

## 质粒纳米乳剂的制备与阴离子交换色谱测定方法

# Preparation of Plasmid Nanoemulsion and Its Character Determination by Anion Exchange Chromatography Method

张爱莲<sup>1</sup>, 吴道澄<sup>2</sup>, 刘 菲<sup>1</sup>, 张富春<sup>1\*</sup>

ZHANG Ai-Lian<sup>1</sup>, WU Dao-Cheng<sup>2</sup>, LIU Fei<sup>1</sup> and ZHANG Fu-Chun<sup>1\*</sup>

1 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046

2 西安交通大学生命科学与技术学院 西安 710049

1 Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2 School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

**摘 要** 以纳米乳剂为载体包裹草原兔尾鼠卵透明带 3 DNA 疫苗, 制备获得了纳米乳剂 DNA 疫苗, 并对其进行了质量评价。采用界面乳化法制备质粒纳米乳剂, 用电子显微镜测定了其粒径及其分布, 根据质粒的带电特性, 利用强阴离子 Q Sepharose™ XL 色谱柱分离纳米乳剂和游离质粒, 建立了强阴离子交换柱质粒纳米乳剂包封率的快速测定方法。结果表明, 制备的纳米乳剂 DNA 疫苗的平均粒径为  $(23 \pm 10)$  nm, 包封率为 80.5%。选择 0.05 mol/L 的 Tris-HCl 为平衡液, 流速为 0.7 mL/min, 紫外检测波长 260 nm, 柱温 30℃, 进样量为 2 mL 的实验条件, 质粒的含量和峰面积的线性关系良好 ( $r = 0.9983$ ), 加样回收率在 95% 以上, 该方法简便快速、灵敏度高、重复性好, 可用于纳米乳剂 DNA 疫苗包封率的快速测定。

**关键词** 阴离子交换色谱, 纳米乳剂, 包封率

中图分类号 Q81 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2007)06-1135-05

**Abstract** Nanoemulsion-encapsulated *lzp3* DNA vaccine (pCDNA3-Aat-COMP-*lzp3*-C3d3, *lzp3*) was prepared, and its quality was evaluated. The interfacial emulsification method was employed to make the nanoemulsion-encapsulated plasmid, and its sizes and distribution were detected by electron microscope. Anion exchange chromatography was used to separate the nanoemulsion from the plasmid based on the charge characteristics of plasmid. The determination method for encapsulation efficiency of the plasmid nanoemulsion was established by anion exchange chromatography. The results indicated that the average size of the plasmid nanoemulsion is  $(23 \pm 10)$  nm, and the encapsulation efficiency is 80.5%. The separation and determination conditions of nanoemulsion-encapsulated plasmid was as follows: eluent buffer was 0.05 mol/L Tris-HCl solution at a flow rate of 0.7 mL/min, while detection wavelength for plasmid was 260 nm, the temperature of column was maintained at 30℃, and injection volume was 2 mL. On this condition, nanoemulsion and plasmid can be separated on the column of anion exchange chromatography significantly. This method is simple, sensitive and reproducible with respect to good linearity in the range of 0.05 ~ 0.80 mg/mL ( $r = 0.9983$ ), which can be applied to determine the entrapment efficiency of nanoemulsion-encapsulated plasmid.

**Key words** anion exchange chromatography, nanoemulsion, encapsulation efficiency

Received: February 15, 2007; Accepted: April 17, 2007.

This work was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 30360062) and Youth Teacher Science Foundation of Xinjiang University (No. QN040119).

\* Corresponding author. Tel: +86-991-8583259; E-mail: zfc@xju.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 30360062), 新疆大学青年教师科研启动金项目 (No. QN040119) 中国微生物菌种保藏委员会生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

草原兔尾鼠是新疆主要的荒漠草场害鼠,严重破坏新疆脆弱的生态环境。但是,采用传统方法灭杀难以达到长期控制的目的。免疫不育技术在控制害鼠数量方面显示出良好的应用前景。在免疫不育研究中,透明带(Zone pellucida, ZP3)通常被作为首选的靶抗原<sup>[1]</sup>。DNA疫苗是免疫不育研究的一个活跃领域。本实验室将克隆获得的草原兔尾鼠的ZP3基因,制备DNA疫苗进行草原兔尾鼠的生育控制研究,取得了一定的抗生育效果<sup>[2]</sup>。但DNA疫苗有效的免疫发送途径仍不理想,发送途径的制约限制了ZP3免疫不育DNA疫苗的实际应用。而纳米载体系统作为发送蛋白、多肽和DNA药物的一种新型非病毒传递载体备受人们的关注<sup>[3-5]</sup>,纳米载体系统不仅可以保护DNA免受核酸酶降解<sup>[6]</sup>,因为其本身所具有的生物降解性和生物相容性,还可避免载体效应的发生,并且是巨噬细胞、树突状细胞的首选吞噬目标,它可以增强抗原提呈细胞对抗原的吞噬和加工递呈作用,从而提升抗原表达水平,提高免疫效果<sup>[7,8]</sup>,因此利用纳米乳剂作免疫佐剂和载体是一种比较有效的非病毒载体发送系统<sup>[9,10]</sup>。为了提高ZP3 DNA疫苗的免疫效果,探讨不同的发送途径,本研究利用纳米乳剂包封ZP3 DNA疫苗,制备了纳米乳剂质粒DNA疫苗,对其性质进行了评价,根据质粒的带电性质,利用强阴离子交换色谱法(AKTA purifier快速纯化系统)建立了一种简单、快速检测质粒纳米乳剂包封率的方法,实现了对纳米乳剂包裹质粒包封率的快速测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

AKTA Purifier快速纯化系统(美国Amersham公司),U-3010紫外分光光度计(日本Hitachi公司),2200数字式凝胶成像仪(美国Alpha Innotech公司),高速冷冻离心机(美国Beckman公司),电泳仪(美国Bio-Rad公司),0.45 $\mu$ m滤膜(美国Millipore公司),限制性内切酶均为TaKaRa公司产品,大豆油、poloxamer 188、span 80购自美国Gibco公司。实验用水为Milli-Q水(18.3M $\Omega$ ·cm)。其他常规化学试剂均为分析纯产品。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品制备

(1)质粒制备及定量:草原兔尾鼠卵透明带3基因疫苗pCDNA3-Aat-COMP-ZP3-C3d3(简称pACLCL)由本实验室构建,将构建好的重组质粒进行酶切鉴

定,鉴定正确后,参照文献<sup>[11]</sup>,用碱裂解法大量提取重组质粒DNA,聚乙二醇沉淀法纯化质粒DNA,用U-3010紫外分光光度计测定其在260nm和280nm处的吸光度,根据 $A_{260}/A_{280}$ 的比值估算其纯度,根据公式(DNA浓度 =  $A_{260} \times 50\mu\text{g/mL} \times \text{稀释倍数}$ )计算其质量浓度,保存在-20℃用于绘制标准曲线和制备纳米乳剂包裹的质粒疫苗。

(2)质粒pACLCL纳米乳剂的制备:在无菌条件下,将10mL含有0.25mg/mL的pACLCL重组质粒DNA、1.68mL大豆油与8mL/L poloxamer 188和8mL/L span 80的混合液,逐滴加入到8mL含有18mL/L poloxamer 188和8mL/L span 80的水溶液中,室温以400r/min转速搅拌直至形成乳液。将其放于冰浴中至温度降为0℃时,超声10min(功率250W,20kHz),反复3次,得到淡黄色半透明的质粒纳米乳剂<sup>[7]</sup>,经0.2 $\mu$ m的滤膜过滤后,于4℃保存。

1.2.2 质粒pACLCL纳米疫苗的理化性质:将制成的质粒纳米乳剂溶于生理盐水,采用1%磷钨酸染色,在透射电子显微镜下观察其形态,并计算粒径。

质粒DNA与染料溴化乙锭结合后可以通过琼脂糖凝胶电泳进行检测。根据质粒DNA的这个特性,将制备好的质粒DNA纳米乳剂通过琼脂糖凝胶电泳初步检测纳米乳剂包裹的质粒DNA的效果。

#### 1.2.3 分析条件的建立

(1)色谱条件:色谱柱为强阴离子交换HiTrap Q XL色谱柱,(0.75cm $\times$ 10cm,90 $\mu$ m)(Amersham公司),流动相为:A:0.05mol/L Tris-HCl的平衡液,B:0.05mol/L Tris-HCl+2mol/L NaCl的洗脱液,流速:0.7mL/min。梯度洗脱程序:0min,100%A,0%B;30min,100%B,0%A。平衡后手动进样,进样量:2mL。检测波长260nm。

(2)标准曲线的绘制:核酸中的碱基在紫外260nm处有吸收,其峰面积( $A_{260}$ )与浓度成比例关系,由此可以用作质粒DNA的定量检测。由于AKTA Purifier快速纯化系统能够提供相应的峰面积与质粒的定量关系,在线测定不同浓度质粒DNA的峰面积,绘制浓度与峰面积的标准曲线,从而实现了对纳米乳剂包裹质粒包封率的快速测定。

1.2.4 包裹率、稳定性测定:根据质粒的带电性质,选用Q SepharoseTM XL色谱柱能够将质粒与纳米乳剂分离,因此在质粒纳米乳剂包封率的检测中,采用此柱来检测质粒纳米乳剂的包封率,按照1.2.3节(1)中的色谱条件,移取质粒纳米乳剂2.0mL上柱,在线检测,得到质粒纳米乳剂中游离质粒的峰面积

以标准曲线为依据算出游离的质粒含量。按公式：包裹率% =  $(W_{总} - W_{游}) / W_{总} \times 100\%$  算出质粒纳米乳剂的包封率 ( $W_{总}$  为制备时使用的质粒总量,  $W_{游}$  为游离质粒的量)。按公式 =  $W_{包} / W_C \times 100\%$  算出纳米乳剂的包封量 ( $W_{包}$  为纳米乳剂包裹的质粒的量,  $W_C$  为纳米乳剂的体积)。

2 结果与分析

2.1 质粒 pACLIC 的浓度与纯度

将制备好的原始质粒 DNA 溶液稀释 500 倍,用 U-3010 紫外分光光度计测定其在 260nm 和 280nm 处的紫外吸收,  $A_{260} / A_{280}$  的比值介于 1.835 ~ 1.846 之间,原始质粒的浓度约为 9500 $\mu$ g/mL,从测定的结果可以看出,制备好的质粒具有较高的纯度。

2.2 质粒纳米疫苗的理化性质

制备好的质粒纳米乳剂肉眼观察为乳白色的均质胶体混悬液,在透射电子显微镜下观察发现质粒纳米乳剂呈球形 (Fig. 1),大小比较均匀,将采集的图像经计算机图象分析得出纳米乳剂平均粒径为 (23  $\pm$  10) nm。

将包裹好的不同批次的质粒纳米乳剂和相同浓度的质粒 DNA 用琼脂糖凝胶电泳检测观察质粒纳米乳剂的包裹效果。从电泳图中可以看出:空白乳剂主要是脂类物质不与溴化乙锭结合所以没有检测到任何条带;不同批次的质粒纳米乳剂的包裹效果不同,第三泳道的样品包裹效果没有其他批次好,第 4、5、6 泳道的样品包裹效果良好,没有检测到游离的质粒 DNA,而未包裹的质粒 DNA 显示出非常浓的条带。初步表明纳米乳剂能够将质粒 DNA 有效地包裹 (Fig. 2)。

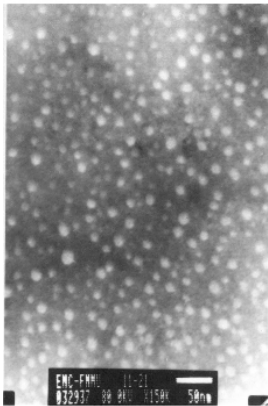


图 1 纳米乳剂透射电镜观察  
Fig. 1 The photo of nanoemulsion by transmission electromicroscope

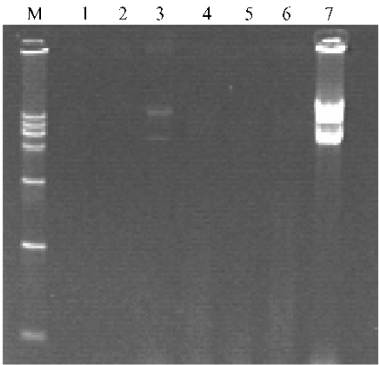


图 2 质粒纳米乳剂电泳检测

Fig. 2 The detection of plasmid nanoemulsion by electrophoresis  
M: DNA marker DL15000; 1-2 the blank nanoemulsion 3~6 different plasmid nanoemulsion 7: plasmid.

2.3 标准曲线的绘制

用已知浓度的质粒 DNA 配制成浓度分别为: 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 mg/mL 的标准溶液,分别进样,在线测定。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,作标准曲线:  $Y = 2.8906X + 6.683$ ,  $r = 0.9983$ ,在 0.05 ~ 0.80mg/mL 之间线性关系良好。同时测定了检出限 0.001mg/mL (信噪比大于 3 倍),数据表明该方法具有较低的检出限及较宽的线性范围。

2.4 精密度及加样回收率实验

取制备好的质粒 DNA 溶液 0.05, 0.40, 0.80 mg/mL 按 1.2.3 节 (1) 中的色谱条件分别重复进样 5 次,以 5 次平行测定的峰面积计算相对标准偏差,得到本方法的精密度 (见表 1)。采用标准加入法检验了该方法的回收率,结果见表 1。数据表明,本方法具有较好的精密度和较高的回收率,方法可行。

表 1 方法的精密度及回收率 (n = 6)		
Table 1 Reproducibility, and the recovery (n = 6)		
Sample concentration (mg/mL)	RSD	Recovery (RSD) %
0.05	2.40	105 (2.51)
0.4	1.10	101 (3.60)
0.8	3.52	99.8 (2.99)

2.5 Q Sepharose XL 强阴离子交换色谱柱对纳米乳剂和游离的质粒 DNA 的分离

2.5.1 质粒 DNA 和空白纳米乳剂的色谱分离:根据质粒的构象和带电的性质,采用 Q Sepharose XL 强阴离子交换色谱柱来分离质粒。按 1.2.3 节 (1) 中的色谱条件,移取已知浓度的质粒 DNA 2.0 mL 上柱,分离图谱如图 3 所示,收集样品后琼脂糖凝胶电泳检测,表明该色谱柱对质粒 DNA 有良好的吸附能力。

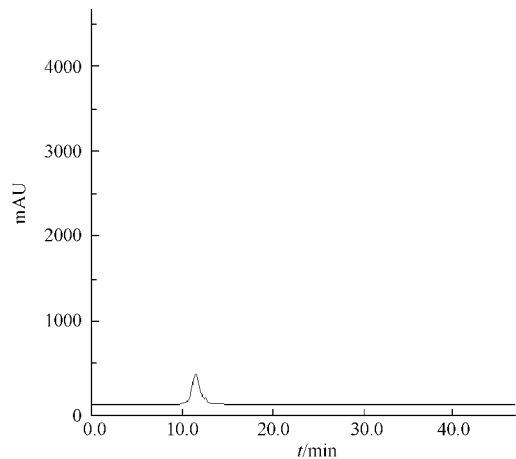


图3 质粒 DNA 的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of plasmid DNA

取空白乳剂稀释后,在同样的色谱条件下重复上样3次,每次上样后,空白乳剂在平衡缓冲液的淋洗下先行流出,用洗脱液进行洗脱后,没有物质被洗脱下来,说明该色谱柱对空白乳剂不吸附,可以用于游离质粒和纳米乳剂的分离测定,其相对标准偏差为2.99%。

**2.5.2 质粒 DNA 和纳米乳剂混合物的色谱分离:**精密量取空白纳米乳剂与一定浓度的质粒混合后,按照1.2.3节(1)的色谱条件,重复上样3次,收集洗脱样品进行电泳检测,纳米乳剂洗脱峰中没有检测到质粒DNA,说明该色谱柱能够将游离质粒DNA和纳米乳剂混合物完全分离,可以用于质粒纳米乳剂包封率的测定,分离图谱如图4所示。

**2.5.3 包封率的测定** 移取制备好的纳米乳剂质粒样品2.0mL,混匀后,按照1.2.3节(1)的色谱条件进样,重复进样3次,在线测定峰面积,代入标准曲线,计算包封质粒的含量 $W_{intra}$ 及包封率En%。结果见表2,平均包封率为80.5%,RSD低于5%( $n=3$ )。样品包封量为0.2mg/mL。样品置于4℃冰箱保存6个月后,外观依然为均质胶体混悬液,无分层和沉淀现象,测载药量和包裹率无明显变化。

表2 质粒纳米乳剂的包封率

Table 2 Entrapment efficiency of plasmid nanoemulsion( $n=3$ )

Number	$W_{intra}$ /mL	$W_{total}$ /mL	En%
1	0.2060	0.250	82.4
2	0.1965	0.250	78.6
3	0.2015	0.250	80.6

3 讨论

纳米粒子有许多优点可以作为发送药物和疫苗的载体,目前,常采用乳酸-聚羧基乙酸共聚物(PLGA)、海藻酸钠、壳聚糖及其衍生物、脂质体等

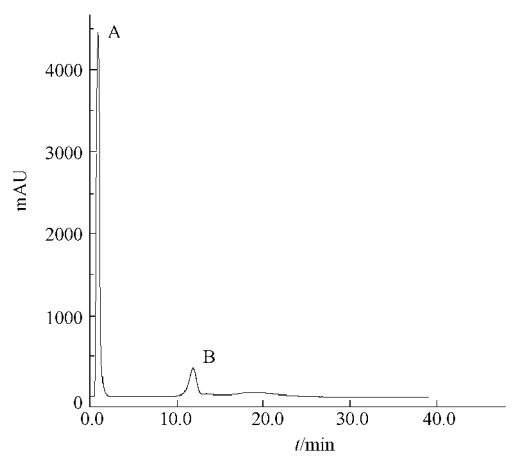


图4 纳米乳剂和质粒 DNA 分离的色谱图

Fig. 4 The separation Chromatogram of plasmid nanoemulsion  
A the blank nanoemulsion; B: the plasmid.

可生物降解材料作为发送载体<sup>[12-14]</sup>,与传统药物载体脂质体相比有如下的优势:易于制备,稳定性好,易于储备和运输,有一定免疫佐剂功效,低毒性,适于不同免疫途径。Mollenkopf等<sup>[15]</sup>将构建好的结核杆菌DNA疫苗与PLGA包裹后免疫小鼠,不但可以产生较高水平的细胞免疫,而且注射用量比单独用裸DNA疫苗少。利用纳米载体系统能够特异性激活巨噬细胞、树突状细胞等APCs,增加APCs的摄取量,提高转运的靶向性和转运效率,增强免疫的效应<sup>[16]</sup>。DC对纳米乳剂摄取效率的提高,首先是由粒径来决定。纳米药物载体的体内药代动力学研究也表明,单核吞噬细胞可优先摄取静脉途径给予的纳米级颗粒<sup>[16]</sup>。本研究成功制备的质粒纳米乳剂粒径<50nm,且大小均匀,保证了载体具有纳米微粒的优良性质,为免疫实验提供了重要的制剂(免疫实验的结果另文报道)。

本研究将强阴离子交换色谱法(AKTA purifier快速纯化系统)这种准确、灵敏的分析方法应用于质粒纳米乳剂包封率的测定,通过条件的优化,该系统能够快速、高效地完成包封率的在线检测,使用方便、重复性好。在分离测定的过程中,纳米乳剂可以很好的与游离质粒DNA分离。为了避免纳米乳剂阻塞色谱柱,样品经过稀释后上样,纳米乳剂能够顺利被洗脱下来。该测定方法可适用于其他样品包封率的快速分析,为质粒纳米乳剂包封率的测定及研究提供了一种有效、便捷的新手段。

REFERENCES(参考文献)

[1] Paterson M, Jennings ZA, Wilson MR, et al. The contraceptive potential of ZP3 and ZP3 peptides in a primate model. *J Reprod Immunol*, 2002, 53(5): 99-107.  
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

- [ 2 ] Wang YB( 王焱冰 ), Li YJ( 李轶杰 ), Zhang FC( 张富春 ). Enhancing the induced immune response of *Lagurus lagurus* zona pellucida 3 DNA vaccine by molecular adjuvant C3d. *Journal of Molecular Cell Biology* ( 分子细胞生物学报 ), 2006 , **39**( 4 ) :297 – 303 .
- [ 3 ] Wu DC , Wan MX , Mo J . Enhancing the antitumor effect of adriamycin nanoparticle by pretreating liver cancer with diethyldithiocarbamate. *J Chin Pharm* , 2002 , **11**( 3 ) :24 – 29 .
- [ 4 ] Mumper RJ , Cui ZHR . Genetic immunization by jet injection of targeted pDNA-coated nanoparticles. *Methods* , 2003 , **31**( 4 ) :255 – 262 .
- [ 5 ] He BL( 何保凌 ), Sun EX( 孙恩杰 ), Yang LX( 杨冬 ). Preparation of new lipid-hydroxyapatite-DNA complex and gene transfection research. *Chinese Journal of Biotechnology* ( 生物工程学报 ), 2006 , **22**( 5 ) :795 – 799 .
- [ 6 ] Wang D , Robinson DR , Kwon GS , *et al* . Encapsulation of plasmid DNA in biodegradable poly ( D , L-lactic-co-glycolicacid ) microspheres as a novel approach for immunogene delivery. *J Controlled Release* , 1999 , **57**( 1 ) :9 – 18 .
- [ 7 ] Ge W , Sui YF , Wu DC , *et al* . MAGE-1/Heat shock protein 70/ MAGE-3 fusion protein vaccine in nanoemulsion enhances cellular and humoral immune responses to MAGE-1 or MAGE-3 *in vivo* . *Cancer Immunol Immunother* , 2006 , **55**( 9 ) :841 – 849 .
- [ 8 ] Myc A , Kukowska-Latallo JF , Bielinska AU , *et al* . Development of immune response that protects mice from viral pneumonitis after a single intranasal immunization with influenza A virus and nanoemulsion. *Vaccine* , 2003 , **21**( 4 ) :3801 – 3814 .
- [ 9 ] Igartua M , Hernandez RM , Esquisabel A , *et al* . Enhanced immune response after subcutaneous and oral immunization with biodegradable PLGA microspheres. *J Controlled Release* , 1998 , **56** ( 1 – 3 ) :63 – 73 .
- [ 10 ] Reis PC , Ribeiro AJ , Houg S . Nanoparticulate delivery system for insulin : Design , characterization and *in vitro/in vivo* bioactivity. *Eur J Pharmaceut Sci* , 2007 , **154**( 6 ) :1 – 6 .
- [ 11 ] Sambrook J , David WR . Molecular Cloning : A Laboratory Manual . 3th ed . Beijing : Scientific Press , 2002 , pp.10 – 12 .
- [ 12 ] Chew JL , Wolfowicz CB , Mao HQ , *et al* . Chitosan nanoparticles containing plasmid DNA encoding house dust mite allergen , Der p 1 for oral vaccination in mice. *Vaccine* , 2003 , **21** :2720 – 2729 .
- [ 13 ] Elamanchili P , Diwan M , Cao M , *et al* . Characterization of poly ( D , L-lactic-co-glycolic acid ) based nanoparticulate system for enhanced delivery of antigens to dendritic cells. *Vaccine* , 2004 , **22** :2406 – 2412 .
- [ 14 ] Panyam J , Labhasetwar V . Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Del Rev* , 2002 , **55** :329 – 347 .
- [ 15 ] Mollenkopf HJ , Dietrich G , Fensterle J , *et al* . Enhanced protective efficacy of a tuberculosis DNA vaccine by absorption onto cationic PLG microparticles. *Vaccine* , 2004 , **22** ( 21/22 ) :2690 – 2695 .
- [ 16 ] Shi R , Hong L , Wu DCH , *et al* . Enhanced immune responses to gastric cancer specific antigen peptide by coencapsulation with CpG oligodeoxynucleotides in nanoemulsion. *Cancer Biology and therapy* , 2005 , **4**( 2 ) :100 – 106 .

## 生物毒素研究新进展

生物毒素总的来说是有害的 ,可使生命有机体得病 ,重者死亡。某些原核生物和真核生物或某些低等生物和高等生物均有产生毒素的能力。美国一位生理学家曾做过实验 ,证实人生气时会分泌毒素。把人生气时呼出的“生气水”注射到大白鼠身上 ,几分钟后大白鼠就死亡了。生气时的分泌物比任何情绪时都复杂 ,更具有毒性。生物毒素固然有其害 ,但同时亦有其利 ;“以毒攻毒” ,可用于治病。因此 ,研究者利用它有针对性地服务于人类。如何利用动物毒素(或毒液)来造福于人类呢 ? 这里介绍两方面研究进展。( 1 )利用蝎子毒液研制成抗癌新药。美国洛杉矶一家医疗中心研究者在以色列黄色毒蝎的毒液中发现一种蛋白质 ,用它制成药剂用于脑癌患者 ,具有抑制癌细胞生长的作用 ,而对健康细胞没有伤害。在对患者注射放射碘和源于蝎毒液的合成蛋白质( TM-601 )混合液时 ,抑制残留的肿瘤细胞生长 ,对健康细胞却没有负面影响。研究者据此认为 ,这种治疗方法是安全的。在美国 ,西雅图一家癌症研究中心研究人员从蝎子体内提取出一种蝎氯毒素( 对人无害 ) ,与一种能发出近红外光的荧光分子混合而成“涂料”( 染色剂 ) ,用于染色癌细胞。其价值在于 ,当医生为肿瘤患者手术时可能有“逃生”的癌细胞 ,经“涂料”染色后的癌细胞中含有荧光分子 ,其发出的特定波长的光不会被血液、其他体液或者骨骼所阻挡 ;“逃生”的癌细胞也不会漏网。此项技术有可能于 2008 年进入临床试验 ,很有实用价值。( 2 )蛇毒液已普遍用于治病。如泰国的眼镜蛇的毒液及其提取物用于治疗多发性硬化症 ,对人体无明显毒性 ,神经细胞不受破坏。印度一家生物化学研究所研究人员发现眼镜蛇等毒蛇的毒液中含有的蛋白素在治疗癌症方面可起很好作用。目前正在从毒蛇毒液中提炼一种可抑制癌细胞的蛋白素 ,这种蛋白素对白鼠血液癌、皮肤癌及其他肿瘤等具有一定的作用。总之 ,毒液中含有多种不同毒素蛋白和酶 ,可采用“以毒攻毒”手段杀死癌细胞。

( 柯 为 )