

由于多种细胞因子一直广泛应用于临床，人们不仅关心其短期的临床疗效，更关心其在体内因信号转导和转录激活而引起的长期的生物学效应。相信随着信号转导研究的不断深入，进一步阐明细胞因子受体结构与功能以及 JAK、STAT 的作用机制，会对细胞因子临床应用的安全性以及发展新的药物提供依据。

参 考 文 献

- 1 Heim M H. The JAK-STAT pathway: specific signal transduction from the cell membrane to the nucleus. *Eur J Clin Invest*, 1996, **26** (1): 1~ 12
- 2 Yan H, Krishnan K, Lim J T E *et al.* Molecular Characterization of an α -IFN γ subunit domain required for Tyk2 binding and signal transduction. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (5): 2074~ 2082
- 3 Briscoe J, Rogers N C, Witthuhn B A *et al.* Kinase-negative mutants of JAK1 can sustain IFN- γ -inducible gene expression but an antiviral state. *EMBO J*, 1996, **15** (4): 799~ 809
- 4 Ravichandran K S, Igras V, Shoelson S E *et al.* Evidence for a role for the phosphotyrosine-binding domain of SHC in IL-2 signalling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (11): 5275~ 5280
- 5 Tang T L, Freeman R M, O'Reilly J A M *et al.* The SH2-containing protein-tyrosine phosphatase SH-PTP2 is required upstream of MAPKinase for early Xenopus development. *Cell*, 1995, **80** (3): 473~ 483
- 6 Tarakhovsky A, Turner M, Schaal S *et al.* Defective antigen receptor-mediated proliferation of B and T cells in the absence of Vav. *Nature*, 1995, **374** (6521): 467~ 470
- 7 Darnell J E. Reflection on STAT3, STAT5 and STAT6 as fat STATs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (13): 6221~ 6224
- 8 Zhang X, Blenis J, Li H L *et al.* Requirement of serine phosphorylation for formation of STAT-promoter complexes. *Science*, 1995, **267** (5206): 1990~ 1994
- 9 Maki K, Sunaga S, Komagata Y *et al.* Interleukin 7 receptor-deficient mice lack $\gamma\delta$ T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (14): 7172~ 7177

- 10 Disanto J P, Guy-Grand D, Fisher A *et al.* Critical role for the common receptor γ chain in intrathymic and peripheral T cell selection. *J Exp Med*, 1996, **183** (3): 1111~ 1118
- 11 Macchi P, Villa A, Gillani S *et al.* Mutation of JAK3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature*, 1995, **377** (6544): 65~ 68
- 12 Meydan N, Grunberger T, Dadi H *et al.* Inhibition of acute lymphoblastic leukaemia by a JAK2 inhibitor. *Nature*, 1996, **379** (6566): 645~ 648
- 13 Kanwar V S, Witthuhn B, Compana D *et al.* Lack of constitutive activation of JAKs and signal transduction and activation of transcription factors in Philadelphia Chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 1996, **87** (11): 4911~ 4912
- 14 Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A *et al.* Defective STAT signalling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (13): 6231~ 6235

Cytokine Receptor Superfamily and Its Role in Signal Transduction. HE Ping, TANG Zhaoyou (*Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China*).

Abstract The cytokine receptor superfamily and its role in mediating new pathways of signal transduction become more attractive than ever. The structural properties of cytokine receptors, the effects of Janus kinases, the activation of STAT and Ras protein and the relationship between the abnormality of signal transduction and the clinical diseases have been reviewed. This may help to correctly understand the biological effects of cytokines.

Key words cytokine, cytokine receptor, signal transduction, tyrosin kinase

反相胶束体系中的酶学研究

朱 浩 施 鼐

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

范映辛 周筠梅¹⁾

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 反胶束是新的酶学研究体系，酶在反胶束体系中的性质与在水溶液中相比有较大区别。评述了

¹⁾通讯联系人。 收稿日期: 1997-03-19, 修回日期: 1997-08-01

反胶束体系的性质及酶在其中的催化活性及构象变化, 讨论了影响酶活性及构象变化的各种因素, 并简单介绍了反胶束酶学研究及应用的最新进展.

关键词 反胶束, 表面活性剂, 酶

学科分类号 Q55

在生物体中, 酶在特定的微环境中起作用, 而传统的体外酶学实验都是在水溶液介质中进行的. 许多酶被从生物体中提取出之后, 它们的特性总会有不同程度的改变, 例如活性、专一性、催化反应动力学机理及稳定性等. 因此, 人们希望得到一种类似于生物体内微环境的介质, 研究酶在其中的性质与构象变化, 并与在水溶液中的研究结果相比较. 在此基础上, 反胶束的酶学研究便发展起来.

酶在反胶束体系中具有催化活性的报道始于 1952 年, Hanahan 等^[1]研究了磷脂酶在缩醛磷脂酰胆碱/醚的体系中的催化活性. 但是, 在有机溶剂能导致酶的变性与失活这一传统观念的影响下, 酶在反胶束体系中的研究进展十分缓慢. 直到 1977 年, Martinek 等^[2]研究了胰凝乳蛋白酶在丁二酸二辛酯磺酸钠 (AOT) 反胶束体系中的性质, 这是关于反胶束酶学的正式研究报道. 进入 80 年代以后, 反胶束体系中的酶学研究取得了较大的进展, 特别是近几年来, 这方面的研究更为活跃.

1 反相胶束体系的形成

表面活性剂溶解于有机溶剂, 能够增溶一定量的水, 随水/表面活性剂/有机溶剂三相浓度的不同, 将形成由球状或圆柱状反胶束微粒组成的反相胶束体系. 反胶束体系的形成可用三相相图描述^[3] (图 1).

表面活性剂是同时具有亲水及亲油基团的两亲分子, 按其性质可分为阳离子型如溴化十六烷基三甲基胺 (CTAB), 阴离子型如丁二酸二辛酯磺酸钠 (AOT) 和非离子型的吐温 (Tween) 系列, 各种类型的聚氧乙烯醚类 (Brij) 表面活性剂及磷脂等^[4]. 常用的有机溶剂是六碳以上的直链及支链烷烃, 部分芳香族化合物及卤代烷类, 它们不与水互溶且化学性

质稳定^[4]. 有时为了进一步改进反胶束体系的物理化学性质, 需加入某种助表面活性剂, 例如苯酚、己醇和胆固醇等^[4].

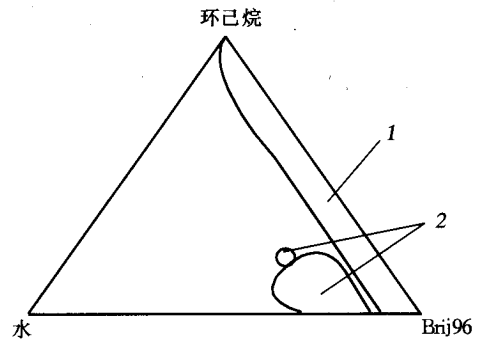


图 1 Brij 96/水/环己烷三相体系相图

1: 反胶束; 2: 中间过渡相.

每一种反胶束体系都具有一定的增溶水能力, 反胶束微粒的大小取决于增溶水量的多少和表面活性剂的浓度, 当两者之比一定时, 反胶束微粒的大小也保持一定. 反胶束体系的性质常用参数 ω_0 , θ 与 N 来表征^[3,5]. ω_0 为水与表面活性剂的摩尔比, ω_0 的大小决定反胶束微粒的大小. θ 是增溶水相对总体积的浓度, N 是组成每个反胶束微粒的表面活性剂分子个数, 也称聚集数. 当 ω_0 一定时, θ 与 N 决定了反胶束微粒的相对浓度.

反胶束作为酶学研究体系有以下主要优点:

a. 当表面活性剂, 水与有机溶剂比例适当时, 可自发形成均一、稳定的反胶束体系, 即反胶束微粒具有“自我组装” (self-assemble) 能力^[3].

b. 稳定的微环境, 当三相比例不变时, 每个反胶束微粒的大小、组成、结构相似, 且在宏观上可视为不变^[6].

c. 良好的物理化学性质, 体系澄清透明

且化学性质稳定, 大多数应用于水溶液的光谱学研究手段均可适用于反胶束体系^[6,7].

d. 酶的催化活性近似于水溶液中, 且反应机制类似, 米氏动力学基本适用^[3].

e. 酶能较长时间保持催化活性, 具有较高稳定性.

2 酶在反胶束体系中的催化活性

至今, 已报道有 50 余种酶在反胶束体系中具有催化活性^[3,4].

反胶束体系中的核心水团 (waterpool) 不同于溶液水 (bulk water), 包括自由水 (free water) 和结合水 (bound water)^[3]. 在 ω_0 较小时, 核心水团主要是结合水, 随 ω_0 增大, 自由水逐渐增加, 核心水团的微环境逐渐接近于水溶液. 酶分子与表面活性剂分子间的作用取决于酶分子与反胶束的性质. 酶分子可一定程度地附着于反胶束膜上, 有时甚至部分地伸出膜外^[8] (图 2). 在胶束中酶分子的构象受到反胶束微粒的限制, 结构运动的自由度相对较小^[6]. 酶在反胶束体系中的活性由以下三方面因素决定: 核心水团的大小, 表面活性剂的种类与反胶束微粒的浓度.

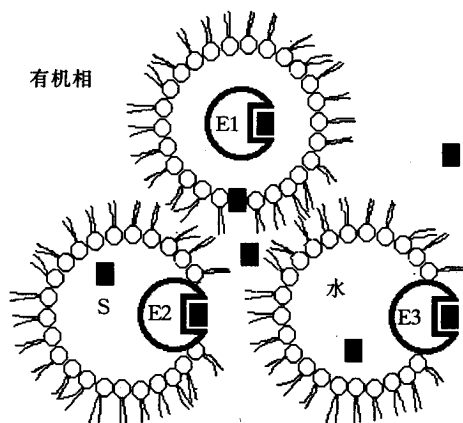


图 2 反胶束体系中酶分子可能的位置

E: 酶分子; S: 底物分子.

ω_0 是影响反胶束体系中酶活性的最重要参数. 随着 ω_0 的变化, 各种酶在反胶束体系

中的活性变化情况基本可归为以下四种 (图 3). a. 随 ω_0 的增大, 酶活性逐渐增大, 增大到一定值后基本不再变化^[9]. 这类酶分子一般位于核心水团中央, 与表面活性剂分子间基本没有相互作用. 当 ω_0 足够大时, 其活性近

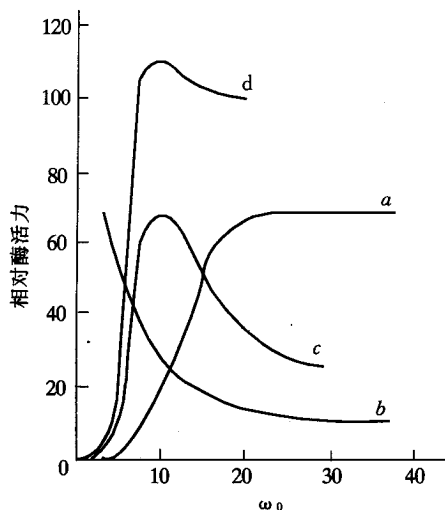


图 3 反胶束体系中 ω_0 对酶活性的影响

似于在水溶液中. b. 随 ω_0 的增大, 酶活性降低, 该类酶受到表面活性剂的变性作用. 当 ω_0 较低时, 酶分子结构活动的自由度小, 能维持类似于天然态时的构象, 保持一定的活性. 当 ω_0 增大时, 自由水分子增加, 酶分子结构活动自由度增大, 酶发生变性, 活性迅速降低^[4]. c. 酶活性与 ω_0 的关系呈现“钟罩型”曲线, 反胶束微粒的大小对酶活性影响较大, 核心水团大小合适时, 酶活性最大^[6]. d. 在合适的反胶束体系中, 一定的 ω_0 值时, 酶活性几倍、几十倍甚至上百倍于其在水中的活性, 即酶在反胶束体系中的“超活性”. 自从反胶束酶学研究开始以来, 超活性一直是酶在反胶束体系中研究的主要方面^[3,6]. 例如, 核糖核酸酶在反胶束体系中的活性相对于在水中略有增加^[10], 漆酶 (laccase) 约为水中的 60 倍^[11], 过氧化物酶约为水中的 100 倍^[8], 而酸性磷酸酶有约 200 倍的增加^[12]. 造成这种现象的因素是多方面的. Ruckenstein 等^[13]

提出由于底物分子增溶于反胶束体系的核心水团中, 而核心水团的体积相对整个体系来说仅仅是很小一部分, 所以当底物表观浓度相同时, 底物在核心水团中的实际浓度将大大高于其在水溶液中的浓度, 正是由于反胶束体系对底物的浓缩而引起酶的“超活性”. 近几年来, Garcia Carmona 等^[3]又提出是表面活性剂膜引起酶分子构象刚性增加, 和胶束中结构水 (structured water) 的特殊性质共同影响下造成的.

3 反胶束体系中酶催化反应的动力学研究

在反胶束体系中, 酶催化反应一般遵循米氏动力学, 但由于反胶束体系的组成相对于水溶液要复杂得多, 必须同时考虑核心水团、表面活性剂分子膜及有机溶剂对酶促反应的影响, 因此, 提出的模型也较为复杂.

从表面上看, 在反胶束体系中的酶催化反应与在水溶液中没有太大区别, 也就是说, 反胶束体系不能促进或阻碍反应中间态的形成. 但是, 在反胶束体系中对酶催化反应的稳态前动力学研究是很困难的, 所以, 目前仅采用稳态法来测定 K_m 与 k_{cat} 值^[14].

如果假定底物主要存在于核心水团中, 则底物浓度可有两种表示, 即表观浓度 (overall-concentration) 与水相浓度 (waterpool-concentration), 故 K_m 也有 $K_{m, overall}$ 与 $K_{m, waterpool}$ 之分, 由于对核心水团的直接研究较为困难, 大多数报道的是表观 K_m . 对于水溶性底物来说, 由于核心水团的体积很小, 底物被浓缩许多倍, $K_{m, overall}$ 比水溶液中的 $K_{m, bulk}$ 有所降低, 这似乎是可以预见的现象^[14]. 但是实际上在很多情况下, $K_{m, overall}$ 反而增加. 例如对于反胶束体系中的胰蛋白酶, 当表面活性剂与底物所带电荷相反时, $K_{m, overall}$ 比 $K_{m, bulk}$ 增大很多. 对于反胶束体系中的酶来说, 其 K_m 值与酶和反胶束的种类, 增溶水量都有关, 酶所表现出来的活性更接近于生物体环境. 此时决定酶活性大小的是能与酶分子接触的、能维持酶催化反应的底物量,

而不是总体系中底物的多少, 此时的 K_m 反映的也不仅是酶分子与底物之间的作用, 而且包括微环境对底物的影响^[14].

目前, 已报道多种反胶束体系中的酶催化反应动力学模型. 这些模型可归为扩散模型和非扩散模型两类, 其差别在于是否考虑扩散 (diffusion) 问题, 也就是底物分子与酶分子分处于不同反胶束微粒中是否会影响或阻碍酶催化反应的进行.

扩散模型中以 Verhaert 等^[15]提出的理论最为完整. 他们认为, 由于底物浓度远大于酶浓度, 底物与酶促反应产物均存在着不含酶分子与含有酶分子的反胶束微粒间的传送的问题, 即扩散问题, 这是维持酶催化反应所必需的, 而且扩散步骤是限速步骤. 因此, 该模型的核心是研究扩散步骤是如何影响酶催化反应的. 如果假定酶分子是位于反胶束微粒中央, 反应发生在酶分子表面, 且酶分子、底物与反应产物分子及反胶束微粒均被视为刚性分子, 利用该模型, 可求得底物与反应产物的扩散常数.

近几年, 非扩散模型更为流行. 研究表明, 反胶束体系处于不停的运动状态, 反胶束微粒之间的碰撞频率为每秒 $10^9 \sim 10^{11}$ 次, 而且, 反胶束微粒中的增溶物在频繁地进行着交换. 亲水性底物分子的交换速率为每秒 $10^6 \sim 10^8 \text{ mol}^{-1}$ ^[3], 即每 1 000~ 10 000 次碰撞能引起一次增溶物的交换, 对于亲油性底物分子, 交换速率还要大得多. 已远大于酶催化反应速率, 因此, 在非扩散模型中, 认为扩散问题不是影响酶催化反应速率的主要因素, 有时可以忽略. 非扩散模型可对反胶束体系中酶催化反应的一些特殊现象, 例如超活性, k_{cat} 的钟罩型曲线等作出合理解释^[14].

拟相模型 (pseudophasic model) 是反胶束体系中酶催化反应非扩散模型的一个范例^[14]. 适用于扩散作用可以完全被忽略的酶催化反应, 该模型将反胶束体系视为由连续的平衡拟相组成的平衡态, 酶及底物的表观浓度是各个平衡拟相的浓度之和. Garcia Carmona 等^[9, 16]

认为,反胶束体系可以分为有机溶剂、表面活性剂、结合水和自由水四种平衡拟相,酶在每种平衡拟相中的活性之和即为酶的表现活性.该模型的主要问题是需要考虑酶^[16]和底物^[9]在这四种平衡拟相中的浓度和这四种平衡拟相各自的体积,因此,需要求得酶和底物在每一种平衡拟相中的分配常数.

4 酶在反胶束体系中的构象

在反胶束体系中酶分子受到束缚,运动性较小,除此以外,人们更关心的是酶分子的二级与三级结构在反胶束体系中的变化以及这些变化与酶活性之间的关系.因此,需要有直接而有效的手段来研究反胶束微粒中的酶分子.

酶分子在反胶束体系中的构象变化取决于表面活性剂的种类、增溶水量的多少及酶分子本身的性质等因素.各种光谱学方法都可用于反胶束体系中酶结构的研究.远紫外区圆二色光谱(far UV-CD)的研究结果表明,反胶束体系中许多酶远紫外区的椭圆度值增加,表明其 α 螺旋, β 折叠等二级结构增加^[17,18],但有的酶保持不变或减少^[19].在近紫外区,谱图有时变化很大,也有时与水溶液中相近.

内源荧光光谱法也是常用的结构研究手段.蛋白质的生色残基色氨酸和酪氨酸属疏水氨基酸,一般处于相对疏水的蛋白质内核.但有时比较外露,此时内源荧光发射波长红移.在反胶束体系中有些蛋白质的荧光光谱发生蓝移^[17,18],可能是相对暴露的生色氨基酸增溶于表面活性剂的疏水层所致.增溶水量越小,蓝移越明显.

溶菌酶在反胶束体系中的构象与在水溶液相比有较大不同,而且在不同的反胶束体系中,溶菌酶的构象也不尽相同.从圆二色谱的变化可以看出,该酶表现活性的大小与构象之间存在着一定的联系^[17].

对于酶在反胶束体系中的构象,传统的研究方法都存在一定缺陷,主要的问题是大部分表面活性剂及有机溶剂在紫外区有吸收,妨碍测定的准确性.近年来傅里叶变换红外光谱

等^[10,20]实验方法被应用于反胶束酶学研究,增加了测定的准确性.

5 pH 值对反胶束中酶行为的影响

作为一种近似非水体系,pH 值是影响酶在反胶束体系中性质的一个重要因素.由于酶分子所处微环境的 pH 值决定了其所带电荷的种类,所以 pH 值不仅决定了酶在反胶束体系中的溶解能力,而且 pH 值的变化也可能引起酶分子与反胶束膜之间作用的改变.

相转移法将酶增溶于反胶束体系^[7]是反胶束在酶学研究中的应用基础(图4).当采



图4 相转移法

用阴离子表面活性剂时,若两相 pH 值低于酶蛋白的等电点,酶分子带正电,将受到由带负电的表面活性剂分子组成的反胶束微粒的静电吸引作用,因此酶很容易溶于胶束相.若 pH 值高于酶蛋白的等电点,则酶分子因带负电受到静电排斥作用而不能进入胶束相.此时,若采用阳离子表面活性剂,带负电的酶分子很容易进入带正电的胶束相^[6].因此,通过控制 pH 值进而控制酶在反胶束体系中的溶解以达到酶的分选效果,是反胶束在酶学研究中的重要应用.

大多数酶在反胶束体系中的活性随 pH 值变化呈“钟罩形”曲线^[4,10,21],即有一最佳 pH 值,此时酶表现活性最大,这与在水溶液中的情况类似.以往在反胶束的酶学研究中都将增溶水溶液的 pH 值假定为核心水团的 pH 值,但新近的研究表明^[22],当弱电解质(例如长链脂肪酸和某些酶蛋白)溶于反胶束体系

中时, 将会导致反胶束体系 pH 值的显著变化. 所以, 考虑增溶物的不同, 有必要对反胶束体系中 pH 值的变化以及随之引起的酶性质的改变作进一步的研究. 但是, 反胶束体系中 pH 值的测定是极为困难的, 这在很大程度上影响了这方面工作的进展.

Fuji 及 Walde 等曾先后将酚红、溴甲酚紫等较特殊的 pH 指示剂用于反胶束体系中 pH 值的测定, 但是 Rodkiewicz Nowak 等^[21]的最新研究表明, 该类 pH 指示剂并不能真实反映反胶束体系中的 pH 值. 至今为止, 诸多研究方法中得到认可的只有通过增溶缓冲液中磷原子的核磁共振的变化来标定反胶束体系的 pH 值^[21], 但这一方法也有缺陷, 它不适用于和磷酸根离子有作用的阳离子表面活性剂及部分非离子表面活性剂.

6 应用与展望

迄今反胶束体系主要用于以下几方面的研究及应用. 首先, 应用于对脂肪酶的研究^[5, 18]. 大部分脂肪酶是水溶性酶, 但其亲脂性的底物在水中溶解度很小, 因此, 脂肪酶在水溶液中表现活性较低. 而在反胶束体系中, 脂肪酶分子可稳定地存在于核心水团中, 底物则能大量溶于有机溶剂或附着于表面活性剂膜上, 通过传送作用与酶分子接触并发生反应, 有时也可将底物本身作为反胶束. 因此, 脂肪酶在反胶束体系中表现出大大高于在水中时的活性. 其次, 反胶束是一个有序的体系, 可通过调节增溶水量的多少来控制反胶束微粒的大小. Martinek 等^[5]提出“超微区域化作用 (nanocompartmentalization)”, 认为反胶束体系是研究寡聚酶的理想环境, 可以通过控制反胶束微粒的大小来控制酶的亚基聚合, 研究酶在不同聚合态下的性质. 进入 90 年代以来, 反胶束体系被广泛应用于一些酶的提取和纯化过程^[6]. 将反胶束体系与酶的培养基或粗提液混合, 通过调节两相的 pH 值及离子强度, 使酶分子进入反胶束相, 然后, 采用相同的方法进行反萃取, 可达到相当好的分离纯化效

果. 例如, Zamarro 等^[23]报道了采用 AOT 反胶束体系从小麦麦秆水解培养基中分离纤维素分解酶, 得到了很好的效果.

由于对大多数酶在反胶束体系中的构象及反应机制的研究还不太透彻, 反胶束酶学作为一个新兴的研究领域, 其实际应用目前尚处于探索阶段, 不过可以预见, 随着酶在反胶束体系中研究的进一步深入和酶学研究方法的不断发展完善, 反胶束酶学在应用化学、有机合成、临床分析、生物能的转换及其他应用方面均会有十分广泛的应用前景.

参 考 文 献

- 1 Hanahan D J. The enzymatic degradation of phosphatidylcholine in diethyl ether. *J Biochem*, 1952, **195** (1): 199~206
- 2 Martinek K, Leavashov A V, Klyachko N L *et al.* Catalysis by watersoluble enzymes in organic solvents stabilization of enzymes against the denaturation (inactivation) when they are included in inverted micelles of surface active substance. *Dokl Akad Nauk SSSR*, 1977, **236** (2): 920~ 923
- 3 Sanchez-Ferrer A, Garacia-Carmona F. Biocatalysis in reverse self-assembling structures: Reverse micelles and reverse vesicles. *Enzyme Microb Technol*, 1994, **16** (5): 409~ 415
- 4 Luisi P L, Giomini M, Pilemi M P *et al.* Reverse micelles as hosts for proteins and small molecules. *Biochim Biophys Acta*, 1988, **947** (1): 209~ 246
- 5 Matzke S F, Creagh A L, Haynes C A *et al.* Mechanisms of protein solubilization in reverse micelles. *Biotechnol Bioeng*, 1992, **40** (1): 91~ 102
- 6 Martinek K, Leavashov A V *et al.* Micellar enzymology: its relation to membranology. *Biochim Biophys Acta*, 1989, **981** (2): 161~ 172
- 7 Luisi P L, Steinmann-Hofmann B. Activity and conformation of enzymes in reverse micellar solutions. *Methods Enzymol*, 1987, **136** (1): 188~ 216
- 8 Martinek K, Leavashov A V, Klyachko N L *et al.* Colloidal solution of water in organic solvents: A microheterogeneous medium for enzymatic. *Science*, 1982, **218** (4575): 889~ 891
- 9 Bru R, Sanchez-Ferrer A, Garacia-Carmona F. The effect of substrate partitioning on the kinetics of enzymes acting in reverse micelles. *Biochem J*, 1990, **268** (3): 679~ 684
- 10 Huang W, Li X F, Zhou J M *et al.* Activity and conformation of bovine pancreatic ribonuclease A in reverse micelles formed by dodecylammonium butyrate and water in cyclohexane. *Colloids Surfaces B*, 1996, **7** (1): 23~ 29
- 11 Pshezhsky A V, Klyachko N L, Pepaniyan G S *et al.* Modelling of membrane environment of enzymes: Superactivity of laccase entrapped into surfactant reversed micelles in

- organic solvents. *Biokhimiya*, 1988, **53** (2): 1013~ 1016
- 12 Leavashov A V, Klyachko N L, Pshchetsky A V *et al.* Superactivity of acid phosphatase entrapped into surfactant reversed micelles in organic solvents. *Dokl Akad Nauk SSSR*, 1986, **289** (3): 1271~ 1274
- 13 Ruckenstein E, Karpe P. On the enzymatic superactivity in ionic reverse micelles. *J Colloid Interface Science*, 1990, **139** (2): 408~ 436
- 14 Bru R, Sanchez-Ferrer A, Garaciá-Carmona F. Kinetic models in reverse micelles. *Biochem J*, 1995, **310** (3): 721~ 739
- 15 Verhart R M D, Hilhorst R, Vermue M *et al.* Description of enzyme kinetics in reversed micelles. *Eur J Biochem*, 1990, **187** (1): 59~ 72
- 16 Bru R, Sanchez-Ferrer A, Garaciá-Carmona F. Atheoretical study on the expression of enzymic activity in reverse micelles. *Biochem J*, 1989, **259** (2): 355~ 361
- 17 Steinmann B, Jackle H, Luisi P L. A comparative study of lysozyme conformation in various reverse micellar systems. *Biopolymers*, 1986, **25** (6): 1133~ 1156
- 18 Brown E D, Yada R Y, Maragoni A G. The dependence of the lipolytic activity of rhizopus arrhizus lipase on surfactant concentration in aerosol-OT/isooctane reverse micelles and its relationship to enzyme structure. *Biochim Biophys Acta*, 1993, **1161** (1): 66~ 72
- 19 Wolf P, Luisi P L. Micellar solubilization of enzymes in hydrocarbon solvents enzymatic activity and spectroscopic properties of ribonuclease in n-octane. *Biochem Biophys Res Commun*, 1979, **89** (1): 209~ 217
- 20 Chang Q L, Liu H Z, Chen J Y. Fourier transform infrared spectra studies of protein in reverse micelles: effect of AOT/isooctane on the secondary structure of α -chymotrypsin. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1206** (2): 247~ 252
- 21 Rodakiewicz-Nowak J, Maslakiewicz P, Haber J. The effect of linoleic acid on pH inside sodium bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate reverse micelles in isooctane and on the enzymic activity of soybean lipoxygenase. *Eur J Biochem*, 1996, **238** (2): 549~ 553
- 22 Walde P, Mao Q, Bru R *et al.* pH artifacts in reverse micellar enzymology: A warning. *Pure Appl Chem*, 1992, **64** (11): 1771~ 1775
- 23 Zamarro M T, Domingo M J, Ortega F *et al.* Recovery of cellulolytic enzymes from wheat-straw hydrolysis broth with dioctyl sulphosuccinate/isooctane reverse micelles. *Biotechnol Appl Biochem*, 1996, **23** (2): 117~ 125

The Enzymological Researches in Reverse Micellar Systems. ZHU Hao, SHI Nai (*Department of Technical Physics, Peking University, Beijing 100871, China*); FAN Ying-xin, ZHOU Jun-mei (*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*).

Abstract Reverse micelles are new systems for enzymatic researches. Enzymatic properties in reverse micellar systems are different from that in aqueous buffer. The properties of reverse micellar systems and the changes of enzymatic activity and structure in reverse micelles are reviewed and the factors which affect enzymatic properties in reverse micelles are also discussed. Finally, the new progress in enzymological researches and applications of reverse micellar systems are described.

Key words reverse micelles, surfactant, enzyme

植物抗冻蛋白研究进展*

卢存福¹⁾ 王红 简令成 匡廷云

(中国科学院植物研究所, 北京 100093)

摘要 抗冻蛋白 (AFPs) 最初是从极区海鱼中发现的一种适应低温的特异蛋白质, 它能阻止体液内冰核的形成与生长, 维持体液的非冰冻状态. 对近年来植物 AFPs 的发现过程, AFP 的生化特性, 抗冻作用机制, 抗冻蛋白基因工程及其应用前景等作了系统的综述.

* 中国博士后科学基金资助项目. ¹⁾ 现通讯地址: 北京林业大学生物中心, 北京 100083.

收稿日期: 1997-01-17, 修回日期: 1997-12-28