



赫荣乔博士, 中国科学院生物物理研究所研究员, 神经生物化学专业, 脑发育与脑老化分子机制研究方向. 提出和论证了“内源甲醛代谢失调是老年认知损害危险因素”的观点, 甲醛作用于神经 Tau 蛋白形成纳米级可溶性聚集物, 可以诱导神经细胞死亡. 给猕猴长期喂食甲醇(甲醛的前体), 可以在其脑内形成 A β 沉积(老年斑)和 Tau 蛋白异常磷酸化. 提出和论证了“核糖代谢失调可能是糖尿病转化为老年认知损害的内在因素”的观点, 发现核糖非酶促糖基化, 形成的蛋白质纳米单体具有细胞毒性. 在酶学上, 提出和论证了“诱导契合-钥匙与锁”的酶与底物反应学说. 北京市神经科学学会常务理事(2009~2021); 中国生物化学与分子生物学会副理事长(2006~2014); 中国科学院生物物理研究所副所长(2003~2013); 国家 973 计划“人口与健康”咨询组专家(2014~2019).

纳米酶具有类似生物酶的变性状? *

莫炜川¹⁾ 赵 静¹⁾ 刘 纓²⁾ 赫荣乔^{1)**}

⁽¹⁾ 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101;

⁽²⁾ 北京中医药大学生命科学院, 北京 100029)

摘要 纳米酶被认为在底物识别、催化机制、反应动力学等方面具有类似生物酶的特性, 但纳米酶是否具有变性失活、并且在一定条件下恢复活性的特性, 这是在纳米酶研究过程中需要关注的问题.

关键词 纳米酶, 活力, 变性, 复性, 聚积

学科分类号 Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0027

2007 年, 阎锡蕴领导的实验室及其合作者, 发现氧化铁在纳米尺度能催化过氧化物酶的底物, 产生的颜色与天然过氧化物酶的反应颜色相同, 实验证明了 Fe₃O₄ 的颗粒在接近或达到纳米尺度时, 会表现出类似酶催化底物的特性^[1]. 据此, 他们提出了纳米酶(nanozyme)的概念, 也开启了纳米材料模拟酶的新领域. 随着工作的深入, 更多的材料被发现, 在纳米尺度下表现出过氧化物酶的特性. 纳米酶的应用研究涉及到了生物、医学、农业、环境治理、国防安全等多个领域. 例如, 在医学工程领域, 纳米酶的应用研究已经从体外诊断拓展到了体内治疗^[2].

虽然纳米酶被证明在催化机制、反应动力学等

方面具有类似生物酶的特性, 但纳米酶是否还更具类似生物酶的其他性质, 如分子聚积、变性失活, 同时可以在一定条件下恢复活性等, 这些都需要进一步的探索. 1931 年, 吴宪^[3]提出了蛋白质变性的概念, 描述了在蛋白质变性过程中, 不发生化学反应、分子质量保持不变等特性. 1953 年, Anfinsen 选用核糖核酸酶 A(RNase A)作为实验材料, 通过变性与复性(图 1), 证明一级序列包含了蛋白质的

* 本文受到国家自然科学基金项目(NSFC 31470036)的资助.

** 通讯联系人.

Tel: 010-64889876, E-mail: herq@ibp.ac.cn

收稿日期: 2018-01-18, 接受日期: 2018-01-20

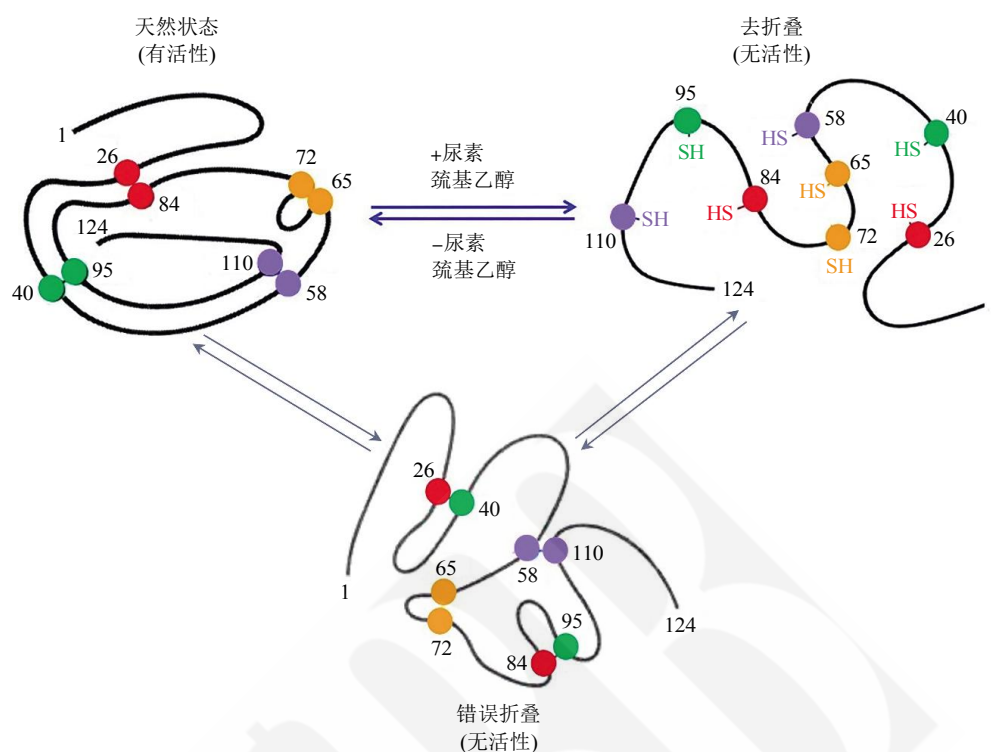


Fig. 1 Denaturation and renaturation of ribonuclease

图 1 核糖核酸酶的变性与复性

核糖核酸酶在尿素和巯基乙醇溶液中去折叠, 在去除尿素的情况下可以复性. 在变性和复性过程中, 酶可以发生错误折叠 (Source: Adapted from Stryer L. (1995) Biochemistry, 4th Ed, Published by W H Freeman & Co, New York. ISBN 10: 0716720094).

空间结构信息^[4]. 邹承鲁等证明了酶活性部位的柔性学说^[5], 对酶变性、分子聚积机制有了深入了解, 阐释了蛋白质在溶液中的构象与功能之间的关系. 如图 2 所示, 在变性剂中, 当乙型肝炎病毒核心抗原蛋白酶(HBeAgase or *Eisenia fetida* protease-III-1, *Efp*-III-1)的分子构象发生相对微小变化时, 其生物学功能却出现了明显的变化(图 2a), 变性动力学显示, 酶活力呈现为一个先升高后降低的过程(图 2b). 碘化钾猝灭蛋白质内源荧光显示, 伴随 *Efp*-III-1 的去折叠, 酶分子内部的色氨酸残基(Trp)暴露增加(图 2c). *Efp*-III-1 在变性剂作用下失活, 又可以在去除变性剂后恢复活力(图 2d). 这些实验表明, 一个具有完整氨基酸序列的蛋白质, 必须保持其天然空间结构才具有生物学活力. 蛋白质的异常修饰(过度磷酸化^[6], 糖基化^[7]等)、错误折叠、分

子聚积与人类一些重大疾病相关, 如朊病毒(prion)与牛海绵状脑瘤^[8]、Tau 蛋白^[9]和 β 淀粉样蛋白^[10]与阿尔茨海默病等. 既然纳米酶具有类似生物酶的催化性质, 是否纳米酶也可以因为分子聚积, 引起催化活性的丧失, 从而具有类似生物酶“变性失活”, 乃至“活性恢复”特性? 在诱导因素的作用下^[11-12], 蛋白质可以发生错误折叠、分子聚积, 形成聚积纤维(图 2e). 纳米酶是否也可以在一定因素的作用下, 出现分子异常聚积, 从而失去模拟酶的活力? 并通过改变微环境条件, 又可以恢复其活力? 这些都是需要论证的问题. 如果纳米酶也存在类似蛋白质“变性聚积”的非共价键构象变化的性质, 这将为探讨纳米酶的催化机制、纳米酶的设计与可控制备的研究, 提供新的思路和途径.

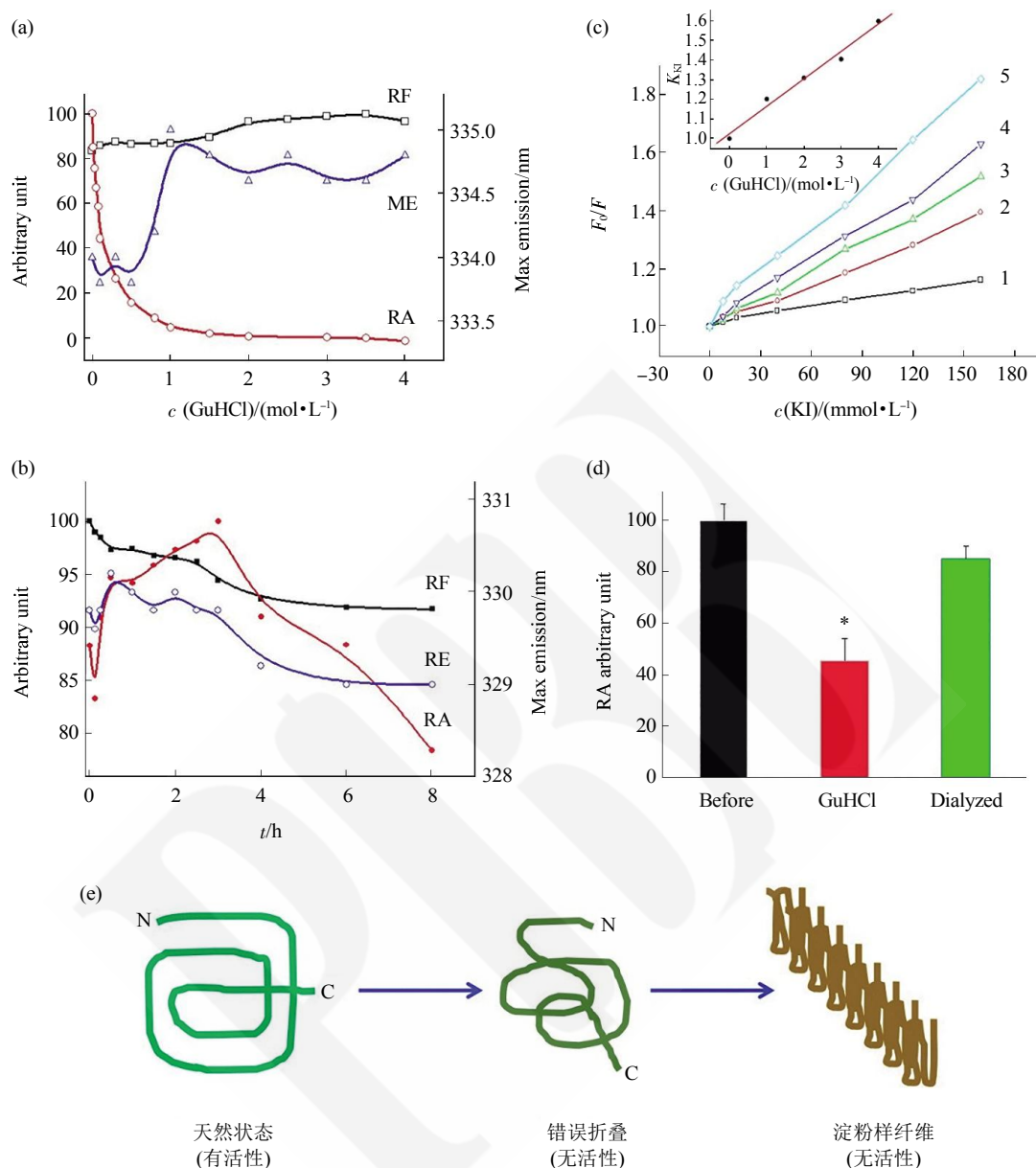


Fig. 2 Activity and conformational changes of EfP-III-1

图 2 赤子爱胜蚓蛋白酶-III-1 的活力与构象变化

(a) *EfP-III-1* (HBeAgase) 与不同浓度的盐酸胍孵育 12 h, 然后测定酶活力和蛋白质内源荧光. (b) 在相同条件下 (1 mol/L 盐酸胍溶液), 在不同的时间间隔取样测定酶活力和蛋白质内源荧光. (c) 曲线 1~5 是 *EfP-III-1* 的内源荧光强度与不同浓度盐酸胍 (0、1、2、3 或 4 mol/L) 的 Stern-Vollmar 作图. F_0 是在碘化钾和盐酸胍浓度为零时的荧光强度, F 是在不同浓度碘化钾和盐酸胍溶液中的荧光强度. K_{KI} 是在不同浓度盐酸胍溶液中的 F_0/F 对不含盐酸胍对照组的 F_0/F 作图. (d) 比较盐酸胍处理前、处理后, 以及把盐酸胍透析之后的 *EfP-III-1* 酶活力. (e) 酶的错误折叠、聚积及纤维形成. RF: 相对荧光强度; RA: 相对活力; ME: 最大发射峰.

参 考 文 献

- [1] Gao L, Zhuang J, Nie L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nat Nanotechnol*, 2007, **2**(9): 577-583
- [2] Fan K L, Cao C Q, Pan Y X, *et al.* "Magnetoferritin nanoparticles for targeting and visualizing tumour tissues". *Nature*

Nanotechnology, 2012, **7**(7): 459-464

- [3] Wu H. Study on denaturation of proteins. XIII. A theory of denaturation. *Chinese Journal of Physiology*, 1931, **5**(4): 321-344
- [4] Kaczocha M, Hermann A, Glaser S T, *et al.* Anandamide uptake is consistent with rate-limited diffusion and is regulated by the degree of its hydrolysis by fatty acid amide hydrolase. *J Biol Chem*, 2006,

- 7; **281**(14): 9066–9075
- [5] Tsou C L. Conformational flexibility of enzyme active sites. *Science*, 1993, **262**(5132): 380–381
- [6] Wu B B, Wei Y, Wang Y L, *et al.* Gavage of D-Ribose induces A β -like deposits, Tau hyperphosphorylation as well as memory loss and anxiety-like behavior in mice. *Oncotarget*, 2015, **6** (33): 34131–342142
- [7] Chen X X, Su T, Chen Y, *et al.* D-ribose as a contributor to glycated haemoglobin. *eBioMedicine*, 2017, **25**: 143–153
- [8] Cohen F E. Protein misfolding and prion diseases. *J Mol Biol*, 1999, **293**(2): 313–320
- [9] Cleveland D W, Hwo S Y, Kirschner M W. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of Molecular Biology*, 1977, **116**(2): 207–225
- [10] Glenner G G, Wong C W. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1984, **20** (3): 885–890
- [11] Li T, Su T, He Y G, *et al.* Chronic-dehydrated Dysmetabolism of formaldehyde in mouse brain and decline of learning in the shuttle box. *Prog Biochem Biophys*, 2016, **43**(4): 429–438
- [12] Liu K L, He Y G, Yu L X, *et al.* Elevated formaldehyde in the cecum of APP/PS1 mouse. *Microbiology China*, 2017, **44** (8): 1761–1766

Nanozyme Also Acts in Enzyme-like Denaturation?*

MO Wei-Chuan¹⁾, ZHAO Jing¹⁾, LIU Ying²⁾, HE Rong-Qiao^{1)**}

¹⁾ *Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China;*

²⁾ *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)*

Abstract Nanozyme is identified as a biological-like enzyme in its substrate recognition, catalysis, and reacting kinetics. More and more laboratories employ nanozymes in basic and applied research. However, whether nanoenzyme features in denaturation and renaturation under a certain condition needs paying attention and further investigating.

Key words nanozyme, activity, denaturation, renaturation, aggregation

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0027

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (NSFC 31470036).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64889876, E-mail: herq@ibp.ac.cn

Received: January 18, 2018 Accepted: January 20, 2018