

DNA 连接酶 及其应用

陈 慎

(中国科学院生物物理研究所二室)

引 言

在六十年代后半期,从大肠杆菌及用 T₄ 噬菌体感染的大肠杆菌中发现了 DNA 连接酶,它能起催化修复 DNA 双股链中单股断裂(缺口)的作用(图 1)。以后不久,陆续在哺乳动物细胞、高等植物、Rous 肉瘤病毒颗粒和带 λ_C 噬菌体的大肠杆菌中找到这种酶。它广泛存在于生物有机体中,而且很多特性都是近似的,有普遍的生物学意义,因而,对酶及其应用的研究

也进展颇快已有不少评述^[1-7]。

目前,在核酸研究中应用的 DNA 连接酶,主要从大肠杆菌和经 T₄ 噬菌体感染的大肠杆菌中提取。前一种连接酶通称之为大肠杆菌 DNA 连接酶,后一种连接酶通称为 T₄ DNA 连接酶,本文将以 T₄ DNA 连接酶为代表,同时参考一些大肠杆菌 DNA 连接酶,就其分离提取、常用测活方法、酶的一般特性以及在连接 DNA 和 RNA 寡核苷酸片段上的研究情况作一介绍。

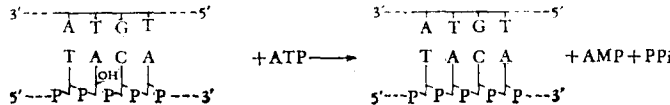


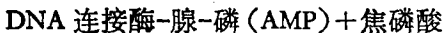
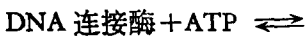
图 1 T₄ DNA 连接酶在 DNA 单股链上裂口处的连接反应

一、DNA 连接酶

1. 常用的测活方法

DNA 连接酶的测活方法很多,一般实验室最常用的有下列二种:

(1) 腺三磷-焦磷酸(ATP-PPi)交换法
T₄ DNA 连接酶能使 ATP 与焦磷酸发生磷交换,其交换量与连接酶的活力相一致,此法就根据这个反应的逆反应进行测定:



当 ³²P 标记的焦磷酸与 T₄ DNA 连接酶反应后,则 ³²P 转入 ATP 生成 ³²P-ATP,设法把 ³²P-ATP 吸附在活性炭上,除去焦磷酸,然后测定活性炭上的放射性,就为酶的活力。酶的活

力单位定义是:在 37°C 保温 20 分钟,能催化 1 毫微克分子 (*n* mole) 的 ³²P-PPi 成为活性炭可吸附形式的酶量,就定为 1 活力单位。Weiss 等人的实验表明,在 T₄ DNA 连接酶的 DEAE-纤维素层析纯化过程中,用此法测定与用下述标准法测定有较好的平行关系。用此法测定,可以省略制备专用底物,但测得的活力单位数比标准法高 1.2—1.6 倍。而且在硫酸铵分级以前测活,干扰较多。

(2) 标准测活法 利用天然的 DNA 双链,在其单股链上用 DNase I 作用,开缺口,缺口处的 5' 端标以放射性磷(³²P)作为酶作用的底物,经过连接酶的连接反应使之与 3' 端连接,封闭形成二酯键,而把 ³²P 原来对磷酸单酯酶敏感的转变成为抗磷酸单酯酶,从而进行测定。酶的活

力单位定义是：在 37°C 保温 30 分钟，能催化 1 毫微克分子的 ^{32}P 转变成抗磷酸单酯酶形式的酶量定为 1 活力单位。由于这个方法直接测定酶的连接反应，故称为标准法，是测定连接酶活性最常用的方法。Weiss 等人 (1968) 就利用 T_4 噬菌体的 5'- ^{32}P DNA 作为底物，测定 T_4 连接酶的活性，其底物制备与测定，步序如图 2、3 所示：

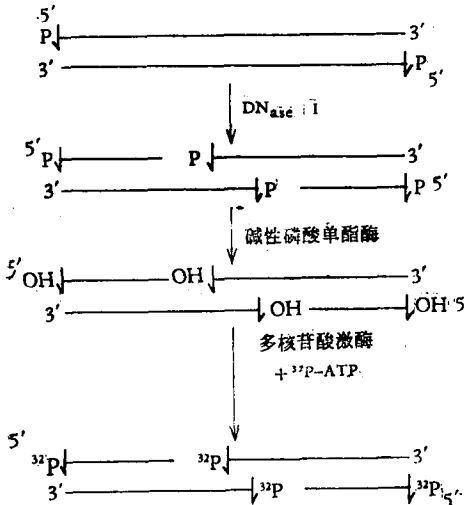


图 2 T_4 DNA 连接酶标准法活底物制备步序示意图

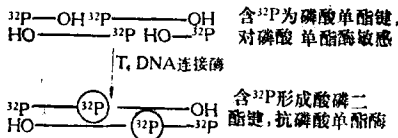


图 3 T_4 DNA 连接酶测定示意图

另外，Olivera 等人 (1967) 还利用 5'- ^{32}P 标记的寡聚体及与 H 键配对的多聚体形成双股均聚物，例如 dA、dT，作为底物，按前述测定步序 (图 4)，测定大肠杆菌 DNA 连接酶的活性。应

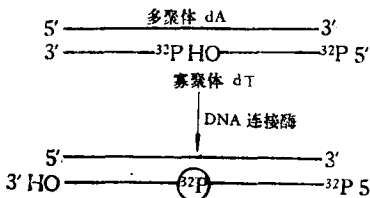


图 4 利用多聚体 dA 和寡聚体 dT 组成的双股均聚物测定 DNA 连接酶的活性示意图

用标准法测活，步序较多，手续较繁，所用的材料也较多，质量要求较高，尤其对所用的酶，如多核苷酸激酶，大肠杆菌碱性磷酸单酯酶都要求比较纯，不能杂有 DNase 酶，放射性比强也要求高，但测得的结果明确，可信。

2. 分离纯化

各种 DNA 连接酶的分离纯化方法基本相同。就 T_4 DNA 连接酶来说，首先是把经 T_4 感染的大肠杆菌细胞用超声波或其他方法加以破碎，然后高速冷冻离心，除去细胞碎片，得到粗提液，经过链霉素沉淀，得上清液用硫酸铵分级，再经 DEAE-纤维素二次柱层析，磷酸纤维素柱层析，然后再用磷酸纤维素柱浓缩，也有经磷酸纤维素柱层析后就用甘油反透析进行浓缩，以获得精制品。最近也有再用羟基磷灰石柱层析以除去 DNase (H. G. Kharana 等, 1973)。Weiss 等人从 T_4 感染的大肠杆菌中获得的 T_4 DNA 连接酶制剂 (见表 1)，其比活较粗提液高 1,000 倍。

表 1 T_4 DNA 连接酶的分离纯化

步 骤	酶总活性 (单位)	蛋白质 (毫克/毫升)	比活性 (单位/毫克蛋白)	产率 (%)
I 粗提液	15,300	11.4	1.6	100
II 链霉素沉淀后 上清部分	9,800	5.0	2.0	64
III 硫酸铵沉淀	4,800	15.2	2.8	31
IV DEAE-纤维素 第一次柱层析	3,800	3.5	3.6	25
V DEAE-纤维素 第二次柱层析	1,600	0.15	14	10
VI 磷酸纤维素 柱层析	900	<0.01	—	6
VII 磷酸纤维素 柱浓缩	800	0.08	1700	5

酶制品在 50% 甘油内于 -15°C 保存 6 个月活力丧失不超过 10%。

3. 连接酶的特性

(1) 一般特性 T_4 DNA 连接酶与大肠杆菌 DNA 连接酶的一般特性，可以归纳成表 2。

表 2 DNA 连接酶的一般特性

酶来源	大肠杆菌 1100 菌株	T ₄ 噬菌体感染的大肠杆菌
分子量	74,000 ± 1,000	63,000—68,000
最适 pH	8.1 (Tris-HCl)	7.2—7.8 (Tris-HCl)
最适温度	37°C	37°C
热不稳定性	46°C 活性丧失 70%	45°C 活性丧失 80%
要求因子	NAD, Mg ²⁺	ATP, Mg ²⁺ 二巯基赤藓醇

(2) 底物特异性 DNA 连接酶对底物要求是要有双股结构, 单股上有裂口, 也就是说, 双股的一处, 只许一侧链有裂口, 裂口的结构应是 5' 端带磷酸基, 3' 端为羟基。如果裂口处缺一核苷酸, 就无法连接, 在对底物这一点上, 大肠杆菌 DNA 连接酶要求底物的二股链都为 DNA, 而 T₄ DNA 连接酶就没有这样严格, 它不仅能修复双股链都是多聚 DNA, 而且也能催化一股链为多聚 RNA, 甚至双股链都是多聚 RNA。

(3) 产物的性质 a. 多核苷酸链的延长; 具有单股链断裂的双股 DNA, 其裂口 5' 端标以 ³²P, 经连接酶反应后, DNA 分子中裂口 5' 端 ³²P, 也就是链内 5' 端 ³²P 能被磷酸单酯酶酶切的数减少, 但外 5' 端的 ³²P 数目不变, 这就说明了双股 DNA 分子中多核苷酸片段间发生了共价连接, 从而使裂口封闭, 而链末端与末端间并未发生连接, 用 T₄ DNA 经连接酶反应所得碱性沉降分析图型(图 5)也支持了这个结论。

b. 磷酸二酯键的形成: 把经 DNA 连接酶反应后只含有抗磷酸单酯酶的 ³²P 的产物, 用已知特异性的核酸酶降解, 测定在连接酶反应中形成的化学键, 可按图 6 所示步骤进行分析。

当经 DNA 连接酶反应后只含抗磷酸单酯酶的 ³²P 的产物 DNA 用胰 DNase 和蛇毒二酯酶降解时, 95% 以上的 ³²P 在单核苷酸上, 用特异性的 5' 核苷酸酶检定, 95% 以上的 ³²P 在 5' 端。如再用前述连接酶产物 DNA, 以小球菌核酸酶和脾磷酸二酯酶水解时, 95% 以上的 ³²P 也在单核苷酸上。再用 3' 核苷酸酶进一步检定为 3' 单核苷酸。综上所述, 证明了在连接酶作用的位置上, 形成了 3', 5' 二酯键。

4. DNA 连接酶的连接反应过程

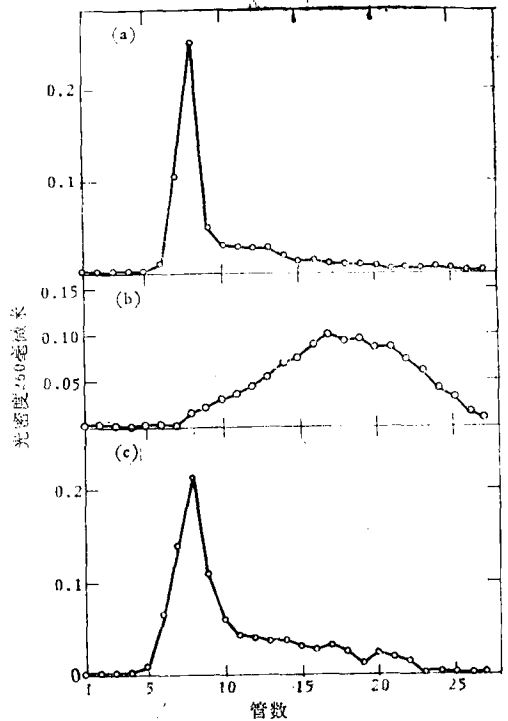


图 5 经连接酶反应的 DNA 产物的碱性沉降分析

- (a) T₄ 噬菌体 DNA 的沉降情况
- (b) T₄ 噬菌体 DNA 经胰 DNase 处理后在除去 ATP 的连接酶反应系统中温育后的沉降情况
- (c) T₄ 噬菌体 DNA 经胰 DNase 处理后在连接酶反应系统中温育后的沉降情况

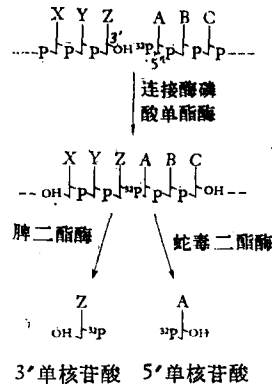


图 6 连接酶反应形成磷酸二酯键的邻近分析示意图

现已知道, 连接反应分三步进行^[5,6], 就 T₄ DNA 连接酶来说, 第一步是 DNA 连接酶与 ATP 结合成反应中间物, 酶-AMP, 并放出焦磷酸。第二步是一磷酸腺苷从 DNA 连接酶上转移到 DNA 分子上的裂口处并与磷酸功能团间产生焦磷酸键(图 7)。第三步是 5' 端磷酸功能

团与 3' 羟基结合而成磷酸二酯键,同时放出一磷酸腺苷。已分离到反应过程中的中间物酶-AMP, DNA-AMP 以及在底物 DNA, AMP 存

在时,在 pH 5.6 低温 (0°C) 和大量 T₄ DNA 连接酶存在的条件下,能使连接反应逆向进行等证据,支持了这一连接反应过程。

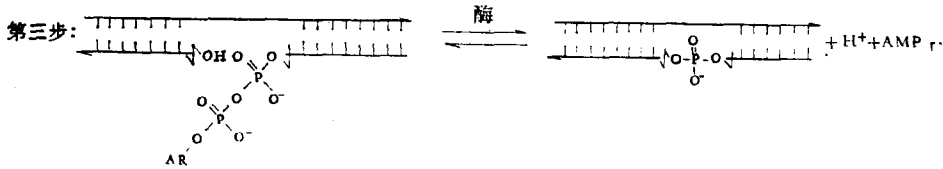
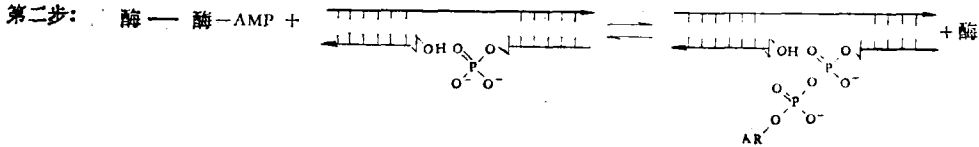
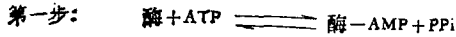


图 7 T₄ DNA 连接酶连接反应过程

二、DNA 连接酶在连接 DNA 寡核苷酸片段上的研究和应用

在人工合成核酸工作中,据报道,用有机化学的方法,合成最长的片段是 26 个核苷酸,要合成更长的链就很困难。美国 Khorana 等人采用了 DNA 连接酶,把化学合成与酶促连接相结合,经过九年的努力,于 1976 年 8 月完成了 207 碱基对的酪氨酸转移核糖核酸前体基因的人工合成,其概况如下:

1. 模板

从 DNA 连接酶的特性来看,用它连接 DNA 核苷酸片段要求有双股 DNA 链,其中一股有裂口而另一股则完整,通常把完整的一股链称为模板。模板上的核苷酸与被连接的核苷酸片段,要求是能氢键配对。也就是说,被连接片段的核苷酸如果是腺嘌呤核苷酸 (AMP),胞嘧啶核苷酸 (CMP),则模板上的核苷酸应是胸腺嘧啶核苷酸 (TMP) 和鸟嘌呤核苷酸 (GMP)。这样,通过氢键结合,把被连接的寡核苷酸片段相对进行固定,便于 DNA 连接酶进行连接作用。在这方面已进行了一些研究。

(1) 在长模板上进行短片段的连接^[6] 长模板多采用 DNA 多聚核苷酸,如 poly d-CA

poly d-TG, poly d-A 等等。短片段为寡核苷酸,长的有 10 核苷酸片段,最短为 4 核苷酸片段,其 5' 端都标以 ³²P,连接反应后,产物上的 ³²P,以对磷酸单酯酶抵抗或敏感作为检定指标,结果见表 3。

表 3 长模板上短片段的连接

³² P 标记的寡核苷酸片段	长模板	³² P 转成抵抗磷酸单酯酶形式的%	
		大肠杆菌 DNA 连接酶	T ₄ DNA 连接酶
d(C-A) ₄	poly d-TG	59	31
d(C-A) ₃	poly d-TG	67	50
d-T ₁₀	poly d-A	54	51
d-T ₇	poly d-A	24	18
d-T ₄	poly d-A	49	42
d-T ₇	poly d-A	0.6	3.6

(2) 短片段既为模板又为被连接的片段在 tRNA^{ala} 基因合成中,用各寡核苷酸片段连接成 3' 端 1—20 核苷酸,就是采用这种方法进行的 (V. Sgaramella 1972) (见图 8),为了不使被连接片段形成二聚体,试验分二步进行。

第一步:先用被连接的 10 核苷酸片段(图中为 3 片段),5' 端为羟基作为模板,把片段 1, 12 核苷酸和片段 4, 8 核苷酸用 T₄ DNA 连接酶在连接点 TC 处连接成 20 核苷酸片段。

第二步:以 1 片段和 4 片段经 DNA 连接酶连接成 20 核苷酸片段作为模板,把 2 片段 6 核苷酸和 3 片段 10 核苷酸再用连接酶连接起来。

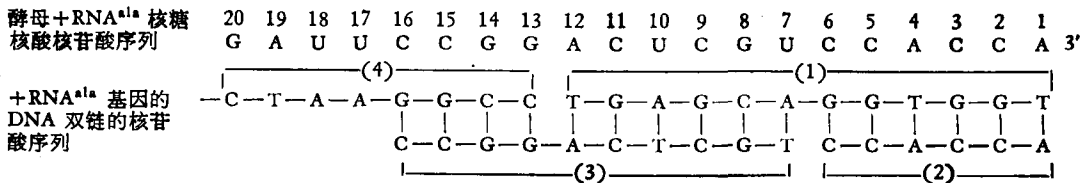


图 8 相当酵母 tRNA^{ala} 3' 端 1—20 个核苷酸序列的 DNA 双链的核苷酸序列

这样，就把 tRNA^{ala} 基因 1—20 序列的 20 核苷酸连成了，其中一股链较另一股链长一些，造成所谓粘性末端，而便于与另一片段用 DNA 连接酶把他们连接起来成为更大的核苷酸片段。

2. 被连接片段的长度与溶解温度，反应温度的关系

Gupta 等人^[7]的试验说明，被连接的片段必须是与模板形成稳定的双链复合物，才能进行连接反应。而稳定的双链复合物与核酸溶解温度 (T_m 值) 有关。如果被连接的片段，虽然短至 5 核苷酸，但只要有合适的模板形成稳定的双链复合物，也能进行连接反应。

Harvey 等发现，胸腺嘧啶寡核苷酸片段，在以 poly d-A 为模板，用 DNA 连接酶进行连接时，观察到被连接片段链的长度与连接酶连接反应最适温度有关。链长度比较短，连接反应最适温度比较低，反应速率也慢；随着链长的增加其反应最适温度随之增加，反应速率也随之增加(见表 4)。

表 4 Oligo d-T 在 poly d-A 为模板，反应最适温度与连接速度

Oligo d-T	反应最适温度 (°C)	连接速度 (P mole/20')
T ₇	12.5	10
T ₈	17.5	244
T ₉	25.0	425
T ₁₁	30.0	1,125
T ₁₂	32.5	2,010

三、DNA 连接酶在连接 RNA 寡核苷酸片断上的研究

以 DNA 多聚核苷酸为模板，用 DNA 连接酶连接 RNA 寡核苷酸片段，或以 RNA 多聚核苷酸为模板连接 DNA 寡核苷酸片段的研究，开

始较早。初期的工作，因没有用 T₄ DNA 连接酶等原因，没有成功。Kleppe 第一个由 poly d-T 为模板，用 DNA 连接酶把 RNA 寡核苷酸片段彼此连接起来，从而开始这方面的工作，目前问题已逐步深入，并报道 T₄ DNA 连接酶有打缺口活性，现简述如下：

1. 酶的类型

早期的工作，用大肠杆菌 DNA 连接酶进行试验，以 DNA 多核苷酸为模板，连接 RNA 寡核苷酸片段，或以 RNA 多核苷酸为模板，连接 DNA 寡核苷酸片段和 RNA 寡核苷酸片段，都没有获得成功(表 5)。

表 5 大肠杆菌 DNA 连接酶在以 RNA 多核苷酸或 DNA 多核苷酸为模板时，连接 DNA 或 RNA 寡核苷酸片段的效果

要连接的寡核苷酸片段	模板	产率	参考资料
[5'- ³² P] d-T	poly (A)	<5%	[8]
[5'- ³² P] d-A	poly (U)	<5%	[8]
[5'- ³² P] A	poly (d-T)	<5%	[8]
[5'- ³² P] U	poly (d-A)	<5%	[8]
[5'- ³² P]d (C-A) ₄	poly (U-G)	0	[7]
[5'- ³² P]d (T-G) ₅	poly (C-A)	0	[7]
[5'- ³² P]d (T) ₁₀	poly (A)	0	[7]

K. Kleppe (1970) 总结了前人的经验，其中包括不用大肠杆菌 DNA 连接酶，而改用 T₄ DNA 连接酶，以 poly (d-T) 为模板使 RNA 寡核苷酸片段 5'-³²P(A)₈，5'-³²P(A)₁₀，彼此连接起来，或以 poly (A) 为模板，使 DNA 寡核苷酸片段彼此连接起来，从而开始了这方面的研究。通过 C. C. Richardson 等人的试验，更进一步明确了大肠杆菌 DNA 连接酶对底物的专一性比较强，不能对杂交链上寡核苷酸进行连接，只有 T₄ DNA 连接酶才能连接，如表 6 所示。

2. 连接条件

表 6 两种连接酶在同一底物上的活力比较

底物	酶活(毫微克分子/20分钟/毫克酶蛋白)	
	大肠杆菌 DNA 连接酶	T ₄ DNA 连接酶
寡聚 d(A-T)*	4.8	46
多聚 d-T 寡聚(A)	<0.001	16

* 为含有 290 个核苷酸的片段。

(1) 酶的浓度 酶的浓度合适与否对连接有明显的影响, 早期的工作用酶量都比较低。K. Kleppe (1970) 开始增高了酶的浓度到 70 单位/毫升, 以能催化微微克分子 (p mole) 的磷转变成抗磷酸单酯酶形式的酶量作为一个单位, 但已比过去高 20—30 倍。到 Feix G., 用酶量更是大幅度增加到 350 单位/毫升, 而他是以催化毫微克分子 (n mole) 磷转变成抗磷酸单酯酶形式的酶量作为一个单位, 按此计算, 比 K. Kleppe 几乎增加 5,000 倍。

(2) 反应温度 新近的报告 (S. Hiroshi 1974) 指出, 反应的温度降到 0°C 为好, 特别是以 RNA 多聚核苷酸为模板连接 RNA 或 DNA 寡聚核苷酸片段时。因为这样有利于 RNA-RNA 或 RNA-DNA 双链的稳定。另外在低温条件下也不利于杂酶, 尤其是 RNase 分解活性的表现; 但因温度降至 0°C, 反应时间相应要延长到 20 小时以上。

(3) 反应前底物的预处理 使被连接的寡核苷酸片段与作模板的多聚核苷酸在加入反应系统前, 进行预处理, 促使其双链形成, 一般先放在较高的温度, 然后逐步冷却, 就是所谓“退火”。例如 Feix 的底物预处理是: 把所要连接的寡核苷酸片段与模板混合后在 0.1M Tris-HCl pH 7.5 溶液中, 升温到 45°C, 保温 5 分钟, 然后放到 30°C 10 分钟, 后再放到 10°C 60 分钟, 最后放到 0°C, 这样促使双链的

形成。

另外, 加入适量 NaCl, 利用 RNA-RNA 的形成, 也能提高连接效果(图 9)。但有一缺点, 就是使酶反应减慢。

3. T₄ DNA 连接酶的打缺口活性

在 DNA-RNA 杂交链或 RNA-RNA 双链上用 DNA 连接酶进行连接的过程中, 观察到在反应系统中不加辅助因素 ATP 时, 连接酶具有切 RNA 链上二酯键成缺口的活性。为了排除连接酶中的杂酶, 对 T₄ DNA 连接酶作了进一步提纯。即把经磷酸纤维素层析收集的酶液, 先过羟基磷灰石柱层析, 后经 DEAE-Sephadex A-50 柱层析, 最后用 60% 甘油反透析浓缩, 经过这样处理后得到的酶比活达到 2,400 单位/毫克(蛋白)(单位为微克分子/20分/37°C), 无切 DNA、RNA、单链内切酶活性。用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (8—18%) 梯度分析, 酶量高达 25 微克蛋白时, 仅显出微弱的杂蛋白带。从而断定 DNA 连接酶具有使杂交链 RNA-DNA 或 RNA-RNA 双链中的 RNA 链成裂口的活性。

从打缺口活性的特点分析, 只是使链变短, 没有发现单核苷酸。由此推断, 似乎与内切酶活性类似。DNA 连接酶的这个打缺口活性, 在辅助因素 ATP 存在时, 表现出一方面连接一方面切成裂口。在 32°C 温育 5 小时, 在 RNA 链上约有 10% 的二酯键被打开成裂口, 切成的寡核苷酸片断最短为 10 核苷酸, 由于这个打缺口活性, 将造成被连接的寡核苷酸片段, 在模板上固定不牢, 尤其是靠近连接端, 如果出现裂口则链变短, 配对的氢键减少容易造成滑动, 不利于寡核苷酸片段间的连接, 因此这个打缺口活性, 将会大大影响 DNA 连接酶在连接 RNA 寡核苷酸片段上的使用。

4. T₄ DNA 连接酶对连接 RNA 寡核苷酸片段的要求

(1) 要有相应的模板 没有模板连接的片段就无法固定, 连接端也无法靠近, 因而也就不能连接。模板与被连接的核苷酸间, 从模式的试验条件看, 不同组合对产率有一定的影响(见表 7)。

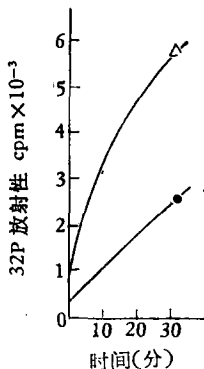


图 9 加入 NaCl 对 T₄ DNA 连接酶在 poly rA 上连接寡核苷酸 rU 的反应动力学

- 反应系统中加 NaCl 1.0M
- △ 反应系统中加 NaCl 0.2M

表7 模板与被连接的寡核苷酸片段结合不同与产率的关系

被连接的寡核苷酸片段	模板	产率(%)	参考资料
d-T	poly d-A	95	[10]
d-T	poly r-A	93	[10]
r-A	poly d-T	77	[10]
r-A	poly r-U	<1	[10]
r-C	poly r-G	0	
r-C	poly r-I	13	[9]
r-U	poly r-A	9	[9]
r-U	poly d-A	0	

(2) 被连接核苷酸片段的长短及其对末端碱基的影响 用 DNA 连接酶连接寡核苷酸片段, 一般说, 片段长一些配对氢键就多一些, 这样在模板上固定就好一些, 不易滑动, 因而连接效果就比较好。有人报道能被连接的核苷酸片段最短不能少于 5 核苷酸片段。至于片段末端的碱基, 似乎有这么一种趋势, 在相应的模板上, A 与 A 连接较好, 产率高; C、I 相互连接也还可以, U 与 A 连接比较差一些, G 与 G 相连则比较困难(见表 8)。

表8 T₄ DNA 连接酶连接不同核苷酸片段的活性^[10]

被连接的寡核苷酸片段	模板多聚核苷酸	10 微升反应液中的 ³² P 的 cpm		10 微升反应液中 3' (2') 单核苷酸上 ³² Pcpm 的回收	抗磷酸单酯酶的 ³² P 与反应液中放入的 ³² P 之比(%)
		放入的	抗磷酸单酯酶		
(r-A) ₁₀	d-T	2.6×10 ³	2.8×10 ³	7.1×10 ²	100
(d-T) ₁₂₋₁₈	r-A	2.5×10 ³	1.4×10 ³	—	60
(r-A) ₁₀	r-U	1.0×10 ³	1.8×10 ³	0	1.8
(r-U) ₁₂₋₁₈	r-A	6.6×10 ⁴	5.8×10 ³	5.3×10 ³	9
(r-I) ₅	r-C	7.2×10 ⁴	2.7×10 ⁴	2.5×10 ⁴	38
(r-C) ₁₅₋₂₀	r-I	6.0×10 ²	5.4×10 ²	5.4×10	13

综上所述, DNA 连接酶, 尤其是 T₄ DNA 连接酶, 不仅能连接 DNA 核酸链上的断口, 而且在有模板的条件下, 也能连接已知核苷酸序列的各种长度(不少于五个核苷酸)的 DNA 寡核苷酸片段; 这样就能把不同的 DNA 连接起来。因此它是核酸研究中, 尤其是在遗传工程研究中一个必不可少的重要工具酶。

应用 T₄ DNA 连接酶连接 RNA 寡核苷酸片段, 虽在酶类型、反应条件等方面进行了探索, 并取得了一些进展, 但离实际应用还有相当距离。特别是新近发现该酶有“打缺口”的活性, 则问题更多, 因此要用该酶连接 RNA 尚待今后进一步深入研究。

参 考 资 料

- [1] 穴井元昭: 《蛋白质·核酸·酵素》, 13, 1104, 1968.
- [2] 安案直代等: 《蛋白质·核酸·酵素》, 14, 89, 1969.
- [3] Richardson C. C.: *Ann. Rev. Biochem.*, 38, 795, 1969.
- [4] Gellert M.: *Proceed. Nucleic Acid Res.* Edited by Cautoni Giulio L., Harper Row Published New York, 2, 875, 1971.
- [5] Lehman I. R.: *Science*, 186, 790, 1974.
- [6] Lehman I. R.: *The Enzyme*, 10, 237, 1974.
- [7] Gupta N. K. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 60, 258, 1960.
- [8] Olivera B. M. et al.: *J. Mol. Biol.*, 36, 261, 1966.
- [9] Hiroshi Sand et al.: *Biochem.* 13, 5110, 1974.
- [10] Farced G. C. et al.: *Biol. Chem.*, 246, 925, 1971.

[本文于 1976 年 12 月收到]

· 科技消息 ·

钙在生物电中的作用

神经细胞通过释放乙酰胆碱对肌肉进行电刺激。在肌肉细胞膜内乙酰胆碱与乙酰胆碱受体结合而引起离子通透性的变化, 使离子得以流入肌肉细胞而引起电兴奋。这种现象与钙离子的参与

有关。乙酰胆碱受体的研究表明, 钙离子与乙酰胆碱受体的结合能力很强, 并且可以和乙酰胆碱竞争受体, 这种竞争有助于控制肌肉细胞膜上的离子通透作用, 从而调节肌肉的兴奋状态。