

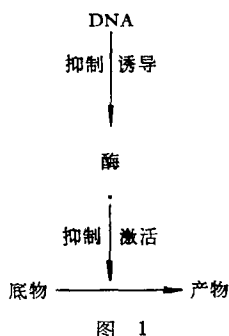
变构酶与代谢的调节控制

孙 玉 昆

(中国科学院上海生物化学研究所)

一、酶的不同调节控制水平

酶是生物体合成的具有催化功能的高分子化合物,它的特点是在体温条件下,催化效能高,并且具有高度的专一性。生物体的新陈代谢都是在各种酶的催化下进行的,所以酶在代谢系统中起着重要的作用。生物体的新陈代谢不是无秩序地进行,而是有规则的在严格的调节控制下进行。代谢速度的调节控制方式,主要是通过控制酶的量以及酶的催化反应速度,以达到调节控制代谢的目的。因此如图(1)所示,调节控制



制酶的和催化反应速度的方式可分为二类:一类通过诱导或抑制作用于脱氧核糖核酸的转录或密码翻译水平来控制酶的合成量,这样就可以调节控制酶在代谢系统中的绝对数量。另一类是将已经存在着的酶分子,通过激活或抑制方式调节其催化反应速度。两类调节控制中按其作用方式的不同,可以归纳如下:

- A. 改变酶的绝对数量方面:
 - (1) 转录水平的控制
 - (2) 翻译水平的控制
- B. 改变酶的催化反应速度方面:
 - (1) 小分子物质的作用
 - a) 底物的激活或抑制
 - b) 致变构剂的调节
 - (2) 酶蛋白部分的化学改变
 - a) 不可逆共价键化学改变
 - b) 可逆的共价键化学改变
 - c) 非共价键的蛋白质与蛋白质、蛋白质与

核酸、蛋白质与脂质分子间的作用。

本文主要就小分子物质对酶活力的调节作用,着重于酶的变构现象近年来的进展概况,作简单的介绍。

酶蛋白质部分的化学改变,如糜蛋白酶、胰蛋白酶等是以不活性的酶原状态存在,通过切去一段肽链的方式使无活力的酶原,激活成为具有催化活力的酶,过程中也伴随着蛋白质分子构型的变化,另外,一些烷化剂对酶活性中心的作用,选择性地对酶活力的抑制,都属于不可逆共价键的化学改变。至于可逆的共价键化学改变方面,如酶的巯基的可逆氧化还原,以及某些酶的磷酸化和脱磷酸等。胰蛋白酶抑制剂对蛋白酶的抑制,二者都是蛋白质,因此是蛋白质与蛋白质分子间作用的结果。鼠肝脂肪酶除蛋白质部分外,还含有特殊的脂质,长期以来用肝脏丙酮粉为材料,抽提酶制剂,测定结果只表现酯酶活力(以丁酸甲酯为底物)(Krisch, 1963, Carruthers, 1961, Hayase, 1969),对脂肪无水解作用,1968年发现肝酯酶中加入原来被丙酮抽提除去脂质以后,除表现酯酶活力外,同时也能水解脂肪(井山善英, 1972),这是一种蛋白质和脂质分子间的作用。另外,动物染色体组蛋白,微生物的抑制子,都是蛋白质和脱氧核糖核酸结合起调节控制作用。总之,酶的调节控制方式表现为多种形式。

二、变构酶在代谢系统中的地位和作用

在代谢过程的研究中,发现大肠杆菌在氮源和¹⁴C标记葡萄糖培养基中培养时,构成蛋白质的所有氨基酸都具有放射性,当培养基中除给以氮源和¹⁴C标记的葡萄糖外,同时给予L-精氨酸时,则发现蛋白质的氨基酸组成中,除精氨酸外,都有放射性,这一现象说明培养基中精氨酸的存在抑制了以氮源和¹⁴C标记葡萄糖为原料合成精氨酸的过程。另外,大肠杆菌从L-苏氨酸合成L-异白氨酸时,L-异白氨酸的积累就自动抑制L-苏氨酸转变为L-异白氨酸。如果将细菌破碎,制成无细胞酶制剂时,也得到同样结果,经过详细的研究,阐明上述现象和蛋白质生物合成系统的抑制不同,而是如图2所示的反馈抑制的结果。所谓反馈抑制即图2系统中L-苏氨酸经过五步反应,变为L-异白氨酸

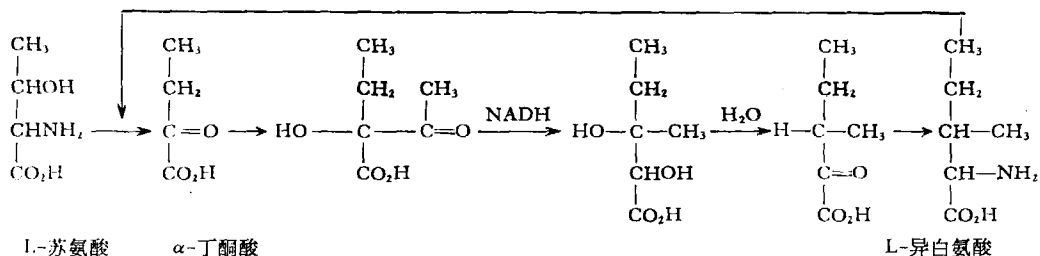


图 2

酸, 终点产物异白氨酸的积累, 反过来对反应系统的第一步中的 L-苏氨酸脱氨酶起抑制作用, 调节了 α -丁酮酸的生成量, 因而导致 L-异白氨酸生成量的减少, 这种终点产物对反应系统的调节控制作用称为反馈抑制。上述反应过程中, 终点产物 L-异白氨酸与系统中的原始反应物 L-苏氨酸在化学结构上, 除了皆具有 α -氨基外, 根本不同, 但 L-异白氨酸对 L-苏氨酸脱氨酶的抑制却是专一的, 其他 α -氨基酸则无抑制作用, 因此不是只和 α -氨基有关, 而是和整个 L-异白氨酸结构有密切关系。所以最初在 1963 年 Monod 等人称这种受化学结构上不同的化合物的反馈抑制的酶为变构酶。因此不难看出, 变构酶与反馈抑制的密切关系。反馈抑制在生物体中普遍存在, 对各种生化反应过程的调节控制具有重要意义, 现在分类举例分述如下:

1. 支路反馈抑制 图3表示由原始反应物A出发,经过数步,转变成产物E和G,当反应系统中产物E积累时,则E自动抑制从C向D及E支路的反应流向,反之,当产物G积累时,也同样抑制从C向F及G的支路。如果系统中的产物E和G都有积累时,则分

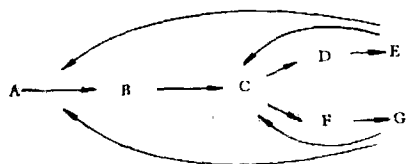


图 3

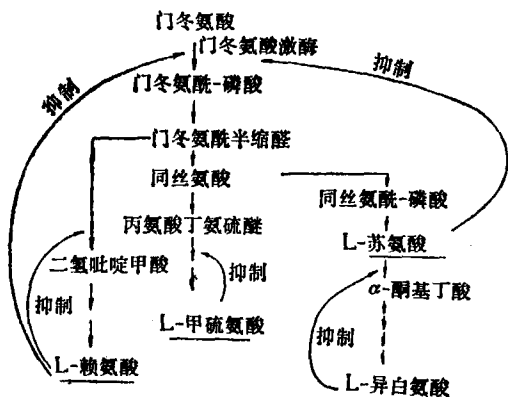


图 4

别抑制从A到B的初始阶段反应。这种形式称为支路反馈抑制。大肠杆菌门冬氨酸激酶受L-赖氨酸及L-苏氨酸的共同抑制(图4),从化学结构上看赖氨酸、苏氨酸和门冬氨酸不同,但是对门冬氨酸激酶的抑制却是专一的。

另外,大肠杆菌对芳香族氨基酸的合成也表现同样情况。

2. 阶段性反馈抑制 如图 5 所示, 当产物 E、G 共同存在时, 抑制共同的中间体 C 的转变, 使 C 积累, 由于 C 的积累导致对系统的初始反应的抑制。枯草杆菌对芳香族氨基酸的合成过程, 呈现阶段性反馈抑制^[10]。

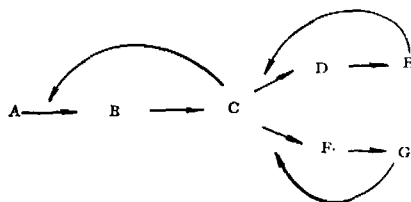


图 5

3. 协同反馈抑制 协同反馈抑制形式如图 6, 当产物 E、G 单独存在时, 只抑制相应支路的流量, 只有当 G、E 共同存在时, 才抑制初始反应 A 向 B 的转变。某些细菌的**门冬氨酸激酶**受 L-赖氨酸和 L-苏氨酸共同存在时的协同抑制, 属于这种类型。

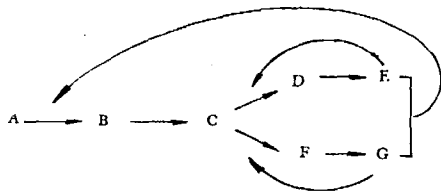


图 6

4. 合作反馈抑制 当终点产物 E、G 共同存在时, 对反应系统初始一步反应的抑制程度比相应 E、G 单独存在时抑制程度之和为高, 嘌呤核苷酸合成过程中对第一步 5-氨基核糖合成表现了这种情况, GMP、AMP 同时存在时, 抑制程度比单独时之和为高如图 7。

反之,还有和上述完全相反的反馈抑制类型,即当终点产物 E、G 共同存在时其抑制过程比单独时为低,如大肠杆菌谷氨酸合成酶系。

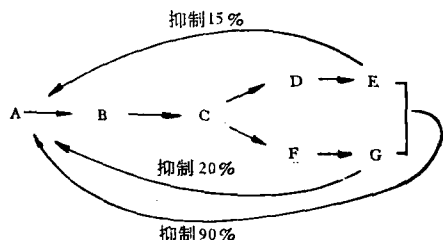


图 7

综观上述,终点产物对整个反应系统的反馈抑制点:(1)一般都在反应系统的初始反应或初始的几步反应上。(2)从终点产物的化学结构上看,反馈抑制物与反馈作用点上的酶所催化的底物没有类似性,但这种反馈抑制却是专一的,并且抑制方式也是多种多样的。(3)这种反馈抑制不使无用的中间产物积累,对于原料的合理利用和节约生物体的能量(如 ATP 等)具有重要的生理意义。(4)代谢系统中反馈抑制点上的酶是“变构酶”。因此说明变构酶在代谢的调节控制中占有重要的地位。下面将就变构酶具有的特点分别进行叙述。

三、变构酶的动力学特征

为了便于了解变构酶的动力学特征,我们首先观察一下血红蛋白与氧结合的关系。血红蛋白在生物体中担负氧气运输任务。每个血红蛋白分子由四个亚基组成,每个亚基都含有一个血红素。很早已经知道,去氧血红蛋白(Hb)与氧分子的亲和力较小,当其中一个血红素与氧分子结合后,血红蛋白的分子构型发生变化,因而促进了第二个血红素同氧分子的亲和力增加,当第二个氧分子结合后,又增加了对第三个氧分子的亲和力,这样顺次地又影响了对第四个氧分子的亲和力,不同氧合血红蛋白的解离常数如下。

				解离常数 $K_s \times 10^7 M$
Hb	+ 4O ₂	$\rightleftharpoons$	HbO ₂ + 3O ₂	53
HbO ₂	+ 3O ₂	$\rightleftharpoons$	Hb(O ₂) ₂ + 2O ₂	150
Hb(O ₂) ₂	+ 2O ₂	$\rightleftharpoons$	Hb(O ₂) ₃ + O ₂	64
Hb(O ₂) ₃	+ O ₂	$\rightleftharpoons$	Hb(O ₂) ₄	86

按氧分压对氧合血红蛋白百分数作图,如图 8 呈 S 型曲线,而肌红蛋白不含亚基,氧饱和曲线呈抛物线型。变构酶的底物饱和曲线也和血红蛋白同氧分子结合相似,一般都呈 S 型曲线。

酶的催化反应,按下式,酶与底物先形成中间体酶-底物络合物,再进一步反应生成产物,此时酶被游

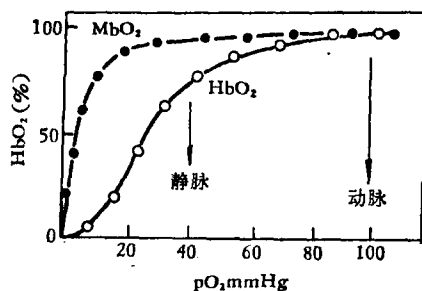
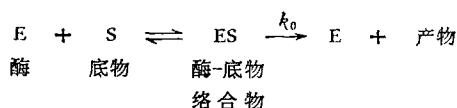


图 8



离出来,重新参与催化反应。当反应系统中酶浓度一定时,不同底物浓度对反应速度作图,呈抛物线,因为酶-底物络合物的分解速度,即 k_0 是限制反应速度的步骤,所以当底物达到一定浓度时,使系统中绝大多数酶分子形成了中间体络合物,整个反应速度受 k_0 限制,因而趋向恒定则呈抛物线型(图 9)。但是变构酶的底物浓度对反应速度作图,却和上述抛物线型不同,如图 10 所示,呈现 S 型曲线(曲线 1),当致变构抑制剂存在,底物浓度低时如图中曲线 3,反应速度很慢,当反应系统中底物达到一定浓度后,反应速度急剧上升,表明底物与酶分子的结合对酶的构型发生了某种变化,

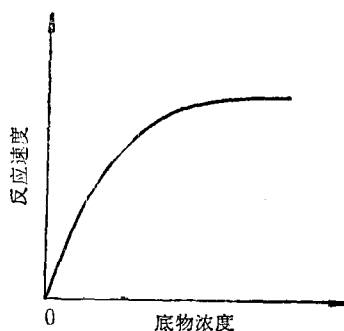


图 9

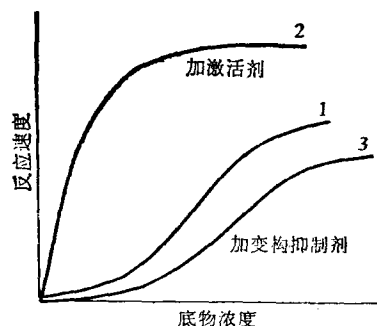


图 10

当激活剂存在时, S 型消失, 呈抛物线, 如曲线 2。使原来催化活力较低的酶分子, 转化为活化状态。另外也启示我们, 底物与酶分子的结合点除活性中心外, 可能还存在另外的位置, 这另一个位置我们称它为“调节中心”。关于调节中心存在的证据, 下面将进行说明。一般酶促反应和变构酶的 S 型曲线已见上述, 可以用酶反应动力学公式表示如下:

$$v = \frac{V \cdot S}{K_M + [S]} \quad \text{一般酶反应} \quad (1)$$

$$v = \frac{V \cdot [S]^n}{K_M + [S]^n} \quad \text{变构酶} \quad (2)$$

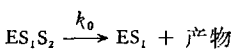
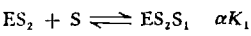
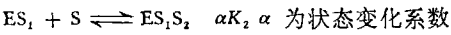
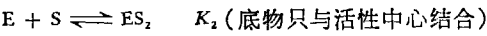
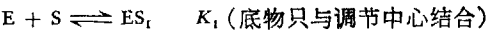
式中 v 代表反应速度, $[S]$ 代表底物浓度, V 表示最大反应速度, K_M 是酶-底物络合物解离常数。变构酶与一般酶反应动力学不同之点, 在于式 (2) 中 $[S]$ 是 n 次方的关系, 将 (2) 式变成式 (3) 形式,

$$\log \frac{v}{V-v} = n \log [S] - \log K_M \quad (3)$$

以 $\log \frac{v}{V-v}$ 对 $\log [S]$ 作图, 根据斜率可以求出该变构型反应的 n 值。变构酶的 n 值大于 1, 在 1—2 之间。

梭状芽孢杆菌 L-苏氨酸脱氨酶, 用动力学方法研究, 表明分子中分别存在有活性中心和调节中心。梭状芽孢杆菌 L-苏氨酸脱氨酶以反应速度对底物浓度作图时, 呈 S 型曲线, 当反应系统中有激活剂 ADP 存在时, S 型曲线消失, 反应速度对底物浓度作图呈抛物线,

与一般酶促反应相同, 利用反应动力学处理如下式:



$$\frac{V}{v} = 1 + \frac{\alpha(K_1 + K_2)}{S} + \frac{\alpha K_1 K_2}{S^2}$$

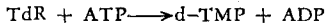
$$\left(\frac{V}{v} - 1\right)S = \alpha(K_1 + K_2) + \frac{\alpha K_1 K_2}{S}$$

当 $\alpha = 1$ 时, 根据实验数据代入上式求得 $K_1 = 3.3 \times 10^{-2}M$, $K_2 = 3.5 \times 10^{-3}M$, 另外在 ADP 存在时(表现与一般酶反应情况相同), 求得的酶-底物络合物解离常数 $K_M = 3.5 \times 10^{-3}M$, 表明底物与调节中心的解离常数 ($K_1 = 3.3 \times 10^{-2}M$) 比活性中心上底物与酶的解离常数 ($K_M = 3.5 \times 10^{-3}M$) 大 10 倍, 因此反应系统中底物首先与活性中心结合, 只有当底物浓度高时, 才同调节中心结合, 促进酶分子构型变化迅速提高活力。另外, 用同位素标记的 ADP 和底物同时存在时的实验结果, 也表明二者与酶分子的结合不在同一位置, 互不干扰, 所以根据上述结果, 说明梭状芽孢杆菌 L-苏氨酸脱氨酶除活性中心外, 还存在着调节中心。

致变构剂对变构酶的作用, 表现在动力学, 通常是

酶	底物	致变构剂		K_m	V
		抑制	激活		
1. L-苏氨酸脱氨酶(酵母, 大肠杆菌)	L-苏氨酸	L-缬氨酸	AMP	+	
2. 门冬酰胺-转氨甲酰基酶(大肠杆菌)	门冬氨酸, 甲酰基磷酸	CTP	ATP	+	
3. d-CMP 氨基水解酶(脾)	d-CMP	d-TTP	d-CTP	+	
4. d-胸腺嘧啶核苷激酶(大肠杆菌)	d-TR, ATP(GTP)	d-TTP	d-CTP	+	+
5. NAD-柠檬酸脱氢酶(细菌)	NAD, d-异柠檬酸	d-酮戊二酸	柠檬酸	+	
6. 同丝氨酸脱氨酶(细菌)	同丝氨酸, NADP, NADPH	L-丝氨酸	L-白氨酸 L-甲硫氨酸	+	+
7. 乙酰乳酸合成酶(大肠杆菌)	丙酮酸	L-缬氨酸	—	+	
8. 苏氨酸-门冬氨酸激酶	门冬氨酸	L-苏氨酸	—	+	
9. L-谷氨酸-D-果糖-6-磷酸转氨酶(大鼠肝)	L-谷氨酸 D-果糖-6-磷酸	UDP-N-乙酰 谷氨酰胺	—	+	
10. 糖原合成酶(酵母)	UDP-葡萄糖	—	葡萄糖-6-磷酸	+	
11. NAD-异柠檬酸脱氢酶(酵母)	NAD, 异柠檬酸	—	5'-AMP	+	
12. 磷酸-果糖激酶	ATP, 果糖-6-磷酸	ATP	3', 5'-环化 AMP	+	
13. 谷氨酸脱氢酶(牛肝)	谷氨酸	ATP, GTP, NADH	ADP, 白氨酸 甲硫氨酸	+	+
14. 磷酸化酶 b	葡萄糖-1-磷酸糖原, 无机磷酸	ATP	5'-AMP	+	+
15. 赖氨酸-门冬氨酸激酶	门冬氨酸, ATP	L-赖氨酸	—	+	
16. 果糖-1, 6-二磷酸酶	果糖-1, 6-二磷酸	5'-AMP	—	+	
17. 磷酸核糖-ATP-焦磷酸酶	ATP, 磷酸核糖-焦磷酸	组氨酸	—	+	+

增加酶对底物的亲和力,即改变酶-底物络合物解离常数 K_M , 有的改变最大反应速度常数 V , 也有的同时改变 K_M 和 V 。以胸腺嘧啶核苷酸激酶为例, 催化下述反应:



反应速度对底物 ATP 浓度作图时呈 S 型曲线, 当加激活剂 d-CDP 后, 反应速度显著增加, 并符合一般酶反应动力学公式。按 $1/v$ 对 $1/S$ 作图 (图 11), 当 d-CDP 存在时 K_M 远小于无 d-CDP 存在时的 K_M , 说明 d-CDP 的存在增加了酶对底物的亲和力。关于致变构剂对变构酶的影响列于 30 页表。

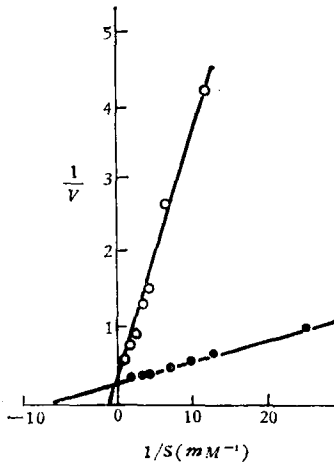


图 11

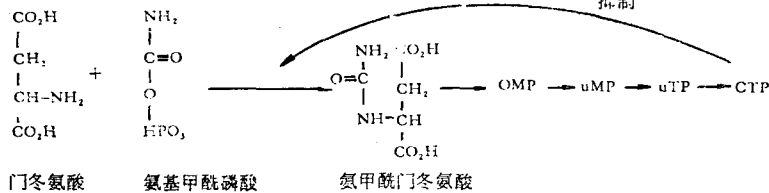


图 12

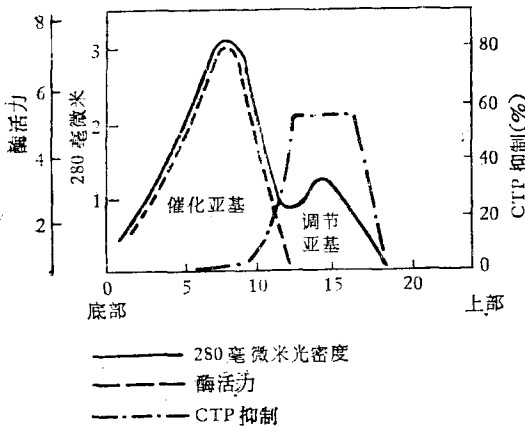


图 13

四、变构酶的活性中心和调节中心

(一) 分离催化亚基和调节亚基

上面从动力学的分析说明变构酶具有活性中心和调节中心。如果用适当的方法把活性中心所在的催化亚基和调节中心所在的调节亚基分离开来, 将会为变构酶分别存在活性中心和调节中心提供直接的证据。门冬氨酸转氨甲酰基酶 (ATCase) 催化下述 (图 12) 反应过程中的第一步反应, 受终产物 CTP 反馈抑制。在胍-盐酸盐、十二烷基磺酸钠等破坏氢键试剂的存在下或加烷基试剂对-氯汞苯甲酸时, 此酶完全解离成为二种亚基, 用蔗糖梯度超速离心方法, 可以将这二种不同的亚基分离开来, 如图 13, 280 毫微米测定蛋白浓度分为二个峰, 前者具有酶促活力即催化亚基, 后者单独存在无催化活力, 但能与反馈抑制剂 CTP 结合, 系调节亚基。二个亚基的性质和酶促活力列表如下:

亚 基	分 子 量	活 力	与 CTP 结合能力
调节亚基	2.8S 17,000	-	+
催化亚基	5.8S 33,000	+	-
全 酶	11.7S 300,000	+	+

从表中所列数据说明门冬氨酸转氨甲酰基酶的活性中心和调节中心分别存在于二种不同的亚基上, 实

验中为了排除 CTP 对 280 毫微米蛋白测定的干扰, 曾利用 5-Br-CTP (吸收高峰在 298 毫微米) 进行过检查。门冬氨酸转氨甲酰基酶的全酶是由 6 个催化亚基和 6 个调节亚基组成。

(二) 脱敏感作用

变构酶经过加热处理、与氯化汞或对-氯汞苯甲酸作用、X-线照射、0—5℃ 保存、透析、蛋白质水解酶作用、冻结以及改变 pH 等, 往往可以选择性地除去调节中心, 使之不再受反馈抑制剂的作用, 但对催化活性有明显影响, 这种方法称为脱敏感作用。如门冬氨酸转氨甲酰基酶于 60℃ 处理 4 分钟后, 底物浓度对反应速度作图的 S 型曲线消失。另外如图 14, 在 pH 8.6 时

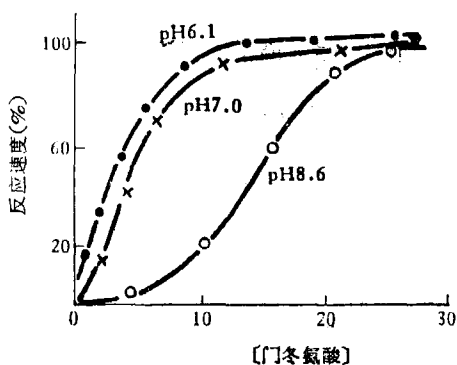


图 14

呈 S 型曲线,而在 pH 6.1 时则 S 型曲线消失。为活性中心和调节中心的分别存在提供了又一个证据。

磷酸核糖-ATP 焦磷酸酯酶催化图 15 中的第一步反应,终点产物 L-组氨酸能反馈抑制催化第一步反应的磷酸核糖-ATP 焦磷酸酯酶,但在 Hg^{++} 存在下保温 3 分钟,用分子筛除去 Hg^{++} 后测定活力,实验表明,随着 HgCl_2 浓度的增加逐渐丧失对 L-组氨酸的反馈抑制作用,而对该酶的催化活力却无影响。上述经过 HgCl_2 处理的磷酸核糖-ATP 焦磷酸酯酶,若再与巯基乙醇作用,除去与酶分子结合的 Hg^{++} 则又恢复对 L-组氨酸的敏感作用,反馈抑制可以恢复到 96%,表明巯基是调节中心的必需基团。进一步用 ^{14}C 标记的 ATP, ^3H 标记的 L-组氨酸与磷酸核糖-ATP 焦磷酸酯酶共同作用后,用分子筛精制,阐明 ^{14}C 标记 ATP 与 ^3H 标记 L-组氨酸,能同时与酶分子结合,互不干扰。这些结果都表明活性中心和调节中心分别存在。

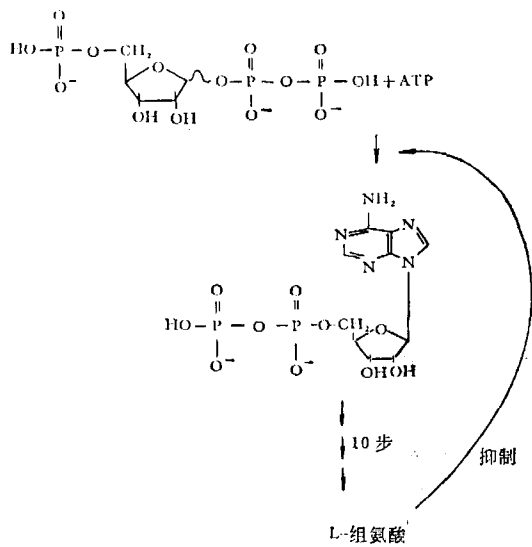


图 15

五、构型变化

根据动力学分析,催化亚基和调节亚基的分离,脱敏作用以及同位素标记等所得结果,都说明变构酶除活性中心外,还存在着调节中心。致变构剂对变构酶的调节控制主要是改变酶的空间构型来体现。有关变构酶构型变化的一些结果目前间接证据多于直接观察。

(一) 致变构剂增加变构酶的稳定性

大肠杆菌 L-苏氨酸脱氨酶在致变构剂 AMP 的存在下,对酶的热失活、 Hg^{++} 抑制、空气氧化、蛋白水解酶的作用等,都表现显著的保护作用,并且只有在 AMP 存在下,才能得到结晶,这些都说明致变构剂 AMP 对大肠杆菌 L-苏氨酸脱氨酶的构型发生了某些变化,起到了稳定作用。另外,产朊假丝酵母的果糖二磷酸酯酶,AMP 是该酶的致变构剂,当反应系统中只有底物果糖-1,6-二磷酸时,对 2,4-二硝基氟苯(作用于酪氨酸的羟基,赖氨酸的 ϵ -氨基)的作用不影响酶促活力,可选择地将调节中心除去,使 AMP 失去作用。若 2,4-二硝基氟苯与底物,AMP 共同存在下作用于酶时,则具有保护作用。进一步用 ^{14}C -标记的 2,4-二硝基氟苯作用,阐明酶分子中二个分子酪氨酸残基和二赖氨酸残基是必需的。说明致变构剂的存在对酶的构型发生改变,因而导致氨基酸残基的基团反应能力的变化。

(二) 对色素溴代麝香草酚兰结合能力的影响

色素溴代麝香草酚兰与蛋白的结合受构型变化的影响,如糖原磷酸解酶 b (不活化型) 对溴代麝香草酚兰结合能力,受致变构剂的影响,如下表所列结果。当有致变构剂 5'-AMP 存在时,磷酸解酶 b (不活化型) 同溴代麝香草酚兰的结合能力提高到 3 倍,达到磷酸解酶 a 的水平,而 2',3'-AMP 则无效,说明 5'-AMP 的作用具有专一性。另外,就 AMP 的浓度而言,提高磷酸解酶 b 同溴代麝香草酚兰结合能力的浓度与促进该酶活化时所需浓度相同,反映了磷酸解酶 b 与 5'-AMP 结合对酶的构型发生了某些变化,改变了对色素的结合能力,同时进行了活化。

磷酸解酶 b (不活化型)	溴代麝香草酚(克分子数/克分子酶)
-AMP	1.17
+5'-AMP	3.22
+2',3'-AMP	1.14
磷酸解酶 a (活化型)	
-AMP	3.6
+5'-AMP	3.25

(三) 物理化学方法测定

旋光色散、 ^3H -交换、圆二色性、沉降常数、溶液中红外测定、荧光消除法、光谱差吸收法等都可用于测定

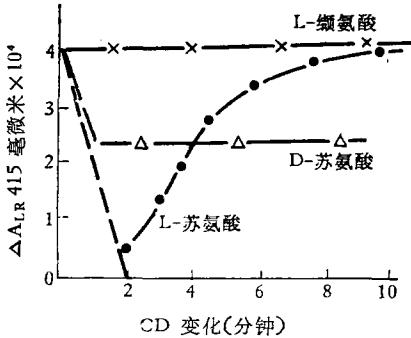


图 16

致变构剂对变构酶构型引起的变化。大肠杆菌 L-苏氨酸脱氨酶的 ϵ -氨基与辅酶磷酸吡哆醛结合形成 Schiff 碱时,发生旋光色散变化,磷酸吡哆醛本身不含有不对称碳原子,与酶蛋白结合后形成不对称碳原子,当系统中加底物(图 16) L-苏氨酸时,于 410 毫微米有 Cotton 效应,一定时间后消失,若改用 L-缬氨酸和 D-苏氨酸,则不引起旋光色散变化,说明底物 L-苏氨酸对 L-苏氨酸脱氨酶构型引起的变化是专一的。溶液中蛋白质构型变化的物理化学测定,目前正在发展中。

(四) 亚基的解离聚合

大肠杆菌 d-胸腺嘧啶核苷激酶,纯化 250—2000 倍,在致变构剂作用下进行蔗糖梯度超离心,沉降常数由 3.5 S 变为 5.5 S,用分子筛 G-200 测定分子量也得到同样结果。

类 型	酶	致 变 构 剂	解 离, 聚 合
1. 抑制伴随聚合	同丝氨酸脱氢酶 (细菌)	L-丝氨酸	聚合
2. 活化伴随聚合	异柠檬酸脱氢酶 (牛心) 乙酰辅酶 A-脱羧酶 (鼠脂肪) 苏氨酸脱氨酶 (大肠杆菌)	ADP 柠檬酸 AMP	10.3S $\rightarrow$ 18.6S, 25.7S 18.8S $\rightarrow$ 43S 4.4S $\rightarrow$ 8.0S 4.8S $\rightarrow$ 7.6S
3. 抑制、活化皆伴随聚合	d-胸腺嘧啶核苷激酶 (大肠杆菌) d-胸腺嘧啶核苷酸脱氨酶 (鸡胚)	d-TTP 抑制 d-CDP 激活 d-ADP 激活 d-TTP 抑制 d-CTP 激活	3.5S $\rightarrow$ 5.8—6.1S 3.5S $\rightarrow$ 5.5S 1—2S $\rightarrow$ 3—3.5S 1—2S $\rightarrow$ 7—8S
4. 不伴随聚合 (但在尿素、对-氯汞苯甲酸、氯化汞作用下发生解离,证明含有亚基)	门冬酰转甲酰基酶 (大肠杆菌) 磷酸核糖-ATP-焦磷酸酯酶 (细菌) 磷酸解酶 b (肌肉) 磷酸解酶 a (肌肉) 谷氨酸脱氨酶 (肝) 异丙基反丁烯二酸合成酶 (细菌)	尿素, 对-氯汞苯甲酸等 氯化汞 对-氯汞苯甲酸 对-氯汞苯甲酸 十二烷基磺酸钠 胍盐酸盐	11.2S $\rightarrow$ 5.8S 2 个 2.8S 4 个 9.6S $\rightarrow$ 5.6S 24 万 $\rightarrow$ 12.5 万 49.5 万 $\rightarrow$ 12.5 万 25 万 $\rightarrow$ 4.5 万—6.5 万 6.9S $\rightarrow$ 1.6S

从目前已知的结果来看,变构酶中很多都含有亚基,致变构剂的作用可分为四类,如上表所列: 1. 抑制过程伴随有亚基的聚合; 2. 活化过程伴随有聚合; 3. 抑制或活化皆伴随有聚合; 4. 虽含有亚基,但过程中不伴随有解离聚合。

(五) 模型学说

根据上述说明致变构剂对变构酶的构型引起变化,为了解释致变构剂对变构酶是怎样作用的,提出了一些模型学说,其中有代表性的两种: Monod 等人 (1964) 的松弛与绷紧状态模型,认为变构蛋白是一个多聚体,单体按一定的对称轴构成多聚体,配基与变构蛋白结合形成特异的立体复合物,对各单体都只有一

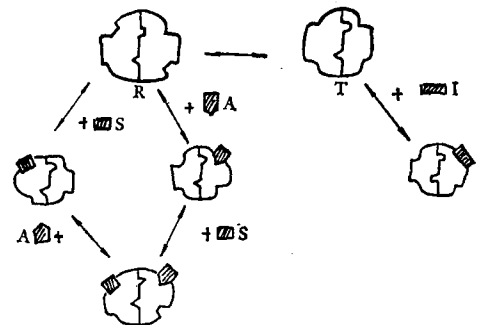


图 17

R——松弛状态 I——抑制剂 S——底物
T——绷紧状态 A——激活剂

个结合位置,各单体构型受其他单体聚合后的制约,变构蛋白多聚体至少有二种状态相互变换存在。如图17,主要是四级结构变化(一级结构是由氨基酸构成的肽链,二级结构是指肽链的螺旋结构,三级结构是肽链螺旋进一步折叠或卷曲,四级结构指亚基的解离聚合)。当变构蛋白处在绷紧状态时,易于同抑制剂 I 结合,因而妨碍与底物的结合。反之,当变构蛋白处在松弛状态时,易于同激活剂 A 或底物 S 结合起催化作用。这种模型只是模式的说明蛋白处于松弛状态或绷紧状态进行构型变化。虽能解释一些现象,但对于象血红

蛋白由四个亚基组成的分子,如前所述,当与一个氧分子结合后影响对第二氧分子的亲和力,顺次地影响对第三、第四个氧分子的亲和力,则无法解释,因而 Koshland 又提出了连续变化的模型学说。Koshland (1971) 认为变构酶与配基结合后,能增加或降低第二个位置对配基的亲和力,第二个配基又进一步影响第三个位置对配基的亲和力,即所谓诱导适应模型,过程是在连续变化。如图 18,以四个亚基构成的变构酶为例,每个亚基结合一个配基,○——代表构型 A,□——代表构型 B,与底物 S 结合后构型逐渐发生变化。

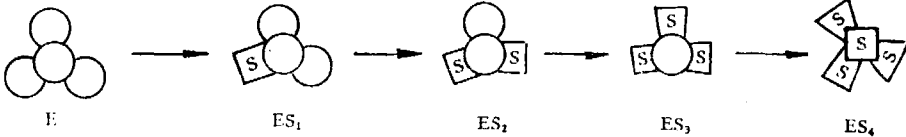


图 18

六、变构酶例

上面叙述了变构型的一些特征,现举变构酶数例及其他变构蛋白,简单介绍如下:

(一) 蛋白激酶

蛋白激酶存在于肌肉、肝、脑、脂肪组织及副肾等,所有脊椎、无脊椎动物组织中都广泛存在。蛋白激酶通过使蛋白质磷酸化的方式调节很多代谢系统的功能,非甾体激素也是通过蛋白激酶起作用,如图 19,实际上经过细胞膜存在的腺嘌呤核苷酸环化酶以及蛋白激酶的活化过程,对激素起着生物放大器作用。激素通过蛋白激酶起作用,是近年来激素研究中的重要突破。蛋白激酶是一种变构酶,活力对不同 3',5'-环化 AMP 浓度作图呈 S 型曲线,如图 20。图中曲线 1, 2, 3, 4 代表各种不同的蛋白激酶,对不同浓度 3',5'-环化 AMP 的激活,皆呈 S 型。经过分离提纯,在 3',5'-环化 AMP 存在下用亲和层析,可将原来不活化的蛋白激酶分成二部分,如图 21 所示,一部分是与 3',5'-环化 AMP 结合的调节亚基,一部分是活化型的蛋白激酶。

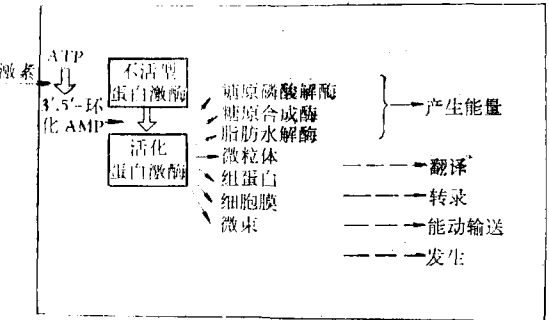


图 19

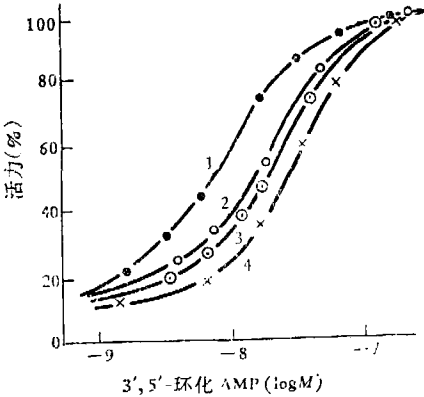


图 20

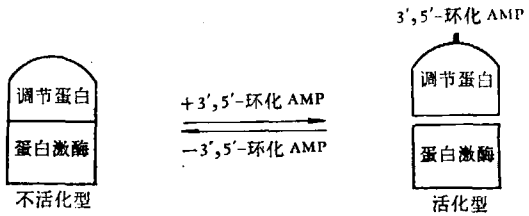


图 21

(二) 致变构剂对核苷二磷酸还原酶 (大肠杆菌 B) 专一性的调节

核苷二磷酸还原酶催化核苷二磷酸还原生成脱氧核苷二磷酸,为 DNA 合成提供原料。过程中有硫氧铁蛋白参与反应,它是由 108 个氨基酸残基组成,分子中的一对巯基作为氧化还原过程中氧的受体,循环进行。核苷二磷酸还原酶由 B₁, B₂ 两个亚基组成,如图 22,在 Mg⁺⁺ 存在下,二个亚基结合形成全酶,但活力很低,若系统中有 ATP 存在时,核苷二磷酸还原酶催化两种嘧啶核苷二磷酸进行还原。若系统中有 d-GTP

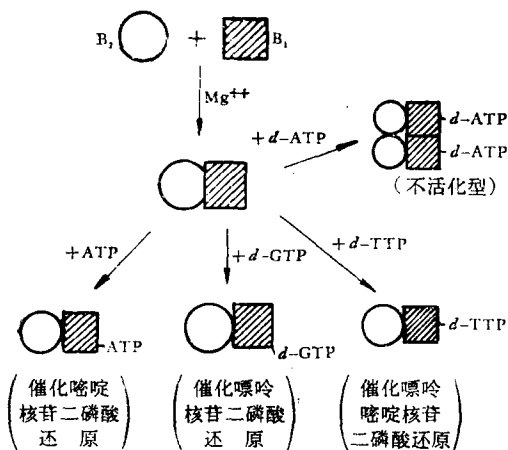
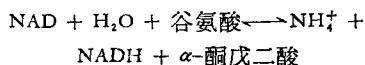


图 22

存在时,则催化两种嘌呤核苷二磷酸还原。当加 d-TTP 时,则对四种核苷二磷酸皆能催化使之还原。反之,当系统中加 d-ATP 时,则核苷二磷酸还原酶形成二聚体,不表现活力。研究表明,亚基 B_2 含有非血红素铁,是催化亚基,亚基 B_1 是调节亚基,各种致变构剂都同亚基 B_1 相结合。

(三) NAD-谷氨酸脱氢酶

NAD-谷氨酸脱氢酶催化下式反应:



当反应系统中无 Mn^{++} 离子存在条件下,受果糖 1,6-二磷酸、柠檬酸、反丁烯二酸等任何一种谷氨酸代谢产物的抑制,但这些抑制只抑制上述反应式向右边进行的氧化脱氢方向,对反应式中向谷氨酸合成方向的反应却无影响,在酶促反应热力学上具有重要意义。此外,如柱形孢梭状芽胞杆菌鸟氨酸氨甲酰转移酶有两种性能:一种催化反应是可逆的进行;但另外一种却专一地只催化向热力学比较困难的甲酰基磷酸方向进行。

(四) 其他变构蛋白

上述变构现象不仅表现在酶中,还广泛存在于肌肉收缩、血红蛋白、膜的能动输送等。很早就发现离体的肠管可以逆梯度输送葡萄糖,所谓逆梯度输送,就是将葡萄糖由低浓度通过细胞膜向高浓度环境输送。但在代谢抑制剂 2,4-二硝基酚存在下,或者在无氧条件下,这种逆梯度输送被抑制,表明这个过程需要能量。在有氧条件下葡萄糖的能动输送符合酶作用的

底物—络合物公式,因此认为这一过程可能有类似酶的载体存在,并和 Na^+ 离子有密切关系。如图 23,以 6-脱氧葡萄糖为例,当反应系统中钠离子 (Na^+) 浓度为 145 毫克当量/升时,对 6-脱氧葡萄糖的亲合力增加 200 倍,因而提出钠泵学说,即指溶液中载体对葡萄糖的亲合力变化受钠离子浓度调节,钠离子在这里是一种致变构剂,模式如图 24 所示:当溶液中钠离子浓度高时,载体同葡萄糖的亲合力增加,但在细胞浆内由于钠离子浓度比较低,引起载体上 Na^+ 的解离,因而降低了载体对葡萄糖的亲合力,使糖从载体上解离,达到输送的目的, Na^+ 离子再经过提供能量的过程输送到细胞外,这样就象泵一样将溶液中的糖逆梯度地输送到细胞内。

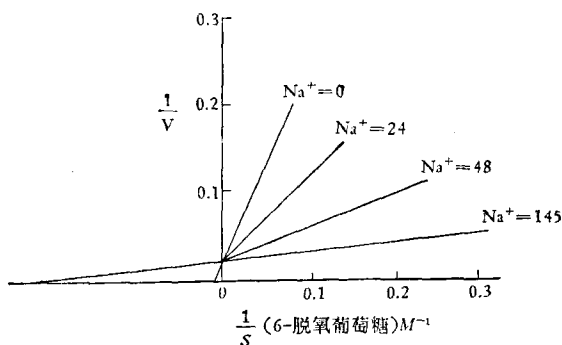


图 23

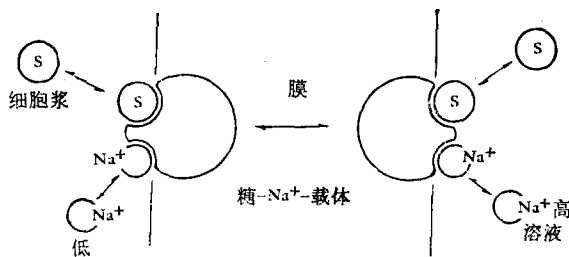


图 24

参 考 资 料

- Stadtman, E. R.: Adv. Enzymol., **28**, 41—144, 1966.
 Monod, J. W.: J. Mol. Biol., **12**, 88, 1965.
 Koshland, D. E.: Biochemistry, **5**, 365, 1966.
 Stadtman, E. R.: The enzyme, **1**, 398, 1970.
 Scrutton, M. C.: Ann. Rev. Biochem., **37**, 249, 1968.
 岡崎令治: 现代の生化学(下), 165, 1965.
 中 沢淳: 现代の生化学(上), 107, 1967.
 德重正信: 现代の生化学(下), 49, 1970.

[更 正]

1. 1974 年第二期第 28 页倒数第 7 行中“叫做核糖核酸 (DNA)”, 应改为“叫做核糖核酸 (RNA)”。
2. 1974 年第三期第 30 页右栏第 9 行中“肺经属俞穴”应改为“膀胱经属俞穴”。