

转录 (RNA-DNA 杂种是 A 型)。A-DNA 与 B-DNA 的主要区别是呋喃糖环及碱基对的构象。A-DNA 的呋喃糖环的构象是 C_3' -endo, B-DNA 则是 C_3' -exo。A-DNA 的碱基对偏离轴约 5 埃, 并且轴与碱基平面所夹的角约 70° 。B-DNA 的碱基对垂直于轴, 并且轴穿过碱基对的中心。这些说明两种模型经顺梯式构象修饰是有一定道理的。

因此, 我们的初步结论是: Watson-Crick 模型和 CPK 结构均经顺梯式构象修饰后是互变的。这个动态模型对于 DNA 的复制、转录, 复性及杂交链形成, 前熔及“呼吸” (Breathe) 等现象, 给予合理的解释。但是, 这个动态模型的细节, 例如键长、键角、氢键, 范德华接触, 结构的精确配位及各种碱基顺序的结构规律性问题, 尚需作大量的工作。

我们的 DNA 的动态结构假定模式图示于图 7。

参 考 文 献

- [1] Rodley, G. A. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A.* **73**, 2959—2963, 1976.
- [2] Sasisekharan, V. et al.: *Curr. Sci.* **45**, 779—783, 1976.
- [3] ———: *Nature (London)*, **275**, 159—162, 1978.
- [4] ———: *Curr. Sci.*, **46**, 763—764, 1977.
- [5] ———: *Proc. Nat. Acad., U. S. A.* **75**, 4092—4096, 1978.
- [6] Cyriax, B. and Gäth, R.: *Naturwissenschaften*, **65**, 106—108, 1978.
- [7] Pohl, W. F. et al.: *J. Math. Biol.*, **6**, 383—402, 1978.
- [8] Meselson, M. and Stahl, F. W.: *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A.* **44**, 671—682, 1958.
- [9] Kim, S. H. et al.: *Science*, **179**, 285—288, 1973.
- [10] Suddath, F. L. et al.: *Nature (London)*, **248**, 20—24, 1974.
- [11] Robertus, J. D. et al.: *ibid.*, **250**, 546—551, 1974.
- [12] Crick, F. H. C. et al.: *J. Mol. Biol.*, **129**, 449—461, 1979.
- [13] Arnott, S. et al.: *Nature*, **220**, 561, 1968.

[本文于 1979 年 9 月 20 日收到]

流 感 病 毒 基 因 组 及 其 转 录

尹明标 龚新昌 董永坤

(中国医学科学院病毒研究所)

甲型流感病毒的特点是其表面抗原经常发生变化。1931 年首先从猪分离出流感病毒; 接着也从人体分离出; 以后每隔 10—15 年就出现新的亚型, 在人群中广泛流行。流行期间, 病毒经常发生变异, 这给疫苗研究带来很大困难。甲型流感病毒的不同毒株之间, 重组率非常高。灭活病毒经两次或多次感染之后, 可以恢复感染性。流感病毒这些独特的遗传现象, 使人们对其基因组及其产物的组分与分子结构研究, 产生浓厚的兴趣。

流感病毒基因组的片段形式

自从发现流感病毒含有单链 RNA 后, 许多实验揭示了流感病毒基因组结构的特殊性。

早期遗传学实验发现了很高的重组率, 从而提出在流感病毒中存在若干有联系的、独立的基因。后来, 利用标记拯救实验, 获得高达 50% 的遗传重组率。经分析, 每个病毒颗粒约含有 6 个遗传单位。利用温度敏感变异株进行重组实验表明, 流感病毒有 8 个重组互补组^[1]。不同温度敏感变异株多次重组, 可以产生野毒株。将流感病毒用乙撑亚胺处理, 灭活不同蛋白质的合成能力, 也证实只要 RNA 复制与转录不受损害, 流感病毒的不同基因就可以独立地发挥作用。

用密度梯度离心鉴定流感病毒 RNA, 支持了基因组以片段形式存在的观点。聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的引入, 给流感病毒基因组的研究

究开辟了新途径。第一个用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析流感病毒 RNA，证明是不均一的混合物，可分为 6 个区带。

最近用高分辨率的尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳、结合放射自显影术分析流感病毒 RNA，可以分离为 8 个等克分子量的片段^[2]。有人用甲酰胺-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析碘化标记的流感病毒 RNA，也分辨出 8 个不同的 RNA 片段^[3]。我们实验室用尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳，吖啶橙荧光染色，也分出 8 个片段。

目前较为一致的看法是流感病毒基因组以片段形式存在，共有 8 个片段，每个片段代表一个基因。但至今丙型流感病毒 RNA 只能区分为 7 个片段。流感病毒的重组，是指混合感染中基因组片段的重新配列，而不是经典概念的重组，即多核苷酸链的断裂与再结合^[4]。

病毒 RNAs 的结构

流感病毒 RNA 分子量的测定值愈来愈高，初期测定值为 $2 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ 。随着聚丙烯酰胺凝胶电泳的应用，测定值提高到 $3.9 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ 。经乙二醛变性后，测定人与动物甲型流感病毒 RNA 分子量为 4.9×10^6 ，乙型为 5.3×10^6 ^[5]。表 1 为乙二醛变性后流感病毒 RNA 片段分子量的测定值。

五十年代开始，许多人测定了不同流感病

毒株 RNA 的碱基组成，发现甲型与乙型有明显的差别。但两种病毒的尿嘧啶含量均较高 (32—37%)。

表 1 甲型流感病毒 RNAs 的链长与分子量

基因片段编号	核苷酸数 ^(*)	相对克分子当量*	分子量 ^(*) $\times 10^5$
1	5,100	0.7	0.89
2	3,670	0.7	0.89
3	4,230	0.7	0.86
4	2,490	0.8	0.66
5	2,370	1.00	0.56
6	2,400	1.1	0.48
7	930	1.3	0.28
8	820	1.2	0.21

* 相对于基因片段 5 表示之。

RNA 片段的一级结构研究尚处于开始阶段。三种不同大小的病毒 RNA 经碱水解后，再用柱层析证明，其 5' 末端是 pppAp。另外用 ³H-氢硼化物标记方法研究 WSN 甲型流感病毒 RNA，三种大小的 RNA 均在 3' 末端含有非磷酸化尿嘧啶。这证明至少 WSN 甲型流感病毒的各个 RNA 片段，5' 末端是从 ATP 开始，3 末端以尿嘧啶终止。

近来采用新的方法，分析鸟类甲型流感病毒 RNA，证明在每个 RNA 片段的 5' 末端，几乎有相同的 20 个或 20 个以上的核苷酸链^[6]。其 5' 末端起始的 23 个核苷酸排列顺序见表 2。

表 2 鸟类甲型流感病毒 RNAs 5' 末端的核苷酸顺序

基因编号	5'-末端核苷酸				
	1	5	10	15	20
1	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	U-A-G	U-U-U-U-U-U	A	
2	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	U-A-G	U-U-U-U-U-U	A	
3	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	U-A-G	U-U-U-U-U-U	A	
4	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	G-U-G	U-U-U-U-U-U	U	
5	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	G-U-A	U-U-U-U-U-U	U	
6	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	A-G-A	U-U-U-U-U-U	G	
7	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	U-A-G	U-U-U-U-U-U	A	
8	A-G-U-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G	G-U-G	U-U-U-U-U-U	A	

同其它甲型与乙型流感病毒一样，每个基因的 5' 末端核苷酸顺序为 pppA-G-U，然后是

一列10个核苷酸-A-G-A-A-A-C-A-A-G-G-;紧接着为一组3个核苷酸,除了基因1—3以及7外,其它基因片段各不相同;核苷酸17—22是由一列6个尿苷-U-U-U-U-U-U-组成;以后相似性终止。

比较流感病毒 RNA 碱基顺序,特别是与表面糖蛋白有关的基因碱基顺序,对于研究流感病毒变异以及新亚型的起源,有重要意义。

RNA 片段与基因产物

流感病毒 8 个基因分别携带的密码数目,与相应的病毒多肽的大小相符。但是,并非全都如此。

确定不同 RNA 片段与基因功能的关系有三种方法:

1. 比较不同流感病毒株的 RNA 片段与病毒特异性蛋白质电泳迁移率的差异。为了鉴别特异性基因及其产物,用流感病毒 A/PR8/34 (H0N1) (PR8 病毒) 与 A/香港/8/68(H3N2) (香港株病毒) 共同感染细胞,其中一株用紫外光或热灭活,用免疫血清选择,可以获得重组病毒株。用聚丙烯酰胺凝胶电泳比较分析亲本株与重组株,发现 RNA₄ 携带血凝素的密码。用类似方法还证明,香港株病毒的第 5 个 RNA 携带神经氨酸酶的密码,但 PR8 病毒的第 6 个 RNA 携带相应的神经氨酸酶的密码。

用温度敏感变异株重组,可以把分析某个 RNA 片段决定某一种蛋白质的方法,扩展为决定某一种生物功能^[7]。表 3 列出了两株不同流感病毒 RNA 片段与基因功能的关系。

表 3 两株不同流感病毒 RNA 片段决定不同基因功能与基因产物的比较

基 因 编 号	鸡瘟病毒 (Hav1N1)		WSN 株 (H0N1)	
	相应 ts 株的缺损	相 应 蛋 白 质	相应 ts 株的缺损	相 应 蛋 白 质
1	没有 vRNA 与 cRNA 合成	P1 蛋 白 质	没有 vRNA 与 cRNA 合成	P3 蛋 白 质
2	转运功能与 vRNA, cRNA 合成缺失	转运蛋白质 P3 蛋白质	没有 vRNA 与 cRNA 合成	P1 蛋 白 质
3	没有 vRNA 与 cRNA 合成	P2 蛋 白 质	没有 vRNA 合成	P2 蛋 白 质
4	血凝素阴性	血 凝 素	血 凝 素 阴 性	血 凝 素
5	没有 vRNA 合成成熟缺损	核 蛋 白 质	没有 vRNA 合成	核 蛋 白 质
6	神经氨酸酶阴性	神 经 氨 酸 酶	神经氨酸酶阴性	神 经 氨 酸 酶
7	—	膜 蛋 白 质	—	膜 蛋 白 质
8	—	非 结 构 蛋 白 质	—	非 结 构 蛋 白 质

2. 依据感染细胞中的 cRNA (互补 RNA) 在无细胞蛋白质合成体系中转译为病毒蛋白质的能力。当不同的 vRNA (病毒 RNA) 片段与总 cRNA 杂交时,核苷酸顺序与 vRNA 互补的 mRNA 转为双链形式,因而在无细胞体系中不能再转译。这些 RNA 片段编码的蛋白质合成便特异性地被抑制。用这种方法可以确定不同的 RNA 片段和那些病毒蛋白质有关。这一方法所得的资料与表 3 所列资料是相符的。Inglis 利用这一方法确定三个最大的 RNA 基因携带 P1、P2 与 P3 密码,基因 4 携带血凝素

密码,基因 5 携带核蛋白质的密码,基因 6 携带神经氨酸酶密码,而基因 7 与 8 携带膜蛋白质与非结构蛋白质的密码。

3. 把已知功能缺损的温度敏感变异株,用不同株的甲型流感病毒加以拯救。从这种重组株病毒感染的细胞中,可以分离足够数量的 cRNA。在 cRNA 饱和条件下,与 ³²P-标记的 vRNA 进行分子杂交实验。对同型杂交体与异型杂交体的耐核酸酶部分进行比较,可以决定重组株的某一特殊片段来自那一个母株。从拯救病毒来的片段(不携带温度敏感缺损)可以与

相应温度敏感变异株的生物功能缺损相比较。表 3 所列的部分资料就是用这个方法研究鸡瘟病毒片段决定基因产物的结果。

基因构型与致病性

遗传学实验证明, 粘液病毒的致病性并非单纯由表面糖蛋白决定, 也受其它基因控制, 即由多基因控制的。对只有一个基因交换的重组株进行基因分析表明, 致病株的任一 RNA 片段交换将会引起致病性的改变, 例如鸡瘟病毒的 RNA 片段 1 被 PR 8 的相应片段交换, 致病性完全丧失。但是如果被猪流感病毒的相应片段交换, 重组株与鸡瘟病毒野毒株的致病性一样。这说明重组株的致病性取决于被交换的基因, 以及这一基因来自什么样的毒株。

多个基因交换的重组株常使致病性减低或丧失, 但也有例外。例如鸡瘟病毒野毒株与香港株形成的重组株, 当片段 1 与片段 2 来自香港株时, 重组株与鸡瘟病毒野毒株致病性一样。相反, 仅仅一个片段被交换的重组株, 致病性明显降低。可见并不存在与致病性有关的一个特异性基因或几个基因: 可能基因片段的构型与病毒致病性有关。

最近发现, 鸡瘟病毒与 A2-英格兰流感病毒的重组株获得了神经毒性, 而 A2-英格兰株独自在小鼠身上并不表现神经毒性, 说明重组株特异的基因构型似与神经毒性有关。

总之, 流感病毒各个基因及其产物的作用不是孤立的, 而是相互制约、相互影响的。对于高致病性的病毒基因组, 其 RNA 片段需具有最适的构型^[8]。

流感流行病学的分子基础

要精确了解两株不同流感的遗传关系, 必须精确地测定它们的 RNA 的碱基顺序, 但这样做困难较大。目前利用流感病毒基因组图谱, 作为分子流行病学的工具是一个简单易行的方法。一般讲, 如果 8 个 RNA 片段电泳迁移率全部相同, 则两株在遗传上可能一样。一个或几个 RNA 片段电泳迁移率不同, 则证明

遗传学上有差别。这个方法比较粗糙, 因为基因片段之间电泳迁移率的差别尽管可以反映遗传学上的这种差异, 但不能说明差别的程度。

用寡核苷酸图谱分析与核酸杂交技术, 可以更精确地确定各种毒株之间的遗传关系。用特异的 RNase T1 水解 vRNA 片段, 产生独特的寡核苷酸, 接上 ^{32}P -ATP 后, 进行双向凝胶电泳, 每一 vRNA 片段可以得到一个特异的寡核苷酸图谱。这一方法可以测出两株不同病毒遗传学上细微的差别^[9]。但此法只能分析部分 RNA, 因水解产生的小的寡核苷酸片段与单核苷酸, 双向电泳时迁移过快, 不能检出。

利用部分互补的 RNA, 退火后测定耐 RNase 部分, 也可以确定两株病毒遗传学上的相互关系。将一株标记的 vRNA 与另一株未标记的 cRNA (过量) 保温, 接近熔点时 (大约 86°C , $1 \times \text{SSC}$), 核苷酸顺序互补区域形成双链, 然后在高盐浓度下用胰酶或 RNase T1 水解, 再测定耐 RNase T1 部分的放射性。该法的缺点是点突变或小的错误配对区域不易被发现。

关于变异的原因, 有的学者认为是点突变的结果。分析 A/PR8/34 (H0 N1), A/Swine/Iowa/31 (HSW1 N1) 以及 A/FM1/47 (H1 N1) 的所有片段, 其碱基顺序的杂交率接近 100%, 说明它们之间可能仅通过若干点突变而相互演变来的。但是, 对于另外一些毒株, 例如甲₁株病毒则可能通过基因交换, 由甲₁株病毒演变而来^[10]。如果这一概念正确, 则占优势的人甲型流感与一个动物甲型流感之间的重组, 就可能出现新的流行株。对香港株 (H3N2) 与 A2-新加坡株病毒进行比较, 除了血凝素基因 (片段 4) 外, 其它 7 个基因的碱基顺序几乎一样。因此香港株 (H3N2) 很可能是通过重组, 保留甲₁病毒的 7 个基因, 由甲₁ (H2N2) 演变来的。人香港株的血凝素发现与马₂株以及乌克兰鸭病毒在血清学上相关。相应地, 香港株病毒与马₂株 (Heq2 Neq2) 片段 4 之间碱基顺序杂交率为 80%, 与乌克兰鸭 (Hav7 Neq2) 相应片段之间碱基顺序杂交率为 92%。这说明香港株有可

能是人甲株与乌克兰鸭株(或者片段4与乌克兰鸭株密切相关的毒株)重组的结果。

流感病毒的转录

1. 流感病毒基因组转录的特点： 流感病毒基因组的副链性质说明，它首先必须转录为功能 mRNA。与其它副链病毒的转录不同，流感病毒 RNAs 的转录，紧密依赖于宿主细胞核所提供的功能；并且宿主细胞 DNA 参与流感病毒基因组的复制；此外，由于流感病毒基因组是以片段形式存在的单链，8 个 RNA 基因独立地复制，也提出了一些特殊的问题。

宿主细胞中依赖 DNA 的 RNA 多聚酶 II (RNA 核苷转移酶)对流感病毒的复制是必需的。 α -蝇蕈素(α -amanitin)是该酶的特异性抑制剂。在正常细胞中，高剂量 α -蝇蕈素封闭所有流感病毒特异性 mRNA 的合成。另外，封闭 DNA，但不封闭 RNA 多聚酶的 药物——放线菌素 D、在高剂量时也发现抑制流感的复制的类似效应。细胞紫外照射也具有特殊的敏感性。

抑制效应的机制不十分清楚，有可能是在宿主细胞 DNA 上编码的，借助细胞 RNA 多聚酶 II 转录的某种 RNA，对于细胞内正确行使病毒转录酶的功能是必需的。另一种可能是 α -蝇蕈素敏感的 RNA 多聚酶 II 亚基参与病毒转录复合物，而高剂量放线菌素抑制 RNA 多聚酶 II 亚基结合到 DNA 模板上，使其不能形成

病毒转录复合物。

宿主细胞功能也影响病毒转录谱，例如鸡瘟病毒感染 L 细胞与鸡胚成纤维细胞，mRNA 的合成谱非常不同，但对其机制了解甚少。

流感病毒各个 mRNA 有控制地合成，也与病毒蛋白质的功能有关。例如基因 8 产物——非结构蛋白质的合成较所有其它病毒多肽更快地达到最大值。这可能说明非结构蛋白质与病毒 RNA 的转录或复制有关。另外，在感染早期，mRNA5 (核蛋白质信使 RNA) 相对量高，而 mRNA 4, 6 与 7 (血凝素，神经氨酸酶与膜蛋白质信使 RNA) 仅在感染晚期合成最大量，这是因为它们用于病毒装配所致。

2. 两种类型的 cRNA： 在流感病毒的复制中，包含两种类型的基因组转录。一种类型是基因组 RNA 的不完全转录，另一种类型是基因组的完全转录。两种转录均含有在碱基顺序上与 8 个病毒 RNA 互补的区段。

根据它们结合 Oligo-dT 纤维素的能力，cRNA 分为多聚腺苷化 cRNA 与非多聚腺苷化 cRNA。这两种 cRNA 的核苷酸顺序也有差别。病毒 RNA 与非多聚腺苷 cRNA 的杂交分子中，病毒 RNA 的 5' 与 3' 末端核苷酸均可抵抗核酸酶的水解。而与多聚腺苷 cRNA 的杂交分子，其 5' 末端不能抵抗核酸酶的水解。分析其 5' 末端的核苷酸顺序表明，至少有 17 个核苷酸在转录时不被表达。而且各种 vRNA 不被表达的核苷酸顺序几乎相同 (图 1)^[1]。

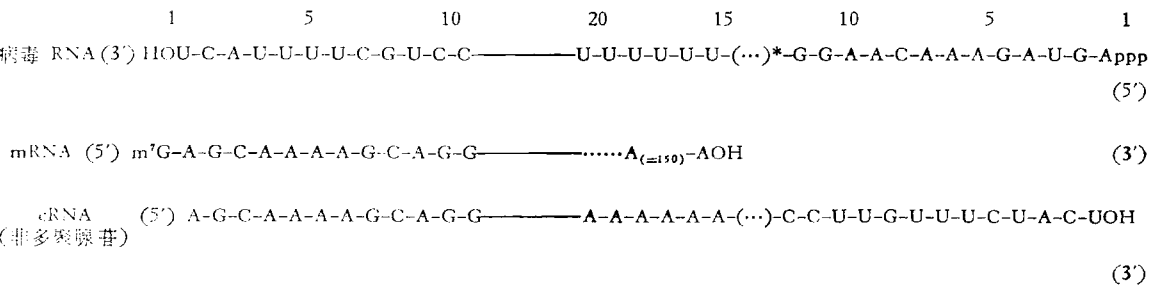


图 1 基因组 RNAs 与两种类型 cRNA 不变区的核苷酸顺序

* vRNA 5' 末端 14—16 核苷酸顺序是可变的。

多聚腺苷化 cRNA 在 5' 末端具有 7-甲基鸟苷“帽”结构，而非多聚腺苷化 cRNA 没有这

种“帽”结构。
这两种 cRNA 除结构的差别外，还在病毒

复制中行使不同的功能。在感染细胞中,只有多聚腺苷化 cRNA 与多聚核糖体结合在一起,说明只有多聚腺苷化 cRNA 起 mRNA 的作用。两种 cRNA 与病毒特异性多肽合成的相对速率比较,也证明这一论点是符合实际的(见表 4)。

表 4 多聚腺苷与非多聚腺苷 cRNA 相对量与病毒特异性多肽合成相对速率的关系

基因编号	cRNA 的相对量		多 肽	合成相对速率
	非多聚腺苷	多聚腺苷		
1	0.79	0.06	P1	0.04
2	0.82	0.09	P2	0.04
3	0.62	0.07	P3	0.03
4	0.70	0.30	H	0.41
5	1.00	1.00	NP	1.00
6	0.88	0.24	N	—
7	0.90	0.36	M	0.33
8	0.50	0.36	NS	0.35

非多聚腺苷化 cRNA 似乎起着基因组 RNAs 合成模板的作用。如果这种看法正确,则它应在基因组复制之前合成,而且应该是等比例合成,其相对丰度一样。表 4 所列结果可以满足这两个条件。在感染后相同时期,它们同时产生近似相等的最大量。

3. “初级”转录与“次级”转录

cRNA 合成通常分为“初级”转录与“次级”转录。对于副链病毒,由病毒转录酶启动,并且与病毒基因组 RNA 互补的 RNA 起始合成,有人把它称之为“初级”转录。用 A/WSN 株流感病毒或 FPV/BEL 重组株病毒感染鸡胚成纤维细胞,感染后大约 40 分钟,首次测出“初级”转录。在环己亚胺存在时,感染后 13 小时,“初级”转录以线性速率继续进行。当没有环己亚胺时,感染后 40 分钟“初级”转录也开始,但处于相对低水平;直到 90 分钟,合成速率才迅速升高,感染后 3 小时达最大值,然后下降。

感染后 90 分钟才扩大,是因为新产生的 mRNA 指导新转录酶分子的分成,后者调节 cRNA 的合成速率。这种放大速率的转录,称之为“次级”转录。“次级”转录被认为主要代表子

代病毒 RNA 分子的转录。

“初级”转录时,只有 mRNA 产生,这一阶段要求蛋白质合成;而且 8 个病毒 mRNA 的合成,差别很大。在“次级”转录时,主要产生数量大致相同的 8 个非多聚腺苷化 cRNA。

4. 转录调控

由上可知,流感病毒各个 mRNA 在感染不同时期合成的相对量不同,而且两种类型的转录,即多聚腺苷化 cRNA 与非多聚腺苷化 cRNA 的合成速率也不相同。这提示可能存在两方面的调控机制,即各个 mRNA 转录的调控与两种类型 cRNA 转录的调控。

在 mRNA 合成的调控中,参与转录复合物的酶可能起重要作用。鸡瘟病毒温度敏感变异株,在限制温度条件下,发现“初级”转录没有缺损,而“次级”转录有缺损,两期所包含的酶的组分是不同的,这可能部分解释酶在不同转录调控中所起的作用。

模板的性质在 mRNA 合成的调控中,也可能具有重要的作用。例如流感病毒所有的基因组 RNA,其 3' 末端起始的 12 个核苷酸顺序是相同的(图 1),这种不变的顺序可能代表转录酶的结合位置,它可能是转录起始存在选择性的结构基础。

两种类型转录的调控机制中,最有意义的问题之一是不完全转录的调控机制。对此有两种假设,一种认为多聚酶作用的产物是完全转录,接着经过核苷酸加工;另一种认为转录过早地终止。体内与体外转录实验证明,缺乏蛋白质合成时,只产生不完全转录。这证明后一种可能性较大。完全转录要求的蛋白质所起的作用,是通过 mRNA 终止位置让转录作用继续进行,而不是抑制完全转录进行。所有 RNA 的 17 到 22 残基 U6 顺序可能代表这种终止符号,它可被未修饰的病毒转录酶识别^[1]。

结 束 语

尽管流感目前仍是一个未解决的问题,但对它的认识已较过去深刻得多。由于我们对流感病毒基因组的认识日益深入,使我们有可能

通过重组保留或去除与致病性和宿主范围有关的基因,置换携带表面糖蛋白密码的基因,创造新的流行株,给疫苗研究提供新的可能性。流感病毒基因组及其产物结构与功能的研究,还为分子流行病学提供基础。此外,对流感病毒复制与转录过程的认识,可为进一步发现具有临床用途的抗病毒物质提供资料。

参 考 文 献

- [1] Hirst, G. K.: *Virology*, 55, 91, 1973.
[2] Palese, P. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*,

73, 2142, 1972.

- [3] Hinshaw, V. S. et al.: *Virology*, 84, 51, 1978.
[4] Palese, P.: *Cell*, 10, 1, 1977.
[5] Desselberger, U. et al.: *Virology*, 88, 394, 1978.
[6] Skehel, J. J. et al.: *Nature (London)*, 247, 87, 1978.
[7] Almond, J. W. et al.: *Virology*, 92, 416, 1978.
[8] Rott, R.: *Arch. Virol.*, 59, 285, 1979.
[9] McGeoch, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 73, 3045, 1976.
[10] Scholtissek, C. et al.: *Negative Strand Viruses and the Host Cell*, pp. 19, 1978.
[11] Hay, A. J. et al.: *Br. Med. Bull.*, 35, 471, 1979.

[本文于 1980 年 2 月 11 日收到]

用核磁共振研究生物活组织(二)

许健生 高联佩

(中国科学院生物物理研究所) (清华大学)

一、完整心脏的研究

用 NMR 研究心脏集中在三个方面: 1. 缺氧条件下产生的化学变化; 2. 心肌缺氧坏死的预防药物和预防措施的作用机制; 3. 寻找一种测定心肌坏死的部位和范围的非破坏性方法。

Hollis 等从一个兔身上取出心脏^[1], 作为样品。正常心肌如同一般横纹肌一样, 无机磷共振峰高度和位置能反映能量库的消耗情况, 并且与心脏细胞内的 pH 值有关。夹住左前下行

冠状动脉使心脏局部缺血时, 测得的无机磷峰分裂为两部分。一个代表 pH7.4 的正常心肌, 一个代表 pH6.6 的梗死心肌(图 1)。接着截断冠状动脉的主脉, 使整个心脏缺氧。每隔 5 分钟测试一次, pH 中性区的 Pi 峰逐渐减小到零, 而 pH 酸性区的 Pi 峰则迅速增强, 最后 pH 值达到 6.4。

因为心脏缺氧区的能量供应主要依靠糖酵解。糖酵解产生大量乳酸, 导致 pH 值降低。这有可能打开一条新途径, 即根据 Pi 峰的形状估计冠心病区的范围。

随着自旋成像技术的迅速发展, 已制成了能容纳部分人体的大磁铁, 成功地获得了人胸的 ¹H 像^[2]。人们也设想用 ³¹P NMR 获得一个心脏的三维象, 以便迅速而无损伤地确定心肌梗死的部位和范围、区别带斑痕陈旧心肌梗死和急性心肌梗死。

用 NMR 谱研究心脏灌流, 可以了解一个收缩周期中的能量代谢过程。初步结果表明, 肌红蛋白在收缩期和舒张期与氧结合较多, 在静止期则结合较少; 细胞色素 aa₃ 在收缩期还原型较多, 在静止期则氧化型较多。

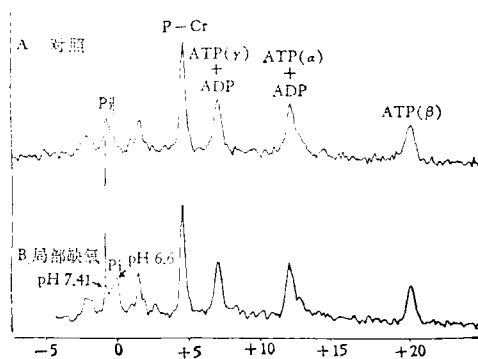


图 1 心脏局部缺氧的 ³¹P NMR 谱直接观测到 Pi 峰分裂成两部分, 正常区和酸性区