

决于反应体系和反应条件的设置^[2]。我们在反应条件的选择上根据引物中 GC 碱基所占比例和引物长度计算退火温度,并进行退火温度试验,在提高扩增灵敏度的同时,消除体系中非特异性扩增。

3.2 PCR 反应体系 PCR 反应体系的组成包含十几种化学试剂,可以将其划分为六种基本组分:水、PCR 缓冲液、dNTPs、引物、Taq 酶、模板 DNA。其中,前二种组分属于稳定因素,而其它四种组分却具有极大的可塑性,其中任何一种组分浓度偏高都会引起非特异性扩增,任何一种组分浓度偏低又会影响扩增的充分性^[3,4]。本试验室在设置 PCR 反应体系前,认为对于一个稳定的扩增体系,对扩增模板含量应该容许一定的跨度,因止着重针对 dNTPs 和引物两种组分有梯度地设置了 4 种 PCR 扩增体系,试验结果(图 1、2)表明,扩增体系 3 的各种组分配比最好,扩增效果最佳,应用这一反应体系和反应

条件可以显著地提高转基因检测的灵敏度。

该项研究为进一步进行转基因番茄果实及其它食品转基因检测方法的研究奠定了基础。

参考文献

- 1 Mc Garvey Kaper, J. M (1991) A simple and rapid method for screening transgenic plant using the PCR. *Biotechniques* 11:238 - 432
- 2 Gustafson C. E, Alm R. A. Trust T.J. (1993). Effect of heat denaturation of target DNA on the PCR amplification. *Gene* 123:241 - 244
- 3 Hung, T., Mak, K(1990) A specific enhancer for polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res.* 18:4953
- 4 Kwok, S., Kellog, D. E: (1990) Effects of primer - template mismatches on the polymerase chain reaction: human immunodeficiency virus type 1 model studies. *Nucleic Acids Res.* 18, 999 - 1005

收稿日期:2004 - 05 - 24

黄芪对衰老小鼠一氧化氮、自由基及细胞凋亡的影响

王桂云 郭新民

牡丹江医学院生化教研室 157011

摘要 目的:研究黄芪的抗衰老作用及作用机制。方法:取 2 月龄小鼠正常条件下饲养 11 月,制成自然衰老模型,用黄芪黄酮浓缩液 1ml/只灌服衰老小鼠 6 周,检测衰老小鼠胸腺中 NO、MDA 含量及 SOD 活性,用荧光显微镜研究细胞凋亡的形态学变化。结果:黄芪黄酮可明显降低衰老小鼠胸腺 NO 及 MDA 含量,提高 SOD 活性,抑制胸腺细胞凋亡。结论:黄芪对衰老小鼠胸腺细胞的退行性变化具有改善或延缓作用。

关键词 胸腺;衰老;一氧化氮;丙二醛;超氧化物歧化酶;凋亡

中国分类号 R282.71 文献标识码 A

EFFECTS OF RADIX ASTRAGALI ON THE NITRIC OXIDES, FREE RADICALS AND APOPTOSIS OF THYMUS IN AGING MICE

Wang Guiyun et al.

Dept of biochemistry, Medical College of Mudanjiang 157011

Abstract Objective: To evaluate the effect of radix astragali in antraging. **Methods:** 2 month - old mice were fed routinely for 11 months to establish the model of naturally aging mice. The radix astragali 1ml were administrated to the mice, then investigated the concentration of NO、SOD、MDA and the morphological changes of apoptosis by fluoromicroscope. **Results:** radix astragali could decreased the level of NO、MDA, improved the activity of SOD, inhibited the thymus cell apoptosis. **Conclusion:** radix astragali have ameliorating and postponing effects on the regressive changes in the thymus of aging mice.

Key words thymus;senility;NO;SOD;MDA;apoptosis

黄芪是一种扶正中药,具有镇痛、镇静、活血通络、益中续气、滋补等作用。近年来,通过药理学研究证实黄芪还具有抗菌、降压、增强机体免疫功能、抗肿瘤、抗衰老等作用,我们进一步研究黄芪黄酮对衰老小鼠胸腺组织 NO 及 MDA 含量, SOD 活性和细胞凋亡的影响,以探讨其老年保健作用的机制。

1 材料和方法

1.1 动物模型制备及实验设计 2月龄昆明小白鼠 20只, 18~22g, 雌雄各半, 由牡丹江医学院实验动物中心提供。随机分为2组, 每天喂饲颗粒饲料, 自由进水和更换垫料等连续喂养 11mon, 造成小鼠自然衰老模型之后, 一组灌黄芪黄酮 1mL/只(其黄酮浓度为 2.5mg/mL), 连续给药 6周。另一组及对照组(2mon 龄年青小鼠), 同时灌胃生理盐水 1mL/

只, 末次给药后进行指标检测。

1.2 方法 各小鼠末次给药后 1h, 处死小鼠, 迅速取出胸腺组织, 用冷生理盐水清洗表面血迹, 并用滤纸吸干, 按由南京聚力生物工程公司提供的试剂盒测定胸腺组织 NO 及 MDA 含量、SOD 活力, 按由碧云天细胞凋亡 - Hoechst 染色试剂盒观察细胞凋亡情况。

2 结果

2.1 黄芪对衰老小鼠 NO、MDA 含量及 SOD 活力的影响 见表 1, 结果显示, 衰老模型小鼠胸腺 NO、MDA 浓度增高, SOD 活力下降。黄芪治疗组 NO、MDA 浓度较模型组为低 ($P < 0.01$), SOD 活力较模型组为高 ($P < 0.05$), 与青年对照组基本接近。

表 1 黄芪对衰老小鼠胸腺 NO、MDA 含量及 SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别/1ML 只 ⁻¹	NO/umol L ⁻¹	MDA/nmol g ⁻¹	SOD/ku L ⁻¹
对照组	128.56 ±12.86	153.8 ±20.6	12.84 ±1.12
模型组	155.48 ±15.89	210.5 ±26.8	6.83 ±1.19
用药物	137.64 ±10.32	161.6 ±18.9	9.58 ±1.98

与模型组比较, $P < 0.01$; $P < 0.05$

2.2 黄芪对衰老小鼠胸腺组织细胞凋亡的影响 衰老模型小鼠的胸腺组织细胞涂片由于染色质固缩, 所以 Hoechst 染色时, 细胞核显致密浓染及碎

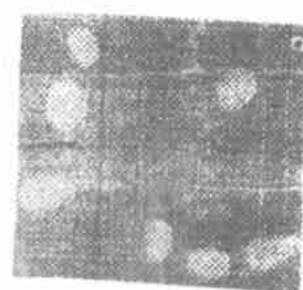
块状致密浓染的情形, 而用药组情况有所改善, 见下图 1。



对照组



模型组



用药组

图 1 黄芪对衰老小鼠胸腺组织细胞凋亡的影响

3 讨论

衰老机制各种学说的共同点认为: 衰老是不可修复的 DNA 分子损伤, 未得以修复或错误修复积累的直接后果。DNA 损伤可激活细胞凋亡, 细胞凋亡是一个非常复杂的过程, 受各种因素调控, NO 和自由基可诱导凋亡。

研究结果表明: 黄芪可通过降低 NO 浓度, 提高 SOD 活性, 减少并改善衰老引起的小鼠胸腺细胞凋亡, 从而达到延缓衰老的效果。

参考文献

- 1 张燕燕. 黄芪抗脂质过氧化作用的研究. 医学导报, 2002(9): 542~543
- 2 孔德娟. 老年大鼠体内 NO、NOS、AGES 和 SOD 水平与衰老的关系. 中国老年学杂志, 1999, 19(3): 175~176
- 3 王晓键. NO 与细胞凋亡. 国外医学. 生理病理科学与临床分册, 2001, 21(2): 97~99

收稿日期: 2004-04-23