

[23] Newman SL, Henson JE, Henson PM, 1982,
J Exp Med, 156:430-442.

[24] Metchnikoff E, 1891 Dover Publications.
Inc. New York, 106.

小鼠胚胎 ZGA 中的基因表达及调控机制

刘明瑜 李逸平

(中国科学院上海细胞生物学研究所 上海 200031)

哺乳动物早期胚胎的最初发育一般都包括了两个不同的调控过程,即母型基因调控和合子型基因调控,顺利实现由母型向合子型基因调控的转变,是早期胚胎正常发育的必要步骤^[1],而合子型基因激活(zygotic gene activation, ZGA)则是胚胎发育过程中母型基因向合子型基因调控过渡的关键事件。过去对哺乳动物合子型基因激活及其调控的分子机制的了解十分有限,自 90 年代初以来,有关这方面的研究在小鼠上已有了一些进展。本文将就近年来这些方面的进展作一简要概述。

一、ZGA 中蛋白质磷酸化的作用

以合子型基因的转录起始时间为标准,把小鼠胚胎的合子型基因激活(ZGA)分为两个时期:起始于 1 细胞胚胎晚期的早期 ZGA,又称次要的合子型基因激活(minor ZGA);起始于 2 细胞胚胎形成之后的晚期 ZGA,又称主要的合子型基因激活(major ZGA)。小鼠胚胎早期 ZGA 的一个显著特征是,它的起始受合子钟(zygotic clock)的调控^[2]。合子钟调控是小鼠胚胎发育中的一种时程依赖性调控机制(time-dependent mechanism),这种调控是多种正的或负的调控作用的总称,它包括了对母型蛋白质的翻译后修饰过程进行调控,对被修饰底物的产生过程进行调控,对基因转录过程中反式作用因子的调控,对胚胎细胞 DNA 复制进行调控等等调控作用。这方方面面的调控总的作用体现为:从受精卵形成后到 2 细胞胚胎形成之前,合子型基因的激活被暂时延迟

(delayed),直到“时机成熟才开启”。合子钟调控中最重要的是对基因转录过程中反式作用因子的调控,这种调控是通过对母型的反式作用因子进行翻译后修饰而实现的,这种翻译后修饰过程涉及到蛋白质的磷酸化作用。

在小鼠受精卵的第一个细胞周期中,由于一些新的母型 mRNA 开始翻译,导致了蛋白质合成图谱的一些变化。但是,多数蛋白质合成图谱的变化是由翻译后修饰过程造成的,其中最重要的修饰过程是蛋白质的磷酸化过程^[3]。小鼠胚胎发育的第一个细胞周期是受母型物质调控的,受精卵分裂至 2 细胞并不需要转录活动,且早期 ZGA 起始并不依赖于蛋白质的合成,而受控于母型蛋白质的调控,这种调控涉及母型蛋白的翻译后修饰过程。只有在早期 ZGA 顺利起始的基础之上,加上外源信号(诸如输卵管细胞因子等)的作用^[4],晚期 ZGA(主要的合子型基因激活)才可能顺利起始。

由环化腺苷酸依赖的蛋白激酶(PKA)催化的蛋白质磷酸化过程,对于 ZGA 的起始是必需的。PKA 有很多抑制物:H8 是 PKA 的 ATP 结合位点的竞争性抑制物;(Rp)cAMPs 是环化 AMP 的拮抗物,它可以同 PKA 的调节亚单位结合,但无法促进调节亚单位同催化亚单位的分离,从而使 PKA 的催化亚单位无法被激活;蛋白质激酶抑制物(Protein kinase inhibitor)则可以同自由的催化亚单位结合形成一个不具活性的复合物,从而抑制蛋白质激酶的活性。这三大类的 PKA 抑制物,尽管它们的抑制机制都不相同,但它们都无法抑制 1 细胞胚胎分裂为 2 细胞胚胎,却抑制了 TRC(trans-

cription-requiring complex, 一种标志早期 ZGA 起始的蛋白质复合物)的合成,以及抑制 2 细胞胚胎分裂为 4 细胞胚胎^[5]。

涉及 ZGA 过程的蛋白质激酶似乎具某种特异性:钙调蛋白(calmodulin)依赖的蛋白激酶(PKC)在抑制 1 细胞分裂为 2 细胞时,并不抑制 ZGA。可见,同为蛋白激酶的 PKA 和 PKC 对 ZGA 的影响具有差异性^[6]。

在 ZGA 中,PKA 对于 ZGA 起始的影响主要反映在转录水平上。例如,体外翻译 1 细胞胚胎和 2 细胞胚胎的 mRNA,在单相电泳的蛋白质图谱上最明显的差别是 TRC 的有无,当用于体外翻译的 mRNA 取自于 H8 处理过的胚胎,则体外翻译结果中无 TRC 的合成。除此之外,实验还证明了 hsp70 mRNA(早期 ZGA 启动时表达的合子型基因)的含量在 1 细胞和 2 细胞胚胎期间有所增加,而这种增加可被 H8 所抑制。

如果 PKA 同合子钟对早期 ZGA 的调控有关,那么有两种假设:(1) PKA 可能以时间依赖的方式被激活;(2)可能 PKA 的活性是组成型的,而 PKA 的作用底物的出现是以时间依赖的方式受调控的。Dardik 等人(1992)的实验发现 cAMP 的含量在 1 细胞和 2 细胞胚胎中是非常相似的,1 至 2 细胞期间 PKA 并不因为 cAMP 量的显著增加而被激活^[7]。所以,PKA 可能磷酸化了一种底物,该底物在受精后以时间依赖的方式出现,而 PKA 的磷酸化作用则是 ZGA 起始所需要的。同此观点相一致的是,把 1 细胞胚胎置于含有可透过细胞膜的 cAMP 类似物的培养液中,PKA 的激活并不导致 ZGA 的提早起始。从这点上看,ZGA 开启时间的调控同紧挤作用(compaction)和囊胚腔形成(blastocoel formation)过程一样,都应属于“时机成熟才开启”的时钟调控机制,这种状态类似于低等脊椎动物中的诱导反应。在爪蟾中,外胚层细胞被植物极细胞诱导转变成中胚层细胞的时间,是由正在接受诱导的外胚层细胞来决定的^[8]。

ZGA 中 PKA 介导的磷酸化反应的靶底物还不很清楚。在抑制 PKA 作用的同时也抑制了 hsp70 的组成型表达以及 TRC 的合成,这些现象暗示 PKA 介导的磷酸化可能直接或间接地调节了 RNA 聚合酶 I。通过注射报告基因发现,在 1 细胞胚胎中,依赖于 RNA 聚合酶 I、II、III 的启动子驱动的报告基因都经历了相同的时程才表达,可见合子钟可能通过调控三种聚合酶共用的转录因子来调节 RNA 聚合酶 I、II、III 的活性,而合子钟对通用转录因子的调控很可能涉及 PKA 介导的蛋白质磷酸化过程。

二、通用转录因子的出现

众所周知,蛋白质的磷酸化作用可以调节很多转录因子的功能。对于 ZGA 起始的调控不但涉及到了蛋白质的磷酸化作用,而且可能也涉及到了通用转录因子的作用。但是,目前对于早期小鼠胚胎中转录因子的组成、调控和功能仍知之不多。

CRE、TRE、SRE 是 DNA 上的 3 种顺式调控元件。CRE(cAMP-response element)是被 CREB(结合 CRE 的蛋白)激活的 cAMP 反应性顺式调控元件;TRE(TPA-response element)是被 AP-1(Activator protein-1)激活的 TPA(12-氧-四癸酰基佛波 13-乙酸酯)反应性顺式调控元件;SRE(serum-response element)是被 SRF(血清反应因子)激活的血清反应性顺式调控元件;而 CREB,AP-1 和 SRF 这些通用转录调控因子都是受磷酸化调控的^[9]。利用检测连接了 CRE 或 TRE 或 SRE 的 β -半乳糖苷酶报告基因在胚胎细胞中的表达情况,发现胚胎 ZGA 过程中具有类似于 AP-1 和 SRF 的反式调控因子活性,但没有类似于 CREB 的活性。以同样的方式,把依赖于 Sp-1 的 SV40 早期启动子连接在荧光素酶报告基因上,检测报告基因在胚胎中的表达情况,发现胚胎中同样存在着类似于 Sp-1 的反式调控因子

活性^[10]。这些实验证明, AP-1、SRF、Sp-1 这些通用转录因子都同 ZGA 有关。

有趣的是, 尽管卵母细胞具转录活性, 但是将以上的报告基因注射到长足 (fullgrown) 的卵母细胞的胞核中, 无一表达。然而, 对于无法进行减数分裂的卵母细胞, 例如, 受精后无法从减数分裂中期 I (M I) 恢复减数分裂的卵母细胞, 却可以检测到 Sp-1 的活性。而随着卵母细胞的成熟并获得恢复减数分裂的能力时, 这种类似于 Sp-1 的活性却下降, 直至在完全成熟的卵母细胞中完全消失。受精以后, 1 至 2 细胞期间类似于 Sp-1 的活性有明显增加, 2 细胞胚胎中 Sp-1 的活性明显高于无法继续减数分裂的卵母细胞。利用间接免疫荧光法, 发现在卵母细胞成熟过程中, Sp-1 的含量大幅下降, 而在 1 至 2 细胞期间含量又急剧上升。经 α -鹅膏蕈碱或 H8 处理的受精卵, Sp-1 的间接免疫荧光反应量也上升了^[11]。据此推测, Sp-1 含量的上升不可能是 ZGA 的结果, 而应归因于母型来源的 Sp-1 的改变。但是目前还不清楚诸如 Sp-1 的这一类通用转录因子活性上升和含量改变的根本原因。

像 Sp-1 的这一类通用转录因子活性的改变会对基因表达造成深远的影响。例如, 含有 TATA-box 和不含 TATA-box 的基因都经常受控于 Sp-1。对于含有 TATA-box 的启动子, Sp-1 同结合 TATA-box 的转录复合物相互作用并激活复合物; 而对于不含 TATA-box 的启动子, Sp-1 担任着更关键的角色, 它可能具有组装转录复合物的作用。由于很多基因都含有 Sp-1 结合位点, 而且转录因子具有转录作用的协同性, 所以通用转录因子在发育过程中少许的活性改变都能导致发育进程中显著的基因表达变化。而且在 ZGA 过程中, 早期胚胎利用增强子也需要 Sp-1 的介导。

三、转录抑制状态的形成和 增强子 ZGA 中的作用

小鼠 2 细胞胚胎不论是否经 DNA 复制抑

制剂蚜栖菌素 (aphidicolin) 处理, 其报告基因的表达都需要增强子的作用^[12,13]。相反, 利用蚜栖菌素处理得到的发育停滞在 1 细胞期而在时序上应处于 2 细胞期的胚胎, 则不管构建的报告基因是否含有增强子, 报告基因在雄性原核中的表达都呈高而稳定的水平。报告基因对增强子的需求总是出现在 2 细胞胚胎中, 如果报告基因的启动子不含增强子, 则启动子表达会受到抑制; 在分裂阻滞的 1 细胞胚胎中没有发现这种表达抑制现象。有实验证明, 在这两种胚胎中, 报告基因表达的差异并不是由于转录因子的组成和活性上的差异^[10]。实验中还发现, 经蚜栖菌素处理的分裂阻滞的 1 细胞胚胎, 注射入雄核的不含增强子的报告基因的表达量远高于注射入雌核的报告基因^[14]。可见, 除了 2 细胞胚胎和 1 细胞胚胎在报告基因表达上存在差异, 1 细胞胚胎的雌雄原核也存在转录活性上的差异。这两种差异可能都同转录抑制状态/环境 (transcriptionally repressive environment) 的形成有关。

1 细胞的雌性原核从卵母细胞处继承了一种染色质结构介导的母型转录抑制状态, 很可能是由于它从卵母细胞处继承了母型组蛋白 H₁, 将染色质包装成一种转录抑制态; 与之不同的是, 雄性原核则不具备这种母型转录抑制状态, 而且, 卵子受精后, 雄核中来自于精子的鱼精蛋白被母型来源的组蛋白置换, 在这个置换过程中发生了核心组蛋白的超乙酰化过程, 使雄性原核具有较高的转录活性 (组蛋白的乙酰化过程与染色质转录活性间具直接的正相关联系)。丁酸盐 (butyrate) 是组蛋白脱乙酰化的抑制剂, 可以增加核小体中的乙酰化核心组蛋白的比例, 利用丁酸盐处理雌核中含有报告基因的胚胎, 观察到雌核中的报告基因表达量同雄核中的报告基因相似^[14]。这就证实了雌雄原核在转录活性上的差异有一部分是由于两类原核超乙酰化核心组蛋白的水平不同所致。

由母型 mRNA 翻译的组蛋白 H₁ 在 1 细胞末期开始合成, 这利于核小体的包装; 同时雄性

原核中组蛋白置换鱼精蛋白的过程结束后,核心组蛋白尤其是组蛋白 H₁ 的脱乙酰化状态逐渐增加,这些都导致在 1 细胞胚胎末期发生了染色质结构的改组(chromatin remodelling),并且在 2 细胞胚胎期最终形成了转录抑制环境。添加丁酸盐可以增加 2 细胞胚胎中无增强子的报告基因的表达,说明 2 细胞胚胎对于增强子的需求与染色质脱乙酰化状态有关,并且同染色质结构改组相关。注射入 1 细胞胚胎雄性原核可以表达的报告基因,当雄性原核被移植入 2 细胞胚胎时,报告基因的表达被抑制。2 细胞胚胎对于报告基因表达的抑制作用同细胞核的母型或父型来源无关,同胞核染色体的倍性也无关^[15]。这意味着可能在 2 细胞胚胎的胞质中形成了某种抑制因子,使 2 细胞胚胎期转录抑制环境的形成不但同染色质结构改组有关,而且还同抑制因子的形成有关。2 细胞胚胎中转录抑制状态/环境的形成导致了 1 细胞胚胎和 2 细胞胚胎在报告基因表达上的差异性。

在 2 细胞的转录抑制环境形成之前,合子钟通过延缓形成转录复合物,暂时延缓合子型基因的表达,这种延缓作用将一直持续到染色质结构改组的完成和转录抑制环境的形成。此后,增强子使合子型基因得以克服转录抑制环境的作用,在适当的发育时段被选择性地表达。只有在 2 细胞的转录抑制环境下,细胞才可能通过增强子对基因表达进行选择性地调控。通过合子钟和转录抑制环境形成的“接力棒式”的共同影响,从而避免了那些应该在胚胎发育后期表达的基因的成熟前表达(prematuring expression),使这些基因在它们所需的特殊转录因子和合适的增强子反式作用因子(enhancer-trans-factor)出现的情况下,才在合适的发育时段表达,即“时机成熟才开启”。

增强子发挥作用需要增强子反式作用因子或共激活因子(co-activator),这些因子只在 2 细胞形成后才产生,它们可能是 ZGA 的表达产物。以前认为,这些增强子的共激活因子可能是一类 TAF(TATA-box binding protein asso-

ciated factor),绝大多数受增强子作用的启动子都含有 TATA-box,增强子对启动子的作用是通过 TBP(TATA-box binding protein)介导的。然而,实验发现早期的胚胎干细胞和处于分裂期的胚胎细胞中表达的启动子往往缺乏 TATA-box,而含有一个或多个转录因子 Sp-1 结合位点,这些启动子通过 Sp-1 的介导利用增强子^[16]。随着胚胎细胞的不断分化,通过 TATA-box 和 TBP 介导利用增强子的情况上升,而这些利用 Sp-1 的启动子表达活性下降到基底水平,它们很可能是管家基因(housekeeping genes)的启动子。增强子不但可以帮助转录因子形成有活性的转录起始复合物,而且可以使弱启动子从染色质的抑制状态中解救出来。只有在 DNA 被包装成含有组蛋白 H₁ 的染色质时,增强子才对启动子具有激活作用^[17]。可见,2 细胞胚胎 ZGA 对于增强子的需求同胚胎细胞中转录因子的组成、水平变化无关,而是由于 2 细胞胚胎中染色质结构的改变,需要增强子把启动子从转录抑制环境中解救出来。

在 2 细胞的转录抑制环境形成之前,1 细胞的雌雄原核就已有转录活性的差异,雌性原核似乎从卵母细胞处继承了一种转录抑制状态,抑制了注射入雌核的报告基因的表达,而雄核的状态似乎更有利于转录的发生。这意味着,合子从父方继承的基因在受精卵中所处的环境同母方基因并不一样,这种情况可能同基因组印痕(genomic imprinting)有关,即一些基因的表达与否由它们是处在母方染色体上还是处在父方染色体上来决定。

四、ZGA 初期被激活的基因

不同于爪蟾等实验动物,要在同一时间内获得大量小鼠胚胎并不是一件轻松的事。由于实验材料等方面的限制,给研究者进一步发现 ZGA 中表达的内源基因造成了一定困难,并使研究者难以寻觅 ZGA 调控过程各时段的内源分子标记物。

80 年代早期,曾利用 RNA 聚合酶 I 的抑制剂 α -鹅膏蕈碱,通过双向电泳分析,发现 hsp70(热休克蛋白 70)是早期 ZGA 起始时表达的一个基因^[18],但后来又有不同的实验报道。直到 1995 年,Christians 等人利用 RT-PCR 的方法并研究了带有报告基因的转基因胚胎,发现 hsp70 基因家族成员 hsp70.1 基因在体内情况下确实在早期 ZGA 中表达了,而且表达呈现阶段特异性,该基因在 2 细胞末期表达下降^[19]。1997 年,Christians 等人利用 RT-PCR 的方法和免疫荧光染色法,证明了 mHSF2(mouse heat shock factor2)大量存在于 2 细胞小鼠胚胎的细胞核中^[20],并且小鼠的 HSF2 这一反式作用因子通过与 HSE(heat shock element)这类顺式调控元件相结合而引起了胚胎在不受热刺激的情况下进行自发型的 HSP 表达。

利用基因的同源性分析和近年所发展起来的 dd-PCR 的方法,最近又发现了两个早期 ZGA 中表达具阶段特异性的基因:eIF-4C(人转录起始因子 eIF-4C 基因的小鼠同源基因)、U2afbp-rs(人剪切因子 U2af 35KDa 基因的小鼠同源基因)。eIF-4C 的表达起始同第一次 DNA 复制呈正相关,表达的下降同第二轮 DNA 复制呈正相关,关于它的详细研究,正在进行之中^[21]。小鼠的 U2afbp-rs 基因是受基因组印痕调控的,在成体中,它只表达父方的等位基因。利用一种新的定量 RT-PCR 的方法,不但发现 U2afbp-rs 基因的表达在 2 细胞期具阶段特异性,而且发现孤雄发育的 2 细胞胚胎中,此基因的 mRNA 表达量是正常 2 细胞胚胎的近 2 倍。因此,U2afbp-rs 从一开始表达就受到基因组印痕的调控。同时还发现,此基因的表达对胚胎早期的发育不是必需的,因为孤雌发育的胚胎有相当高的比例可以发育到囊胚期^[22]。

近年来,在早胚基因表达调控研究方面取得了一些很好的进展,这为进一步发现和了解早胚发育的基因激活、表达及功能提供了重要线索,从而有助于对哺乳动物胚胎发育分子机

制进行深入研究。可以说,有关哺乳动物早胚 ZGA 分子机制的研究正方兴未艾。

摘 要

哺乳动物早期胚胎发育的关键事件之一就是合子型基因激活,它决定着胚胎的正常发育与否。早期 ZGA 的起始必须依赖于源自母亲的母型蛋白,而这些蛋白的翻译后修饰过程,尤其是蛋白质磷酸化过程在 ZGA 中起重要作用。在鼠中,伴随 2 细胞胚胎的形成,ZGA 发生时选择性激活基因往往需要增强子的作用。由于合子钟以及 2 细胞胚胎期的转录抑制环境的影响,避免了那些应该在胚胎发育后期表达的基因的成熟前表达,使它们能按正确的发育时空顺序被选择性激活。目前,已经发现了在 ZGA 初期被激活的一些合子型基因,诸如 hsp70、eIF-4C、U2afbp-rs 等,对它们的研究已有了新的进展。

参 考 文 献

- [1] 李逸平,1993,细胞生物学杂志,15(3):113-118.
- [2] 刘明瑜、李逸平,1998,生命科学,10(2):98-102.
- [3] 李逸平等,1997,动物学研究,18(1):85-92.
- [4] Howlett, S. K., 1986, *Cell*, 45:387-396.
- [5] Poueymirou, W. T., Schultz, R. M., 1989, *Dev. Biol.*, 133:588-599.
- [6] Poueymirou, W. T., Schultz, R. M., 1990, *Mol. Reprod. Dev.*, 26:211-216.
- [7] Dardik, A., Schultz, R. M., 1992, *Mol. Reprod. Dev.*, 32:349-353.
- [8] Gurdon, J. B., 1987, *Development*, 99:285-306.
- [9] Hunter, T., Karin, M., 1992, *Cell*, 70:375-387.
- [10] Ram, P., Schultz, R. M., 1993, *Dev. Biol.*, 156:552-556.
- [11] Worrada, D., Ram, P., Schultz, R. M., 1994, *Development*, 120:2347-2357.
- [12] Wiekowski, M., Miranda, M., et al., 1991, *Dev. Biol.*, 147:403-414.
- [13] Martinez-Salas, E., Linney, E., et al.,

- 1989, *Genes. Dev.*, **3**:1493-1506.
- [14] Wiekowski, M., Miranda, M., et al., 1993, *Dev. Biol.*, **159**:366-378.
- [15] Henery, C. C., Miranda, M., et al., 1995, *Dev. Biol.*, **169**:448-460.
- [16] Majumder, S., Depamphilis, M. L., 1994, *Mol. Cell. Biol.*, **14**:4258-4268.
- [17] Paranjape, S. M., Kamakaka, R. T., 1994, *Annu. Rev. Biochem.*, **63**:265-297.
- [18] Bensaude, O., Babinet, C., et al., 1983, *Nature*, **305**:331-333.
- [19] Christians, E., Campion, E., et al., 1995, *Development*, **121**:113-122.
- [20] Christians, E., Michel, E., et al., 1997, *Mol. Cell. Biol.*, **17**(2):778-788.
- [21] Davis, D., Sousa, D. P., Schultz, R. M., 1996, *Dev. Biol.*, **174**:190-201.
- [22] Latham, K. E., Rambhatla, L., et al., 1995, *Dev. Biol.*, **168**:670-676.

血管生长素的研究进展

包俊敏 曹贵松 景在平

(第二军医大学长海医院血管外科 上海 200433)

70年代以来,随着对血管生长机理的认识和生物工程新技术的开发与应用,人们发现了一系列与血管生长(angiogenesis)有关的血管生长因子。通过对血管生长和血管生长因子的研究,不但逐步揭示了肿瘤生长血管依赖的机理,为肿瘤的防治提供了新的思路 and 手段,同时加深了对血管生长调控机制的认识,为一些血管生长相关疾病(如类风湿性关节炎、糖尿病性视网膜病、银屑病等)和血管闭塞性疾病的发病机理和临床治疗的研究提供了新的有效途径。

血管生长素(angiogenin, ANG)是第一个被分离纯化并确定氨基酸序列的人肿瘤产生的血管生长因子。1985年由Vallee领导的研究小组报道了从人结肠腺癌培养细胞(HT-29)的培养基中分离纯化到一种具有很强促血管生长活性的多肽^[1],测定了该物质的蛋白全序列^[2],并从人肝cDNA文库和基因组文库中分离并测定了这一多肽物质的基因序列^[3],从而证明这一血管生长相关多肽在化学结构上是一种全新物质,故命名为血管生长素(angiogenin)。

一、ANG的理化性质

由人结肠腺癌细胞培养基中获得的ANG是含有123个氨基酸的单链多肽,分子量为

14kDa,等电点9.5,是一种碱性多肽^[1]。其结构顺序为:<Glu¹-Asp-Asn-Ser-Arg-Tyr-Thr-His-Phe-Leu-Thr-Gln-His-Tyr-Asp¹⁵-Ala-Lys-Pro-Gln-Gly-Arg-Asp-Asp-Arg-Tyr-Cys-Glu-Ser-Ile-Met³⁰-Arg-Arg-Arg-Gly-Leu-Thr-Ser-Pro-Cys-Lys-Asp-Ile-Asn-Thr-Phe⁴⁵-Ile-His-Gly-Asn-Lys-Arg-Ser-Ile-Lys-Ala-Ile-Cys-Glu-Asn-Lys⁶⁰-Asn-Gly-Asn-Pro-His-Arg-Glu-Asn-Leu-Arg-Ile-Ser-Lys-Ser-Ser⁷⁵-Phe-Gln-Val-Thr-Thr-Cys-Lys-Leu-His-Gly-Gly-Ser-Pro-Trp-Pro⁹⁰-Pro-Cys-Gln-Tyr-Arg-Ala-Thr-Ala-Gly-Phe-Arg-Asn-Val-Val-Val¹⁰⁵-Ala-Cys-Glu-Asn-Gly-Leu-Pro-Val-His-Leu-Asp-Gln-Ser-Ile-Phe¹²⁰-Arg-Arg-Pro¹²³-OH。由半胱氨酸残基Cys26-81,39-92和57-107构成三对二硫键。ANG的氨基酸序列有35%与胰核糖核酸酶(胰RNase)类同,尤其是胰RNase的三个主要活性位点His-12、Lys-41、His-119和四对二硫键中的三对在ANG中都得以保留,表明两者在空间结构上有一定的相似性^[1-3],但在生物活性和功能上又有着重大差异。

二、ANG的生物活性

ANG的生物活性特点有:①具有胰