

简报

肌酸激酶肌变性失活的关系

刘国华 毕坎华

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

肌酸激酶(CK2.7.3.2)催化磷酸肌酸与 ATP 相互转化的反应。姚启智等^[1]曾对其在盐酸胍中的构象变化与失活动力学进行了比较研究, 发现在低浓度变性剂中, 失活的速度与程度都远大于构象变化。此酶为球蛋白, 由两个可以解离的相同亚基组成, 分子量 82,600。本文在最适 pH 附近 (pH9.0) 测定了不同浓度盐酸胍中酶的沉降系数, 对其解聚与构象变化进行了研究, 以探讨快失活、慢构象变化与解聚的关系。

兔肌酸激酶的提取、活力测定、盐酸胍的纯化方法与文献[1]相同。沉降系数用日立 282-型分析超速离心机于 20℃ 左右测定, Schlieren 光学系统, 标准池, 转速 51,000 转/分, 靶角 70°。所得结果根据 Svedberg 公式转换成标准态沉降系数 $S_{20,w}$ 。偏微比容用天然态的结果 ($\bar{v} = 0.743 \text{CC/g}$)。样品为酶初始浓度 8.4mg/ml, pH9.0, 0.1mol/L glycine-NaOH 缓冲体系, 其中含有 0.1mol/L NaCl (天然态) 或不同浓度的盐酸胍。

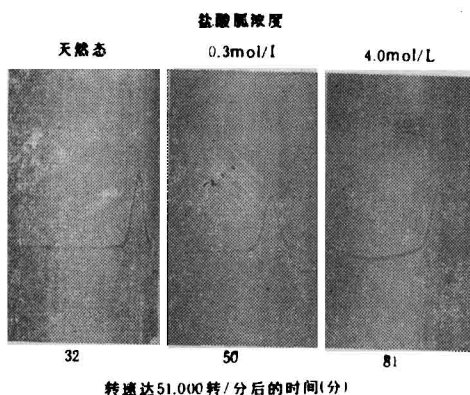


图 1 盐酸胍对肌酸激酶沉降的影响

酶初始浓度 8.4mg/ml 于含不同浓度盐酸胍, pH9.0, 0.1mol/L glycine-NaOH, 1mmol/L EDTA 缓冲溶液中天然态含 0.1mol/L NaCl 酶 20℃ 变性超过 1 小时后上机

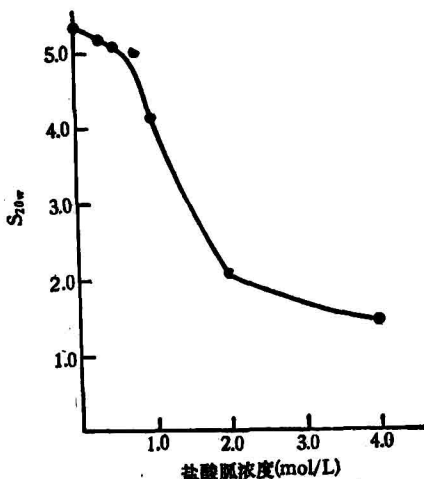


图 2 肌酸激酶在不同浓度盐酸胍中的沉降系数变化

肌酸激酶在低浓度盐酸胍中大部分失活。20℃ 时, 0.3mol/L、0.5mol/L 盐酸胍中剩余活力分别是天然态的 20% 和 40%, 1mol/L 盐酸胍中酶完全失活。

肌酸激酶在不同浓度盐酸胍中的沉降过程中都只有单峰出现 (图 1), 沉降系数结果见图 2。沉降系数的大小与蛋白质的分子量和形状有关。低浓度盐酸胍中, 沉降系数与天然态相差很小, 表明在此条件下酶分子没有解聚; 构象也没有发生明显变化。肌酸激酶的失活可能不是解聚引起的。随着变性剂浓度再增大, 酶分子二聚体逐渐解聚成单体, 分子量减小; 同时伴随着肽链伸展, 从而引起了 $S_{20,w}$ 变小。沉降过程中只出现单峰则表明解聚是一个快速平衡过程。

本文得到邹承鲁教授的热心指导和杨玉茹同志的大力帮助, 深表感谢!

参考文献

- [1] 姚启智、侯立向、周海梦、邹承鲁: 《中国科学》B 辑, 1084, 12, 1982.

[本文于 1987 年 3 月 2 日收到]