

可能形成 β 回折, 其 $\langle P_i \rangle = 1.13$, $P_i = 0.90 \times 10^{-4}$ 。但由于单独的 A 链, 既无 $A_{20}-B_{19}$ 链间二硫键, 也没有 $A_{21}-B_{22}$ 盐键, 因此其 C 端难以稳定, 可能实际上不能形成 β -回折。

由表 5 序列预测还表明 B_2-B_6 , $B_{24}-B_{29}$ 可形成 β 结构, B_9-B_{19} 可形成 α 螺旋, 这与 2-Z₈ 胰岛素晶体结构报道是一致的^[10]。但序列预测法计算 B_1-B_6 肽段, 表明它既可成 α 螺旋, 亦可成 β 结构。由于 P_β 为 1.21, 大于 P_α 1.03, 故一般表现为 β 结构, 如 2-Z₈ 胰岛素晶体中的情况^[10]。但按 α 、 β 的边缘残基分析, 则 B_4 、 B_5 、 B_6 的 $P_{\alpha C}$ 分别为 1.22, 1.77, 1.13。而 $P_{\beta C}$ 则为 0.65, 0.90, 1.27。因此 B_1-B_6 肽段的 C 端残基形成 α 的可能又大于 β 。加之, P_α 1.03 亦可为 α 螺旋。实际上, 在 6% NaCl 中结晶出的 4-Z₈ 胰岛素 B 链 N 端确实为 α 螺旋^[11]。Chou 和 Fasman 对此也有所讨论^[3,4]。这充分表明, 序列预测法确实可提出各肽段形成二级结构的各种可能性, 而实际上究竟形成什么结构, 还视晶体或溶液的具体状况, 包括溶剂状况、二硫键断裂与否、荷电残基的状况而定。此外, B 链的 P_i 分析指出, 晶体结构中形成回折的 $B_{20}-B_{22}$ 和 B_7-B_9 附近, P_i 确实大于 1。不过在单独的 B 链中, 无 A_7-B_7 , $A_{19}-B_{20}$ 两对二硫键, 也没有 $B_{22}-A_{21}$ 盐键及 $A_{19}-B_{25}$ 氢键维系, 故此两段 β -回折, 特别是 $B_{20}-B_{22}$ 难以稳定。很可能在单独的 B 链中, 这部份肽段呈无规卷曲状态(因有 B_8 、 B_{20} 两个 Gly)。

Chou-Fasman 的预测方法是由统计学得出

的经验推断方法。因此排除例外, 具体事物还要具体分析; 但既作为统计学的结果, 则一定还包含某种客观规律, 这就是各氨基酸残基的 ϕ 、 ψ 、 ω 等二面角对形成 α 、 β 、 T 等二级结构的立体化学制约性。蛋白质的氨基酸序列之所以包含着形成二级结构以至全部高级结构的信息, 也正在于此。随着蛋白质晶体结构数据库的不断增大, 由残基序列预测蛋白质二级结构的精度将大大提高, 其应用前景将更加广阔。

参 考 文 献

- [1] Chou, P. Y., and Fasman, G. D., *Biochemistry*, **13**, 211, 1974.
- [2] Chou, P. Y., and Fasman, G. D., *ibid* **13**, 222, 1974.
- [3] Chou, P. Y., and Fasman, G. D., *Ann. Rev. Biochem.*, **47**, 251, 1978.
- [4] Chou, P. Y., and Fasman, G. D., *Adv. Enzymology*, **47**, 45, 1978.
- [5] Cantor, C. R., and Schimmel, P. R. *Biophysical Chemistry*, Part I San Francisco, W. H. Freeman and Co
- [6] Argos, P., and Palau, J. *Int. J. Peptides Protein Res.*, **19**, 380, 1982.
- [7] 华庆新、王家槐《生物化学与生物物理进展》3, 2, 1984.
- [8] Hua Qing-Xin, Qian Yan-Qiu, Tsou Chen-Lu *Biochim, Biophys. Acta*, **789**(2), 234, 1984.
- [9] 华庆新、钱雁秋、邹承鲁《中国科学》B 辑, 5, 404, 1985.
- [10] Blundell, T. L., Cutfield, J. F., Cutfield, S. M., Dodson, E. J., Dodson, G. G., Hodgkin, D. C., Mercola, D. A., and Vijayan, M. *Nature*, **231**, 506, (1971).
- [11] Bentley, G., Dodson, E., Dodson, G., Hodgkin, D., Mercola, D. *Nature*, **261**, 166, 1976.

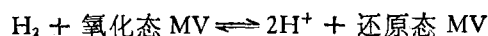
[本文于 1984 年 7 月 10 日收到]

细菌氢酶的结构和催化功能

朱长喜 宋鸿遇

(中国科学院 上海植物生理研究所)

早在本世纪初就发现多种生物体, 主要是细菌和藻类具有释放和利用分子氢的能力, 但是参与分子氢反应的酶的本质, 直到 30 年代才得到证实。通常用下面的反应式表示:



1931 年 Stevenson 和 Stickland 命名具有此催化活性的酶为氢酶。

自 1974 年 Chen 和 Mortenson 在巴氏梭

表1 氢酶的性質^(1,2)

细菌名称	在细胞内的定位	生理作用	生理电子载体	分子量	亚基 (Noxmol wt $\times 10^{-3}$)	铁和硫含量 (mol/mol)	pI	活性中心铁 硫原子簇	氧敏感 保存,反应	电子供体和受体	比活性
厌氧发酵细菌											
<i>C. pasteurianum</i>	胞质体	放氢	铁氧还蛋白 (黄素蛋白)	60,000	1 $\times 60$	12 12	5.0	3 $\times$ [4Fe-4S]	很敏感,很敏感	MV, BV, Fd, MeB	4000
<i>M. elsdenii</i>	胞质体	放氢	铁氧还蛋白	50,000	1 $\times 50$	12 12	—	3 $\times$ [4Fe-4S]	敏感, —	MV, BV, FMN, DCIP	8400
<i>D. gigas</i>	胞外质	吸氢	细胞色素 C ₃ (黄素蛋白)	89,000	1 $\times 62$, 1 $\times 26$	12 12	—	3 $\times$ [4Fe-4S]	敏感, —	MV, BV, CytoC ₃ , FMN	91(1mM)
<i>D. vulgaris</i> (Miyazaki)	细胞膜	吸氢	细胞色素 C ₃	89,000	1 $\times 59$, 1 $\times 28$	8 8	6.2	2 $\times$ [4Fe-4S]	相当稳定, —	MV, CytoC ₃	90
(Hildenborough)	胞外质	吸氢	细胞色素 C ₃	50,000	1 $\times 50$	12 12	—	—	相当稳定, —	MV, MeB, CytoC ₃	10,400(V)
<i>D. desulfuricans</i>	胞外质	吸氢	细胞色素 C ₃	52,000	1 $\times 52$	12 12	—	—	敏感, —	MV, MeB, CytoC ₃	9000
<i>M. formicicum</i> ⁽¹²⁾	细胞膜	放氢	F ₄₂₀	60,000	—	—	—	—	相当稳定, —	MV, MeB, F ₄₂₀	—
兼性厌氧细菌											
<i>E. coli</i>	细胞膜	放氢	—	113,000	2 $\times 56$	12 21	4.2	—	敏感, 敏感	MV, MeB, NR, MeB, FeCN	136(V)
<i>P. mirabilis</i>	细胞膜	放氢	—	205,000	2 $\times 63$, 2 $\times 33$	24 24	4.72	—	不敏感, —	MV, MeB, MeB	—
好氧细菌											
<i>A. autrophs</i> 1	胞外质	吸氢	NAD	205,000	1 $\times 68$, 1 $\times 60$, 2 $\times 29$	12 12	4.85	2 $\times$ [4Fe-4S]; 2 $\times$ [4Fe-4S]	稳定, 不敏感	MV, BV, NAD, FMN	48
2	细胞膜	吸氢	醌(?)	98,000	1 $\times 67$, 1 $\times 31$	6 6	6.5	—	稳定, 不敏感	FeCN, MeB, PMS	—
<i>P. pseudoflava</i>	细胞膜	吸氢	—	98,000	1 $\times 65$, 1 $\times 30$	6 6	—	—	敏感, —	—	—
光合细菌											
<i>Chromatium</i>	细胞膜	吸氢	—	98,000(?)	2 $\times 50$ (?)	4 4	4.2	1 $\times$ [4Fe-4S]	稳定, 敏感	MV, BV, FMN, MeB	119(5 mM)
<i>R. rubrum</i>	细胞膜	吸氢	—	66,000	1 $\times 66$	4 4	5.3	—	相当稳定, 敏感	MV, BV, MeB, FMN	33(V)
<i>T. roseopersicina</i>	细胞膜和胞质体	吸氢	细胞色素 C ₃ (?)	68,000	1 $\times 47$, 1 $\times 25$	4 4	4.2	—	相当稳定, 敏感	MV, BV	5(1mM)
<i>Rps. capsulata</i>	细胞膜和胞质体	吸氢	细胞色素 C ₃ (?)	60,000	1 $\times 60$	—	5.5	—	敏感, —	MV, BV, CytoC ₃	59.5

菌 (*C. pasteurianum*) 中首次分离纯化获得氢酶以来, 已经从 10 多个不同菌种中得到均一状态的氢酶, 并对其结构和功能进行了广泛的研究。由于氢酶与其它生物催化剂一起, 利用太阳能光解水放氢, 是一个理想的既无污染、又可再生的能源^[3], 还能提高固氮效率^[4], 因此引起人们对氢酶结构和催化机理研究的兴趣。

本文拟就细菌氢酶的分布, 分离纯化, 物理化学和催化性质, 以及催化反应机理等方面的研究进展, 作一简要综述。

一、氢酶的分布及其分离纯化

氢酶广泛分布在多种细菌群类中, 即专性厌氧细菌、兼性厌氧细菌、好氧细菌和光合细菌。随其来源的不同, 有些氢酶催化吸氢, 有的催化放氢, 有的则兼而有之^[5]。一般情况下, 离体氢酶的吸氢和放氢活性大于整体氢酶。氢酶存在于细胞的不同部位, 例如巴氏梭菌, 埃氏巨球形菌 (*M. elsdenii*), 真产产碱菌 (*A. eutrophus*) 等位于胞质体, 称为可溶性氢酶。大肠杆菌 (*E. coli*), 红硫菌 (*Chromatium*), 深红螺菌 (*R. rubrum*) 等位于细胞膜上。脱硫弧菌 (*D. vulgaris*), 巨大脱硫弧菌 (*D. gigas*) 则定位在胞外质。这些氢酶必须用表面活性剂 Triton X-100 或胆酸和去氧胆酸钠及胰蛋白酶等酶制剂, 才能把它们从细胞膜或胞外质上溶解下来, 因此称为膜结合态氢酶。各种细菌群类中有代表性的氢酶及其在细胞内的定位见表 1。

要研究氢酶的结构和催化功能, 首先必须获得均一状态的氢酶。由于氢酶对氧比较敏感, 因此必需在严格厌氧和低温 (4℃) 下进行分离纯化, 给实验带来了许多困难^[5,6]。目前, 由于采用多次高速离心分离, 加热和硫酸铵部分沉淀, 透析, 以及多次离子交换柱层析和不同类型凝胶过滤等技术, 才得到具有一定纯度的氢酶样品。

一般氢酶以膜结合态或以某一种可溶性状态存在, 而光合细菌 (*T. roseopersicina*) 却存在两种状态氢酶的催化吸氢和放氢反应活性^[7]。

光合细菌 (*Rps. capsulata*) 也存在两种不同状态, 但以膜结合态氢酶为主, 并且均催化吸氢和放氢可逆反应活性, 其吸氢活性约为放氢活性的 200 倍^[8,9]; 同时也观察到其膜结合态氢酶含有两种不同形式, 它们从离子交换柱层析上的洗脱行为, 催化反应性质, 稳定性均有差异^[10], 光合细菌 (*Chromatium*)^[11] 和甲烷细菌 (*M. formicicum*) 也有类似现象报道^[12]。

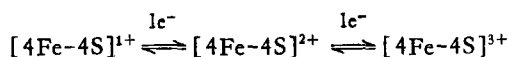
二、氢酶的物理化学性质

氢酶的来源不同, 其理化性质的差异也很大, 但均含有非血红素铁和酸性不稳定硫, 属铁-硫蛋白^[5,6]。现将有关性质比较如下:

1. 氢酶的理化特性 氢酶的一个主要特征是具有较大分子量的铁-硫蛋白。厌氧细菌和光合细菌氢酶的分子量相对小一些, 为 6—8 万道尔顿; 兼性厌氧和好氧细菌氢酶的分子量为 10—20 万道尔顿。其亚基组成如表 1 所列。它们都有较多的酸性氨基酸、芳香氨基酸和疏水氨基酸残基, $Asx + Glx/Lys + Ary > 2$ 。等电点在 4.5—5.5 之间。有关氨基酸顺序和 X-晶体衍射研究至今还报道甚少。

2. 光谱和电子自旋共振 (ESR) 波谱性质 氢酶处于天然氧化态时, 呈黄棕色, 在 350—400 nm 波长范围内, 有很宽的吸收肩, 是典型的含 [4Fe-4S] 原子簇载体蛋白的吸收光谱。当用氢气或连二亚硫酸钠 ($Na_2S_2O_4$) 将其还原后, 光吸收值降低 10—25%。

氢酶作为铁-硫蛋白, 有明显的顺磁特性, 其电子自旋共振波谱与具有 [4Fe-4S] 原子簇同属铁-硫蛋白的铁氧还蛋白 (Fd) 有共同之处^[13]。铁-硫蛋白的 [4Fe-4S] 原子簇有三种不同的氧化还原状态, 下式表示在电子传递时, 铁-硫原子簇的价态变化:



至今, 报道较多的是 *A. eutrophus* 和 *C. pasteurianum* 氢酶的 ESR 波谱, 它们处于氧化态时, 没有波谱信号, 还原成 1^+ 价态时, $g = 1.94$; 3^+ 价态时, $g = 2.01$; 2^+ 价态时, 由于抗铁磁

性偶联,顺磁性消失。

3. 铁-硫原子簇活性中心结构 通过可见光谱和 ESR 波谱研究认识到氢酶是含非血红素铁和与其相同数目酸性不稳定硫的铁-硫蛋白。化学分析发现每分子氢酶中铁的含量不同,变化幅度为 2~24, 应用超低温 ESR 波谱和有关技术可进一步阐明 [Fe-S] 原子簇活性中心结构的差别。A. *eutrophus* 氢酶处于 55K 时,无论用连二亚硫酸钠或氢气还原,都得到典型的 $g = 1.94$ 的 ESR 波谱(图 1 I),30K 时,ESR 波谱变得复杂(图 1 II),说明可能存在另一个 [4Fe-4S] 原子簇。用苯硫代磺酸等有机溶剂处理,除去了作用于原子簇的构象约束力,蛋白质结构松弛,在 55 K 测定时给出的是与 [2Fe-2S]原子簇铁氧还蛋白相似的 ESR 波谱,12K 时的波谱与 $2 \times [2Fe-2S]$ 原子簇典型的铁氧还蛋白波谱相同。定量 ESR 波谱测定证明,每分子氢酶含有两个 [4Fe-4S] 和两个 [2Fe-2S]原子簇^[4],与化学分析的结果是吻合的。

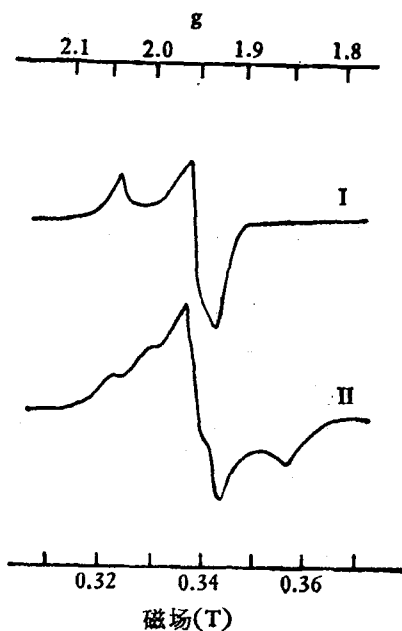


图 1 A. *eutrophus* H₂. 氢酶(还原态)的 ESR 波谱
I. 55K II. 12K

C. pasteurianum 氢酶以连二亚硫酸钠还原后的 ESR 波谱与 [8Fe-8S] 铁氧还蛋白的波谱近似^[13],若以 FeCN 滴定还原的氢酶,出现

弱的瞬变波谱信号,当电位低于 -330mV,呈现很弱的轴对称 g 值大于 2 的波谱信号^[15],如图 2II。这表明从还原态变成氧化态的过程中,有三个电子传递,说明存在三个 [4Fe-4S] 原子簇。近来在某些氢酶中也发现有 [3Fe-3S]原子簇。

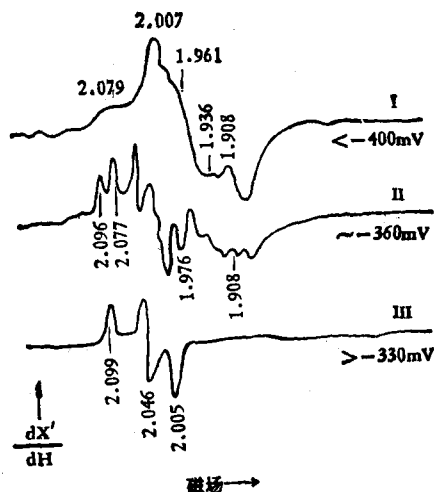


图 2 不同氧化还原状态时 *C. pasteurianum* 氢酶的 ESR 波谱 (15K)

从 X-晶体衍射结果和金属配位学说,[4Fe-4S],[2Fe-2S] 以及 [3Fe-3S] 原子簇活性中心结构图式如图 3 所示。

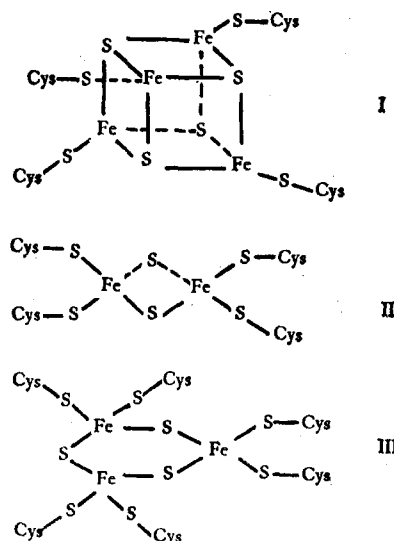
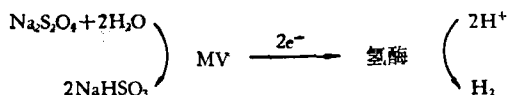


图 3 铁-硫原子簇活性中心在 (I) [4Fe-4S], (II) [2Fe-2S], (III) [3Fe-3S] 中的键合排列

三、氢酶的催化性质

1. 电子载体的专一性 氢酶的放氢速率在没有电子载体参与时是很缓慢的,若加入合适电子载体,速率加快 99%^[13],因此研究电子载体性质是阐明氢酶的催化机理重要方面。

多种人工氧化还原染料(见表)能够作为氢酶的电子载体,其中 MV, 苝基紫精 (BV) 对多种来源氢酶的催化放氢反应都有效,特别是 MV 在以过量的连二亚硫酸钠为电子供体时,可检测质子的还原。反应如下式所示:



其它例如黄素单核苷酸(FMN),辅酶 I (NAD), 2, 6-二氯酚靛酚(DCIP),亚甲蓝 (MeB), 铁氰酸盐 (FeCN) 等只对某些氢酶有作用。不同载体对氢酶的催化作用见表。

有关氢酶的生理性电子载体研究资料还不多,至今只对厌氧和好氧细菌的某些氢酶有较详细研究,发现它们的生理电子载体与其来源有很大差异^[5]。厌氧细菌 *Desulfovibrio* 氢酶生理电子载体为低电位的细胞色素 C_3 , 命名为 H_2 : 细胞色素 C_3 氧化还原酶;而 *C. pasteurianum* 和 *M. elsdenii* 对铁氧还蛋白是专一的,命名为 H_2 : 铁氧还蛋白氧化还原酶。这些氢酶在贫铁的培养基中生长,由于黄素氧还蛋白 (Flavodoxin) 合成取代 Fd, 从而使它成为氢酶的天然电子载体,而细胞色素 C_3 不能作为电子载体支持这两个氢酶的放氢反应。以 Fd 作电子载体,加入适量 MV, 放氢速率比单独 Fd 时高 5 倍,这一现象仅在 *C. pasteurianum* 氢酶中发现。前不久人们还对厌氧细菌 *M. formicicum* 的生理电子载体为氧化还原因子 F_{420} 有争论,最近 Jin^[12]发现由三个亚基组成的氢酶对 F_{420} 专一,而含二个亚基的氢酶对 F_{420} 不反应。好氧细菌 *A. eutrophus* 氢酶以可溶性状态为主要形式存在,只对烟酰胺核苷酸相互作用,命名为 H_2 : NAD 氧化还原酶,其膜结合态氢酶的生理电子

载体尚未确定。黄素核苷酸曾被认为是光合细菌 *Chromatium* 的生理电子载体,但未能肯定;光合细菌 *T. roseopersicina* 和 *Chromatium* 氢酶能够用还原的细胞色素 C_3 放氢,而还原的 Fd 的放氢活性却很低。

与上述光合细菌氢酶放氢活性相似, *Rps. capsulata* 膜结合态氢酶的放氢活性对细胞色素 C_3 有较高的敏感性,细胞色素 C_3 与 MV 共存时,放氢活性大大提高 (图 4)^[16],这一现象与 *C. pasteurianum* 氢酶有相似之处。

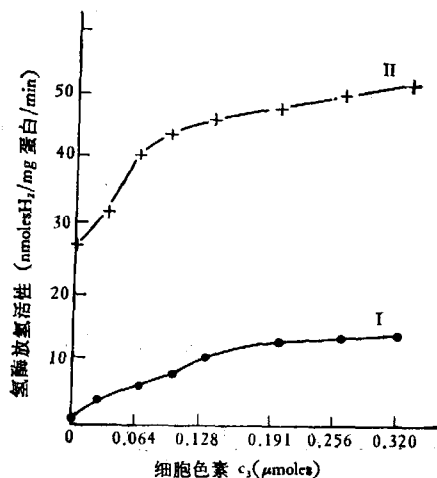


图 4 *Rps. capsulata* 膜结合态氢酶的放氢活性

I. 细胞色素 C_3 作电子载体

II. 细胞色素 C_3 和 MV 作电子载体 (MV 2mM)

氢酶催化的吸氢活性的电子载体不像放氢活性那样专一,但其生理电子载体可以支持它的吸氢反应,多种人工染料都可以作为氢酶吸氢活性的电子受体,最适受体是亚甲蓝。

2. 动力学性质 氢酶催化的放氢和吸氢反应速率随电子载体,载体的浓度, pH 值而变化,例如 *D. gigas* 的氢酶,它的反应速率还受溶液中盐的类型和浓度影响^[5]。厌氧细菌比其它群类细菌氢酶具有较高的活性,这就有条件研究其动力学性质,结果表明多种氢酶活性与载体浓度符合米氏方程式,但 *M. elsdenii* 和 *D. gigas* 氢酶放氢活性和电子载体浓度变化动力学性质比较复杂,双倒数作图不成线性关系^[6],说明它们的反应历程不同。同时发现溶液性质和盐的浓度对 *D. gigas* 氢酶的活性也有显著影

响^[17]。

3. pH 和氧化还原电位对氢酶活性的影响 质子既是反应的底物,又是反应的产物,因此氢酶的催化反应速率必然受pH值的影响,最大放氢反应速率应为酸性,吸氢反应的最适 pH 为碱性。但是有些氢酶较特殊,吸氢反应最适 pH 要求中性或酸性,放氢活性则为碱性。Chen^[18]指出造成这一现象的原因是由于 pH 的影响除了依赖于质子浓度外,还涉及电子载体的氧化还原电位,氢酶催化活性中心的氧化还原状态以及活性中心官能团的酸碱性质,这样就造成不同氢酶在相同的电子载体以及分析条件下,而有不同的最适 pH 值。

氢酶放氢反应速率与反应体系的氧化还原电位关系甚大。试验通常采用反应体系为接近氢电极电位(−420mV, pH7.0)。若体系电位比−420mV 低 45mV 时,反应速率最大;比−420mV 高 45mV, 反应速率几乎等于 0, 电位正处于−420mV 时,反应速率为最大值的 1/2。多种氢酶两者之间关系符合 Nernst 方程,据此计算它们在催化反应中是双电子传递。

4. 氢酶活性的抑制剂 CO, 氰化物, 重金属离子, 螯合物等对氢酶活性都有不同程度的抑制作用^[5]。除 *A. eutrophus* 可溶性氢酶外, CO 能完全抑制氢酶活性,动力学试验表明 CO 和氢酶是等分子反应,其抑制作用不受电子载体影响,并且是可逆反应,用惰性气体或氢气除净与氢酶相互作用的 CO 后,其活性可以恢复。汞,铜对氢酶活性抑制作用较强烈,镍和钴的抑制作用较弱。其它硫氰试剂及螯合剂对氢酶均具有程度不同的抑制。

5. 同位素交换反应 H₂ 和氢酶在无电子载体参与时的反应假定如下式进行:



若处于 D₂O 和 H₂ 气相下,氢酶催化 H/D 交换反应,HD 以比 D₂ 快得多的速度生成。绝大多数这类反应以及仲氢转变为正氢的试验都可以在部分纯化的氢酶中进行,氢酶异相分解 H₂ 生成自由质子和酶的结合氢化物,然后 HD 通过质子和溶液中氘交换形成,这种异相分解

H₂ 与氢酶同相催化反应是两种不同的反应历程,近些年人们应用此方法,从另一侧面来研究氢酶的催化作用。

四、氢酶的反应机理

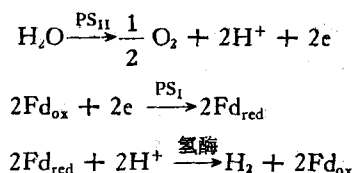
1. 氢酶的作用部位 氢酶有一个共同的铁-硫簇结构,大多数厌氧细菌为多个铁-硫原子簇。从 CO 能够抑制大多数氢酶的氧化态和还原态的电子自旋共振波谱中可说明铁-硫簇似乎构建于氢酶的氢结合部位。*C. pasteurianum* 和 *M. elsdenii* 氢酶作用机理模式假定为电子载体和作用部位之间每传递单电子时,两个原子簇处于 2⁺ 和 1⁺ 价态,近年来又认为质子和两个电子随机传递到氢酶,电子首先还原两个 [4Fe-4S]²⁺ 簇,然后一并转移到催化中心,这样形成酶氢化物,第二质子加入酶氢化物之后,最后生成 H₂。这一模式能解释其动力学数据,也能说明氧化还原电位对活性的影响。

氢酶成份和活性部位之间如何排列并行使功能,至今尚不清楚。Averill^[19]曾经提出 H₂ 直接结合到铁-硫簇上形成铁氢化合物,但这有待于 X-晶体衍射的结构分析提供有力的证据。

2. 氢酶的氧敏感性质 对氧敏感是铁-硫蛋白一个共同特性,也是生物体的一个重要问题,造成氧敏感性质是由于蛋白活性中心的酸性不稳定硫和半胱氨酸容易氧化。氢酶作为铁-硫蛋白,在行使功能时又大都处于接近和低于氢电极电位,因此氢酶对氧更加敏感。由于氢酶的结构、蛋白构象以及官能团氧化作用各不相同,因此氢酶的氧敏感性质也有差异,现已知道有氧可逆钝化和氧不可逆钝化两种类型氢酶,它们氧钝化的化学基础尚属未知,但被氧钝化后可以被氢再活化,却是人们深感兴趣的问题,进而提出了一些假说:部分纯化氢酶被活化的原因:1)某些活性很高的氢酶始终存在于样品中;2)天然载体存在并参与活化和被纯化氢酶之间的电子传递,电子从前者传递到后者后,使其活化。纯化氢酶的活化机理可能是:1)活化和纯化氢酶之间有直接电子传递;2)所有活化了氢酶分子发生充氧作用,继续进行氢

氧交换反应时,要消耗氧而引起充氧分子的缩合作用,消耗掉氧纯化氢酶中的氧而使酶活化。

Adams⁽⁵⁾ 提出氢酶的氧敏感性与它生理功能有关,催化放氢活性较高的氢酶对氧较敏感,其它则不太显著,虽然它们被还原后变得对氧更敏感。氢酶光解水放氢是氢酶氧敏感和功能的一个内在联系,以及生物体系氧敏感性质的一个例子。菠菜叶绿体内的氢酶光解水放氢的同时也放氧,叶绿体的两个光系统也同时还原 Fd,提供电子给氢酶而放出氢,反应如下式:



在第一步反应中,氧的生成能再氧化还原的载体和氢酶,使反应中止,同时也使氢酶纯化。

五、讨 论

氢酶的结构和催化机理是一个较复杂的问题,虽然人们在半个世纪以前就开始研究它的有关性质,但是从分子水平进行研究,只有近十年的历史。因此尚有很多课题有待探索,诸如不同来源氢酶的生理功能存在很大差异,它们有何内在联系;氢酶的活性中心结构各有不同,但它们的作用底物却都是分子氢或者 H^+ ,其作用历程差别在那里;氢酶的催化活性中心多数为多个 $[\text{4Fe-4S}]$ 原子簇,仅 *A. eutrophus* 氢酶例外,为多个 $[\text{2Fe-2S}]$ 原子簇,光合细菌为一个 $[\text{4Fe-4S}]$ 原子簇,并具有氧可逆活化性质,这些活性中心原子簇与氢酶的蛋白如何配位结合,以及官能团之间如何相互作用,都有待 X-衍射提供可靠依据,进而设计和合成一些“模型”化合物,研究它们的氧敏感性质;氢酶催化放氢功能研究已经较全面展开,而催化吸氢反应以及在固氮作用中回收再利用氢都有待深

入;近年来,遗传工程的研究突飞猛进,氢酶的基因工程也是一个很诱人的研究领域。

我们相信,随着各学科从不同侧面对氢酶性质的深入研究,氢酶的结构和催化机理必将为人们所认识。

参 考 文 献

- [1] Stephenson, M. and Stickland, L. H., *Biochem. J.*, **25**, 205, 1931.
- [2] Chen, J. S. and Mortenson, L. E., *Biochim. Biophys. Acta*, **371**, 283, 1974.
- [3] Weaves, P. E. et al.: *Solar Energy*, **24**, 3, 1980.
- [4] Evans, H. J. et al.: in “*Nitrogen Fixation*, Vol. II.” (Newton, W. E. ed), Park Press, Battimore, P69, 1980.
- [5] Adams, M. W. W. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **594**, 105, 1981.
- [6] Mayhew, S. G. and O'Connor, M. E. *TIBS*-January, **18**, 1982.
- [7] Bell, G. R. et al.: *Biochimie*, **60**, 315, 1978.
- [8] 朱长喜等,《植物生理学报》**10**(2), 147, 1984.
- [9] Colbeau, A. and Vignais, P. M., *Biochim. Biophys. Acta*, **662**, 271, 1981.
- [10] 朱长喜等,《科学通报》**29**(1), 51, 1984.
- [11] Llatna, M. J. et al.: *Biochem. Soc. Trans.*, **7**, 117, 1979.
- [12] Jin, C. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **748**, 8, 1983.
- [13] Hall, D. O., et al.: In “*The Evolution of Metalloenzymes, Metalloproteins and Related Materials*” (Leigh, G. J. ed.) Symposium Press, London P39, 1977.
- [14] Schneider, K. et al.: *Biochim Biophys. Acta*, **578**, 445, 1975.
- [15] Chen, J. S., et al.: In “*Iron and Copper Proteins*” (Yasunobu, K. T. et al., eds.) 68, Plenum, Press, New York, 1976.
- [16] 朱长喜等,《科学通报》**29**(24), 1556, 1984.
- [17] Grande, H. J. et al.: *Eur. J. Biochem.*, **131**, 81, 1983.
- [18] Chen, J. S., In “*Hydrogenases: Their Catalytic Activity, Structure and Function*” (Schlegel, H. G., et al., eds.), E. Goltze KG, Gottinge, **57**, 1978.
- [19] Averill, B. A. and Orme-Johnson, H. H., *J. Amer. Chem. Soc.*, **100**, 5234, 1978.

[本文于1984年5月14日收到]

更 正

本刊1985年2期“基因调控新线索”一文77页倒12行“它不可使”应为“它可使”。