

生物学和医学中的蛋白质

PROTEINS IN BIOLOGY AND MEDICINE

Ralph A. Bradshaw

Robert L. Hill

Jordan Tang

梁植权

曹天钦

邹承鲁

编

《动物学研究》第4卷增刊

1983

《生命的化学》编辑部编辑
《动物学研究》编辑部编辑

云南人民出版社出版

51
3A
2

动物学研究
一九八三年增刊

云出字第020号

生物学和医学中的蛋白质

(动物学研究 一九八三年增刊)

编 辑 《生命的化学》编辑部
《动物学研究》编辑部

联 系 地 址 昆明市中国科学院昆明动物研究所内

出 版 云 南 人 民 出 版 社
昆明市书林街100号

订 购 处 全 国 各 邮 电 局

国外总发行 中国国际图书贸易总公司
(中国 国际 书店)
北京2820信箱

一 九 八 三 年

刊 号 64—20

定 价 2.50元

国外代号: Q358

中 文 版 序 言

本文以中文版形式和读者见面的主要目的是使得中国从事蛋白质研究的科技人员和蛋白质教学的广大师生能有更多阅读本书的机会。对于外籍的中国学者而言,熟悉中文的表达方式以利于今后的学术交流,中文版对此可能也会有所帮助。

美国学术出版社为中文版提供了英文稿清样和图表,英文版的编者,特别是唐建南教授对中文版十分支持并给予协助,对此我们表示深切的感谢。中文版的编辑由孙国英、袁士龙、李文杰、涂光涛和张友尚等同志担任。

论文集中文版的出版得到了中国科学院上海生物化学研究所王应睐所长,曹天钦副所长和昆明动物研究所潘清华所长以及《动物学研究》和《生命的化学》两个编辑部的热情关怀和大力支持,在此谨向他们表示谢意。

编 者

英 文 版 序 言

蛋白质结构与功能关系的阐明，包括它们的调节作用，构成了现代生物医学研究的一个重要领域。在过去的廿年中，中国和美国都对蛋白质进行了研究。为了重视这一研究，1981年5月25—28日在上海召开了“生物学和医学中的蛋白质”双边学术会议，两国的蛋白质化学家在会上交流了研究成果和思想。本书包含了会上宣读的论文。

编者感谢主办这次会议的中国科学院和中国医学科学院，共同赞助会议的奥克拉荷马医学研究基金会和东道主上海生物化学研究所。编者还要感谢中国科学院秘书长，尊敬的秦力生先生，奥克拉荷马医学研究基金会主席William G. Thurman博士和中国科学院上海分院院长王应睐教授，没有他们的支持这次会议将不可能召开。





生物学和医学中的蛋白质

PROTEINS IN BIOLOGY AND MEDICINE

《动物学研究》第4卷 增刊

1989

目 录

中文版前言.....	(iii)
英文版前言.....	(iv)

一、生物过程的调控

胰岛素相关多肽的结构与功能和进化.....	Ralph A. Bradshaw(1)
胰岛素及其类似物的半合成.....	张友尚(9)
胰岛素及其衍生物三维结构的研究.....	梁栋材(16)
细胞表面成分和受体在凝血酶促细胞分裂过程中的作用 Dennis D. Cunningham, Darrell H. Carney, Joffre B. Baker,	David A. Low and Kevin C. Glenn(28)
生物体液的抑癌因子.....	陈 明 李敏媛 周爱如(40)
人类淋巴因子的分离和鉴定.....	沈翔珩 程小款 吴宁华 王世中(47)
血液补体系统中的生物活性因子.....	Tony E. Hugli(59)
蛋白质一级结构在控制和分泌中的调整.....	Kenneth A. Walsh(76)

二、酶的结构与功能关系

磷脂酶A ₂ 的结构与功能关系.....	Robert L. Heinrikson(84)
蛇毒酶的研究: 磷脂酶A ₂ 和纤溶酶.....	涂光传(98)
专一性靶酶的自杀底物.....	Christopher Walsh(108)

肝和肾的两种细胞色素P—450的性质、功能和定位

Bettie Sue Siler Masters, Richard T. Okita, Yukio Yasukochi,

.....Linda K. Parkhill and Jane H. Dees(119)

锈色红曲霉葡萄糖淀粉酶的研究

张树政 严自正 王杨声 杨寿钧 李钦 戈苏国 孙晋武

徐桃猷 何秉旺 何忠效 郭君蓀 王永祥.....(130)

D—甘油醛—3—磷酸脱氢酶活性部位 Cys—149在配体结合中的

作用及新荧光衍生物的生成.....邹承鲁(149)

蛋白质和肽的溶液构象的近期研究.....鲁子贤 徐琴钰 施溥涛 施庆洛(160)

蛋白质结构与功能和进化的 X射线晶体学研究

B. W. Matthews, M. G. Grutter, L. H. Weaver,

W. F. Anderson, D. H. Ohlendorf and R. G. Fisher.....(172)

三、血液蛋白的结构与功能关系

血清脂蛋白的研究：血清脂蛋白的结构、功能与代谢及其与动脉粥样硬化的关系

.....王克勤 陈保生 何锦麟 解用虹 王大宝(181)

纤维蛋白原的生物合成及其cDNA的克隆

Dominic W. Chung, Mark W. Rixon and Earl W. Davie(204)

中国人异常血红蛋白的化学结构分析.....梁植权(218)

四、蛋白质之间的相互作用

绿豆胰蛋白酶抑制剂的研究.....戚正武 罗珊珊 谭复隆 张耀时 屈贤铭(227)

链激酶-血纤蛋白溶酶原相互反应：一个丝氨酸蛋白酶酶原的结合活化模型

.....Jordan Tang and Kenneth W. Jackson(242)

乳糖合成酶系中蛋白质—蛋白质相互作用位点的分子定位

.....Keith Brew and Sudhir K. Sinha(252)

植物来源凝集素的结构及其生物学活性

John J. Hemperly, Joseph W. Becker and Bruce A. Cunningham.....(263)

胰岛素相关多肽的结构与功能和进化

Ralph A. Bradshaw

Department of Biological Chemistry

Washington University

School of Medicine

St. Louis, Missouri

有些性质使蛋白质不同于其他重要的生物大分子，其中之一就是蛋白质能识别其他不同大小的分子并形成高度专一的复合物，这种能力几乎是蛋白质所特有的。这些相互作用产生了一切活的系统的基础——“专一性”，并表现于酶-底物相互作用、抗体-抗原复合物和细胞间的识别等许多现象中。

识别性相互作用在脊椎动物的两种主要通讯系统，即神经与内分泌系统中表现得更为突出，在更原始的机体中类似这些系统的相应部分或前体也是如此。追溯到进化的最初阶段，这两个系统可能具有共同的起源（LeRoith 等，1980, 1981）。两个系统都利用在一种类型的细胞中产生的“信使”，“传递”到第二种类型的细胞并同时实现信息的转移，不过传递的方式在两种系统中大多并不相同。涉及的信使在化学上虽然差异很大，但是在每种情况下都是通过受体-配基复合物的形成将它们的信号施加于接受细胞或靶细胞上，复合物通常（但并非总是）在细胞表面形成。在大多数情况下，受体至少有一部分具有蛋白质的特征，从而为识别过程提供专一性。神经系统除生成神经递质（它的调节信使）外也产生其他物质，其主要作用是作为突触后细胞的营养物（markelonis 与 Oh, 1979）。如图1所示，被称为“神经分泌”的这种神经原的活性和一些内分泌系统极为相似，特别是那些通过扩散而传递激素，即具有“自分泌”或“邻分泌”特性的系统更是如此。神经原也从它们的靶细胞接收类似的刺激（图1，E型细胞），这是一种特殊形式的邻分泌（或“逆神经分泌”）相互作用。这些物质可能需要沿轴索的逆行运输作为其传送系统的一部分，它们被称为“逆营养物”（Herdry和Hill, 1980）。

包括自分泌物、邻分泌物和神经分泌物在内的内分泌系统的信使比神经递质的脉冲具有较慢的作用过程，可以比喻为电报式（而非电话式）的信息。实际上，激素和类似激素的物质根据其效应的时间性可再分为两类：有些在与靶细胞接触后只表现立时的效应，而有些还具有改变基因表达的长期效应。强调这种区别的分类首先由Robinson等在1971年提出，开始只限于经典的激素，以后扩大到生长因子（以及其他自分泌和邻分泌物）（Bradshaw和Niall, 1978; Bradshaw和Rubin, 1980）。简而言之，这种分类法提出“原初性”激素主要与快速效应有关并主要通过受体使结合在质膜上的腺苷酸

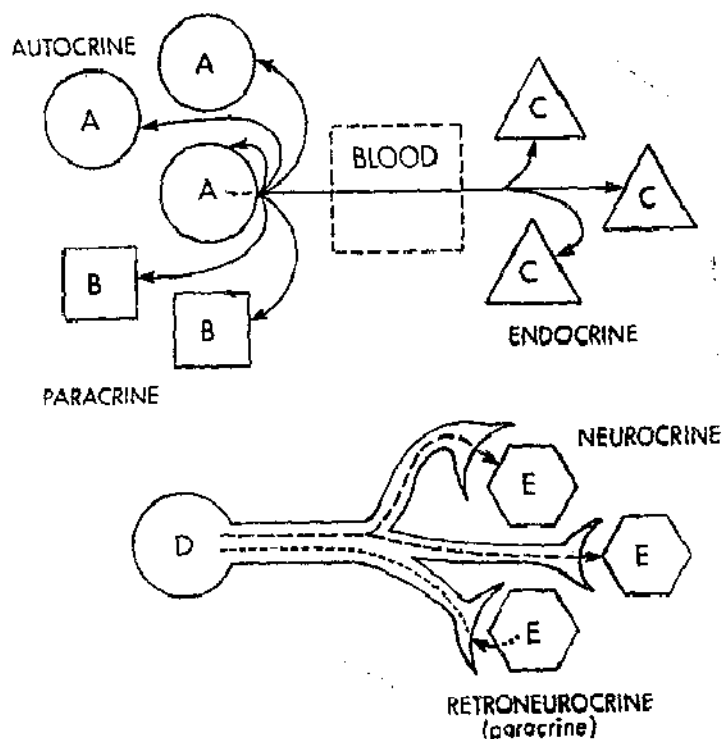


图1 高等生物主要通讯系统的模式图

在图的上半部，内分泌系统被分成三种类型，在A型细胞中产生的信使（激素）可以和同样的细胞相互作用（自分泌），和紧密相邻的B型细胞相互作用（邻分泌），或者和远距离的C型细胞通过运输系统而相互作用（内分泌）。图的下半部表示影响神经系统的两种主要营养系统，一种是神经元产生的物质在突触前的膜释放并作用于靶细胞E（神经分泌），另一种是靶细胞产生的物质作用于神经原（逆神经分泌）。

环化酶活化，生成细胞内的cAMP而发挥其作用。在此范围内的激素或为多肽，或为氨基酸的衍生物。另一方面，也表现长期效应的那些激素（所谓“继发性”激素）包括所有的化学类别，如多肽、甾体和氨基酸衍生物。它们也有快速效应的特性，不过这些效应显然与细胞内环化核苷酸的浓度无直接关系。这一类的多肽成员，其中包括生长因子，都有细胞表面的受体，能刺激代谢物和离子流动的变化并通过受体引起内陷胞饮作用而进入细胞内部，此外对转译和/或转录也有作用（Bradshaw和Rubin, 1980）。但是对于这类物质，现在还没有搞清任何一种在产生这些效应时的分子基础。

胰岛素相关小组

在“继发性”激素中，有一组与来源于共同原始基因的蛋白质在结构上有关，这点令人特别感到兴趣。这一组包括胰岛素、类胰岛素生长因子（IGF）I与II、神经生长因子（NGF）和松弛素，并称为胰岛素相关小组。如表1所示，这些分子由各种来源和种属中分离而得到。胰岛素已由多种脊椎动物的胰脏中分离并有众多的氨基酸顺序数据

可查 (Dahoff, 1972)。类胰岛素生长因子 I 与 II 最早被鉴定为人血浆中不被胰岛素抗体抑制的类胰岛素活性物质 (Rinderknecht和Humbel, 1976), 只是在顺序分析显示出它与胰岛素的相似性后才获得类胰岛素生长因子的名称 (Rinderknecht和Humbel, 1978a, 1978b)。这些分子也曾根据其各种生物效应被归为生长介质一类 (Daughaday等, 1972)。两种被列为生长介质的大鼠多肽——大鼠碱性生长介质 (Chochinov等, 1977) 和刺激繁殖活力因子 (Dulak和Temin, 1978), 近来根据氨基酸顺序研究说明它们分别和IGF I (Rubin等, 1982) 以及 IGF II (Marquart等, 1981) 十分相似。神经生长因子也从一些来源中获得 (Bradshaw与Young, 1976)。小鼠颌小腺蛋白的全部氨基酸顺序 (Angeletti和Bradshaw, 1971), 眼镜蛇毒因子 (Hogue-Angeletti等, 1976) 和豚鼠前列腺因子 (Rubin和Bradshaw, 1981) 的部份顺序已有报道。从猪 (James等, 1977; Schwabe与McDonald, 1977) 和大鼠黄体 (John等, 1981) 得到的松弛素的结构已经搞清。

表1 胰岛素相关的生长因子

激 素	来 源	靶	活 性
胰岛素	胰脏	肝、脂肪、肌肉	调节血糖
类胰岛素生长因子 I (生长介质 C)	血浆 (人、大鼠)	肝、脂肪、肌肉 软骨、成纤维细胞	骨骼生长、一般营养性刺激
类胰岛素生长因子 II (刺激繁殖活性)	同 IGF I	同 IGF I	同 IGF I
神经生长因子	颌小腺 (小鼠)、 前列腺 (豚鼠、牛)、 蛇毒、培养细胞	交感和某些感觉 神经原	神经生长、 细胞生存力
松弛素	卵巢 (猪、大鼠)	耻骨联合、子宫颈、 子宫	组织调整

在表1中列出的靶组织和它们的总效应也是十分广泛的。这些因子的生理活性由血糖的调节一直到产前生育通道的准备, 这点似乎与它们具有共同的来源是不一致的。但是这种差别在实质上可能比表面上小, 因为在分子水平上它们的作用机制可能很相似 (Bradshaw和Rubin, 1980)。这一家族在结构上的相关性如图2所示。在每一分子中, 标明了相当于胰岛素B链和A链的多肽区域。在所有分子中, 这些区域的位置是互相对应的。此外, 五种分子中的四种具有相同的二硫键结构。只有NGF仅保留了三个二硫键中的一个而与其他分子不同。所有的分子在A、B链之间都具有插入的顺序 (C肽); 不过C肽的长度和功能并不相同。如图2所示 IGF的C肽最短而松弛素的最长 (Hudson等, 1981), NGF和胰岛素原的C肽具有相似的长度并居于上述二者之间。胰岛素原和松弛素原的这一部分在贮存过程中通过限制性水解除去而NGF和IGF则保留单个多肽链的结构。这些加工过程的有无可能与这种激素中各成员在贮存和释放上的差异有关 (Dodson等, 1979)。

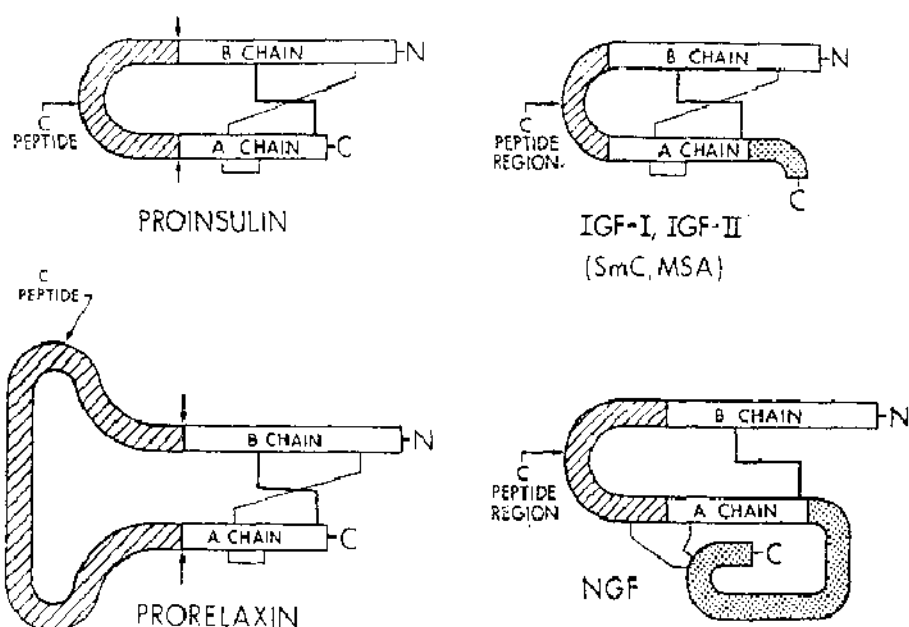


图 2 胰岛素相关激素多肽链的简图

斜线所示的C肽部份通过限制性水解（箭头处）从胰岛素原和松弛素原上除去但不从IGF-I、IGF-II和NGF上除去。点示部份为IGF-I、IGF-II和NGF羧端的延伸。各段的长度大致相当于氨基酸的数目。保守性的二硫键用一根粗线表示，其他二硫键用细线表示。本图所依据的结构数据来源如下：胰岛素原，Oyer等（1971）；IGF I与II，Rinderknecht和Humbel（1978 a, b）；松弛素原，Hudson等（1981）；NGF，Angeletti和Bradshaw（1971）。

在IGF和NGF的羧端还有一段多肽链。它在IGF中虽然较短，但在NGF中是段主要的肽链而且是本类其他成员所没有的二硫键所在地的一部份。NGF分子的这一段对于NGF有别于其他的胰岛素相关生长因子的功能可能有重要作用。

受体的性质

胰岛素相关多肽引起的生物效应起始于靶细胞表面受体-配基专一复合物的形成，这点是没有问题的，它们引起的活性范围很广。有些活性为这类激素所共有，另一些则十分专一（Bradshaw, 1978; Bradshaw和Rubin, 1980; Czech, 1980; Jacobs和Cuatrecasas, 1981; Schwabe等, 1978; Zapf等, 1978）。对胰岛素而言，有证据提示有第二信使以小肽形式放出（Larner等, 1979; Seals和Jarett, 1980; Seals和Czech, 1981）。其他激素尚未看到有类似的现象。

胰岛素、IGF和NGF的受体很易用非离子去垢剂溶解（松弛素在此方面尚无研究）並有各种方法测定其大小和亚基结构（Jacobs和Cuatrecasas, 1981）。对于成年兔上颈神经原的NGF受体所作研究的结果可以说明以上的研究途径，所用的实验方法有两种。第一种是在去垢剂（Triton X-100）平衡的Sephadex柱上鉴定溶解的受体，求出Stoke半径约为70 Å（Costrini和Bradshaw, 1979）。在水和重水中进行蔗糖密度梯度的沉降速度

分析可以测出沉降常数和偏微分比容,通过计算得到 M_r 为 $185,000 \pm 15,000$ (Costrini等, 1979)。第二种途径是用对叠氮苯甲酸N-羧琥珀酰亚胺酯试剂将相同组织的受体与 ^{125}I -NGF交联 (Massague等, 1981b)。这一步骤的流程如图8 (下面的途径) 所示。在图中还总结了标记其他受体所用的类似方法 (当中和上面的途径), 这些方法虽然在NGF受体的研究中是无效的,但应用于其他胰岛素相关因子是成功的 (Jacobs 和 Cuatrecasas, 1981; Massague等1981a)。按以上方式标记的NGF受体在SDS-凝胶电泳和放射自显影中显示出两种不同类型。较大者的 M_r 为148,000而较小者为112,000。假定每一受体只结合一个NGF单体,则受体的分子量应为 $\sim 130,000$ 和 $\sim 100,000$ 。这些数值与流体力学方法测出者十分符合,不过流体力学测定的分辨率尚不足以区别受体的两种形式 (Costrini等, 1979)。用交联实验测出的受体复合物在不产生效应的组织中未曾发现,同时也不被任何NGF以外的配基所置换。对于刺激繁殖活力的受体也有类似的观察 (Massague等, 1981a)。

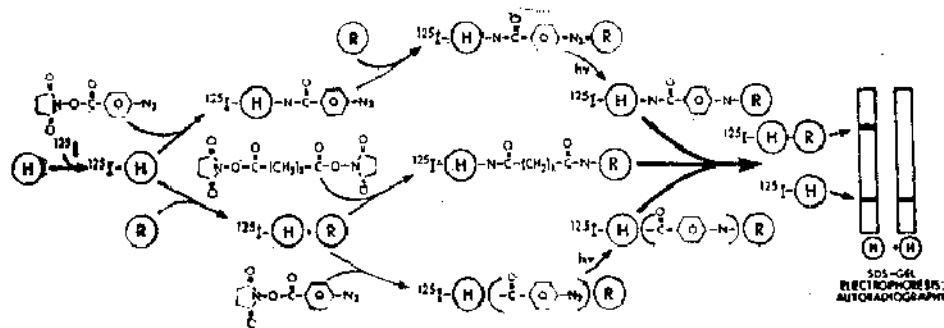


图3 多肽配基H与细胞表面受体R的共价交联

黑点表示形成非共价复合物。有关光活化对叠氮基团的反应除标明 $h\nu$ 者以外均在暗中进行。右侧图表示反应混合物的SDS-凝胶电泳及放射自显影。 $+H$ 和 $-H$ 表示在交联开始前是否存在过量的未标记配基。

在这些实验中标记的两种受体的关系,可用蛋白酶将切下的带通过水解来进一步分析 (Cleveland等, 1977)。在每种情况下得到的主要标记肽的 M_r 均为16,000,此外还有一些中等分子量的次要组份。考虑到两种主要的标记复合物的分布与样品的处理有关,以上结果强烈支持这样的概念,即较小的形式是由较大者在原位或在实验操作中通过酶解而得到。从现有的数据来看,这种转变是否具有生理意义尚难判断。

从NGF受体所得的结果与从胰岛素和IGF受体所得者的比较如图4所示。如果两种NGF受体的关系是正确的,则NGF和IGF都具有由单个肽链组成的结合体。奇怪的是IGF受体比NGF受体大一倍。在此应该指出,初步的证据显示NGF受体可形成二体 (Morgan与Bradshaw, 未发表的观察)。另一方面,胰岛素受体具有极为不同的结构。根据一些实验室的结果 (见 Jacobs和 Cuatrecasas, 1981),看来胰岛素受体由三类多肽 α 、 β 和 β_1 组成 (Massague等, 1980)。 β 和 β_1 的关系看来和NGF两种受体的关系相同

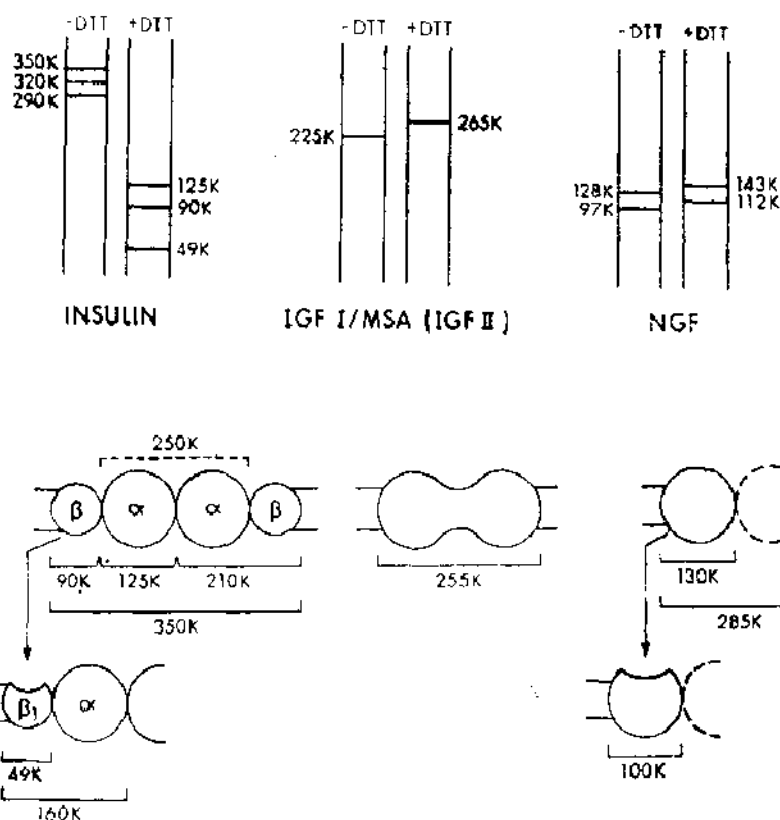


图4 胰岛素, IGF和NGF受体的示意图

上图表示适当交联的激素-受体复合物在DTT存在和不存在时的SDS-凝胶电泳图(经放射自显影后)。数字表示与标准蛋白比较而算出的分子量($K=1000$)。下图表示在原位形式下的受体种类。所示形状的意义见正文的叙述。NGF和IGF受体的模型根据Massague等(1981b)和Massague等(1981a)的研究。胰岛素受体的模型根据Jacobs和Cuatrecasas(1981)总结的几个实验室的结果。

(Massague等, 1981c)。复合物由链间的二硫键维持稳定, 因为用还原剂二硫苏糖醇(DTT)处理后分子量有很大的变化, 不过亚基间相连的二硫桥的准确定位尚不清楚。

如图4所示, 胰岛素、IGF和NGF受体的分子量和亚基数据具有潜在的相似性。这就是说, 胰岛素受体的两条 α 链相当于NGF受体的二体和IGF/MSA受体的双叶结构。在所有亲和标记实验中, α 亚基的标记比 β 亚基更高(Jacobs和Cuatrecasas, 1981), 这一事实表明 α 亚基至少是结合部位的主要部分, 从而支持这样的概念, 即这些受体的识别部分可能有进化上的关系并反映了配基本身的同型结构。然而也可以认为只根据分子量和亚基的结构, 这些分子并无必然的相似性。这意味着各个受体有独立的进化途径, 是一种收敛形式的进化。这种设想引人注意的特点是它不为严格分散的受体和配基的共同进化所局限而有可能大大加速进化的发展。分子水平上的结构分析对于分辨这两种途径是必要的。

结 束 语

虽然了解激素和生长因子细胞表面受体的分子性质对阐明其作用机制是必要的,但是还有其他许多方面也必须搞清楚。在胰岛素相关这类激素的最重要问题中,应搞清以受体为媒介的内陷胞饮而引起的内部化是否为信息传递至靶细胞过程的一部分。虽然这一过程肯定发生(见Goldstein等,1979),但除去溶酶体对激素的降解和细胞表面受体数目的调节以外,其他的生物功能尚有很大的争论。在提出的内部作用的可能性中包括配基(或其片段)与内部受体的相互作用,质膜受体(或其改变的形式)至细胞内的移位或从配基或受体产生能活化(或抑制)细胞内机器的第二信使,其方式类似cAMP与敏感的激酶的相互作用。细胞内受体的各种观察进一步加强了这些可能性(Bradshaw和Rubin,1980)。看来解决这些基础性的问题,肯定不仅需要蛋白质化学的技巧,而且也需要分子和细胞生物学的整套新技术。(张友尚译)

参 考 文 献

- Angeletti, R. H., and Bradshaw, R. A. (1971). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 68, 2417.
- Bradshaw, R. A. (1978). *Annu. Rev. Biochem.* 47, 191.
- Bradshaw, R. A., and Niall, H. D. (1978). *Trends in Biochemical Sciences* 3, 274.
- Bradshaw, R. A., and Rubin, J. S. (1980). *J. Supramolecular Struc.* 14, 183.
- Bradshaw, R. A., and Young, M. (1976). *Biochemical pharm.* 25, 1445.
- Chochinov, R. H., Mariz, I. K., and Daughaday, W. H. (1977). *Endocrinology* 100, 549.
- Cleveland, D. W., Fisher, S. G., Kirshner, M. E., and Laemmli, U. K. (1977). *J. Biol. Chem.* 252, 1102.
- Costrini, N. V., and Bradshaw, R. A. (1979). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76, 8242.
- Costrini, N. V., Kogan, M., Kukreja, K., and Bradshaw, R. A. (1979). *J. Biol. Chem.* 254, 11242.
- Czech, M. P. (1980). *Diabetes (NY)* 29, 89.
- Daughaday, W. H., Hall, K., Raben, M. S., Salmon, W. D. Jr., Van den Brande, J. L., and van Wyk, J. J. (1972). *Nature* 235, 107.
- Dayhoff, M. O. (1972). "Atlas of Protein Sequence and Structure," Vol. 5. National Biomedical Research Foundation, Washington D. C.
- Dodson, G. G., Isaacs, N., Bradshaw, R. A., and Niall, H. D. (1980). In "Insulin, Chemistry, Structure and Function of Insulin and Related Hormones" (D. Brandenburg and A. Wollmer, eds.), P. 695. Walter de Gruyter pub., Berlin.
- Dulak, N. C., and Temin, H. M. (1978). *J. Cell Physiol.* 81, 161.
- Goldstein, J. L., Anderson, R. G. W., and Brown, M. S. (1979). *Nature* 279, 679.
- Hendry, I. A., and Hill, C. E. (1980). *Nature* 287, 647.

- Hogue-Angeletti, R. A., Frazier, W. A., Jacobs, J. W., Niall, H. D., and Bradshaw, R. A. (1976). *Biochemistry* 15, 26.
- Hudson, P., Haley, J., Cronk, M., Shine, J., and Niall, H. (1981). *Nature* 291, 127.
- Jacobs, S., and Cuatrecasas, P. (1981). *Endocrine Reviews* 2, 251.
- James, R., Niall, H., Kwok, S., and Bryant-Greenwood, G. (1977). *Nature* 267, 544.
- John, M. J., Walsh, J. R., Borgesson, B. W., and Niall, H. D. (1981). *Endocrinology* 108, 726.
- Larner, J., Galasko, G., Cheung, K., DePaoli-Roach, A. A., Huang, L., Daggy, P., and Kellog, L. (1979). *Science* 206, 1408.
- LeRoith, D., Shiloach, J., Roth, J., and Lesniak, M. A. (1980). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 6184.
- Leroith, D., Shiloach, J., Roth, J., and Lesniak, M. A. (1981). *J. Biol. Chem.* 256, 6533.
- Markelonis, G., and Oh, T. H. (1979). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 2470.
- Marquardt, H., Todaro, G. J., Henderson, L. E., and Oroszlan, S. (1981). *J. Biol. Chem.* 256, 6859.
- Massague, J., Pilch, P. F., and Czech, M. P. (1980). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 7187.
- Massague, J., Guillelte, B. J., and Czech, M. P. (1981a). *J. Biol. Chem.* 256, 2122.
- Massague, J., Guillelte, B. J., Czech, M. P., Morgan, C. J., and Bradshaw, R. A. (1981b). *J. Biol. Chem.* 256, 9419.
- Massague, J., Pilch, P. F., and Czech, M. P. (1981c). *J. Biol. Chem.* 256, 8182.
- Oyer, P. E., Cho, S., Peterson, J. D., and Steiner, D. F. (1971). *J. Biol. Chem.* 246, 1875.
- Rinderknecht, E., and Humbel, R. E. (1976). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 2865.
- Rinderknecht, E., and Humbel, R. E. (1978a). *J. Biol. Chem.* 253, 2769.
- Rinderknecht, E., and Humbel, R. E. (1978b). *FEBS Letters* 89, 288.
- Robison, G. A., Butcher, R. W., and Sutherland, E. W. (1971). "Cyclic AMP", P. 17. Academic Press, New York.
- Rubin, J. S., and Bradshaw, R. A. (1981). *J. Neuroscience Res.* 6, 451.
- Rubin, J. S., Mariz, I. K., Jacobs, J. W., Daughaday, W. H., and Bradshaw, R. A. (1982). *Endocrinology* 110, 734.
- Schwabe, C., and McDonald, J. K. (1977). *Science* 197, 914.
- Schwabe, C., Steinetz, B., Weiss, G., Segaloff, A., McDonald, J. K., O'Byrne, E., Hochman, J., Carriere, B., and Goldsmith, L. (1978). *Rec. Prog. Hor. Res.* 84, 128.
- Seals, J. R., and Czech, M. P. (1981). *J. Biol. Chem.* 256, 2894.
- Seals, J. R., and Jarett, L. (1980). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 77.
- Zapf, J., Rinderknecht, E., Humbel, R. E., and Froesch, E. R. (1978). *Metabolism* 27, 1808.

胰岛素及其类似物的半合成

张友尚

中国科学院上海生物化学研究所

天然的蛋白质分子是在长期进化过程中形成的产物，具有专一的生物功能。通过结构分析，它们可以分为一条条链或结构区域。利用合成途径研究天然蛋白质分子及其衍生物，如胰岛素及其类似物的结构与功能，半合成方法是非常有效的。在本文中“合成”表示共价键的形成，与形成非共价键的“装配”或“组合”不同。在这个意义上，核糖核酸酶S-蛋白与S-肽的结合不算是一种合成反应。在“半合成”中，反应物之一来源于天然蛋白质的肽段。

在牛胰岛素全合成以前，先完成的是合成的链和相应的天然链之间的半合成。这种半合成是通向全合成的重要步骤。后来，半合成也用来制备不同种属间的杂交胰岛素以及由一根天然链和另一根改变的合成链所组成的胰岛素类似物。利用这一方式，每根链在胰岛素活性中的作用可以分别地加以研究。

在1971年，本实验室研究出一种包括肽键生成的半合成方法并用它制备了一系列B链羧端改变的胰岛素类似物(Shanghai Insulin Research Group, 1978; Chu等, 1978)，胰岛素的这一部分在受体结合以及在结合反应中表现的负协同效应方面被认为是重要的(DeMeys等, 1978)。后来，这一方法的应用有所扩大(Zhu等, 1981)同时酶促半合成也成功地得到了应用(Cao等, 1981)。通过半合成途径，胰岛素这一部分结构与生物功能的关系进一步被确定(Zhang, 1980)。

一、方 法 学

(一) 生成二硫键的半合成

如前所述，这一方法(Du等, 1961)在胰岛素化学合成中成功地得到了应用。在半合成以前，有关的共价键必须专一地断开并变为一种稳定而可逆的形式。使二硫键断开而得到单个的链，亚硫酸解后的温和氧化符合上述的要求(Bailey和Cole, 1959)。在以上反应中，只有二硫键被断开。以-S-SO₃形式存在的单个链是稳定的。易溶于水并易被巯基化合物还原成-SH型(Swan, 1957)。此外还可以进行不对称合成以减少相同链之间的结合(Du等, 1961)。在顺序分析中常用的过甲酸氧化或还原后的羧甲基化由于其不可逆性而不适用于半合成。单纯还原为-SH型也不令人满意，因为-SH型很易氧化，特别是在中性和碱性溶液中，使随后的分离过程十分困难。上述生成二硫键的半合成除在胰岛素工作中广泛应用外，近来也应用于在二硫键结构上与胰岛素类似的松弛素的合成(Treager等, 1981)。