

一问题不久将得以彻底阐明。

参 考 文 献

- 1 Higuchi K, Law S W, Hoeg J M *et al.* J Biol Chem, 1988; **263**: 18530
- 2 Chao Y S, Ding X, Dai P *et al.* Nucleic Acids Res, 1988; **16**: 7061
- 3 Sastry K N, Seedorf U, Karathanasis S K. Mol Cell Biol, 1988; **8**: 605
- 4 Walsh A, Ito Y, Breslow J L. J Biol Chem, 1989; **264**: 6488
- 5 Widom R L, Ladas J A A, Kouidou S *et al.* Mol Cell Biol, 1991; **11**: 677
- 6 Lamon-Fava S, Sastry R, Ferrari S *et al.* J Lipid Res, 1992; **33**: 831
- 7 Walsh A, Azrolan N, Wang K *et al.* J Lipid Res, 1993; **34**: 617
- 8 Haase A, Stoffel W. Biol Chem Hoppe Seyler, 1990; **371**: 375
- 9 Ladas J A A, Karathanasis S K. Science, 1991; **251**: 561
- 10 Sladek F M, Zhong W, Lai E *et al.* Genes Dev, 1990; **4**: 2353
- 11 Chan J, Nakabayashi H, Wong N C W. Nucleic Acids Res, 1993; **21**: 1205
- 12 Rottman J N, Widom R L, Nadal-Ginard B *et al.* Mol Cell Biol, 1991; **11**: 3814
- 13 Widom R L, Rhee M, Karathanasis S K. Mol Cell Biol, 1992; **12**: 3380
- 14 Romney J S, Chan J, Carr F E *et al.* Mol Endocrin,

1992; **6**: 943

- 15 Shemer R, Walsh A, Eisenberg S *et al.* J Biol Chem, 1990; **265**: 1010
- 16 Shemer R, Kafri T, O'Connell A *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1991; **88**: 11300

The Advancements of the Research on Apolipoprotein A- I Gene Expression Regulation. Yin Yinliang, Wang Keqin, Chen Baosheng (*Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100005, China*).

Abstract The apolipoprotein A- I is an important plasma protein which plays an essential role in transportation and metabolism of lipid, and its gene expression shows evident tissue-specificity, species-specificity and developmental stage-specificity. By the cooperation of the *cis*-acting elements, eg. the liver-specific-enhancer at the 5' upstream region and the positive or negative transcriptional factors such as ARP-1, HNF-4, RXR α , the apo A- I gene is regulated to express specifically.

Key words apolipoprotein A- I gene, gene expression, regulation

PFP 的研究进展

李 霖* 张洪渊

(四川大学生物系, 成都 610064)

摘要 焦磷酸: 果糖-6-磷酸 1-磷酸转移酶 (PFP) 可催化果糖-6-磷酸与果糖-1, 6-二磷酸间的可逆转变. 该酶广泛存在于各种高等植物及一些微生物体内. 文章综述了 90 年代以来有关 PFP 的一些研究进展. 包括: PFP 的种类与亚基构成、活性中心、底物特异性、酶活性的调节及功能等.

关键词 焦磷酸: 果糖-6-磷酸 1-磷酸转移酶 (PFP), 果糖-6-磷酸, 果糖-1, 6-二磷酸, 糖酵解, 糖异生

在生物体内, 由果糖-6-磷酸 (fructose-6-phosphate, F6P) 向果糖-1,6-二磷酸 (fructose-1,6-bisphosphate, F1,6P₂) 转变的反应是酵解过程中的一个关键反应, 由不可逆酶磷酸果糖激酶 (phosphofructokinase, PFK) 催化, 其逆过程由果糖-1,6-二磷酸酯酶 (fructose-1,6-bisphosphatase, FBPase) 催化. 70 年代以来首先从植物中发现的焦磷酸: 果糖-6-磷酸 1-磷酸转移酶 (pyrophosphate : fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase, PFP) (EC 2.7.1.90) 也能催化 F6P 与 F1,6P₂ 间的可逆转变. 由于它所催化的正向反应是不同于 PFK 所催化的过程, 它不需要消耗 ATP, 而且植物体内生物合成旺盛的组织, PFP 的活性常常高于或等于相同组织 PFK 的活性^[1], 因而受到人们的高度重视, 研究者愈来愈多. 本文就 90 年代以来有关 PFP 的研究进展作一介绍.

1 PFP 的种类及亚基构成

根据 PFP 的来源及别构性质将 PFP 分为两类^[2].

1.1 别构酶型

存在于高等植物各种组织中. 一般由两种亚基 (α 、 β) 构成. 二亚基的化学裂解肽谱不同, 二者间无免疫交叉反应, 只有 40% 的氨基酸同源, 表明它们是不同的蛋白质, PFP cDNA 克隆推导的结果及圆二色性光谱均表明, 二亚基主要由 α 螺旋和 β 折叠构成二级结构, 几乎没有无规卷曲. 胰酶处理绿豆 PFP, 发现 α 亚基比 β 亚基更敏感. 别构 PFP 一般为 $\alpha_2\beta_2$ 异质四聚体. 在几种植物中, PFP 存在两种酶型, 小麦的大分子酶型为 $\alpha_2\beta_2$, 小分子酶型为 β_2 ; 绿番茄果实中的大分子酶型为 $\alpha_4\beta_4$ (Q_2), 小分子酶型为 β_2 (Q_1); SDS-PAGE 扫描结果表明, 绿、红番茄 Q_2 的亚基组成不同, 推测可能还存在其它酶型. 不同酶型均有活性, 在体外实验中可相互转化^[1~3].

1.2 非别构酶型

存在于厌氧细菌和无线粒体的原核生物中. 由单一亚基构成均质二聚体^[4,5]. 但通过分

子筛层析, 发现阿米巴 *Naegleria fowleri* PFP 存在两种酶型: 大分子酶型为四聚体, 有活性; 小分子酶型为单体, 无活性. 而在 *Euglena gracilis* 中, 随 F2,6P₂ 浓度增加, PFP 构象改变, 表明为别构酶^[6,7].

2 PFP 的活性中心

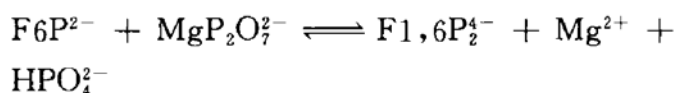
将土豆块茎 PFP cDNA 克隆推导出的 α 、 β 亚基的一级结构与 *E. coli* 的 PFK 比较, 在 PFK 上参与结合 F6P/F1,6P₂ 的 11 个氨基酸残基中, α 、 β 亚基分别保留了 6 个和 7 个, 说明二者可能都有结合 F6P、F1,6P₂ 的功能. β 亚基的 Asp₁₇₅ 可能与 PFK 上 Asp₁₂₇ 一样, 作为催化碱通过氢键与磷酸果糖的羟基相连, α 亚基的相应部位则由于被 Asn₂₂₀ 取代而失去了催化能力. 在 ATP/ADP 结合部位, α 亚基只保留了 1 个残基, β 亚基有 4 个: Gly₅₁, Arg₁₁₅, Asp₁₄₅, Ser₁₄₇, 表明 β 亚基的这一部位可能参与焦磷酸的结合, 但由于 Asp₁₄₅ 取代了 Gly₁₀₄, (可与 ATP 的 β -P 间形成氢键), 通过位阻效应有效地阻止了 ATP 与 PFP 活性中心的作用^[4]. 在番茄中, Q_1 (β_2) 具有酶的活力, 纯化的 Q_2 ($\alpha_4\beta_4$) 比活力高于 Q_1 . 将 Q_2 同二巯代硝基苯甲酸一起温育, 酶迅速失活, F2,6P₂ 对酶的激活能力大减, 荧光分析显示, 失活主要在于 α 亚基上巯基的氧化. 用二巯基苏糖醇可使酶复活, 并伴随有 F2,6P₂ 激活能力的恢复. 上述事实说明 PFP 的 β 亚基才是催化亚基, α 亚基则在巯基的参与下, 通过与 F2,6P₂ 的作用调节 PFP 的活性. 但在番茄中, 发现 Q_1 的活力也依赖于 F2,6P₂ 的激活, 提示 β 亚基上可能也存在 F2,6P₂ 的作用位点^[3,8]. 2,3-丁二醇可使土豆 PFP 迅速失活, 失活动力学性质表明, 一个 Arg 的修饰即可抑制酶的活性, 失活剂大大降低了酶的催化能力, 对底物的亲和力则影响不大, 底物或底物类似物具有拮抗失活的能力, 推测在 PFP 的活性中心有一 Arg, 可能为 Arg₁₁₅, 对酶的催化活性至关重要^[9].

对非别构的 PFP 的活性中心研究进展很快. 将 *Propionibacterium freudenreichii* PFP

cDNA 克隆推导出的氨基酸序列与 *E. coli* PFK 比较, 在 PFK 上参与结合 F6P/F1,6P₂ 的 11 个和 ATP/ADP 的 10 个氨基酸残基中, 在 PFP 分别保留了 7 个和 4 个, 说明二者在与底物结合的部位, 结构上可能很相似^[2]. PFP 与 PFK 在一级结构上有一共同顺序: 在 PFK 为 Thr₁₂₅-Ile₁₂₆-Asp₁₂₇-Asn₁₂₈-Asp₁₂₉, 在 PFP 为 Thr₁₄₉-Ile₁₅₀-Asp₁₅₁-Asn₁₅₂-Asp₁₅₃. PFK 中, 该段顺序位于活性中心, Asp₁₂₇ 作为催化碱与 F6P 的 C₁ 位上 OH 形成氢键, 增强了 OH 对 ATP γ-P 的亲核作用, Asp₁₂₉ 与 Mg²⁺ 结合, Mg²⁺ 再与 ATP 的两个末端磷酸基作用; 对于 PFP, Asp₁₅₃ 与 PFK 的 Asp₁₂₉ 点突变效应一致, 对底物的 K_m 值均无太大影响, 但均可使 K_{cat} 值降低 1000 倍左右, 表明它们对底物的结合并不重要, 可能仅是作为多个配体的一员, 参与金属离子的结合以稳定过渡态. Asp₁₅₁ 点突变的效应则大得多, 推测其作用可能类似于 Asp₁₂₇. 由此, Green 等^[10] 提出了 PFP 催化反应的过渡态模型. 用磷酸吡哆醛处理上述 PFP, 则酶失活. 通过高压液相色谱, 显示出有一个主峰和一系列小峰. 分析主峰成分, 含 Lys₃₁₅, 它的修饰与酶的失活直接相关, F6P 和 F1,6P₂ 对失活有拮抗作用, 推测 Lys₃₁₅ 可能通过离子键与 F6P 中的磷酸基结合. 小峰中含有 Lys₈₀ 和 Lys₈₅, 如 MgPPi 与酶预先作用, 则可部分阻止磷酸吡哆醛的作用. 二者点突变不引起 PFP 动力学参数的显著改变, 提示它们可能位于 PPI 结合部位附近, 不参与催化反应或底物的结合^[11].

3 底物特异性

土豆块茎 PFP, 通过分别改变反应体系中 pH 及各底物的浓度后酶活性的变化, 证明正反应方向, F6P²⁻、MgP₂O₇²⁻ 是最好的底物, 其中 MgP₂O₇²⁻ 的 K_m 值为 11.4 ± 1.10 μmol/L; 逆反应方向, 最适底物为 F1,6P₂⁴⁻、HPO₄²⁻, 其中在 0.5 mmol/L Mg²⁺ 存在下, HPO₄²⁻ 的 K_m 值为 1.802 ± 0.360 mmol/L. 因此, 可将 PFP 催化的反应表示如下:



在绿豆 PFP, F6P 的各种异构体中, 最适底物是 β-D-呋喃果糖-6-磷酸^[12].

4 PFP 的活性调节

4.1 F2, 6P₂

植物中 PFP 的活性均绝对需要 F2, 6P₂ 的激活. 它能增大 PFP 对 F6P、PPi 的亲合力及 V_{max}, 从而增大 PFP 对正反应的催化能力. 但对逆反应无明显影响. 离体时, F2, 6P₂ 可有效地影响不同酶型间的转变. 豌豆萌发过程中 PFP 对 F2, 6P₂ 敏感性的变化在于两种分子量不同的 PFP 的交替变化. 说明 F2, 6P₂ 在体内和体外均可通过不同酶型的转变对 PFP 的活性进行调节. F2, 6P₂ 还可加强 Mg²⁺ 对 PFP 的激活作用, 解除高浓度 Mg²⁺ 对 PFP 的抑制作用, 提高 PFP 对 Ca²⁺ 的亲合力. 因此, F2, 6P₂ 是 PFP 活性调节最重要的因素, 其调节过程也是一个复杂的多方面的综合过程^[1,3,13].

4.2 离子

二价金属离子为 PFP 活性所必需. 许多离子半径较小的刚性二价金属离子, 如 Mg²⁺、Mn²⁺、Co²⁺ 均是 PFP 最好的激活剂, 特别是 Mg²⁺, 激活 PFP 的能力最强. 但低浓度时才起激活作用, 高浓度则抑制 PFP 活性. Ca²⁺ 抑制 PFP 的活性, 动力学研究表明, Ca²⁺ 对 Mg²⁺ 表现线性竞争抑制. 进一步的研究还发现, 植物中 PFP 的活性需 2 个二价金属离子: 一个在过渡态中起结合作用, 以形成金属离子-PPi 复合物; 另一个则作为激活剂^[13,14]. 此外, 卤素离子作为 F2, 6P₂ 的竞争性抑制剂对 PFP 的活性也有调节作用^[15].

4.3 其它小分子

ATP、柠檬酸抑制土豆块茎 PFP 的活性, 抑制曲线呈倒 S 型. 柠檬酸既改变酶对 F6P 的亲合力, 也改变 V_{max}. F2, 6P₂ 可减弱 ATP、柠檬酸的抑制作用, 其中, 它不改变 ATP 与酶结合的协同性, 但对柠檬酸结合的协同性却影响较大^[13].

4.4 酶型转化与酶的氧化还原

离体时, 酶型转化除受到 $F2,6P_2$ 的诱导外, 硫酸铵也可使酶型发生变化. 番茄果实成熟过程中, PFP 由大分子酶型 Q_2 转变成小分子酶型 Q_1 , 比较绿、红番茄中 Q_1 、 Q_2 的量, 红番茄中 Q_1 的比例增大, Q_2 中 β/α 值提高, 推测 α 亚基的丧失可能是导致酶型转化的重要因素之一^[3]. 番茄果实中 $F2,6P_2$ 的激活过程依赖于 α 亚基上的巯基, 如巯基被氧化则酶失活, 并丧失对 $F2,6P_2$ 的敏感性. 表明酶的氧化还原可改变酶对 $F2,6P_2$ 的亲合力而调节酶的活性^[8].

4.5 激素和环境因素

Citrullus lanatus 子叶中, PFP 活性的增加依赖于胚根的不断生长, 生长素、乙烯、赤霉素具有与胚根相同的作用, 表明激素可能通过控制胚根的生长调节 PFP 的活性. 用放线菌酮处理, 激素作用被抑制. 提示激素可能是通过基因系统刺激 PFP 的合成来实现的. 黑芥子细胞悬浮培养时, 无机磷 P_i 的缺乏可诱导细胞合成 PFP 的 α 亚基^[1]; *Citrullus lanatus* 子叶由有氧变为无氧环境时, PFP 活性和 β 亚基含量均急剧下降; 土豆块茎 PFP 活性受到低温的可逆抑制, 低温可使 $F2,6P_2$ 的激活剂量增大, 而并不影响酶对底物的 K_m 值^[16,17]. 上述事实表明, 环境因素也可调节 PFP 的活性, 但其作用机理所知甚少.

非别构的 PFP 的活性不需 $F2,6P_2$ 的激活. 细菌 PFP 的活性同植物的一样也需依赖 2 个二价金属离子. 阿米巴 *Naegleria fowleri* PFP 的活性也依赖于 Mg^{2+} 的存在. 并且 AMP 可使酶的 V_{max} 增大约 2 倍而不改变对底物的亲合力. 在 0.5 mmol/L AMP 存在下 30 °C 温育, PFP 由无活性的单体向有活性的四聚体转变, 表明该酶的活性也受到酶型转化的调节^[5,6,14].

5 PFP 的功能

5.1 参与糖酵解

山茶花粉发育过程中, PFP 活性比 PFK 高 20~40 倍; 菜豆细胞悬浮培养时在对数生长

中期和滞后期, PFP 活力大增, 而 PFK 活力在生长周期中则保持相对恒定. 说明 PFP 能催化糖的酵解, 通过 PP_i 中酸酐键的水解作为能量转移的一种方式对机体供能, 这种方式具有较大的适应性. 而 PFK 催化的酵解则可能主要在于维持机体对基本能量的需要, 这种作用稳定持久^[18,19]. 黑芥子细胞悬浮培养缺 P_i 时 PFP 活性大增, 而 PFK 变化不大. 水稻幼苗发育过程中有氧时, PFP 和 PFK 活性均增加, 缺氧时 PFK 活性保持不变而 PFP 活性仍增加^[1,20]. 说明当植物受到环境压力时由 PP_i 供能比 ATP 更经济、更直接. 菜豆苗中, PFP/PFK 的相对活性与生物合成能力呈正相关性. 在 *Vigna mungo* 和 *Vigna radiate* 中, 从线性回归分析得到的协同效应相关系数分别为 0.96 和 0.89. 比较不同细胞的生物合成能力, 在以 PP_i 作为伴随产物的生物合成反应中, PFP 的活性最高. 表明 PFP 可通过酵解反应为生物合成反应提供底物或中间物^[21].

虽然 PFP 同 PFK 一样均能催化糖酵解, 但 PFP 的活性受到 nmol/L 数量级的 $F2,6P_2$ 激活. 对 PFK 而言, $F2,6P_2$ 的存在与否不影响其动力学性质, 浓度高达 $\mu\text{mol/L}$ 数量级时仍不能激活 PFK 的活性. 低浓度的 ATP 为 PFK 活性所必需, 随其浓度的增加 PFK 活性增大, 但当 ATP 浓度高于 Mg^{2+} 的浓度时, 游离的 ATP 对 PFK 活性具有强烈的抑制作用. ATP 也能抑制 PFP 的活性, 但 $F2,6P_2$ 能减弱或解除这种抑制作用^[13]. 因此, 胞质中 $F2,6P_2$ 及 ATP 的水平对糖酵解主要由哪一种酶催化具有重要的决定作用.

5.2 参与糖异生

豌豆子叶中 FBPase 的活性仅在进行糖异生的组织中才较高, 其活性只有在萌发后才发生改变, PFP 的活性则随糖异生能力的改变而改变. *Citrullus lanatus* 子叶萌发过程中, PFP 的最大活性与糖异生的最大流量和 $F2,6P_2$ 的高浓度相一致. 用对 PFP 专一的抗体处理混有 PFP 的 FBPase, FBPase 的表观活力可被 PFP 抗体移去 40% 以上, 如用纯化的 FBPase 则活

力不受影响. 推测 FBPase 的活力仅能维持糖异生的最小流量, PFP 的活力则用于维持贮藏形式的糖异生的流量. 胞质中 FBPase 的低活性与高浓度的 $F2,6P_2$ 及由脂肪合成糖时对大量碳源的需要, 都可能诱导 PFP 的活性^[22,23]. 菜豆细胞悬浮培养细胞分裂活跃时, PFP 和蔗糖合成酶的活性都增加, 酶活性的增加与细胞内蔗糖、葡萄糖和果糖水平的下降相一致, 表明 PFP 可通过糖异生产生 PPi , 用于由蔗糖合成酶催化的蔗糖的降解过程^[19].

5.3 对细胞中不同贮藏物质的形成影响不同

冷诱导使土豆变甜过程中, PFP 活性被抑制, 对 $F2,6P_2$ 的敏感性下降, 这种效应可能限制了低温下 $F6P$ 向 $F1,6P_2$ 的转变, 使己糖磷酸得以积累, 导致低温时蔗糖的逐渐合成. 番茄成熟过程中 PFP 的酶蛋白量和酶活性均发生变化, 绿果实 (淀粉贮藏组织) 中, PFP 对 $F6P$ 的亲和力高, 红果实 (蔗糖贮藏组织) 中, PFP 对 $F6P$ 的亲和力低, 说明 PFP 与贮藏组织中贮藏物质的量和种类具有密切关系.

5.4 其它方面

Chenopodium rubrum 细胞悬浮培养中, 发现 PFP 对丙糖磷酸和己糖磷酸的循环具有重要作用, 这一循环可能维持 PPi 和丙糖磷酸的高水平以利于蔗糖代谢和生物合成反应的需要. 此外, PFP 对 Pi 循环系统中将酯化的磷转变为无机磷, 被缺磷的细胞再次同化也有作用^[1,24].

总之, 在高等植物和微生物中, 不需氧的酵解过程均依赖于 PFP 的存在, 这与单一依靠 PFK 催化的酵解作为 ATP 的唯一源泉相比, 从能量转换的角度看更经济. 就是从糖异生方向来看, 也贮存了 PPi 中的能量, 因此可能在进化上得到了促进, 而并不是代谢原始性的反映^[16]. 目前, 有关 PFP 的研究虽然取得了不少进展, 但 PFP 的许多性质及其催化机理, 还有待进一步深入地探讨. 包括 PFP 的高级结构, PFP 酶型转化的分子机理, 结构与功能的关系, PFP 功能的调控, PFP 及其所催化反应在糖代谢中的地位等.

参 考 文 献

- 1 施教耐, 胡志远. 植物生理学通讯, 1993; **29** (3): 161
- 2 胡志元, 查静娟, 吴敏贤等. 植物生理学报, 1994; **20** (1): 83
- 3 Carlisle S M, Blakeley S D, Hemmingsen S M *et al.* J Biol Chem, 1990; **265** (30): 18366
- 4 Lador U S, Gollapudi L, Tripathi R L *et al.* J Biol Chem, 1991; **266** (25): 16550
- 5 Peng Z Y, Mansour T E. Mol Biochem Parasitol, 1992; **54** (2): 223
- 6 Mertens E, De J J, Van S E. Biochem J, 1993; **292** (3): 797
- 7 Enomoto T, Ohyama H, Inui H *et al.* Plant Sci (Limerick, Irel), 1991; **73** (1): 11
- 8 Kiss F, Wu M X, Wong J H *et al.* Arch Biochem Biophys, 1991; **287** (2): 337
- 9 Montavon P, Kruger N J. Plant Physiol, 1993; **101** (3): 765
- 10 Green P C, Tripathi R L, Kemp R G. J Biol Chem, 1993; **268** (7): 5085
- 11 Green P C, Latshaw S P. Biochemistry, 1992; **31** (2): 4815
- 12 Montavon P, Kruger N J. Plant Physiol, 1992; **99** (4): 1487
- 13 李 林, 潘 力, 许根俊. 生物化学与生物物理学报, 1990; **22** (5): 411
- 14 Byron L B, Daul F C. Biochemistry, 1994; **33**: 1663
- 15 Degli A R, Van P E, Greppin H. Biochem Int, 1992; **26** (4): 707
- 16 Botha A M, Botha F C. Plant Cell Physiol, 1991; **32** (8): 1299
- 17 Trevanion S J, Kruger N J. J Plant Physiol, 1991; **137** (6): 753
- 18 Nakamura N, Suzuki Y, Suzuki H. Physiol Plant, 1992; **86** (4): 616
- 19 Botha F C, O Kennedy M M, Du P S. Plant Cell Physiol, 1992; **33** (4): 477
- 20 Mertens E, Larondelle Y, Hers H G. Plant Physiol, 1990; **93** (2): 584
- 21 Ashihara H, Sato F. Biochim Biophys Acta, 1993; **1156** (2): 123
- 22 Sato F, Ashihara H. Biochem Physiol Pflanz, 1992; **188** (3): 145
- 23 Botha A M, Botha F C. Plant Physiol, 1993; **101** (4): 1385
- 24 Hatzfeld W D, Dancer J, Stitt M. Planta, 1990; **180** (2):

Advance of Pyrophosphate: Fructose-6-Phosphate 1-Phosphotransferase. Li Ji, Zhang Hongyuan (*Department of Biology, Sichuan University, Chengdu 610064, China*).

Abstract Pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (PFP) catalyzes the reversible conversion of fructose-6-phosphate and fructose-1, 6-bisphosphate. The

enzyme generally exists in kinds of higher plants and some of microorganisms. Some advance in the research of PFP after 1990 was reviewed. It contains the types and the constitution of subunits, the active center, the substrate specificity, the regulation of activity and the function of PFP.

Key words PFP, fructose-6-phosphate, fructose-1, 6-bisphosphate, glycolysis, glycogenesis

蛋白质特异性断裂试剂研究进展*

孙自勇 周 颂 胡建中** 朱德煦

(南京大学生物化学系生物医学国家重点实验室, 南京 210093)

陈晓华 朱龙根

(南京大学化学系配位化学国家重点实验室, 南京 210093)

摘要 蛋白质特异性断裂试剂是近年来发展起来的一些具有特异性断裂肽键功能的化学工具。这些断裂试剂可分为两类, 一类通过氧化断裂机制实现蛋白空间结构特异性切割, 另一类通过水解断裂机制实现序列特异性切割。蛋白质特异性断裂试剂在蛋白质序列测定, 蛋白质的结构与功能研究, 蛋白质与核酸相互作用研究以及新型化学治疗药物的合成等方面有着广阔的应用前景。

关键词 蛋白质特异性断裂, 氧化断裂, 水解断裂

蛋白质水解酶以及某些化学试剂如溴化氰、羟胺等具有专一性水解肽键的能力。这极大地方便了蛋白质的序列测定及其结构与功能研究。然而, 与数目庞大的特异性核酸酶相比, 蛋白质水解酶类的数量甚少, 远远不能满足科研及应用开发的需要, 因此人工蛋白质特异性断裂试剂的研究近年来正受到日益密切的关注。蛋白质特异性断裂试剂与蛋白质以化学剂量进行肽键断裂反应, 因而它并不是酶。但它却具有酶催化反应的高度专一性, 通过将参与断裂反应的活性基团与蛋白质的底物、受体或配体相连, 就可以实现对该蛋白特定位点的切割。这与化学合成的 DNA 断裂试剂对 DNA 特

定位点进行切割的原理是完全类似的^[1,2]。此外, 在蛋白质断裂试剂中另一种常用的方法是将金属配合物与蛋白质侧链上特定基团直接相连, 以实现邻近肽键的断裂。蛋白质的断裂机理主要有水解断裂与氧化断裂两种。以下我们将分别予以讨论。

1 氧化断裂

1.1 断裂机理

蛋白质的氧化断裂主要通过局部产生的一

*国家自然科学基金资助项目。

**通讯联系人。

收稿日期: 1994-07-13, 修回日期: 1995-04-10