

金属硫蛋白

茹炳根 潘爱华

黄秉乾 张建业*

(北京大学生物系, 北京 100871)

(美国约翰霍普金斯大学卫生与公共健康学院生化系)

提 要

金属硫蛋白为一类广泛地存在于生物界的低分子量、富含半胱氨酸的金属结合蛋白, 尤其对 Cd, Zn, Cu 和 Au, Ag 等有较强的亲和力。它是一种诱导合成的蛋白质, 在体内能被金属和糖皮质激素等所诱导。它具有广泛的生物学功能, 主要是参与微量元素的储存、运输和代谢, 拮抗电离辐射, 清除羟基自由基和重金属解毒等多种作用。某些微量元素缺乏症等疾病也与它有一定关系。今后在某些疾病的治疗、环保中清除有毒金属以及采矿、富集贵金属等方面有着广泛的应用前景。

关键词 金属硫蛋白, 结构, 功能, 代谢

金属硫蛋白 (metallothionein, 简称 MT) 是一类低分子量、富含半胱氨酸的金属结合蛋白。1957 年 Margoshes 和 Vallee 在研究镉的生物学作用时, 从蓄积镉的器官马肾中分离出该物质^[1]。现已发现 MT 几乎存在于所有哺乳类动物的所有组织中 (结缔组织除外), 最近从微生物和植物中也分离出该蛋白。在早期, 对其研究较少。但自八十年代以来研究逐渐增多, 并取得了一些令人兴奋的成果。1978 年 7 月及 1985 年 8 月分别召开过两届国际会议, 第三届国际会议于明年 12 月在日本东京举行。随着研究的不断深入, 已经吸引了越来越多的科研工作者献身于该领域, 金属硫蛋白的研究已成为当今生物化学及分子生物学领域的热门课题之一。

笔者统计了近年内发表的有关 MT 的论文近 600 篇, 研究主要涉及以下方面: (1) 理化特性, 2%; (2) 蛋白质结构及金属结合位点, 10%; (3) 蛋白的合成、降解及金属转换, 7%; (4) 基因组成及诱导性, 24%; (5) 功能, 35%; (6) 检测方法, 4%; (7) 蛋白质的分离纯化, 4%; (8) 与医学的关系, 8%; (9) 其它

(包括基因工程及蛋白质工程等), 6%; 本文将就以上几个方面的问题作一综述。

一、一般理化特性

一般来说, 金属硫蛋白的分子量为 6500 道尔顿, 但去金属后即硫蛋白 (thionein) 分子量为 6000 道尔顿。从不同哺乳动物的组织中提取的 MT 的分子大小和形状基本是一致的。从粗糙链孢霉菌 (*Neurospora crossa*) 中分离出的 MT, 其分子量虽较哺乳动物的相应蛋白低得多 (只有 25 个氨基酸残基), 但基本结构十分相似。其等电点接近 pH4。使各种金属硫蛋白中 50% 的金属离子发生解离的 pH 为: Zn-MT, pH3.5—4.5; Cd-MT, pH2.5—3.5; Cu-MT 的 pH 低于 1。脱掉金属后的硫蛋白在低 pH 值是很稳定的, 但当 pH 调至中性时, 通过二硫键的形成, 蛋白分子间很快被相互交联而形成不同大小的分子。因此, 金属硫蛋白的存在形式及稳定性与它所结合金属的种类、是否结合了金属及环境的 pH 密切相关。同样, 金

* 现在通讯地址: 山东医科大学生化教研室。

属硫蛋白的光吸收特征除了与它的氨基酸组成有关外,也与它所结合的金属种类密切相关.因蛋白分子中不含芳香族氨基酸,所以它没有280 nm的吸收峰,而具有与金属结合而产生的特征吸收峰: Cd-MT 为 250nm, Zn-MT 为 220 nm 以及 Cu-MT 为 270nm. 在脱掉了金属后,硫蛋白在 190nm 处有一明显的肽键吸收峰.

二、蛋白质结构及金属结合位点

1. 一级结构

根据已测定的几种不同生物的 MT 氨基酸序列可发现,它在生物进化上是很保守的,尤其是哺乳类动物的 MT 均含 61 个氨基酸残基,其中有 38 个相同,完全缺乏芳香族氨基酸和组氨酸,氨基末端皆为 N-乙酰蛋氨酸,羧基末端皆为丙氨酸,更为惊奇的是所有这些 MT 都有20个半胱氨酸.因此, Kagi 等建议凡是具有以下几个特性的即为金属硫蛋白:(1) 低分子量(6000—7000 道尔顿);(2) 高金属含量(每分子含 7—12 个金属原子);(3) 金属通过硫酯键与蛋白结合并具有特殊的光学特性;(4) 氨基酸组成中约含 23—33% 半胱氨酸,没有二硫键及芳香族氨基酸和组氨酸;(5) 半胱氨酸残基在氨基酸序列中有基本相同的位置.

但从另一些生物中分离出的 MT 的氨基酸组成与以上所述有一些差别,如从稻类作物根部分离到的 MT,分子量只有 5600 道尔顿,氨基酸组成中含 44% 半胱氨酸和 39% 的谷氨酸^[2].另外,大多数哺乳动物组织中 MT 都含有两种以上的“亚型”,如小鼠肝脏 MT 分为 MT-I 和 MT-II,而人肝脏中分离到的“亚型”至少有四种以上.不过这种“亚型”只是在离子交换层析分离时才能分开,因为它们之间所带电荷略有微小的差异.

2. 空间结构和金属结合位点

通过圆二色性和晶体结构研究发现,金属硫蛋白分子中不含 α -螺旋和 β -折叠片,而存在一种十分坚固的构象,因此它具有很强的抗热性和抵抗蛋白酶消化的能力. MT 的三级

结构以两个结构域(Domain)为特征,即分子前半部(氨基端头 30 个氨基酸残基)为 β 结构域;分子后半部(羧基端 30 个氨基酸残基)为 α 结构域,彼此都单独呈球状,两者通过第 30 和 31 位氨基酸残基连接使整个分子呈椭圆形(哑铃状).晶体结构分析表明,在这两个结构域内,为了更适于结合金属,多肽链盘绕着金属离子而各形成三个回折^[3].

β 区含有的 9 个半胱氨酸残基结合 3 个原子的 Zn 或 Cd 或 6 个原子的 Cu; α 区含 11 个半胱氨酸,可结合 4 个原子的 Zn 或 Cd,或结合 5—6 个原子的 Cu. 金属离子全与所有半胱氨酸的巯基结合,因此,天然的 MT 分子不含二硫键,也没有自由的巯基存在.在每个区中 Zn 和 Cd 都是以二价状态和 4 个半胱氨酸的巯基相结合,形成[金属²⁺(Cys⁻)₄]²⁻复合物而使得整个分子带负电,但 Cu 则是以一价的形式结合.重金属离子与 MT 结合的相对亲合性不一样, Cu 的稳定系数要比 Cd 大 100 倍,而 Cd 又比 Zn 大 1000 倍, Hg 和 Ag 又比 Cu 稳定得多,即与蛋白结合的稳定性依次为 Hg、Ag > Cu > Cd > Zn. 在 pH 很低的情况下,金属离子从 MTs 上脱落而产生无金属的硫蛋白.体外金属重建实验表明:其 α 和 β 结构域对 Cd 的络合常数相差约 1000 倍,即 Zn 和 Cd 首先和 α 区结合,然后才结合 β 区,但 Cu 则正好相反^[4].不同的金属在完成结合时呈现出协同效应,即在同一结构域内,当一个金属离子结合后可促进另外其它金属离子的结合,而不是两个结构域同步结合.

从组织中分离到的天然 MT 的金属成分很少是单一的,甚至用金属诱导的方法而得到的 MT 也并不完全只含有用于诱导的金属.混合金属 MT(特别是 Cu-MT)的结构和结合的协同作用尚不清楚.例如,不知道 Cu 和 Zn 是否能结合在同一结构域内,但体外实验已证实,当 β 区已被 Cu 饱和后并不影响 Cd 对 α 区的正常结合,反之亦然^[5].用 Cd 对 Zn 饱和了的 MT 中逐步取代 Zn 发现,在这一状态下, Cd 的结合没有协同作用,并且对两个结

构域也没有什么优先结合的问题.更进一步讲,由以上方法逐步加入金属而产生的混合金属 MT 也不与在天然形成 (Cd₃, Zn₂)-MT 的金属族成分相似,因为天然 MT 不是通过 Cd 逐步加入到 Zn-MT 所形成的.然而,在体外通过将适当的 Cd₇-MT 和 Zn₇-MT 混合,经过分子间金属的直接交换可得到天然金属分布的 MT 这也可能是体内形成天然 MT 的一条重要途径.

Cd 优先占领 α 区,而 Zn 优先占领 β 区,这样,当将 Cd₇-MT 和 Zn₇-MT 混合在一起时出现明显的取代作用,结合 Cd 从 Cd₇-MT 的 β 区向 Zn-MT 的 α 区移动,取代 Zn₇-MT 区的 Zn,而被取代下的 Zn 又取代 Cd₇-MT β 区的 Cd,这些现象很可能与两个金属结合族的空间结构特征或 MT 的特异位点交换途径的存在有关.这些金属交换反应也证实了金属对 MT 的结合是可逆的和快速的,这些反应对 MT 的生理学意义也是非常重要的.

三、MT 的合成、降解及金属转换

1. MT 的合成

MT 的合成可被许多因素如重金属、激素等所诱导,结合于 MT 上金属的转换及蛋白质本身的降解依蛋白结合金属成分的不同而有所差异,而蛋白降解和金属转换的差异性正是 MT 发挥它功能的基础.

(1) 金属诱导 MT 合成的调节: 多年来已经知道肝、肾和小肠中 MT 含量可通过给予 Cd、Cu 和 Zn 而明显增加^[6]. 另外还发现重金属诱导 MT 合成主要是通过调节其转录水平来实现的,它促使 MT-I mRNA 成百倍的增加. 不同金属作为诱导剂的效率也是不同的,在肝脏 Cd 和 Zn 是最好的诱导剂,而 Cu 只有在大剂量时才是一种好的诱导剂,而 Hg 的诱导作用则更弱. 与之比较,在肾脏 Cd 是最好的诱导剂,而 Zn 只有在大剂量时才是好的诱导剂, Hg 次之, Cu 只有很弱的诱导作用. 最近,有实验结果表明: MT 的大多数亚型都有不同程度的可被金属诱导的潜能,除上述所

述金属 (Cd, Zn, Cu, Hg, Ag 和 Au) 外, Ni, Co, Bi 对 MT 基因转录都有调控作用^[7].

(2) 通过激素和其它因素的调控: 金属硫蛋白的合成也可通过激素(包括糖皮质激素,胰高血糖素和肾上腺素等)和其它因素(如 cAMP, 干扰素和白细胞介素-I 等)诱导;各种应激,包括禁食,体力限制,高温,寒冷以及由于炎症和细菌内毒素引起的组织损伤均能使 MT 合成增加.

糖皮质激素、胰高血糖素、肾上腺素和 Bt₂ cAMP (Dibutyl cAMP) 都能增加肝脏 MT mRNA 水平,从而引起肝脏 MT 合成的增加. 而胰高血糖素、肾上腺素和 Bt₂ cAMP 引起的 MT mRNA 的积累可用放线菌素 D 阻断, MT 的所有诱导剂都对放线菌素 D 敏感也表明它们是通过转录的调控而起作用的. 最近,通过从大鼠肝脏分离出的核进行实验已证实 cAMP 能增加 MT 基因的转录速率^[8]. 因而被认为它是胰高血糖素或肾上腺素诱导 MT 基因转录的细胞内的一种调控因子.

MT 的合成也能被不同的炎症因子和白细胞介素-I (也是炎症急性期反应的一种介质) 所诱导. 在切除了肾上腺的大鼠体内,炎症因子也能诱导 MT 的合成^[9]. 在转基因小鼠体内,插入 MT 启动子的融合基因也能被内毒素所调控. 这提示炎症因子是通过一种独立于糖皮质激素和金属之外的机制来控制 MT 基因的转录.

通过禁食和身体应激而诱导 MT 的方式尚未得到深入的研究. 在急性期,糖合成激素的调节是复杂的,并可能包括能诱导 MT 合成的其它因素. 放线菌素 D 能阻断急性期 MT 的产生,这提示可能是 MT mRNA 的改变. 最近研究成果表明: 应激诱导 MT 的产生并不是由糖皮质激素或胰高血糖素单独作用的结果^[10].

2. 降解和金属转换

MT 在体内具有一定的半衰期,尤其不同金属结合的 MT 其半衰期也是不同的. 结合 MT 在体内的多功能现象,研究 MT 蛋白的降解和结合其上的金属的转换是很重要的,在一

定程度上, MT 的金属成分可能是影响结合的金属以及蛋白质本身代谢的重要因素。整个细胞的MT池中金属转移被认为有以下三条途径:(1)结合金属的释放,同时发生蛋白质的降解;(2)结合金属和游离的金属离子的交换,并且结合到特殊的配基(包括MT),但没有蛋白质的降解;(3)完整的金属-蛋白质复合物由细胞浆内进入溶酶体。从现有的资料可知,在体内这三个途径都可能发生,如果 MT 转换发生异常,就可能导致一些疾病,如某些微量元素缺乏症。

四、基因组成及调控

人、猴、鼠等哺乳动物的 MT 基因已被克隆和测出序列^[11]。动物的 MT 基因属多基因类,已知高等动物的 MT 基因都具有基本相似的结构,即三个外显子之间分别有 200—500 个核苷酸的内含子,三个外显子分别对应于 MT 序列中的 1—9, 10—31 和 32—61 位氨基酸残基。前两个外显子对应于 MT 蛋白的 β 结构域,后一个外显子相当于 α 结构域^[12]。

一般来说, MT 的不同亚型的基因位于同一染色体,人类有四个 MT 基因簇,主要位于染色体 16。不同亚型的 MT 基因之间一般间隔数千个碱基对,如小鼠 MT-II 基因位于 MT-I 基因上游约 6000 个碱基对处。比较几种哺乳动物 MT 基因发现,密码区是相当保守的,而非密码区和内含子在灵长类与啮齿类之间存在明显差别。

现已有不少实验通过 MT 基因的诱变, DNA 片段的缺失,插入以及 DNA 序列的分析等手段来研究 MT 基因的调控机理,企图确定 MT 基因中的各种调节成分。已知小鼠 MT-I, MT-II 和人的 MT-II_A 基因的启动子中有四段保守的序列,其中之一是 TATAAA 序列,另一组序列与重金属的调节有关。人和鼠的 MT 基因的金属调节成分在结构上相似,都具有序列:(5'TCGCCCGCT C...3')。金属对 MT 基因转录的调控是通过 MT 本身(或其蛋白质部分的 Thionein),还是另一种金属结合蛋白,尚有待进一步肯定。但它是一种转录的正调控因

子。除金属外, MT 基因还受许多其它的因素调节,如糖皮质激素,干扰素,白细胞介素-I等。但有趣的是,当小鼠 MT-I 和 MT-II 基因被转染 HeLa 细胞后,基因能被金属所调控而糖皮质激素则失去调节作用。

五、功 能

虽说自发现 MT 至今已有三十余年,但对它的功能尚未十分明确,根据一些实验结果推论, MT 可能有以下几方面功能:

1. 参与微量元素的储存、运输和代谢^[13]

MT 由于它具有很强的结合各种金属离子的能力,而微量元素大多数是金属元素。所以,二者之间的密切关系就不言而喻了。已知 MT 能调节小肠对 Cu 和 Zn 等金属的吸收,小肠 MT 的水平与 Cu 和 Zn 的吸收呈明显的反比关系。而小肠细胞与其它细胞之间 Zn 的交换是非常快的, MT 对 Zn 和 Cu 的代谢起着细胞间和细胞内的控制作用。饮食中 Zn 的摄取可能影响组织中 MT mRNA 的水平和 MT 对 Zn 的结合。例如饮食中 Zn 的摄入从 5 mg/kg 增加至 30mg/kg,肝脏、肾脏和小肠中 MT mRNA 的水平会明显增加,但在同样条件下 Cu 的摄入对 MT mRNA 水平影响不大。另外,当饮食中 Zn 的摄入受到限制时,细胞内 MT 也下降就会出现缺 Zn 的一些症状。体外实验表明, Zn 和 Cu-MT 对许多辅酶有激活作用。

2. 拮抗电离辐射,清除羟基自由基

近期研究发现,为保护细胞免受辐射损伤,哺乳动物细胞可产生大量 MT。用已知可诱导脂质过氧化反应的诸因素(X 射线照射,高氧环境以及 CCl₄注射等)作用于大鼠,大鼠肝脏 MT 含量明显增加。在体外用含 Zn 或 Cd 的兔肝 MT-I 可有效地清除羟基自由基和由黄嘌呤氧化酶反应产生的超氧自由基^[14]。在受到 UV 光照后,培养的人体成纤维细胞可分泌一种因子——细胞间蛋白质合成诱导因子(EPIF),该因子可在未受辐射的细胞内诱发 UV 反应,以保护细胞免受辐射损伤,而 EPIF 已知是

MT mRNA 有效的诱导因子。另外有实验表明,能高效产生 MT 的细胞,其抗 X 射线损伤的能力大于一般细胞。

3. 重金属解毒作用^[15]

用重金属 (Cd, Zn 等) 给予动物或处理体外培养的细胞,可以增强 MT 基因的转录,从而 MT 合成速率增加。如若首先给予少量 Cd (远低于致死量),过一定时间后,再给予大剂量的 Cd (致死量),动物或其细胞(尤其是肾细胞)表现出对 Cd 中毒明显的拮抗作用。丧失了 MT 合成能力的哺乳动物细胞(由于基因的超甲基化作用)对 Cd 中毒高度敏感。同样,也有证据表明:MT 也能防止 Cu, Zn 和 Hg 中毒。不过,MT 并不是对所有能诱导它合成的金属都具有解毒作用。例如,虽然 Ag, Au, Co 和 Ni 都能诱导 MT 的合成,但 MT 并不对这些金属有解毒作用。这提示这些金属不与 MT 结合或是形成很不稳定的复合物,这种复合物又被很快地降解。

4. 参与激素和发育过程的调节,增强机体对各种应激的反应^[16]

给动物注射糖皮质激素,干扰素、白细胞介素-I 均能使肝脏中 MT 合成增加。各种炎症因子及机体的应激状态(如寒冷、过度疲劳、饥饿等)都能增加 MT mRNA 的转录,同时伴有血浆中 Zn 浓度的下降。在胚胎发育过程中,有几种组织的 MT 基因表达增加。这提示 MT 在胚胎、生长发育及分化中起着重要作用。这可能是由于参与这些过程的酶是需 Cu 或 Zn 的含金属酶,它们所需金属由 MT 提供有关。

5. 参与细胞 DNA 的复制和转录,蛋白质的合成与分解,能量代谢等的调节过程

无论是 DNA 的代谢,还是蛋白质和能量代谢,都必不可少的有酶的参与。其中许多酶都是以金属为其辅助因子,特别是 Zn,而这些金属与 MT 都有代谢关系。

六、检测方法^[17]

到目前为止,尚缺乏一种简便、灵敏的测定方法,这也许是难以对 MT 的生理学和生物学

功能深入了解的原因之一。现有的分析方法都是建立在 MT 的理化性质和生化特性以及免疫学特性的基础上。大体上可分为以下几类:(1)测定结合金属以计算 MT 的量,如镉血蛋白饱和法和银血蛋白饱和法;(2)测定 SH 基以计算 MT 的方法:主要有微分脉冲极谱法 (Brdicka differential pulse polarographic method) 和循环伏安法 (cyclic voltammetry)。(3)测定蛋白质含量:包括免疫学方法,如 RIA, ELISA 等,和色谱分析法,如 HPLC 和 HPLC-AAS (atomic absorption spectrophotometry)。从方法学上说,对于测定组织器官中 MT 的含量,首推 HPLC-AAS 和血红蛋白饱和法,而测定血液、尿液 MT 的含量,RIA 和 ELISA 被公认为灵敏度、特异性都很高的方法。

七、分离纯化^[18]

目前,已经从许多哺乳动物的各种组织,某些微生物和植物中分离到了 MT 或各种“亚型”。一般最为常用的方法是凝胶过滤和离子交换技术相结合的层析法。微量分离也可采用 HPLC。Suzuki 等应用凝胶过滤 HPLC 并结合 AAS 检测分离纯化了大鼠 MT,并已经分离了许多其它生物组织的 MT,但用凝胶过滤法不能将 MT 的不同“亚型”分开。1983 年 Kagi, 和 Klauser 等又建立了反相 HPLC 法,用此法又分离纯化了许多动物组织的 MT,并发现了人肝 MT 的多样性。之后, Klaassen 和 Lehman 又建立了阴离子交换的 HPLC-AAS 法,用以分离纯化了大鼠肝脏的 MT,并将其 MT-I 和 MT-II 分开。此外,也有采用 DEAE-Sephrose fast flow 的方法。

八、与医学的关系^[19]

1. Menk's 卷发病 该病是一种 Cu 代谢有关的遗传性疾病。病人表现为头发脆而易落,智力减退。在这种病人的肝、脑组织中 MT 的含量较正常人低,而大多数其它组织中 MT 的含量较正常人高。另外还发现, Cu 的排出比

正常者慢。Menk's 病动物模型研究发现,患鼠组织中 Zn 和肾脏 Cu-MT 的含量较正常人高,肾中 MT 合成异常,但肝中 Cu 和 Cu-MT 较低,组织中 Cu 和 Zn-MT 的含量却基本没什么改变。最近发现,在 Menk's 细胞中,MT 的合成速率是相应正常细胞的两倍。推测该蛋白基因调控系统失灵是该病发生的原因。有实验表明 Menk's 细胞对 Cu 的摄取较正常细胞多,在正常细胞诱导 MT 合成需要的最低 Cu 浓度为 $200\mu\text{mol/L}$,但 Menk's 细胞只需 $50\mu\text{mol/L}$,然而,诱导 MT 合成所需 Zn 和 Cd 的浓度,两种细胞相差无几。这进一步说明, Menk's 病的发生是由于参与 Cu 代谢的 MT 基因调控失灵。

2. Wilson's 病^[20] 在正常人刚出生时,肝脏中 Cu 的浓度较成年人的高 7 倍,而血浆中 Cu 是成年人的 27%。但在出生后 4 天,肝脏 Cu 即下降 53%,在出生 30 天后,肝中 Cu 进一步下降。作为一种 Cu 结合蛋白的 MT 在胎儿肝脏中含量较成年高。但在 Wilson's 病 Cu 的代谢却与正常人胎儿时的情况几乎一样。这表明这种疾病是由于生后适应过程的毛病所致,也就是由于 Cu 的代谢缺陷或 MT 代谢失控所产生的一种遗传性疾病。

3. 与肿瘤发生的关系^[21] 将 Ehrlich 肿瘤细胞移植给小鼠发现,在移植后的前 6 天,肝中 MT 含量没什么变化。到了第 7 天,肿瘤耐受小鼠肝中 MT 含量比对照组增加 7 倍。放线菌素 D 能抑制 Zn 进入肝脏和抑制 MT 的合成。在肝以外的其它组织和肿瘤组织未发现 MT 的增加。用 Cd 或 Zn 处理肿瘤耐受小鼠的肿瘤发现 MT 含量增加,而血浆中 Zn 的水平逐渐下降。到第 7 天, Zn 含量只有对照组的一半。但放线菌素 D 能抑制血清中 Zn 的降低。在肿瘤移植后第 7 天,肝脏中 Zn 含量较对照组的增多。

4. 增强某些抗肿瘤药物的作用^[22] 顺二氯二氨铂 (*cis*-diaminedichloroplatinum, cDDP) 是应用较多的抗肿瘤药物。但由于含铂而副作用较明显,特别是对肾功能的影响。最近有研

究表明,预先给予铵盐的动物,可以有效地防止 cDDP 引起的肾功能损害及腹泻的发生。而对 cDDP 的抗肿瘤疗效没有任何影响。许多实验已证明铵能诱发肾合成 MT。细胞学实验也表明, MT 能降低 cDDP 对细胞的毒性作用 1.5—3.0 倍。因此,可以预先给肿瘤患者一定量的铵盐,增加 cDDP 的剂量以提高抗肿瘤疗效。

5. 与胃溃疡病的关系^[23] 将从预先用醋酸锌处理的大鼠肝脏分离出来的金属硫蛋白亚型 MT-II 静脉注射给大鼠,结果 MT-II 有效地防止了通过浸泡和盐酸-乙醇两种因素诱发胃溃疡的形成。这种作用部分是由于 MT-II 中 Zn 的作用,但是 MT-II 本身的作用要比 Zn 的作用强得多。这可能是由于 MT-II 能加强抗溃疡屏障系统的形成和作用。

九、展 望

利用 MT 基因的高度可诱性,可将 MT 的启动子分别连接在一些要表达的某些蛋白质的结构基因前面,从而可建立一系列外源基因的高效可调控的表达系统,诱导剂可采用金属如 Zn 和糖皮质激素,在诸如乙肝表面抗原、干扰素等基因工程中已获得了良好的结果。更令人感到鼓舞的是 1982 年美国科学家 R. D. Palmiter 等人先后将小鼠 MT 基因的启动子 和其诱导序列分别与人、鼠的生长激素结构基因相连接,重组后的质粒通过微注射技术引入小鼠的受精卵,再将其移入母体子宫内发育而获得体型比原来母体大两倍的“鼠”,这一成功轰动了生物学界。据报道目前世界上已有数十个实验室先后获得了成功。目前世界各国(包括国内)都在利用此技术,企图用于家畜和鱼类的加速生长和培育新品种。

最近,美国杜邦公司已将 MT 作为导向药物的载体,与单克隆抗体结合,由于 MT 可以引入比原来抗体结合更多量的放射性同位素金属(如 Tc, In 等),从而使癌症的放射治疗更为有效,用于治疗肝癌有效率达 70% 以上,已取得了专利。另外许多疾病的发生、发展和治疗都与

(下转第 289 页)

MECHANISM OF HEMOGLOBIN A₂ PHENOMENON

"ERYTHROCYTE HbA₂" IS A BINDING PRODUCT OF HbA₂ AND HbA

Qin Wenbin

(Laboratory of Hemoglobin, Baotou Medical College, Baotou 014010)

ABSTRACT

1. Chemical composition of erythrocyte HbA₂ was analyzed in order to clarify the mechanism of hemoglobin A₂ phenomenon. The paper reports the hemoglobin composition of erythrocyte HbA₂.

2. The results of two-dimensional electrophoresis showed that erythrocyte HbA₂ contains two Hb components: one corresponds to HbA and the other most probably is hemolysate HbA₂.

3. The results of one-dimensional re-electrophoresis showed definitely that erythrocyte HbA₂ is composed of hemolysate HbA₂ and HbA.

4. Tentative conclusion: HbA₂ may be combined with HbA in erythrocyte, i.e. there is probably interaction between the two hemoglobins. This is perhaps the possible cause of hemoglobin A₂ phenomenon.

Key words HbA₂, HbA, interaction of Hb, HbA₂ phenomenon

(上接第 259 页)

微量元素的代谢有关;而体内自由基与疾病,特别是肿瘤的发生及衰老等有密切关系.由于MT在微量元素代谢中起关键作用,而且它也可清除自由基,所以,对MT的深入研究也为研究疾病的机理及其治疗展示了广阔的前景.

利用克隆了 MT 基因的工程菌或植物(包括藻类)具有摄取某些金属的特征,可用于探矿、采矿和某些贵重金属的富集和回收.海洋中贵重金属的贮量远远大于陆地,但用常规方法要从海洋中提取这些金属是非常困难的.若可利用克隆 MT 基因的海洋生物来摄取这些金属,则是比较理想的.此外,还可将克隆了 MT 基因的工程菌、植物和水生生物用于被重金属污染的土壤或污水来排除有毒金属,也是一种十分有前途的环保措施.因此,MT 的研究既有理论意义,又有重大的应用价值.

参 考 文 献

- 1 Margoshes M, Vallee B L. *J Am Chem Soc*, 1957; 79: 4813
- 2 Obata I, Umehauashi M. *Soil Sci Plant Nutr*, 1986; 32 (3): 461
- 3 Furey W F et al. *Science*, 1986; 231: 704
- 4 Nielson K B, Winge D R. *J Biol Chem*, 1984; 259: 4942
- 5 Nielson K B, Winge D R. *J Biol Chem*, 1985; 280: 8698
- 6 Kagi J H R, Nordberg M. *Metallothionein*, Boston: Basel Birkhauser-Verlag, 1979: 331
- 7 Durnam D M, Palmiter R D. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 484
- 8 Dunn M A, Cousins R J. *Fed Proc*, 1987; 46: 598
- 9 Swerdel M R, Cousin R T. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1984; 175: 522
- 10 Hidalgo J et al. *Life Sci*, 1986; 39: 611
- 11 Varshney U et al. *Mol Cell Biol*, 1986; 6: 26
- 12 Blalock T L et al. *Fed Proc*, 1987; 46: 884
- 13 Cousins R I. *Physiol Rev*, 1985; 65: 238
- 14 Thornalley P J, Vasak M. *Biochim Biophys Acta*, 1985; 827: 36
- 15 Cherian M G, Nordberg M. *Toxicol*, 1983; 28: 1
- 16 Oh S H et al. *Am J Physiol*, 1978; 234: E282
- 17 Lehman L D, Klaassen C. D. *Anal Biochem*, 1986; 158: 305
- 18 Tsunoo H et al. *J Biol Chem*, 1978; 231: 4172
- 19 Riordan J R et al. *J Bio Chem*, 1982; 257: 4639
- 20 Brewer G J et al. *Ann Intern Med*, 1983; 99: 314
- 21 Kimoto S et al. *Okayama Igakukai Zasshi*, 1987; 97: 871
- 22 Akira N et al. *Cancer Res*, 1986; 47: 983
- 23 Tsutomu M et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987; 151: 725

[本文于1990年5月17日收到,10月19日修回]