

# 神奇的生物酶——旋转分子马达

郑燕 展永 韩英荣 杨明建 高秀军

生命是美丽的,美丽因生命而存在,生命因美丽而永恒。生命科学以其特有的魅力吸引人们参与到对它的研究中来,研究生命科学、向生命学习将是本世纪生命科学研究的特点。

众所周知,ATP(三磷酸腺苷)作为生物体内的能量货币,其合成作用是生物世界中最普遍的化学反应,其水解反应所释放的能量为系统提供了驱动力,使得分子马达沿着轨道做定向运动。到目前为止,人类制造的任何一部宏观机器都无法同分子马达运动的连续性、高效性以及运动中各个部分所表现出的协调性相比。分子马达的运行机制链接了细胞内化学能与机械能的相互转化,马达独特的做功原理及能量转换机制已成为分子生物学、物理学、生物化学等诸多学科中最引人注目的课题之一,并会在相当长时间里成为多学科共同面对的一个极具挑战性的研究领域。

生命活动与体内的运输过程密切相关,像我们在宏观层次中用到的热机一样,生物体内也存在许多具有马达功能的微观“机器”——分子马达(molecular motor),又称马达蛋白(motor protein)。物理机械意义上的马达是指将其他形式能量转化为机械能的机器,生物学上的分子马达是指将化学能直接转换为机械能的酶蛋白大分子。

到目前为止,人们发现的分子马达已有上百种,从运动形式上可以分为两大类:线性马达和旋转马达。其中线性推进式分子马达将化学能直接转化为机械能,使马达分子自身沿一条线性轨道定向移动。目前了解比较深入的主要有:(1)肌球蛋白马达(myosin),主要存在于肌肉纤维和真核细胞内,它们在肌动蛋白纤维上运动,执行肌肉收缩、细胞内物质运输和细胞物质形态改变等功能;(2)驱动蛋白马达(kinesin),主要存在于真核细胞内,它们沿着微管运动,负责运送细胞器和细胞小泡,并参与细胞的有丝分裂;此外,DNA解旋酶和RNA聚合酶等也属线性分子马达。旋转分子马达,主要包括ATP合酶、细菌鞭毛以及各种门马达,它们也是通过水解ATP把化学能直接转化为机械能,不过其结构更符合“马达”的名称,因为它们就像马达一样,由一个定子与

一个转子组成,依靠定子和转子之间的旋转运动完成马达的做功过程。较典型的旋转分子马达是ATP合酶,全称为 $F_0F_1$ -三磷酸腺苷酶,它广泛分布于线粒体、光合细菌、叶绿体中,是生物体内能量转换的核心酶。另外,还有结构比较复杂的细菌鞭毛马达,它们也很神奇!本文将重点讨论旋转分子马达这一最新研究热点。

## 一、ATP合酶马达

旋转分子马达由生物大分子构成,是合成ATP的关键蛋白,因为体积小、能量转化效率高,而且可以逆向运动,所以分子马达及纳米技术领域的研究者,都对“化学能直接转化为机械能”这一分子转换机制很感兴趣。作为典型的旋转分子马达, $F_1F_0$ -ATPase(即 $F_0F_1$ -三磷酸腺苷酶)可能是人类已知的、自然界最小的分子马达,其运转效率几乎接近100%。正如上文所述,如果把ATP比喻为细胞的“能量货币”,那么ATP合酶就是“印钞机”,因为ATP的合成最终是在ATP合酶的催化下完成的。保罗·布叶(Paul Boyer)在《我的ATP合酶研究之旅》中曾经指出,生物体内所有的酶都是美丽的,但ATP合酶是其中最美丽、最不寻常、最重要的酶之一。

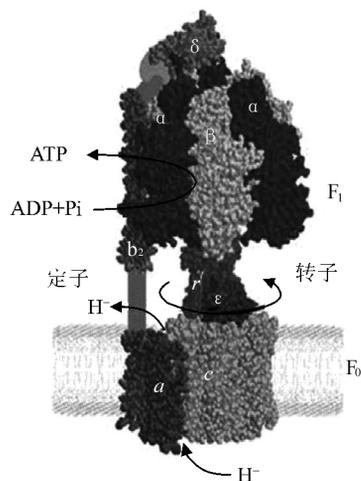


图1  $F_1F_0$ ATPase 结构图

旋转分子马达的结构分类 根据组成马达的各亚基在线粒体膜上的位置,旋转分子马达 $F_1F_0$ -ATPase可分为 $F_0$ 马达和 $F_1$ 马达(如图1所示),即由包含催化中心的 $F_1$ 头部和嵌入膜内的 $F_0$ 基部两

部分组成。ATP 合酶的  $F_1$  部分是一个水解与合成作用可逆的转动马达,它利用 ATP 水解释放出的能量,产生旋转的扭力矩。 $F_1$  马达由 3 个  $\beta$  亚基组成,各亚基分离时无酶活性、结合时有酶活性。根据 0.28 纳米分辨率的 X 射线晶体衍射分析证实,3 个  $\beta$  亚基和 3 个  $\beta$  亚基形成交替排列的六聚物,成一“橘子瓣状”圆球体结构,高 8 纳米,宽 10 纳米。每个  $\beta$  亚基和  $\beta$  亚基上都有核苷酸结合位点,但只有  $\beta$  亚基上的结合位点具有催化 ATP 合成或水解的活性,即 3 个催化区分别位于 3 个  $\beta$  亚基上。 $\beta$  亚基由螺旋 B 和螺旋 C 两部分组成。 $\beta$  和  $\beta$  亚基位于六聚物的中心空腔内,具有很强的亲和力,可以共同旋转,以调节 3 个  $\beta$  亚基上催化区的开放和关闭。 $\beta$  亚基具有抑制 ATP 水解活性的功能,同时它还能够堵塞离子通道、减少离子泄漏。 $\beta$  亚基是一个弯曲的双螺旋结构,形成一个不对称的轴,它的上半部分偏离中心,处于“被拖动”位置,下半部分处于中心位置,起到“支撑”作用。轴上有一个偏离中心的最远点,即 MEP(the most eccentric point)点,它决定 ATP 结合到哪一个  $\beta$  亚基上,同时也决定  $F_1$  马达的旋转方向。轴上有两个开关分别为开关 1 和开关 2,开关 1 控制 ATP 结合到催化区,开关 2 控制磷酸( $P_i$ )的释放。

根据组成马达的各亚基在旋转运动上的差异,ATP 合酶还可分为定子和转子两部分,定子部分由 a 亚基、b 亚基二聚体、 $\beta$  亚基、3  $\beta$  亚基、3  $\beta$  亚基( $\beta_2$  3  $\beta_3$ )组成,转子部分由  $\beta$  亚基、 $\beta$  亚基、C 亚基 12 聚体( $C_{12}$ )组成。在转子的 C 亚基组成的圆盘侧面上有 12 个离子结合位点,每个位点由 3 个电荷组成,总体表现负电性,只有  $H^+$  在定子之中或临近定子的结合位点才会对转子的运动产生影响。当 C 亚基上结合位点与跨膜  $H^+$  结合时,这个位点和离子一起可看作是一个偶极子,其中性化程度很强,能够通过定子和转子的疏水接触面,最终完成  $H^+$  的跨膜运输。

旋转分子马达的运行机制和合成过程 对于 ATP 合酶的运行机制,1979 年保罗·布叶提出构象耦联假说,其要点如下。

(1) 合酶利用质子动力势(由于膜两端  $H^+$  浓度的差异而产生的电势差),产生构象的改变,改变与底物(底物通过与酶结合发生催化作用)的亲和力,催化二磷酸腺苷(ADP)与  $P_i$  形成 ATP。

(2)  $F_1$  具有 3 个催化位点(酶的活性部位),但在任一确定的时间,3 个催化位点的构象不同,与核苷酸的亲和力也就不同。在 L 构象(loose,核苷酸疏松结合构象)时,ADP、 $P_i$  与酶结合疏松;在 T 构象(tight,核苷酸紧密结合构象)时,底物(ADP、 $P_i$ )与酶结合紧密;而在 O 构象(open,核苷酸未结合构象)时,ATP 与酶的亲和力很低,ATP 被释放出去。

(3) 质子通过  $F_0$  时,引起 C 亚基构成的环旋转,从而带动  $\beta$  亚基旋转,由于  $\beta$  亚基的端部是高度不对称的,它的旋转引起  $\beta$  亚基 3 个催化位点构象的周期性变化(L、T、O),不断将 ADP 和  $P_i$  结合在一起,形成 ATP。

1999 年,日本的吉田(Massasuke Yoshida)等人将 3 个  $\beta$  亚基固定在玻片上,将  $\beta$  亚基的顶端与荧光标记的肌动蛋白纤维相连接,3 个  $\beta$  亚基在含有 ATP 的溶液中反应时,通过显微镜观察到  $\beta$  亚基带动肌动蛋白纤维在旋转。这一实验支持了构象耦联假说。

从合成过程来看,合酶中穿过  $F_0$  的质子转化为扭力矩,推动位于  $F_0$  和  $F_1$  间的“转子”和  $\beta$  亚基旋转,在  $F_1$  马达上合成 ATP;合酶也可通过  $F_1$  水解 ATP 释放出的能量驱动  $F_0$  转动,实现能量转化。下面以水解 ATP 为例,介绍  $F_1$  马达的运行机制。

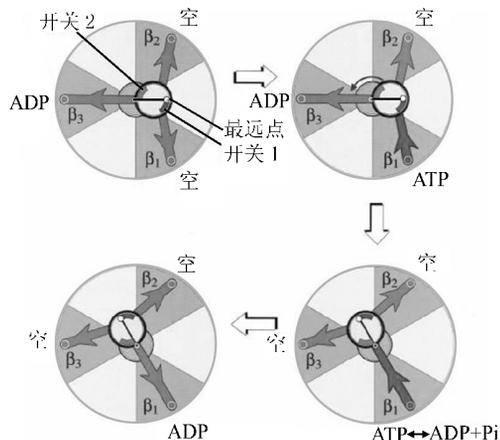


图 2 三个  $\beta$  亚基旋转催化结合示意图

当膜内 ATP 浓度较高时, $F_1$  马达利用水解 ATP 的能量推动轴旋转,进而使转子转动,在这个过程中  $F_1$  马达起到了离子泵的作用,将膜内离子运输到膜外;当膜内 ATP 浓度较低时,在跨膜离子势的作用下合成 ATP。工作过程中,各亚基之间相当完美地协调运动,形成一个精密的合作体系。设 1、2、3 这 3 个亚基的催化位点分别处在空(不包含核苷酸)、空和 ADP +  $P_i$  的状态(如图 2 所示),此

时轴上的开关 1 与  $\alpha_1$  亚基的催化位点相互作用,使 ATP 与  $\alpha_1$  亚基结合的概率比与  $\alpha_2$  亚基高得多;开关 2 与  $\alpha_3$  亚基的位点相互作用,在轴旋转之前,阻止  $\alpha_3$  亚基上磷酸盐的释放。由于开关 1 的作用,ATP 到达  $\alpha_1$  亚基的催化位点,开始形成了一个所谓的绑定结合链(Binding Zipper)模型。核苷酸与绑定位点之间的氢键一个接一个地形成,绑定力逐渐增强,催化位点逐渐关闭,导致  $\alpha_1$  亚基的 C 亚基和 B 亚基相互靠拢;当绑定过程完成时,催化区和  $Mg^{2+} \cdot ATP$  之间共产生 15 ~ 20 个氢键;在此过程中,如果假设每个氢键的键能都相等,则  $\alpha_1$  亚基形变产生的力几乎是恒定的,这个力推动轴,使开关 1 向  $\alpha_2$  亚基的方向转动;这就是  $\alpha_1$  亚基的第一做功冲程(primary Power stroke,简称 PS1)。绑定过程中产生的自由能,一部分用来完成  $\alpha_1$  亚基的 PS1,通过 PS1 推动轴转动,另一部分使  $\alpha_1$  亚基产生形变,以弹性势能的形式存储在  $\alpha_1$  亚基中,大约为  $24 K_B T$  ( $K_B T$  为能量单位,其中比例常数  $K_B$  为玻尔兹曼常数、 $T$  是绝对温度)。随着绑定过程的完成,催化位点上的 ATP 水解为 ADP 和  $P_i$ ,放出能量,并且使 ADP 和  $P_i$  之间的静电作用点暴露出来,从而产生静电排斥作用;由于在水解 ATP 的过程中,水解产物的解离是靠氢键作用支持的,氢键本身具有很强的方向性,一点点的错位都会导致绑定能量锐减;放出的能量和水解产物的静电排斥作用足以使氢键改变方向而导致绑定能量的减小,整个过程使得绑定的能量降低了  $8 \sim 9 K_B T$ ,从  $24 K_B T$  降到  $15 \sim 16 K_B T$ 。水解完后,这剩下的  $15 \sim 16 K_B T$  的能量被 ADP 和  $P_i$  均分,所以两个水解产物都相当于被一个  $7 \sim 8 K_B T$  的能量势阱所束缚。

与此同时,随着轴的转动,阻碍  $\alpha_3$  亚基水解产物释放的开关 2 离开  $\alpha_3$  亚基向  $\alpha_1$  亚基的催化位点附近转动,热波动足以使  $\alpha_3$  亚基中的 ADP 和  $P_i$  不再与催化位点相结合 ( $7 \sim 8 K_B T$  的能量势阱)而被迅速释放出来,同时储存在  $\alpha_3$  亚基中的弹性势能也就释放出来,产生了  $\alpha_3$  亚基的第二做功冲程(secondary Power stroke,简称 PS2)。 $\alpha_3$  亚基回复到不包含核苷酸时所处的状态,在此过程中拉动轴,使开关 1 向  $\alpha_2$  亚基的方向转动,整个过程轴转过  $120^\circ$ 。此时,轴上的开关 1 转到  $\alpha_2$  亚基的催化位点附近,使得  $\alpha_2$  亚基与 ATP 结合的概率比与  $\alpha_3$  亚基高得多;开关 2 到了  $\alpha_1$  亚基催化位点附近,阻止

住其中水解产物的释放。随着  $\alpha_2$  亚基与 ATP 相结合,新的循环即将开始。

## 二、细菌鞭毛马达

许多细菌都有鞭毛,数量从 1 ~ 2 根到上百根不等,鞭毛马达在细菌鞭毛的结构与功能中起着核心作用,每根鞭毛受基底部的鞭毛马达驱动而旋转,从而推动细菌胞体。和一般的马达酶蛋白不同,鞭毛马达的旋转不以 ATP 为能量,其驱动力来自跨膜的  $H^+$  (在有些情况下是  $Na^+$ ) 电化学势能,由  $H^+$  (或  $Na^+$ ) 的跨膜流动引起鞭毛旋转。鞭毛马达的结构,目前已基本研究清楚,主要由 Mot A、Mot B、Fli G、Fli M 和 Fli N 这 5 种蛋白组成定子和转子。鞭毛马达是一种非常奇妙的分子机器,其转速可高达每分钟 10 万转,可使细菌每秒前进数百微米;它既可顺时针旋转,又可逆时针旋转。鞭毛马达可作为研究分子旋转马达的理想模型,对其深入研究将有助于认识生物能量转化利用及细胞运动的机制。

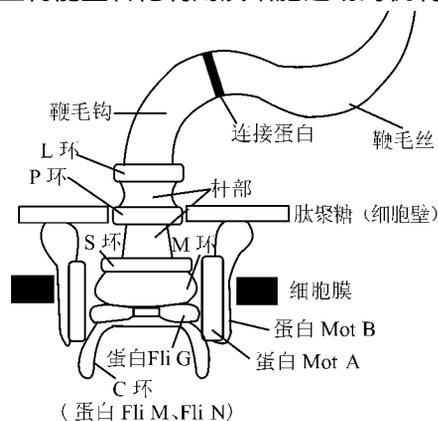


图 3 细菌鞭毛结构简图

在鞭毛结构中协助旋转力矩产生的部分称为鞭毛马达。各种遗传学、生物化学和形态学分析表明,在大肠杆菌或伤寒沙门氏菌的鞭毛组装和运行所需的 50 余种蛋白质中,只有上文提到的 5 种蛋白与鞭毛马达的力矩密切相关,鞭毛装置的大致结构可用一个简图来表示(如图 3 所示)。Mot A 和 Mot B 是跨膜蛋白,二者共同组成质子通道。Mot A/Mot B 复合体构成马达中的非旋转部分,即定子。基因间的抑制分析和超微结构研究表明,Fli G、Fli M 和 Fli N 在鞭毛基底部形成一个功能复合体,称为切换复合体,又叫 C 环。现在已经知道,切换复合体有三个功能:确定鞭毛的旋转方向、参与鞭毛的组装、协助产生鞭毛马达的力矩。因此切换复合体构成了马达的转子,与 M 环周围的膜 Mot A/Mot B 复合体(定

子)一起,形成鞭毛马达。

细菌鞭毛马达是生物界中最早发现的旋转分子马达,它是细菌趋化系统的效应器(发生反应的部分),和其他旋转分子马达相比,鞭毛马达体积大,易于进行人工操作,因此对于细菌鞭毛马达的研究具有更加广泛的生物学意义。

### 三、分子马达研究现状及展望

分子马达的做功原理和能量转换机制是一个涉及物理、生物、化学等多种学科相互交叉的重要研究课题。旋转分子马达作为它的一个分支正日益受到重视,其结构和功能的研究是分子生物物理学的主要研究对象之一,近年来,旋转分子马达研究领域的新发现频频见诸期刊。2002年底,美国波士顿大学的化学家制出当时世界上最小的马达,该分子马达由78个原子构成。制备这个极小马达花费了科研人员4年的时间。波士顿大学的化学教授、在《自然》杂志上发表这一成就的首席作者罗斯凯迪说:“能够让一个分子像马达一样工作是非常奇妙的!”《自然》杂志还报道,荷兰和日本科学家研究的另一种由太阳能驱动分子马达,能在光照作用下连续不断地旋转。有专家指出:“分子马达可以为未来的纳米器件提供一种能量源泉。”

纳米技术领域的科学家们制造了很多微型器件,但是缺乏驱动它们的马达,分子马达的研究成果无疑将加快纳米技术的研究进展。2002年5月,美国佛罗里达大学教授谭蔚泓和助理研究员李建伟在分子马达研究领域取得新的突破,他们首次利用单DNA分子制成了分子马达,这一研究成果使得纳米器件向实用化方面又迈进了一步。这种分子马达在某一生物环境中的构象处于紧凑状态,但在生物环境发生变化后,又会变得松弛,通过在紧凑和松弛这两个状态之间进行转换,使分子做功,把一些小物体从一个地方搬运到另一个地方。实验证实,采用这一原理制造出的单DNA分子马达具有非常强的工作能力,可以像虫子一样伸展和卷曲,将生物反应能转变为机械能。但是,目前还很难预测分子量级的马达何时才能真正投入实用,这两位学者的下一步目标,就是要让单个DNA分子马达从真正意义上移动一个微小物体,并进一步提高其工作效率。

最近有关文章报道某个研究小组正在研制能够在人体细胞内进行自动装配的医疗设备,如果这种基于分子马达的技术足够成熟,便可以为病毒检测

提供新的途径。我们有理由相信,在不久的将来,某种混合型机器人将被用来修复人体细胞,对抗感染、输送药物、乃至用正常基因更换病变基因,书写现代医学史上新的篇章。目前科学家们正在利用更加先进的生物探测器技术,探索分子马达更多的秘密。我们期望获得更多有关旋转分子马达结构及运动的实验数据,以推动研究工作的进一步深入。随着理论模型的建立,对于分子马达的研究将有助于人们搞清生命中运动现象的机制,特别是在生物技术飞速发展的今天,我们可以根据分子马达的运动机制拓展一些新的设计思想,如制造纳米级的生物器件,更加有效地利用能源等等。充分挖掘分子马达在微观层次上的潜能,将使其更好地为人类服务。

(天津市河北工业大学理学院 300130)

两个等量异号的点电荷 $+Q$ 和 $-Q$ ,当它们之间分开的距离较讨论中所涉及的距离小得多时,这一对点电荷称为电偶极子,或简称偶极子。

构象指一个分子中,不改变共价键结构,仅改变单键周围的原子放置所产生的空间排布。一种构象改变为另一种构象时,不要求共价键的断裂和重新形成。

趋化系统指细菌向着某一化学物质刺激的方向移动的系统。

## 科苑快讯

具有金属性质的水又有新发现

最近,美国新墨西哥州圣地亚国家实验室(Sandia National Laboratories)的托马斯·马森(Thomas Mattsson)和迈克尔·狄加瑞(Michael Desjarlais)提出水在4000 K的高温和100 GPa的压力下呈现金属相,这是以前计算所难以想象的。

两位研究者利用密度泛函理论,首先计算温度在2000~70000 K、密度在 $1\sim 3.7\text{ g/cm}^3$ 时,水中离子和电子传导率的变化规律。计算表明,随着压力的增加,分子形式的水将转变为离子性液体,并在较高温度下开始导电,特别是温度高于4000 K、压力大于100 GPa时。这与以前提出的,分子形式的水在温度高于7000 K、压力大于250 GPa时转变为离子性液体,形成了鲜明对照。有趣的是,他们预言这种金属相存在于几乎绝缘的“超离子”冰中。“超离子”冰中的氧原子被固定住,而氢原子却可以自由运动。

巨型气体行星应该有条件形成具有金属性质的水,比如有这种温度和压力条件的海王星。

(高凌云编译自 CERN Courier,2006年第8期)