

- 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^[1,2]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^[3]。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^[4],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^[5]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 α 和 β 两大类型。其中, α -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

表 3 一些毒酶的氨基酸顺序

1.	Bot	I'	-GRDAYIAQPE-NCVYECAR...
	Bot	I''	-VRDAYIAQNY-NCVITCFK---NEYCNDLCXXN-G...
	Bot	I	-GRDAYIAQPE-NCVYECAR---NSYCNDLCTKN-GATSG-YCQWLKGYGNACWC-KDLP-DNVPIPIPKG---CHP
	Bot	II	-GRDAYIAQPE-NCVYECAR---NSYCNDLCTKN-GATSG-YCQWLGRWGNACYC-IDLP-DKVPRIEGK---GSH
	Bot	VIII	-VRDAYIAQNY-NCVITCFK---NDYCNIDICTKN-GAXXY-YC...
	Bop	I	-GRGVYADIA-NCAY...
	Bop	II	-GRDAYIADDX-NCAYXCAL---XXYCN...
	Bom	I	-GRDGYIAQPE-NCVYHCFFP-GSHGCDLCKEK-GATSG-XCGFLPGXXVA...
	Bom	IV	-GRDAYIAQPE-NCVYECAR---NSYCNDLCTKX-GATSG-YCXW...
	Bom	VI	-VRDAYIAQ-PDNCVYHCAK---DNYCNDLCT...
	Bom	PI	-GRDAYIAQPE-NCVYECAR---SSYCNXLC...
	Lqq	III	-VRDAYIAKNY-NCVYECFR---NSYCNDLG...
2.	AaH	I	-KRDGYIVYPN-NCVYHCVP---CDGLCKKN-GSSGSSC-FLVPSGLACWC-KDLP-DNVPIKDTSRK---CT-
	AaH	I'	-KRDGYIVYPN-NCVYHCIPP---CDGLCKKN-GSSGSSC-FLVPSGLACWC-KDLP-DNVPIKDTSRK---CT-
	AaH	I''	-KRDGYIVYPN-NCVYHCVP---CDGLCKKN-GSSGSSC-FLVPSGLACWC-KDLP-DNVPIKDTSRK---CT R
	AaH	III	-VRDGYIVNSK-NCVYHCVP---CDGLCKKN-GAKSGS-CGFLPSGLACWC-VALP-DNVPIKDPSYK---CHS
	Amm	III	-GRDGYIVDTK-NCVYHCYP---CDGLCK...
	Ts		-KKDGYFVGVD-NCAYICWNY-DNAYCDLKCKD...
3.	AaH	II	-KDGIVYDDV-NCTYFCGR---NAYCNEECTKL-KGESG-YCQWASPYGNACWCYK-LP-DHVRITKGPGR---CH-
	Am	II	-LKDGVIEDI-NCVFFCGR---NAYCDXXC...
	Amm	V	-LKDGVIUDDL-NCTFFCGR---NAYCDDECKK-KGESG-YCQWASPYGNACWCYK-LP-DRVSIKEKGR---CN-
	Bot	III	-VKDGYVDDR-NCTYFCGR---NAYCNEECVKL-KGE...
	Bot	XI	-LKDGIVDDR-NCTYFCGT---NAYCNEECVKL-KGE...
	Lqq	V	-LKDGIVDDK-NCTFFCGR---NAYCNEECKK-KGESG-YCQWASPYGNACWCYK-LP-DRVSIKEKGR---CN-
4.	CsE	I	--KDGYLVEK-TGCKKTCYKLGENDFCNRECKWKHIGSGYCYGF-----GCYC-EGLPDSTQI'WPLPNK---CT-
	CsE	V1	--KEGYLVKKS DGCKYDCFWLGKNEHNTCEKAKNQGSYGICYAF-----ACWC-EGLPESTPI'YPLPNK---CSS
	CsE	V2	--KEGYLVNKGSTGCKYGCGLKGENEGNCEKAKNQGSYGICYAF-----ACWC-EGLPESTPI'YPLPNK---CSS
	CsE	V3	--KEGYLVKKS DGCKYGCGLKGENEGNCEKAKNQGSYGICYAF-----ACWC-EGLPESTPI'YPLPNK---CSS
	Cs	I	--KEGYLVSKSTGCKYECLKLGNDYCL...
	Cs	II	--KEGYLVSKSTGCKYECLKLGNDYCLRECKQYQKSSGGYCYAF-----ACWC-THLYEQAVVWPLPNKT---CN-
	Cs	III	--KEGYLVSKSTGCKYECLKLGNDYCLRECKQYQKSSGGYCYAF-----ACWC-EALPDHI'OVW-VPNK---CT-
	Cn	II9	--KEGYLVDKNTGCKYECLKLGNDYCLRECK...
5.	TsL	r	--KEGYI-DH-EGCKLSCFRP-SGYCGRECEI...
6.	Amm	VI	DARDGYIVQPH-NCVYHCGK---NPYC...
	Lqq	IV	GVRDGYIADDK-NCVYTCGS---NSYCNECTCKBA...
	Bc	M10	-VKDCYIDL---DCAYFCGC---AYCDECKKGAES...
7.	Amm	P2	CGPCFTTDPYTESKCATCCGGRGKCVGPQCLNRI
	AaH	II1	KKNGYAVDSSGKAPECLLSNYCINNQCTKVHYADKGYCCLLSYCFGLNDDKKVLEISDTRFSCYDITIN

10 20 30 40 50 60 70

氨基酸缩写: A, Ala; G, Gly; V, Val; L, Leu; I, Ile; M, Met; F, Phe; P, Pro; S, Ser; T, Thr; C, Cys; N, Asn; Q, Gln; Y, Tyr; w, Trp; D, Asp; E, Glu; H, His; K, Lys; R, Arg

表1 一些蝎毒素的

属 种 亚 种	<i>Androctonus</i> <i>australis</i>			<i>Buthus</i> <i>occitanus</i>			<i>Centruroides sculpturatus</i>								<i>Leiurus</i> <i>quinquestriatus</i> <i>quinquestriatus</i>				
来 源	阿尔及利亚			苏 丹			美 国								苏 丹				
命名 氨基酸	I	II	III	I	II	III	I	II	III	IV	I	2	3	I	I	II	III	IV	V
Lys	6	5	6	4	5	5	9	10	8	9	8	8	8	8	4	4	4	6	8
His	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	3	1	1	0	0
Arg	2	3	1	2	3	4	2	1	2	2	0	0	0	1	1	2	3	3	3
Asp	9	8	8	9	9	9	7	5	7	7	6	5	5	6	10	10	9	9	10
Thr	3	3	0	2	1	3	5	5	4	1	3	3	3	5	1	2	1	3	1
Ser	6	2	6	2	2	2	2	6	2	4	4	5	4	2	2	4	3	3	3
Glu	0	4	0	5	5	5	6	5	8	9	6	7	7	5	2	2	2	3	4
Pro	6	3	6	4	3	3	4	3	3	2	4	4	4	3	3	4	2	3	2
Gly	6	7	6	6-5	6	7	10	9	9	9	7	9	9	9	8	5	5	7	7
Ala	1	3	3	4-5	5	3	0	0	3	4	3	3	3	0	4	2	5-6	4	3
Val	5	4	6	2	2	4	1	1	3	3	1	1	1	1	5	3	3-4	3	2
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ile	2	1	3	3	4	1	1	1	0	0	0	0	0	1	4	1	2	4	2
Leu	4	2	4	3	3	1	5	3	6	8	4	5	5	4	3	2-3	2	3	2
Tyr	3	7	3	4	5	7	6	4	8	7	6	6	6	6	3	5	6	5	6
Phe	1	1	1	1	1	1	2	4	3	1	2	1	1	2	1	0-1	1	0	2
½Cys	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Trp	1	1	1	2	2	1	2	2	3	3	2	1	1	2	2	1	2	2	2
总 数	63	64	64	62	65	64	70	64	78	78	65-65		64		64	57	60	66	65

C.=*Centruroides*, li.=limpidus, te.=tecmanus, T.=Tityus, se.=serrulatus, su.=suffusus,II₁ = II-9.3 III₁ = III-4.6 IV₁ = IV-2.3 ND = 未确定

合力要依赖于膜电位,膜越被去极化,亲和力越低,而 β 型 MaTx 与鼠脑胞突体受体部位的结合不依赖膜电位。Courand 等人在 1981 年欧洲动植物微生物毒素会上进一步说明, α -MaTx 能与仅发育 12 天的鼠胚胎的神经细胞表面或培养中的未发育成熟的鼠神经细胞的受体部位结合。这种亲合力要依赖于膜电位。 β -MaTx 能结合在成熟鼠脑胞突体的特异位点,不依赖膜电位。与 α -MaTx 相比, β -MaTx 与受体位点结合开始的较晚。 α -MaTx 作用是使神经肌肉和心细胞的钠通道钝化延长。而 β -MaTx 专一诱导蛙有髓神经的异常钠电流。他们还证实: α 和 β 蝎毒素都作用于电位敏感的钠通道,但却以不同的方式,在一些未发育成熟系统中,只有 α -MaTx 的结合位点,而没有 β -蝎毒

素的结合部位。通常说来,古老世界蝎毒素为 α 型(如 AaH, *Buthus* 或 *Leiurus* 属;均为 *Buthinae* 亚科),新世界蝎毒素为 β 型,即 *Isometrinac*, *Centruirinac* 和 *Tityinac* 亚科^[6]。

2. 昆虫毒素 (IsTx)

已纯化的蝎昆虫毒素大约有二十多种。它们是等电点大于 pH8 的一类碱性多肽。IsTx 分为长链和短链毒素,前者一般为 60—70 个氨基酸,分子量 6000—8000, 3—4 个二硫桥,其中 2—3 个与 MaTx 二硫桥位置基本一致,不同的那个二硫桥可能为蛋白质的构象带来很大的变化。后者为 20—40 个氨基酸,分子量 3000—4000, 两个二硫桥,也有的为四个(表 2)。二者 C 端全为自由羧基,这不同于动物毒素。

从 *Buthorus judaicus* 毒中分离出来的昆虫

氨基酸组成

C. li. cc.	C. noxius	Centruroides elegans			T. se.	C. su. su.	Buthus martensii		Buthus eupeus												
墨 西 哥					巴 西		中 国		苏 联												
II ₁	III ₁	IV ₂	III ₃	III ₄	r	II	I	III	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	M ₈	M ₁₀	M ₁₁	M ₁₂	M ₁₃	
6	5	2	6	4	7	7	7	7	5	5	8	5	9	5	3	5	8	3	6	7	
2	1	1	2	2	1	1	1	1	2	3	0	4	2	2	2	2	0	2	0	0	
2	2	1	2	2	3	1	3	4	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	
5	5	4	5	5	4	5	11	8	11	10	9	10	11	9	13	10	9	8	9	10	
3	2	2	3	2	1	3	1	3	2	2	1	2	2	2	2	1	0	1	0	0	
2	5	9	2	5	4	4	3	6	4	3	3	3	3	3	4	3	2	1	2	1	
7	8	8	8	5	3	7	4	7	6	4	5	6	4	2	4	3	5	5	5	4	
2	1	1	2	1	3	2	3	0	6	3	4	5	6	3	4	5	2	3	3	3	
8	8	11	8	6	8	6	12	8	6	5	6	6	8	6	9	7	7	5	9	8	
3	4	4	3	4	3	3	5	6	7	4	5	5	6	4	6	6	6	8	7	7	
3	2	2	3	2	2	3	5	4	2	0	3	2	2	3	1	1	3	2	4	3	
0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1	1	1	0	1	2	0	3	3	4	2	2	3	4	4	2	2	2	4	3	2	
4	4	2	4—5	3	3	6	2	2	3	2	1	2	2	3	2	2	1	3	1	1	
6	5	3	6	5	5	7	3	3	4	3	6	4	5	4	4	4	6	4	4	5	
2	1	1	2	1	1	1	2	1	0	0	1	1	0	2	2	0	1	0	1	1	
8	5—6	ND	ND	4—5	8	8	6	6	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
1	1	1	ND	1	3	2			3	3	4	2	4	2	5	3	3	2	2	3	
65	61	ND	ND	53—54	62	66	72	70	75	60	68	70	78	64	73	64	65	61	67	65	

毒素 IT-I 由 67 个氨基酸组成, 包括 3 个二硫桥, 分子量 7,532, 等电点为 pH8.2, IT-II 由 69 个氨基酸组成, 3 个二硫桥, 分子量 7,894, pH = 8.3。二者氨基酸组成不同, 作用方式也不同, 前者引起幼虫的收缩麻痹, 对蟋蟀有一个降低兴奋作用, 后者引起幼虫松弛性麻痹, 对蟋蟀有一个慢过程的麻痹致死作用^[7]。以色列的 Lazarovici 从 *Scorpio maurus palmatus* 毒中分离出来若干种昆虫毒素, 研究后指出: (1) 粗毒对昆虫的毒性是由三类不同的物质, 即细胞毒、磷脂酶和昆虫神经毒素的作用, 其中最后一种起决定性作用, (2) 昆虫神经毒组份具有两种因子, 快速可逆麻痹 (IP) 和缓慢致死作用因子, (3) 慢致死因子由两种毒素组成 (IT₁ 和 IT₂), 其纯度也可用层析、电泳和等电聚焦分

析, (4) IT₁ 和 IT₂ 是两个有独特氨基酸组成的多肽链, 分子量分别为 3,232 和 3,963 pI8.8 和 9.4, 分别含 2 个和 3 个二硫桥, (5) 快速麻痹 (IP) 因子与致死因子 IT 间有一个明显的协同作用^[8]。

3. 蝎毒素的一级结构和高级结构

各种蝎毒素的一级结构有相同, 也有许多不同之处。1977 年墨西哥 Possani 把已知 N-末端氨基酸顺序的蝎毒素, 按各个毒素的氨基酸顺序排列上同一性程度的大小, 经数理统计分成五类。彼此相邻类型同一性程度较大^[4]。后来, 法国 Rochat 和 Delori 按蝎毒素的整体氨基酸顺序的一致性和与抗血清的交叉反应性将它们分成七组。毒素中除通常所知的有四个二硫桥, 无甲硫氨酸之外, 一般含 1 个 His, Trp,

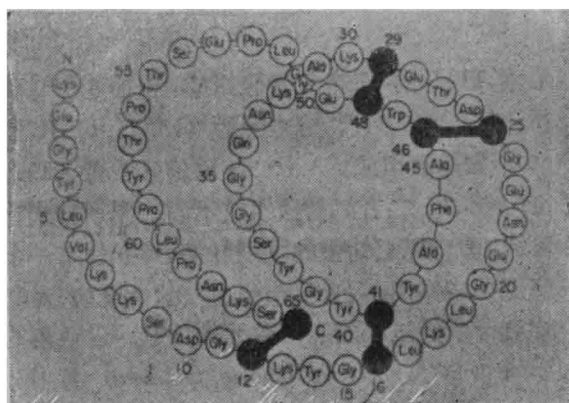
表2 一些蝎昆虫毒素的氨基酸组成

属种名	<i>Buthotus judaicus</i>		<i>A. australis</i>	<i>A. mauretanicus</i>	<i>A. m.m.</i>	<i>Buthus eupeus</i>					
氨基酸	编号	IT-I	IT-II			P ₂	I ₁	I ₂	I ₃	I ₄	I ₅
Asp		8	7	11	11	2	2	11	3	5	5
Thr		3	4	4	3	4	2	2	3	2	2
Ser		3	4	6	5	1	0	6	0	0	0
Glu		4	4	3	3	2	3	1	2	1	1
Pro		4	0	1	1	3	3	2	1	2	3
Gly		7	10	4	4	5	4	7	5	4	4
Ala		4	4	3	3	1	2	2	1	1	1
·1/2Cys		6	6	8	8	8	8	8	8	8	8
Val		3	4	3	4	1	0	1	0	0	0
Met		0	0	0	1	0	3	0	2	3	3
Ile		4	3	2—3	3	1	0	3	0	0	0
Leu		2	2	5—6	4	1	1	3	1	1	1
Tyr		5	3	5	6	1	1	4	1	0	0
Phe		1	2	1	1	1	2	1	2	2	2
Lys		8	5	7	7	2	2	8	1	3	3
His		1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Arg		1	2	1	1	2	3	0	5	2	2
Trp		3	8	1	1	0	0	3	0	0	0
总合		67	69	67	67	32	36	62	36	35	35
M. W.		7,532	7,894	7,498	8,129	4,367	4,644	7,643	4,713	4,492	4,452
E % _{cm}		28	58.6	15.5	15.6						

A. = *Androctonus*, *m.m.* = *mauretanicus mauretanicus*

Phe, 少数含 2—3 个; Arg, Ile, Thr, Ala, Val 较少; Asp, Lys, Gly 较多。这几组蝎毒素中,除第七组是昆虫毒素外,均为哺乳动物毒素。哺乳动物毒素中,第四组来自 *Centruroide* 属。其余都是来自 *Buthinae* 亚科中的 *Leiurus*, *Androctonus* 或 *Buthus* 属(表 3)^[9,10]。

最近,美国亚拉巴马州伯明罕大学的一个小组已用 X 射线——晶体衍射法,以 1.8 Å 的分辨率分析了亚利桑那州美国蝎 *C. s. E* 毒中一种 β 哺乳动物毒素的高级精细结构。图 1 为该毒素分子的氨基酸顺序。图 2 说明了它的多肽链的卷曲折叠。晶体结构分析表明,该分子中有两圈半 α -螺旋,包括残基 23—32,有一个反平行的由三段小肽构成的 β 折迭结构。包括残基 1—4, 37—41, 46—50, 以及四个 β 转角。包括残基 8—11, 18—21, 32—35 和 42—45。四个二硫桥中有三个与 α -螺旋和 β 折叠结构密

图1 Cse β -MaTx 的氨基酸顺序

切相关。由表 3 可知,将 38 个蝎毒素分子按直线排列氨基酸顺序,并以 Cys 为标准,使顺序得到最大的一致性时。可发现有许多同一的氨基酸序列片断。作者认为 Cse 毒素分子中有三个保守氨基酸区域。如 1—6 残基,在绝大多

数情况中, 这个片断的顺序为 Lys/Arg, Asp/Glu, Gly/Ala, Tyr, Ile/Leu, Val/Ala。第二个保守区域为 45—48 残基, 即 Ala, Cys, Try/Tyr。Cys。第三个保守区域是 51—53 残基, 顺序为 Leu, Pro, Asp/Glu。图 3A 显示了该分子的空间结构, 光亮部分为保守区域 1—4 和 52—53 (CsE), 它形成一个延伸整个分子宽度的表面区域。而保守的 5, 6, 45 和 51 位氨基酸残基则被埋在分子内部。他们指出, 与 52 号 Pro 在一起的那些氨基酸残基可能对维持蝎毒素分子三维结构起着重要的作用。图 3B 是该模型旋转 180° 后的照片。

令人注意的是该分子中还有一个疏水残基的分布。在图 4 中, 所有疏水氨基酸 (Try, Tyr Phe, Ile, Leu, Val, Pro, Ala, Thr) 都以明亮

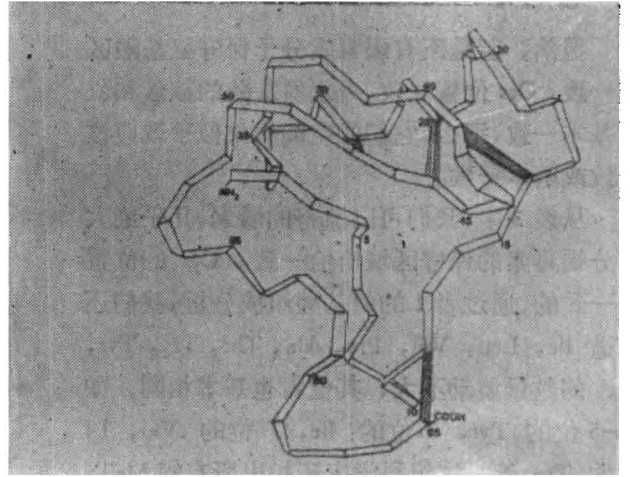


图 2 CsE β -MaTx 的多肽卷曲折叠

部分表示。这些氨基酸残基绝大部分被发现在具有保守氨基酸的同一面, 不同的是, 它们形成一个跨越整个分子长度的曲面, 称为疏水表

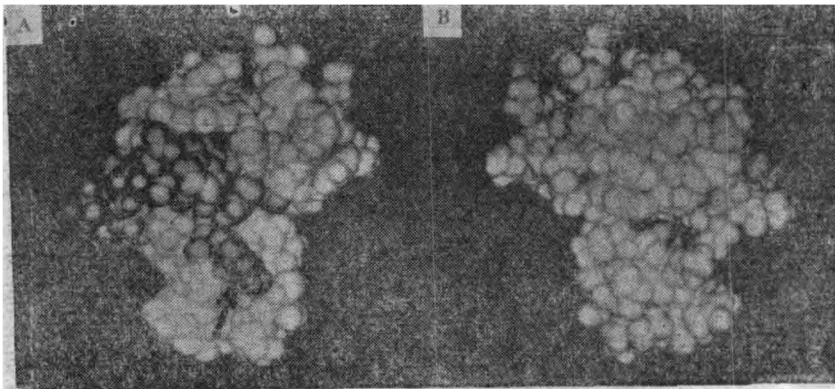


图 3 CsE β -MaTx 的空间结构照片

(A) 中箭头指的光亮部分为保守区域氨基酸残基它们延伸整个分子的宽度 (B) 旋转 180° 后的模型

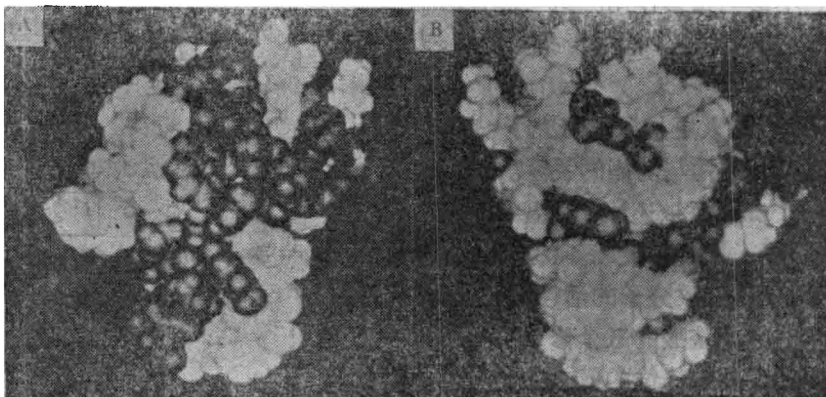


图 4 CsE β -MaTx 的空间结构照片

(A) 中箭头所指光亮部分为被保护的疏水表面, 它跨越整个分子长度, (B) 旋转 180° 后的模型

面。

显然,若是所有蝎毒素分子保守氨基酸区域一致, Cys 位置一致,疏水氨基酸的数量和位置基本一致,那么,它们的空间构象似乎就应该一致或基本一致。

从表 3 中,我们可以惊奇的看到,几乎绝大部分蝎毒素的保守区域恰恰一致。Cys 的位置是一致的,通过表 1 的氨基酸组成分析,我们还知道 Ile, Leu, Val, Pro, Ala, Thr, Try, Tyr, Phe 的数量波动不大,其位置也基本相同,如 4—5 位的 Tyr, 6 位的 Ile, 7 位的 Val, 14 位的 Tyr 等。这组科学家还指出所有蝎 MaTx 38 或 39 位 Gly 的重要性。由于这个 Gly 是将 Cys 25, Cys 46 和 Cys 29, Cys 48 两个二硫桥隐蔽起来的 β 折叠的一部分;若 39 位是较大的氨基酸就很可能破坏这个核心区域的整个构象。那么,如上所述,似乎所有或大部分蝎毒素共享着一个基本的三级结构。这些学者还进一步对 AaH 的 α -MaTx 和 CsE 的 β -MaTx 做了二级结构预测,结果确实证实了这种想法^[11]。Rochat 等人对属于 α -MaTx 的 AaH 进行了分辨率为 1.5 Å 的 X-射线衍射分析,但尚未见到详细报道^[12]。

4. 结构与功能的关系

和酶一样，毒素中某些氨基酸对其毒力起着绝对作用^[4]。Rochat 等人将 AaH 的毒素 I 中 5, 8, 14 位酪氨酸全部碘化，第八位 Tyr 含有 51% 的结合碘，但却不影响毒素分子的毒力，说明 8-Tyr 不参与毒素作用。这可能是由于这个残基离 N-末端较近，而处于暴露位置，又远离疏水表面的原因。

后来, Rochat 等人更加深入研究了 AaH 的神经毒 I, II, III 结构与功能的关系。他们发现毒素 II 的一个二硫桥被还原和甲基化就能丧失毒性。这个毒素唯一的色氨酸(38 位)并不参与毒的作用,即不在该分子的活性部位上。将该分子中七个酸性氨基酸的五个修饰之后,毒力被抑制。他们发现被修饰的氨基酸中有两个恰处于保守的表面区域。另外,当 AaH II 乙酰化后,整个分子的五个 Lys, 七个 Tyr 均被

4.5 五类运动单元结构特点

类别	1	5	10	15	20	25												
1. G	R	A	Y	I	A	Q	X	-	X	N	C	V	Y	C	V	D	L	C
2. K	R	D	G	Y	I	V	Y	P	-	N	C	V	Y	C	D	G	L	C
3. L	K	D	G	Y	I	V	Y	D	D	-	X	N	C	V	N	E	E	C
4. -	K	E	G	Y	L	V	Y	X	K	S	T	G	C	V	X	X	E	C
5. -	K	E	G	Y	L	D	H	-	E	G	C	V	S	C	G	R	E	C

氨基酸缩写: A, Ala; G, Gly; V, Val; L, Leu; I, Ile; M, Met; F, Phe; S, Ser; T, Thr; C, Cys; N, Asn; Q, Gln; Y, Tyr; W, Trp; D, Asp; E, Glu; H, His; K, Lys; R, Arg

酰化,此时毒性和抗原性丧失。尔后,他们又用羟胺处理酰化的毒素 II,只使 Lys 的 ϵ -NH₂, N 末端酰化,这时免疫扩散沉淀反应显示该毒素的抗原性恢复,但仍无毒性,故毒素 II 的抗原部位至少有一个 Tyr。用碘乙酸烷化毒素 I、II 时,分子中 Lys 和 His 同时烷化,结果抑制了毒性。他们又降低了碘乙酸浓度,仅使毒素 I、II 中 Lys 烷基化,也导致毒性丧失^[13]。后来, Rochat 等人专一的烷化单个 Lys 残基,使毒素分子完全失活,从而证实了 Lys 残基与毒素的毒性有着密切的关系。而这个 Lys 位置正与后来三维结构分析的 CsE β -MaTx 的 Tyr-58 相对应,后者恰恰直接邻近前述的保守区域表面(见图 3 CsE β -MaTx 空间结构照片的箭头处)^[14]。(CsE β -MaTx 即为表 3 中 CsE V₃)。

这些化学修饰实验证明了毒素中某些氨基酸的重要作用。一般说来, Cys 和保守区域对毒素活性影响较大(表 4)。

二、其它蛋白质的研究进展

除了前文^[1]提及的蝎毒中的一些酶之外,最近, Chhatwal 等人还从印度红蝎 (*Buthus tamulus*) 毒中分离纯化出蛋白酶抑制剂。它是分子量为 8,500, 由 77 个氨基酸组成的单一多肽链,专一地抑制胃蛋白酶和激肽释放酶,对胰蛋白酶,血纤维蛋白溶酶和凝血酶几无作用。显然,它的存在对于保护毒素和某些酶的活性方面具有独特的生物学功能。

这种蝎毒中还含有一种组胺释放因子,分子量为 3,500 的多肽,这是迄今为止,除昆虫毒素外,从蝎毒中分离出来的最小的具有生物学活性的多肽,仅由 33 个氨基酸组成^[14]。

三、我国的蝎毒研究及临床应用

据报道,分布在我国蝎共有十五种^[15],数量最多的是东亚钳蝎 (*Buthus martensii* Karsch, 1879), 主要分布于河南,山东、河北、辽宁、台湾,该蝎也分布于朝鲜^[16]。

1917 年,日本学者岩野俊治第一次对我国东北的东亚钳蝎进行了初步的化学研究。他用

酶解法和茚三酮反应说明,以生理盐水从蝎尾节中提取的有毒组份是蛋白质或短肽,并检出了胆甾醇,棕榈酸,硬脂酸和铵盐等^[17]。

两年后,久田保晴光再次证实提取物的活性组份大部分能溶于盐溶液,不溶于无水乙醇和醚,并报告说蝎毒液热稳定性较好(100℃, 30 分钟内)。他还将中国蝎毒与埃及蝎毒的毒性加以比较,说明了二者引起的动物中毒症状几乎相同^[18]。

1949 年,日本的加来天民从该蝎毒中还检出了三甲胺,甜菜碱,牛磺酸,甘油酯,而且得到了蝎粗毒结晶的盐酸盐,定名为 Bothotoxin。他和他的同事将这种盐酸盐试验于蛙心及家兔,发现(1)可使家兔血压暂时下降,(2)当离体蛙心的机能减弱或障碍时,对蝎毒盐酸盐的感受性显著增强,(3)刺激交感神经,并报道了该毒对兔,南京鼠,蛙的最小致死量^[19]。

1954 年,加来天民又报道东亚钳蝎的元素组成为 C 45.5%, H, 5.83%, N 15.21%, S, 28.8—29.2%。

1956 年,我国学者李仲璆用蝎毒盐酸盐对青蛙,南京鼠,家兔试验,结果与加来等人一致^[20]。

1981 年,我国第四次生化会上,上海生理所吉永华等人曾报告过河南马氏钳蝎的柱层析分离及对骨骼肌的影响。同年,我们对辽宁产东亚钳蝎的电刺激取毒方法以及毒素的生物化学性质进行了研究,证实了电刺激取出的毒液量要高于人工刺激的量;电刺激分泌的毒具有一个颜色变化过程。值得注意的是,只有当电刺激频率为 128 Hz (8V) 时,取出的毒量最高。其干毒产量为 0.34mg/次,这在已知产毒量的蝎中处第七位。电刺激取毒后,体重稍有下降,食欲增大。这可能是由于电刺激使代谢水平提高的缘故。电刺激取毒对蝎繁殖并无太大影响,只是幼蝎的成活率较低^[21]。

该蝎毒的聚丙烯酰胺圆盘电泳显十二条带,用 CM-Sephadex C50 柱层析可有 12 个蛋白峰,用 Sephadex G50 凝胶过滤可有 3 个蛋白峰,其生物活性物质分布与 Possani 报道的相

似,即第一峰为酶活力峰,第二峰为毒素峰,占总蛋白量约 60—70%。该毒对小白鼠的半致死量为 $10.3\mu\text{g/g}$ 体重,毒力居已知 LD_{50} 蝎毒的第七位,是一种毒力较弱的蝎毒,该蝎毒无磷脂酶 A_2 , α -淀粉酶,精氨酸酯酶,磷酸单酯酶、乙酰胆碱酯酶, L-氨基酸氧化酶,蛋白水解酶活力。但透明质酸酶活力为 9.6 单位/mg 粗毒/分钟。这种称为“扩散因子”的酶具有如此高活力,显然具有其一定的生物学意义。

从蝎毒的有毒组份中,已经分离纯化出两种蝎毒素,即为 MaTx I 和 III,分子量分别为 8,960 和 8,660; MaTxI 的氨基酸组成与国外蝎毒素相比少一对半胱氨酸,富含 Asp 和 Gly,这可能说明该毒素的稳定性和毒性要稍低一些。该毒素和国外所报道的蝎毒素一样,无甲硫氨酸。另外,这两种毒素分子量均在 8,500 道尔顿以上,是蝎毒素中分子量较大的蛋白质。由于两种毒蛋白的分子量差别不大,而且等电点相近,其结构和生理功能有无差异,以及它们的药理学意义都尚待深入研究^[22]。

蝎的临床应用,在我国较早而且广泛。在宋代,全蝎就是中药中的名贵药材。而且历来中医均认为,蝎尾的疗效要高于全蝎(干重)2.5—3 倍,显然,是因为疗效主要在蝎毒。其作用主要有以下几方面:

(1) 抗惊厥 屠揆先等人曾用全蝎川贝散为主治疗两例癫痫病人,经长期观察,未再复发;四例有明显疗效,二例减轻;二例无效。诸方受等人又应用全蝎治疗痹痛,二十六例,认为确有一定疗效。

(2) 降血压 张甫同等将全蝎粉,制成静脉注射浸剂和肌肉注射剂,用于二十六例高血压病人,有效率达 88.5%,且见效快,无明显副作用。其机制可能是蝎制剂影响血管运动中枢,扩张血管,直接抑制心脏活动,并能减低肾上腺素的增压作用^[23]。

(3) 对其他疾病的作用 用蝎尾可治疗急性扁桃体炎。用全蝎等配制的中药汤剂与其他镇痉剂结合治疗破伤风患者二十六例,治愈率达 88.5%。

全蝎治疗颜面神经麻痹,疗效可靠。用复方蝎尾散吹入鼻内,对结核性胸膜炎的头疼症也有一定疗效^[24]。近来,有的中医还将蝎与其他药物配合,治疗各种癌症。

在国外,蝎毒主要用于制备抗蝎毒血清。最近,还报道了蝎毒液对心脏病和癌症的治疗作用^[25]。在苏联,已成功地把蝎毒素制成药剂来治疗神经系统的各种疾病。

综上所述,可见近几年来,蝎毒研究进展之迅速。在基础理论方面,蝎毒素已作为探针与工具应用于膜受体和神经系统的研究,但对其他的活性蛋白质还研究的甚少。在应用方面,蝎毒的研究还处于摸索阶段。我国的蝎毒研究工作近两年来已取得了一定的进展,但仍落后于欧美一些国家,其原因主要是我国蝎毒性较小,含量少,对人畜危害不大,故未能引起人们重视。参照国外研究动向,今后我们应重点研究蝎毒素和其他组份对钠通道,神经系统特别是神经肌肉接头、膜通透性,膜受体以及双分子膜流动性,参与代谢的各种酶的作用与影响等问题。在研究方式上,药理、生理、生化、生物物理等学科应进行广泛协作,筛选有效活性组份,分离纯化,并测定各种性质,尽快与临床应用结合起来。由于蝎毒中有许多具有重要生理功能的活性物质,作用神经系统的方式又不同于蛇毒素,因而,制备一些治疗神经系统疾病的药物还是大有希望。中医用蝎子治病历史悠久,也有许多经验值得总结。

参 考 文 献

- [1] 周新华:《生物化学与生物物理进展》,4, 25, 1982.
- [2] 周新华:《辽宁大学学报》(生物学专辑), 75, 1982.
- [3] Tu. A. T.: *Venoms*, p. 459 (Tu. A. T. Eds) 1977 New York, John Wiley.
- [4] Possani, D. et al.: *Archs. Biochem. Biophys.*, 180, 394, 1977.
- [5] Jover, E. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 95, 1607, 1980.
- [6] Courand, F. et al.: *Toxicon*, 20(1), 9, 1982.
- [7] Zlotkin, E. et al.: *Toxicon*, 20(1), 323, 1982.
- [8] Lazarovici, P. et al.: *Toxicon*, 20(1), 333, 1982.
- [9] Rochat, H.: *Advance, Cytopharm.*, 3, 325, 1979.

- [10] Delori, P.: *Toxicon*, 19(3) 399, 1981.
- [11] Juan C. Fentecilla-Camps et al.: *Toxicon*, 20(1) 1, 1982.
- [12] Roachat, H. et al.: *Toxicon*, 20(1), 69, 1982.
- [13] Roachat, C. et al.: *Biochemistry*, 15, 2254, 1976.
- [14] Chhatwal, G. S. et al.: *Toxicon*, 1, 63, 1982.
- [15] 宋大祥等:《生物学通报》, 2, 23, 1982。
- [16] Kubota, S.: *J. Pharm. Exper. Therap*, 11, 379, 1918.
- [17] Iwano, S.: *J. Kyoto Med.*, 14, 702, 1917.
- [18] Kubota, S.: *J. Pharm. Exper. Therap*, 11, 447, 1918.
- [19] Kaku, T. et al.: *J. Pharma. Soc. Japan*, 70, 35, 1950.
- [20] 李中璆:《中药通报》, 3, 84, 1956。
- [21] 周新华:《动物学杂志》, 5, 23, 1983。
- [22] 周新华:《动物学研究》, 4, 201, 1983。
- [23] 张甫同:《中国生理科学学术会议论文摘要汇编》, 115, 1964。
- [24] 费牛乐等:《上海中医药杂志》, 6, 64, 1957。
- [25] 广西医药研究所:《医药科技资料》, 4, 25, 1972。
- [本文于1983年4月14日收到]

科技消息

长期饮酒可使生物膜的结构与功能均受损伤

长期大量饮酒对人体的影响很广泛,临床和病理学的观察,早已发现肝脏、心血管系统及神经系统都受到很大损害。近几年,关于酒精对身体影响的研究已深入到生物膜水平,使人们对这种损害的认识更深刻了。

美国 Hahnemann 大学医学院 E. Rubin 教授领导的小组用大白鼠肝线粒体膜所做的许多工作,证明酒精能使膜流动性、膜酶活性等发生变化。急性酒精作用使膜的流动性增加,使线粒体膜 ATP 酶和 NADH 氧化酶活性的 Arrhenius 图的突变温度下降。但如这种作用持续下去,膜特性则逐渐产生了适应性变化。例如,长期用酒精饲服的大白鼠的离体肝线粒体膜,再用酒精处理时,膜的流动性不再发生明显变化,Arrhenius 图的突变温度也趋向正常,膜与酒精及其它麻醉剂的结合能力也降低。对从线粒体膜提取的磷脂制成的脂质体的实验,也得到同样的结果。生物膜对酒精的这种适应性变化,或许能用以解释长期饮酒者酒量较大,甚至对其它麻醉剂的耐药量也比一般人的原

因;而且也能解释饮酒成癖的本质——只有大量摄取酒精,才能使膜流动性及其酶活性获得补偿性的提高。

酒精的长期作用使线粒体的功能减弱。离体实验证明,长期饮酒者血液中可达到的酒精浓度,使线粒体的蛋白合成减少三分之一。凝胶电泳实验证明,酒精导致线粒体膜的细胞色素氧化酶和 ATP 酶减少。

进一步的研究指出,上述流动性及功能的变化是由于膜的组分发生了改变:胆固醇的含量增加了、磷脂特别是心磷脂的脂肪酸链变得更饱和了,而心磷脂与电子传递体系和 ATP 酶是密切相关的。

酒精的长期作用对细胞的质膜也有很大影响,如使膜的钙通透性增大。细胞质膜如同时受到毒素的作用,更容易引起钙通透性的突然增大,使大量钙进入细胞,导致细胞死亡。这就可以解释长期大量饮酒者有时突然发生肝坏死,甚至不参与酒精代谢的心脏、胰脏和脑等也有细胞坏死的现象。

[据 *Fed. Procs.*, 41 (1982), 2465 等]

[聂玉生 编译]