理后,随ATP酶活性的下降而丧失活动力。体内、体外经棉酚作用过的人类精子穿透宫颈粘液和对金黄地鼠卵人工受精的穿透率均明显下降。公猪精子体外经棉酚处理后顶体酶明显被抑制。一系列的这些

实验都表明棉酚是一种直接作用于生精细胞的抗精药物。这种作用已被考虑用作阴道杀精药物的可能性。

(二) 棉酚亚细胞作用位点假说 棉酚通过什么环节直接作用于生精细胞?我们根据上述棉酚靶亚细胞器及其亚细胞作用位点的观察,证实线粒体是棉酚所引致生精细胞出现超微结构损伤最早最严重的细胞器。服棉酚后,精子线粒体特异酶LDH-X的活性明显降减或消失;用Warburg器和Clark氧电极测定生精细胞离体线粒体功能,显示棉酚到达一定浓度后可降减或完全抑制呼吸及氧化磷酸化的功能。确证棉酚是一种解偶联剂,解偶联程度随棉酚浓度的上升而增加。 ^{14}C -棉酚在线粒体中显示了亲和性的定位分布状态,其浓度较其他细胞组分高出2~3倍。 ^{14}C -棉酚与 ^3H -哇巴因双示踪实验,亦显示二种标记物的活性高峰均集中于线粒体。这些结果支持我们关于线粒体是棉酚的敏感靶细胞器以及棉酚通过干扰线粒体功能而中断精子发生和成熟的作用分子机理假说。已有报道线粒体酶系蛋白质是容易与解偶联的酚类物质结合而引起酶蛋白构型损伤的反应位点。我们也观察到 ^{14}C -棉酚在线粒体中高度亲和和定位以及后者结构、功能和酶活性出现明显损伤的事实,表明线粒体蛋白质(酶)可能就是容易与棉酚高度亲和结合的部位,同时也可能是导致磷酸化酶(ATP酶复合体)蛋白质损伤和阻断氧化磷酸化功能的作用位点。 ^3H -哇巴因在双示踪实验中高度亲和定位于线粒体,与我们在电镜中观察到Na-K-ATP酶定位于肾线粒体外膜上的结果互为印证,提示棉酚干扰生精细胞线粒体离子代谢而导致精子损伤的可能性。我们的实验涉及棉酚干扰线粒体三大类酶系(即呼吸链与能源产生及转换有关的ATP酶系,与离子代谢有关的Na-K-ATP酶系,和精子线粒体特有的LDH-X能量代谢酶系)。棉酚与这些酶系蛋白质的结合与其作

用位点一致。棉酚与这些酶系起反应,损伤线粒体功能,从而中断精子的发生、成熟和受精能力似乎是棉酚作用分子机理中一个重要环节。

六、结语

棉酚已被证明是一种抗生育效果可靠,在节育剂量下比较安全的节育药。虽然它还存在如引起低血钾症和长期服药有导致绝育危险等缺点,然而它提供了从酚类化合物寻找控制男性生育药物的新路线,并且代表了当前唯一有可能在本世纪内进入大量临床试

用的一种男用节育药物而受到国际重视。

棉酚能直接损伤生精细胞线粒体超微结构和解偶联呼吸及氧化磷酸化功能;能特异地抑制线粒体能量代谢酶系,离子调节酶系和精子标志酶系LDH-X。这些抑制作用与 ^{14}C -棉酚高度亲和定位于线粒体的结果一致,表明生精细胞线粒体是棉酚的敏感靶子细胞器。根据这些实验结果我们提出了线粒体蛋白质(酶)可能是与棉酚结合和导致损伤精子运动能力和中断精子发生的亚细胞作用位点的假说。

干扰素研究进展

侯云德 中国预防医学中心病毒学研究所抗病毒治疗研究室主任 研究员

干扰素是1957年Isaacs和 Lindenmann 在研究流感病毒的干扰现象时发现的。当时,人们认为干扰素是干扰现象的一种介质,并以此而取名。经过二十多年的研究,对于干扰素的认识已有了根本的改观。目前认为干扰素是细胞分泌的具有高度生物学活性的调节细胞功能的一类重要蛋白。干扰素的研究与病毒学、细胞学、免疫学、临床医学、分子生物学及肿瘤学等均有密切关系,越来越受到医学界、生物学界的重视。近5~6年来国际上干扰素研究的重点放在干扰素的分子生物学和干扰素的临床应用上。我国也在这方面取得了较大的进展。

一、人染色体干扰素的基因组成

1982年,林建新等以 $(\alpha\text{-}^{32}\text{P})$ 标记的干扰素cDNA为探针,采用 Southern 技术,研究了人肌皮二倍体成纤维细胞(HF)和人胎肾非二倍体传代细胞(Mern)的干扰素基因组成(表1, 2)。HF细胞染色体DNA经EcoR1、Sal1、BamH1、Hind III彻底水解后,用 αD 型干扰素cDNA为探针,分别有7、5、7和6个杂交阳性酶切片段。考虑到已知的人 α 干扰素基因内没有内含子,没

表1 HF和Mern细胞染色体DNA与 $(\alpha\text{-}^{32}\text{P})$ -p8218探针杂交的酶切片段分子量分析

Eco R1	Sal 1	Bam H1	Hind III
HF Mern	HF Mern	HF Mern	HF Mern
	9.4		
9.0	8.0		
7.0		6.6 6.6	6.6 6.6
	5.5	5.5 5.5	5.5 5.5
5.0 5.0			
4.2			
		4.1	
3.5 3.5		3.5	
			3.1 3.1
			2.8
	2.75	2.75 2.75	
2.6 2.6			
			1.9
			1.55 1.55
	1.4		
1.35		1.35	
	1.25		
0.37 0.37	0.37	0.37	

注:表中数据计量单位为千碱基对(Kb),表2同。

有BamH1和 Hind III切点,所以, HF 细胞