

癌基因产物、生长因子及细胞增殖

陈 燕

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

提 要

许多癌基因是由正常细胞中行使增殖功能的重要蛋白的基因转变而来。这些蛋白或是负责将增殖信号向细胞内传导和放大,或是诱导 DNA 复制和转录。文中重点叙述了 GTP 结合蛋白在细胞增殖过程中的第一信使作用,以及大分子蛋白作为第一信使对程控细胞有丝分裂的益处。

长期以来癌症成了危害人类健康的最严重的疾病之一。经过医学家、生物学家、分子生物学家们的共同努力,近二十年来对致癌的决定因子有了共同的认识并正在努力探索肿瘤形成的机理。这将为彻底征服癌症提供理论基础。

一、对致癌决定因子的探索

本世纪初科学家和医学家就在探索形成癌的遗传物质,但未成功。半个世纪前人们从癌症的家族史分析中得到了癌基因的概念^[1,2]。六十年代发现了癌细胞中存在着逆转录病毒(Retrovirus),故人们推测,这些病毒携带了致癌基因,将它们传播给了人和哺乳动物。在人和哺乳动物细胞中的癌基因由病毒传递下去。人们花费了相当的时间和精力去分离致癌的病毒。然而,除了从极少数的自发肿瘤中分离到带有癌基因的病毒外,其他的努力均未成功。但人们确实发现了一些病毒如 Rous 肉瘤病毒、禽髓细胞瘤病毒(MC)、Kirsten, Harvey 或 Moloney 鼠肉瘤病毒确能感染小鸡使之发生肿瘤。

深入研究发现,不是所有逆转录病毒都能引发癌肿,大多数逆转录病毒并无转化细胞的能力。只是极为少数的“毒性的”逆转录病毒带有致癌基因能使正常细胞转化并使感染动物得

癌肿,但仍分离不到带有致癌基因并具传代能力的病毒。现已知道,一个具有繁殖能力的反转录病毒必须齐备病毒自身的三个基因,即内衣壳蛋白基因(gag)、复制酶基因(pol)和外壳蛋白基因(env)。有致癌能力的“毒性”病毒与无毒逆转录病毒的不同在于它们带有的致癌基因替换了一部分病毒繁殖所必备的基因,致使“毒性”病毒带着不完整的 gag 基因或 pol 基因,使它失去了繁殖能力。这就是从未见过报道前面提及的致癌病毒传染和流行的原因^[3,4]。这种病毒一旦得到具有繁殖能力的病毒(称之助病毒)的帮助,情况就变了,在同一感染细胞中,助病毒产生的复制酶和内衣壳蛋白可以帮助“毒性”病毒包装起来。故“毒性”病毒的繁殖,需要助病毒的帮助。

两类反转录病毒的存在使人们深思。大量存在的逆转录病毒具有繁殖能力但不带癌基因,而那些极少数带有癌基因的病毒却丧失繁殖能力。那末,那些致使病毒不孕的癌基因是病毒本身的属性吗?若它们不是病毒自身基因,又来自何方?现已清楚地知道,逆转录病毒是一类 RNA 病毒,感染细胞后,利用本身的逆转录酶以 RNA 为模板合成 DNA 并整合到寄主细胞染色体中,这种病毒 DNA 称为前病毒 DNA(Provirus DNA)它们是病毒 RNA

复制的中间体,前病毒 DNA 的转录产生了新的病毒 RNA。这是不同于 DNA 病毒的复制方式。它很像溶源性噬菌体 λ 能整合到寄主染色体中成为溶原菌。像 λ 噬菌体一样,逆转录病毒整合到寄主染色体中时与寄主染色体上的基因可能发生重组、倒位、缺失,可能将自己的部分基因留到寄主染色体上,也可能将寄主的部分基因带到自己的基因组上。因而,在 1969 年就有人认为病毒的致癌基因来自正常的寄主细胞的染色体^[9]。

1975 年加州医学院 Michael Bishop 和哈佛大学 E. Varmus 发现 Rous 肉瘤病毒中的 Src 癌基因在所有小鸡的细胞中都存在着。他们称之为原癌基因 (protooncogene)。在鸡细胞中,该基因被侵入的无毒逆转录病毒捕获时成为病毒癌基因(v-oncogene)。现已在逆转录病毒上发现了十八种癌基因,在正常哺乳动物细胞中都找到了与之相对应的原癌基因或称之细胞癌基因(c-oncogene)。一般说来,人们相信这些病毒癌基因都来源于正常细胞的基因。

另一些科学家如麻省理工学院的 Weinberg、Dana Farber,癌症研究所的 Cooper 以及冷泉港的 Wigler 及其同事们致力于从人和哺乳动物的癌细胞中分离癌基因。他们从化学致癌的细胞中分离出染色体 DNA,再用这些染色体 DNA 去转化 NIH3T3 细胞,确实得到了具有转化能力的染色体 DNA 片段。进一步分析发现这些 DNA 片段与逆转录病毒上 ras 癌基因相同。这就说明细胞中确实存在着原癌基因,化学诱导使它们突变为癌基因,致使细胞转化。

在正常细胞中行使功能的基因如何变为癌基因的,有两种理论。一种认为正常细胞的原癌基因或者细胞癌基因经过突变,或逆转录病毒感染细胞使细胞原癌基因发生重组、转位、缺失等变为癌基因。即原癌基因发生某种质变而成癌基因。这称之原病毒理论^[6]。另一种则认为细胞中本身存在着癌基因,但处于非活动状态,一旦诱发活化了该基因或使该基因扩增表达过度便可使细胞转化,这称之癌基因理论^[6]。

系指基因产物的量变而致癌。癌基因顺序分析的资料表明,一般的病毒癌基因与细胞中原癌基因确有差别。如病毒 ras 基因与正常细胞中原癌 ras 基因在 12 位上有一个氨基酸差别。病毒 src 基因与细胞 src 基因则有 1—2% 差别。故原病毒理论有一定的普遍性。

二、病毒癌基因与酪氨酸蛋白激酶 (Tyrosine protein kinase) 活性

人们认识了癌基因是致癌决定因素,同时也认识到癌细胞、转化细胞与正常细胞之间的差别。那末,癌基因又怎么导致这些差别的产生呢?这是还未清楚地认识而又想彻底了解的问题。近年来,这方面的研究进展很快,人们从不同角度去发掘癌变的机制。本文则从癌基因产物与细胞增殖的关系方面作一些介绍。

癌细胞、转化细胞与正常细胞有许多差别,癌细胞和转化细胞的增殖是不可控的,组织培养的转化细胞可以无限代传下去。转化细胞分化程度差,癌基因产物限制和阻碍了细胞的分化,使之处于高分裂低分化的状态。形态上亦有很大变化,癌细胞变大拉长呈梭形。细胞核变大。细胞失去了粘着斑,细胞生长不再受空间限制,接触抑制不起作用了,故不再像正常细胞贴壁生长,而是多层生长。一些科学家正努力寻求癌基因产物是否与癌细胞恶性增殖以及形态变化相关。

已经发现 Rous 肉瘤病毒 src 基因^[8]或该基因产物 src 蛋白 (P60^{src}) 注入正常哺乳动物细胞都能使正常细胞转化。又发现病毒 ras 基因^[8]和它的基因产物 ras 蛋白^[9]分别注入哺乳动物细胞亦能造成细胞转化,甚至影响细胞分化^[10]。如果两个癌基因协同作用更易使正常细胞转化。如 myc 和 ras 基因的协同作用以及 mil 和 myc 的协同作用。为弄清这些基因产物造成细胞转化的原因,科学家们便对癌基因产物本身进行研究。最早发现 src 基因产物 P60^{src} 具有蛋白激酶活性。与一般细胞内蛋白激酶不同,它使蛋白在酪氨酸的羟基上磷酸化。此后发现在已知十八个逆转录病毒的癌基因中

就有七个具有酪氨酸蛋白激酶 (TPK) 的活性。这七个基因中都编码有一个共同的 250 个氨基酸的区域, 现已知它是 TPK 活性所在部位。还有四个癌基因产物并未测出 TPK 活性, 但都具有 250 个氨基酸的共同区域^[4]。诸多的癌基因产物都具有 TPK 活性或具有 250 个氨基酸区域, 使人联想到与调节细胞增殖有关的细胞表面的多肽激素和肾上腺能的受体系统。该系统在接受外源激素刺激后, 产生第二信使 cAMP, 以此去调节细胞内的一系列蛋白激酶, 使一系列蛋白磷酸化从而调节细胞增殖。这些具有 TPK 活性的癌基因产物是否也是调节癌细胞增殖的调节蛋白呢? 由于细胞中仅极少量蛋白是在酪氨酸上磷酸化的 ($<0.1\%$), 故猜测它们可能是起重要调节作用的蛋白。癌细胞中具 TPK 活性的癌基因产物增加, 因而在酪氨酸上磷酸化的蛋白亦增加, 它们很可能与癌细胞增殖失控及形态变化相关。一些科学家在研究细胞中哪些蛋白是在酪氨酸上磷酸化的, 它们在细胞内功能又如何。

Hunter、Cooper 和 Selton 从癌细胞与正常细胞形态上有差别出发, 判断构成细胞骨架的蛋白可能会发生变化。因而从转化细胞中分离了十种细胞骨架蛋白, 从中寻找是否有酪氨酸磷酸化蛋白存在。在转化细胞中确实找到了 vinculin 是在酪氨酸上磷酸化的蛋白, 分子量为 36000^[12]。它处于细胞粘着斑上。它是联系质膜上的锚地蛋白与细胞骨架微管的蛋白, 在它的附近还发现了 src 基因产物 P60^{src}, 在转化细胞中 P60^{src} 活性增高, 而使 vinculin 磷酸化, 磷酸化的 vinculin 改变了构象, 造成肌动蛋白束与质膜锚地蛋白分开, 破坏了粘着斑, 改变了转化细胞的形态。这样细胞就不再贴壁生长。同时, 有实验表明 P60^{src} 蛋白能使细胞质膜上肌醇磷脂磷酸化^[13], 这促使肌醇磷脂分解, 产生二酰基甘油, 它能活化蛋白激酶 C, 对调节细胞代谢和增殖都有重要关系。

三、细胞原癌基因产物的功能

近年来由于核酸测序方法的不断改进, 人

们对病毒来源的癌基因以及细胞来源的原癌基因进行了大量分析和比较。同时, 蛋白质分离技术特别是蛋白免疫分离技术的提高, 对癌基因产物的结构、功能以及在细胞中的定位都做了大量研究。实验结果表明, 是逆转录病毒 18 个癌基因相应的细胞原癌基因产物与细胞中某些和生长、增殖、分化相关的蛋白。

从细胞原癌基因 c-sis 推断出的氨基酸顺序与血小板生长因子 B 链的氨基酸顺序完全相同。故认为 c-sis 是编码 PDGF B 链的。并在人第 22 条染色体长臂上定了位。猴肉瘤病毒 v-sis 基因产物是分子量为 28 kd 的前体蛋白, 经加工去掉 N 端和 C 端部分氨基酸顺序变为分子量为 24 kd 的多肽, 它与血小板生长因子 B 链已测定的 109 个氨基酸只差三个氨基酸。故病毒 v-sis 产物就像是血小板生长因子 B-B 二聚体^[14,15]。癌基因 v-sis 像是逆转录病毒从人染色体中带出血小板 B 链基因重组而成。同时猴肉瘤病毒转化细胞的溶胞液具有使成纤维细胞分裂的活力且能被 PDGF 抗体中和部分活力。鸟成红细胞瘤病毒基因 v-erbB 产物是分子量为 65 kd 的蛋白 (P65^{erbB}), 从氨基酸顺序上它与细胞膜的表皮生长因子受体很相似, 仅缺受体暴露在细胞膜表面能与生长因子结合的部分^[16]。重要的是 v-erbB 基因产物与表皮生长因子受体都具有 TPK 活性。这些生长因子的受体是细胞接受外源信号, 控制细胞有丝分裂的系统的一部分。看来病毒是从细胞得到了表皮生长因子受体基因的部分顺序。还有一些病毒癌基因的产物与生长因子受体相似。上述癌基因属于一类的癌基因, 它们的产物与生长因子及其受体相似。另一类癌基因, 它们的产物与细胞中 GTP 结合蛋白相似, 细胞原癌基因产物 ras 与病毒 ras 的基因产物只差一个第 12 位的氨基酸, 它们编码分子量为 21 kd 的蛋白。该蛋白的特点是能与 GTP 结合, 它本身又能催化 GTP 水解, 且还具有自身磷酸化的活性^[17,18]。从功能上看很像激活和抑制腺苷环化酶的 Gs 和 Gi 蛋白的 α 亚单位以及视网膜锥体细胞中的转导蛋白的 α 亚单位。蛋

白顺序分析表明,光受体传导蛋白的 α 亚单位、蛋白合成系统中链延长因子等 G 蛋白与病毒 ras 蛋白都有相似之处^[19]。ras 蛋白与激活或抑制腺苷环化酶的 Gs 和 Gi 蛋白的 α 亚单位以及光受体传导蛋白 α 亚单位功能相似,这类癌基因产物如 ras 蛋白的功能在于将细胞外源的刺激信号传导到细胞内并产生第二信使,引起细胞有丝分裂。第三类癌基因产物是细胞核中能特异地与染色体 DNA 结合的蛋白。如 myc、foc。它们与 DNA 的复制相关。是细胞有丝分裂不可缺少的因素。最后一大类癌基因产物是具有酪氨酸蛋白激酶活性的蛋白。它们是 src、yes、fps、fes、ros、abl、fgr。它们的基因产物都含有共同的 250 氨基酸的区域,这个区域是酪氨酸激酶的活性区^[20]。它们与细胞中蛋白激酶 A 和 C 相互配合,可能是细胞接受外源刺激转变为细胞内信号、造成信号放大以致导致细胞增殖的重要酶类。由此可见,至今在逆转录病毒上发现的癌基因多半是细胞内与增殖相关的酶类和蛋白的基因。可能正是由于它们有促进细胞增殖的能力,对病毒的繁衍有利而保存下来。

核酸顺序分析亦揭示癌基因与细胞原癌基因之间存在差别,这可能就是癌基因产物与正常细胞中蛋白在功能上差别的基础,这些差别的综合有可能是造成癌细胞恶性增生的原因。

四、生长因子调节细胞有丝分裂的途径

现已了解癌基因产物几乎都与细胞中控制有丝分裂的酶和蛋白相关。然而细胞中行使正常细胞增殖功能的酶和蛋白是如何工作的?有丝分裂诱导剂作用细胞后引起细胞的多效能效应,它包含着许多生化过程,可粗略地将整个过程分为“早期”和“晚期”反应。早期反应系指细胞接受外源信号后在质膜上产生的一系列变化、膜上信号的传递、营养物运转的变化等。而“晚期”反应是指与核相关的大分子合成的变化,如 DNA 复制、核中转录的激活等。这里我们仅限于讨论“早期”反应。特别强调癌基因产物 ras 蛋白在初始信号传递中的作用。

细胞的有丝分裂受到细胞内外因子的调节。细胞内有与有丝分裂相关酶的激活、抑制、过量生产及缺乏都会影响有丝分裂。细胞又受体液调节带来的各种有丝分裂诱导剂的影响。多肽激素、生长因子作用于细胞表面的受体,通过质膜的信号传递,转变为细胞内的效应。下面通过几个实例来说明这种信号传递的途径。

血小板生长因子由 A、B 两条多肽链组成,分子量为 28—31 kd, A、B 链不完全相同,因而组成异源双体 (A-B)。细胞膜上血小板生长因子的受体是分子量 185 kd 的多肽链。它是插入膜中的糖蛋白。部分肽链暴露在细胞膜外侧是血小板生长因子的结合部位,插入膜中的是疏水部分,而暴露在膜内侧的部分具有酪氨酸蛋白激酶活性。血小板生长因子结合到受体上时,受体分子发生构象变化。致使酪氨酸蛋白激酶激活,同时引起与之相邻的能结合 GTP 的 ras 蛋白构象变化,使结合着的 GDP 释放,并结合上 GTP,进而激活质膜中磷脂酶 C (phospholipase C)^[20]促进膜中的肌醇磷脂水解为三磷酸肌醇 (IP₃) 和二酰基甘油。它们是细胞内传递信息的重要信使。三磷酸肌醇能从细胞的 Ca⁺⁺ 贮库中调动出 Ca⁺⁺,它作为一种第二信使能激活钙调蛋白而调节细胞中的 DNA 合成、糖原水解、肌动蛋白微管的组合与解聚,以使细胞有丝分裂时纺锤体形成及染色体向两极移动。二酰基甘油则能激活蛋白激酶 C (protein kinase c),由它启动细胞内一系列蛋白激酶以调节 DNA 合成,促进细胞核中蛋白与 DNA 的结合,从而激活核 DNA 的转录。实验结果表明 Ca⁺⁺ 的调出与蛋白激酶 C 的激活是相互协调的^[20]。Ca⁺⁺ 的调出有利于膜上的蛋白激酶接受二酰基甘油的激活,而蛋白激酶 C 活性的增高又能提高钙调蛋白的效应酶对 Ca⁺⁺ 的敏感性。总之,上述细胞内活动的总和构成了细胞接受外界刺激后信号传递过程及一系列效应酶的活动,致使细胞进行有丝分裂。

在研究表皮生长因子与其受体相互作用时亦发现 ras 蛋白在信号传递过程中起了重要

作用。GTP 的存在能激活表皮生长因子与其受体的结合,若加入 ras 蛋白的抗体则 GTP 失去激活能力^[21]。若将 ras 蛋白注射入 NIH3T3 细胞,细胞形态转变为转化细胞并伴有 DNA 合成的增加。但如果将 ras 蛋白抗体注射入 NIH3T3 细胞,血清(含有各种生长因子)就再不能诱导细胞的有丝分裂^[22]。说明 ras 蛋白对细胞开始 DNA 合成期是必需的。离体实验还发现,当表皮生长因子与膜上受体结合时使 ras 蛋白的磷酸化提高 3—5 倍^[21]。这些都表明 ras 蛋白的作用可能是将外源表皮生长因子的信号传递到细胞中,促使细胞有丝分裂。但现在还不清楚磷酸化的 ras 蛋白进而将信号传给谁?磷酸化与表皮生长因子及受体的内部化的关系也还不清楚。

其他肽激素和肾上腺素等在细胞质膜上亦有相应的受体。如对激素敏感的腺苷环化酶系统。当激素与受体结合,改变了受体的构象,从而激活了 Gs 调节蛋白的 α 亚单位释放 GDP 而结合 GTP,结合了 GTP 的 α 亚单位随即与其复合亚单位 $\beta\gamma$ 分离,而进入胞质中,由它激活了腺苷环化酶,产生 cAMP 并激活了由 cAMP 调节的蛋白激酶 A 的以及一系列蛋白激酶的活性,从而引起抑制细胞分裂的一系列反应。在 $\beta\gamma$ 亚单位影响下,结合在 α 亚单位上的 GTP 逐渐分解为 GDP, α^{GDP} 亚单位又会复原到膜上与 $\beta\gamma$ 亚单位复合。这时膜上受体又能接受新的外源信号。在这个调节系统中, cAMP 的升高,蛋白激酶 A 活性升高其结果是抑制 DNA 合成,阻碍细胞有丝分裂,故称 cAMP 为负信号。它的作用正好抵消生长因子激活其受体造成的激活细胞 DNA 合成及有丝分裂的作用(见图 1)。

五、G 调节蛋白作为细胞有丝分裂程序控制信使的设想

上面提到在外源信号引起的细胞有丝分裂的过程中 ras 蛋白和 Gs 调节蛋白(及相反调节作用的 Gi)对于传递外源信号到细胞内起了重要作用。视网膜锥体细胞中的传导蛋白 (Tra-

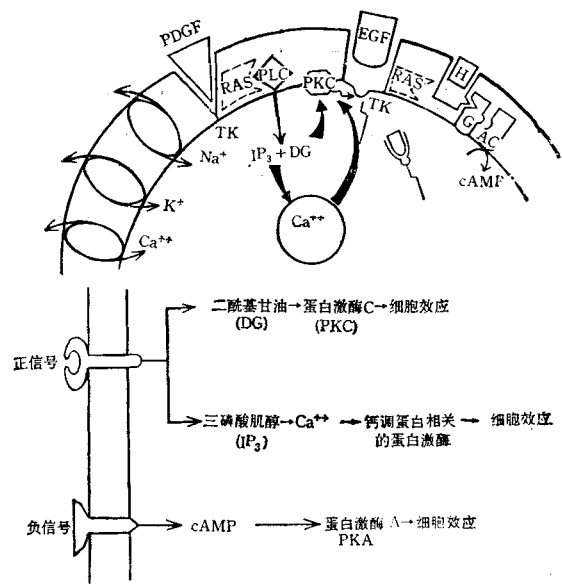


图 1 细胞膜上生长因子、激素受体及信号传递示意图
PDGF: 血小板生长因子; EGF: 上皮生长因子; H₂O: 激素; RAS: ras 蛋白; PLC: 磷脂酶 C; G: G 调节蛋白; AC: 腺苷环化酶

nsducin) 亦有相类似作用。这种调节作用是由蛋白的特点所决定。它们有着相似的调节机制。它们都能在外源信号影响下结合 GTP, 结合了 GTP 的 α 亚单位能脱离膜上的复合体进入胞质, 经磷酸化修饰从而激活效应酶。 α 亚单位又能受 $\beta\gamma$ 亚单位影响而使 GTP 降解为 GDP, 这样结合 GDP 的 α 亚单位又能再回到复合体中。实验表明转化细胞 ras 蛋白 12 位上的甘氨酸换成了缬氨酸, 它就失去了 GTPase 活性。 ras 蛋白一直处于能活化其效应酶的状态, 这可能是细胞恶性增殖的原因之一。

在哺乳动物细胞中发现了不少能结合 GTP 的调节蛋白。如激活和抑制腺苷环化酶的调节蛋白 Gs 和 Gi、细胞 ras 蛋白、视网膜锥体细胞中能活化 cGMP 磷酸二酯酶的传导蛋白以及蛋白质合成体系中链合成起始因子 (IF) 和链延长因子 (EF)。蛋白顺序分析表明, 它们在氨基酸顺序上有一定的相似性。特别是酵母 ras 蛋白 N 端 165 个氨基酸与哺乳动物 ras 蛋白的氨基酸顺序有 65% 的相似性, 哺乳动物 ras 蛋白还能替代酵母 ras 蛋白使

之具有激活腺苷环化酶的能力^[23]。同时上面亦提到它们的作用机制亦十分相似。虽然Gs和Gi的 α 亚单位及转导蛋白的 α 亚单位分子量比ras蛋白约大两倍,但发现转导蛋白 α 亚单位不仅与ras蛋白有相似的氨基酸顺序,且它具有两个糖基化位点,故推测它是由两个小的单体构成。

以上相似性至少说明这些G蛋白在进化上有同源性,虽然它们有许多种并具有不同的功能,但确有一定的共同点。哺乳动物ras蛋白、腺苷环化酶系统的G调节蛋白的 α 亚单位、视网膜光传导蛋白的 α 亚单位,它们都是外源信号作用细胞受体后的第一反应者,Rodbell称之为第一信使。它们能通过被修饰和构象的变化与效应酶相互作用。以使信号传递给效应酶。我们早就知道在细胞中起通讯传导作用的信使如cAMP、cGMP、 Ca^{++} 、二酰基甘油、磷酸肌醇等,蛋白作为第一信使的设想有什么优越性呢? Rodbell^[24]认为G调节蛋白的 α 亚单位不但具有调节功能,同时它能与蛋白复合物分离而进入胞质,这样它就有更多机会被胞质中的各种酶进行共价修饰如磷酸化、甲基化、磺酸化、氧化、或以二硫键与其他蛋白相连或被蛋白酶水解或更小的形式。经过不同修饰的 α 亚单位应有不同的构象。因而可以参与不同的信号传递过程、造成不同的细胞反应。各种生长因子和激素的受体以及诸多癌基因产物都具有酪氨酸蛋白激酶活性可能都会涉及到对 α 亚单位或ras蛋白的修饰。故 α 亚单位可看作是有程序控制功能的信使(programmable messenger),它比小分子信使有更大优越性,具备

有控制调节复杂的细胞有丝分裂过程的能力。当然这种设想需要更多实验来检验。

参 考 文 献

- [1] Knudson, A. G.: *New Engl. J. Med.*, **301**, 606, 1979.
- [2] Knudson, A. G.: *Genes, Chromosomes and Neoplasia Raven*, New York, 1981, 453—462.
- [3] Tooze, J. et al.: *The Molecular Biology of Tumor Viruses*, Cold Spring Harbor Lab., New York, 1973,
- [4] Weiss, R. A. et al.: *The Molecular Biology of Tumor Viruses* Cold Spring Harbor Lab., New York, 1973.
- [5] Huebner, R. J. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **64**, 1087, 1969.
- [6] Duesberg, P. H.: *Nature*, **304**, 219, 1983.
- [7] Temin, H. M.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **463**, 1971.
- [8] Bishop, J. N.: *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 301, 1983.
- [9] Feramisco, J. R. et al.: *Cell*, **38**, 109, 1984.
- [10] Bar-Sagi, D. et al.: *Cell*, **42**, 841, 1985.
- [11] Hunter, T. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, **54**, 897, 1984.
- [12] Hunter, T.: *Scientific American*, **251**, 70, 1984.
- [13] Sumoto, Y.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 2117, 1984.
- [14] Doolittle, R. F. et al.: *Science*, **221**, 275, 1983.
- [15] Johnsson, A. H. et al.: *EMBO J.*, **3**, 921, 1984.
- [16] Downward, J. et al.: *Nature*, **307**, 521, 1984.
- [17] Finkel, T. et al.: *Cell*, **37**, 151, 1984.
- [18] Sweet, R. W. et al.: *Nature*, **311**, 273, 1984.
- [19] Lochrie, M. A.: *Science*, **228**, 96, 1985.
- [20] Shamshad, C. et al.: *Nature*, **314**, 534, 1985.
- [21] Kamata, T. et al.: *Nature*, **310**, 147, 1984.
- [22] Mulcahy, L. S. et al.: *Nature*, **313**, 241, 1985.
- [23] Brock, D. et al.: *Cell*, **41**, 763, 1985.
- [24] Rodbell, M.: *TIBS*, **10**, 461, 1985.

[本文于1987年2月27日收到]