

旋转分子马达的代表——ATP 合成酶

韩英荣¹ 展 永¹ 关荣华² 卓益忠³

(¹ 河北工业大学理学院 天津 300130) (² 华北电力大学 保定 071003) (³ 中国原子能研究院 北京 102413)

所有生物的运动系统都与能量的输运有着密切的联系。这主要是由于具有马达功能的大分子蛋白质做功的结果, 这些蛋白质分子被称为分子马达或蛋白质马达。它们在体内占有特殊的地位, 是生命活动和生命现象的主要承担者。这些运动系统有一个共同的特点即 ATP(三磷酸腺苷) 水解释放的能量通过分子马达的构象变化可高效地将化学能转换为机械能。因此, 分子马达就起到了能量转换器的作用。分子马达的运动协调起来就产生了宏观的运动。但是, 这些运动如何协调起来产生生命现象和生命活动, 则需进一步研究。到目前为止, 人类已确定了上百种马达, 它们在机体内执行着各种各样的功能, 已经知道的分子马达有线性分子马达和旋转分子马达。目前, 人们研究较多的线性分子马达有沿肌动蛋白丝运动的肌球蛋白(Myosin), 沿微管运动的驱动蛋白(Kinesin) 和动力蛋白(Dynein)。旋转分子马达如 ATP 合成酶是合成 ATP 的关键蛋白, 人们对它的研究也越来越深入, 它的能量转化机制一直是最具吸引力的研究课题之一, 随着旋转分子马达 3 维结构的突破, 这个奥秘逐渐揭开。最近许多实验结果表明, 旋转分子马达可能是自然界发现的最小的分子马达, 其运转效率几乎接近 100%。

细胞生长代谢的整个过程需要能量, 在绝大多数情况下能量由 ATP 的高能键水解而获得。而 ATP 又是由 ATP 合成酶得到的。ATP 合成酶有时也被称为 F-ATP 合成酶, 它是一种旋转分子马达, 是合成 ATP 的基本场所, 也是生物体能量转化的核心酶。它广泛存在于线粒体内膜, 细菌的浆膜以及叶绿体的类囊体膜之中。这种马达参与氧化磷酸化和光合磷酸化, 在跨膜质子动力势的推动下催化合成 ATP。如果将 ATP 比喻为细胞内的能量货币, 则这种旋转分子马达应被比喻为制作货币的“印钞机”, 因为 ATP 的合成最终是在它的催化下完成的。由此可见, 这种旋转分子马达是合成能源物质 ATP 的关键物质。图 1 为 ATP 合成酶的分子结构。这种

蛋白质包括两部分: 可溶部分 F_1 及一个与膜结合部分 F_0 。不同来源的 ATP 合成酶基本上有相同的亚基组成和结构, 它们都是由多亚基组成。 F_1 部分由 5 种亚基组成, 分别是 α 、 β 、 γ 、 ϵ 这些亚基。 F_0 部分嵌在膜上, 是一个疏水蛋白复合体, 形成一个跨膜的离子通道, 由 a 、 b 和 c 3 种亚基组成。它还可以重新划分为转子($\gamma\epsilon_{12}$) 和定子($ab_2\delta\alpha_3\beta_3$) 两部分。

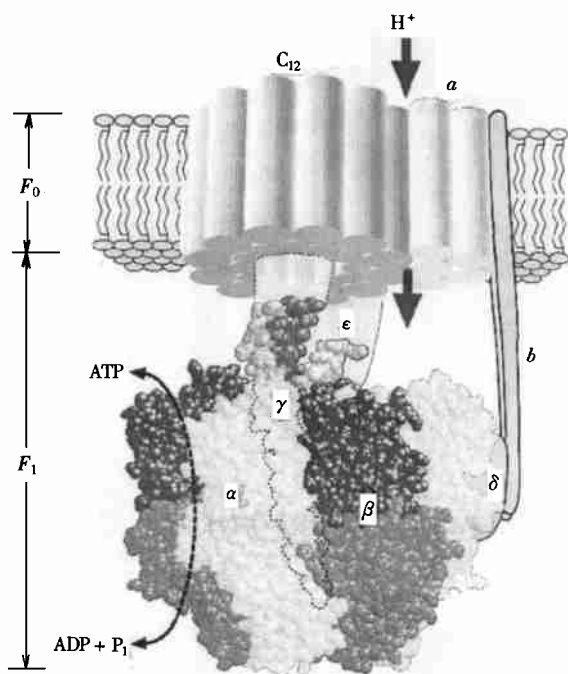


图 1 旋转分子马达的分子结构

ATP 合成酶的 F_1 部分是一个可逆的转动马达, 它利用 ATP 水解的能量产生旋转的扭力矩。1994 年沃克等发表了 0.28nm 分辨率的牛心线粒体 F_1 马达的晶体结构。这是目前在原子分辨率解出的最大的具有不对称结构的蛋白质。 F_1 马达由 3 α 、3 β 、 γ 、 ϵ 这些亚基组成。各亚基分离时无酶活性, 结合时有酶活性。根据 0.28nm 分辨率的 X 射线晶体衍射分析证实, 3 个 α 亚基和 3 个 β 亚基形成交替排列的六聚物, 成一个“瓣状”圆球体结构, 高 8nm, 宽

* 基金项目: 河北省自然科学基金项目(102001) 及河北省博士基金项目(B2001128 和 0054701D)

10nm。每个 α 亚基和 β 亚基上都有核苷酸结合点, 但只有 β 亚基上的结合点具有催化 ATP 合成或水解的活性, 即 3 个催化区分别位于 3 个 β 亚基上。 β 亚基由螺旋 B 和螺旋 C 两部分组成, 如图 2 所示。在六聚物的中心空腔内是 γ 和 ϵ 亚基, 它们具有很强的亲和力, 共同旋转以调节 3 个 β 亚基上催化区的开放和关闭。 ϵ 亚基有抑制 ATP 水解的活性, 同时还具有堵塞离子通道, 减少离子泄漏的功能。 γ 亚基是一个弯曲的双螺旋结构, 形成一个不对称的轴, 它的上部分偏离中心, 处于“被拖动”位置, 下部分处于中心位置, 起“支撑”作用。 γ 轴上有一个偏离中心的最远点, 即 MEP 点, 它决定 ATP 结合到哪一个 β 亚基上, 同时也决定 F_1 马达的旋转方向。 γ 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 p_i 的释放, 如图 2、3 所示。

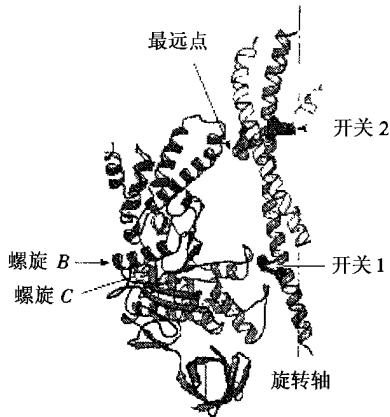


图 2 β 和 γ 亚基的结构

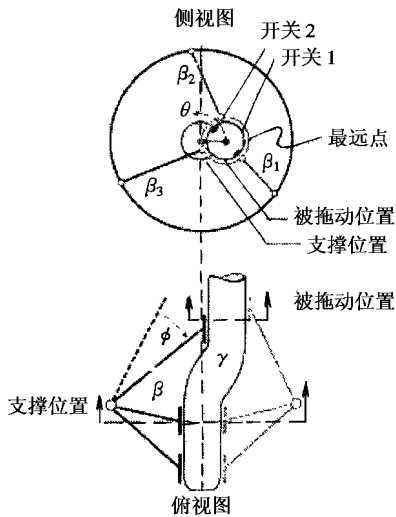


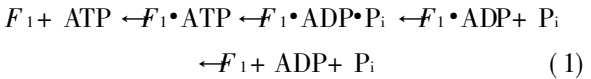
图 3 γ 亚基的俯视图和侧视图

F_1 马达的旋转, 是由于水解循环中 α 、 β 、 γ 亚基的构象变化。伴随着 ATP 结合到催化区上, 每一

个 β 亚基有一个链接的弯曲运动, 即上部分螺旋 B 相对于下部分螺旋 C 旋转弯曲 30° 。3 个 β 亚基连续的弯曲运动带动离心的 γ 轴旋转, 同时, 每个 β 亚基的每次弯曲运动使 γ 轴旋转 120° 。而 α 亚基仅仅随 β 亚基的运动略微改变它们的构象。

F_1 马达在水解过程中主要有两次自由能降低, 第一次降低发生在 ATP 结合到催化区, 第二次降低发生在 P_i 释放。这表明 F_1 马达在水解过程中发生两次做功冲击, 分别记为 PS_1 和 PS_2 , 且 $PS_1 > PS_2$ 。第一次做功冲击中, β 亚基的上部分螺旋 B 相对于下部分螺旋 C 旋转弯曲 30° , 同时 γ 旋转, β 弯曲储存弹性能。第二次做功冲击中将 PS_1 中储存在 β 亚基上的弹性能释放, β 亚基上螺旋 B 和 C 回到原来的相对位置。这就是说 ATP 结合到催化区产生的自由能有两种去向: (i) 直接使 β 弯曲, γ 旋转; (ii) 当 β 弯曲时将弹性能存储在 β 内。

一个催化区水解循环的全部反应如下:



上式中 ATP 的结合从弱到强, 我们将这一过程称为“结合链”。同时 ATP 结合到催化区后, 在催化区和 $Mg \cdot ATP$ 之间产生 15~20 个氢键, 如图 4 所示。

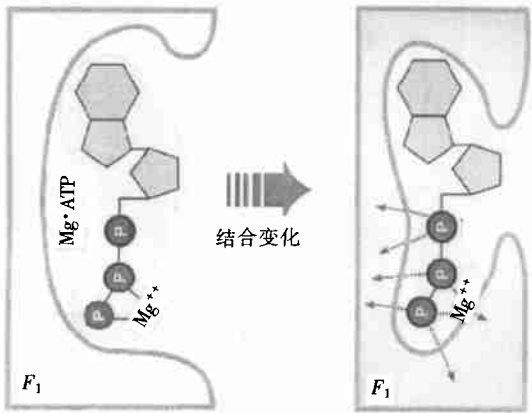


图 4 结合 ATP 后 F_1 的构相变化

F_1 马达的化学循环与力学循环要保持一致, 也就是说, β 弯曲与 γ 旋转是紧耦合。每个 β 亚基上的催化区都有 4 种可能的状态: Empty, ATP, $ADP \cdot P_i$, ADP。催化区占据的数目由 ATP 的浓度来决定。一般情况下, ATP 的浓度低时, 只有一个催化区被占据, 水解速率相应的很低。ATP 的浓度高时, 3 个催化区都被占据, 水解速率随之很高。ATP 结合到 β 亚基上发生构相变化, 带动 γ 亚基旋转, 旋转的方

向由 MEP 点的位置来决定,ATP 最有可能结合到 MEP 点后面的 β 亚基上。简单地说, F_1 马达每一圈分三步旋转, 每一步旋转 $2\pi/3$, 同时水解一个 ATP 分子。ATP 浓度高时, 从 ATP 水解循环到产生旋转的运动的能量转化效率接近 100%。它的高效率也就暗示着产生旋转的扭力矩接近常量。这种高效率的特点是其他蛋白质所没有的。

以上我们着重介绍了 ATP 的水解, 那么, ATP 是如何被合成的? 在 20 世纪 60 年代初, 英国生物化学家米切尔提出了化学渗透假说, 认为 ATP 合成过程中跨膜的质子动力势推动 ATP 合成酶催化合成 ATP。它的主要内容是: 呼吸链的各组分在线粒体内膜中的分布是不对称的, 当高能电子在膜中沿此呼吸链传递时, 所释放的能量将 H^+ 从内膜基质侧泵至膜间隙, 由于膜对 H^+ 是不通透的, 从而使膜间隙的 H^+ 浓度高于基质, 因而在内膜的两侧形成电化学质子梯度 ($\Delta\mu H^+$), 也成为质子动力势 (ΔP)。在这个梯度驱动下, H^+ 穿过内膜上的 ATP 合成酶流回到基质, 其能量促使 ADP 和 P_i 合成 ATP。质子动力势包括两部分: 一是膜内外 H^+ 浓度差 (ΔpH), 二是膜电位 ($\Delta \varphi$)。 ΔP 与 ΔpH 和 $\Delta \varphi$ 的关系如下:

$$\Delta P = \Delta \varphi - 2.3 \frac{RT}{F} \Delta pH \quad (2)$$

式中 R 为气体常数, T 为绝对温度, F 为法拉第常数。质子动力势的单位为 mV, 电化学质子梯度的单位为 J/mol 。化学渗透假说在当时成为氧化磷酸化机制中最为流行的一种假说, 但对于 ATP 合成酶如何具体合成 ATP 还不清楚。虽然化学渗透假说得到了许多实验结果的支持, 但目前不少科学家对它持有不同的看法, 随着研究工作的深入, 得出了与其矛盾的结果。

有关 ATP 合成酶的假说很多, 最引人注目的是 1993 年美国生化学家博耶提出的 ATP 合成酶的结合变化和旋转催化机制。经过 20 多年的研究, 博耶机制最近得到最新实验证据的支持。ATP 合成酶与核苷酸的结合是按照结合变化机制进行的, 即在任意时刻, 3 个 β 亚基的构象总是不同的, 与核苷酸的结合也不一样, 每个催化区与核苷酸的结合顺序经过 3 种构象状态: 紧密结合态(T 态)、松散结合态(L 态)和空置的状态(不与任何核苷酸结合的 O 态)。在 ATP 的合成过程中, 3 个 β 亚基的构象发生顺序改变, 每一个催化亚基要经过 3 次构象变化才催化

合成 1 个 ATP 分子。第一步, 随着酶的构象变化, 在催化区上结合的 ADP 和 P_i 由松散结合变为紧密结合; 第二步, 紧密结合的 ADP 和 P_i 被转化成 ATP; 第三步, 就是 ATP 的释放。这个模型描述了整个循环所经过的反应步骤, 其中整个循环的三步反应中每一步都涉及到酶的构象变化。

结合变化机制主要涉及的是 F_1 上的 3 个催化区在合成和水解 ATP 过程中的构象变化, 对于整个酶来讲, β 亚基上的催化区的构象变化主要靠 γ 亚基和 ϵ 亚基在催化过程中相对于 $\alpha_3\beta_3$ 的旋转运动来调节的。目前认为 ATP 的合成是按照旋转催化的模式进行的。以科利的 ATP 合酶为例, 质子在跨膜质子动力势的推动下, 进入 F_0 , 与 c 亚基结合, 导致 c 亚基构象发生变化, c 亚基极性环旋转同时与 $\gamma\epsilon$ 亚基结合; H^+ 从 c 亚基中释放出来, 同时 c 亚基极性环与 $\gamma\epsilon$ 亚基解离; F_0 上 H^+ 的转运积累到足够的扭力矩时, 推动 $\gamma\epsilon$ 相对于 $\alpha_3\beta_3$ 旋转 120° , 而 $\gamma\epsilon$ 通过与 β 亚基催化区结合点的作用使 β 亚基释放一个 ATP 分子。支持旋转催化模型的实验证据越来越多, 其中沃克等发现的牛心线粒体的晶体结构最为典型。诺基等利用牛心线粒体的晶体结构研究的结果, 精心设计了一系列的标记、突变, 并采用最新的荧光显微镜摄像技术, 将 γ 亚基的转动运动显示出来。这个结果清楚地表明, γ 亚基是在 $\alpha_3\beta_3$ 的圆筒中转动的, 转动是单方向反时针进行的。转动使中心的 γ 亚基能够与 3 个 β 亚基按顺序由空位、ADP 结合位到 AMP-PNP 结合位发生接触, 这个顺序正好与预言的 ATP 水解反应一致。这个实验使我们清楚地看到 ATP 合成酶确实是一个分子马达, 证明了旋转催化模型的正确性。

旋转分子马达的 F_0 部分也是一个转动机器, 但 F_0 马达与 F_1 马达有所不同, 它的能量不是来自 ATP 水解, 而是来自储存在横跨膜的粒子运动势的化学能。目前, F_0 的原子结构仍在译解中, 其全部几何结构已经从各种结构的、基因的和生化的研究中推断出来。

F_0 马达的最大部分包括 12 个 C 亚基, 每个由一个双 α 螺旋结构组成, 这 12 个 C 亚基聚集成一个横跨膜的圆盘与 γ 和 ϵ 亚基相连。圆盘的外侧是 a 亚基和 b 亚基二聚体, a 亚基包括 5~6 个跨膜的 α 螺旋。而 δ 亚基连接 F_1 的 α 亚基和 F_0 的 b 亚基二聚体, 如图 1 所示。

为了方便, 我们把旋转分子马达分成两个逆时针旋转的亚结构: 由 a 亚基、 b 亚基二聚体、 δ 亚基、3 个 α 亚基、3 个 β 亚基 ($ab_2\delta\alpha_3\beta_3$) 组成的定子部分和 γ 亚基、 ε 亚基、 c 亚基 12 聚体 ($\gamma\varepsilon c_{12}$) 组成的转子部分。图 5 是转子定子的几何图形。

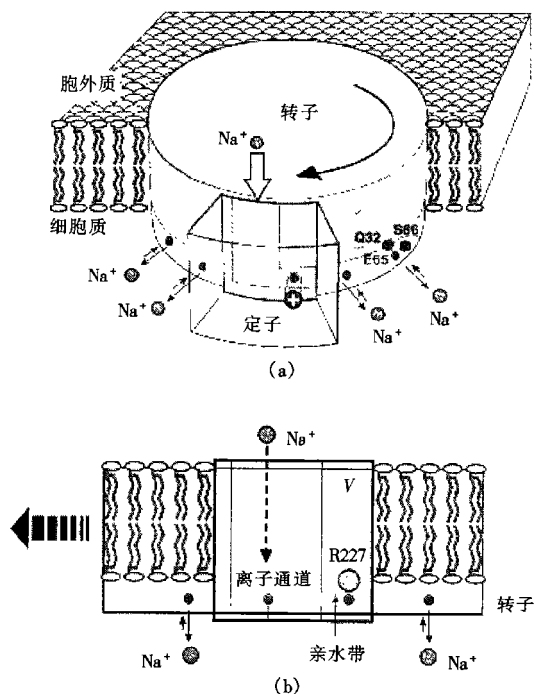


图 5 (a) 转子- 定子的简图 (b) 转子- 定子的侧视图

转子上有 12 个 c 亚基, 每个 c 亚基上均有一个离子结合点, 每个结合点包括 3 个一组的电荷 Q32, E65 和 S66, 这组电荷位于膜下方。定子上有一个关键的基本电荷 Arg227, 它的侧面是几个极性残基。为了阻止离子在细胞器间泄漏, 除两个区外整个转子-定子分界面是疏水的, 这两个区是: (i) 从胞外质到转子区的离子通道。(ii) 基本关键电荷 Arg227 周围的亲水带, 它允许非离子化转子区旋转到分界面的亲水通道。定子电荷 Arg227 排斥离子通道里的离子——防止离子泄漏——吸引任何一个与它临近的空转子区(没有离子结合到转子上)。转子区进入分界面时没有离子占据的原因有二: 第一是因为与细胞质储存器保持平衡, 由于细胞质储存器中的离子浓度很低, 所以转子区不会被占据; 第二是因为被占据的转子区进入分界面接近定子电荷 Arg227 时降低了它的 PK_a (如亲和力), 这样使离子被释放到细胞质储存器。转子区一旦暴露在胞外质离子通道, 它就马上结合一个离子。结合离子后, 转子区变为中性。当中性转子区从转子-定子分界面出来,

马上把它结合的离子释放到细胞质中。然后, 重复进行这一过程。在这个过程中, F_1 马达 β 亚基上合成 ATP。定子-转子分界面抵制未结合离子的转子区通过, 但它允许结合离子的转子区通过(向左转)。

综上所述, F_1 马达既能水解 ATP 又能合成 ATP。 F_0 马达既可作为离子涡轮机又可作为离子泵。当 F_0 马达比较强时, 它利用横跨膜的粒子电势在相反的方向上产生旋转的扭力矩(离子进入膜内), 此时 F_1 合成 ATP。当 F_1 马达比较强时, 它利用 ATP 水解产生扭力矩, 同时使 F_0 在电化学梯度下作为离子泵释放离子。旋转分子马达以两种不同的方式把化学能转化为机械能。所以, 它表现出两个主要的能量转换途径。

与 F-ATP 合酶类似的还有 V-ATP 合酶, 它们的几何图形基本类似, 它们最主要的结构上的不同是: F-ATP 合酶有 12 个 C 亚基, 也就有 12 个离子结合点, 每个 C 亚基由两个 α 螺旋组成。而 V-ATP 合酶有 6 个 C 亚基, 也就有 6 个离子结合点, 每个 C 亚基由 4 个 α 螺旋组成。此外, 离子进入离子通道的过程也有所不同。

分子马达的做功原理和能量转换机制的研究是一个涉及生物、化学、物理等多学科相互交叉的重要课题。而旋转分子马达作为它的一个分支已越来越引起人们的重视。它的结构和功能的研究是生命科学的一个核心问题, 它是分子生物物理学研究的主要对象之一。近年来对于旋转分子马达的研究不断有新的发现。但是, 在实验和理论上我们还需要继续研究, 使我们对它的认识更加深刻, 进一步搞清生命活动的规律和本质。一旦问题被解决, 就可以利用旋转分子马达的运动机制, 研制出十分诱人的以 ATP 为能源的各种微型机器。康奈尔大学的卡洛·蒙特马格诺及其同事首次成功地研制出一种不比病毒颗粒大的微型马达, 它依靠 ATP 的生化物质来提高动力。研究人员从利用 ATP 产生旋转效应的细菌细胞中提取一种酶, 精心制成了这种微型马达。经过一系列化学反应, 他们把镍制螺旋桨(每个仅长 85 微米左右)嫁接到 400 个这种马达的中心轴上。每 5 个马达被浸没于 ATP 溶液中时, 立即使其螺旋桨以平均每秒 8 转的速度旋转起来, 并整整持续了两个半小时。我们可以对未来有充分的设想: 诸如某种混合型机器人将修复人体细胞, 对抗感染、输送药物、乃至用正常基因更换病变基因。最近有关文

更快、更高、更强 ——2001 年的超导研究

戴 闻

(中国科学院理化技术研究所 北京 100080)



在 2001 年,全世界的科技工作者为量子论诞生 100 周年和诺贝尔奖颁发 100 周年举行了一系列庆祝活动。在《科学美国人》杂志的一篇纪念文章中,作者列举了 33 项展示量子论神奇力量的重大发现,这其中有 8 项与超流—凝聚有关。它们是 1911 年超导电性的发现,1924 年玻色—爱因斯坦凝聚(BEC)的预言,1938 年超流的发现,1957 年 BCS 超导理论的提出,1973 年核磁共振成像用于医疗诊断,1980 和 1982 年整数和分数量子霍尔效应的发现,1986 年铜氧化物高温超导体的发现和 1995 年 BEC 的实现。此外,依本文作者看,值得补入的重大发现还有 1956 年朗道关于液氦理论的提出,1962 年约瑟夫森效应的预言,1972 年 ^3He 超流相的发现等等。

1. MgB_2 超导体

在 2001 年美国《科学》周刊评出的科学十大新闻中,超导研究进展占有显著位置。2001 年 1 月,日本科学家秋光纯(Akimitsu)等发现了 MgB_2 的超导电性,它的超导转变温度 T_c 高达 40K。

早在 1953 年, MgB_2 作为一种结构简单的无机化合物,其物理和化学性质就已经为材料科学家所认识。今天,在许多化学试剂商店都有 MgB_2 高纯粉供应,每瓶的 MgB_2 包装量可达 1kg。据报道,在上一世纪 60~70 年代,曾有专业人员以 $T_c \approx 40\text{K}$ 的 MgB_2 为原料之一,制备出了 T_c 低于 10K 的复杂多

元合金超导体!这次秋光纯等原本是想以 MgB_2 为原料制备一种新型的磁性半导体。不想,在对原料进行测试的过程中,无意地发现了 MgB_2 的超导电性。众所周知,在高温超导体发现之前,常规金属或合金超导体的 T_c 长期得不到提高。此前金属超导体的冠军是 Nb_3Ge , 其 $T_c \approx 23\text{K}$ 。 MgB_2 超导电性的发现,一举将常规超导体的 T_c 提高了 17K。难怪,人们称之是“一条漏网的大鱼”。

Mg 和 B 的元素资源蕴藏量丰富,最近的研究表明, MgB_2 超导线的制造成本相对较低。因此,其超导电性一经发现,便吸引了全世界超导物理学家强烈的研究兴趣。预计,用 MgB_2 超导线绕成的磁体可在 20K 的温度下很好地工作。为达到 20K 的低温,不必使用昂贵的低温液体——液态氦,而只需使用电力驱动的气体制冷机。 MgB_2 超导体的应用前景将是十分光明的(例如,制成超导磁体用于医疗临床的核磁共振成像)。

按照 BCS 超导理论,组成金属间化合物的元素质量越轻,其原子在晶格中的振动频率就越高,于是可能导致高 T_c 。在元素周期表中,硼仅次于锂和铍是第 3 个最轻的金属,它具有 2 个同位素,即 ^{10}B 和 ^{11}B 。用 ^{10}B 和 ^{11}B 分别制成 MgB_2 , 人们发现,前者 Mg^{10}B_2 的 $T_c = 40.2\text{K}$, 后者 Mg^{11}B_2 的 $T_c = 39.2\text{K}$ 。这就验证了常规超导体所普遍遵循的所谓“同位素效

章报道某个研究小组在研制能够在人体细胞内进行自动装配的医疗设备。有朝一日,现代科学技术会把人们从繁重不堪的日常工作中解脱出来。

名人妙语

大胆的见解就好比下棋时移动一个棋子,它可能被吃掉,但它却是胜局的起点。

——歌德(德国)

作者简介

韩英荣 2000 年 7 月毕业于河北工业大学应用物理系,现为河北工业大学生物物理专业在读硕士。从事旋转分子马达主要是 ATP 合成酶的运动机制的研究,同时,还从事分子马达两态模型的研究。

