

蛋白激酶 C 在细胞生长与恶变过程中的调控作用

陈 南 岳

(湛江医学院病理生理教研室, 湛江 524023)

提 要

蛋白激酶 C(PKC) 在细胞信息传递及生长控制中起重要作用。在正常细胞, PKC 既诱导生长旺盛的细胞出现分化, 也在多个环节上使静止期细胞进入增殖状态; 又反过来通过其负反馈调节机制及时终止细胞的增殖过程。PKC 可能与细胞中其它信息传导系统构成代谢网络, 协同完成对各种复杂生理功能的调控。当某些致癌因素破坏了细胞正常调控机制, 而使其成为始动细胞后, PKC 则促使其过度增殖而癌变, 从而在细胞癌变过程中起到“促进”作用。PKC 还与促进肿瘤细胞的生长和转移有关。

关键词 蛋白激酶 C, 细胞增殖与分化, 促癌作用

蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC) 广泛存在于哺乳类各组织细胞, 是在细胞信息传递中起重要作用的蛋白激酶。它被多种生长因子、激素和神经递质激活, 又是促癌物质(如佛波醇酯)在细胞内的高亲和力受体, 并能使许多与细胞生长有关的重要蛋白质磷酸化^[1,2]。因此, PKC 对细胞生长的调控及其在肿瘤发生发展中的作用引起人们极大兴趣, 近年来这方面工作进展迅速, 本文拟就此作一介绍。

一、PKC 的基本特征

自 Nishizuka 及其同事 1977 年首先发现 PKC 十多年来, 已先后从猪、鼠、兔、人脑及人脾 cDNA 基因库中筛选出 α , β_1 , β_2 , ν 及 δ , ϵ , ζ , η 八个 PKC 亚型^[3], 使 PKC 成为一个家族。各型 PKC 分子量大约 77—83kD, 结构极为相似, 都含有 N 末端的调节区和 C 末端的催化区。调节区都含有前后排列的两个(ζ 为一个)富含半胱氨酸的重复序列, 简称“锌指”(zinc finger)。这种序列常见于与调节转录相关的 DNA 结合蛋白^[4]。

但是, 这些亚型对于单克隆抗体的免疫性及自身磷酸化位点不同, 在分布上也具有组织特异性。 α 型广泛分布于各种组织, β 型主要存在于脑和胰岛及其他内分泌器官, ν 型则主要见于脑和脊髓, 特别是海马。某些组织可含有几种亚型; 根据细胞生长状态, 同一种细胞也可表达不同亚型^[5]。

PKC 通常以无活性形式存在于胞浆, 在胞外信号与受体结合后, 通过 G 蛋白活化磷脂酶 C (PLC), 使膜上肌醇磷脂转换 [phosphoinositol (PI) turnover], 水解磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP₂), 产生三磷酸肌醇 (IP₃) 和磷脂酰甘油 (DG), IP₃ 使胞内 Ca²⁺ 增高, DG 则使 PKC 移位到膜上, 在膜磷脂 (主要是磷脂酰丝氨酸) 和一定浓度 Ca²⁺ 存在时, PKC 即被激活。

激活的 PKC 能通过使蛋白质磷酸化产生多种生物效应, 如肌肉的兴奋收缩偶联, 激素及神经递质的释放, 离子及营养物质的跨膜转运等短期效应和调节基因表达与细胞增殖等长期效应。在细胞信息传递过程中, PKC 对上

述效应具有双向调节作用。据认为正向调节在基因表达控制等方面具有重要作用；而负反馈调节几乎涉及到细胞信息传递过程的每一个环节,包括上述短期或长期效应,以使其得以及时终止(见图1)^[4]。

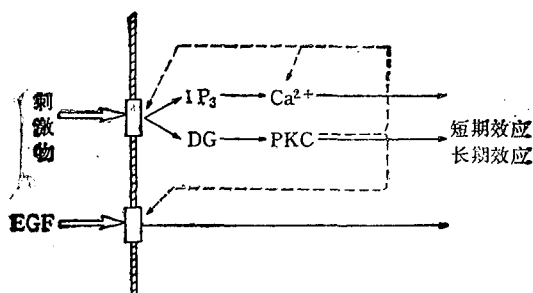


图1 PKC 的双向调节示意图
——正向调节 ——负反馈调节

二、PKC 对细胞生长的调控

细胞有分化和增殖两个生长方向。根据细胞当时所处的机能状态, PKC 激活剂(如佛波酯 TPA 等)能使其朝一定的生长方向发展:处于增殖状态的细胞, TPA 能使其朝分化方向发展;反之分化过程中的细胞往往出现增殖^[4]。

生长旺盛的甲状腺髓样瘤细胞与 TPA 接触后, 细胞 *c-myc* 基因活性降低并停止增殖, 同时开始分泌降钙素^[4]。TPA 还可诱导早幼粒白血病细胞系 HL-60 及其它一些白血病细胞系如 KG-1, ML-3, U937 等分化为单核细胞^[5]。已观察到, 此时 PKC 能诱导分化相关的 *c-fos* 原癌基因表达^[3,4], 并产生及分泌白细胞介素 1(IL-1), 据称此为这类细胞分化的标志^[3];而增殖相关的 *c-myc* 原癌基因则受抑制, 转铁蛋白消失^[4]。

另一方面, PKC 又显然与细胞增殖的许多环节有关。许多有丝分裂因子, 包括多肽生长因子如胰岛素, 上皮生长因子 (EGF)、血小板生长因子 (PDGF), 纤维母细胞生长因子 (FGF)、白细胞介素 3(IL-3) 等以及有丝分裂素如 α -血栓素、植物血凝素等, 都能使细胞内 DG 产生增多, 使 PKC 活性增强^[5]。PKC 被激活后, 可使一系列相关底物蛋白磷酸化, 产

生与有丝分裂有关的生物效应。

首先, PKC 激活 Na^+/H^+ 运载系统。静止期细胞对生长因子最普遍的反应就是咪吡啉敏感的 Na^+/H^+ 运载体的激活, 推测这是有丝分裂信号传递的最可能途径^[4,5]。 Na^+/H^+ 运载体激活后, Na^+ 内流, H^+ 外流, 细胞内 pH 升高, 对细胞生化代谢过程有多方面影响如 Ca^{2+} 效应增强和基因活化^[4,5]。

其次是诱导 *c-myc* 基因表达。 *c-myc* 基因的表达能明显促进细胞增殖;抑制其表达, 细胞即停止增殖。因而对于某些生长受阻的细胞进入增殖周期, *c-myc* 的表达显然是必需的^[6]。而 PKC 能使许多细胞表达 *c-myc* mRNA, 如成纤维细胞、成肌细胞和 T, B 淋巴细胞^[4,6] 等。

在有丝分裂反应中, 蛋白合成是一个早期的必经环节。已知核糖体蛋白的 40S 亚基(S6 蛋白)的磷酸化能调节蛋白合成和 mRNA 转录速度。EGF 能通过 PKC 激活 S6 激酶, 使 S6 蛋白磷酸化, 从而促进蛋白合成和细胞增殖^[7]。PKC 能诱导鸟氨酸转移酶基因表达促进蛋白合成^[4]; 还能激活胞膜氨基酸载体促进细胞对氨基酸的摄取, 其摄入量与 PKC 分布到膜上的量成平行关系。

可以看出, PKC 被激活后, 可以促进一系列与 DNA、蛋白质合成有关的环节而使细胞增殖。但 PKC 也表现出某些抑制增殖的效应。

已证实, mRNA 由细胞核转到胞浆的过程需要三磷酸核苷酶 (NTPase) 提供能量。PKC 能使核膜上 mRNA 转运位点蛋白磷酸化, 抑制 NTPase 活性, 使细胞核内 mRNA 向胞浆转运速度减慢。如用 Triton X-100 处理核膜, TPA 不再引起这种抑制, 而注射纯化 PKC 后, 其抑制作用又恢复^[8]。

对细胞增殖过程最有效的调节, 可能在于 PKC 能使 EGF 受体、类胰岛素受体和 PDGF 受体蛋白磷酸化, 调节其功能。已知这些受体具有酪氨酸蛋白激酶 (T-PK) 活性, 能促进细胞合成代谢并使细胞增殖。如果这类受体活性

异常增强,就会使细胞失去正常生长调控而导致细胞过度增殖甚至癌变。Hunter 1984 年发现,以后又被许多实验证实^[9], PKC 能使 EGF 受体磷酸化,降低 EGF 与之的亲合力,抑制其 T-PK 活性,从而阻抑 EGF 的功能(见图1)。

正常细胞由于存在上述负反馈调节作用,所以尽管有 PKC 的激活,也不会发生过度增殖。PKC 的这些负反馈调节与其促分化效应是否有关尚不清楚。

PKC 为什么既可以诱导细胞分化又能诱导其增殖呢? 现在的研究提示可能在不同生长状态的细胞所表达的 PKC 亚型及其在细胞内的分布是不同的。

在分化成熟的肌细胞, TPA 与 PKC 亲和力降低,而在分化较低处于增殖状态的成肌细胞二者的亲和力明显增高;且在两类细胞 TPA 刺激 PKC 后所磷酸化的底物蛋白也不相同^[10]。近来发现, PKC 不仅能使 EGF 受体磷酸化而降低其功能,还能诱导 EGF 受体的合成(包括 mRNA 表达和蛋白合成)。进一步研究发现,在 TPA 经 PKC 诱导 U-937 细胞分化过程中,仅 PKC α 型很快被激活,而 c-fos mRNA 和 IL-1 β mRNA 的早期表达均与此有关。因而认为 PKC α 亚型介导了细胞分化的早期改变^[3]。另一方面,将 β 型和 γ 型 PKC 的 cDNA 转染成纤维细胞,可在细胞大量产生 β 和 γ 型 PKC,同时细胞明显增殖^[11,12]。这些结果提示细胞的分化或增殖与被激活的 PKC 亚型不同有关。

被 TPA 诱导分化的 HL-60 细胞表现出细胞粘连,出现丝状伪足并具有吞噬能力等一些与细胞膜有关功能。Girard 等用免疫细胞化学法证实此时 PKC 由胞浆向胞膜转移,表现出向外(outward)移位,推测膜结合 PKC 的增多有利于膜上某些相关蛋白磷酸化,而胞浆某些蛋白发生脱磷酸化,可能诱导细胞分化成熟;但在 TPA 作用后处于增殖状态的 3T3-L₁ 细胞, PKC 主要向内(inward)转移,分布到核周及核内^[13]。PKC 的这种分布对于传递有丝分裂信息到核内可能具有重要作用。已证实, 80kD 的天然 PKC 能被水解酶(可能是 calp-

ain) 分解为 50kD 的催化亚基(即 PKM) 与 30kD 的调节亚基,后者能与 DNA 结合具有调节细胞增殖等功能^[14]。

生理状态下细胞受刺激产生的 DG 半衰期极短。那么, PKC 被激活后如何能产生基因转录及细胞增殖等长期效应呢,近年发现,一种核癌基因 c-jun 编码了转录激活因子 AP-1 主要的 44kD 形式,称 jun/AP-1。该产物能识别特异基因的启动子(promoter),当与 c-fos 产物形成二聚体复合物后,即可与基因结合并激活其转录。当 PKC 被激活后,能使 jun/AP-1 与相应 DNA 结合能力增强 3—4 倍,所结合的基因除了产生生物效应的外,还有 c-jun 基因本身。jun/AP-1 与其自身基因结合后,诱导其转录,产生更多的 jun/AP-1,形成了基因转录的正向自身调节, jun/AP-1 的这种自身调节作用使 jun/AP-1 维持在高水平达数小时,延长了由细胞表面受体和 PKC 激活诱导的短暂信号传递效应,足以使细胞渡过 G₁ 期进入 S 期^[15]。

三、PKC 在细胞生物信息传递过程中的地位

细胞外各种生物信号通过相应受体激活细胞内多种蛋白激酶系统(包括刺激物、受体、第二信使、蛋白激酶、底物蛋白等),使多种底物蛋白磷酸化,产生各种生物效应。目前已知的蛋白激酶系统有 PKC, T-PK, 依赖 cAMP 的 PKA, 依赖 cGMP 的 PKG、依赖 Ca²⁺ 钙调素的蛋白激酶系统等。它们之间并非彼此独立,而是相互密切联系,形成一个调节细胞各种功能的代谢网络,任何一种生理功能,可能都不是由某一个激酶系统参与。如 T 淋巴细胞对抗原刺激的反应过程中,某些抗原可通过 G 蛋白激活 cAMP 依赖性 PKA 系统,产生免疫效应,而某些抗原如 IL-2, CD₃ 抗体等与相应受体结合后则通过 PLC 使 PI 转换激活 PKC 产生免疫效应^[16]。

同样,对细胞生长的调控也绝非仅由 PKC 系统调节。已经发现, PDGF 能刺激耗竭了

PKC 的成骨肉瘤细胞系, 血管平滑肌细胞或 3T3 细胞 c-myc 基因表达并进行有丝分裂^[6]. PDGF、EGF 能通过 Ca^{2+} 激活 Na^+/H^+ 载体, 升高细胞内 $\text{pH}^{[5]}$; EGF 在诱导成纤维细胞有丝分裂时, 既无 PI 转换, 也不激活 PKC, 而与细胞内 Ca^{2+} 增加有关. Rozengurt 曾总结了已知由 PKC 介导的和由 PKA 介导的两类有丝分裂剂的作用特点, 发现只有当两类物质相互协同作用后, 才能引起明显的 DNA 合成和有丝分裂^[9]. 这些证据说明, PKC 可能与 PKA 及 Ca^{2+} 等共同调节着细胞的生长^[2,4,5]. 对不同的刺激原, 不同的细胞或不同的生长状态可能表现出以某种途径为主^[4,3,16]. 有时它们之间还相互制约^[2], 例如 PKA 可以通过抑制 PLC 使 DG 产生减少, 抑制 PKC 的活性; 而 PKC 也可以通过激活抑制性 G 蛋白 (Gi) 使 cAMP 减少, 抑制 PKA 的活性^[16].

不仅如此, PKC 本身也受到细胞内许多因素和途径的调节. 多年来认为 PLC 水解 PIP_2 产生的 DG 是 PKC 的生理激活剂, PKC 又对 PI 转换具有负反馈调节, 从而维持了 PKC 的正常活性^[2]. 但近年发现, 许多情况下 PKC 活性增强并不伴有 PI 转换, 如 IL-3 通过 PKC 使造血细胞增殖, 未出现 PI 转换, 说明存在激活 PKC 的其它途径.

已发现, 除水解 PIP_2 的 PLC 外还存在水解磷脂酰胆碱 (PC) 的 PC 特异性 PLC, 后者使 PC 产生 DG 和磷酸胆碱; 短链 PC 也可直接激活 PKC; 此外, PC 在磷脂酶 A_2 (PLA_2) 作用下的产物溶血卵磷脂 (LPC) 和自由脂肪酸 (FFA) 都能激活或调节 PKC^[14]. 低浓度 LPC 可激活 PKC, 高浓度则抑制 PKC. 由于 PC 是膜上含量最丰富的磷脂, 因此它的代谢可能成为调节 PKC 活性的又一重要途径^[14]. 一些研究还表明细胞内 Ca^{2+} 也对 PKC 表现出低浓度刺激, 高浓度抑制的调节效应.

细胞内最重要的 PKC 抑制物可能是鞘氨醇类 (sphingosine, SS), 它是鞘磷脂酶 (SMLase) 水解膜上鞘磷脂 (SML) 的产物. 其作用在于竞争性抑制 DG 或佛波酯类对 PKC 的激活^[17].

有意义的是, DG 产生后, 既能激活 PKC, 又能激活 SMLase, 使 SS 产生增多, 抑制 PKC 活性^[17] (见图 2).

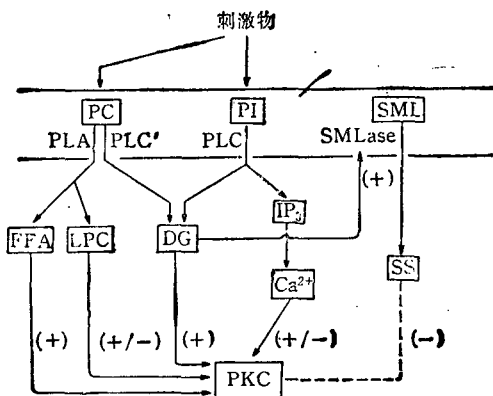


图 2 细胞内对 PKC 的调节系统

(+): 表示刺激

(+/-): 表示低浓度刺激, 高浓度抑制

(-): 表示抑制

这些因素使 PKC 在正常时受到精确的调控. 可以设想, PKC 的这些制约因素与调节 PKA, Ca^{2+} 等的因素构成一个信息控制网络, 严密控制着细胞的生长. 一旦网络被打破, 细胞将出现生长异常甚至恶变.

四、PKC 与肿瘤发生发展的关系

正常细胞转变为具侵袭力的癌细胞, 一般认为需经过始动 (initiation)、促进 (promotion) 和进展 (progression) 三个阶段^[18].

在体外培养的上皮细胞, TPA 能诱导其终端分化 (terminal differentiation), 普通剂量的致癌剂可以使细胞选择性地抵抗这种分化作用, 并使基底层以上的细胞具有合成 DNA 的能力, 成为始动细胞 (initiated cells). 这时 TPA 不再表现促分化作用, 而是诱导上皮细胞增殖, 即刺激 DNA、RNA 和蛋白质合成, 增强磷脂和多胺代谢^[19]; 在 3T3 细胞, 促癌佛波酯 PMA 也表现出同样效应. 也就是说, 在始动前, TPA 能诱导细胞分化, 而对于始动细胞, TPA 却表现出促进细胞增殖的作用. Hennings 等人认为, 正常细胞与始动细胞对 TPA 的这种不同反应可能是细胞癌变的普遍现象, 是致癌过程的需要^[19].

这种现象的产生可能是由于正常细胞对 PKC 的负反馈调节具有正常反应能力,增殖能及时终止;而在始动细胞,致癌剂使细胞某些功能发生了改变,干扰了其负反馈机制的正常反应能力,故使 PKC 主要表现促增殖效应^[18]。由此看来,细胞恶性转化需有致癌剂与 PKC 的共同作用。

用表达 PKC γ 和 β 亚型的 cDNA 转染的小鼠成纤维细胞和大鼠成纤维细胞及肝上皮细胞能过度表达相应 PKC 亚型,细胞改变了原来的表型,生长速度增快,饱和密度增大^[11,12],细胞融合生长后形成致密集落(densi foci),表达 γ 亚型的小鼠成纤维细胞还表现出停泊非依赖性生长(anchorage independent growth)^[11],裸鼠体内成瘤性增加^[11]。这些改变在 PKC 表达越多或接触 TPA 的细胞株更为明显^[11,12]。由于这些细胞中 c-myc 基因表达明显增强,且上述改变又与 c-myc 转染的细胞改变极为相似,推测 PKC 的作用是通过激活 c-myc 基因所实现的。值得注意的是,这些过度表达 PKC 的细胞并未表现出恶性转化的典型特征,说明仅是 PKC 过度表达还不足以使细胞恶变^[11,12]。

但是,这类细胞却很容易被活化的膀胱癌细胞的 C-H-ras 基因转化,细胞克隆比无 PKC 过度表达的转化细胞大 10 倍,且表现出明显恶性转化的形态特征,裸鼠体内成瘤性很高^[12],说明 PKC 也能促进癌基因的诱癌过程。

这些结果较直接地证实了 PKC 在控制细胞生长发育和转化过程中的作用。PKC 的过度表达加速了致癌过程,因而在功能上起到了肿瘤促进作用^[11,12]。但是某些癌基因(如 V-H-ras)不需外来促进因子,本身就可使细胞恶性转化,提示其具有始动因子与促进因子两方面作用。V-H-ras 转化的成纤维细胞,PI 转换增加, DG 增多,并导致 PKC 转位和激活^[20], ras 基因产物 P_{21}^{ras} 能激活一般认为由 PKC 激活的咪唑啉敏感的 Na^+/H^+ 载体,刺激 DNA 合成,该作用在耗竭 PKC 后受抑制,又能通过微注射 PKC 而恢复^[20]。TPA 能大大加强 V-H-ras 对这些细胞转化的早期过程,

而 PKC 抑制剂三苯氧胺能抑制这种转化^[21],说明 PKC 的激活是 ras 转化细胞必不可少的环节之一。此外, V-sis, V-fms, V-fes, V-fps, V-src, V-abl 等癌基因转化细胞也有 PKC 参与其作用的证据^[20]。已发现,被 ras、src、sis 和 abl 癌基因转化细胞中 DG 能持续高水平产生,从而使 PKC 持续激活。

根据上述可以推测,细胞恶性转化需要始动因子和促进因子两方面信号,如果某些物质能同时产生两种信号,就可能单独诱导细胞转化。其中的促进作用可能由 PKC 介导。

PKC 促癌作用的机制,除与前述 c-myc 表达增多有关外,还可能与 C-jun 产物活性增强有关。现认为,持续激活的 PKC 在功能上起到了能使细胞恶性转化的 V-jun 癌基因的作用,它能使 c-jun 基因产物 jun/AP-1 持续活化。正常时 jun/AP-1 激活基因转录作用需与 C-fos 蛋白形成异源二聚体。由于 c-fos 产物对自身基因的调节为一负反馈调节,使 c-fos 转录活性逐渐减弱^[12];而 jun/AP-1 蛋白对其自身基因具正反馈调节效应,加之 PKC 对其持续活化,使 jun/AP-1 产生增多,活性增强,从而形成异常的同源二聚体,致使对细胞生长的基因控制失调,从而促进肿瘤产生^[22]。

然而,由于观察到长期接触大剂量 TPA 的细胞 PKC 活性降低甚至消失即“PKC 的衰减调节(down regulation)”,因此 Nishiruka 认为 TPA 在始动细胞的促增殖效应是由于其耗竭 PKC,使 PKC 的负反馈作用(特别是对 EGF 受体)减弱,通过 EGF 等作用导致细胞增殖^[2]。实验发现,人结肠癌细胞 PKC 含量较其相邻的正常结肠粘膜明显降低。

在肿瘤细胞的进展阶段,也发现有 PKC 参与的证据,主要与肿瘤细胞的生长和转移有关。

浸润或转移是恶性肿瘤最基本的特征之一,其机制并不清楚。据认为受促进转移和抑制转移的基因调节,还受转移趋化因子(meta-stasis chemotactic factors)等多种因子的作用。

研究发现,活化的 ras 基因就是促进基因,

其机制仍与 P_{42}^{ras} 激活 PI 转换,继而激活 PKC 有关,未转移的乳腺癌细胞 PKC 水平低于转移细胞,应用 PKC 激活剂 PMA,能诱导细胞的转移表型^[23]。

肿瘤转移趋化因子可以来自瘤细胞自身分泌即自泌性移动因子 (autocrine motility factor),或来自周围组织。它们通过肿瘤细胞相应受体使细胞发生迁移 (migration),促进其浸润与转移,而 PKC 可以提高这类受体对趋化因子的亲和力^[24]。

此外,PKC 能降解肿瘤坏死因子受体,使该受体所介导的细胞杀伤作用减弱,提示 PKC 可促进肿瘤细胞生长^[25]。一些抗癌剂如三苯氧胺和黄尿酸盐等已被证实是特异性 PKC 抑制剂^[21],从另一角度证实了 PKC 在促进肿瘤生长中的作用。因而近来提出 PKC 抑制剂可能会是有效的抗癌剂。

综上所述,PKC 在许多环节上参与了细胞分化与增殖以及恶性转变的调控,但距彻底阐明这些作用相差甚远。由于 PKC 的调节作用广泛存在着双向性,细胞内对 PKC 活性的调节的多样性,以及生物信息传递过程的复杂性,使得深入研究 PKC 的作用机制难度较大。但是,进一步探讨这些机制无疑对于阐明肿瘤发生发展机理具有重大意义。

本文承赵明伦教授审校,在此致谢。

参 考 文 献

- 1 Housey G M *et al.* *Cell*, 1988; 52(3): 343
- 2 Nishizuka Y *Cancer*, 1989; 63(10): 1892
- 3 Strulovici B *et al.* *Biochemistry*, 1989; 28(8): 3569
- 4 Whitfield J F *et al.* *Cancer Metastasis Rev*, 1987; 5(3): 205
- 5 Rozengurt E. *Science*, 1986; 234(4773): 161.
- 6 Frick K K *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263(6): 2948
- 7 Susa M *et al.* *Cell*, 1989; 57(5): 817
- 8 Schroder H C *et al.* *Biochem J*, 1988; 252(3): 777.
- 9 Kaji H *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263(27): 13588
- 10 Martelly I *et al.* *Exp Cell Res*, 1989; 183: 92
- 11 Persons D A *et al.* *Cell*, 1988; 52(3): 447
- 12 Hsiao W L W *et al.* *Mol Cell Biol*, 1989; 9(6): 2641
- 13 Girard P R *et al.* *Cancer Res*, 1987; 47(11): 2892
- 14 Blackshear P J *et al.* *FASEB J*, 1988; 2(14): 2957
- 15 Angel P *et al.* *Cell*, 1988; 55(5): 875
- 16 Kammer G M *et al.* *Immunol Today*, 1988; 9(7-8): 222
- 17 Kolesnick R N *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263(14): 6534
- 18 Liss A R. 生物科学动态, 1989; 6: 18
- 19 Hennings H *et al.* *J Invest Dermatol*, 1987; 88: 60
- 20 Lacal J C *et al.* *Nature*, 1987; 330(6145): 269
- 21 Lopez C A *et al.* *Cancer Res*, 1989; 49(4): 895
- 22 Halazonetis T D *et al.* *Cell*, 1988; 55(5): 917
- 23 Korczak B *et al.* *Cancer Res*, 1989; 49(10): 2597
- 24 Blood C H *et al.* *J Biol Chem*, 1989; 264(18): 10614
- 25 Johnson S E *et al.* *J Biol Chem*, 1988; 263(12): 5686

[本文于1990年4月23日收到,9月3日修回]

(上接第 268 页)

databases and extended analysis system for nucleic acids and proteins (users manual). Natn Cancer Institute, Frederick, Maryland, 1987

- 17 Lipman D J, Pearson W R. *Science*, 1985; 227: 1435
- 18 Feng D F, Doolittle R F. *J Mol Evol*, 1987; 25: 351
- 19 Murata M *et al.* *Proc Natn Acad Sci USA*, 1985; 82: 3073
- 20 Johnson M S, Doolittle R F. *J Mol Evol*, 1986; 23:

267

- 21 Lipman D J *et al.* *Proc Natn Acad Sci USA*, 1989; 86: 4412
- 22 Lewitter F I, Rindone W P. *Methods Enzymol*, 1987; 155: 582

[本文于1990年5月14日收到,7月13日修回]