

- [4] Fujii, M., et al., 1999, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **254**(2):284-291.
- [5] Essen, L. O., et al., 1997, *Biochemistry*, **36**(7):1704-1718.
- [6] Liu, N., et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, **271**(1):355-360.
- [7] Hirayama, T., et al., 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**(9):3903-3907.
- [8] Shimohama, S., et al., 1995, *Gerontology*, **41 Suppl. 1**:13-19.
- [9] Lee, K. H., et al., 1997, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **43**(4):741-747.

## 研究工作

### 猴 Fertilin $\beta$ 氨基端 93 肽基因的克隆及其在大肠杆菌中表达\*

王 健 沈卫英 刘 俊 高尔生 申庆祥\*\*

(上海市计划生育科学研究所 上海 200032)

精子需通过其表面的黏附分子和卵母细胞表面黏附分子相互作用而穿过卵丘细胞层、透明带并最终与卵母细胞质膜结合并融合。Fertilin(原称 PH30)是由睾丸合成,在附睾中进行剪切加工的精子膜表面糖蛋白,是参与精卵质膜结合和融合的重要分子之一<sup>[1]</sup>。它由  $\alpha$ (60 kDa)和  $\beta$ (44 kDa)两个亚基构成异二聚体结构,两个亚基本身各自具有二硫键,但亚基间没有二硫键存在<sup>[2]</sup>。其中  $\alpha$  亚基含有一个由 22 个氨基酸组成的疏水肽段,与病毒的融合蛋白高度相似,在精卵的膜融合中起重要作用<sup>[3]</sup>。成熟的 Fertilin  $\beta$  亚基氨基端 93 肽区域,称作整联蛋白配体区(简称 F $\beta$ NTP93),可通过与卵子膜表面整联蛋白的相互作用介导精卵的识别及结合<sup>[4]</sup>。体外实验表明,Fertilin 的抗体对精卵融合具有剂量依赖性的强抑制作用<sup>[5]</sup>。以提纯的 Fertilin 免疫雄性豚鼠,能导致完全不育;而免疫雌性豚鼠时,则引起部分不育<sup>[6]</sup>。

目前已克隆到豚鼠、人及猴的 Fertilin cDNA<sup>[4,5,7]</sup>。由演绎的氨基酸序列,对其中具融合功能的特异性肽段进行人工合成,进行精卵结合的竞争性抑制试验,初步证实该区域确实参与精卵细胞的结合和融合过程<sup>[8-10]</sup>。但不同的研究者所用合成肽有效剂量相差 10 倍以上,出现这种现象的原因可能在于合成肽通常

只有六个或八个氨基酸残基组成,而这样小的多肽不具有空间结构,所以结果的可信度值得怀疑。有人用具备空间结构的 28 肽去作精卵结合的竞争性抑制试验,惊异地发现其对精卵结合与融合几乎没有什么影响<sup>[9]</sup>,但这不能说明 Fertilin $\beta$  整联蛋白配体区没有功能,因为该区富含半胱氨酸,分子间极易通过二硫键形成多聚体,影响了其功能的发挥。鉴于此,我们认为有必要制备抗 Fertilin $\beta$  整联蛋白配体区的抗体,研究其是否确实能阻断精卵细胞的结合和融合,从而更直接地证明该区域的功能,也为免疫避孕提供新途径。

我们采用 RT-PCR 技术,扩增获得编码 mF $\beta$ NTP93 的 cDNA,克隆入含编码成熟人绒毛膜促性腺激素  $\beta$  亚基基因的表达式质粒 pT7-7/hCG $\beta$ ,获得表达融合蛋白 mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的表达式质粒,进而在大肠杆菌中表达这种融合蛋白,表达产物经纯化后将用于制备抗猴 Fertilin $\beta$ -NTP93(mF $\beta$ NTP93)抗体。由于融合蛋白中含有 hCG $\beta$ ,不仅可以用抗 hCG $\beta$  抗体来检测融合蛋白的表达,还可以用抗 hCG $\beta$  抗体

本文 2000 年 6 月 8 日收到,11 月 22 日接受。

\* CONRAD/Mellon Foundation 资助项目(MFG-93-23)。

\*\* 联系人。

柱来纯化融合蛋白。

## 材料与方 法

### 1. 材料

猴睾丸由中科院上海实验动物中心提供。将睾丸切成小块,冻于液氮中备用。用逆转录酶进行第一链 cDNA 合成的试剂盒购自 Boehringer Mannheim。PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

引物 I: 5'-CTA GAA TTC AGC AAG CAG TGT  
EcoRI 识别位点

GTG GTA AT-3'

对应于已知的 mFertilin $\beta$  cDNA 的核苷酸序列 1161-1181<sup>[7]</sup>(参考图 3)。

引物 II: 5'-AGA GGA TCC ATG CCC AGT CTG  
BamHI 识别位点

AAC ATA GTG-3'

互补于 mFertilin $\beta$  cDNA 的核苷酸序列 1418-1439<sup>[7]</sup>(参考图 3)。

DNA 限制性内切酶和修饰酶均购自 Promega 公司。TRIzol<sup>R</sup> 试剂购自 Gibco-BRL 公司。

质粒 pT7-7/hCG $\beta$  和兔抗人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 血清均由本实验室制备保存。与碱性磷酸酯酶偶联的羊抗兔血清购自 Gibco-BRL 公司。预染的 SDS-PAGE 分子量标准 (广谱) 购自 Bio-Rad 公司。5-溴-4-氯-3-吡啶-磷酸 (BCIP) 和硝基四氮唑蓝 (NBT) 购自 Sigma 公司。

### 2. 总 RNA 制备和第一链 cDNA 合成

取约 500mg 猴睾丸组织,加入 6 mL TRIzol<sup>R</sup>,匀浆后按厂商提供的方法制备总 RNA。用逆转录酶 (AMV) 第一链合成试剂盒合成第一链 cDNA。反应产物经酚/氯仿抽提,取水相,加入 1/10 体积的 3mol/L 醋酸钠和 2.5 倍体积乙醇沉淀、离心,用 70% 冷乙醇洗,干燥。样品溶于 20 $\mu$ L TE 缓冲液。

### 3. mF $\beta$ NTP93 基因的 PCR 扩增

PCR 反应混合液含: 5 $\mu$ mol/L 正向引物和反向引物各 8 $\mu$ L; 10 $\times$  PCR 缓冲液 (500mmol/L KCl, 1% Triton X-100, 100mmol/L Tris-HCl, pH9.0) 5 $\mu$ L; 2.5mmol/L dNTP 6.4  $\mu$ L; 第一链 cDNA 10ng; 25mmol/L MgCl<sub>2</sub> 6 $\mu$ L, 加重蒸水至总体积 49  $\mu$ L, 加石蜡油覆盖液面,于 95 $^{\circ}$ C 孵育 5 分钟,在最后一分钟加入 Taq DNA 聚合酶 1 $\mu$ L (2U)。反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 1min, 55 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 2min, 40 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 最后冷却至 4 $^{\circ}$ C。反

应产物作 1.2% 低熔点琼脂糖胶电泳,回收 294bp 片段。采用上述条件进一步作 PCR 扩增所需片段,但循环数为 30。

### 4. mF $\beta$ NTP93 基因的克隆和测序

质粒 pT7-7/hCG $\beta$  含成熟 hCG $\beta$  cDNA<sup>[11]</sup>, 编码 145 氨基酸残基,克隆于 pT7-7 的 BamHI 和 HindIII 位点之间。第二次 PCR 扩增产物经 EcoRI 和 BamHI 酶切,作低熔点琼脂糖胶电泳后回收片段。质粒 pT7-7/hCG $\beta$  经 EcoRI 和 BamHI 酶切后也作低熔点琼脂糖胶电泳后回收,与上述基因片段连接,转化 E. coli DE3。用碱裂解法抽提质粒,经 EcoRI 和 BamHI 酶切,电泳鉴定,含插入片段的质粒进行 DNA 序列测定。含 mF $\beta$ NTP93 基因的表达质粒称为 pT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  (图 1)。

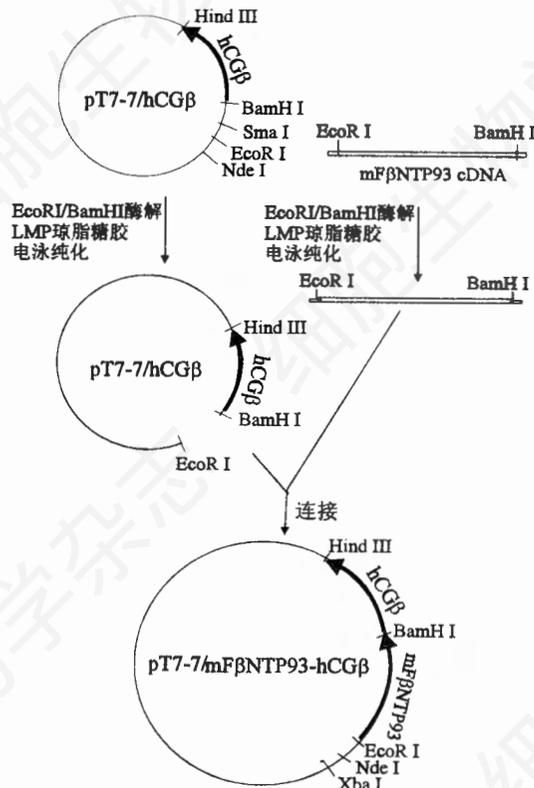


图 1 表达质粒 pT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的构建

### 5. 融合蛋白 mF $\beta$ NTP93/hCG $\beta$ 在大肠杆菌中的表达

按 2% 的接种量接种过夜菌于 50mL LB (含 100 $\mu$ g AP/mL), 37 $^{\circ}$ C 培养至 OD<sub>600</sub> = 1.0, 加 IPTG 至

1mmol/L。继续培养4小时。取1 OD<sub>600</sub>的细菌,离心后,去上清液,加入200 $\mu$ L细菌裂解液。取样品25 $\mu$ L,加入25 $\mu$ L 2X SDS-PAGE 样品缓冲液,作12.5%胶浓度SDS-PAGE 分析<sup>[12]</sup>。同时以相同条件的 pT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ \* 转化 DE3 菌作为对照,因该质粒缺失 Ribosome 结合位点,故 mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  基因不能表达。并以经纯化的昆虫细胞中表达的重组 hCG $\beta$ -oLH $\alpha$ <sup>[13]</sup>和蛋白分子量标准为分子量参照。免疫印迹(Western blotting)操作方法按文献<sup>[12]</sup>。

## 结 果

### 1. 猴睾丸总 RNA 制备和第一链 cDNA 合成

用 TRIzol<sup>R</sup> 试剂制备总 RNA, A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 的比值一般达 1.9-2.0。琼脂糖凝胶电泳可见完整的 28S 和 18S 条带,说明 RNA 未发生明显降解,这有利于第一链全长 cDNA 的合成。

### 2. mF $\beta$ NTP93 基因的 PCR 扩增、克隆和测序

用第一链 cDNA 为模板,在正向引物和反向引物的指导下,经 PCR 扩增获得一条大约 294 bp 的主带,但量不多。经第二次 PCR 扩增后,得到足够量的产物。且为一条带(图 2, Lane 1)。反应产物经简单的酚/氯仿抽提,酒精沉淀纯化后,用 EcoRI/BamHI 酶切,经低熔点琼脂糖胶电泳后回收后可直接克隆入 PT7-7/hCG $\beta$  的 EcoRI/BamHI 位点,获得表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ (图 1)。该质粒分别经 EcoRI/HindIII、EcoRI/BamHI 和 BamHI/HindIII 双酶切后琼脂糖凝胶电泳显示有大小约 793bp、287bp 和 507bp 的条带(图 2, Lane 2、Lane 3 和 Lane 4)。DNA 序列测定结果表明 mF $\beta$ NTP93 基因序列及两端接头处的 DNA 序列均符合设计要求,编码区域的序列(图 3)与文献一致<sup>[7]</sup>。

### 3. 融合蛋白 mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ 在 *E. coli* 中的表达

构建的表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ (图 1)转化大肠杆菌 DE3,经 IPTG 诱导后,表达菌裂解作 SDS-PAGE 后进行 Western blot-

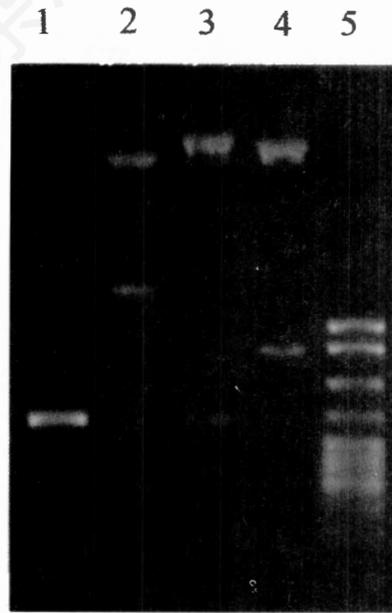


图 2 表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的酶切鉴定图谱

1. PCR 产物; 2. EcoRI/HindIII; 3. EcoRI/BamHI; 4. BamHI/HindIII; 5. 低分子量 Marker (pBR322/MspI), 从大到小的 5 条主带是 622、527、404、307、242/238bp。

ting 分析,结果如图 4。经 IPTG 诱导(Lane 2)和未经诱导(Lane 3)的大肠杆菌中, mF $\beta$ NTP93/hCG $\beta$  都获得表达,表达产物的表观分子量约为 33kDa,与理论值相近(mF $\beta$ NTP93/hCG $\beta$  基因全长 735bp,编码 245 氨基酸残基,分子量理论值约为 28.2kDa)。由于 mF $\beta$ NTP93 基因是以正确读框与 hCG $\beta$  基因融合,采用 Western blotting 分析能检测到 hCG $\beta$  得以表达,因此 mF $\beta$ NTP93 基因理应得到正确表达。而含质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ \* (缺失 XbaI-EcoRI 片段,因而缺失 ribosome 结合位)的转化菌,不论 IPTG 诱导与否,在 33KDa 处都没有对应条带出现(图 4, Lane 4 和 Lane 5)。

## 讨 论

本研究报告了含编码融合蛋白

1	CAG CAA GCA GTG TGT GGT AAT GCA AAG CTG GAA GCA GGA GAG GAG TGT	48
1	Gln Gln Ala Val Cys Gly Asn Ala Lys Leu Glu Ala Gly Glu Glu Cys	16
49	GAC TGT GGG ACC CAA CAG AAT TGT TTC CTT CTT GGA GCC AAA TGC TGT	96
17	Asp Cys Gly Thr Gln Gln Asn Cys Phe Leu Leu Gly Ala Lys Cys Cys	32
97	GAT ACT GCC ACA TGT AGA TTT AAA GCC GGT TCA AAT TGT GCT GAA GGA	144
33	Asp Thr Ala Thr Cys Arg Phe Lys Ala Gly Ser Asn Cys Ala Glu Gly	48
145	CCA TGC TGT GAA AAT TGT CTA TTT ATG TCA CAA GAA AGA GTA TGT AGG	192
49	Pro Cys Cys Glu Asn Cys Leu Phe Met Ser Gln Glu Arg Val Cys Arg	64
193	CCT TCC TTT GAT GAA TGC GAC CTC CCT GAA TAT TGC AAT GGA ACA TCT	240
65	Pro Ser Phe Asp Glu Cys Asp Leu Pro Glu Tyr Cys Asn Gly Thr Ser	80
241	GCG TCA TGT CCA GAA AAC CAC TTT ATT CAG ACT GGG CAT	279
81	Ala Ser Cys Pro Glu Asn His Phe Ile Gln Thr Gly His	93

图3 猴 Fertilin-NTP93 基因的核苷酸序列及其衍译的氨基酸

mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  基因的表达质粒 pT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的构建,及其在大肠杆菌中的表达。mF $\beta$ NTP93 基因和 hCG $\beta$  基因的融合

表达,可用抗 hCG $\beta$  抗体来检测融合蛋白的表达情况,有利于表达产物的鉴定和纯化。含表达质粒 pT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的大肠杆菌,不用 IPTG 诱导,融合蛋白同样得到表达(图 4, Lane 3),用 IPTG 诱导未见表达有明显提高(图 4, Lane 2),导致这种情况的发生可能是由于培养液中含有乳糖或其他乳糖启动子的诱导物。鉴于这种情况,在培养表达该融合蛋白的大肠杆菌时可以用 IPTG 诱导。由于融合基因经测序证实读框是正确的,而且蛋白免疫印迹分析也显示出表达产物与抗 hCG $\beta$  抗体的特异结合反应,表明融合基因中的 hCG $\beta$  得以表达,mF $\beta$ NTP93 基因也就理应得到正确表达。同时,蛋白免疫印迹分析结果表明,融合蛋白 mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的表达水平较高,这为我们分离纯化获得足够量的产物用于免疫小鼠,进一步制备抗 mF $\beta$ NTP93 单克隆抗体奠定了良好基础。

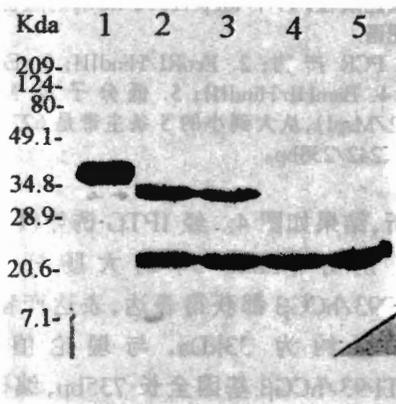


图4 表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  转化菌的 Western blot 分析

1. 昆虫细胞(Sf9)中表达的 hCG $\beta$ -oLHa, 分子量约为 40kDa;
2. 含表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的表达菌(经 IPTG 诱导 4 小时);
3. 含表达质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$  的表达菌(未经 IPTG 诱导);
4. 含质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ \* (缺失 XbaI-EcoRI 片段,因而缺失 Ribosome 结合位的表达菌)(IPTG 诱导);
5. 含质粒 PT7-7/mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ \* (缺失 XbaI-EcoRI 片段,因而缺失 Ribosome 结合位的表达菌)(未经 IPTG 诱导)。

Fertilin 是 ADAM(A Disintegrin And Metalloprotease Domain, 整联蛋白配体区和金属蛋白酶区)家族成员之一,特异性位于睾丸,且初步证实其和精卵结合和融合有关,已日益受到免疫避孕研究者的重视<sup>[1]</sup>。Fertilin 发生于晚期生精细胞<sup>[14]</sup>,最初位于精子细胞的头部及原生质滴,睾丸精子进入附睾时,Fertilin 已局限于精子头部,以后随着精子的成熟,Fertilin 逐

渐向头后部迁移,最后定位于豚鼠精子的头后部<sup>[5]</sup>或小鼠精子的赤道板区<sup>[10]</sup>质膜表面。Fertilin  $\beta$ 亚基的加工在附睾内完成,并伴随着Fertilin向精子头后部的迁移过程。在Fertilin发育成熟的同时,精子获得受精能力。随着对Fertilin研究的不断深入以及ADAM家族新成员的不断发现,精子表面整联蛋白配体区和卵母细胞表面整联蛋白区相互作用的研究已成为免疫避孕领域的又一新热点。尽管目前对整联蛋白配体区的活性部位的结构特征已了解得较为清楚,但对其与卵母细胞膜表面整联蛋白结合后激活卵母细胞的机制以及信号转导机制还知之甚少;此外,对于整联蛋白配体区在精子发育中的作用尚未见报道。

为进一步研究F $\beta$ NTP93在精卵结合中的功能,我们试图用在大肠杆菌中表达获得抗原mF $\beta$ NTP93,并进而制备抗F $\beta$ NTP93单克隆抗体。直接表达mF $\beta$ NTP93的困难在于缺乏检测手段,表达量也不高,难于获得足够量的表达产物用于制备抗mF $\beta$ NTP93抗体。因此,我们采用了表达融合蛋白的途径。在我们以前的研究工作中,曾采用了与本文相同的方法制备了抗钙结合蛋白D-9k(CabpD9k)单克隆抗体,即在大肠杆菌中表达CabpD9k-hCG $\beta$ 融合蛋白,初步纯化后作为抗原免疫小鼠,并成功制备了抗CabpD9k单克隆抗体<sup>[15]</sup>。因此,用本文方法表达的mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ 经纯化后,有可能用于制备抗mF $\beta$ NTP93单克隆抗体。

### 摘 要

Fertilin是一种异二聚体精子表面蛋白。业已证明,它在精卵反应中起着重要作用。成熟的Fertilin $\beta$ 亚基的氨基端93肽含有与整联蛋白结合的整联蛋白配体区。该整联蛋白配体区与蛇毒整联蛋白配体区高度同源,它们能与细胞表面的整联蛋白相结合。

在此我们报道猴成熟Fertilin $\beta$ 氨基端93肽基因的克隆和在大肠杆菌中的表达。用

RT-PCR方法获得mF $\beta$ NTP93基因,克隆入表达载体pT7-7/hCG $\beta$ 的EcoRI和BamHI位点,该基因与hCG $\beta$ 基因一起表达融合蛋白mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ ,Western blotting结果显示,融合蛋白的表观分子量为33kDa,能与抗hCG抗体专一性结合。由于mF $\beta$ NTP93基因与hCG $\beta$ 基因相连,因此我们推测,mF $\beta$ NTP93基因已获得表达。

关键词: Fertilin $\beta$  整联蛋白配体区 融合蛋白 表达

### 参 考 文 献

- [1] Blobel, CP. et al., 1990, *J. Cell Biology*, **111**: 69 - 78.
- [2] Primakoff, P. et al., 1987, *J. Cell Biology*, **104**: 141 - 149.
- [3] Muga, A. et al., 1994, *Biochemistry*, **33**: 4444 - 4449.
- [4] Blobel, CP. et al., 1992, *Nature*, **356**: 248 - 252.
- [5] Gupta, SK. et al., 1996, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **224**: 318 - 326.
- [6] Ramarao, CS. et al., 1996, *Mol. Reprod. Dev.*, **43**: 70 - 75.
- [7] Prefry, AC. et al., 1995, *Biochem. J.*, **307**: 843 - 850.
- [8] Myles, DG. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **91**: 4195 - 4198.
- [9] Gichuhi, PM. et al., 1997, *Int. J. Andrology*, **20**: 165 - 170.
- [10] Yuan, R. et al., 1997, *J. Cell Biology*, **137**: 105 - 112.
- [11] Fiddes, JC. and Goodman, HM., 1980, *Nature*, **286**: 684 - 687.
- [12] 申庆祥等, 1995, *生物化学与生物物理学报*, **27**: 129 - 136.
- [13] 谢黎等, 1998, *实验生物学报*, **31**: 61 - 68.
- [14] Myles DG. et al., 1997, *Biology of Reproduction*, **56** (2): 320 - 327.
- [15] 柯碧霞等, 2000, *细胞生物学杂志*, **22**: 135 - 140.

## CLONING AND EXPRESSION OF THE GENE ENCODING THE AMINOTERMINAL 93 PEPTIDE OF MONKEY FERTILIN $\beta$ IN *E. coli* \*

WANG Jian SHEN Wei Ying LIU Jun

GAO Er Sheng SHEN Qing Xiang\*\*

(Shanghai Institute of Planned Parenthood Research, Shanghai 200032)

### ABSTRACT

Fertilin, a heterodimeric sperm surface protein, has been shown to play an important role in sperm-egg interactions. The amino terminal 93 amino acids of the mature fertilin  $\beta$  subunit contains a putative integrin binding disintegrin domain that shares significant sequence homology with the snake venom disintegrins, a family of proteins that are known to bind to integrin on cell surfaces. We report here the cloning and expression of the gene encoding the amino terminal 93 amino acids of the monkey mature fertilin  $\beta$  subunit (mF $\beta$ NTP93) in *E. coli*. The gene was produced by RT-PCR and subcloned into plasmid pT7-7/hCG $\beta$  at EcoRI and BamHI sites. The gene was expressed in *E. coli*(DE3) as a fused protein mF $\beta$ NTP93-hCG $\beta$ . The result of Western blotting showed that the fusion protein had an apparent molecular weight of 33 KDa and had the anti-hCG antibody-binding activity. Therefore, we assume that mF $\beta$ NTP93 should be expressed, because the mF $\beta$ NTP93 gene was fused to hCG gene in correct reading frame.

**Key words:** Fertilin $\beta$  Integrin-binding disintegrin domain Fusion protein Expression

\* This project was supported by a grant from CONRAD/Mellon Foundation(No. MFG-97-23).

\*\* To whom correspondence should be addressed.

## 小檗胺衍生物(EBB)体外抑制肺癌细胞增殖机制的初探

张金红 许乃寒 徐 畅 陈家童 刘惠君

段江燕

(南开大学分子生物学研究所 天津 300071) (山西师范大学生物系 临汾 041004)

由于  $Ca^{2+}$ -CaM 是细胞内多种信号的调控中心,它与细胞的增殖和癌变有密切关系<sup>[1]</sup>,因此 CaM 拮抗剂具有抗肿瘤的可能性<sup>[2]</sup>。在过去的工作中,我们先后发现经过自行化学修饰后的小檗胺衍生物-EBB,在体外不仅对恶性肿瘤细胞(HeLa, Bowes 细胞等)的增殖有明显的抑制作用,而且还表现出对正常牛胚肾细胞(MDBK)毒性低的特点<sup>[3-4]</sup>。EBB 对牛胚肾细胞毒性低的现象是种属差异还是 EBB 在抑瘤方面的优点,有待进一步证实。除此之外,体内实验所发现的 EBB 在明显地抑制小鼠移植瘤 S180 生长的同时,还具有逆转由于荷瘤引起的小鼠主要器官细胞中不正常的 CaM 水平的能力<sup>[5,6]</sup>;是否影响了 CaM 基因表达系统有

关? 也有必要研究。

肺癌无论是从发病率还是存活率以及化疗效果上都是肿瘤治疗中较难解决的问题。因此本文选择人胚肺细胞(HEL)和人肺巨细胞癌(PG)分别作为检测 EBB 毒性的正常细胞株和抑瘤细胞株,研究了 EBB 这种新型的半天然 CaM 拮抗剂的抑瘤效果和毒性是否与对细胞内 CaM 水平的影响有相关性;以及 EBB 抑制肿瘤细胞增殖的同时对细胞内原癌基因,抑癌基因表达是否有影响。为探讨 EBB 抗肿瘤作用的机制和应用的可行性提供重要的科学依据。

本文2000年3月14日收到,2001年3月19日接受。

致谢:本工作得到天津市自然科学基金资助。