

有与 Hb 结合的特殊功能,并由此提高 Hb 的过氧化物酶活性,这就为生化分型鉴定和定量分析提供了有利条件。当前人们在研究 Hp 的分子结构、遗传变异和分子进化等问题的同时,正在继续探索 Hp 的生理功能和病理意义以及其它方面的实用价值。在法医学上的应用已引起不少人的兴趣。如只要采取微量血样或陈旧性血迹,通过分型鉴定,以判别父子关系的真伪,在国外已广为采用。我国对 Hp 的研究虽然比较缓慢,但在 Hp 的图型和亚型分布及血清 Hp 与某些疾病的关系等等方面,已进行了不少工作。从生化遗传学和医学的角度来看,探索 Hp 与人类遗传性缺陷的关系,应成为 Hp 研究的重要方面。

参 考 文 献

[1] Fuller, G. M. et al.: *Biochemistry*, 12, 253, 1973.

- [2] Wanda, D. et al.: *Stud. Biophys.*, 73, 117, 1978.
- [3] Kazim, A. L. et al.: *Biochem. J.*, 185, 285, 1980.
- [4] Nagel, R. L. et al.: *J. Biol. Chem.*, 246, 69, 1971.
- [5] Chiao, M. T. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 263, 60, 1972.
- [6] Waks, M. et al.: *Biochemistry*, 13, 15, 1974.
- [7] Alexander, K. et al.: *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 62, 339, 1979.
- [8] Smithies, O. et al.: *Nature*, 196, 232, 19621.
- [9] Kurosky, A. et al.: *Biochem. Genet.*, 11, 279, 1974.
- [10] Barnett, D. R. et al.: *Biochemistry*, 11, 1189, 1972.
- [11] Gerald, P. S. et al.: *J. Pediat.*, 70, 172, 1967.
- [12] Robson, E. B et al.: *Nature*, 223, 1163, 1969.
- [13] 濑崎达雄:《临床血液》14, 495, 1973.
- [14] 浙江医科大学生化教研组:《第二次全国大肠癌科研会议交流资料》, 1980年,第78—83页。

[本文于 1981 年 4 月 18 日收到]

干扰素和干扰素基因工程研究动向

罗 明 典

(中国科学院微生物研究所)

干扰素 (Interferon, 简称 IFN) 指的是一种特异性的糖蛋白。这种糖蛋白是由一类诱导物诱导寄主细胞产生的。实际上这种糖蛋白诱导细胞合成另一种蛋白,这种新合成的蛋白叫翻译抑制蛋白 (TIP),只有这种翻译抑制蛋白才有干扰或抑制病毒繁殖的能力,它阻止病毒 mRNA 附着在核糖核蛋白体上,使病毒无法实现转译成蛋白,从而破坏了病毒整个复制周期。因此,IFN 是病毒的一种强有力的抑制剂,对寄主言,是一种无毒性作用的保护剂。

IFN 诱导物指的是:凡诱导产生干扰素的不论是有生命的如病毒等,或是无生命的物质如 poly I: C 等都称之为诱导物。前者系主要诱导物,由它产生的蛋白质是典型的 IFN,如白

细胞干扰素 (Le-IFN 或 d-IFN);后者是由微生物提取物或某些代谢产物诱导产生的干扰素如成纤维细胞干扰素 (F-IFN 或 β -IFN),其中以 poly I: C 最为有效,它亦具有广谱抗病毒作用,我国已有生产。真正起诱导作用的是核酸,而不是其他成分。除上面提到的两类干扰素外,还有一类来自 T-淋巴细胞的免疫干扰素 (Im-IFN 或 γ -IFN),它不仅抗病毒,而且抗癌细胞。不论哪一类诱导物产生的 IFN,都很快地从细胞中释放出来,一方面保护那些没有感染的细胞以抵抗病毒的攻击;另方面寄主细胞产生的 IFN (新蛋白)具有种属专一性,即尽管所有动物和人都可产生干扰素,但人体细胞产生的干扰素只对人起作用,鼠细胞产生的干扰素只对鼠细胞起作用,产干扰素的细胞与

干扰素作用的细胞是同一种属才能发挥作用。

近年,IFN 的抗癌作用引起了高度重视,美国、英国研究 IFN 的抗流感病毒作用时成功地用 IFN 用于治疗癌症。法国和美国基于对鼠血癌的实验,证明 IFN 对肿瘤细胞增殖具有抑制力,治疗乳腺癌、骨髓瘤亦产生抑制效应,Baron S (1980)^[2]发现 Im-IFN 比 F-IFN、Le-IFN 的产率高 20 倍,是一种潜在性的抗癌因子。维生素 C 的摄入(45 毫克/天/人)与 IFN 之间有着微妙的关系,一方面它增加 IFN 的生成,另方面可能激发机体免疫系统发挥积极作用。最近又发现一种特殊酶叫吡啶胺 2, 3-氧添加酶,这种酶在机体内受病毒或细菌感染时可比平时增加 30—100 倍,如果用 IFN 和另一种物质叫脂多糖(LPS)一起作用,此酶亦增加 10—20 倍,认为这种酶作为 IFN “媒介”而发挥作用,当病毒侵入时,淋巴细胞就放出活性氧聚集在其周围以攻击病毒,但同时伤害正常细胞,如果有了 LPS,酶即增加,而活性氧被消除,正常细胞得以防御,此外,这种酶不仅保护正常细胞,而且对控制衰老具有重要意义,其作用机理正在研究之中。

干扰素与酶的关系十分密切,在 Wallach 等^[2]的工作中也得到发展,他们发现一种干扰素诱导酶即寡腺嘌呤合成酶,结合到病毒遗传物质中可抑制病毒蛋白和 RNA 的合成,一般说在病毒繁殖之前,这种酶以钝化形式贮存,一旦被活化,病毒不可避免地被消灭,另外,这种酶还可以通过病毒转运到其他未经 IFN 处理过的细胞中,可减少病毒对细胞的侵染,并且使细胞得到保护。所谓保护指的并不是已受病毒侵染的细胞,而是它的“邻居”即尚未被感染的细胞,如果邻居细胞遭到病毒侵染时,IFN 与它结合产生两种高度专一性酶,对机体的正常细胞起保护作用,而保护作用的机理还有待进一步研究。

目前生产 IFN 是采用多条途径进行的,用“人体白细胞-新城鸡瘟病毒系统制备 IFN”是其中最基本方法之一。美国用人体淋巴细胞经新城鸡瘟病毒诱导在 50 升发酵罐内生产 IFN,

每年可产 2 公斤纯品供临床研究之用,芬兰用白细胞(约 500 升)加入仙台病毒为诱导物,每年可制取 4000 亿单位 IFN,通过仙台病毒诱导使细胞培养物可制取粗品 IFN $12-100 \times 10^3$ 单位/毫升^[3]。法国以新鲜脾脏为原料制取 IFN 开辟了新的材料来源,引起了重视。

尽管上述制取 IFN 的途径各有不同,各有其效力和特点,但也有很大的局限性:1) 血源有限,需求量多,45000 升血液仅收集干扰素 400 毫克,远远不能满足需要,2) 价格昂贵,每公斤干扰素纯品需 10—200 亿美元;3) 治疗人类疾病只有来自人体干扰素纯品才能有效,这样在临床上使用就受到很大限制,为此,如何更经济地生产 IFN 是摆在科研工作者面前一项重要任务。

通过人体白细胞组织培养工业化生产 IFN 是可能的。英国 Meager A 等确证、产生干扰素的人体基因不是过去所认为的是在第 2 或第 5 染色体上,而是分布在第 9 染色体上,确定负责生产人体 IFN 部位之后,可通过细胞杂交途径将人细胞核引入到鼠细胞中,形成含人和鼠染色体的杂交核,在杂种细胞培养过程中人染色体逐渐消失,有时在核中留下唯一的人染色体 9^[4],当杂交鼠细胞引入新城鸡瘟病毒(NDV)或仙台病毒(Sendai virus),则诱导鼠细胞大量分泌人 IFN,这样,人们可以用这种细胞系统进行工业化生产人干扰素。也就是通过人-鼠细胞杂交的途径来完成生产人干扰素的任务。Secher D. S. 等^[5]采用类似方法把对异物免疫力强的小鼠脾脏细胞和快速生长的人体癌细胞融合而获得杂种细胞(hybridoma),它兼有人癌细胞和鼠脾细胞两者的特性,在合适培养液中一个单细胞将不断地繁殖,可产生大量专一性抗体。这种抗体的单细胞,繁殖到许多代而形成的群落(或称无性繁殖细胞系),称单克隆,利用这种杂种单克隆细胞可获得大量纯 IFN,特别是单克隆抗体的利用可使 IFN 纯度达 5000 倍。这项技术不仅为大量提纯 IFN 开辟新途径,而且为加速对 IFN 的产生和作用机理的研究以及 IFN 在细胞水平上的工业化生产提供了潜

在的可能性^[6]。应该说,这是在细胞水平上工业化生产高纯度 IFN 的实际成果。

从分子水平上看 IFN 的工业化生产及其未来发展的前景,那就是 IFN 基因工程的研究,通过基因工程技术使细菌能够产生人 IFN,最后通过“工程菌”发酵来生产 IFN。1980 年 1 月份 Weissmann W 小组(瑞士)和 Gilbert W 小组(美国)采用 DNA 重组技术将人体白细胞产 IFN 的基因捻接到细菌质体上,得到杂种质体后转入大肠杆菌,最后终于使该菌产生出人干扰素物质,实际上这是一种“类干扰素”(interferoid),是一种没有糖分子的蛋白质,体外显示其生物活性。据 Weissmann 说,这种细菌产生的干扰素物质与人体白细胞产生的干扰素,就其生物功能而言是完全“相同”的,其纯度可达 100%,而从白细胞提取的 IFN 纯度只有它的千分之一。“工程菌”的产率不高,每升菌液只得到几个 IFN 活性分子, 5×10^4 单位/升。据 M. Ptashne 在我国作的题为“真核基因在大肠杆菌中的表达”的报告中谈到 IFN 基因工程研究近况。他们所建成的“工程菌”合成 F-IFN 的产率为 1 亿 5 千万单位/升,同 Biogen 公司的产率相比要高几千倍。为什么能获得这样高的产率呢,1) 创建了一种合适的载体,即建立了带有 AMP 标记的质体,及与 λ 噬菌体 cI 重组所得的杂种质体;2) 要加进一个启动子,此启动子叫手提式启动子(portable promotor),它来源于乳糖操纵子;3) 插入一段 S-D (Shine-Dalgarno) 序列 (AGGA),这样, Ptashne 所创建的“工程菌”具有很高的表达力。然而,该菌所合成的前干扰素是没有活性的,干扰素则具有高的生物活性 (M. Ptashne, 1980)。由于“工程菌”所产生的干扰素与天然干扰素在结构上有些不同,其真正的作用性质还不很清楚,它的毒理学、药理学特性还有待进一步研究。然而, IFN 的细菌合成首次获得成功,无疑将为人类大量索取 IFN 这类贵重药物展现了美好的前景。

目前,除美国、瑞士最早实现 IFN 的细菌合成取得重大进展外,其他国家的一些公司或

学校先后都实现了 IFN 基因在细菌中的克隆化以及人干扰素的生产亦取得进展。问题在于细菌 IFN 的临床应用效果究竟如何,目前还处于大规模实验阶段,它的成功与失败是关系到细菌 IFN 能否得到稳健发展的一个关键性的问题。

为了更深入研究 IFN 的作用本质和揭示其结构与功能特性,美、日两国科学工作者对克隆化的 HF-IFN 和 HLe-IFN 的基因序列进行了分析^[7,8,9],这不仅对 IFN 基因的结构与功能的研究,而且对 IFN 基因的人工合成是有重要意义的。最近英国科学工作者^[10]成功地完成了人 IFN 基因全部合成工作,这是目前人工合成最长的 IFN 基因(不少于 514 个核苷酸),这个完整基因捻接到细菌载体中是能够扩增的,至于它能否指令细菌产生活性 IFN,要看下一步结果。

一些研究者从细菌合成一种新的 Le-IFN B,进行了核苷酸序列分析,发现与以往所报道的 Le-IFN 有所不同。所建成的具有表达力的杂种质体指令细菌有效地合成人 IFN (8×10^7 单位/升),比初期“工程菌”合成 IFN 的产率提高 160 倍^[11]。而 D. V. Goeddel 等^[12]建成的这种高表达力质体可使大肠杆菌合成 2.5×10^8 单位 HLe-IFN/升,相当于每升培养液的 600 微克 IFN*。R. Derynck 等^[13]借助 λ 噬菌体 P_L 启动基因的控制,把 HF-IFN 基因插入到一种热诱导的表达质体中,转化大肠杆菌,能合成与天然 F-IFN (带糖分子)相似,并具有活性的 F-IFN 产品,但其合成产率仍然是低的,只有 100 单位/ 5×10^8 细胞/毫升。上面所得到的两类干扰素不论其产率之高低,均具有很好的生物活性。通过对它们作进一步序列分析发现,不论 HLe-IFN 或是 HF-IFN 的基因都缺少间隙子(intron),就是由 mRNA 编码,或末端编码的片段完全不存在这种间隙子^[14,15,16],正是这样,更有利于 IFN 基因功能在细菌中的表达,因为基因重组时,有间隙子的存在便阻碍被引入所

* 人血液约 2 升才得到 1 微克 HLe-IFN 纯品。

需基因在细菌中的表达。

尽管细菌 IFN 基因工程研究正如上面所述的已经取得一些重要成就和进展,但就目前所创建的“工程菌”,其 IFN 产品还存在一个纯度问题,这是因为临床上出现过某些毒性现象,这是人们所关切的问题。毒性的存在说明细菌 IFN 并不是很纯的,里面带有对人有毒性的成分。因此,在 IFN 提纯过程中去掉那些有毒性成分就成为临床有效应用的一个关键。如何解决这个问题,一方面继续探索细菌 IFN 的毒性问题,及 IFN 提纯的问题;另一方面酵母 IFN 基因工程是值得注意的趋向。自从酵母合成 IFN 获得成功以后,其产率与“工程细菌”大致相当(20 万分子/细胞),可使 IFN 产率提高 10 倍。另外,酵母有如下的特点:1) 酵母这个真核生物,它的遗传学已有很详细的了解,遗传物质排列方式近似于人的遗传物质;2) 酵母用于发酵和食品以及医药工业已有悠久的历史,比其它细菌更为安全;3) 酵母也和细菌一样具有快速繁殖的特点,适于大量工业化生产;4) 酵母 IFN 的合成力不亚于细菌。由于这些特点,酵母干扰素如果在临床上取得实践效果,那么整个 IFN 的生产将会安全地进行发展,产品必然价廉,在毒性方面也将得到相应的克服。比较细菌和酵母两者 IFN 产生菌的利弊,看来“工程酵母”作为生产 IFN 的受体菌将会更合适。有人预计 1985 年以前酵母干扰素将供应市场。为此,酵母干扰素基因工程的发展是个值得注意的动向。

除了酵母合成干扰素外,日本科学工作者对好热细菌 IFN 基因工程研究引起了注意。他们从温泉、堆肥中分离到几十株好热细菌(40—70℃),从中选择两株带有抗药性(Kan^R、Tet^R)的 DNA 基因,通过细胞融合途径把抗药性 DNA 加入人干扰素遗传物质,再与不带抗药性好热细菌进行杂交,则发现这种杂种好热细菌能自动地制造 IFN,而且比大肠杆菌繁殖快,大大提高了生产率,如果这种 IFN 是纯而稳定的话,那么好热细菌生产 IFN 便具有重要的工业意义,至少可以这样说,1) 生产人 IFN 这种蛋

白质是耐热的,也是稳定的;2) 不需要培养其他细菌那样用冷却水防止温度上升;3) 在常温下它们不能继续生长,因此,用不着严格的封闭条件;4) 培养过程中有害的常温菌的混入也无关紧要,它们会自然死亡,培养基也不必专门灭菌消毒,这样,成本相应地降低。基于上述,好热菌干扰素基因工程研究也是值得注意的新动向。此外,枯草杆菌通过基因工程技术也成功地产生 HLe-IFN,这也是一个值得注意的苗头。

从干扰素现有研究的进展来看,不论是“工程菌”IFN 的临床效果,或是其基因结构与功能,或是其产物产率和实用价值等等,都预示着微生物干扰素将会有较大的发展,关键是很好解决微生物 IFN 提纯问题和效果的稳定性问题。

IFN 是诱导物作用于机体细胞产生的一种具有生物活性的糖蛋白,是一种有效的抗病毒因子。IFN 基因工程所取得的成就及其发展有可能成为控制病毒病、癌症的有力工具。工程菌已成功地实现了 IFN 的生物合成,并获得具有生物活性功能的产品,这是 80 年代一项突出的重要成果,这一成果不仅为大量工业化生产 IFN 开辟了新途径;而且将为拯救人类的生命做出巨大贡献。同时也大大地丰富了免疫学的内容并促进免疫学的蓬勃发展。为此,从基础上进一步研究微生物 IFN 的结构与功能、应用上产品的提纯以及大量临床实验效果的稳定性对“工程菌”IFN 商业化都是十分重要和有广阔前途的。

参 考 文 献

- [1] Baron, S.: *Time*, 3, 31, 38, 1980.
- [2] Wallach, D. et al.: *Nature*, 287, 68, 1980.
- [3] Mizrahi, A. et al.: *Biotechnol. Lett.*, 2(6), 267, 1980.
- [4] Meager, A. et al.: *Nature*, 280(5722), 493, 1979.
- [5] Sacher, D. S. et al.: *Nature*, 285, 446, 1980.
- [6] Burke, D. C.: *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 28, 283, 1981.
- [7] Houghton, M.: *Nature*, 285(5766), 536, 1980.
- [8] Derynck, R. et al.: *Nature*, 285, 542, 1980.
- [9] Taniguchi, T. et al.: *Nature*, 285, 547, 1980.

- [10] Edge, M. D. et al.: *Nature*, 292(5825): 756, 1981.
- [11] Yelverton, E.: *Nucl. Acids Research*, 9(3), 731. 1981.
- [12] Goeddel, D. V. et al.: *Nature*, 287, 411. 1980.
- [13] Derynck, R. et al.: *Nature*, 287, 193. 1980.
- [14] Nagata, S. et al.: *Nature*, 287, 401. 1980.
- [15] Houghton, M. et al.: *Nucl. Acids Research*, 9 (2): 247. 1981.
- [16] Lawn, R. M.: *Nucl. Acids Research*, 9(5), 1045. 1981.

[本文于 1981 年 9 月 12 日收到]

不饱和脂肪酸类在生理上的作用

甘 景 镐

(福建师范大学高分子研究所)

心血管病对于人类健康威胁极大,所以人们正密切注意胆固醇在冠心病中的作用。而一些不饱和脂肪酸类,如亚油酸与人体脂肪及胆固醇有很大关系,所以不饱和脂肪酸类的生理作用,就引起了人们的注意。

前人研究^[1]如果在营养中缺少不饱和脂肪酸类,例如亚油酸与亚麻酸,将引起营养缺乏症。特别是婴儿期与幼儿期的反应,尤为明显。这种看法,曾有人反对^[2],但反对者的试验中均在配方中使用含有丰富的不饱和脂肪酸类的鱼肝油,所以得到相反的结果。本文作者,早期研究^[2]也得到同样的证明。

如果食物中缺乏不饱和脂肪酸类,发现的病征,首先是发育缓慢,皮肤失却水分,体温失常,肾功能失调等。临床症状有:顽固性湿疹,在婴儿血清中类脂的碘价较低。治疗期如使他们摄食较高比例的不饱和脂肪酸类,情况就会好转。如婴儿膳食使用脱脂乳粉,常会引起这种缺乏症。

根据前人研究^[3],多不饱和脂肪酸类都有降低血浆中的胆固醇与甘油三酯水平作用^[4]。因而使排出的胆汁盐浓度提高。其原因是能使血浆中的甘油三酯产生乙酰基基团的移位作用^[5],并能促使脂蛋白的部分类脂增大多不饱和脂肪酸的比例^[6]。1980 年本文作者在纽约参加国际油脂化学家协会与美国油脂化学家协会联合召开的学术讨论会上也见到多篇涉及这一

方面的报道^[7]。Morrisett 等曾发现低密度脂蛋白中的载脂蛋白 (apo. LDL) 的分解代谢与 LDL 中的脂肪酸类组成间有密切关系^[8]。

Bragden 等^[9]早期发现,膳食中如配有玉米油、血浆中极低密度的脂蛋白 (VLDL, 其比重为 0.95—1.006 克/毫升) 便增大,但低密度脂蛋白 (LDL, 比重在 1.006—1.063 克/毫升) 与高密度脂蛋白 (HDL, 比重在 1.120—1.210 克/毫升) 却没有什么变化。在膳食中即使仅一次食玉米油或椰子油,也会使 VLDL 较 LDL 和 HDL 增多。许多人的研究都证实这一点。Spritz 等^[4]曾发现膳食中含有脂肪酸类的饱和度对血浆中卵磷脂的 β -乙酰基结构影响很大。

脂质部分的组成会明显地影响体内脂蛋白的微流动性。这可以由它们的苾的激发二聚体的荧光光谱、向热性的转变温度及乙酰基序列等参数看出。关于这一方面的研究,已有许多报道。他们都证明膳食中如含有较大量的不饱和脂肪酸类,就会在其脂蛋白中增多不饱和脂肪酸类的比例。又由于脂蛋白的组成有变化,胆固醇量的百分比也就下降。在含低密度脂蛋白的膳食中如使用不饱和脂肪酸类代替饱和脂肪酸,胆固醇与磷脂的水平会降低 23—26%。可见膳食的组成对于生理的影响很大。

多不饱和脂肪酸类在人体内还有一种很重要的作用,即生物合成前列腺素方面的功能。近年来这方面研究也有发展^[9]。