

单体变构酶的协同效应及其计算机摹拟*

关 连

(河南医学院生化教研室, 郑州)

自 Rabin^[1] 及 Richard^[2] 相继提出单体变构酶动力学模型, 已引起广泛的注意。这与寡聚体变构酶相比较, 如 MWC 模型和 KNF 模型, 尽管差别很大, 却在不同程度上都认为变构酶至少有两个可以互变的构象, 一种是无活性的, 另一种是有活性的。底物可以使无活性的向有活性的构象转变。

寡聚体变构酶各亚基之间通过次级键而结合, 并能产生协同效应。寡聚体酶还可以解离成它的单体, 在一定条件下相平衡。诸如代谢物、辅因子、无机离子以及稀释等因素, 都可以影响其平衡^[3]。由此可以认为寡聚酶溶液中亦有单体存在。寡聚体酶不是不变的聚合体。Kurganov^[4] 对此种平衡的慢效应作过理论上的探讨。还有, 许多单体蛋白质也可以缔合而成寡聚体。特别是由配基引起酶的单体缔合成二

聚体的动力学研究及其依据均有报道^[5,6]。Richard^[2] 在研究单体酶动力学时也涉及单体酶两种构象之间的协同作用。因此认为, 单体变构酶可以缔合而产生协同效应是合理的。

可以设想, 单体变构酶在游离时可以有两种构象: 活性型 a 与无活性型 b, 二者保持平衡。此时二者浓度以 a_0, b_0 表示。 $\frac{b_0}{a_0} = K$ 是为变构常数。 $b_0 \gg a_0$ 。a 型少而极易与底物 s 相结合。a 型酶与底物结合后, 酶构象有进一步变化 a^* , 可将底物转变为产物, 同时借与无活性型 b 缔合机会, 影响 b 的构象, 解离成两个 a 型酶, 由此而起正协同效应。这种效应只有 a 型酶与底物起作用后的瞬间所具有。底物浓度高

* 摘要载于《第五次全国生物化学学术会议文摘汇编》(上), p102, 1984, 北京。

蛋白在 DNA 复制起始中的作用有待研究。

本工作得到法国 Jacques Monod 研究所 M. Kohiyama 的指导和帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Tomizawa, J. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 999—1034, 1979.
- [2] Jacob, F. et al.: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **28**, 329—348, 1963.
- [3] Chen Yongqing, Annick Jacqand Masamichi Kohiyama, *Biochemistry International* **9**, No. 1, 105—113, 1984.
- [4] Birnboim, H. C. Coly, J.: *Nucleic Acids Res.*, **6**, 1513—1523, 1979.
- [5] Jeffrey, H. Miller: *Experiments in Molecular Genetics*, 1972.

- [6] Galas, D., and Schmitz, A.: *Nucl. Acids Res.*, **5**, 3157—3170, 1978.
- [7] Jacq, A. et al.: in *ICNUCLA Symposium on molecular and cellular Biology* (Alberts, B. and Fox, C. F. eds.), Vol. **19**, p. 189, Academic Press, New York, 1980.
- [8] Zyskind, J. W. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 2460—2464, 1980.
- [9] Lack, S., et al.: *J. Mol. Biol.*, **114**, 153—169, 1977.
- [10] Geier, G. E., et al.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 1408—1413, 1979.
- [11] Marinus, M. G., Morris, N. R.: *J. Bact.*, **114**, 1143—1150, 1973.
- [12] ———: *J. Mol. Biol.*, **85**, 309—322, 1974.
- [13] Fuller, R. S. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **78**, 7370—7374, 1981.

[本文于 1985 年 6 月 20 日收到]

时此种效应可以继续扩大;底物浓度小时,与底物未结合的 a 型酶仍恢复成 b 型,依变构常数保持平衡。由于 a 型酶分子数远小于底物分子数,容易处于饱和状态,所以当有底物起反应时,可认为 a^* 等于 a, a^* 与 b 缔合机会等于 a 与 b 缔合机会。那么这种协同作用既与当时 a 型酶分子数有关,也与 b 型酶分子数有关。若酶分子总数为 A,在某一底物浓度时,活性型酶分子数为 a_s ,无活性型酶分子数为 b_s ,即 $A - a_s$ 。此时互相作用的机会为

$$r(A - a_s)a_s, \quad r: \text{系数}$$

由此建立方程

$$\frac{da_s}{ds} = r(A - a_s)a_s$$

解此方程,令 $rA = c$, 整理后得

$$a_s = \frac{Ae^{cs}}{K + e^{cs}} \quad (1)$$

其中 $K = \frac{A - a_0}{a_0} = \frac{b_0}{a_0}$ 。 $a_0 + b_0 = a_s + b_s = A$ (酶总量)。

从 (1) $s = 0$ $a_0 = \frac{A}{K + 1}$; $s \rightarrow \infty$ $a_s \rightarrow A$ 可见 $a_0 \neq 0$ 。此时有活性型酶而无反应速度。

通常酶活性是以人为的活性单位表示或反应速度表示,反应速度 v 应是活性型酶 a 的函数。 $v = f(a)$ 。从最简单的情况来想,令 v_s 为某一底物浓度的反应速度, $v_s = \alpha(a_s - a_0)$

则 $v_s = \alpha \left(\frac{Ae^{cs}}{K + e^{cs}} - \frac{A}{K + 1} \right)$, 整理后

令 $\frac{\alpha AK}{K + 1} = V_m$ (最大反应速度)

$$\text{得 } v_s = \frac{V_m(e^{cs} - 1)}{K + e^{cs}} \quad (2)$$

此时 $s = 0$ $v_0 = 0$; $s \rightarrow \infty$ $v_s \rightarrow V_m$

既然 $v_s = \alpha(a_s - a_0)$; $V_m = \alpha(A - a_0)$

$$\text{则 } a_s = \frac{v_s}{\alpha} + a_0 \quad A = \frac{V_m}{\alpha} + a_0$$

将 a_s , A 代入 (1) 式,整理,取对数可得

$$\ln \left(\frac{v_s - \alpha a_0}{V_m - v_s} \right) = cs - \ln K \quad (3)$$

由于原定 a_0 极小, αa_0 项亦必小,故可略去 αa_0 项。利用方程 (3) 作 Hill 式图,可求出 c 值及 K 值。

将方程 (1), (2) 求二阶导数,使等于零。即 $a'' = 0$, $v'' = 0$ 。可求得其 S 型曲线之拐点都在 $s = \frac{1}{c} \ln K$ 处。若 $K = 1$, 即完全失去 S 型曲线的特点。

为了深入一步研究方程的性质,用计算机进行摹拟分析。今将主要结果依计算机打印曲线绘出示意图并加以分析讨论。

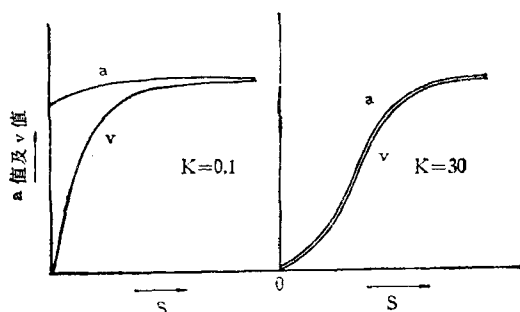


图 1 方程 (1) 及方程 (2) 不同 K 值时计算机打印曲线示意图

从图 1 可见,若 $K < 1$ 或更小,说明在无底物 s 时,酶的活性型居多数,则 v 对 s 的关系呈双曲线型。而与 a 对 s 的关系曲线型差别很大,相距很远。若 $K > 1$ 或更大时,在无底物 s 存在的条件下,酶的活性型居于少数,则 v 对 s 的关系呈“S 型”,与 a 对 s 的曲线趋于重叠。这表示占有多数的非活性型必有底物 s 存在下引起变构转为活性型。 a 的变化规律依方程 (1); 而 v 的变化规律依方程 (2)。反应速度是活性型酶的函数。在不同的 K 值时,二者并不总是平行的。

K 值有足够大时,方程 (1) 与方程 (2) 所得曲线趋于一致。此时方程 (3) 中之 αa_0 项可以省略。这和预计的相符。在这种条件下,用方程 (3) 作 Hill 式图是比较方便的。

从图 2 可见, $K = 1$ 时,曲线呈双曲线型。K 值在大于 1 的适当范围内变化,可以引起“S 型”曲线的移动。这一现象可以反映出激动剂使酶的活性型增加, K 值下降; 而抑制剂反是。

效应剂引起 K 值的变化,属 K 型类酶的行径。

推想,非变构酶在无底物存在时,可能全为一种类型,即活性型;至少大半是活性型。所以 v 对 s 的关系呈双曲线型。

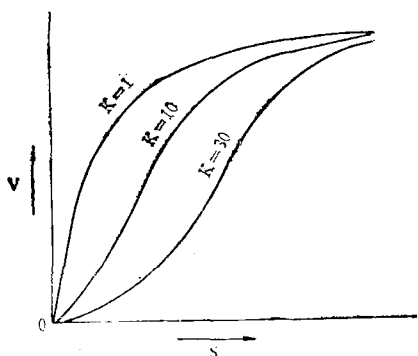


图2 方程(2)不同 K 值计算机打印曲线示意图

若反应过程中,方程(2)在 v 对 s 的关系图中, K 值及 V_m 值中途有一次变化,开始 $K < 1$, V_m (包括 K_0)亦较小,因而开始呈双曲线型。当反应达到一定程度(即 s 增加至一定程度)后, K 值及 V_m 值均有增大,则曲线可趋向于呈“S型”继续上升(见图3)。有如Kurganov^[4]所描述的中间有一“坪”的曲线。他还认为丙酮酸激酶储存的浓溶液当应用时有可能出现这一情况。

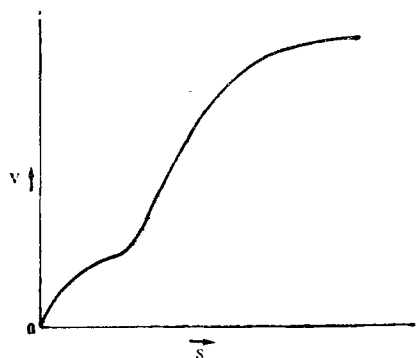


图3 方程(2) K 及 $\bar{V}$ (包括 K_0)有变化时,计算机打印曲线示意图

若将方程(1)变换:

$$\frac{d\bar{Y}}{ds} = c(1 - \bar{Y})\bar{Y} \quad (4)$$

以 $\frac{d\bar{Y}}{ds}$ 对 $\bar{Y}$ 作图,可得类似 Cornish-Bowden 所绘之曲线^[7]。方程(4)亦与该氏所导方程相似。

本文之 c 值与该氏方程之 n 值之本义并不相同,而此时却有类似行径(见图4)。

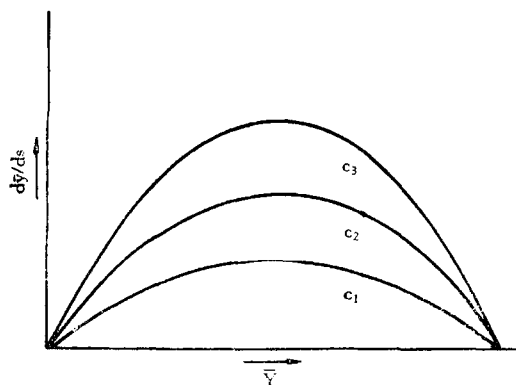


图4 方程(4)不同 C 值计算机打印曲线示意图
 $C_1 < C_2 < C_3$

另外,用 Ferdinand 条件^[8]来验证方程(2)中之 K 值,证明必须大于1。寡聚体酶如 MWC 方程中之 L ;KNF 方程在特定条件下之 K_{ic} 都必须大于1。又曾用寡聚体酶(猪红细胞R型丙酮酸激酶)所得数据^[9],依方程(3), (略去 $\alpha\alpha_0$ 项)绘出 Hill 式图,可得一条良好直线,从而求出 $c = 5.2$, $K = 19.4$,这些结果提示,两类酶的动力学行为有某些相似。

关于方程(3)之 $\alpha\alpha_0$ 项,曾有一个计算方法^[10],而在本文中应用时是省略该项的。

本文承陈惠黎教授提供实验数据,谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] Rabin, B. R.: *Biochem. J.*, **102**(2), 220, 1976.
- [2] Richard, J.: *Eur. J. Biochem.*, **49**(1), 195, 1974.
- [3] Irving M. Klety, et al.: *The Proteins* (ed. by Heurath, H. et al., 3rd ed), Vol. I, p. 293, Academic Press Inc. New York, 1975.
- [4] Kurganov, B. I.: *Mechanism of action and regulation of enzymes*, (ed. by T. Keleti), Vol. 32, p29, FEBS, Budapest, 1975.
- [5] Nichol, L. W. et al.: *Biochemistry*, **15**(14), 3015, 1976.
- [6] Kurganov, B. I.: *J. Theor. Biol.*, **103**(2), 227, 1983.
- [7] Cornish-Bowden, A.: *J. Theor. Biol.*, **51**(2), 233, 1974.
- [8] Ferdinand, W., *Biochem. J.*, **98**, 278, 1966.
- [9] 陈惠黎: 私人通讯。
- [10] 关 连: 《河南医学院学报》, **18**(3), 28, 1983.

[本文于 1985 年 3 月 25 日收到]