

- [6] Krusius, T. et al.: *J. B. C.*, 257, 3453, 1982.
- [7] Breborowicz, A. et al.: *Scand. J. Immunol.*, 14, 15, 1981.
- [8] Ruoslahti, E. et al.: *Advances Cancer Res.*, 29, 276, 1979.
- [9] Sala-Trepat, J. M. et al.: *Pro. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 76, 695, 1979.
- [10] Smith, C. J. et al.: *Oncodevelop. Biol and Med.*, 1, 241, 1980.
- [11] Kelleher, P. C. et al.: *Oncodevelop. Biol. and Med.*, 1, 241, 1980.
- [12] Sakashita, S. et al.: *Carcino-Embryonic Protein*, 2, pp. 283. Elsevier/North-Holland Biomedical press, 1979.
- [13] Dambuyant, C. et al.: *Scand. J. Immunol. Suppl.*, 8, 323, 1978.
- [14] 许凯黎等:《生物化学与生物物理进展》, 6, 30, 1982.
- [15] 宫崎纯等:《肝脏》, 22(11), 51, 1981.

[本文于1983年4月27日收到]

反 转 录 病 毒 与 致 癌 基 因

尹 明 标 李 占 荣

(中国医学科学院病毒研究所药物研究所, 北京)

RNA 肿瘤病毒,现在一般称之为反转录病毒,是一组动物病毒的总称。自1908年首先发现鸡白血病毒,1911年发现鸡肉瘤病毒以后, RNA 肿瘤病毒一直被认为是某些小鼠与禽类白血病和肉瘤的病因。最近几年,还发现反转录病毒在一些家养动物及猴子中也可引起肿瘤。反转录病毒分布广泛,不仅分布于不同的动物肿瘤中,而且也分布于正常的鸡与小鼠中。

与大多数其它类型的动物病毒不同,反转录病毒的感染很少导致细胞的破坏。一般认为,病毒感染引起细胞的死亡,是细胞对外源性毒性因子的敏感性增高所致。然而肉瘤病毒感染的细胞转化为恶性细胞,可以传代,同时产生大量的子代病毒。白血病毒或类白血病毒感染时,也获得类似的结果。更为有趣的是有些动物细胞从未用病毒感染,表面看来也很正常,但却可诱导出在生理与化学性质方面类似反转录病毒的颗粒^[1]。

反转录病毒与 DNA 肿瘤病毒也有本质上的差异。虽然可以用实验的方法建立 DNA 肿瘤病毒的整合基因组,但它在 DNA 肿瘤病毒的正常生活周期中较少出现。相反,反转录病毒的整合基因组,即所谓“前病毒” DNA (“provirus” DNA), 是反转录病毒正常复制周期中的中间

体。反转录病毒通过 DNA 中间体进行复制,并且在细胞中以“前病毒” DNA 的形式传递它的遗传信息。这一差异是反转录病毒分子生物学和病因学的基础^[2,3]。

因反转录病毒能诱导恶性疾病,具有异常的复制模型(借助于 DNA 中间体),以及作为水平和垂直传播因子而广泛存在于自然界,这些特征引起人们极大的兴趣。尽管反转录病毒的研究已有 70 多年的历史,但只有最近 10 余年才对它的分子生物学进行了深入的研究。阐明反转录病毒基因组结构、复制和整合过程,进而探索它与致癌基因的关系,是本文的主要目的。

一、反转录病毒基因组结构

反转录病毒基因组(禽肉瘤病毒, ASV)负责大约 3×10^5 道尔顿蛋白质的编码。所有非缺损的反转录病毒至少含有 3 个基因: gag 基因,该片段负责一种前体的编码,这一前体可被切割而产生至少 4 种毒粒结构蛋白质; pol 基因,它负责依赖 RNA 的 DNA 聚合酶(反转录酶)的编码;以及 env 基因,它负责毒粒外膜糖蛋白质的编码。这三个基因片段携带病毒复制所必需的所有信息。在某些反转录病毒中发现

有第四个片段,即 C(common) 片段。有些反转录病毒含有附加的基因,可能是宿主细胞信息通过重组加到病毒基因组上的。一般说,附加的信息给病毒提供了诱导恶性疾病的能力,例如禽肉瘤病毒的肉瘤基因 (src)。

利用不同株病毒重组以及缺失突变的寡核苷酸图谱,作出了禽肉瘤病毒基因组结构图(图 1)^[4],其顺序为 5'-gag-pol-env-src-C-3'。当然,基因组也应该携带 mRNA 加工、转录启动等的调控和识别序列。

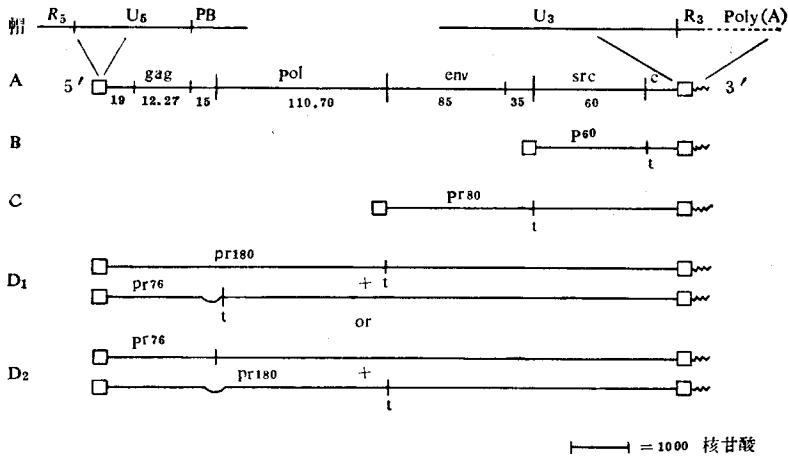


图 1 禽肉瘤病毒基因组结构和 mRNA

A. 非缺损的禽肉瘤病毒基因组,末端的方框表示末端序列,上面为放大 50 倍的末端序列。基因组上面字母表示编码区,下面数字表示蛋白质产物的大约分子量 ($\times 10^{-3}$)。B. 表示 src mRNA C 表示 env mRNA D₁ 与 D₂ 表示 gag-pol mRNA 每个分子上面的 (pr) 表示产物的分子量 ($\times 10^{-3}$)。转译终止用 t 表示

反转录病毒基因组与转录后经过修饰的典型真核细胞 mRNA 类似,3' 末端有大约 200 个腺苷酸残基组成的多聚腺苷酸,5' 末端有 1 个 m⁷G^{5'}ppp^{5'}Gm 基的帽子,在 RNA 内部有大约 10 个甲基化的 m⁶A 残基。在毒粒内,天然状态的基因组是由二个相同亚单位组成的二聚体,每个亚单位含有大约 5 到 9 千个碱基,在靠近 5' 末端处通过氢键连接起来,至少对禽肉瘤病毒, U₅ 序列内可能含有二聚体连接结构。由于二聚体中的每个分子含有病毒的全部遗传信息,所以反转录病毒至少在化学上是二倍体。

反转录病毒基因组中存在末端过剩序列 (terminally redundant sequences, 简称 R), 长度可达 80 个碱基。禽肉瘤病毒的末端过剩序列

见图 2。由图可见,禽肉瘤病毒基因组的 5' 与 3' 末端处均有相同的序列^[5]。而且在异种杂交株和自发突变株中,也发现末端序列的相同性。

以 ASV 为例,基因组末端顺序自左向右包括: 5' 末端过剩序列 (the 5' copy of the redundant sequence, 简称 R₅, 16 到 21 个核苷酸); 5' 末端特异序列 (a sequence unique to the 5' end, 简称 U₅, 80 个核苷酸); 引子结合位置 (the primer binding site, 简称 PB, 16 个核苷酸), 它与 tRNA^{trp} 3' 末端的 16 个核苷酸互补; 3' 末端特异序列 (the unique sequence near the 3' end, 简称 U₃, 大约 200 个核苷酸) 以及 3' 末端过剩序列 (简称 R₃, 16 到 21 个核苷酸)。由于 U₅ 被完整地拼接到 mRNA 分子上,

3' 末端 ...GCCAUUUUACCAUUCACCACAA₂₀₀
5' 末端 m⁷GpppGmCCAUUUUACCAUUCACCACAUUG...

图 2 禽肉瘤病毒的末端过剩序列

因此 U_3 结构在与微粒体结合方面可能具有重要作用。 U_3 序列靠近整合的“前病毒”两端,可能含有某些启动或终止合成的信号^[6]。

二、“前病毒”DNA 的合成

“前病毒”DNA 的合成机制是比较复杂的。在反转录过程中,要求新生的 DNA 链在模板之间二次“跳跃”,包括以下几个关键步骤。第一条链(或负链)的合成是用宿主 tRNA 作引子起动的。tRNA 的 3' 末端通过氢键结合到病毒 RNA 亚单位靠近 5' 末端的 18 个碱基序列上。合成是从 U_3 的 3' 端开始的(图 3A)。当合成 100 到 180 个碱基时,在另一个 RNA 亚单位的 3' 末端,通过碱基配对形成桥,发生第 1 次“跳跃”(图 3B)。一旦重新定位后,新生的负链继续延伸,扩展到基因组的大部分。同时第 2 条

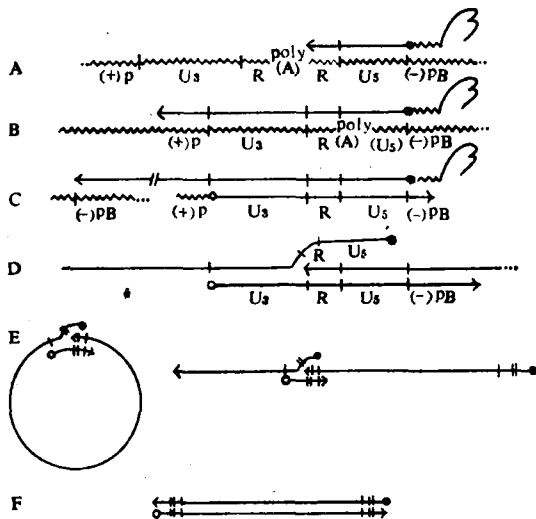


图 3 反转录病毒 DNA 合成的关键步骤

~~~~~RNA, —DNA, → 示合成的方向, (●) 示 (-) 链 DNA 的 5' 末端, (○) 示 (+) 链 DNA 的 5' 末端, (-PB) 示 tRNA 引子结合位置, (+P) 示假定的 (+) 链引子序列,短竖线示  $U_3$ , R 与  $U_5$  的边界。

- A 在病毒 RNA 亚单位的 5' 末端,开始合成新生的负链。
- B 在另一个 RNA 亚单位的 3' 末端,通过碱基配对形成桥(第一次“跳跃”)
- C 在 (+) 链引子序列位置,开始 (+) 链 DNA 的合成。
- D (+) 链沿第 2 条模板 (-) 链 DNA 扩展, (-) 链通过置换(第 2 次“跳跃”)沿第 3 条模板扩展。
- E 缩小比例的图 D。
- F (+) 链与 (-) 链的完全延伸,形成以 LTR's 为末端的线型双链 DNA

链(或正链)的合成在  $U_3$  的 5' 端处开始(图 3C)。尽管目前尚未鉴别出这一过程的起动机,但启动位置总是在富含嘌呤,其末端为 AATC 的片段内,这 4 个碱基可能形成正链的 5' 末端。新生的正链以新生的负链作为模板(第 2 个模板)向右延伸。并穿过原来作为负链引子的 tRNA 序列。新生的负链同时向病毒 RNA 的 5' 一端延伸,直到 tRNA 引子结合位置,通过置换(第 2 次“跳跃”)沿第 3 个模板(新生的正链 DNA)延伸(图 3D 与 E)。这时生长的负链 3' 末端与阻留的正链 3' 末端之间形成双链。正负两个链延伸形成以长末端重复序列(long terminal repeats, 简称 LTR's)为末端的线型双链,即“前病毒”DNA 合成的主要产物(图 3F)。这是在受染细胞的细胞浆内完成的<sup>[7]</sup>。

由上可见,在“前病毒”DNA 的合成过程中,每一“前病毒”DNA 的 5' 和 3' 端各形成一个 LTR's。LTR 代表  $U_3$ , R 及  $U_5$  的融合,其顺序为 3'- $U_3$ -R- $U_5$ -5' (图 4)。LTR's 的发现解决了反转录病毒复制所碰到的一系列问题。LTR's 的序列分析表明,它为大多数真核细胞基因表达提供了功能基础,主要是转录的启动,起始及多聚腺苷化作用等。从过剩序列 R 的 5' 端朝上大约 25—30 个碱基对处,是一个与所谓“TATAA 盒”密切相关的序列,这是许多真核细胞转录的起始位置<sup>[8]</sup>。另外有些实验证明,LTR's 利用宿主 RNA 聚合酶 II,在 R 的 5' 末端,启动转录的起始。序列分析还表明,大多数病毒株腺苷酸多聚作用的位置朝上大约 20 个碱基对的地方,有一个真核细胞多聚腺苷化作用的信号(AATAAA)<sup>[9]</sup>。

LTR's 内部或两端的序列也影响反转录病毒的特异功能,例如反转录作用以及有序的整合,同时也影响真核细胞基因所要求的功能,例如 RNA 转录本的合成与多聚腺苷化作用。LTR's 还可以提高病毒 DNA 转化的能力,或者调节两侧细胞 DNA 的转录活性。

## 三、反转录病毒的整合

物理图谱证实,“前病毒”可在宿主基因组

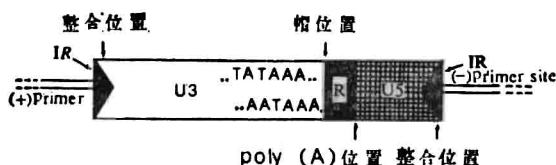


图4 LTR's 的分子序列分析

U<sub>3</sub>的5'端连接的病毒序列是假定的(+)链 DNA 起始位置, U<sub>3</sub>的3'端连接的病毒序列是(-)链 DNA 的 tRNA 起始位置。LTR 终止于短反向重复序列 (short inverted repeats, 简称 IR's)。整合位置是每一边界的2个碱基对。TATAAA 序列决定 RNA 合成的起始位置, AATAAA 决定多聚腺苷化作用位置

的许多区域插入进去, 在禽肉瘤病毒感染的不同克隆细胞中, 至少有40个整合位点<sup>[10]</sup>。

在整合过程中, 整合位点处的短宿主序列 (short host sequence) 首先复制成双链, 以便这种复制的重复序列直接连接到“前病毒”DNA 的两侧。短宿主序列变成双链可能是通过某种酶在整合位点处交错切割 (staggered cleavage) 宿主 DNA, 以及对产生的单链区段进行修复而完成的。实验证明, 短宿主重复序列的大小对每种反转录病毒是具有特异性的, 与宿主细胞本身无关。这说明交错切割染色体 DNA 的酶是由反转录病毒编码的。

对连接到细胞 DNA 上的病毒核苷酸序列进行分析表明, “前病毒”DNA 是通过其末端的二个碱基对与宿主 DNA 连接的。这二个碱基对是从“前病毒”DNA 5'末端的 U<sub>3</sub> 序列及 3'末端的 U<sub>5</sub> 序列上丢失的<sup>[11,12]</sup>。这揭示线型 DNA 末端的二个碱基在整合机制中, 可能承担了连接病毒与宿主细胞 DNA 的作用。

反转录病毒的整合是高度顺序的过程, 与其它外源 DNA 片段整合到宿主染色体上的过程不一样。例如乳多空病毒, 腺病毒以及疱疹病毒 DNA 感染某些宿主细胞, 在宿主或病毒基因组中没有或很少有特异性位置<sup>[13]</sup>。同样, 用微量注射或转染的方法引入任何 DNA 片段, 也可以整合到宿主染色体内, 然而这一过程缺乏精确性, 即使反转录病毒 DNA's, 用这种人工方法引入到细胞内也是如此。与此相反, 反转录病毒感染细胞进行整合时, 具有恒定性, 特异性与对称性。

#### 四、“前病毒”基因中的突变

由于反转录病毒基因容易进行克隆和序列分析, 所以能方便地研究它在动物细胞中突变的生化基础。但也存在一些困难, 例如反转录病毒基因组与宿主染色体比较, 在遗传上是易变的, 病毒间的重组率高, 易形成缺失, 在病毒传代过程中, 碱基易替换等。另外, “前病毒”也可能经常发生表达水平的变化, 易与突变相混淆。利用克隆细胞株可以大大克服上述困难。例如从一组 Rous 肉瘤病毒转化的大鼠细胞株 B<sub>31</sub> 中可以分离许多突变。用分子克隆和序列分析检查这些突变, 发现有缺失 (5'LTR 的丢失及“前病毒”转录的抑制), 点突变 (src 基因产物的蛋白激酶活性的灭活) 以及插入突变等。插入突变是本文重点讨论的课题。

现在知道, “前病毒”具有二种性质。它们可以插入宿主基因组的许多位置, 通过物理破坏作用, 使一些基因灭活。同时, 它们具有调控信号, 能够改变两侧宿主序列的转录调控。这两种性质都说明它们实际上起了插入突变因子的作用。

以下实验可以进一步说明, “前病毒”起着插入突变的作用。Rous 肉瘤病毒转化的大鼠细胞株 B<sub>31</sub>, 经非转化的小鼠白血病病毒 (MLV) 超感染 (superinfection) 后, 形态上恢复原状的细胞株中发现了两株插入突变株 (ins-1 与 ins-2), 突变株中携带的 MLV “前病毒”并非在 src 基因内 (图 5B 与 C)。但插入却干扰了 src mRNA 的产生。通过 LTR's 重组, 插入的大部分 MLV DNA 丢失, 产生新的突变株 [ins-2 (excision)] 只保留一个 MLV LTR (图 5D)。奇怪的是, 只保留一个 MLV LTR 对 src mRNA 的合成与加工不具有明显的效应, 不影响 src 的表达。

#### 五、病毒转化基因与细胞致癌基因

分析某些反转录病毒基因组表明, 在禽类与哺乳动物来源的急性转化反转录病毒基因组中, 至少有12种以上的病毒转化基因 (V-onc's) 例如: src (Rous 肉瘤病毒), erb (禽成红细胞

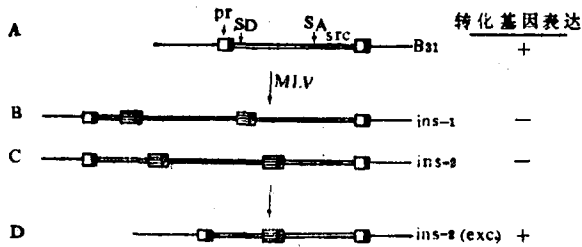


图5 反转录病毒产生的插入突变因子及“前病毒”DNA的切割

空双线示 RSV DNA, 实双线示 MLV DNA, 水平线方框示 MLV U<sub>3</sub>, 斜线方框示 MLV U<sub>5</sub>,

A B<sub>21</sub> 细胞中的 RSV 前病毒 DNA: 5'LTR 中的促因子 (Pr), 加工 src mRNA 的供体拼接点 (SD) 及受体拼接点 (SA), src 编码范围及 3' LTR

B与C 非转化的 MLV 感染后, 插入 MLV 前病毒 DNA, 产生两种变异株: ins-1 与 ins-2

D 通过 LTR's 重组, 大多数插入的 MLV DNA 丢失, 产生 ins-2(excision)通过测定 src mRNA, src 基因产物及观察细胞表现型确定 src 的表达

增多症病毒), myb (禽成髓细胞白血病病毒), fps (Fujinami 肉瘤病毒) 及 myc (髓细胞瘤病毒-29, MC29) 等。它们在动物中调节致癌作用, 在组织培养细胞中控制形态学变化。用 V-onc's 的 cDNA's 作为探针, 发现禽类和其他脊椎动物细胞 DNA 中, 也存在与 V-onc's 同源的核苷酸序列, 这称之为细胞致癌基因 (C-onc's)。每一种病毒转化基因与脊椎动物中保存良好的一种细胞致癌基因相对应, 从而推测, C-onc's 可能是反转录病毒 V-onc's 的前驱<sup>[15,16]</sup>。

非转化的反转录病毒如何捕获细胞致癌基因呢? 一般说来, 在反转录病毒基因组内引入一个细胞致癌基因, 是发生在弱致癌或不致癌的病毒在动物中传代之后。反转录病毒获得细胞致癌基因的可能机制如图 6 所示。首先在细胞致癌基因的 5' 一边, 当转录方向相同, 整合一个非转化的“前病毒”。然后发生缺失, 丢掉一个 3' LTR, 使“前病毒”与细胞致癌基因的转录单位融合, 结果形成一个“R-U<sub>3</sub>-病毒基因-致癌基因”的杂交 RNA, 并经加工处理, 使细胞致癌基因处于病毒启动子的调控之下, 从而改变了细胞原型, 促进了细胞株具有适于产生转化病毒的性质。靠近病毒 RNA 5' 末端处的装配信号加快了异源双聚体的形成, 其中一个亚单

位是野毒株病毒 RNA, 另一个亚单位是杂交 RNA。当感染邻近细胞时, 反转录病毒高频率的重组, 导致杂交 RNA 的 V-onc 3' 端接上正常亚单位的 U<sub>3</sub>-R 序列, 产生 V-onc 两边带有病毒序列的基因组。与所有转化病毒的基因组相类似, 这种新产生的基因组缺乏复制基因, 但如果补充辅助病毒 (helper virus), 也能够复制。

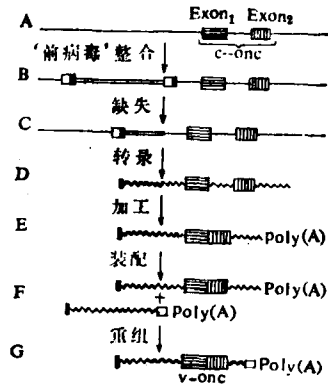


图6 非转化反转录病毒捕获细胞致癌基因的可能机制  
双线示病毒 DNA, 单线示宿主 DNA, 空方框示 U<sub>3</sub>, 实方框示 U<sub>5</sub>,

- A 示细胞基因 (C-onc) 中的 exons, 起病毒转化基因 (V-onc) 前体的作用
- B 无 onc 的前病毒 DNA 按转录相同的方向整合到 C-onc 的 5' 端
- C 缺失引起前病毒 DNA 3' 部分及附近的细胞 DNA 的丢失
- D 剩下的 LTR 转录产生初级转录本, 连接病毒基因组 (波形线示) 5' 端与 c-onc 的序列。
- E 转录本加工 (多聚腺苷化与拼接)
- F 加工的 RNA 在反转录病毒颗粒中装配形成带有野毒株病毒 RNA 亚单位的异种双聚体
- G 感染邻近细胞时, 在反转录过程中发生重组, v-onc 两边产生带有病毒序列的基因组

## 六、细胞致癌基因的活化

用缺乏转化基因的禽白血病病毒 (ALV) 诱导肿瘤的产生, 可作为“前病毒”DNA 活化细胞致癌基因的一个证据。对于大多数禽白血病病毒诱导的淋巴瘤, “前病毒”是整合在宿主基因组的相同区域, 即 c-myc 区段内, 或邻近这一区段。恶性转化过程包括在 c-myc 基因附近整合“前病毒”, 由于插入病毒启动子, 活化了 c-myc 基因的转录, 产生的 RNA 转录本含有病

毒与细胞 myc 的信息,它的水平比正常组织中 c-myc RNA 高 30—100 倍<sup>[17]</sup>。c-myc 表达的提高,导致了恶性转化。

禽白血病病毒诱导的淋巴瘤 DNA 可以使组织培养的 NIH3T3 小鼠成纤维细胞转化为恶性表现型。但奇怪的是,禽淋巴瘤 DNA 中的病毒与细胞 myc 序列均不参与 NIH3T3 细胞的转化。因此推测,禽白血病病毒诱导肿瘤似乎至少要求二步: c-myc 插入突变发生以及活化其它细胞致癌基因。

c-myc 的表达与“前病毒”DNA 的排列定位密切相关。表现有活化 c-myc 位点的第一组肿瘤中,整合的“前病毒”在 c-myc 的 5' 一边(朝上)均匀地定位,转录方向与 c-myc 基因转录方向相同, c-myc 转录本与病毒 U<sub>1</sub> 区段的探针能够退火<sup>[17]</sup>。在这种构型时,“前病毒”LTR (或许是病毒 DNA 右末端的 LTR),对 c-myc 提供有效的启动子。但在另一组肿瘤中,活化 c-myc 位点附近的 ALV “前病毒”,或者在 c-myc 的 3' 一边(朝下)定位,或者在 5' 一边与 c-myc 转录方向相反的方向排列,病毒 RNA 与 c-myc 的转录本无配对区段。这时, LTR's 不能简单地提供有效的启动子。然而它们能够间接地增大周围领域的转录活性,或者对其转录产物提供较高的稳定性。

## 七、“前病毒”与转换成分

反转录病毒的许多性质促使人们思考“前病毒”与转换成分之间的相似性<sup>[18]</sup>。“前病毒”具有末端过剩序列(R)及长末端重复序列(LTR),可以在宿主基因组的许多地方插入,两边连接有短宿主重复序列,作为插入突变因子而起作用,通过末端重复序列之间的重组引起缺失突变,以及从宿主基因组获得基因等。大多数或所有这些特征,在细菌、酵母和果蝇基因组中具有转换成分也表现出来。这种转换成分,即存在于序列中的特定长度 DNA 中,并具有如下的性质: 可以融合非相关的 DNA 分子,可以调控缺失的形成,可以删节以及可能含有起始与终止信号等<sup>[19]</sup>。

“前病毒”是否像细菌成分那样进行转换,目前尚缺少根据。昆虫游离 DNA,例如果蝇 copia 成分,所起的作用有可能与“前病毒”类似。在组织培养细胞核中发现了小量未整合的、带有 1 或 2 个末端重复序列复本的环状密闭 copia DNA。但除了“前病毒”与环状 copia DNA 之间存在结构的相似性以外,对游离的 copia DNA 产生机制一无所知。

“前病毒”与转换成分之间,也发现序列水平上的相似性,例如目前所发现的所有“前病毒”和若干种类的转换成分,是由 GT 开始, CA 终止。并且在“前病毒”的 LTR's 与转换成分的末端过剩序列内,发现了若干相似序列的片段。许多反转录病毒的功能与结构的相似性,似乎像是从一个病毒祖先遗传来的。但反转录病毒是否比其它任何病毒更像是从细胞基因发生的,是一个值得探讨的问题。

直到最近以前,以 RNA 为模板复制 DNA 的反及转录步骤,曾被认为是反转录病毒的独特性质。然而最近几年却发现,某些哺乳动物基因也可以从 RNA 复制。更为有趣的是乙型肝炎病毒以及某些以 DNA 作为遗传材料的动物病毒,在其生活周期中,也存在反转录步骤<sup>[20]</sup>。实验证明,乙型肝炎病毒 DNA 在受染细胞中,完成 RNA 转录,这称之为“前基因组”,接着反转录为 DNA 负链,然后从负链复制成正链 DNA。乙型肝炎病毒含有二个单链 DNA,环状构型,整合到肝癌 DNA 中。在 5' 末端, 250 个核苷酸重叠在 300 个核苷酸上。这一重叠区域类似 LTR's,也具有启动子的功能。而且乙型肝炎病毒与反转录病毒相似,其所有蛋白质都是由一条 DNA 链编码的。上述特征使人设想,乙型肝炎病毒可能构成了另一组反转录病毒。

反转录病毒一系列特征的研究,在探索病毒与肿瘤的关系方面,可能具有重要的意义。

## 参 考 文 献

- [1] Bader, J. P.: *Comprehensive Virology* (ed. H. Fraenkel & R. R. Wagner), Vol. 4, p. 253, Plenum Press, New York, 1975.
- [2] Weinberg, R. A.: *Biochem. Biophys. Acta*, 173.

- 1977.
- [3] Bishop, J. M.: *Ann. Rev. Biochem.*, 47, 35, 1978.
- [4] Coffin, J. M.: *J. Gen. Virol.*, 42, 1, 1979.
- [5] Haseltine, W. A. et al.: *Animal Virology*, p. 175 (ed. D. Baltimore, et al.) N. Y., Academic Press, 1976
- [6] Coffin, J. M.: *Molecular Biology of RNA Tumor Viruses*, p. 199. (ed. J. R. Stephenson) N. Y. Academic Press, INC, 1980.
- [7] Varmus, H. E.: *Science*, 216, 812, 1982.
- [8] Breathnach, R. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, 50, 349, 1981.
- [9] Prondfood, N. J. et al.: *Nature* (London), 252 359, 1980.
- [10] Hughes, S. et al.: *Cell*, 15, 1397, 1978.
- [11] Major, J. E.: *Nature* (London), 287, 253, 1981.
- [12] Hughes, S. H. et al.: *PNAS*, 78, 4299, 1981.
- [13] Weinberg, R. A.: *Ann. Rev. Biochem.*, 49, 197, 1980.
- [14] Varmus, H. E. et al.: *Cell*, 25, 23, 1981.
- [15] Weiss, R. A.: *the Molecular Biology of Tumor Viruses*, Part III.: p. 1041, 1067—1092. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, N. Y., 1982.
- [16] Bishop, J. M.: *Cell*, 23, 5, 1981.
- [17] Hayward W. S. et al.: *Nature* (London), 290 475, 1981.
- [18] Will, B. M. et al.: *J. Mol. Biol.*, 153, 897, 1982.
- [19] Calos, M. P.: *Cell*, 20, 579, 1980.
- [20] Marx, J. L.: *Science*, 217, 1021, 1982.

[本文于 1983 年 4 月 15 日收到]

## 蝎毒的生化研究及临床应用

周新华

(沈阳药学院制药系生化教研室)

蝎毒因具有重要生理功能而日益引起科学家们的重视。近年来,国外对蝎毒的研究进展极为迅速。1981年6月在法国马赛召开的欧洲动、植物、微生物毒素专题讨论会上的117篇论文中竟有22篇是关于蝎毒研究的。故作者在前文<sup>[1,2]</sup>对蝎毒的一般性质及其生理效应综述的基础上,在此着重介绍蝎毒素的研究和我国蝎毒研究状况,以飨读者。

### 一、蝎毒素的生化研究

蝎毒是一类由20—80个氨基酸组成的多肽。按照作用机理,它可分为神经毒素和细胞毒素,按作用对象则可分为昆虫毒素(IsTx)和哺乳动物毒素、(MaTx)。毒素有很高的专一性,如 *A. australis* 的神经毒只对哺乳类有毒性,而不作用于节肢动物和昆虫。它们的氨基酸组成、生理效应彼此之间差别很大。一般说来,昆虫毒素影响蟑螂腹部第六神经节的突触传递反应,而动物毒素则不影响这种反应<sup>[3]</sup>。蝎毒中可分离出几种结构不同的哺乳动物毒素和

昆虫毒素,它们均按层析时出现的先后次序编号。温度和 pH 对毒素稳定性影响不大,可能是毒素分子量较小的原因。

#### 1. 哺乳动物毒素 (MaTx)

已测定组成的 MaTx 大约有四十种。它们是一类氨基酸数目为50—78,仅由一条肽链构成的碱性蛋白质。表1仅列出其中的三十多种 MaTx 的氨基酸组成。它们的分子量在6000—9000之间,绝大多数为7,000—7,500道尔顿;除 *T. serrulatus* 毒素有一个甲硫氨酸外<sup>[4]</sup>,均无这种氨基酸。它们的C端的氨基酸均被酰化。所有这些 MaTx 都是神经毒,它们大部分有四个二硫桥。蛇毒神经毒大部分也有四个二硫桥,但二硫桥位置不同。而且这两类神经毒素不能交叉免疫。这二者结构的不同显然也反映了对哺乳动物的作用方式不同。最近, Jover 等人<sup>[5]</sup>又提议将所有 MaTx 按它们对大鼠脑胞突体两种受体部位的结合方式分成 $\alpha$ 和 $\beta$ 两大类型。其中, $\alpha$ -MaTx 通过减缓钠通道的钝化,而使神经和肌肉的动作电位延长。它们对其受体位点的亲