

线粒体亚铁螯合酶

方 林 求

(安徽大学生物系, 合肥)

提 要

本文介绍了存在于动物肝脏的亚铁螯合酶的有关性质和生化功能。该酶是血红素生物合成的最终酶, 对血红素合成起着重要的调节作用, 其活性降低或缺陷可导致一些疾病发生。

亚铁螯合酶 (ferrochelatase, EC 4.99.1.1.) 亦称血红素合成酶 (heme Synthetase) 或血红素亚铁裂合酶 (protoheme ferro-lyase), 是血红素生物合成的最终酶, 催化亚铁离子嵌入原卟啉 IX 形成血红素。它存在于动物^[1]、植物^[2]和细菌^[3]中, 动物者主要是在肝内, 位于细胞线粒体内膜。当亚铁螯合酶缺陷或血红素合成失调时, 导致卟啉类中间物的过剩和积累, 产生卟啉症。铅中毒、铁粒幼细胞性贫血等也与亚铁螯合酶有关。

一、亚铁螯合酶的生化特征

亚铁螯合酶存在于线粒体内膜的内侧, 具有膜结合酶的特征。早期纯化此酶的企图大都没有成功, 因分离过程中需加入去污剂, 以增加线粒体膜的溶性, 而去污剂使酶活性几乎全部丧失。后来, Mailer 等^[4]利用 2-乙烯基-4-[3'-(N-3"-氨基丙基)] 丙烯酰胺次卟啉为配体的亲和层析法纯化了鼠肝亚铁螯合酶, 分子量为 63,000。纯化酶不稳定, 加 2-巯基乙醇贮存在 4℃ 下的半衰期为十二小时; 无 2-巯基乙醇, 十二小时内酶活性完全丧失。Taketani 等^[5]用 Sepharose-Cl-6 B 层析纯化鼠肝和牛肝的亚铁螯合酶, 酶的不稳定性可用含有二硫苏糖醇和甘油的缓冲系统加以克服。鼠肝酶的分子量, 变性态为 42,000, 天然态为 240,000, 以五聚

体存在。牛肝酶的分子量在变性条件下为 42,500, 天然的为 200,000。抗牛酶的抗体能抑制牛酶的活性, 但不影响鼠酶的活性, 表明虽然两酶的分子量相近, 但酶蛋白部分显然不同。Dailey^[6]先用脱氧胆酸钠洗膜, 接着硫酸铵分级分离、DEAE-Sephadex 离子交换层析, 最后进行 Sephadex G-150 凝胶过滤, 从球形红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas Spheroides*) 分离出亚铁螯合酶, 分子量 115,000。该酶对巯基试剂 (碘乙酰胺、N-乙基顺丁烯二酰亚胺) 敏感, 并被 Hg、Pb、Cu 和氯高铁血红素抑制。

亚铁螯合酶除原卟啉 IX 和 Fe^{2+} 为天然底物外, 也可使 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 螯合到卟啉环中, 但 Fe^{3+} 则不能。次卟啉和中卟啉可作为酶底物, 这两种卟啉与原卟啉 IX 的差别在于吡咯环 A 和 B 中的乙烯基分别被氢和乙基取代。卟啉中乙烯基被磺酸基或乙二醇基取代成为酶的竞争性抑制剂。原卟啉 IX 的 C 和 D 环上羧酸侧链被酯化或取代, 就不能作为该酶的底物, 因此 C、D 环的丙酸侧链是形成酶-底物必需的。

Mazanowaska 等^[7]用丙酮或其它脂溶剂处理鼠肝线粒体, 导致亚铁螯合酶活性丧失; 加入粗制脂类制剂, 活性又能恢复。后来的进一步研究表明, 亚铁螯合酶活性受中性脂肪、磷脂酰乙醇胺和酸性脂类激活, 酶的活化程度直接与脂肪酸或酰基链的不饱和程度有关。脂类的作

用可能作为底物的反应介质,帮助提高卟啉的溶解度或将金属离子从水相转移到无水环境中,也可能是维持酶保持活性所必需的构象。

二、亚铁螯合酶对血红素合成的影响

血红素的生物合成是以甘氨酸、琥珀酰 CoA 为基本原料,经一系列酶催化形成原卟啉 IX,后者受亚铁螯合酶催化与 Fe^{2+} 螯合生成的(图 1)。有趣的是,血红素的合成只是开始和最后步骤是在线粒体内进行。甘氨酸和琥珀酰 CoA 受线粒体 ALA 合成酶作用生成 δ -氨基- γ -酮戊酸 (ALA),ALA 进入细胞质,在那里合成胆色素原、尿卟啉原 III 和粪卟啉原 III,然后又回到线粒体,经原卟啉 IX 合成血红素。

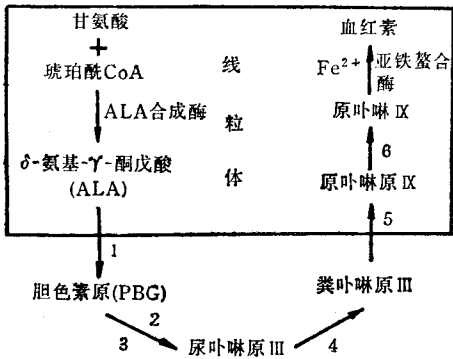


图 1 血红素的生物合成途径^[9]

图中数字表示下列酶 ① ALA 脱水酶 ② PBG 脱氨酶 ③ 尿卟啉原 III 同合成酶 ④ 尿卟啉原脱羧酶 ⑤ 粪卟啉原氧化酶 ⑥ 原卟啉原氧化酶。

在血红素合成的调节中,起着重要作用的是 ALA 合成酶和亚铁螯合酶。ALA 合成酶是整个过程的限速酶,从两方面控制,一是最终产物血红素对 ALA 合成酶的反馈抑制。实验表明,当血红素浓度为 10^{-5} — 10^{-4} mol/L 时便能抑制 ALA 合成酶。另一是通过酶合成的诱导作用或阻遏作用。同样,最终产物血红素对亚铁螯合酶也有类似的反馈抑制作用,当血红素浓度大于 10^{-6} mol/L 时,鼠肝线粒体亚铁螯合酶活性就受抑制。珠蛋白的合成使血红素嵌入血红蛋白,可消除血红素对亚铁螯合酶的抑制。亚铁螯合酶活性降低,引起原卟啉 IX 不被利用而积累。

三、亚铁螯合酶与卟啉症

血红素合成失调,如 ALA 合成酶活性增强,或亚铁螯合酶等缺陷,引起卟啉类中间物的过剩和积累,临床上称之为卟啉症。卟啉症属于生血性或肝性疾病,肝是卟啉症病人卟啉中间物过剩和积累的主要场所。主要的肝卟啉症有急性间歇性卟啉症、遗传性粪卟啉症和杂色卟啉症。这些卟啉症表现为突发性腹部和四肢疼痛,神经性精神失调和植物性神经系统功能紊乱等临床特征。主要的肝卟啉症及其相关的缺陷酶列于表 1。

表 1 肝卟啉症和相关的缺陷酶^[9]

卟啉症	主要卟啉中间物	缺陷酶
急性间歇性卟啉症	胆色素原、 δ -氨基- γ -酮戊酸	胆色素原脱氨酶
迟发性皮肤卟啉症	尿卟啉	尿卟啉原脱羧酶
粪卟啉症	粪卟啉	粪卟啉原氧化酶
杂色卟啉症	原卟啉	原卟啉原氧化酶 亚铁螯合酶

杂色卟啉症的典型体征为红细胞、血浆和粪便中原卟啉显著增高,肝脏是粪便中原卟啉增多的主要来源,这是亚铁螯合酶活性降低或缺陷、原卟啉 IX 不能转化为血红素之故。Viljoen 等^[10]发现,来自杂色卟啉症病人的人工培养的皮肤成纤维细胞中亚铁螯合酶活性明显降低。George^[11]指出,患原卟啉症奶牛的肝、肾、骨髓等组织中亚铁螯合酶活性都明显地降低,平均活性为正常者的一半。红细胞和粪便原卟啉浓度远远超过人原卟啉症。

一些化学试剂和抗菌剂可使动物诱发产生肝卟啉症。Matteis^[12]用二氢吡啶、3,5-二乙基氧羰基-1,4-二氢-2,4,6-三甲基吡啶(3,5-diethoxy Carbonyl-1,4-dihydro-2,4,6-trimethylpyridine, DDC)喂给实验动物,发现原卟啉是肝中积累的主要卟啉,因此 DDC 诱导的实验性卟啉症与亚铁螯合酶有关。Tephly 等进一步研究指出,DDC 先转变为 N-甲基原卟啉 IX,后者不可逆抑制体内和体外的亚铁螯合

(下转第 43 页)

表7 次声信号与打气供氧处理后金鱼酶活力的比较

酶			
金鱼编号	蛋白浓度 mg/ml	比活力 $\mu\text{mPnP}/\text{mg}(\text{Pro})/\text{min}$	平均比活力增值 (%)
A $\begin{cases} 1 \\ 2 \\ 3 \end{cases}$	7.75	0.057	—
	5.30	0.066	
	5.80	0.057	
		平均值 0.060	
B $\begin{cases} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \end{cases}$	17.55	0.073	38.3%
	8.50	0.079	
	5.20	0.087	
	4.75	0.092	
		平均值 0.083	

日后杀鱼,与上批同法测定其比活力,结果如表7。

由表7可见,用次声振动的酶活力仍高于只供氧的活力。

讨 论

总结上述结果,可见在使用某一给定频率及声压范围内的次声信号,对含有不同量粗杂蛋白的碱性磷酸酶液振动后,可以产生明显的激活作用,尤其在用金属离子初步激活酶活力后,再加以次声处理,更能增加其活力。目前虽不能对其机理加以解释,但此种实验结果,对酶结构的了解有启发性的作用。但此种酶所含杂蛋白低于若干值时则无法用次声激活。次声对

其他酶液的作用如何,为一值得研究的问题(1986年有人曾对几种重要酶液做过此种次声实验,均无法激活,其资料未发表)。

参 考 文 献

- [1] 沈持衡、陈柏云等:《海洋通讯》,4,58,1985。
- [2] 沈持衡、陈世杰等:《福建水产》,(2),21,1986。
- [3] 沈持衡等:《第五届全国生物医学电子学术会议论文选集》,3—5,1984。
- [4] 郑志成等:《厦门大学学报》25(1),84,1986。
- [5] Morton R. K.: *Nature*, 166, 1092, 1950。
- [6] 欧阳培等:《热带海洋》5,1,1985。
- [7] Garen A. and Levinthal, C: *Biochem. Biophys. Acta*, 138(3), 470, 1960。
- [8] Lowry, O. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951。

【本文于1987年2月5日收到】

(上接第24页)

酶。老鼠口服大剂量的灰黄霉素引起肝肿大,出现原卟啉积累,并且与亚铁螯合酶活性降低成正比关系。实验性卟啉症为研究缺陷酶调节机制提供了有用的模型。

此外,铅中毒的特征为ALA和粪卟啉的排出量增加,是由于铅抑制ALA脱水酶和亚铁螯合酶之故。亚铁螯合酶活性的降低引起血红素合成减少,影响珠蛋白的合成,从而导致铁粒幼红细胞性贫血。

参 考 文 献

- [1] Porra, R. J.: *Anal. Biochem.*, 68, 289, 1975。
- [2] Dailey, H. A.: *J. Bacteriol*, 132, 302, 1977。
- [3] Labbe, R. F. et al.: *Biochem. Biophys. Acta.*, 41,

- 185, 1960。
- [4] Mailer, K. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 96, 777, 1980。
- [5] Taketani, S. et al.: *J. Biol. Chem.*, 256, 12748, 1981。
- [6] Dailey, H. A.: *J. Biol. Chem.*, 256, 14714, 1982。
- [7] Mazanowska, A. M. et al.: *Biochem. J.* 98, 117, 1966。
- [8] 麦克利恩, N(鲁子贤等译):《血红蛋白》,科学出版社,30页,1983。
- [9] Susan, P. C. et al.: *Molecular and Cellular Biochemistry*, 64, 127, 1984。
- [10] Viljoen, D. J. et al.: *Am. J. Hematol*, 6, 185, 1979。
- [11] George, R. R.: *Science*, 198, 199, 1977。
- [12] Matteis, F.: *Enzyme*, 16, 266, 1973。

【本文于1986年11月19日收到】