

蛇毒的生物化学、蛇伤防治与蛇毒利用

涂 光 伟

(云南省动物研究所)

蛇毒可能是所有毒物中最复杂的一类物质,它含有 5—15 种酶,3—12 种非酶蛋白质或多肽,还有 5—6 种其它物质。正是由于这些复杂的组份,使蛇毒具有多样的毒理和药理效应。

随着蛇毒毒理学和药物学的发展,蛇毒生物化学的研究也迅速得以发展。据哥斯达黎加的 J. M. Jimenez-Porras 在 1971 年的不完全统计,近 30 年来,在各种学科杂志上发表的有关蛇毒生物化学和药物学的论文约三百篇之多。

蛇毒生物化学的研究,不仅是蛇毒毒理学和药理学发展所必须,而且还为蛇伤防治,特别是蛇毒在医学和生物科学领域的应用提供了基础。无产阶级文化大革命以来,在毛主席革命路线指引下,我国科学工作者和医务人员,在蛇伤防治、蛇毒的药理和生化研究方面,都取得了不少研究成果。本文着重介绍有关蛇毒神经毒素、膜活性多肽和蛇毒酶的研究资料*,供临床医生和研究人员参考。

一、神 经 毒 素 (NT)

蛇毒神经毒素是一类小分子量的碱性多肽。其分子量为 6000—12000, pHi 在 9 以上,可通过透析袋,对热稳定,是蛇毒的主要毒性成分之一。NT 能使动物产生弛缓性麻痹和呼吸衰竭。曾有不少报道指出,一种蛇毒可同时含有几种 NT。我们实验室用 C. M.-Sephadex C-25 分离湖南产眼镜蛇毒,获得了 4 个 NT 峰^[1]。已知已纯化的 NT 有五十余种,这些 NT 不具有迄今已在蛇毒中发现的任何酶活性。

1. 眼镜蛇毒和海蛇毒的 NT

眼镜蛇毒和海蛇毒的 NT,无论化学结构,还是作用方式都很相似,可以把它们看成是“同簇毒素”(Isotoxin)。

(1) 氨基酸组成 依这两种 NT 所含氨基酸数量的不同,可以把它们分成两组。第 I 组含有 61—62 个 (15—16 种) 氨基酸,4 对二硫键,分子量在 6,789—6,949 之间;第 II 组含有 71 个 (17—18 种) 氨基酸,5 对二硫键。已知已经纯化的海蛇 NT 都属于第 I 组;眼镜蛇 NT 大多数属第 I 组,少数属第 II 组。

属于第 I 组的眼镜蛇 NT 缺乏 Ala 和 Phe,大多数还缺乏 Met;海蛇 NT 也缺乏其中 1—2 种疏水氨基酸。与之相反,第 II 组 NT 含有 2—3 个 Ala,3 个 Phe。此外,两组 NT 的 Glu 和 Val 含量也不同,第 I 组富含 Glu 而较少 Val,第 II 组则相反。所有眼镜蛇和海蛇 NT 都富含碱性氨基酸,其 Lys 和 Arg 的总残基数在 7—13 之间;它们还富含 Asn,这些都造成了 NT 的强碱性。此外,它们的 Thr 与 Ser 的含量也很高。第 I 组的 C-端大多是 Asn,第 II 组的 C-端似乎是可变的;第 I 组的 N-端是 Leu (眼镜蛇毒)或 Arg (海蛇毒),第 II 组的 N-端是 Ile。

(2) 氨基酸排列次序 眼镜蛇和海蛇的 NT 都是由 4—5 对二硫键经交链而成的简单肽链。

图 1 绘出了五种第 I 组 NT (眼镜蛇毒毒素、黑颈眼镜蛇毒毒素 α 、埃及眼镜蛇毒毒素 α 、华南眼镜蛇毒神经毒素、半环扁尾海蛇神经毒素)的共同结构。值得注意的是,第 I 组神经毒素的 4 对二硫键在空间构型的位置是相同的。

由图 1 可见,在第 I 组 NT 的一级结构中,除二硫键的位置相同外,还有 30 个氨基酸残基是相同的,其中 Tyr-25、Trp-29、Lys-47 已被

* 本文采用如下缩写符号: NT,神经毒素;MAP,膜活性多肽;DLF,直接溶血因子;DFP,二异丙基氟磷酸;EDTA,乙二胺四乙酸钠;pHi,等电点

证明是 NT 的必需基因。从第 25 到 40 位残基的分子中心区域, 含有大量碱性和芳香族氨基酸, 被推测为 NT 的活性中心。

不仅第 I 组 NT 相互之间在氨基酸排列次序方面存在明显的相似性, 而且第 I 组与第 II 组之间, 也有不少共同之处: 假若在第 I 组 NT 的 3—17 位之间嵌入 3 个氨基酸残基, 在 29—33 位之间嵌入 4 个氨基酸残基, 在 41—43 位之间嵌入 2 个氨基酸残基, 第 I 组 NT 就变成第 II 组 NT。图 1 所示的 8 个 Cys 和 9 个其它氨基酸残基的位置 (Gly-20、Tyr-25、Lys-27、Trp-29、Arg-33、Gly-34、Gly-40 和 Pro-44 和 Asn-61) 在已知一级结构的两组 NT 中都是相同的, 表明 71 个残基的 NT 很可能是由 61—62 个残基的 NT 进化而来的。

2. 银环蛇毒的 NT

除眼镜蛇毒外, 银环蛇毒是眼镜蛇科的各种蛇毒中在化学和药理上了解比较详细的一个毒素。从这种蛇毒中已经分离出两种不同类型

的 NT, 一种称为 α -Bungarotoxin, 它能引起去极化型的不同逆神经肌肉阻断作用; 第二种称 β -Bungarotoxin, 它通过抑制运动神经末梢释放乙酰胆碱, 造成神经肌肉阻断。应用 C. M.-Sephadex 和 C. M.-Cellulose 两次柱层析纯化的 α -和 β -Bungarotoxin 没有任何酶活性。 α -Bungarotoxin 的一级结构已经确定, 它由 18 种 74 个氨基酸残基和 5 对二硫键组成, 分子量 7,983, 与第 II 组眼镜蛇 NT 有明显的相似之处。如果 α -Bungarotoxin 分子删去 14 位、15 位和 22 位的 3 个氨基酸残基, 那么, 差不多总残基的一半, 包括 10 个 Cys 的位置和第 II 组眼镜蛇 NT 是相同的。由于 α -Bungarotoxin 对神经肌肉阻断的方式与眼镜蛇 NT 十分相似, 所以也可认为 α -Bungarotoxin 是由眼镜蛇 NT 演变而来的“同簇毒素”。 β -Bungarotoxin 的氨基酸组成却完全不同于上述 NT, 它由 179 个氨基酸残基和 10 对二硫键组成, 分子量估计是 28,500, 可能是一种二聚体。值得注意的是, α -Bungarotoxin

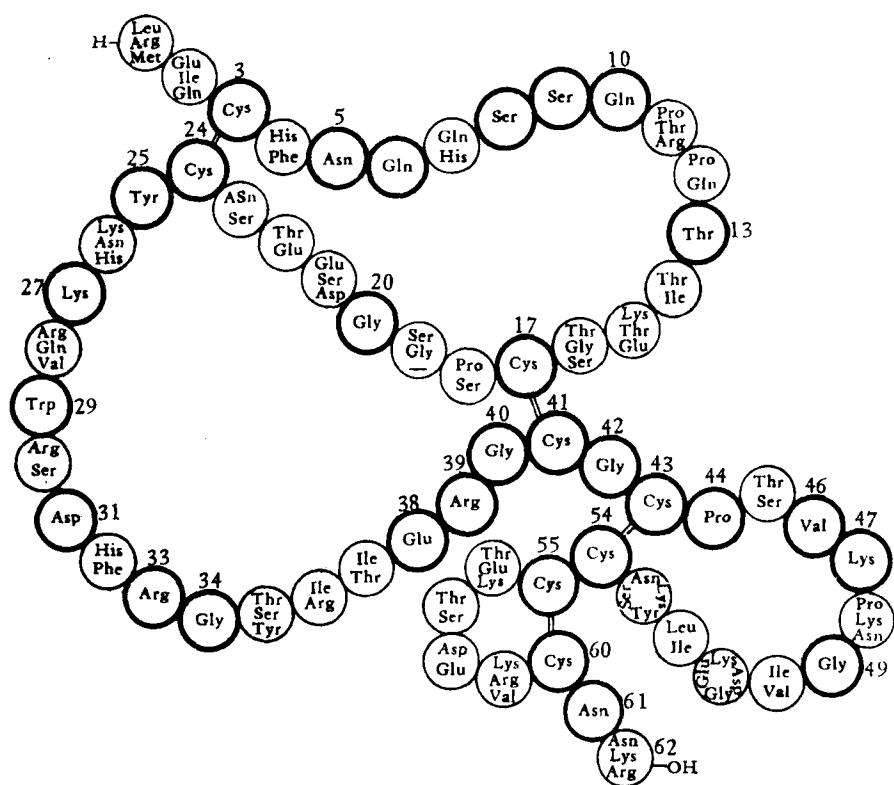


图 1 第 I 组 NT 的共同结构
加重黑环代表该组 NT 共同具有的氨基酸

的圆二色性光谱与具有 β -结构的眼镜蛇 NT Cobrotoxin 相同,而 β -Bungarotoxin 却具有 α -螺旋结构。

3. 蝰科和蝰亚科的 NT

一般来说,蝰科和蝰亚科蛇毒通常不表现神经毒性,而主要是引起局部组织坏死、出血和血凝失调,但也有少数例外。

(1) 响尾蛇 NT Crotoxin 从南美响尾蛇蛇毒分离出一种具有 30,000 分子量和 pHi 为 4.7 的 NT-Crotoxin,它同时具有神经毒性和间接溶血作用。曾一度认为 Crotoxin 是个均一的蛋白,现在已经证明它是一个酸性蛋白和碱性蛋白的分子复合物。酸性蛋白缺乏 Crotoxin 的溶血活性和神经毒性;碱性蛋白仅仅表现 Crotoxin 的高能力的间接溶血作用,而这两种组分的混合则恢复 Crotoxin 的神经毒性。从 Crotoxin 中分离出来的 Crotactin 同样显示出是两种成分的结合,且碱性成分的溶血活性严重地受酸性成分的抑制。

(2) 响尾蛇 NT Crotamine Crotamine 是一种多肽毒素,强碱性 (pHi 10.3),分子量大约为 5,500,它由 15 种氨基酸(包括 Cys)的 46 个残基组成,但缺乏 Thr、Ala 和 Val, N-端是 Tyr, C-端是 Gly。Crotamine 具有很高的 Lys 含量(11 个残基)和较低的 Arg 含量(2 个残基),这一点类似于眼镜蛇的 NT。

(3) 响尾蛇 NT Convulxin Convulxin 是从某些南美响尾蛇毒分离出来的另一种 NT,它是一种酸性的 (pHi 为 6)、不能通过透析袋的蛋白质。

(4) 蝰蛇 NT Viperotoxin Viperotoxin 是从巴勒斯坦蝰蛇蛇毒中分离纯化的 NT,是一种不能通过透析袋的碱性蛋白质,含有 108 个氨基酸残基和 3 对二硫键,分子量 12,212。Viperotoxin 比眼镜蛇和海蛇 NT 的交链程度低,亲水的碱性氨基酸少,Pro 含量高,而且含有较多的眼镜蛇 NT 所缺乏的 3 种氨基酸。

4. 结构与功能的关系

大量的研究表明,NT 分子中二硫键的完整性对它们的毒性是必需的。还原二硫键将导

致 NT 毒性的完全丧失,重氧化后又全部恢复。早先,通过旋光色散的研究认为眼镜蛇 NT Cobrotoxin 具有右旋 α -螺旋结构,但是后来研究其圆二色性光谱,揭示出还存在 β -结构。用还原的方法使二硫键断裂时,Cobrotoxin 变成由大量不规则卷曲的和少量 β -结构组成的混合物,而在重氧化之后,Cobrotoxin 的旋光色散和圆二色性光谱又恢复到天然状态。用特殊试剂改变结构,发现碱性氨基酸(特别是 Lys)对 NT 的生物活性是必需的。或许就象 d-筒箭毒一样,至少两个带正电的碱性基团在分子中保持一定距离,才可能担负起神经肌肉的阻断作用。

值得注意的是,图 1 所表明的 Tyr-25、Lys-27、Trp-29 和 Arg-33 不仅存在于所有眼镜蛇和海蛇 NT 中,而且在 α -Bungarotoxin 中也是共同的。蛋白分子的这个区域被认为是 NT 的“活性中心”。这一区域无交链环,由于它的亲水性,可以使分子向外突出,因而易为蛋白水解酶所破坏。我们研究室的工作已经证明这一点^[2],并已将胰蛋白酶用于蛇伤的防治^[3]。此外,Lys-47 对于大多数 NT 也是必需的,特别有趣的是,两个 Trp 和游离氨基虽然对表现毒性是重要的,但却与抗原性无关。两组 NT 对神经肌肉的阻断作用不相同,第 I 组眼镜蛇 NT 有较慢的可逆性,而第 II 组和 α -Bungarotoxin 则相对的不可逆。后者与前者不同,它们分子中含有较多的疏水氨基酸,如 Val、Ala 和 Phe,而较少 Glu,这可能是可逆性差别的原因。

二、膜活性多肽 (MAP)

除 NT 外,眼镜蛇毒还含有另一大类强碱性多肽,它们能引起多种极为复杂的生物学效应。这些强碱性多肽曾被命以多种名称,如心脏毒素、骨骼肌去极化因子、眼镜蛇胺 (Cobra-mine A 和 B)、细胞毒素、毒素 γ 、直接溶血因子(DLF)、峰 12B (Peak 12B) 等等。有足够的证据指出,这些物质或是同物异名,或者至少是同一科的同类多肽毒素。基于这些碱性多肽都作用于细胞膜的共性,最近, E. Condrea 把它们统称为“膜活性多肽”。

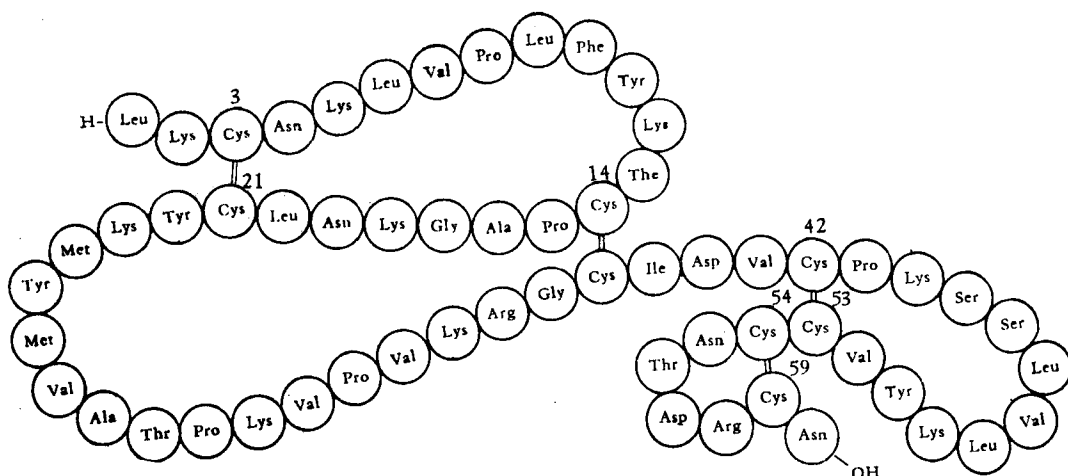


图2 一种 MAP (蛇毒 Cytotoxin II) 的氨基酸排列次序及二硫键位置

1. 化学组成及结构

MAP 一般由 60 个左右 (15—17 种) 氨基酸残基组成, 分子量 6,000—7,000, 强碱性, pHi 在 12 以上, 能通过透析袋, 在酸性介质中具有明显的热稳定性。它们在蛇毒中的含量很高, 可占干重的 25%—55%。

比较 MAP 和 NT 的氨基酸组成, 可以看出有如下几个方面的区别: ① MAP 的 Lys 含量高 (8—12 个残基) 而 Arg 含量很低 (1—2 个残基); ② MAP 的 Val 和 Leu 的含量高, Thr、Ser 和 Gly 的含量低; ③ MAP 缺少的 1—3 种氨基酸是 Trp、His 和 Glu, 而不是第 I 组 NT 所缺少的 Ala、Phe 和 Met。这些特征对于 MAP 的生物活性是有关的。MAP 与 NT 的氨基酸组成尽管不同, 但两者的氨基酸排列次序却有不少相似之处。台湾省的眼镜蛇毒的 NT Cobrotoxin 和 MAP Cardiotoxin, 其分子中包括 8 个 Cys 在内的 20 个氨基酸残基都是相同的。不仅如此, 两者的二级结构也十分相似。图 2 中的 MAP 分子中 4 对二硫键的位置与 NT 分子二硫键的位置几乎是一致的。

2. 结构与功能的关系

完整的二硫键对 MAP 的生物活性也是必需的, 这与 NT 相似。当 MAP 分子的二硫键被还原、羧甲基化或氨乙基化后, 其生物活性完全丧失。

尽管 MAP 和 NT 的二级结构甚至三级结

构十分相似, 但正如前述, 两者的氨基酸组成毕竟是有区别的。MAP 的分子特点是: 在整个分子中含有大量的 Lys 残基, 而且疏水氨基酸多集中在分子的 N-端 (图 2)。NT 的 N-端主要是亲水氨基酸 (图 1)。看来, MAP 对细胞膜的溶解作用很可能与多肽分子的高电荷密度和高含量的非极性氨基酸有关。

3. 对细胞膜的作用

(1) 直接溶血作用 MAP 具有直接溶解红细胞的能力, 因此被称为“直接溶血因子” (DLF) 或“溶血蛋白”。不同动物的红细胞对 DLF 具有不同的敏感性, 其中以狗和豚鼠最敏感, 人和家兔居中, 骆驼和绵羊的敏感性最差。MAP 的这种直接溶血作用可为蛇毒的另一组分——磷脂酶 A 所加强。对这一协同作用的解释, 可能是由于甘油磷脂并非裸露在红细胞的表面, 因而不易为磷脂酶 A 所作用; 当细胞膜结构受 MAP 作用而发生变化时, 水解就变得容易了, 水解的产物——溶血卵磷脂本身就能溶血, 因此, 这一溶血作用是以自身催化方式驱动的。

(2) 对细胞膜通透性的作用 MAP 能够抑制 I^- 、氨基酸、3-氧-甲基葡萄糖以及对氨基马尿酸在各种组织中的积蓄, 如甲状腺、耳下腺、绒毛丛、小肠和肾等。这种抑制作用是由于 MAP 增加了膜的通透性, 因而造成 I^- 和小分子化合物渗出的缘故。

(3) 对细胞膜酶的作用 MAP 的膜活性

在它们对细胞膜酶的作用中进一步得以证实。用 DLF 处理红细胞,引起甘油醛-3-磷酸脱氢酶、3-磷酸甘油酸激酶和醛缩酶活性的显著增加。激活作用可能是由于 MAP 松弛了膜结构,从而使酶从膜上洗脱下来的结果。

Mg^{++} 依赖的 ($Na^{+}-K^{+}$) 腺三磷酸酶 (ATPase) 与上述的一些酶相似,也是细胞膜酶,但它的正常功能依赖膜结构的完整。当 MAP 破坏了膜结构时,ATPase 就受到抑制。但是,由于各种细胞膜对 MAP 的敏感性不同,这种抑制仅在某些组织发生。

(4) 对易兴奋膜的作用 MAP 的另一特征是使易兴奋细胞膜的去极化作用。用 DLF 处理螯虾和乌贼,可以观察到外周轴突的传导阻断。MAP 还能使骨骼肌去极化、使之先兴奋后麻痹;低浓度时使离体心脏收缩增强,高浓度时则使心脏停止于收缩期;将其注入动物体内,会使动物由于心室纤颤而死亡。

(5) 细胞毒作用 从印度眼镜蛇毒分离出的细胞毒素 Cytotoxin,在体内外都对吉田肉瘤细胞有很强的细胞毒作用。开始,它引起细胞的肿胀,表明早期通透性的改变。接着引起细胞膜的收缩和核酸、蛋白的释出,证明细胞膜的广泛损伤。通过磷脂竞争实验,表明 Cytotoxin 可能与敏感细胞膜的酸性磷脂成分相结合,从而促进细胞的溶解。各种细胞膜由于结构上的差异,对 Cytotoxin 的敏感度也明显不同:吉田肉瘤细胞最敏感,大鼠的骨髓细胞、淋巴细胞及鸡的红细胞居中,人和大鼠的红细胞很不敏感。

三、蛇 毒 酶

蛇毒含有大量的酶,酶活性随蛇毒而异,已在蛇毒中发现的酶计有:碱性磷酸单脂酶、酸性磷酸单脂酶、磷酸二酯酶、5'-核苷酸酶、线三磷酸酶、线二磷酸酶、核糖核酸酶、脱氧核糖核酸酶、核苷焦磷酸酶、乙酰胆碱酯酶、透明质酸酶、L-氨基酸氧化酶、磷脂酶 A、磷脂酶 B、磷脂酶 C、外肽酶、蛋白水解酶、氨基酸酯酶等。值得注意的是蛇毒中的酶多是水解酶,现在还没有发现与任何合成反应或能量产生或转移有关的酶。

1. 磷脂酶 A

在动物毒中广泛分布的磷脂酶 A,几乎存在于所有已知的蛇毒中,蛇毒和蜂毒都是磷脂酶 A 的丰富来源。磷脂酶 A 水解卵磷脂,生成能够溶解红细胞的溶血卵磷脂,因此,它具有间接溶血作用。磷脂酶 A 对热很稳定,并具有多种药理和病理效应,自 1936 年以来,很多磷脂酶 A 制剂已从不同蛇毒中制备出来,但这些制剂中的磷脂酶 A,大多是同 NT 等碱性蛋白形成稳定的复合物。目前不混有 NT 的磷脂酶 A 已得到,分子量在 30,000 左右,它可被 DFP 和 EDTA 抑制,很可能是一个“丝氨酸型金属酶”。蛇毒磷脂酶 A 含有丰富的二硫键(15 对),这一结构特点与蜂毒、蝎毒以及胰脏的磷脂酶 A 一致,也是它对热和胰蛋白酶消化高度稳定性的基础。

2. 蛋白水解酶

蛇毒蛋白酶在蝮亚科蛇毒中含量较高,而海蛇科和眼镜蛇科则很低。富含蛋白酶的蛇毒能够引起组织的显著改变和破坏。已知纯化的蝮亚科蛇毒蛋白水解酶,其分子量和内肽酶性质、水解某些蛋白底物的能力以及碱性最适 pH 值等都与胰蛋白酶极相类似,但蛇毒蛋白酶不能水解任何胰蛋白酶的专一性底物。蛇毒蛋白酶受 EDTA 抑制而不为 DFP 抑制,表明它们是一类“非丝氨酸型的金属蛋白”。

从北美西部菱斑响尾蛇、食鱼蝮和日本烙铁头属蛇毒分离纯化的 α -蛋白酶、 H_2 -蛋白酶和蛋白酶 a、b、c 等,其分子量在 22,500—24,000 之间, pHi 大约为 6,作用的最适 pH 值在 10 左右,Asp 和二硫键的含量很高,无自由-SH 基。这些蛋白酶的肽键裂解专一性与胰蛋白酶完全不同,它们水解脂肪族的疏水氨基酸,特别是 Leu、Ile 和 Val 连接的肽键(“亮氨酸专一性”)。日本蝮蛇属的蛋白酶有时具有更高的分子量(50,000—95,000)和更酸的 pHi (大约是 4)。

3. 外肽酶

能够水解二肽和三肽的外肽酶已在眼镜蛇等四个科的毒蛇蛇毒中发现。眼镜蛇科和蝮科蛇毒中能够水解 L-亮氨酸- β -萘酰胺 (LNA) 和 L-丙氨酸- β -萘酰胺 (ANA) 的外肽酶活性

比其它蛇毒的活性要强。某些作者报道,此酶具有丙烯酸酯酶或萘酚酰胺酶的活性,也有人报道此酶可能是一个真氨肽酶。此外,尽管早期报道认为在蛇毒中有羧肽酶活力,但现在趋于一致的意见是蛇毒外肽酶不呈现这类活性。

4. 氨基酸酯酶

蝮亚科和蝰科蛇毒与眼镜蛇科和海蛇科蛇毒的明显区别不仅在于前两者富含对热不稳定的酸性蛋白酶,而且还在于富含对热稳定的氨基酸酯酶,而后两者则不含这两种酶。均一的无蛋白水解活力的蛇毒氨基酸酯酶能水解胰蛋白酶的专一性底物,如苯甲酰精氨酸甲酯(BAME)、苯甲酰精氨酸乙酯(BAEE)或对甲苯磺酰精氨酸甲酯(TAME),有些还可以水解胰凝乳蛋白酶的专一性底物乙酰酪氨酸乙酯(ATEE)或苯甲酰精氨酸乙酯(BTEE),但是它们既不能水解通常的蛋白底物,也不能水解胰蛋白酶的另—专一性底物精氨酸甲酯(AME),更不为胰蛋白酶的专一性抑制剂所抑制。蛇毒氨基酸酯酶与蛇毒蛋白酶不同,他们受 DFP 抑制但不为 EDTA 和硫醇抑制,可能属于“非金属蛋白”和“丝氨酸型酶”。

5. 胆碱酯酶

蛇毒胆碱酯酶是一种真乙酰胆碱酯酶,但也能水解各种乙酸酯。此酶在 pH5—10 比较稳定,超出这个范围就容易失活,它还能被 Cys、还原型谷胱甘肽、柠檬酸盐、HCN、明胶和白蛋白所抑制。30 年前,曾认为它就是眼镜蛇毒的 NT,然而,现在已有充分的证据表明此酶与蛇毒的致死能力无关。

6. 透明质酸酶

透明质酸酶迄今已在所测定的每一种蛇毒中找到。它水解细胞和纤维之间,特别是连接组织的透明质酸,从而降低这些组织的粘连。透明质酸的破坏造成蛇毒的其它组分渗透包含的组织,因此透明质酸酶与蛇毒所引起的水肿和肿胀有关。

7. L-氨基酸氧化酶

L-氨基酸氧化酶是蛇毒中少数几种非水解酶之一。该酶在某些蛇毒中的含量超过 3%,

而且活性比其它来源的要高上百倍,例如从食鱼蝮蛇毒中纯化的 L-氨基酸氧化酶的转换率为 3,100,而从动物肝、肾纯化的酶,其转换率只有 6,因而蛇毒是此酶在自然界最好、最丰富的来源。该酶在天然状态是一个分子量大约 130,000 的糖蛋白,包含有两个异咯嗪线嘌呤二核苷酸(FAD)辅基和两对二硫键,无自由-SH 基。它是由两个分子量为 70,000 左右而氨基酸组成又很相似的多肽亚基形成的一个非共价键的二聚体。两条不同的肽链形成的三种二聚体是一组“同簇毒素”,它们可以在电泳移动率上区别,但用其它方法不易区别。这些同簇毒素包含在结晶制剂中,有时也可以在全毒中观察到。利用在其底物存在下的相对稳定性,可以通过热变性手段来纯化此酶。

8. 核糖核酸酶

蛇毒核糖核酸酶裂解寡核苷酸,生成 2',3'-环化磷酸衍生物,因此,确切地说应属转换酶而不是水解酶。此酶为对氯汞苯甲酸(PCMB)、谷胱甘肽和柠檬酸抑制,为 Mg^{++} 和 Mn^{++} 激活。

9. 脱氧核糖核酸酶

蛇毒脱氧核糖核酸酶是一个依赖 Ca^{++} 和 Mg^{++} 的内切核酸水解酶或解聚酶,同猪脾的脱氧核糖核酸酶相似。它对热稳定,在 60℃ 加热 30 分钟仍保留全部活力。此酶在其最适 pH 5 时,能水解多聚的 DNA 或 RNA,生成三或三以上的 3'-寡核苷酸。

10. 磷酸单酯酶

蛇毒含有两种非专一性的磷酸单酯酶:一种是碱性磷酸单酯酶,一种是酸性磷酸单酯酶。它们都能水解磷酸单酯或酸酐,包括 5'-AMP 和 ATP 的末端磷酸,最适 pH 在 9.5 (碱性)和 5 (酸性)左右,为 Mg^{++} 和 Ca^{++} 激活。它们在眼镜蛇科蛇毒中含量较高,而在蝮亚科蛇毒中含量较低,甚至没有。

11. 磷酸二酯酶

蛇毒磷酸二酯酶是一种外切核酸水解酶,它能从 3'-端依次降解核糖核酸或脱氧核糖核酸,生成 5'-核苷酸。基于这一特征,此酶在核酸结构研究中,被作为一个十分有用而又必需

的工具酶。均一的不含磷酸单酯酶和 5'-核苷酸酶的蛇毒磷酸二酯酶已经得到,国外已作为生化试剂生产。

12. 5'-核苷酸酶

分布极广的 5'-核苷酸酶,在所有蛇毒中都呈现很高的活性。它是一种具有高度专一性的磷酸酯酶。此酶的最适 pH 为 8.5—9.0,受 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Mn^{++} 、 Co^{++} 以及 Cys、还原型谷胱甘肽所激活,而被 Zn^{++} 、 Ni^{++} 、焦磷酸和 NaF 强烈抑制。

13. 线三磷酸酶

蛇毒线三磷酸酶与某些动物组织的线三磷酸酶不同,它是一种焦磷酸酶,水解 ATP 的 α 、 β -焦磷酸键,生成 AMP 和焦磷酸。此酶常与 5'-核苷酸酶和核苷焦磷酸酶在同一分离组分中存在。它的最适 pH 为 8.3—9.5,为 Mg^{++} 激活, Hg^{++} 、 Zn^{++} 、 Fe^{++} 抑制。

14. 核苷焦磷酸酶

蛇毒核苷焦磷酸酶与通常的辅酶 I 水解酶不同,它裂解辅酶 I 的焦磷酸键,生成 AMP 和烟酰胺,而辅酶 I 水解酶则是裂解烟酰胺和核糖之间的糖苷键,并为烟酰胺所抑制。蛇毒核苷焦磷酸酶的最适 pH 也是 8.3—9.5,为 Mg^{++} 激活,但为 Ca^{++} 和 F^{-} 及 Cys、谷胱甘肽抑制。

四、蛇伤防治与蛇毒的利用

我国劳动人民在长期的斗争实践中,积累了防治蛇伤的丰富经验。无产阶级文化大革命以来,广大医务人员和科技工作者,遵照伟大领袖毛主席关于“中国医药学是一个伟大的宝库,应当努力发掘,加以提高”的教导,开门搞科研。他们跋山涉水,拜赤脚医生和草医为师,经过分析整理和数百次的实验,研制成功一些治疗蛇伤的中成药,如“上海蛇药”、“南通蛇药”、“广州蛇药”、“云南蛇药”、“福建蛇药”等。这些药物经临床试用,疗效很好,深受工农兵的欢迎。

在中草药治疗蛇伤的基础上,浙江和上海的医疗卫生单位和生产单位协作,又试制成功了“精制蛇毒抗血清”,应用蛇毒抗血清来治疗蛇伤,具有疗效高、收效快等优点^[4];云南省动

物研究所、广西医学院和广州部队蛇伤防治协作组应用胰蛋白酶来治疗蛇伤,更是一个创新^[3,5]。这种疗法应用广、高效,而且简易方便,已经受到国内外的重视。

蛇毒研究的飞速发展,不仅有助于蛇伤的合理防治,而且促进了蛇毒在科学和医学研究方面的广泛应用。圆斑蝥蛇蛇毒的研究,推动了血液凝固的瀑布学说的发展;美洲矛头蝮蛇毒的研究导致运动舒缓素(Bradykinin)的发现。几种蛇毒的氨基酸酯酶被用来诊断和治疗血凝失调方面的疾病,如圆斑蝥蛇蛇毒的氨基酸酯酶用于诊断第 X 因子缺乏症,红口蝮蛇蛇毒的氨基酸酯酶用于溶解血栓而没有出血危险。磷酸酯酶 A 除了用来研究亚细胞小体的生化外,最近在细胞膜和神经生理的研究方面又获得了新的用途,磷酸二酯酶和 5'-核苷酸酶是核酸结构分析中必需的工具酶,而具有亮氨酸专一性的蛇毒蛋白酶可用于测定蛋白质的氨基酸次序。L-氨基酸氧化酶已用来生产 30 几种高纯度的 α -酮酸。蛇毒 MAP 由于它们对细胞膜的特殊作用,在细胞膜的结构与功能的研究方面以及肿瘤的研究方面也将获得更为广泛的用途。

国内在蛇毒的研究与应用方面也作了不少工作,如眼镜蛇毒用于治疗麻疯反应痛、晚期癌痛、三叉神经痛等顽固性疼痛。此外还对应用蛇毒治疗小儿麻痹后遗症和肿瘤的可能性进行了探索。最近,许多单位正在开展蛇毒治疗冠心病、蛇毒镇痛和应用蛇毒 NT 研究神经肌肉接头以及蛇毒酶的生产等项工作。我们相信,经过文化大革命的锻炼,我国的蛇毒研究和利用工作一定会取得更多的成果。

主要参考资料

- [1] 云南省动物研究所四室:生物化学与生物物理学报,第 8 卷,1976 年,第 2 期。
- [2] 云南省动物研究所四室:“蛋白水解酶对蛇毒毒性破坏的作用原理的研究”(待发表)。
- [3] 熊郁良等:中国科学,1975 年,第 5 期,第 505 页。
- [4] 上海生物制品研究所等:浙江医科大学《蛇毒研究资料(1)》,1973 年,第 22—26 页。
- [5] 云南省动物研究所等:“胰蛋白酶治疗各种毒蛇咬伤 333 例临床总结报告”(待发表)。