

国外分子生物学研究

专 集

1979

增 刊 (二)

科学技术文献出版社重庆分社

生物科学动态

· 新 书 预 告 ·

我所已出版一书：“怎样阅读医学科技日语”。100页，定价0.55元。（全国新书目146期登载）

本书是学习日语的自修参考读物。内容包括：

1. 从最近出版的日语医学书刊中选出的六篇文献的原文，汉译及详尽注释；
2. 日语外来语拼写规律及“来源于英语的外来语还原表”；
3. 日语查字典方法及“日语用言还原表”；
4. 日语惯用语及“常见惯用语表”（惯用语共513条）

读者对象：初具日语基本知识、靠字典阅读翻译日语医学文献的读者，其它专业人员。

需要者，可逕向重庆市2104信箱发行组联系购书。

开户银行：重庆市七星岗分理处；帐号：894544。

国外分子生物学研究专集

（生物科学动态增刊）

中国科学技术情报研究所重庆分所	编 辑
科学技术文献出版社重庆分社	出 版
重庆市市中区胜利路91号	
四川省新华书店重庆发行所	发 行
科学技术文献出版社重庆分社印刷厂	印 刷
开本：787×1092毫米 1/16	印张：13.625字数：35万
1979年12月第一版	1979年12月第一次印刷
科技新书目：143—86	印数：5450

书号：13176·58

定价：1.40元

国外分子生物学研究专集

1979年

(生物科学动态)

增刊

目 录

苏联分子生物学形成和发展的诸阶段	В. А. Энгельгарт (1)
分子生物学的基础研究——与医学的关系	М. F. Perutz (6)
癌病毒的分子生物学	原田 文夫 (13)
光合作用内源调节的分子生物学观点	В. Е. Семенов (22)
分子生物学为植物栽培和育种服务	Б. А. Рубин (34)
生物膜的结构及其功能	张贵寅 (42)
膜结构的探针	Н. С. Andersen (49)
细胞膜的分子结构	藤田 道也 (60)
淋巴细胞表面结构动力学	F. Loor (67)
肿瘤细胞表面结构的动力学及其改变	G. L. Nicolson (77)
细胞性粘菌的细胞分化是如何调节的?	
——用分子生物学研究细胞分化的新途径	田矢 译一 (88)
球蛋白的结构规律	G. E. Schulz (94)
胶原结构与代谢	厉朝龙 (105)
核糖核酸与寡核苷酸的合成	张恭勤 (113)
核苷酸和寡核苷酸衍生物——分子生物学研究工具	М. А. Прокофьев等 (131)
三磷酸腺苷合成酶的结构与功能	D. C. Gautheron (141)
酶的体外合成——微生物产酶的生理状况	T. Enatsu等 (149)
真核生物染色体结构组织的三级水平	Г. П. Георгиев等 (166)
染色质的结构	R. D. Kornberg (184)
化学感受的分子机制	栗原 坚三 (196)

简 讯

测定蛋白质分子量的 SDS-聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳法及其可靠性 (200);
利用聚丙烯酰胺凝胶电泳作 $5'-(^{31}\text{P})$ 标记的 mRNA 和 tRNA 的序列分析 (206);
分子分类学——皮肤胺脂多肽在两栖类分类中的应用 (5)

研 究 所 介 绍

罗歇分子生物学研究所 (214)

名 词 解 释

核糖核酸噬菌体(104); 游离体, 核酸外切酶, 缺失, 修复机理(140); 阻遏(148);
简并密码(183); 变偶假说(195); β -折叠片(205);

苏联分子生物学形成和发展的诸阶段

В. А. Энгельгарт

值此建国60周年之际，拟阐述一下我国最年青的知识分支之一——分子生物学的发展道路。

在本文的阐述中，作者认为应该适当地注意继承性因素，因为正是这些继承性因素把分子生物学的发展和那些在历史上先行的、传统的学科（其中首先是生物化学、实验生物学、生理学）紧密地连系起来。这些学科提供了这样一种土壤，它保证了以后的分子生物学的根子的形成；这些学科还决定了嗣后的分子生物学的发展史。

理所当然，本文只能提及不多的几项科学大事；提及这些科学大事，人们就可以看清它们与分子生物学的嗣后形成有着相互连系。但是由于本文介绍的范围极为集中，所以有许多学科（虽然有时也极为重要），例如生命起源学说、工业生化学等等，只好不予介绍了。

应当首先提到 Алексей Николаевич Бах 的名字，他是在伟大十月革命后最初的几年里生物化学形成的真正创始者，因而似可算是我国现代分子生物学的始祖。早在1921年，当国内战争的余音犹在绕梁之际，在那极为困难的年头，由 А.Н. Бах 发起，创立了第一批科学研究中心之一——保健人民委员部生物化学研究所。

与生物化学研究所一起设置的尚有以 Л. Я. Карпов 的名字命名的物理化学研究所，和由 Н.К. Кольцов 创立与主持的实验生物学研究所。

这两个研究所是从化学、物理学和生物学角度研究生物的最早的两个研究中心。它们的实验大楼是紧挨着的，还应当补充

是，它们在科学研究上是紧密合作的，这就自然而然地表明，这里存在着某种程度的预见性，它们可预见到不久的将来，有时几乎是预见到半个世纪之后。

领导保健人民委员部生物化学研究所的是 А.Н. Бах，他是苏联酶学当之无愧的创始者。生物催化研究即酶学研究从此立足于生物界生物化学动力学的基础之上了。

Н.К. Кальцов 主持的研究所是另一个中心，由此发展出两条其它的、但同样重要的生物学研究路线。其一是物理化学路线，这条路线对于分子生物学的整个形成和发展过程都起过决定性的作用。这是科学进展的两条重要路线之一。另一条路线也是完全独立而范围广阔的学科，那就是遗传学。在 Кальцов 的研究所中发展起来的遗传学，是我国遗传学后来发展的核心。

本文作者可以用亲身经历证明，正是 Н.К. Кальцов 工作中的这一领域实现了把当时的（就时间上来说则是最近的）生物科学中的两个基本概念加以出色的综合，其中一个概念是假定，生物分子（当时认为是蛋白质）能够作为活质全部最重要特性即遗传现象的载体。此外，嗣后的分子生物学的精髓，即生物学功能是大分子结构的结果，结构与功能是不可分离地统一的，在由 Кальцов 大胆的直观构想所提出的染色体结构模式中已经奠定了基础。

从保健人民委员部所属的这两个血缘相近的生物研究所就是这样地生长和发育出实验生物学研究的三支洪流：酶学（生物化学的基础）、遗传学和物理化学生物学。

按年代次序而论，作为一个阶段的代表

作，应当提到当时优秀的巨著《原生质化学》一书的问世，这是А.Р.Кизель的专著。

Кизель是一位学识渊博的学者兼教育家，他在莫斯科大学创立了自己的学派。这是一位对自己对学生都高度严格要求的实验工作者。在国立莫斯科大学中的Кизель实验室，还对两类最重要的核酸——植物核酸（或称酵母核酸）和动物核酸——的化学与生物学鉴定发表了大量的论文，那时所谓植物核酸与动物核酸的成对核酸，相当于现今的RNA和DNA这样的成对核酸。在Кизель和А.Н.Белозерский的许多论文中已经观察到，被认为具有动物有机体属性的胸腺核酸（即现今的DNA）也可见之于所有的植物性研究材料之中。对于核酸化学以后的整个发展，这一发现当然具有极为重要的意义。

对于每一个学科来说，为该学科所专有的定期出版机构的建立是确实具有“阶段”意义的事件。对于生物化学来说，这件事发生在1936年，当时开始出版了《生物化学》杂志，该刊问世迄今已达40余年，篇幅较之创刊时大为扩增。

按年序，我们要谈到一件大事，这件大事对于我国生理学研究的发展、同时也对生物化学研究的发展颇为重要，那就是1935年在列宁格勒与莫斯科举行的国际生理学会议。那时在国际机构中尚未将生理学与生物化学（或如当时所称呼的生理化学）分开来；在以后的时期中它们才被分开。但是在当时实际上生物化学工作者已经自发地组成一个独立的学会。

对分子生物学中重要一章（即生物催化学说）的发展作出重大贡献的是А.Е.Браунштейн，他和М.Г.Крицман一起发现了完全新型的酶促反应，也就是化学基团在分子间的转移，以А.Е.Браунштейн在氨基方面所证实的为例，氨基在转氨酶的作用下似乎能够在氨基酸和酮酸之间保持平衡。

此项工作已获得国家奖金，我们有充分理由把它看作是我国科学在其认识活物质化学动力学方面的重要形成阶段。由此项发现而发展起来的一系列研究在近年来结出了硕果，关于这一点，下文还要谈到。

活体的最重要功能之一（这种功能实际上无处不在）是它们能够运动和做机械功。由于研究了肌肉运动的功能，因而对于保证这一功能的生物学机理的分子基础的认识，创立了良好的方法。在主要的收缩性肌肉蛋白即肌动球蛋白方面发现了三磷酸腺苷的酶促性质，这就使得有可能形成关于机械化学过程的基本概念。

反法西斯胜利之后，我国科学又获得了高速度的发展。

1961，在莫斯科曾召开了第五次国际生物化学会议，集中了约四千名会议参加者。这次会议成了我国用物理-化学方法研究生命现象的发展进程中的真正分水岭。这次会议大大推动了苏联分子生物学研究的开展。会议参加者们亲耳听到了奠定分子生物学开始高速度发展之基础的最初一批辉煌胜利。我们在Дж.Уотсон和Ф.Крик的报告中听到了DNA双螺旋结构的发现。

在这次国际生物化学会议上茁壮显露出来的科学苗子降落到了准备好迎接它的土壤上。我国早在开会前，就已经采取了措施来开展新方向的生物学研究。在1959年，科学院主席团提议成立专门的研究中心。起初，它具有别的名称——“放射及物理化学生物化学研究所”，但过些时就被授与现在的名称——分子生物化学研究所。

在放射及物理化学生物化学研究所创立之后，又兴建了任务和方向相近的第二个科学中心——天然化合物化学研究所，这个研究所也经历过名称的变化：现在它更名为生物有机化学研究所。这两个研究所紧靠在一起，位于同一座大楼之中。

显然，要办好事情，须有一个组织中心，来将各地孤立分散的工作者的努力协调起

来,将大部分渴望献出自己的力量到这个新的、诱人的、但又不熟悉的领域中的年青工作者的努力协调起来。分子生物学课题学术委员会就是这样—一个中心。

该学术委员会曾经提出了大量的建议,为开始在分子生物学领域,在这个最有前途的科学方向上工作的学者们提出指导。该学术委员会广泛发出的那些建议,在新的潜在的工作中心(特别是地方性的工作中心)中,对于最初阶段开展研究工作的困难的克服,起了重要的作用。

随之就进行了紧张的出版活动。向权威的作者们进行了系统的组稿,很多专著出版问世了,这些专著实际上包括了分子生物学的所有最重要部分,提供了该学科现状的极有价值的资料。

这一组织工作——研究所的创立,学术委员会的工作——很快就产生了丰硕成果。在完全缺乏科学基础工作的情况下,从零开始,А.А.Баев及其同事们在短期内,并在整个方面都落后美国两年的情况下(那些年美国在科学技术设备方面远远超过我们),揭示了一种核酸的全部化学结构,这种核酸属于所谓运载核酸(транспортная нуклеиновая кислота)。这是在种类繁多的核酸中化学结构已被搞清的第二种RNA(第一种是在美国搞清的);在我们这个大陆上,这是第一次实现的。这项工作曾获国家奖金。

上面谈到,学科专门出版机构的出现是学科形成的重要阶段。在由以前的生物化学生长出来的新学科方面也是这样。从1967年起就开始出版《分子生物学》杂志。这些年来它的篇幅增加了半倍;它已进入了第二个十年。除了俄文版以外,该杂志还出版了英文全译版。接着又开始出版另一份杂志,该杂志涉及相毗邻的领域,具有更明显的化学倾向性,那就是《生物有机化学》。

当然,国家对于这个研究领域给予特别注意,这一点具有双重的重要性:一方面是提出了严肃的任务,另一方面是为新的课题建

立系统的协作和充分提供干部的配备等等。

不用说分子生物学的中心任务之一是重要的生物学对象,其中首先是蛋白质与核酸的化学结构的提出,然后是物理学结构即三维结构的提出。除此之外,查明各类亚细胞结构具有重要意义,这些结构最初照例都是按它们所执行的功能来鉴定的,然后才进行深一层次的理化分析。这一类亚细胞结构的形成物数目已属相当可观,仅举几例就足以说明,首先是染色体,其次是生物能量供应中枢的线粒体,再次是核糖体(它们是蛋白质分子合成的工厂),还有遗传工程的素材——游离基因和质体等等。

苏联的研究人员在这个领域中也有所贡献。他们发现了特殊亚细胞结构的形成物,这些形成物在遗传信息的空间转移,即细胞内转运的现象中,完成特异的、也是很重要的作用。这些特殊的形成物,据描述有一些处于细胞核中,另一些则处于细胞质中,这是由А.С.Спирин及其同事,和Г.П.Георгиев及其同事研究出来的。

除了在上文我提到的在揭示一种核酸一级结构的成就外,还有一系列类似的巨大成就,那就是认识生物学重要蛋白质的化学结构。在这方面居首位的无疑是一种巨分子蛋白质结构的弄清,这种蛋白质是氮代谢的重要酶类之一(这类酶是在当时由А.Е.Браунштейн在上述的工作中所发现的),也就是转氨酶类中的一种。这项成就是在两个研究所的学者小组的联合工作中达成的,一个研究所是分子生物学研究所,在А.Е.Браунштейн领导下获得了足量的、纯化到单一水平的酶制剂,并进行了首批实验,将分子破碎到可供分析的碎片;另一个研究所是生物有机化学研究所,在Ю.А.Овчинников领导下完成了全部决定性的分析进程。结果,此种巨蛋白质的全部氨基酸顺序得到了确定,它是由412个氨基酸残基构成的。

在随后的年月中也获得了这类研究的一系列成果,它们包括分子量差别很大的大量

不同的蛋白质，由于它们的生理功能多种多样而具有很大意义。所有这些蛋白质的一级结构已由生物有机化学研究所的工作而得以确定。

对于各种酶来说，认识蛋白质分子的化学结构即所谓一级结构不管如何重要，但是随后而来的那个完善阶段却仍然还是认识蛋白质分子的物理构形，即它的三维立体结构。在这一条道路上，我国分子生物学也取得了重要成就。Н.С. Андреева的工作取得了巨大的成就，她的工作是花费了几年顽强劳动的。她获得了最重要的消化酶之一——胃蛋白酶的分子三维结构的完整图象，分辨力为 $2.7\text{ \AA}$ 。

在А.Е. Браунштейн实验室中（由Торчинский具体执行）研究一级结构业已确定的那种转氨酶的三维结构的工作已经进入完成阶段，可以把该项工作看作是上文提及的几种研究路线的一个综合。目前利用其它来源的酶，即从鸡心提取的酶，业已获得了结晶样品，适于作伦琴结构研究。

在科学的发展中，它有时提出了任务，但是它的解决则因技术所限并非个别承担的研究中心力所能及。出路就在于通过若干参加者的严格安排的联合行动，每一参加者承担一定的、明确的任务，其总任务，即各项任务的总和应当保证最终任务的完成。已定名为“复原酶”方案（«Проект «Ревертаза»»）的实行就可以作为这类措施（严格规定的协作）的例子。

这个方案涉及这样一项实验研究的进行，那就是研究不久前发现的所谓“逆转录酶”，或如我们所简称的那样，“复原酶”。大体上可以这样说：这种酶很快就引起了极大的注意，因为它导致若干遗传学基本信条的修改，并使基因的试管内合成得以实现，等等。颁发诺贝尔奖金给它的发现者可以证实它的意义之重大。这一发现常被认为是揭开遗传密码或查明DNA双螺旋结构之后的最重要事件。

为了获得这种酶并用它来进行研究，需要一整套的专门试剂和样品，它们每一种都是极难弄到的，而对于大多数实验来说实际上是弄不到的。在这里，许多被吸收到该“方案”中的合作成员（他们每人都能解决一部分任务）的共同协商原则就来帮忙了。

德意志民主共和国的学者们制备了高活性的同位素标记的ATP制品，并将它们提供给该方案参加者；诺沃西比尔斯克合成了所需要的单体结合物；莫斯科制备了雏鸡病毒，由该病毒可分离出逆转录酶；而Рига则制备了该酶活性的抑制物，等等。结果，在两年的时间中，就已经保证能够在莫斯科的这个协调中心制备出实验工作所需要的成套组分。成套组分在方案参加者之间分发。应当指出，在美国，比我国迟两年，工业才开始生产同一类的成套组分，美国的一套组分由商店定价为1000美元。

由于取得了上述成就，便有条件广泛地开展研究工作，在最近几年里，该方案的参加者已经发表了约50篇论文，其中包括有价值的科学资料。最近，从诺沃西比尔斯克传来了极其令人振奋的报导。在细胞学与遗传学研究所里，Р.И. Салганик及其同事已发现了该酶的新来源：代替极端缺乏的原始材料（原始材料要用养鸡场专门孵育的数以千计的两天龄小鸡），如今已可以由大肠杆菌获得该酶的制品。

毫无疑问，成果是不会使自己长久默默无闻的，到时候复原酶的获得势必引起经济的完全改造，它对解决遗传工程的最重要任务，具有越来越重要的意义，所谓遗传工程，是分子生物学最年青、迅速发展的新分支。这是分子生物学发展的最近的、也是最新的阶段。关于遗传工程，我们下文还要提到，但首先要在这里提及的是这样一些还足以说明它能够起到很大实践作用的观察，这就是分子生物学研究如何应用于解决农业中的实际问题。

大家都知道，在医学和保健领域中，近年

来所谓的染色体服务具有重要意义,那就是在居民中广泛进行个别染色体装置图 的 确定。这就能够提供建议来预防在可能的后代中发生遗传病的危险。

如今,在科学院与列宁全苏农业科学院系统,由 А. Б. Иорданский 所进行的研究中,在一种特别重要的农业植物方面也获得了类似的结果,那就是黑麦与小麦的杂种,即所谓小黑麦。在研究出这两种禾本科植物每一个染色体的各别特征之后,可以说在获得了它们的个人身份证或高兴的话称它“指印”之后,就能够在杂种中准确地确定,它的哪一些染色体属于双亲之一,譬如小麦,而哪一些则属于另一个亲本——黑麦。

展现在我们面前的是一幅诱人的前景:在植物性的、经济上重要的研究对象的领域中也实现染色体服务,为的是利用迅速、准确的染色体分析方法来取代那些长年累月的

无性试验而达到选种的目的,在栽培植物领域中建立染色体服务。这才真正是重要的阶段。

最后,我们回到遗传工程上来,可以不必再谈分子生物学中这个最年青分支的重要性与前景了。在这方面,在当前的报章上,从最广泛的出版物、报纸和大众杂志,直到最专业性的出版物和杂志,已经写了不少。我们所要强调的仅仅是,特别紧密地汇集于这一新的领域中的是如下两方面的任务:一方面是最重要的基础理论的研究,另一方面是解决极其不同的领域中(肿瘤学和农业、治疗医学、特别是其中的内分泌学)的包罗万象的实际课题。我们能够满意地指出,这方面的工作已在我国积极地发展了起来。

傅文庆译自《Изв.Акад.Наук СССР》“Серия Биолог.”1978, 5, 661—667. 傅杰青校

分子分类学——皮肤胺和多肽在两栖类分类中的应用

近年来,皮肤胺和多肽应用于两栖类分类研究受到重视。早在1962年,Wittliff就报导用蟾蜍皮肤分泌物来区别种和杂种。用南美和中美两栖类皮肤的胺和多肽进行分类,在他所研究的两栖类中就有五种不同的多肽和十种胺,对这些两栖动物的分类提供了有价值的结果。

不同的无尾类群(包括分布在新热带的五个科,即细趾蟾科、角根蟾科、蟾蜍科、雨蛙科和蛙科,共90种无尾两栖类)都可以用其特有的物质来表征,例如含有吲哚基、酚基和咪唑烷基胺这一类的多肽。在同一种间这些表征的多肽没有两性差异及季节变异。

原始细趾蟾科皮肤缺少或仅含少量的生物学活性多肽和胺。观察的属包括鳞趾蟾属、盾头蟾属、游趾蟾属、池蟾属、蛙蟾属、暗胸蟾属、胯腺蟾属和声蟾属。

细趾蟾亚科包括的种属也缺少多肽和胺。如侧蟾属仅含少量的粘鸭芳灵(含量为2—25μg/克干皮肤)。偶然含有5-羟色胺(侧蟾的基部腺中含量为200—250μg/克,也缺少生物活性的多肽。腹囊蟾属缺少胺,但含大量的Physalaemin(一种类似eleidosin的多肽,能降低血压和刺激血管平滑肌的物质)。

细趾蟾属的皮肤中虽缺少多肽,但含有一个与甲酸同系列的胺。从这个胺的光谱可以看出不同种的光谱是不同的。从光谱可以把细趾蟾科区分出三个种群,第一种群又可分三类:Cavicola 缺胺,Platimantis 含有大量的粘鸭芳灵和吲哚烷基胺,Pachypus 含皮肤胺,并且由皮肤胺的鉴定又可以区分完全符合形态特征的二个亚属:一是由 *L. ocellatus*, *L. chaquensis* 和 *L. bolivianus* 为代表含大量苯基烷基胺(以粘鸭芳灵为例,每克干组织含9000μg),但没有吲哚烷基胺和咪唑烷基胺;二是由 *L. pentadactylus* 和 *L. laoficeps* 为代表,在雄性动物的胸部都具有特殊的角质垫,它们缺乏苯基烷基胺,但含大量吲哚烷基胺(包括组织胺、N-甲基组织胺和N,N-一二甲基组织胺,角鲨胺和6-甲基角鲨胺),并且能在三个 *L. pentadactylus* 的亚种之间,作出清晰的生物化学区分。(下转第12页)

分子生物学的基础研究 ——与医学的关系

M. F. Perutz

分子生物学已经给予我们认识许多重要的临床现象的新见识；它指出了治疗某些疾病的新途径，并提供了检验化学致癌物质的灵敏的新方法。这些应用都不是事先预见到的。

分子生物学由于它不能治疗疾病有时被认为是毫无医学意义。这种情况与一百年前对组织学的看法相似。那时，细胞解剖学和细胞病理学开始改善人们对许多疾病的认识。现在，分子解剖学和分子病理学又大大加深了人们的认识。以下面四个不同的研究领域为例来说明这个题目。前两个例子是关于蛋白质的结构与功能；后两个例子是关于分子遗传学。首先说明了有关蛋白质水解酶的结构的研究如何加深了人们对血液凝固以及消化有关的其他重要功能的认识。其次阐明血红蛋白的结构研究如何改善了人们对遗传疾病的认识，以及有关血红蛋白的自氧化作用的基础研究怎样开辟了一条治疗某些遗传性贫血的途径。后两个题目与紫外光和化学致癌物对核酸的影响及其与人类癌症的关系有关。最后谈一谈为了其医学应用从一开始就有计划地开展这种研究。

蛋白酶及其抑制剂

在五十年代，酶的结构和催化机理被列为生物化学中未解决的重大的问题之一。当时，B. C. Hartley 和 D. M. Blow 只是由于认为蛋白酶（胰凝乳蛋白酶）是一个最有希望攻克和最引人感兴趣的题目而开始这种酶

的研究。胰凝乳蛋白酶与胰脏的其他两种蛋白酶（胰蛋白酶和弹性蛋白酶）的关系十分密切。胰凝乳蛋白酶能迅速切断带有芳族侧链的氨基酸的肽键；胰蛋白酶则切断硷性侧链的肽键；弹性蛋白酶则切断具有极短侧链的氨基酸的肽键。这三种酶均以无活性的前体形式（胰凝乳蛋白酶原、胰蛋白酶原和弹性蛋白酶原）分泌入空肠；这三种前体都能被胰蛋白酶激活。

胰脏还能制造一种小蛋白质，它能清除和抑制少量的游离活化胰蛋白酶。这种小蛋白质是胰蛋白酶的抑制剂。

Hartley 等人测定了胰凝乳蛋白酶和胰凝乳蛋白酶原的氨基酸序列，而Blow等人则用X-射线分析方法解决了胰凝乳蛋白酶的三维结构。随后其他研究者又搞清了胰凝乳蛋白酶原、胰蛋白酶、弹性硬蛋白酶、胰蛋白酶抑制剂和胰蛋白酶-胰蛋白酶抑制剂复合物的三维结构。Blow 和 Hartley 等人一起阐明了酶活化和催化机理，而Huber和Blow则阐明了抑制作用的机理。

胰凝乳蛋白酶是由三条分开的链中的242个氨基酸残基所组成的。这三条链靠着二硫键连结在一起。其活性位置含有并列的丝氨酸、组氨酸和天冬氨酸盐，这样，质子可以在它们之间来回移动，形成所谓电荷接力系统。

底物系由活性位置附近的囊状结构加以识别。底物的组成使之能先吸住氨基酸侧链，然后再断开肽键。在无活性的前体中，特异性囊状结构是关闭的。胰蛋白酶通过断

开前体的分子链，打开囊状结构，而使前体活化。胰脏的胰蛋白酶抑制剂却模仿底物的作用，送给酶一个能被其特异性囊状结构识别的侧链，但跟着这个侧链后面的肽键则与水隔开，因而酶就不能断开它。相反，抑制剂紧紧地吸附着酶，其吸附位置与在催化起始的中间阶段底物瞬间占据的位置很相似。

1969年首先搞清了胰凝乳蛋白酶的活化、识别和催化机理。1972年又阐明了胰蛋白酶抑制剂阻遏胰蛋白酶的方式；随后又搞清了其机理的详细过程。目前已发现至少有四种其他功能（血液凝固、血块的溶解、抗原和抗体络合物的互补结合以及用释放降血压素来降低血压）也同样具有活化、识别、催化和抑制的机理。通过释放血管紧张肽提高血压，也是由于一种蛋白酶（血管紧张肽原酶）的缘故，而血管紧张肽原酶是一种与胃蛋白酶有关的酸性蛋白酶，其结构还未搞清楚。蛋白质水解酶及其抑制剂的相互作用看来在退化性疾病（如肺气肿和风湿性关节炎）方面也很重要。

对血小板的适当刺激，引起了具有高度粘性的血液凝固的连续反应。血液凝固是由于一联串蛋白酶及附属的蛋白质作用的结果。其目的是激活凝血酶，并使它从血小板释放出来，进入血浆（图1）。现在已查清，部份凝血酶分子具有与胰蛋白酶几乎相同的结构；在凝血因子XIa、IXa和Xa中，部份氨基酸序列现在已被分析清楚，它们与胰蛋白酶的序列也很相似。这些酶的每个前体在血液凝固过程级联中被上述酶激活，其激活机理与胰蛋白酶打开胰蛋白酶原或胰凝乳蛋白酶原的特异性囊状结构的机理相同，对水解肽键来说，每个酶都具有相同的电荷接力系统。血凝级联机能还取决于钙离子的存在和充足的维生素K的营养。

血凝因子具有胰脏酶系所缺乏的某些精确性。其特异性可能更高，血凝因子不是在自由溶液（因为它在自由溶液中分散太大），而是在血小板的磷脂膜的表面上（它们成群

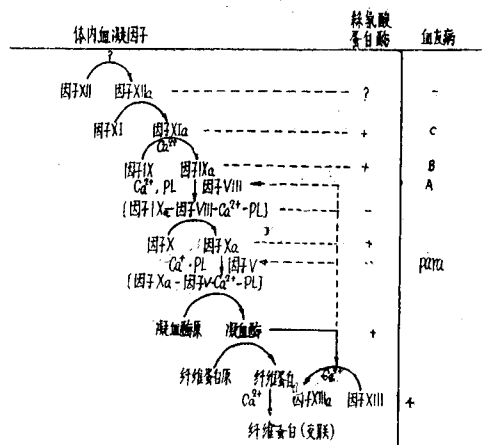


图1 体内血凝因子的级联。〔+〕此记号表示与胰蛋白酶相似的酶（引自Davie和Kirby氏的论文）

地聚集在那里）被激活。凝血酶原（凝血酶的前体）具有胰蛋白酶原中没有发现的、额外的274个氨基酸。这些氨基酸形成“联接物”，只有在有钙离子时，使凝血酶原与磷脂膜相结合。在Xa因子激活下，“联接物”断开，把凝血酶释放入血浆。最近，人们对钙离子的作用及其与维生素K的依存关系的认识已取得很大进展。业已发现，钙离子通过10个γ-羧基谷氨酸残基与凝血酶原相结合。10个γ-羧基谷氨酸残基位于分子链的氨基末端。是在凝血酶原的多肽链于肝脏内合成之后，通过酶系在前头十个谷氨酸上各加上一个而制成的；这种辅助性酶系在添加羧基时要求维生素K作为辅助因子。在血凝级联中其它三种胰蛋白酶因子或酶也需要有钙才能被激活，这意味着它们像凝血酶原一样易受维生素K的作用而变化。这些发现阐明了维生素K拮抗物怎样干扰血凝：通过降低凝血酶原和其他三种凝血因子的钙亲和性，阻止它们与磷脂膜的结合，从而抑制它们的激活作用。

维生素K拮抗物在医疗上的应用早在了解其作用方式之前就已发现，但是这些新发现将使维生素K拮抗物的应用更加合理，而

且对其副作用也有更深入的了解。例如，在凝血酶原中有 γ -羧基谷氨酸的存在，这启发了人们去探索在与钙结合的其他蛋白质中的这种新氨基酸。这种探索导致了从14周的鸡胚骨骼的蛋白质中分离出这种氨基酸，这表明骨骼发育可能需要 γ -羧基谷氨酸使钙沉积，而且还说明了用双香豆素型的抗凝血剂治疗怀孕三个月妇女造成胎儿骨骼异常的原因。最近，从某些成熟动物和人的骨骼中分离出一种小蛋白质，其中也发现有这种 γ -羧基氨基酸。这种氨基酸构成肽的一部份，而这种肽的序列与凝血酶原的N-端肽的序列不同，这表明这种肽是骨骼特有的蛋白质的一部份，还表明了维生素K是骨结构形成和保持所必需的。

至少有两种天然抗凝血剂能阻止血液凝固。血浆中过量的游离凝血酶通过裂解凝血酶原前头156个残基，阻止更多凝血酶原的激活作用，使凝血酶原在没有被激活之前就从磷脂膜上拆离下来。一种血浆抑制剂（A $\blacksquare$ 抗凝血酶）能抑制凝血酶及其他凝血因子，其抑制机理与胰脏抑制剂阻遏胰蛋白酶的机理从表面看来很相似，不过A $\blacksquare$ 抗凝血酶单独作用相当缓慢。最近发现，肝素能通过加速A $\blacksquare$ 抗凝血酶与凝血酶及其他因子的反应，而立即产生抗凝血作用。先天性的A $\blacksquare$ 抗凝血酶缺陷的患者形成血栓的趋势有所增长。这表明这种抑制剂是血液凝固系统中抑制和平衡的一个重要组成部份。

A $\blacksquare$ 抗凝血酶是至今在人血浆中已发现的六种不同的抗蛋白酶之一。在六个中还有一个最近被认为具有重大医学意义的是 α_1 -抗胰蛋白酶，因为患这种抑制剂遗传缺陷的人容易得肺气肿。肺气肿患者肺部破坏的机理还未搞清，但认为是由于来自粒性白细胞和巨噬细胞的水解酶作用的缘故。甚至 α_1 -抗胰蛋白酶含量正常的人若肺部受慢性刺激而蛋白质水解酶过量释放时，也可能引起肺气肿。现在看来，肺气肿可能只是退行性疾病（蛋白质水解酶在其中起着决定性作用）

的例子之一。例如，在风湿性关节炎患者的关节中发现一种与胰蛋白酶不同的蛋白质水解酶。这种酶的三维结构的知识为治疗这种疾病开辟人工合成抑制剂的新途径。

血红蛋白病

1949年，Pauling、Itano、Singer和Wells发表了一篇题为“镰状细胞贫血——一种分子病”的文章。他们指出，患常染色体隐性疾病的同形合子有一种血红蛋白，它与正常血红蛋白的不同之处在于缺少两个负电荷。Ingram后来发现，这是由于在半个血红蛋白分子的287个氨基酸残基中有一个残基被取代的缘故；谷氨酸盐被缬氨酸所取代。（最近，在不同人的 α_1 -抗胰蛋白酶（S）中也发现缬氨酸取代谷氨酸盐。这种取代在具有正常基因（M）和变异体基因（S）的异形合子（SM）中却是无害的，但是它可能使同形合子（SS）易患肺气肿）。这是第一次说明遗传变异引起蛋白质中一个氨基酸的取代。随后又探索了其他血红蛋白病，现在已知有二百多种不同的异常的血红蛋白引起了以前未知其原因的各种各样的血液学疾病；这些疾病可能影响红细胞的合成和寿命。

血红蛋白的双重呼吸机能取决于结构的可逆性变化。静脉型的血红蛋白对氧的亲合力低，对氢离子、二氧化碳和2,3-二磷酸甘油酸盐的亲合力高；在动脉型的血红蛋白中，这些相对的亲合力正相反。有效的呼吸运输取决于这两种类型之间平衡的正确调节。我们曾详细地测定了血红蛋白的三维结构。后来，H. Lehmann和我试图从立体化学角度阐明血红蛋白的临床症状。在大多数情况下，其异常性像镰状细胞贫血症一样是单个氨基酸残基的取代所造成的，但是该残基的位置在断定临床症状的性质中是个关键。如果该残基位于表面（像通常发生的那样），至少在异形合子上不会呈现任何临床

症状,因为血红蛋白分子几乎没有“感觉”到这个错误的残基。另一方面,在同形合子中表面取代则可能降低红细胞中血红蛋白的可溶性。这种情况发生在镰状细胞贫血症中,其静脉型血红蛋白实际上结成晶体。阻止这种结晶作用可以减轻这种疾病,但是实践证明是极其困难的。现在已经详细地搞清了相邻的镰状细胞血红蛋白的邻近分子之间接触区段的原子结构,这可能为合成抑制结晶作用的药物奠定了基础。

血红蛋白分子表面布满着带电荷的氨基酸侧链,这些侧链确保血红蛋白在水中高度的可溶性。另一方面,其内部结构的稳定性则靠羟侧链来维持,羟侧链能阻止水透入其内部。在某些异常的血红蛋白中,这种防水“盔甲”被破坏了,失去了稳定性,在红细胞中形成不定形的沉淀物,称为亨兹体(Heninz body)。在地中海贫血症(其红细胞含有数量不等的 α 链和 β 链)中也发现相似的变性沉淀物。这种沉淀物使得红细胞变硬,因而易脆。有人认为这是有关溶血性贫血的主要原因。血红蛋白的变性还伴随有血红素铁从正二价铁氧化成三价铁。现在已发现引起溶血作用除有变性血红蛋白沉淀物外主要是铁的氧化作用。其机理是,在反应的第一步,与铁结合的氧分子首先还原为过氧化物离子,然后从血红素解离下来,在周围的水中产生过氧化氢离子。羟基和单氧。这些都是氧化剂,其中以羟基为最强,它们侵袭细胞膜的脂类,从而引起溶血。有效的治疗方法是给予捕获自由基的药物,如维生素E或2、3-二氢苯甲酸。这种疗法现正在试验之中。从长远来看,对异常血红蛋白的研究定会产生具有广泛重要意义的实用效果。首先他们指出人类的遗传密码和大肠杆菌的遗传密码是一样的,这是用遗传工程方法治疗先天性疾病的先决条件。业已证实,人类基因的突变频率相当高(如人的异常血红蛋白的频率约为五百分之一以上),但是,假如它们仅取代了远离活性位置的酶表面的残基,这

种突变可能是无害的。另一方面,内部的取代则可能影响酶的功能和稳定性。在顺利的情况下,对其三维结构所掌握的知识可能有助于人们减轻这种影响。

研究人员从1937年开始用X-射线结晶衍射技术研究血红蛋白,因为当时蛋白质的结构被认为是未解决的最重要的生物化学问题,根本没有想到这方面的研究工作能阐明遗传病的性质。

着色性干皮病

引起异常血红蛋白的突变是自然发生的,或者是由于遗传过程中偶然的错误而发生的。人们早就知道,外界因素(如辐射和某些化学物品)能提高突变频率。还有人猜想,某些产生突变的因素同样也能诱致癌症,但是并未发现它们之间的正确关系。

紫外线通常能使同一个分子链上两个嘧啶碱基成共价键结合而损害DNA。在对紫外线敏感的细菌中,这种键合阻碍了DNA的复制,从而阻止了细菌的生长。但在同一类细菌中都有一些能抵抗紫外线的菌株,业已发现,这类菌株具有能切掉二聚体和修复其缺口而使其重新开始生长的酶系。现在看来,正常人的皮肤细胞具有像抗紫外线细菌一样的能修复紫外线损伤的酶系。有一种罕见的常染色体隐性疾病患者,其皮肤对紫外线极其敏感。这种病叫做着色性干皮病。这种病患者(同形合子)也极易患皮肤癌。1969年,J.E. Cleaver发现着色性干皮病患者的成纤维细胞缺乏修复被紫外线损伤的DNA所必需的酶。研究人员后来又发现有六种遗传性酶缺陷型,即六种互补群,其中有五种是DNA修复缺陷型,第六种的功能还不清楚。日本人现在已证明,采用感染过大肠杆菌的T4噬菌体的核酸内切酶能使五种DNA修复缺陷的成纤维细胞恢复其抵抗紫外线的能力。(图2)这些研究成果之所以令人兴奋其原因在于尽管还不清楚如何加以

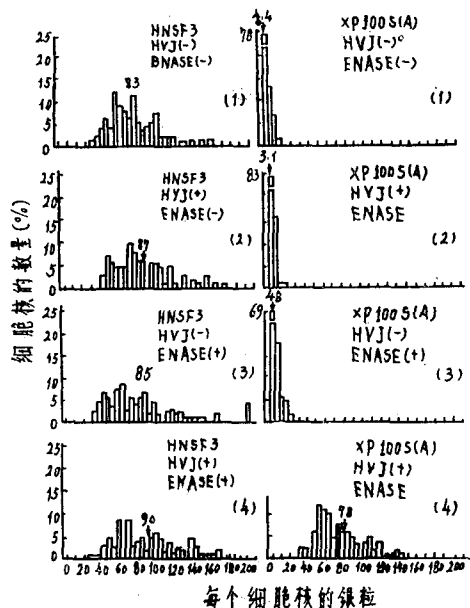


图2 矩形图表示在正常的皮肤成纤维细胞核(左)和着色性干皮病患者的成纤维细胞核(右)中在经紫外线照射后由于³H标记物的衰变所产生的银粒的数量。(引自 Tanak等人的论文)

HNSF3: 正常的皮肤成纤维细胞
XP100S(A): 着色性干皮病细胞群A,
HVJ: 经紫外线照射失活的仙台病毒,
ENase: 来自受T4感染的大肠杆菌的核酸
内切酶

应用,但它指明了运用这种酶治疗患者的可能性。不久前,有人从DNA修复缺陷的二个互补群的成纤维细胞中发现一种修复脱嘌呤位置的变样核酸内切酶。

化学致癌物的检测

着色性干皮病病因的发现之所以重要是因为它把癌的发生和诱变因素联系起来,后者的性质和修复按照对细菌那样从分子水平上加以解释。长期以来,人们一直在积累许多能说明体细胞突变频率和癌症发病率之间因果关系的证据,但是许多最有效的化学致癌物似乎对微生物却无诱变效应。这种怪事终于被 B. Ames 所解决。Ames 用了将近二十年时间从事于控制鼠伤寒沙门氏菌中蛋白质合成的研究。他的研究像 Hartley 和 Blow 研

究胰凝乳蛋白酶和我研究血红蛋白一样,预先并不知道其实际应用的可能性。

沙门氏菌的染色体含有一个编码组氨酸生物合成的操纵子。该操纵子的酶促基因转录为信使 RNA 是受一个操纵基因控制的,操纵基因对细胞中组氨酸的含量发生反应。当组氨酸不足时,打开转录功能;当组氨酸过多时,就关闭转录功能。某些沙门氏菌突变株如果其培养基缺乏组氨酸就不能生长。这原来是由于组氨酸基因的突变。Ames 选择了四个这种突变株,其中一个突变株的DNA与野生型不同之处在于其GC碱基对被AT碱基对所取代,或者AT碱基对被GC碱基对所取代。其他三个菌株中,其DNA则携带着Crick, Barnett, Brenner 和 Watts-Tobin 在建立遗传密码性质时首次正确阐明的那种突变。核苷酸碱基序列的解释只有根据编码三联体的连续性正确地确定阅读框架的位置时才有意义。某些诱变剂(如二氨基吡啶)插入DNA碱基对之间,从而干扰其复制,由于碱基对增添和缺失,因而使阅读框架移动。

在 Ames 所用的四个沙门氏菌菌株中,有三个菌株在组氨酸基因上携带着这种类型的突变。Ames 将这些需要组氨酸的沙门氏菌菌株培养在缺乏组氨酸的培养基的平板上,并加入化学致癌药物,等待菌落的生长,在生长的菌落中原来突变的回复使得它恢复了组氨酸的生物合成。在每个平板上的菌数达到 10^8 时,才能观察到这种罕见的遗传现象。微小的细菌染色体增加了从原来的突变回复到其他致死的突变的可能性。每次试验时间只需要二天。

起初只有已知的几种化学致癌物能促使回复突变体菌落的生长,但是,Ames 及其同事们逐步地改进其实验系统的灵敏性,使之能证实致癌性与回复的密切关系。他又引进两种突变:其一是通过消除上述的修复机制(修复紫外线的和其他的损伤)来提高其敏感性;其二是剥去细菌表面的脂多糖保护

表 1

化学品的致癌性和诱变性的关系

	致癌性 + 诱变性 +	致癌性 ○ 诱变性 ○	致癌性 + 诱变性 ○	致癌性 ○ 诱变性 +	?	相关性 (%)
芳 胺 类	21	9	2	—	12	94
真菌毒素和抗菌素	8	2	—	2	2	83
酯类、环氧化物类、氨基甲酸酯	14	6	4	2	2	77
硝基芳香族化合物和杂环化合物	26	1	—	3	2	90
混杂的杂环化合物	1	7	3	—	—	73
混杂的含氮化合物	7	2	2	2	—	69
硝 基 胺	20	2	1	—	—	96
多环的芳族化合物	27	7	—	3	1	92
混杂的脂肪族化合物和芳族化合物	1	10	4	—	5	73
碱性卤化物	16	1	3	2	2	77
偶氮染料和重氮化合物	12	2	—	1	2	93
香烟的烟雾冷凝物	1	—	—	—	—	100
普通的生物化学物品	—	42	—	—	—	100
总 计	154	91	19	15	28	88

106种非致癌物 14%为阳性, 但86%为阴性

173种致癌物 89%为阳性, 但11%为阴性

层, 有利于大分子的渗入。他在实验菌株中掺入一种质体来促进诱变, 这种质体似乎能把DNA损伤引向易错的修复途径 (SOS修复)。

Ames 在其实验系统中还做了一项具有决定性的改进。人们过去已发现, 许多化学药物在哺乳动物体内是非致癌性的, 但是在肝脏中经羟化酶的作用却转变为致癌性。Ames 决定模拟这种转变作用, 在其培养物中通过加入大鼠或人肝脏匀浆以及产生菸酰胺腺嘌呤核苷酸二磷酸盐的系统。实验结果表明, 哺乳动物的致癌性和沙门氏菌的诱变性的关系十分密切。90% (157/175) 的致癌药物 (包括已实验过的几乎所有已知的人的致癌物质) 在实验中都是能诱变的。尽管在划定非致癌性中在技术上存在严重缺陷, 但被划定为非致癌物中很少表现出诱变性 (表1)。诱变剂包括香烟的烟油和氧化性头发染料 (图3)。另一种诱变剂是氯乙醛, 它可能是二氯乙烷和聚氯乙烯的代谢产物。在第一类实例中, 所有诱变剂的作用可能是阻止DNA的复制, 从而诱致易错的 SOS 修复

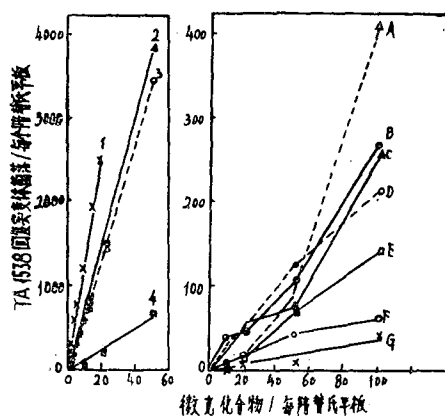


图 3 从头发染料提取的化学品的诱变性的剂量-反应曲线; 化学诱变剂和这里表示的微粒体活性系统 (S9) 置于陪替氏平板在37℃温育48小时后计算回复突变体的菌落。(引自 Ames 氏文章)

1. Bandrowski 氏硷 (+S9)
2. 2,4-二氨基苯甲醚 (+S9)
3. 4-硝基-邻苯二胺 (-S9)
4. 2-硝基-对苯二胺 (+S9)
- A. 2,5-二氨基苯甲醚 (+S9)
- B. 2,4-二氨基甲苯 (+S9)
- C. 2-氨基-5-硝基酚 (-S9)
- D. 间苯二胺 (+S9)
- E. 邻苯二胺 (+S9)
- F. 2-氨基-4-硝基-酚 (+S9)
- G. 2,5-二氨基甲苯 (+S9)

机制。无这种诱变剂(如 EMS、硷基类似物和脱氨基药物)看来其致癌性很微弱或没有。所以,研究 SOS 修复机制似乎是一条了解辐射的和化学的致癌作用的有效途径。

Ames 的方法是一种筛选诱变性药物的廉价、快速和灵敏的方法。例如,1 毫微克的 2-氨基蒽能使大约 20 个菌落的自然回复突变频率翻一番,而 500 毫微克则可获得 11,000 个回复突变体的菌落,对照组则为 30 个菌落。鉴于诱变剂和致癌剂之间关系,任何一种有效的诱变剂现在也被认为是致癌物。Bridges 曾对细菌和哺乳动物细胞的其他筛选试验做过综合性评述。

Ames 研究工作的首要影响将会是从人类食物和日用品中清除已知的致癌剂,从而大大减少人们接触到致癌剂的数量,随时地解除人们对许多常用的无害的化学物品的担心。从长远来看,这项研究以及关于着色性干皮病的研究可能有助于我们揭开紫外线照射和化学药物使框架移动的回复以及其他突变引起癌症的分子机制。

分子生物学对这种研究工作做出了什么贡献呢?它提供了微生物遗传学、诱致突变、修复和反馈控制的基本概念;它还提供了把一个菌种的遗传物质转移到另一个菌种的技术,Ames 正是采用这种技术建立其实验系统的灵敏性。这些概念和技术是一些

科学家从物理和化学角度阐明基本生物学过程而研究出来的。一般地说,这些问题非常复杂,花了好多年才解决。开始时由于知识的限制,不能预见到我们的研究工作与人类疾病的关系,直到后来这种关系才逐渐体现出来。但是,分子生物学还是一门很年轻的学科,还不能明确地显示出从哪里入手最有益。在我们把力量投入到这个广阔的领域时可在那方面投入最大的力量,这确实是一个很重要的问题。由于科学研究是解决问题的技巧,因此研究能解决的微生物的基本问题,比起研究十分复杂的哺乳动物细胞的问题更加有利。血红蛋白的例子说明了这样一个间接途径如何有助于揭开人类血液病的病因。如果所有分子生物学家像最近的风气那样,或者屈服于拨款机构决策者的压力,都从事哺乳动物细胞的研究,那将是一个大错误。从分子水平上看,生命是一致的,这意味着在大肠杆菌所发现的事实也可能适用于人类。

今后,分子生物学对医学最重大的贡献可能是遗传工程。但是,真核细胞基因能在原核细胞中被转录和翻译这一早期设想至今还未实现。反之,有些科学家可能去探索采用携带有人基因的动物病毒培养物来制造在医疗上有重大作用的人类蛋白质。

陈来成译自《Nature》1976, Vol. 262, No. 5568, 449—453.

(上接第5页)

角根蟾科——这个特别的新热带原始无尾类的皮肤中缺乏吡啶烷基胺(齿蟾属的两个种除外,它含有5-羟色胺)。在血清学鉴定方面可以看出这个属与另外曾研究过的古老无尾类分支的典型属有较大的差别。

雨蛙科——该科的雨蛙属,无盔雨蛙属、骨头雨蛙属、硬头雨蛙属、盔雨蛙属,以及可能有蝶齿雨蛙属和袋雨蛙属都是缺少或含极少量的胺和多肽。但是高度特化的红眼雨蛙属中的七个种,则含有大量的强效的运动徐缓素和 Physalaemin 多肽。在红眼雨蛙属中至少已分离出五种活性多肽,而且在该属的每一个种都具有特征的多肽光谱。雨蛙作为一个独立分支。就是根据这种特征多肽而被提出来的。(下转第128页)

癌病毒的分子生物学

—基因图—

原田 文夫

近年来,由于分子生物学研究的惊人进展,已能在分子水平上解释各种生命现象。分子生物学研究中研制、革新的一些新手段,也被应用到癌病毒研究领域,在七十年代绘制的基因图,对弄清病毒致癌机理发挥了作用。本文除阐述各种癌病毒基因的研究概况外,并归纳了迄今已弄清的基因图。

序 言

七十年代,癌病毒基因的遗传学、生化学研究取得长足进展。其首要原因大概是1970年Smith等人提纯了有专一性的HindⅡ,此后,又相继发现、提纯了有各种专一性相异的限制性内切酶。利用这些酶,能把DNA病毒的基因在特定部位切断,这样就可以绘制切点图,弄清病毒各种机能与基因位点的关系。

1970年Baltimore及Temin、Mizutani等人分别发现了逆转录酶,对研究RNA病毒起了很大作用。利用这种酶,能够以作为RNA肿瘤病毒基因的RNA为模板,合成cDNA,这样就能够进行cDNA和其它病毒RNA之间的异源双链核酸分子重组实验,也可以用只有特定机能的cDNA片段进行混合重组实验。

能够用微量样品进行混合重组的Southern方法(该方法是把用凝胶电泳分离的DNA片段翻译到膜滤器上,再以同位素标记的cDNA和RNA等在滤器上进行混合重组)也很值得一提。另外,还进行了决定基因核苷酸顺序的试验。最早决定基因核苷酸顺序的方法,是首先用限制性内切酶取得DNA片段,再以这种DNA片段为模板在大

肠杆菌RNA聚合酶作用下合成RNA,但最近Maxam和Gilbert则用特殊的化学分解法把DNA片段限制分解为不同的碱基,然后用丙稀酰胺凝胶电泳分离,即可直接识读DNA顺序,这种有重大意义的方法已经被用于决定SV40等的基因顺序。对SV40进行的特别分析,已决定了其顺序所含有的全部信息。此外,以RNA肿瘤病毒的RNA为模板,在逆转录酶作用下合成DNA,其顺序也用同样方法决定。

癌病毒中以DNA作基因的有乳多泡病毒类的SV40、多瘤病毒、腺病毒类的各种病毒及疱疹病毒类的疱疹病毒和EB病毒等。而以RNA作基因的有RNA肿瘤病毒。下文就上述病毒按到目前弄清基因图的先后顺序记述。而关于基因产物的性质请参阅日刊“蛋白质核酸酵素”VOL23、NO6、P98的论述。

乳多泡病毒类 (Papova viruses)

这类病毒的基因是双股环状DNA,在形态学上分为SV40、多瘤病毒、乳头状肿瘤病毒等类群。SV40的DNA分子量为 $3.2 \sim 3.6 \times 10^6$,由5,200—5,900对碱基组成,多瘤病毒的DNA分子量为 3.1×10^6 ,大约含

5,100对碱基(最近报道,SV40含5010±125对碱基,多瘤病毒含5080±125对碱基)。乳头状肿瘤病毒的DNA比多瘤病毒和SV40等大,分子量约为 5×10^6 ,约含8,000—8,500对碱基。这些病毒中,SV40和多瘤病毒则是研究癌病毒遗传和生化的最佳材料。

1. SV40和多瘤病毒的切点图(物理图)

用任何一种EcoRI切割SV40或多瘤病毒的DNA都能得到一个切点,以此为标准即可绘制地图(在SV40中为0.0/1.0,在多瘤病毒中为0/100)。制图方法有两种,一种方法是用限制性内切酶有限制的分割,然后再把各个片段组建起来,另一种方法是用专一性不同的限制性内切酶切断DNA,有关片段再进行混合重组产生部分重叠,用这些方法决定各片段顺序详见日刊“蛋白质 核酸酵素”(20,915、22,№8特集、23,44)有关限制性内切酶的论述。图1、图2分别表示SV40和多瘤病毒DNA的切点图。上述DNA实际上是环状,为了方便起见,把用EcoRI

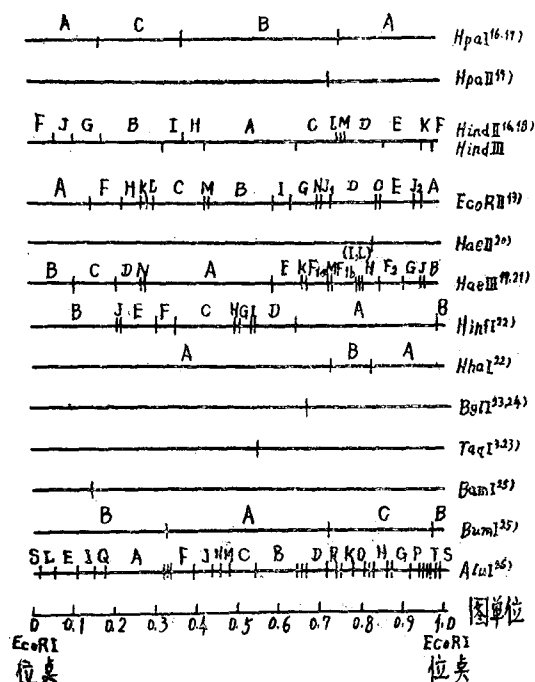


图1 SV40DNA的切点图

除上述内切酶外,用BamI、SalI、HgaI及XbaI不能完全切割

切断的DNA表示为直链状。并且分别以A、B、C…或1, 2, 3…按长度顺序对各片段编码。

2. SV40和多瘤病毒DNA的基因图(机能图)

A. DNA复制的始点(OR)

据用HindII + III切断以脉冲标记的复制中间体分析,证明SV40 DNA的复制从0.67图单位开始,两侧以同样速度识读,约与始点正相反的位点停止。在电子显微镜下观察用EcoRI切断的复制中间体也得到相同结果。用上述方法研究多瘤病毒DNA,发现其复制始点位于71±3处,亦在正相反的位点停止。

B. mRNA

已知SV40和多瘤病毒各有三种mRNA。在感染初期,SV40合成19S RNA,多瘤病毒合成20S RNA,在DNA复制终止的感染后期,二者都合成16S和19S RNA。把病毒DNA分成单股,或者用凝胶电泳把限制性内切酶分解的DNA片段分离成单股,然后利用这些单股DNA或其片段与mRNA进行混合重组,即可弄清各mRNA相应的基因,

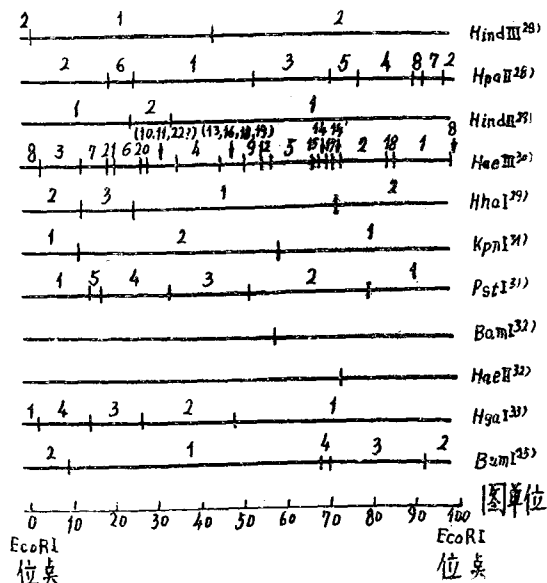


图2 多瘤病毒DNA的切点图

用SalI、HpaI、BamI、BmaI、BlnI、SacI、SacII、XbaI、SmaI等内切酶不能完全切割