

doi: 10.3969/j.issn.1672-5565.2014.01.01

原核基因组的进化方向和癌/正常细胞的熵产生

罗辽复

(内蒙古大学物理学院, 呼和浩特 010021)

摘要: 本文评述了理论生物学的两个基础实验。一是用离子束辐照加速大肠杆菌进化的方法研究原核基因组的进化方向, 证明进化中的缺失偏好性和编码信息量扩增律不矛盾。二是提出用导热法测量细胞的熵产生, 比较研究了癌细胞和正常细胞的熵产生和外加电场的关系, 证明在一定强度的电场作用下正常细胞的熵产生可以明显超过癌细胞, 从而实现改变两类细胞间熵流方向的目的。

关键词: 进化方向; 原核基因组; 细胞熵产生; 电场

中图分类号: Q61 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-5565(2014)-01-001-04

Direction of prokaryotic genome evolution and entropy production of cancerous/normal cells

LUO Liaofu

(Department of Physics, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract: Two experiments in theoretical biology were reviewed. One is on the direction of prokaryotic genome evolution studied by multiple ion irradiations on *E. coli* to accelerate the evolution. It has proved that the deletion bias is not conflict with the law of the growing of coding information quantity. Another is a comparative study on the entropy production between cancerous and normal cells. Through the measurement of thermal conduction of cells under electric field the relationship between entropy production and field strength is obtained. It has proved that the field-induced entropy production in normal cells exceeds that in cancerous so that the direction of entropy flow between two kinds of cells can be reversed.

Keywords: Evolutionary direction; Prokaryotic genome; Cell entropy production; Electric field

生物信息学和理论生物学两个学科有很大交叉。前者着重于下游诸领域的应用, 后者则更多注意上游的基础性问题, 两者相互促进。和传统的实验生物学不同, 二者都广泛使用数学方法、计算工具和逻辑推演, 但又都必须依赖实验资料, 并为实验所检验。生物信息学/理论生物学的研究组如果自己动手做实验, 必将大大提高工作的创新性和成果水平。本文将介绍内蒙古大学组的一些经验。生命进化的时间箭头, 从基因组水平来阐明生物进化的方向性, 是理论生物学的一个基本问题。“生命以负熵为生”, 从熵产生的角度来研究细胞功能, 特别

地, 研究癌细胞和正常细胞的热力学差别, 是理论生物学的又一个基本问题。这两个问题的解决, 需要创新的思想, 需要周密的实验来配合。近年内蒙古大学理论生物学研究组在此二问题上进行了初步实验, 获得了一些结果。

1 原核基因组的进化方向

研究动因 我们曾提出基因组进化的信息扩增律假设^[1], 认为(非寄生)基因组序列的编码信息量 I_c

收稿日期: 2013-09-28; 修回日期: 2013-11-11.

基金项目: 国家自然科学基金项目(90103030, 90403010); 内蒙古自治区科学技术特别贡献奖励基金(2008)。

作者简介: 罗辽复, 教授, 研究方向: 生物信息学、理论生物物理学; E-mail: lolfcm@mail.imu.edu.cn.

在进化中随时间增长($\frac{dI_c}{dt} \geq 0$)。这里 I_c 既包括编码蛋白质的 DNA 序列,也包括编码其他功能区的 DNA 序列的信息量。我们分析了基因组进化中的一些重大事件,如全基因组复制和基因丢失,寒武纪大爆发等几次适应性辐射,灵长类到人类基因组的进化等,没有发现和编码信息量扩增律矛盾的情况。原核基因组的大小差别不大, I_c 的差别也不大,这个规律是否成立?需要通过直接的进化实验来检验。

研究方法 Barrick 等曾对大肠杆菌进行长时间的进化实验^[2],观察了 40 万代,获得了一些碱基插入缺失(indel)的信息。为了加速进化,最近宋智青等^[3]用 N 离子束(10 keV)辐照 *E.coli* 的方法进行实验,通过选择 lac 突变型,经过 6 轮辐照,每轮 5 次传代,获得稳定突变型 S55。对 S55 做全基因组测序,和野生型对比,找到全部单核苷多态(SNP),碱基插入缺失信息和结构变化(SV)资料。

实验结果除了碱基突变和个别 indel 外,得到 9 个大的 SV 区,它们都是缺失型的(见表 1)。

表 1 突变型 S55 基因组中检测到的结构变化

Table 1 Structural variations (SVs) detected in the S55 genome

SV No	Length	Ref-gene-name
Deletion 1	1 446	dcuC , insH , dcuC
Deletion 2	23 252	Rac prophage
Deletion3	1 530	gatA , insH , gatA
Deletion4	1 645	rcsC , insD , insC , rcsC
Deletion5	1 426	tdcE , insH , tdcD
Deletion6	1 524	insD , insC , yidZ
Deletion7	1 563	tnaB , insH , tnaB
Deletion8	1 383	insH
Deletion9	1 418	insH alsK

表中加框标出的是没有功能的假基因,下划线标出的是协助转座的插入序列(Insertion sequence),黑体表示的是原噬菌体附着,一种危险的分子定时炸弹。由于频繁的基因横向传递,细菌基因组可能包含很多外来基因和嵌入物,它们经常是无用的甚至是有害的,并且在进化中被消除。S55 所缺失的 9 个 SV,都属于这类序列。它们的被消除,增加了基因组的稳定性。

实验涵义 原核基因组进化中普遍存在缺失偏好(Deletion bias)现象^[4-5],序列缺失多于插入,但这些 indel 一般都是短于 100 的序列。文献[3]发

现了大肠杆菌进化中还存在若干大片段的长于 1 300 碱基的缺失性结构变化,并且分析这些结构变化,知道它们都是非功能的。因此离子束辐照下的大肠杆菌进化中,大量的序列缺失并未使基因组的编码信息量减少,这和 $\frac{dI_c}{dt} \geq 0$ 的规律是一致的。达尔文的“物竞天择,适者生存”的思想本身就说明进化是有方向的。他着重解释了“性状分歧”和进化树的形成,而进化的树状图式本身便深刻地表明了进化的方向性。这种方向性如何从分子生物学的水平和基因组学的角度予以说明?我们提出的基因组进化方向的信息扩增律是一个可能的解答,文献[3]对这个假设给出了部分的实验证明。

2 癌细胞和正常细胞熵产生的比较实验研究

研究动因 我们曾理论估算癌细胞和正常细胞的熵产生率,指出前者大于后者^[6],并通过理论分析指出外加适当的电场,可以改变二者的相对大小,因而改变熵流的方向^[7]。通常熵流是从高熵的癌细胞流向周边低熵的正常细胞;如果引入适当电场,能使熵流的方向倒过来,这将对癌症的治疗有重要意义。这个问题需要进行实验研究,为此第一步是研究电场作用下癌细胞和正常细胞的熵产生,比较测量它们的相对大小。

研究方法 细胞熵产生难于测量。最近丁昌江等提出了一个测量方法^[8-9]。他们选取一类癌细胞或正常细胞(乳腺癌细胞 MDA-MB-231,正常细胞 MCF10A;肝癌细胞 SMMC-7721,正常细胞 HL-7702),放在 37 C 的培养箱中培养 60 分钟,然后取出装样品的 96 孔板放在一定强度的交变电场中,用温度传感器测量 300 分钟内样品温度的变化。对照组为无电场辐照的细胞样品。利用傅里叶定律就可算出样品(癌细胞或正常细胞)向环境传递的热量,从而定出细胞的电场诱导熵变化量 SEEP,和癌细胞、正常细胞熵产生比值 EEPR。

实验结果文献[8-9]得到四种细胞的 SEEP 和电场的关系如图 1 所示,乳腺细胞和肝细胞的 EEPR 和电场的关系如图 2 所示。由图 1 可见两类癌细胞 MDA-MB-231 和 SMMC-7721 的 SEEP 和电场有相同的依赖,随电场强度单调上升(在 5~40 V/cm 范围内),两类正常细胞 MCF10A 和 HL-7702 的 SEEP 和电场也有相似的依赖,但不是单调的,在 5~30 V/cm 处出现峰值。由图 1 和图 2 还可见在 5~25 V/cm 的区间内两类正常细胞(乳腺

细胞和肝细胞)的电场引发熵产生都明显高于相应癌细胞($EEPR < 1$ 并且两者 SEEP 差值为 $10^{-14} \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{s})$ 的量级)。

实验涵义 已知平衡邻近的线性区中定态的熵产生率最小。活细胞如同一台化学引擎,循序衔接的酶催化反应实现了高效率的能量和物质的转换。生物化学家把活细胞“系统是按各部分和过程的最经济原则运转的”看作生命机体的分子逻辑。这个“最经济原则”从物理原理的角度看就是“熵产生最小”。薛定谔在《什么是生命》书中提出的“生命以负熵为生”的原理,被认为是生命的热力学基础。如果把这句话再加上熵产生最小化的内容,就构成了比较完整的生命的热力学图画。熵产生的重要性还在于热力学熵和 Shannon 信息量存在关系。它们有相同的公式,但决定熵的微观态密度遵守 Liouville 方程,而决定信息量的概率分布遵守 Kolmogorov 方程;二者涉及的自由度不同,是投影关系。因此熵流可能是信息的负载者,熵流方向的改变意味着信息流方向的改变。文献[10-11]讨论了信息的迁移和扩散以及熵流和信息流的关系。

生物组织中熵流的方向决定于熵密度分布,最终决定于细胞的熵产生。和癌细胞相比,正常细胞在电场中具有较高熵产生,这两个可能的机制。第一,由于两类细胞不同的介电性质,癌细胞可能具有比正常细胞更低的电能耗散率或场致熵产生率,这一机制是随着电场单调变化的。第二,由于两类细胞代谢途径(例如 ATP 合成途径)的不同,对于正常细胞,可能某些生化反应更灵敏依赖于一定强度范围的电场,使得它在此电场中具有较高的熵产生率。图 1 的实验结果证实了以上分析。文献[7]估算了无电场时正常细胞的熵产生率在 $2.7 \times 10^{-16} \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{s})$ 至 $2.2 \times 10^{-14} \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{s})$ 之间,而癌细胞熵产生率比正常细胞高出一个因子 2。现在的实验结果^[8-9]证明了一定强度的电场可改变正常细胞和癌细胞熵产生率的相对大小,由图 1 可知两类细胞在 $5 \sim 25 \text{ V}/\text{cm}$ 的电场作用下,电场熵产生的差值已达 $10^{-14} \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{s})$ 的量级。这个附加熵产生已可改变两类细胞间熵流方向。这为癌症的治疗提供一个新思路。

关于理论和实验的关系,李政道说:“没有实验物理学家,理论物理学家就要漂浮不定;没有理论物理学家,实验物理学家就会犹豫不决。”(被称为“物理学家二定理”。)在生物学规律的探索中,有类似情况。我国的理论生物学和生物信息学研究也必须尽量和自己的实验工作相结合。

参考文献 (References)

- [1] LUO Liaofu. Law of genome evolution direction: Coding information quantity grows [J]. *Frontiers of Physics*, 2009, 4:241-251.
- [2] SONG Zhiqiang, LUO Liaofu. Escherichia coli mutants induced by multi-ion irradiation [J]. *Journal of Radiation Research*, 2012, 53:854-859.
- [3] BARRICK J E, YU D S, YOON S H, et al. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with Escherichia coli [J]. *Nature*, 2009, 461:1243-U1274.
- [4] MIRA A, OCHMAN H, MORAN N A., Deletional bias and the evolution of bacterial genomes [J]. *Trends Genet.*, 2001, 17: 589-596.
- [5] KUO C H, OCHMAN H. Deletional bias across the three domains of life [J]. *Genome Biol. Evol.*, 2009, 1: 145-152.
- [6] LUO Liaofu, MOLNAR J, DING Hui, et al. Physico-chemical attack against solid tumors based on the reversal of direction of entropy flow: An attempt to introduce thermodynamics in anticancer therapy [J]. *Diagnostic Pathology*, 2006, 1:43.

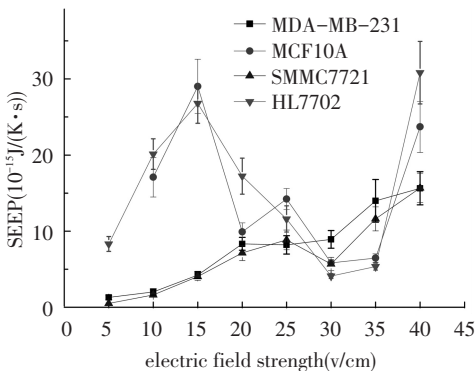


图 1 电诱导熵产生 (SEEP) 和电场强度的关系

Fig.1 The relation between Scaled Electro-induced Entropy Production rate (SEEP) and electric field strength

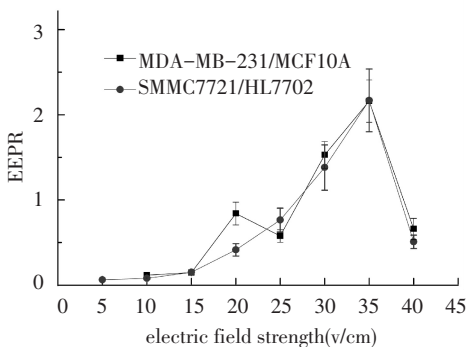


图 2 癌/正常细胞电诱导熵产生比 (EEPR) 和电场强度的关系

Fig.2 The relation between Electro-induced Entropy Ratio (EEPR) and electric field strength

- [7] LUO Liaofu. Entropy production in a cell and reversal of entropy flow as an anticancer therapy [J]. *Frontiers of Physics*, 2009, 4(1):122-136.
- [8] DING Changjiang, LUO Liaofu. Experimental study of entropy production in cells under alternating electric field [J]. *Chin. Phys. Lett.*, 2012, 29(8): 088701.
- [9] DING Changjiang, LUO Liaofu. Measurement of entropy production in living cells under an alternating electric field [J]. *Cell biology International*, 2013, 37(3):233-238.
- [10] 邢修三. 动态统计信息理论 [J]. *中国科学 G 辑*, 2005, 35(4):337-368.
XING Xiusan. On dynamical statistical information theory [J]. *science in china, Ser.G*, 2005, 35(4):337-368.
- [11] LUO Liaofu, DIGN Changjiang. Electro-magnetic field induced entropy production in a cell: Its difference between cancerous and normal cells [M]. In: *Electromagnetic Fields: Principles, Engineering Applications and Biophysical Effects* Ch9. NY: Nova Science Pub, 2013.