

PHA 对鹿科和其他动物血的凝集效价

王宗仁

(中国科学院遗传研究所)

植物凝集素 (phytohemagglutinin, 简称 PHA) 不仅对动物血中的红血球有一定的凝集作用, 而且对血液中的淋巴细胞分裂有一定的刺激作用。而 PHA 对各种动物血的凝集效价, 则是淋巴细胞体外培养中决定 PHA 适宜加入量的一个重要依据。我们在培养鹿茸血及静脉血之前, 做了 PHA 对这些物种的血液的凝集效价测定。采用了从菜豆、雪山豆和商陆中提取的三种 PHA。结果发现, 不同来源的 PHA 对同一种鹿血产生凝集作用所需的浓度略有不同; 同一种 PHA 对鹿科不同物种的血液的凝集效价也有不同, 对起源越晚的物种, 效价越低, 这一趋势十分明显; 在用三种不同来源的 PHA 试验时, 这一趋势非常一致。并且在其他动物中, 也反映出 PHA 对进化程度较高的动物, 凝集效价较低的趋势。

一、材料和方法

(一) PHA 液的提取 PHA 液的提取参照施文沙泽 (Schwenzacher) 等方法, 略加改进。分别称取 5 克菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) “北京云豆” 和 5 克雪山豆 (*Phaseolus lunatus*) 及 4 克广西产商陆 (*Phytolacca acinosa*)。碾碎后, 分别浸泡在 20 毫升生理盐水中, 置于 4℃ 冰箱 24 小时。再细加研磨, 加生理盐水至 100 毫升, 重新放回 4℃ 冰箱置 24 小时。取出后, 用单层定性滤纸过滤, 弃去沉渣, 将滤过液再经 5 层定量滤纸置于冰箱内过滤, 将获得的滤过液在无菌条件下, 用 G₆ 漏斗抽滤, 分装在安瓿瓶中备用。

(二) PHA 血凝效价的测定 本试验中所有动物用的 PHA 均为同一批提取。PHA 血

凝效价的测定参照北京医学院微生物教研组提供的方法。

1. 鹿茸血及静脉血血球悬液的制备 用镊子下鹿茸中挤出的血或动物外周血 3—5 毫升, 加上浓度为 50 微克/毫升的肝素 0.5 毫升。将血样用生理盐水洗涤 3 次。第一次 1000 转/分离心 5 分钟, 弃去上清液。再重复一次。第三次 1000 转/分离心 10 分钟。取压积血球用生理盐水配成 1% 的血球悬液。置冰箱保存备用, 但保存时间不宜超过 3 天, 用前要混匀。

2. PHA 的稀释 采用 20 孔塑料凹板, 标明 PHA 种类, 按照图 1 所示的量先后加上生理盐水和 5% PHA 抽滤液或 4% 商陆抽滤液。

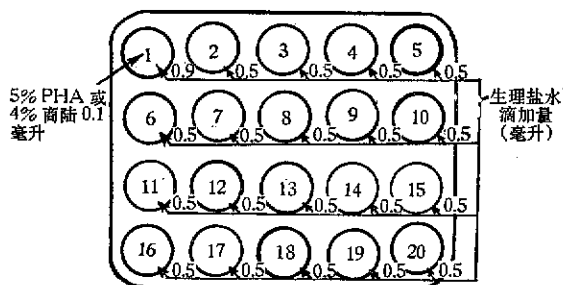


图 1 用 20 孔塑料凹板稀释 PHA 的示意图

将孔₁混合均匀, 吸出 0.5 毫升混合液滴入孔₂, 混匀后, 再吸出 0.5 毫升混合液滴入孔₃, ……直至孔₁₉, 最后将孔₁₉中吸出的 0.5 毫升 PHA 稀释液弃掉。孔₂₀作为空白对照。所获得的不同浓度的 PHA 稀释液按照孔的序号, PHA 的效价为孔₁(1:10)、孔₂(1:20)、孔₃(1:40)……孔_n(1:10 × 2⁽ⁿ⁻¹⁾)……孔₁₉(1:26121440)。

3. PHA 血凝效价的观察 在凹板的每一孔中, 滴加某一动物的 0.5 毫升血球悬液, 轻轻振荡后在室温下放置 2 小时, 参考以下标准:

“++++”——有一层粉红色的血球均匀铺在孔底；“+++”——基本同上，但边缘不整齐，有向下弯趋势；“++”——血球于孔底形成环状，环中央内径在3毫米以上；“+”——血球于孔底形成一个圈，边缘光滑整齐。

二、结果和讨论

从表1可以看出，不同来源的PHA对于同一物种的血液凝集效果是有差异的。无论对哪一种鹿的血，均以雪山豆PHA抽滤液的凝集效价为最高，而北京云豆PHA抽滤液和商陆相仿。

表1 不同种鹿血的PHA凝集效价

血源	PHA 种类		
	雪山豆	北京云豆	商陆
云南黑鹿 (<i>Cervus unicolor dejeni</i>)	1:5120	1:2560	1:2560
爪哇鹿 (<i>C. tamnomsis tamnomsis</i>)	1:5120	1:2560	1:2560
白唇鹿 (<i>C. albirostris</i>)	1:2560	1:1280	1:1280
东北梅花鹿 (<i>C. nippon hortulorum</i>)	1:2560	1:1280	1:1280
中亚马鹿 (<i>C. elaphus bactrianus</i>)	1:2560	1:1280	1:1280
日本梅花鹿 (<i>C. nippon nippon</i>)	1:2560	1:1280	1:1280
青鹿 (<i>C. canadensis macneilli</i>)	1:1280	1:640	1:640
东北马鹿 (<i>C. c.xanthopygus</i>)	1:1280	1:640	1:640
麝鹿 (<i>Dama dama</i>)	1:2560	1:1280	1:640
豚鹿 (<i>Axis porcinus</i>)	1:5120	1:2560	1:2560
驯鹿 (<i>Rangifer tarandus</i>)	1:640	1:320	1:320

其次，还可以看到，同一种PHA，对鹿属(*Cervus*)各个物种血的凝集效价，有按着云南黑鹿、爪哇鹿、白唇鹿、梅花鹿、中亚马鹿、青鹿、东北马鹿的顺序降低的趋势。而对麝鹿血的凝集效价和梅花鹿、中亚马鹿及白唇鹿相仿，对豚鹿血的凝集效价则和黑鹿、爪哇鹿的相仿。对驯鹿血的凝集效价比上述各属各物种都低。

古生物学资料表明，在鹿科动物的进化过程中，鹿属起源于上新世的晚期，比起源于中新世中期的麝鹿属(*Dama*)和更新世晚期的驯鹿属(*Rangifer*)要古老的多。在鹿属中，同属北美马鹿的青鹿和东北马鹿起源最晚，其次是白唇鹿、梅花鹿和中亚马鹿，而爪哇鹿、黑鹿等则属于鹿属动物中起源较早的物种之列。因此，本试验中，鹿科动物起源时间最晚的是驯鹿、较

早的是马鹿、再早的是梅花鹿、中亚马鹿、白唇鹿、麝鹿，最早的是爪哇鹿、黑鹿等。豚鹿的起源未有文献报道，只是斑鹿属(*Axis*)的起源时间和鹿属相仿。

从上述各物种的起源时间与表1所列的结果，可以得出，同一种PHA对起源越早的种的血凝集效价越高；这一趋势，在用3种不同来源的PHA试验时，是一致的。

用同样的3种PHA对其他的动物血所做的凝集效价测定结果(见表2)，从雪山豆抽提的。

表2 一些动物血的PHA凝集效价

血源	PHA 的种类		
	雪山豆	北京云豆	商陆
鸡	1:163840	1:5120	1:160
鹅	1:163840	1:5120	1:160
豚鼠	1:40960	1:2560	1:80
地鼠	1:40960	1:2560	1:80
家鼠	1:2560	1:2560	1:40
兔	1:5120	1:1280	1:40
恒河猴	1:640	1:320	1:10
人	1:640	1:160	1:10

对动物血的凝集作用在大多数情况下，仍大于其他两种，而商陆PHA对于这些物种血的凝集作用则很低。用同一种PHA对不同物种血的凝集效价进行比较，表现出进化程度较高物种的血凝效价较低的趋势。而且，这一趋势，用3种不同来源的PHA试验时，是很一致的。

我们知道，PHA是一类蛋白质，它们能够使红血球发生凝集，是因为它们能与细胞表面的某一些含糖的受体相结合。不同的PHA对于不同动物的红血球凝集效价有不同，过去已有人发现，但是，我们的试验却表明，PHA对不同动物血的凝集效价，和动物起源早晚与进化程度有关。可以推测，各种动物红血球细胞膜化学结构分子水平的差异，很可能是影响PHA凝集效价的决定性因素。因此，今后如能对这一现象的生物化学实质进行深入的研究，可对动物的分子进化学提供一些新的事实。

参 考 文 献

- [1] 北京医学院微生物教研组 1976 细胞免疫体外检验法。第29页。北京医学院。
- [2] 中国医学科学院流行病学研究所 1978 常见病毒病实验技术。人民卫生出版社。
- [3] 费辽罗夫, K. K. 1957 古生物译报, 第1—2期, 第2—9页。
- [4] Borjeson, J., R. Reisfeld, L. N. Shessin and D. O. Welsh 1966 *J. Exp. Med.* 124, 859.
- [5] Genest, P. and C. Auger 1963 *Canad. Med. Ass. J.* 88, 302.
- [6] Landsteiner, K. 1945 In Landsteiner, K. (ed), "*The Specificity of Serological Reaction.*" Harvard Univ. Press. Cambridge. Mass., pp. 4—5.
- [7] Rigas, D. A. and E. A. Johnson 1964 *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 113, 2800.
- [8] Schwenzacher, H. G. 1974 *Methods in Human Cytogenetics.* Springer-Verlag, New York.
- [9] Sharon, N. and H. Lis 1972 *Science*, 177, 949.