

剂完全^[2]。表现为细胞核仁还隐约可见。茯苓素诱导 HL-60 细胞分化至少需持续作用 48 小时以上, 而 TPA 只需 3—6 小时^[3], RA 12—24 小时^[4], 1,25(OH)₂D₃ 4 小时便可诱导 HL-60 细胞分化^[5]。茯苓素与 RA 等诱导剂一样, 一经诱导分化, 细胞便不依赖于药物的存在而继续分化成熟, 其诱导分化作用为不可逆性。

白血病的发生, 首先是造血细胞分化障碍, 具有分裂增殖能力的白血病细胞在组织内蓄积和浸润等, 从而出现一系列临床症状。用诱导分化的方法治疗白血病是近年来一种新的尝试。诱导分化的研究, 为研究细胞分化的调控, 白血病的发病机理也提供了有益的实验模型。目前, 虽然越来越多的分化诱导剂相继问世, 但中药的诱导分化作用却报道甚少。茯苓素诱导细胞分化活性的发现, 为诱导剂的来源开辟了一条新的探索途径。此外, 茯苓素尚有抑制肿瘤细胞增殖, 增强机体免疫的作用^[1,6], 如果同样可以诱导原代培养的白血病细胞分化, 经临床前药理实验后, 有可能用于髓系白血病人的辅助治疗手段。

摘 要

本文报道了茯苓素对人急性早幼粒白血病细胞系 HL-60 的诱导分化作用。用 12.5—100 μg/ml 茯苓素处理 4 天, 50—80% 以上的 HL-60 细胞获得还原 NBT 染料的能力。细胞形态及细胞化学反应发生显著变化。溶酶体酶含量显著增加, 并获得吞噬乳胶颗粒的能力, 分化为单核巨噬样细胞。茯苓素诱导 HL-60 细胞分化需持续作用 48 小时以上, 诱导分化作用为不可逆性。

参 考 文 献

- [1] 许津等, 1988, 中国医学科学院学报, 10 (1), 45-49.
- [2] 杜德林, 李秀森, 1987, 军事医学科学院院刊, 11(1): 14-23.
- [3] Fantana JA. et al., 1981, *Peoc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98 (6): 3863-3866.
- [4] Breitman, TK., 1982, Expression of differentiated functions in cancer cells. Edited by RF. Revoltalla et al: pp 257-275 Raven Press, New York.
- [5] Murao, SI. et al., 1983, *Cancer Research*, 43 (10): 4989-4996.
- [6] 吕丁等, 1987, 中国医学科学院学报, 9 (6): 433-438.

钙离子与激素对小麦黄化幼苗离体核转录活性的影响

黄凤英 邱泽生 赵微平
(北京师范大学生物系)

近年来, 随着研究手段的进步, 对转录这一基因表达过程的重要环节有了进一步的了解。但对植物细胞内的这一过程以及各种因素对转录的调控关系还了解得不够。目前, 人们普遍承认, 植物激素对转录有调控作用。曾发现洋葱根尖细胞核经激动素处理 30 分钟后, 即可看到 RNA 量增加^[1]; 浮萍、豌豆根组织以及椰子、豌豆芽的离体细胞核等都能在 KT* 刺

激下加速 RNA 的合成^[2-5]。但也有报道证明 KT 并无促进 RNA 合成的作用^[6]。

Ca²⁺ 在植物体中有不同于其他二价离子的特殊作用以及钙调蛋白(CaM)的发现, 使人们对 Ca²⁺ 颇感兴趣。目前趋向一致的看法是:

KT: 激动素; IAA: 吲哚-3-乙酸; EGTA: 乙二醇双乙胺醚-N, N'-四乙酸。

Ca^{2+} 作为细胞内功能调节的第二信使, 在与 CaM 结合后调节细胞内多种酶的活性和功能。在转录水平上, 曾发现在动物组织中 Ca^{2+} 促进 RNA 合成^[7-9], 但也有相反的报道^[10]。在植物方面, 至今还无 Ca^{2+} 与核转录的关系的报道。

针对上述问题, 本实验探讨了 Ca^{2+} 与植物细胞核转录的关系, 发现 KT 与 Ca^{2+} 及 CaM 在转录过程中有某种联系。我们的结果也许对于探讨 Ca^{2+} 在植物体内作用的方式及机理有一定意义。

材料和方法

一、材料 萌发3天的“丰抗8号”小麦黄化幼苗。选用黄化幼苗能够排除叶绿体的干扰, 另外, 多年的摸索发现, 黄化幼苗细胞核大, 活性较高。

二、方法 细胞核提取、纯化以及核转录活性的测定依赵徽平等的方法^[11]。每次结果均有5次以上的重复, 取其平均值。

结果

一、激素对离体核转录活性的影响

在 50-4000 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 分别寻找 IAA 对 KT 的最适影响浓度, 发现不同浓度的 IAA 及转录的影响程度近似而且效果不明显。然而在上述浓度范围内, KT 的影响程度变化很大, 浓度很低时, 促进效果明显, 至 400 $\mu\text{mol/L}$, 促进效果最大, KT 浓度继续增大时, 转录活性反而下降(图 1)。以 400 $\mu\text{mol/L}$ 的 KT 与 IAA 分

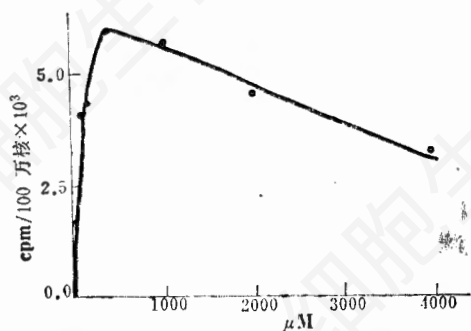


图 1 不同浓度的 KT 对小麦离体核转录活性的影响

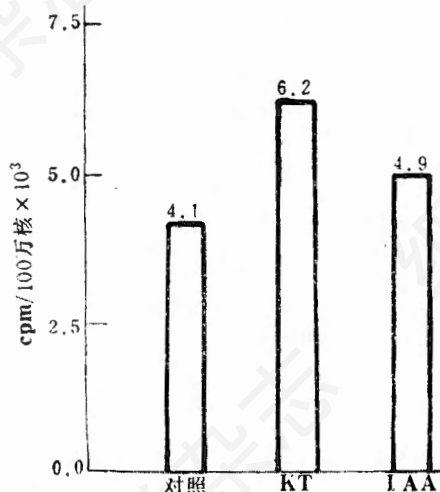


图 2 IAA、KT 对小麦离体核转录活性的影响

别添加于细胞核参入系统, 结果是: IAA 使转录活性提高 22%, KT 使活性提高了 50% 左右(图 2)。

二、 Ca^{2+} 对离体核转录活性的影响

(1) 不同浓度的影响 选用 5 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$ 、500 $\mu\text{mol/L}$ 3 种浓度的 CaCl_2 处理离体核。发现 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ca^{2+} 使核转录活性提高了 90% 以上。在上述浓度范围内, 转录活性随 Ca^{2+} 浓度的增大而下降(图 3)。

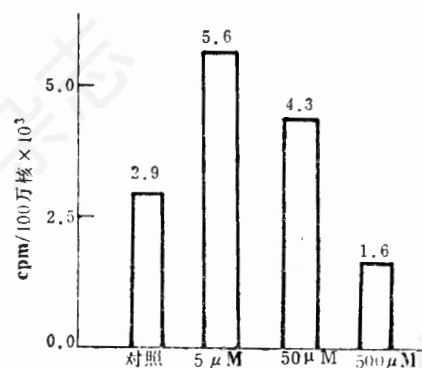


图 3 不同浓度的 Ca^{2+} 对离体核转录的影响

(2) 镧及 EGTA 的影响 分别用 5 $\mu\text{mol/L}$ Ca^{2+} + 250 $\mu\text{mol/L}$ LaCl_3 及 5 $\mu\text{mol/L}$ Ca^{2+} + 150 $\mu\text{mol/L}$ MEGTA 处理离体核。结果表明, Ca^{2+}

的作用受到明显抑制, 镧使 Ca^{2+} 的促进作用消失, EGTA 处理后, cpm 值低于对照(图 4)。

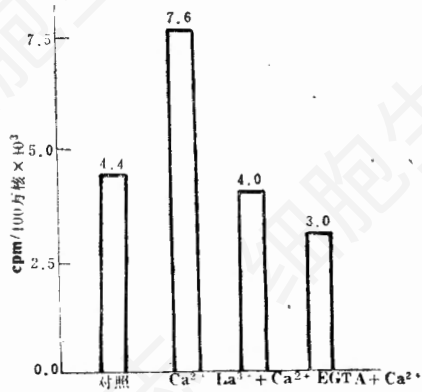


图 4 La^{3+} 及 EGTA 对离体核转录的影响

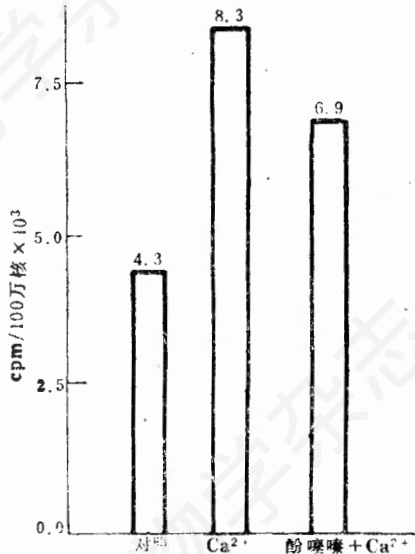


图 5 酚噻嗪对离体核转录的影响



图 6 KT + 酚噻嗪对离体核转录的影响

(3) 酚噻嗪的影响 用 $5 \mu\text{mol/L}$ Ca^{2+} + $100 \mu\text{mol/L}$ 酚噻嗪处理离体核。结果是: 酚噻嗪部分地抑制 Ca^{2+} 的作用(图 5)。

三、KT 与酚噻嗪的影响

离体核经 $400 \mu\text{mol/L}$ 的 KT 与 $100 \mu\text{mol/L}$ 的酚噻嗪同时处理, 转录活性下降至对照水平(图 6)。

讨 论

Ca^{2+} 对核转录活性促进作用最明显的浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$ 。如此之低的浓度就能使核转录活性明显提高(图 3), 可能是由于所用材料为裸露的细胞核。Peter 等指出^[12], 细胞内 Ca^{2+} 浓度低于微克分子, 细胞内过程通过提高 Ca^{2+} 浓度至 $1-10 \mu\text{M}$ 就能被大大活化。 $5 \mu\text{M}$ 就在此范围内, 看来此浓度对核内转录活性的提高是最有效的。用 Ca^{2+} 内流抑制剂镧可使 Ca^{2+} 对转录的促进作用降低到对照的水平, 而用 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA, 把外源 Ca^{2+} 或核内部 Ca^{2+} 消除后, 使核转录活性降低了 32%。镧和 EGTA 的作用结果表明, Ca^{2+} 对核转录过程确有促进作用, 虽然这种作用的机理还不清楚; 另外, 细胞核内也含有少量的 Ca^{2+} , 它在转录过程中也起作用。为了检验在 Ca^{2+} 的作用过程中, 是否与 CaM 发生联系, 用一种钙调蛋白抑制剂——酚噻嗪处理细胞核。从结果看, 酚噻嗪部分地抑制 Ca^{2+} 的作用, 使 Ca^{2+} 的促进效果削弱了 15%。虽然其机理还不清楚, 但可以看出, 在转录过程中, Ca^{2+} 与 CaM 发生某种联系, 这种联系有助于促进核转录活性。前人的工作表明, 细胞核内含有依赖于 Ca^{2+} 的蛋白激酶^[13]、NTP 酶^[14], 而且 Ca^{2+} 参与非组蛋白磷酸化作用^[15,16]。这些发现使人们有理由推测, Ca^{2+} 有可能在细胞核中通过与 CaM 的相互作用直接或间接地刺激 RNA 的合成。我们的实验结果明确地证实了这一推测。

激动素与酚噻嗪共同处理离体核的结果很值得注意。KT 对转录的促进作用被 CaM 的抑

制剂酚噻嗪完全消除。这提示我们, KT 与 Ca^{2+} 和 CaM 有某种正相关的联系。Euiett^[17] 曾有实验表明, CaM 抑制剂对生长素、细胞激动素、赤霉素等多种激素的作用都有影响。Saunders 和 Hepler 发现, CaM 参与葫芦藓细胞分裂素诱导的芽形成的过程^[18]。这些发现使许多人相信, 通过 Ca^{2+} 、CaM 调节细胞内功能可能是植物激素的一种统一作用方式。我们的结果也表明, 在离体核这样一个内, Ca^{2+} 与 CaM 的细胞器内, 激动素对核内某种生化过程的调控作用可能通过 Ca^{2+} 及 CaM 进行。目前, 我们对 KT 及 Ca^{2+} 处理过的核转录产物的研究正在进行中, 试图在分子水平上对它们在核转录中的作用机理有进一步的了解。

摘 要

400 $\mu\text{mol/L}$ KT 加于离体核反应液中后, 核转录活性提高了 50% 左右; 在系统中加入 5 $\mu\text{mol/L}$ Ca^{2+} , 使核转录活性提高了 90%, Ca^{2+} 浓度大于 500 $\mu\text{mol/L}$ 时, 产生负效应。La³⁺ 及 EGTA 明显地消除 Ca^{2+} 的促进作用。钙调蛋白抑制剂酚噻嗪部分地减弱 Ca^{2+} 的促进作用; 用酚噻嗪和 KT 同时处理离体核, 则 KT 的促进作用大大削弱。

参 考 文 献

[1] Guttman R. 1956; *Chromosoma*, 8: 341.

- [1] 1957, *J. Biophys. Biochem. Cytology*, 3: 129.
- [2] Fankhanser, M. & Erismann K. H. 1969, *Planta*, 88: 332.
- [3] Terry L. Shninger et al., 1977, *Plant physical*, 59: 4-9.
- [4] Roychoudhury, R. et al., 1965, *Biophys. Acta*, 107: 346.
- [5] Matthyse, A. G. et al 1970, *Biochim Biophys. Acta*. 199: 511.
- [6] Klambt. D. 1974, *Planta* 118: 7-16.
- [7] White, B. A., et al., 1981, *J. Biol. Chem*, 256: 5942-5975.
- [8] Kaplan, E et al., 1975, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 487-489.
- [9] Wu, F. S. et al., 1981, *J. Biol. Chem*, 256: 5309-5315.
- [10] J. P. Pardo et al., 1982, *Festsletters* 143, no. 1.
- [11] 赵微平等, 1985, 北京师院学报, 自然科学版第二期 73-80.
- [12] Peter, K. H. et al. 1985, *Ann Rev. Plant Physiol.* 36: 397-439.
- [13] Sikorska, M. et al. 1980, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 93: 1196-1203.
- [14] Chen, Y-R et al., 1981, *Plant Physiol* 2: 609-613.
- [15] Kanungo, M. S. et al., 1979, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 86: 14-19.
- [16] Kanungo, M. S. et al., 1979, *Biochem. Biophys Res. Commun.*, 79, 1031-1036.
- [17] Elliot, D. C. 1980, *Biochem. International*, 1: 290-294.
- [18] Saunders, M. J., et al., 1983, *Development Biology*, 99: 41-49.

人血小板衍生生长因子 A 链(PDGF-A)反义 RNA 表达克隆的构建

林鑫华 李文裕

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

人 PDGF 是人血清中主要的生长因子, 由 A、B 两条多肽链以二硫链连接组成^[1]。A、B 链各由不同的基因编码。B 链基因与 SSV 病

毒的 V-SIS 癌基因同源, 被称之为细胞内原癌基因^[2]。A 链基因的功能尚不清楚。一些间叶组织来源的肿瘤细胞有 PDGF-A 链的高表