



模拟酶研究的简况与若干有关问题的讨论

杨常仁 忻纪厚 王庆诚

(中国科学院上海生物化学研究所)

酶是由生物体产生的具有催化功能的蛋白质,在生物长期的进化过程中,酶蛋白的结构也不断地发展与完善,以至具有高度合理的结构和优越的性能。对于酶的研究,十年来,已经取得了显著的成绩,尤其是最近十多年中,由于生化等方面技术的发展,现在不仅可以了解酶蛋白分子的一级结构和活性中心基团,而且可以利用x射线衍射技术探知酶分子中每个原子三度空间位置。酶学的研究尽管取得了如此大的进展,但是酶的结构与功能关系及酶催化的原理,现在尚未完全清楚,因此目前许多生化工作者正在进行更深入的研究。

酶学研究之所以引起生化工作者的重视,除了酶在生命活动过程中起着重要作用外,还由于它具有大家所熟知的三个特点,即催化效率高,作用选择性强和反应条件温和。酶催化的上述特点,是相对于现代工业生产中应用的非酶催化剂而言的。工业上应用的催化剂一般都是金属或金属氧化物,亦有少数金属有机络合物,这类催化剂的催化效率远比酶低,并缺乏选择性,又往往要求高温、高压、强酸或强碱的反应条件。有人统计,酶催化的效率比非酶催化剂一般高十万倍至一亿倍。由于酶催化具有高度的专一性,可消除副反应,产物单纯,可简化工艺流程,同时不需高温、高压、强酸或强碱的剧烈条件,又可革除工业生产中耐高温、高压和耐酸、碱的装备。所以酶的上述优点是酶催化剂远不能与之相比拟的,它也是现今人们所知道的最佳的催化剂。

任何事物都是一分为二的。酶虽然有许多优越的优点,但也存在着某些明显的缺点和局限性。酶是从生物体中提取制备的,由于它在体内的含量极少,难于得到工业生产所需要的量,用人工合成蛋白的方法合成酶蛋白,虽然已经成功,但通过这条途径来生产工业用的催化剂,显然是不经济的,至少目前是不可能的。酶分子容易受多种物理或化学因子的影响而损失活性,不适合生产的需要。并且,除个别的酶催化是在水溶液中进行外,化工上许多化学反应需要在气相或脂类中进行,尤其是使用催化剂最多的化工工业,其化工原料和产物多半不是体内天然存在的物质,因而不

能从生物体内找到催化此类反应的相应的酶。由于这些原因,所以不可能用酶来广泛地取代目前工业中使用的催化剂。为此,模仿酶分子的结构与催化机理,设计和合成人工的酶型催化剂,就成为改革非酶催化剂的重要途径。

现在模拟酶的研究,尚处于实验室阶段,还没有达到实际应用的水平,但是从已经取得的一些成果来看,应该认为,通过模拟酶的途径,合成人工的酶型催化剂是可以实现的。如果模拟酶的研究,一旦获得成功,不仅必然会引起化学工业深刻的变革,而且有可能从根本上改变发酵工业和粮食生产的面貌。本文根据资料报道,将模拟酶归纳为五种类型,下面列举有代表性的工作,作一简单的介绍,并对几个有关问题,进行初步讨论。

几种类型的模拟酶举例

由于酶分子结构与作用机理的高度复杂性,至今还不能全面、详细地阐明酶分子结构与功能之间的相对应的本质关系,所以模拟酶的研究,如同有些仿生学领域的研究一样,受到对生物原型认识的局限,还不能卓有成效地合成出具有天然酶全部优越性能的模拟酶。下面列举的一些例子,尽管只是模仿了天然酶某一方面的性状,不可能期望它们具有天然酶的全部特性,甚至有些模型完全没有催化活性,但是这些工作仍然是有意义的。“一个正确的认识,往往需要经过由物质到精神,由精神到物质,即由实践到认识,由认识到实践这样多次的反复,才能够完成。”模拟酶亦必然要在不断地实践与总结的过程之中,日臻完善。

1. 金属络合物

人们早就知道,金属或金属的简单化合物有催化作用,并且至今仍在工业生产中广泛应用。在酶学研究中,也发现许多酶的催化作用必须有金属参与,以后的研究表明,这些金属有些是酶的辅基,有些是辅基的一个组成部分。如碳酸酐酶需要锌,酪氨酸酶需要铜作为辅基。含血红素辅基的酶都需要铁,其铁离子是与卟啉环螯合。从各种固氮生物得到的固氮酶,无例外地都含有铁与钼,而且它们是固氮作用所必需的金属

元素。酶蛋白分子中这些催化所必需的金属元素，其简单化合物往往也有一定的催化作用，如铁盐能分解过氧化氢，铜盐能促进巯基化合物的氧化，当这些金属离子存在于酶蛋白分子中时，它们的催化效率就大大提高了。这些事实，启示人们去模拟酶分子中与金属有关部分的结构，以提高催化活性。Wang 模拟过氧化氢酶铁卟啉辅基的结构，合成了一个分解过氧化氢的酶模型，这个模型化合物是三价铁离子与三乙撑四胺的络合物，此络合物在水溶液中，其铁离子再与两个羟离子配位形成了六配位体，如图 1 中结构 I 所示，两个羟离子占据正八面体中相邻的两角，当系统中有底物过氧化氢存在时，这两个羟基能先后被同一个—OOH⁻根替代，生成 II 与 III，结构 III 中的 O—O 键的长度仅有 1.3 埃，所以很不稳定，能与另一个—OOH⁻根反应而回复至结构 I，同时放出一分子氧。在 pH 9.5, 25℃

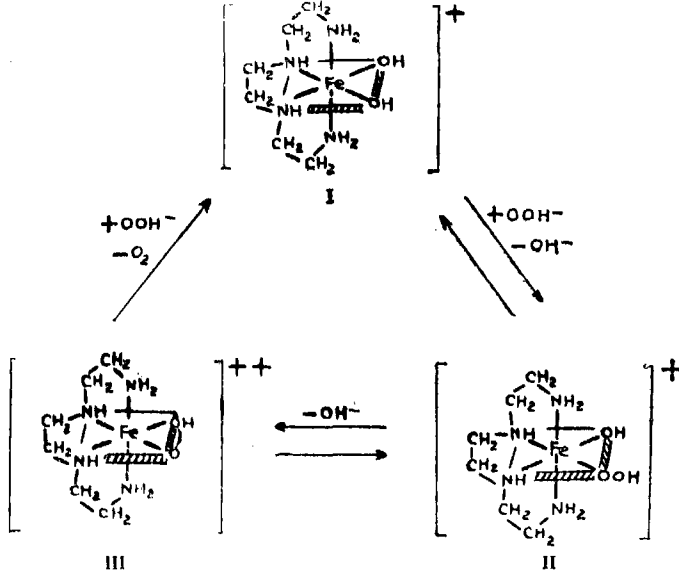


图 1 过氧化氢酶模型的结构及其催化过程

条件下，此模型的催化速率以转换率表示，是 11,000，在 41℃ 时为 21,000，这个速度是血红蛋白或正铁血红素在同样条件下催化速率的一万倍，是两价铁离子的一百万倍，达到了一般酶催化速度的水平。

在模拟生物固氮方面的大量研究中，也都是用含有金属的系统。Van Tamelen 等人，根据固氮酶研究得到的初步结果，设想氮分子的活化可能通过不饱和配位的过渡金属化合物与氮分子络合来实现，活化了的氮分子然后用强还原剂使之还原成氨。从这种设想出发，他们研究了含钛的一种化学固氮的系统。如图 2 所示，用萘化钠与四异丙氧基钛作用，使钛由四价还原至二价，二价钛的烷化物能与氮分子生成配位化合物，在萘化钠的继续作用下，生成一种结构尚未清楚的含氮中间物，此中间物经醇的作用而质子化，并释放出

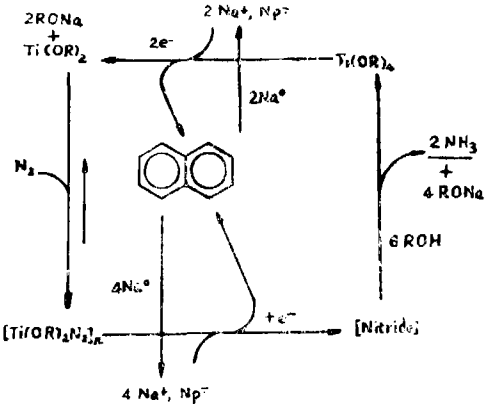


图 2 N₂ 还原至氨的循环过程
R——异丙基；NP——萘

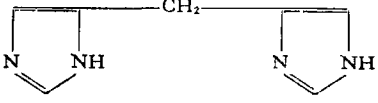
氨。当隔绝氧气，供给 1 个大气压的 N₂ 时，1 克分子钛能产生 1.1 克分子 NH₃。反应中所需的萘化钠由萘库提供，只要有足够量的金属钠存在时，萘在金属钠的作用下，不断地产生萘化钠，从而使固氮反应循环进行。此系统经 5 次循环，每克分子钛可作用生成 3.4 克分子的氨。

模拟生物固氮的化学模型，还有许多仿效固氮酶活性中心的报道。固氮酶含有活力所必需的铁与钼，这些金属通过硫桥相联结，形成所谓双核或多核络合的活性中心，根据此种假设，将铁、钼等过渡金属与半胱氨酸等巯基化合物组成化学固氮的系统。这些系统在不同程度上也具有固氮能力。随着固氮酶结构与功能研究的深入，此类模型亦将不断地得到发展。

2. 模拟天然酶活性中心催化功能团的衍生物

酶是蛋白质高分子，但直接参加催化反应的只是活性中心几个功能基团。有一类模拟酶是人工合成的这些功能基团的衍生物。

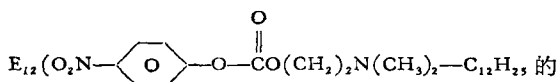
已知牛胰核糖核酸酶的催化功能团是第 12 与第 119 位的两个组氨酸，这两个组氨酸在肽链的顺序中相距虽然很远，但在空间位置上却很接近。Drey 等模仿牛胰核糖核酸酶催化功能团的此种结构，合成了带有两个咪唑基的化合物——二咪唑甲烷



但是，这个化合物对核糖核酸酶的底物环状尿嘧啶磷酸无水解活性，仅对醋酸对硝基苯酯的裂解有微弱的促进作用。

最近, Fridkin 与 Goren 合成了一个 7 肽——丝·脯·半胱·丝·谷·苏·酪。此 7 肽的氨基酸顺序与牛胰凝乳酶 A 中第 159 至 165 的一段肽相同, 由于这段肽的 7 个氨基酸中, 有 5 个氨基酸与许多种酶的催化作用有关系, 所以观察了这 7 肽对于醋酸对硝基苯酯的水解作用。实验结果表明, 此 7 肽对上述底物的水解有一定的促进作用。当用苄基保护此肽的半胱氨酸巯基, 或半胱氨酸氧化生成的 7 肽二聚体, 就失去水解的能力。这表明此 7 肽的催化水解是第 3 位半胱氨酸的作用。这段短肽的催化效率较半胱氨酸高 5 倍, 较谷胱甘肽高 10 倍。

上述两例, 说明在设计酶模型时, 仅考虑催化功能团一个方面的因素, 难于达到模拟酶的要求。下面引述 Shorenstein 等人报道的一个工作, 他们的实验结果说明, 除了催化功能团之外, 同时亦考虑到与底物分子的结合能力之后, 明显地促进了催化的效率。Shorenstein 等人比较了两种组氨酸衍生物——乙酰组氨酸与十八酰组氨酸——水解碳酸对硝基苯酯的一个衍生物



的速度, 看到乙酰组氨酸的水解速度极慢, 而十八酰组氨酸水解速度是前者的 2,000 倍。这两种组氨酸衍生物水解能力相差如此之大, 显然是由于十八酰组氨酸有一段很长的烷烃链, 与底物 E_{12} 分子中 18 个碳原子的烷烃链有较强的亲和力所致。与此相反, 乙酰组氨酸尽管具有完全相同的催化功能团, 但由于它与底物 E_{12} 的结合能力较差, 所以催化效率受到明显的影响。

3. 模拟天然酶蛋白分子物化性状的酶模型

现在发现的酶, 无例外地都是蛋白质。Kauzmann 曾经指出疏水键在稳定蛋白质的天然构型中起有很重要的作用, 以后 Kendrew, Perutz 应用 X 射线衍射技术对肌红蛋白和血红蛋白的研究, 以及 Wyckoff 对牛胰核糖核酸酶-S 的研究结果, 都证实了这一观点。在蛋白质分子中, 氨基酸的侧链是定向排列的, 非极性基团朝向脂相, 极性基团朝向水相, 构成了同一个分子内的疏水区与亲水区, 这就构成了蛋白质分子的所谓两相性。根据许多种酶三级结构的资料, 表明活性中心皆处于疏水区。由此推测, 催化功能基团的催化作用, 可能与其所处的疏水微环境有着密切关系。Ochoa-Solano 等根据微胶束亦具有两相性, 合成了组氨酸的衍生物十四酰组氨酸, 这个化合物有一疏水性的十四个碳原子的烃链和亲水性的组氨酸残基。在水溶液中此十四酰组氨酸形成了微胶束, 组氨酸残基位于疏水的微胶束体表面。由于疏水环境的影响, 这些组氨酸中的咪唑基可能有催化功能。但是实验的结果表明, 这种微胶束并不能促进醋酸对硝基苯酯的水解。Ochoa-Solano 认为, 这可能是由于微胶束表面组氨酸羧基的

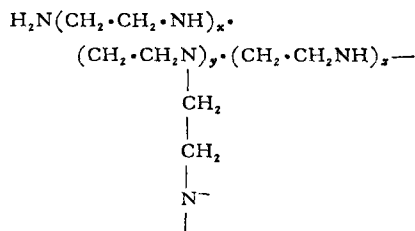
存在, 影响了对底物的作用。为了减弱羧基的影响, 在系统中再加入十六酰烷基-三甲基溴化铵, 形成两种分子混合组成的微胶束, 在这种混合微胶束中, 铵的碱性减弱了羧基的影响。实验的结果, 这种混合微胶束, 达到了预期的效果, 它催化醋酸对硝基苯酯的水解速度, 比组氨酸盐增加了 100 倍。

4. 多聚高分子

有些人认为, 酶蛋白分子直接参与催化作用的基团虽然只是少数几个必需基团, 但是其多肽链作为基本骨架可能也是需要的。Noguchi 等人系统地合成了多聚氨基酸或多种氨基酸的共聚高分子, 并比较它们水解酯类的活性, 虽得到了一定的结果, 但催化效率不高。Overberger 等根据胰凝乳蛋白酶的催化作用与丝氨酸的羟基、组氨酸的咪唑基有关, 研究了非氨基酸类的多聚物酶模型, 他们用乙烯酚与乙烯咪唑共聚, 得到带有羟基与咪唑基的非氨基酸共聚高分子。这种共聚物与单一的乙烯咪唑多聚物比较, 催化醋酸对硝基苯酯水解的速度增加了 9 倍。这结果表明引进羟基后, 提高了咪唑基的催化效率。

Srivastava 合成了一种溶菌酶的模型, 此模型的设计, 是依据天然溶菌酶的催化作用与谷氨酸有关, 同时又根据酶蛋白分子有亲水与疏水两个区域的结构, 因此将谷氨酸与有疏水侧链的苯丙氨酸以 1:9 的比例共聚, 这种共聚物的催化活力, 结果以同样重量的共聚物与天然溶菌酶比较, 可达蛋清溶菌酶活力的 1/3。

迄今为止, 催化效率最高的模拟酶是 Kiefer 等人报道的硫酸酯酶的一个模型^[1], 它的活性比袋鼠肝脏芳香硫酸酯酶 IIA 高 75 倍。从分子角度来看酶蛋白, 它具有如下三个因素: 1. 具有大分子的骨架; 2. 在大分子骨架上带有结合底物的结合基团; 3. 还必须缀有起催化作用的功能团。根据以上认识, Kiefer 等人选择了分子量为 40,000 至 60,000 的聚乙撑亚胺 (poly EI₆₀₀) 作为模拟酶的大分子骨架, 这种多聚物的片段结构如下式所表示:



由于此种结构有高度分枝, 较一般线状分子紧密, 结合小分子的能力很强, 又因为此种多聚物中伯胺占总氮的 25%, 易于和其它化合物反应而生成各种衍生物, 所以是一个较好的骨架材料, 用此 poly EI₆₀₀, 通过烷化反应使 10% 的氮缀上十二烷基, 作为结合基团, 15% 的氮亦通过烷化作用结合上甲基咪唑, 以作为催化基团, 这衍生物简称为 poly EI₆₀₀D.I.。这种硫酸酯

酶模型,在 pH 9.2, 20℃ 条件下,水解2-羟基-5-硝基硫酸苯酯释放4-硝基儿茶酚的二级反应速度常数是 $18 \text{ 秒}^{-1} \text{ M}^{-1}$,而在相同条件下,游离咪唑催化的二级反应速度常数是 $5.0 \times 10^{-12} \text{ 秒}^{-1} \text{ M}^{-1}$, poly EI_{600D.1} 催化速率较游离咪唑高 3.6×10^{12} 倍。如与袋鼠肝脏硫酸酯酶相比,亦高出75倍。

5. 包结化合物

包结化合物是模拟酶研究中较为系统的一类,近几年来仍在逐步深入地发展。Breslow^[2] 与 Griffiths 等^[3] 对这方面的进展分别作了全面的评述。这类酶模型是根据几种水解酶类的三级结构资料提出的,许多种酶分子的表面,有一个疏水性较强的凹槽,凹槽内陷较深的就成为一个疏水性的内腔。酶与底物的结合,除了取决于结合基团之外,与酶分子上此种疏水性的凹槽或内腔这一特殊结构也有一定的关系。Cramer 等人^[4] 发现一类能与底物生成包结化合物的环状糊精,它们具有类似于酶分子的上述特殊结构,能结合某种底物并催化使之发生反应。

环状糊精是由六个、七个或八个葡萄糖组成的一类筒状分子。它们的结构如图3所示,筒的一端排列着葡萄糖分子第2及第3位碳原子上的二级羟基,另一端排列着第6位碳原子上的一级羟基,筒的内壁则是由C-H键和醚氧组成。分子外缘的亲水基团,使分子有良好的水溶性,并起催化的作用,疏水性的内腔能选择性地结合底物。

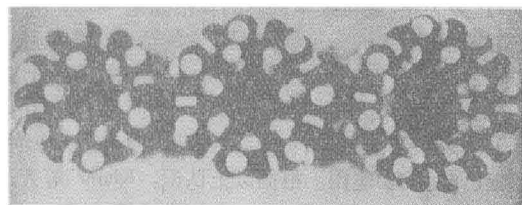


图3 环状糊精的分子模型

从左至右: 六元、七元、八元环状糊精

Van Etten 等人观察六元环状糊精(α -CD)对各种苯基的醋酸酯作用的情况,看到苯环对位有取代基的与间位有取代基的异构体,水解速率有明显差异,取代基在间位的有较高的水解速度,而对位的异构体则不能被水解或水解速度极慢。这种差异,可以用间-特-丁苯基与对-特-丁苯基的醋酸酯为例来说明。图4中A是间-特-丁苯基的醋酸酯与环状糊精结合的分子模型,底物乙酰基恰巧能与环状糊精筒端的二级羟基紧密接触而可被裂解。图4B是对-特-丁苯基的醋酸酯与环状糊精结合的分子模型,底物的乙酰基位于环状糊精纵轴上而远离羟基,所以不易受羟基的作用而裂解。

α -CD 虽然有催化酯类水解的活性,但活力很低, Breslow 在环状糊精中再引入过渡金属镍离子和一个

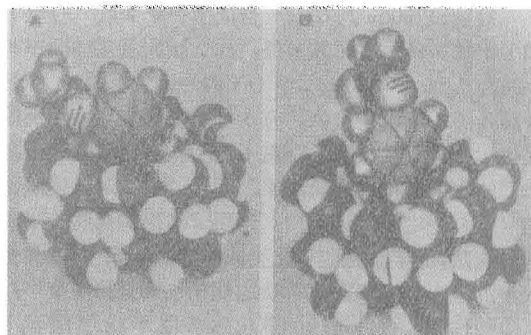


图4 环状糊精与苯类脂化物结合的分子模型

A—— 间-特-丁苯基醋酸酯与 α -CD 的包结化合物;

B—— 对-特-苯基醋酸酯与 α -CD 的包结化合物

亲核性很强的胍基,此衍生物不仅出现了水解醋酸对硝基苯酯的活力,而且其催化水解的速度较自水解增加2,700倍。此衍生物的结构及其与底物结合的情况如图5。如图中所示,底物乙酰基位于胍基氧原子邻近,因而能被作用。但是,此衍生物中庞大的配基仅通过一个酯键与环状糊精相联结,配基转动的自由度较大,因而影响胍基氧原子的作用,如果能使配基转动的自由度减小,有可能进一步提高其催化效率。

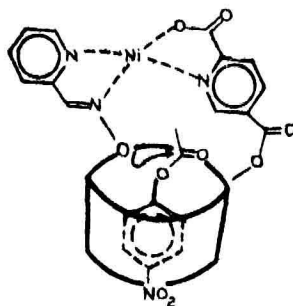


图5 一种有催化活性的环状糊精衍生物及其与醋酸对硝基苯脂的作用

Breslow 等设想环状糊精与芳香类底物生成包结化合物后,芳香环的有一些基团受到筒状内壁空间位阻性保护,有可能使反应专一地发生在另一部分基团上。这一设想,在苯甲醚氯化反应中获得了预期的结果。当苯甲醚与次氯酸反应的系统中,有 α -CD 存在时,95% 以上的产物是对氯苯甲醚,邻氯苯甲醚的含量极低。倘若反应系统中无 α -CD 时,产物中对氯苯甲醚与邻氯苯甲醚之比是 100:66。用天然氯过氧化物酶催化此反应,两种产物之比是 100:53。这些结果表明环状糊精催化此氯化反应的专一程度很高,有应用于有机合成的价值。 α -CD 催化苯甲醚氯化反应的机制,可用次氯酸首先与环状糊精的羟基反应,次氯酸基团转移至 α -CD 分子上,这部分结合的次氯酸基团是氯化反应的直接供体,它比游离次氯酸更快的

速度使苯甲醚对位碳原子氯化,图6是苯甲醚被环状糊精催化氯化的示意图。

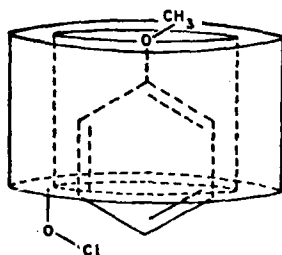


图6 环状糊精催化苯甲醚氯化机制的示意图

关于其它类型包结化合物的催化作用, Roesche 等曾报道几个结构与环状糊精有类似之处的环状多肽,但结合底物与催化作用正在研究之中。

有关几个问题的讨论

从以上列举的研究结果来看,模拟酶的研究尚处于实验室探索的阶段,但根据这些初步结果,可对模拟酶的前景和进一步研究的几种途径,作如下讨论。

1. 如何认识天然酶分子结构的合理性和人工合成酶型催化剂的可能性问题。由于天然酶分子经历了亿万年进化发展的过程,它们的结构无疑是高度合理的。这种合理的结构是酶具有多种优越性能的基础,也是模拟酶研究的根本依据。但是这并不等于说模拟酶的研究能完全地模仿酶蛋白的分子结构。酶分子结构的所谓高度合理性,是相对于它赖以存在的生物体的条件和它在体内的生理功能而言的,所以这种合理性是有条件的,不是绝对的。对于工业生产的酶型催化剂而言,我们只需采取它适合于生产需要的那部分特性。而且酶的有些特性,如容易变性、失活等还应该避免。所以模拟酶并不是简单盲目地模仿天然酶。酶蛋白结构上的复杂性是与它的复杂的生理功能相对应的。由于模拟酶只是有选择地取酶蛋白的一部分性状,所以其结构有可能较天然酶大为简化,这就更有利于人工合成。那种片面地强调天然酶结构的高度合理性和不可改变性,而认为现在还不能用现有的有机合成手段来有效地进行模拟看法,是缺乏根据的。前文中列举的有些模拟酶,如过氧化氢酶模型,结构较天然酶的辅基还要简单,但催化效率却达到一般酶催化的水平,这些例子虽然与完善的有实用价值的模拟酶距离尚远,但它也预示着人工合成酶型催化剂的可能性与现实性。

还需指出,生物体合成酶因受体内生理条件的限制,局限性很大,就以合成酶分子的原料来说,只能取材于二十多种氨基酸和少数几种糖及少数几种金属离子,而人工合成模拟酶却不受这些条件的限制,可以广泛取材,从这方面来看,也是人工模拟所特有的有利

条件。

关于酶在常温、常压及近中性条件下作用,这无疑酶的一大优点,但这也不是绝对的。在工业上,并不是所有情况都不允许高温、高压等较剧烈的条件;相反,有些工业生产,如酶法脱毛与丝绸脱胶,正在设法从耐高温菌中寻找耐高温的水解酶,以适应整个工艺流程的需要。另一方面在还不能合成出常温、常压等温和条件下作用的模拟酶之前,先合成出一些虽然需要某些较剧烈的条件,但催化效率高的一些不完善的酶型催化剂,作为过渡也是可以尝试的。

2. 现在发现的酶,全都是分子量在一万以上以至数十万的蛋白质高分子;那么,模拟酶是否也必须以如此巨大的分子为基础呢?在酶学研究的历史上,有些工作者曾希望经过限制酶解而得到有催化活性的蛋白碎片。60年代初, Hill 与 Smith 以及 Liener 等曾报道获得了分子量颇小,但具有与天然酶相同活性的碎片,但以后的工作,证明此结论有误。Glassmeyer^[5]在1971年,以报道被固相化的胰蛋白酶经限制酶解,大幅度地减小蛋白的分子而催化活性没有降低,但此结论还待进一步证实。尽管在牛胰核糖核酸酶和金黄色葡萄球菌产生的一种核酸酶的研究中,已明确证明酶蛋白肽链中有少数几个氨基酸是可以被除去而不损失催化活性,但是酶蛋白能否大幅度地降解成更小分子的活性碎片,目前还难以得出结论。然而从模拟酶的角度来看这个问题,非酶的酶型催化剂并不一定需要象酶蛋白那样大的高分子是可能的。

x射线衍射及化学改性研究的结果,已经充分证明酶分子直接参与催化作用的只有活性中心的那一部分结构和基团,蛋白的其余部分,有些与活力的调节有关,有些与维持活性中心的一定构型有关,还有一些可能与其它生理功能有关,这些部分对模拟酶来说,显然并非必需。还有一些具有多种催化功能的所谓多功能酶,它们催化的活性中心往往不是同一的,这类多功能酶有些已经证明可以裂解为分别具有一种催化功能的几个部分^[6]。从以上情况看来,人工合成的模拟酶较天然酶简化是完全可能的。上文提及的过氧化氢酶模型,分子量只及天然过氧化氢酶的千分之一,但仍有较高的催化活性,就是小分子也可能具有高效催化率的一个实例。

最近 Traylor 等^[7]模拟肌红蛋白的活性中心,成功地得到了一个有携带氧分子能力的化合物,这个化合物如能继续改进,使之有更大的稳定性,有可能应用于人工肺中以增加血液运送氧的能力。此研究,是根据已知的肌红蛋白运送氧的活性中心结构,用叶绿素 a 作为基本结构,以 Fe^{++} 取代其卟啉环中的 Mg^{++} ,并引入丙胺基咪唑基以模拟肌红蛋白中的组氨酸。如图7所示,在此人工合成的类似肌红蛋白活性中心化合物中,其咪唑基能与 Fe^{++} 形成配位键,所以其空间

能了解还不甚清楚和有机合成技术上的困难,难于设计并合成兼有高效与专一两方面性状的模拟酶时,根据生产的需要,首先合成出具有高效或专一的一个方面特性的模拟酶,就比较易于入手研究。实际上,当人们一旦能够根据反应的底物来设计出高效率的模拟酶时,这种模拟酶就可能倾向于和作为设计根据的那类底物反应,也就是同时具备了反应的专一性。

特别值得在这里指出的是,这些工作也启示模拟酶的研究可探索另一条半人工合成的途径。RNase A 是由 124 个氨基酸组成的一条单一的肽链所构成,它通过枯草杆菌蛋白酶和胃蛋白酶的限制水解,可得到 1—20, 21—120 与 121—124 三个肽段,其中 21—120 的一段肽,又可经羧肽酶的作用继续降解为 21—118 的肽段。Lin 等人报道,如果将 1—20、21—118 与人工合成的 111—124 这样的三个肽段经次级键的作用而重新组合,可得到天然 RNase A 30% 的活力。在这重新组合的酶中,起催化作用的第 12 位与第 119 位两个必需基团,分别位于 1—20 与 111—124 两个短肽段之内,它们靠 20—118 一段肽的作用,不通过共价键的结合,又可恢复催化所需要的构型。这项工作表明,在一定条件下,可以用合成几个较小的肽段来代替原来的酶,而几个较小肽段的合成,比合成一个较长肽链的酶来,无论是工作量,还是困难程度都要小得多;另一方面倘若能够人工合成一个化合物来替代 21—118 的这段天然肽,使带有催化功能团的另二段短肽,按要求的构型组合在一起,这就是说人们得到了半人工合成的模拟酶。这类研究,对于向全部人工合成模拟酶过渡是有很大的指导价值。

综上所述, 目前模拟酶的研究虽然尚处于实验室阶段, 但是, 初步的研究成果也表明, 人工合成比天然酶更优越的模拟酶使之广泛应用于生产的愿望, 是终将能实现的。

C[C@H](O)CC(C(=O)[C@@H]([C@H](CO)OCn1cnc(c[nH]1)c2ccc(O)c(C)n2)c3ccccc3)c4ccccc4

叶啉醇

The diagram shows a cobalt (Co) atom coordinated by four nitrogen atoms in a porphyrin-like ring. The ring is substituted with various groups: a methyl group (CH₃), a vinyl group (CH=CH₂), a propyl group (CH₂CH₂CH₃), and a side chain containing a carbonyl group (C=O) and a terminal amino group (NH₂). The side chain is connected to the ring via a methylene group (CH₂). The cobalt atom is also coordinated by a ligand labeled 'Y'.

图7 人工模拟肌红蛋白活性中心

以上说明了合成小分子模拟酶的可能性,当然并不排斥合成大分子的途径,前面列举的硫酸酯酶的模拟酶,就是以大分子量的聚乙撑亚胺为基本骨架的,它表明合成大分子的模拟酶也是一条有前途的途径。

3. 关于酶催化的专一性与高效率两个特性之间是否存在不可分割的内在联系, 具体地说就是酶的高效率是否亦依赖于作用的专一性。对此问题, 由于酶的结构与功能现在还未了解清楚, 所以从酶学研究本身方面来讨论, 目前还难于得出结论, 但是, 酶模型研究所得到的初步资料, 却有助于这问题的解决。从上文列举的许多例子中, 我们看到那些催化效率较高的酶模型, 如过氧化氢酶模型、溶菌酶模型、硫酸酯酶模型^[1]等, 在设计时, 并未特意考虑它们专一性的这方面因素; 与此相反, 环状糊精类的酶模型, 虽然具有不同程度的反应选择性, 但催化的效率却都不甚高。所以总结这些酶模型的资料, 不能认为催化的高效率与专一性之间必定存在着相互依存的关系。

基于上述的认识,人们在现阶段对酶的结构与功

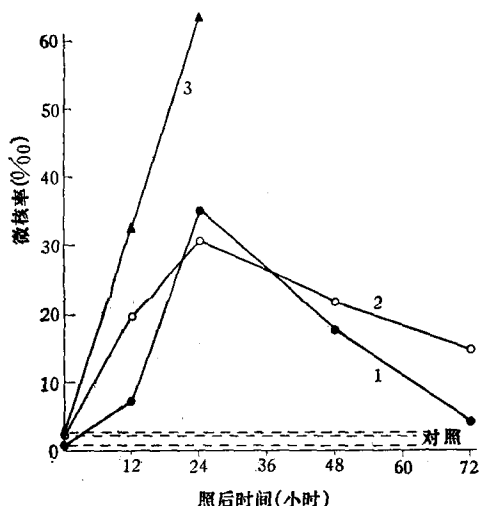


图3 微核率和照后时间的关系(照射剂量300拉得)
1——有核细胞微核率; 2——红细胞微核率;
3——多染性红细胞微核率

Heddle^[1]认为,微核测定与沿用的染色体分析相比较,除了节约时间以外,还有几个优点:(1)在细胞分裂受到抑制的场合,染色体分析常需多次取样以寻求最合适的分析时间,而微核测定一般只要一两次取样就有足够多的细胞可供分析;(2)太高的照射剂量常使中期染色体分析困难甚至不可能进行,而对于微核测定,相对来说困难不那么严重;(3)中期染色体分析时有些畸变类型如间隙(gaps)过多,其可靠性和意义如何,尚不清楚,而在微核测定中就不存在这个问题。此外,对于染色体数较多、不甚适于中期染色体分析的实验动物,仍可应用微核测定^[7]。并且现有的一些资料^[1,3]也表明,在同一实验条件下,微核率和染色体畸变率之间有很好的相关。应当指出,和中期染色体分

析比较,微核测定只能反映少数几种类型的染色体畸变,如断裂、断片或单体互换等^[2],而且出现率也比较低,故微核测定可能不及中期染色体分析的灵敏度高。另外,微核率受个体差异的影响较大。当然,这可能与采用的是非纯系动物有关。但微核测定有个比较突出的优点,就是制片简便、观察迅速。在研究各种诱变因子的细胞遗传学效应以及辐射损伤的早期诊断中,不失为沿用的染色体分析法的一个良好的补充。

小 结

本工作研究了不同剂量 γ 射线对小鼠骨髓有核细胞、红细胞、多染性红细胞微核率的影响,以及微核率和照后时间的关系。结果表明,骨髓有核细胞微核率和照射剂量成线性关系,取材观察时间以照后24小时较为合适。对微核测定和染色体分析的特点进行了比较讨论。在一定剂量范围内,骨髓有核细胞微核率测定,有可能作为辐射损伤早期诊断的一个参考指标。

参 考 资 料

- [1] Heddle, J. A.: *Mutation Res.*, 18, 187, 1973.
- [2] Von Ledebur, M. et al.: *Mutation Res.*, 19, 109, 1973.
- [3] Weber, E. et al.: *Mutation Res.*, 26, 461, 1974.
- [4] Richardson, J. C.: *Mutation Res.*, 26, 391, 1974.
- [5] Evans, H. J. et al.: *Int. J. Radiation Biol.*, 1, 216, 1959.
- [6] Flidner, T. M. et al.: *Blood*, 23, 471, 1964.
- [7] Matter, B. E. et al.: *Mutation Res.*, 12, 417, 1971.
- [8] Pyatkin, E. K. et al.: *Int. J. Radiation Biol.*, 19, 535, 1969.

[本文于1974年11月6日收到]

(上接第48页)

主 要 参 考 资 料

- [1] Kiefer, H. C. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 69, 2155—2159, 1972.
- [2] Breslow, R.: *Advances in Chem. Ser.* 100, Bio-inorganic Chem., p. 21—43, 1971.
- [3] Griffiths, D. W., et al.: *Advances in Catal.*, 23, 209—262, 1973.

- [4] Cramer, F., et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 14—20, 1967.
- [5] Glassmeyer, C. K., et al.: *Biochemistry*, 10, 786—792, 1971.
- [6] Klenow, H., et al.: *Eur. J. Biochem.*, 22, 371—381, 1971.
- [7] Traylor, T., et al.: *Chem. and Engineering News*, 5, 14—15, 1973.
- [8] Anfinsen, C. B.: *Science*, 181, 223—230, 1973.