

# 分子马达的研究进展

陈勇 周宁 杜海莲 冯亚兵 赵玉芬<sup>x</sup>  
(厦门大学化学化工学院 厦门 361005)

**摘要** 本文对国内外分子马达的研究现状进行综述。并以生物中的关键酶 ATP 水解酶类 ( $F_0F_1$ ATPase) 为例, 对其运动特点进行较详尽的描述, 它是一类做圆周运动的旋转马达。同时还讨论了一些做直线运动的分子马达, 如肌球蛋白, 驱动蛋白等。并对分子马达的运动机理提出一些相应的观点, 对分子马达的应用进行了展望。

生命在于运动<sup>0</sup>, 生物体内无时无刻不在运动着。对于生物运动的研究已经有很长的历史, 现代的显微方法已经把科学家对细胞内部的认识从静态环境转变到由分子马达不停转动和运输物质的动态环境中。分子马达是生物体内的一类蛋白质, 它们可以将化学能转变为机械能, 或者将机械能转变为化学能。每个生物体内都有成千上万的分子马达, 不论是光合作用还是细胞分裂均离不开分子马达。我们的肌肉运动也是分子马达作用的结果, 可以说生物体内分子马达无处不在。表 1 列出了一些在生物体内具有马达功能的蛋白质分子, 从中可以看出, 分子马达在生命过程中发挥着重要作用。分子马达运动的方式包括杠杆运动、收缩运动、沿着微管蛋白做直线运动。有的分子马达对能量的利用效率高得惊人, 例如  $F_0F_1$ 三磷酸腺苷酶, 其效率接近 100%。它们运动的能量来源以生物体内的“通货”ATP 为主。少数能量来源来自于  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $H^+$  等离子在细胞器膜内外的浓度差所造成的动力势。

大多数分子马达的中心是 ATP 酶的作用点, 它与 ATP 相结合水解  $BC$  磷酸键并释放出磷酸盐和 ADP。这些酶促转移反应揭示了核苷周围蛋白质结构的微小变化, 这一变化被传到蛋白质的其他地方, 类似于多米诺效应<sup>[1]</sup>。

## 1 旋转的分子马达 $F_0F_1$ ATPase

### 1.1 $F_0F_1$ ATPase 的结构

最有趣的是一个叫做  $F_0F_1$ 三磷酸腺苷酶 ( $F_0F_1$ ATPase) 的分子马达, 它应该算是世界上最小的旋转/ 发动机<sup>0</sup>了。从原核生物 *E. coli* 到真核生物果蝇中, 都有  $F_0F_1$ ATPase 存在。  $F_0F_1$ ATPase 的一部分夹在细胞的双分子膜间, 调节膜内外质子、钠、钾等阳离子的平衡。这种  $F_0F_1$ 三磷酸腺苷酶进行三磷酸腺苷水解 (ATP hydrolysis)

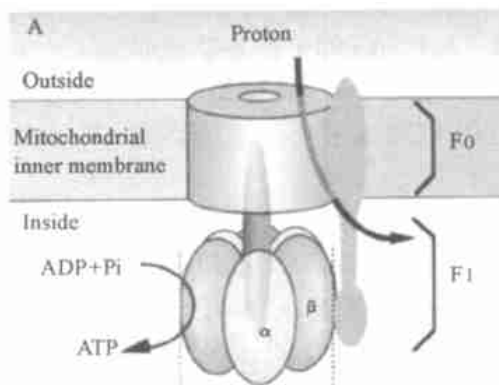


图 1 大肠杆菌中  $F_0F_1$ ATPase 分子马达的模型

<sup>x</sup> 赵玉芬: 厦门大学、清华大学教授, 博士生导师, 中国科学院院士。

表 1 一些被认为是分子马达的蛋白质<sup>[1]</sup>

马达	发动机部件	能量来源	运动形式	角色、特征	
细胞骨架蛋白	驱动蛋白	微管蛋白	ATP	线性运动	有丝分裂/ 细胞器运输, 微管运动
	肌球蛋白	肌动蛋白	ATP	线性运动	肌肉收缩/ 细胞器运输/ 胞质分裂
	动力蛋白	微管蛋白	ATP	线性运动	? / 细胞器运输/ 有丝分裂, 该马达有 4 个 ATP 结合位置
聚合体	肌动蛋白	无	ATP	伸展/ 收缩( Shrink)	细胞运动/ 皮层组织
	微管	无	GTP	伸展/ 收缩	有丝分裂/ 细胞质组织
	发动蛋白	膜	GTP	收缩( Pinching)	胞吞/ 泡发芽
	中心蛋白	无?	Ca <sup>2+</sup>	紧缩	紧缩
G 蛋白	EfG	核糖体	GTP	杠杆运动	在核糖体中
旋转的马达	F <sub>1</sub> ATP 酶	F <sub>0</sub> 复合物	ATP	旋转	ATP 水解/ 合成, 可逆的, 效率近 100%
	细菌鞭毛	多种蛋白质	H <sup>+</sup> / Na <sup>+</sup>	旋转	推进细胞运动, 快速可逆的马达
环状蛋白	AAA 蛋白	各种部件	ATP	扭曲, 螺旋?	中断蛋白与蛋白的作用
	大肠杆菌中的热激蛋白 Hsp60( GroEL)	GroES 蛋白, 未折叠的蛋白	ATP	探查	参与蛋白的折叠
核苷酸马达	聚合酶	DNA/ RNA	ATP	线性运动	模板复制
	解螺旋酶	DNA/ RNA	ATP	线性运动	解开超螺旋
	SMC 蛋白质	DNA, 缩合酶	ATP	浓缩	形成染色体

lyze) 的时候, 从下向上观察(从 F<sub>0</sub> 方向), 它的转子 C 和 E 亚基会逆时针转动, 而合成三磷酸腺苷(ATP synthase)的时候, 它会进行顺时针的转动<sup>[2]</sup>。

这个分子马达包括两个复合体 F<sub>0</sub> 和 F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> 由 3 对 A B 亚基相间组成类似桔子瓣的/ 定子 0 和一个由 C、E 亚基组成的/ 转子 0 构成, 还有一个连在 b<sub>2</sub> 亚基上的 D 亚基。F<sub>0</sub> 是疏水的, 由 c<sub>12</sub> 亚基、a<sub>1</sub> 亚基及 b<sub>2</sub> 亚基构成, 嵌在双分子膜中, a<sub>1</sub>b<sub>2</sub> 在一起被认为是马达的/ 定子 0, 而 c<sub>12</sub> 被看作是马达的/ 转子 0。

### 1.2 F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>ATPase 的运动机制

日本的 Yashida 和 Kinosita 实验室用一种巧妙的方法观测到了它的水解运动, 其运动模型见图 2。

该实验室将荧光标记的肌动蛋白细纤维丝通过 C 亚基中的第 199 位和 205 位的半胱氨酸固定在 F<sub>1</sub> 的 C 亚基上, 这根纤维是 F<sub>1</sub> 直径的 200 倍, 可在荧光显微镜下直接观察到它的运动。再将 F<sub>1</sub> 通过 B 亚基上的组氨酸与涂有 Ni-NTA 的玻璃片相连接, 在特制的容器中装入含有 ATP 的溶液, 用特制的荧光显微仪对分子马达转动过程中 Cy3 荧光团位置的变化进行观察。结果观察到每水解一个 ATP, C 亚基会转动 120 度, 水解 3 个

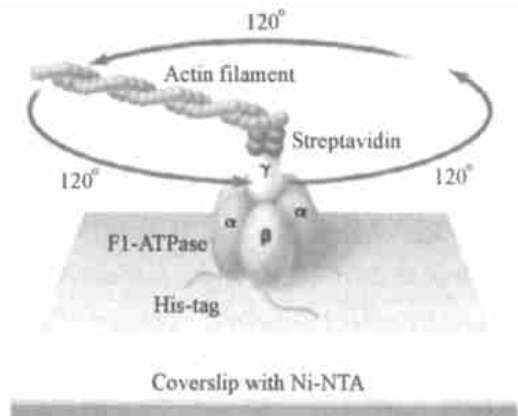


图 2 F<sub>1</sub>ATPase 旋转模型<sup>[3]</sup>

ATP 分子, 就完成了圆周运动。而且 C 亚基的转动速度和 ATP 的浓度有关。在 20, 60, 200 nmol/L 浓度下, 分子马达每转动一周的时间分别为 5.5, 2.4, 0.84s。显然, 如果没有纤维丝在溶液中产生的阻力, 转动的速度还会更快些。这个试验也说明, 水解 ATP 的时候不需要  $F_0$ <sup>[3]</sup>。

在大肠杆菌中,  $F_0F_1$  ATP 酶催化 ATP 的合成是靠双分子膜内外的质子浓度差驱动完成的, 而水解 ATP 的时候,  $F_0$  又把质子运回来, 形成新的质子浓度差。但对于从质子流动到 ATP 合成的完成过程研究得还不十分清楚, 同样, 它的逆反应过程也不明晰。至于质子是怎么经由 c 亚基和  $a_1b_2$  亚基通过膜的? 有研究表明 c 亚基中的 ASP61(肽链中第 61 位谷氨酸) 是一个很重要的氨基酸, 被认为是  $F_0$  上  $H^+$  的结合位点, 它的质子化/去质子化循环可以转运  $H^+$ 。剑桥大学的 P. C. Jones 等人通过 NMR 研究表明, Asp61 羧基不在易受油脂双层脂酰基链影响的  $C_{12}$  圆柱体的表面上, 而是在单聚体中形成 c 亚单元的/前对后挤压 $\theta$ 形式免受了油脂双层的影响。而 c 亚单元的载质子羧基位于  $c_{12}$  单聚体亚单元和两个 c 亚单元也是通过  $\theta$  前对后挤压 $\theta$  方式形成的质子(阳离子)禁锢点之间。载质子的 Asp61 被吸入进亚单元之间, 并可被利用。这是因为经过可供选择的进、出口通道的质子化和去质子化作用要求有受挤压的 c 亚单元形成的旋转通路并且还需要与不同的 a 亚单元渗透膜螺旋线逐步结合。

环的旋转方向取决于质子是从膜的哪一侧通道进入。如果从膜的内侧通道进入, 那么从  $F_0$  的底部看, c 亚基环是顺时针旋转的。当膜内外 pH 浓度差相反时, 环向相反的方向旋转。环的旋转是靠跨膜的质子动力势推动的。科学家认为, c 亚基与  $C_2$  亚基是直接连在一起的, 它们之间的连接丝毫没有减弱马达的旋转活性<sup>[4]</sup>。

## 2 直线运动马达

下面让我们来看另外一类依赖于纤维运动的分子马达。它们分别是: 肌球蛋白(myoisin), 动力蛋白(dynein)和驱动蛋白(kinesin)。肌球蛋白是在肌动蛋白上运动的, 而动力蛋白和驱动蛋白是沿着微管移动的。

### 2.1 肌球蛋白

对肌肉的肌球蛋白研究可以追溯到 1864 年, 最近数十年来一直作为研究运动的模型系统。在 1985 年被发现用于玻管运动性试验的普通驱动蛋白, 相比较而言是一个新事物。

肌球蛋白是长形不对称分子, 形状如  $Y_0$ , 长约 160nm。电子显微镜下观察到它含有两条完全相同的长肽链和两对短肽链, 组成两个球状头部和一个长杆状尾部。肌球蛋白分子量约 460kD, 长肽链的分子量约 240kD, 称为重链; 短链称为轻链。肌球蛋白作为细胞骨架的分子马达, 是一种多功能蛋白质, 其主要功能是为肌肉收缩提供力。纤丝滑动学说(sliding filament theory)认为肌肉收缩是由于肌动蛋白细丝与肌球蛋白丝相互滑动的结果。在肌肉收缩过程中, 粗丝和细丝本身的长度都不发生改变, 当纤丝滑动时, 肌球蛋白的头部与肌动蛋白的分子发生接触(attachment)、转动(tilting), 最后脱离(detachment)的连续过程, 其结果使细丝进行相对的滑动<sup>[5]</sup>。此学说当时有强有力的实验依据, 但没有在分子水平加以证实。

### 2.2 驱动蛋白

对驱动蛋白运动的研究用到了单分子的方法, 科学家用激光陷阱显微镜实验证实驱动蛋白的二聚体沿着微管一次前进了 8nm。在加利福尼亚大学, 由 R. D. Vale 教授领导的实验室提出了一个/手牵手 $\theta$ 运动模型: 当驱动蛋白的一个/头 $\theta$ 和微管结合到一起的时候, 另外一个

/ 头0向着前一个结合点移动。

日本一个科学小组分别在 10e 和 30e 两种温度下培育鲤鱼,发现 10e 水中的鲤鱼游得更快。进一步的研究发现,它们的驱动蛋白序列在不规则区(loop 区)有 6 个氨基酸是不同的,在 10e 下培育的鱼的驱动蛋白运动的速度要快一些,而蛋白质的热稳定性相对 30e 培育下的鱼要低。可见驱动蛋白结构的不同造成鱼运动的速度不同。

根据驱动蛋白的动力域位置的不同分为 N 类、M 类和 C 类,其中通常的驱动蛋白为 N 类,而 ncd 蛋白为 C 类。微管是具有极性的,N 类的驱动蛋白向微管的正端移动,C 类向负端移动。上述两类蛋白为箭头形状,大小为 7.0nm @4.5nm @4.5nm,其头部(动力域)的组成包括 8 条 B 折叠,在侧面各有 3 个 A 螺旋。研究表明虽然这两类蛋白运动域的结构相同,但其运动方向却完全相反。

人们还研究了单聚体的驱动蛋白的运动,Okada 等用基因工程的方法得到了一种 Kif1A<sub>f</sub> 分子,观察到单分子前进的距离达到 840nm 相当于二聚体前进 8nm 的 100 倍。作者提出了一个单聚体驱动蛋白的运动模型,在分子马达运动中心含有一个特殊的、富含赖氨酸的 K2loop 模型(见图 3)。

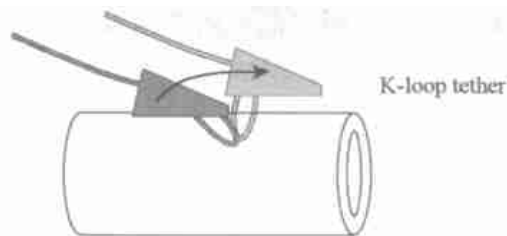


图 3 单聚体的 K2loop 模型

结构研究表明虽然两类驱动蛋白的单体结构相同,但其二聚体在构象上完全不同。两类驱动蛋白的不同主要表现在头部(动力域)和绕线式螺旋的连接区域上,对两类蛋白的连接区域进行杂化实验证实了这种结论。因此两类驱动蛋白运动方向的结构基础是由连接区域的三维构象和局部组成决定的。

Stewart 等人研究了驱动蛋白定向运动起作用的区域。通过构建一系列复合分子,可以确定定向移动所需的最小序列。现已发现,neck2linker(for kinesin)和 neck(for ncd)以及核心运动区域是分子定向运动所必需的。但是其他的序列能够加速分子的运动。取代这些区域中 10 个严格保守氨基酸(KIKNVNELTA),驱动蛋白的移动速度下降 500 倍,同时 ATP 水解速度下降 3 倍;将另外 2 个谷氨酸换成丙氨酸,移动速度下降 100 倍。对 ncd 蛋白的研究表明,连接区可能通过核心运动域的某一个位点感知远端 ATP 结合的构象变化。另外驱动蛋白的易弯曲性与正端移动存在一定的关系。

最近的序列分析结果对分子马达的进化和功能有了更深的了解,序列结果已经揭示出大量的驱动蛋白和肌球蛋白基因(很可能每个哺乳动物的遗传因子大于 50 个),大量肌球蛋白马达执行种类不同的生物活动,包括肌肉收缩、胞质分裂、细胞运动、膜传输、细胞构造和某种信号的传导途径。驱动蛋白参与了膜传输、细胞分裂、信使 RNA 和蛋白质传输、胰和鞭毛起源、信号传导和微管聚合物等动力学过程<sup>[6]</sup>。驱动蛋白在植物中也有很多生理功能,如细胞质流动、细胞器运动、植物根毛与花粉管顶端生长、对细胞形状的控制、有丝分裂、植物对重力感应、叶绿体运动等均需驱动蛋白的参与<sup>[7]</sup>。这些新发现的驱动蛋白和肌球蛋白的分析已经显示出马达家族的运动性具有像普通蛋白和肌肉肌球蛋白自身一样的多样性。

研究并对比多种驱动蛋白和肌球蛋白马达为理解运动性机制提供了有价值的资源。因为驱动蛋白和肌球蛋白马达有相似的核心结构和共同的进化祖先,这些马达的对比有可能揭示出它们将化学能转换成动能的共同原理。

普通驱动蛋白与肌球蛋白不同,可以沿着微管蛋白一直走下去。后面的头以卷曲螺旋为中心,转动 180°, 往前移动了 16nm 后,前面的头就变成在后面,继续向前摆动 16nm,其结果是每走一步可以前进 8nm。驱动蛋白的两个头(蓝色)就像人的两条腿一样,可以同时与微管蛋白(微管蛋白)接触,交替向前迈进;相对而言,肌球蛋白就像瘸了一条腿的人一样,只能一条腿往前跳。

肌球蛋白运动的不连续性和驱动蛋白运动的连续性反映了它们不同的生物角色,普通的驱动蛋白运输小的膜细胞器或蛋白复合物,沿着聚合物连续运动能保证用一个或几个马达蛋白就能完成有效的长距离运输;相反,肌肉肌球蛋白运动需要大量的一系列马达,每一个都必须与肌动蛋白结合,产生动作,然后再迅速分开,以致不会阻止别的蛋白在同一纤维上产生力量。

### 3 分子马达运动的可能机理

从化学的角度来看分子马达,它的反应有几个特点,一是效率都很高。其次,分子马达在反应时,选择性非常专一。所以,可以将生物马达中的反应看作计算机里的 0 与 1,要么是开,要么就是关。现在对分子马达的研究主要集中在生物物理学方面,而从化学的角度进行研究的还很少,还没有具体研究到化学键的水平。但我们猜想,这里一定有一个非常重要的元素在充当着开关的角色,这种原子和其他的原子有着特殊的结合形式。赵玉芬院士认为,这个元素是磷,这同赵院士经过多年研究提出的“磷是生命化学过程的调控中心”的观点是一致的。应该理解,三磷酸腺苷(ATP)不只是作为能量的来源,还应该是参与分子马达转位过程的重要“零件”,这个零件很可能就是其“开关”。

生命过程中许多内源活性物质在激活和转化过程中均以五配位磷作为过渡态,很多生物分子也只有在磷酸化以后才会出现生物活性。而且蛋白质可逆磷酸化对细胞活动的调节起着至关重要的作用,有研究表明,一些蛋白激酶的磷酸化经历了五配位磷的过渡态。另外,核酸酶对 RNA 的切割也经历了五配位磷的过渡态。

因此,我们推测,在分子马达与 ATP 作用的过程中经历了五配位磷过渡态,从而激活了分子马达,使之具有了运动功能。我们对五配位磷化学的研究已经有了很多重要的结果,进一步研究五配位磷与核酸水解、蛋白质可逆磷酸化的作用不仅有望揭示出生物体内的能量转化机制和分子马达的运动机制,而且对于生命起源的研究有着十分重要的意义。

### 4 分子马达的研究与应用前景

#### 4.1 分子马达的研究可以推动科学技术的发展

最近 10 年,世界上对分子马达的研究是非常热门的,截止到 2001 年 6 月,以 Molecular Motor 为关键词分别从国际著名科学搜索网站 Elsevier Science 和 Web of Science 上搜索到 371 篇和 213 篇文章;在 Science Online 上共搜索到 2521 篇文章。其中,以美国和日本的研究最多,其次是欧洲的多个国家。对于分子马达的研究,巧妙且先进的观测手段是非常重要的,综观取得重大研究成果的几个实验室,都是利用了很巧妙的观测手段,如单分子荧光、激光陷阱等等。另外就是要有比较扎实的分子生物学、生物化学等背景知识和技能。如果要从化学的角度研究分子马达的作用机制,与分子生物学或生物化学的专门技术人员的合作是非常必要的。

## 4.2 分子马达研究在医学上的意义

研究马达分子的控制机理对于发现在众多疾病状态中基本细胞的出错过程有着重要的意义。这些疾病包括癌症、先天性生理缺陷、耳聋、呼吸系统紊乱以及神经衰弱等。了解分子马达的运动机制是十分必要的,科学家正在致力于探索能够对分子马达的运动有促进或抑止作用的一些小分子来作为药物设计的新思路。例如紫杉醇就是由于对微管蛋白分子马达的运动有干扰,而成为抗癌药物的明星。

### 参 考 文 献

- 1 Vale R D. Trends in Cell Biology, 1999, 9(12): M38
- 2 Tsunoda S P, Aggeler R, Noji H, et al. FEBS Letters, 2000, 470: 244
- 3 Noji H. Nature, 1997, 386: 299
- 4 Toshio Yanagida, Kazuo Kitamura, Hiroto Tanaka, et al. Current Opinion in Cell Biology, 2000, 12: 20
- 5 Vale R D, Milligan R. Science, 2000, 288: 88
- 6 舒适,刘爱校,刘国琴,等.生命的化学,1999,19(2):65
- 7 刘雄,阎隆飞.生物化学与物理生物进展,1994,21(3):203

---

## 2002年全国光催化学术会议征稿通知

2002年全国光催化学术会议[NCP2002]将于2002年10月在北京举行,由中国科学院化学研究所承办。会议将全面总结、展示从上一届光催化会议后两年来我国光催化工作者在该领域中有关基础和应用研究的最新进展和成果,深入探讨新世纪我国在光催化研究领域的发展方向。本届光催化会议将与第9届中日双边智能光电子材料及分子器件学术会议同时召开。会议将为广大光催化工作者提供一次良好的交流与学习的机会,强调光催化与其他学科(如纳米科学、光化学、光电化学、界面及膜化学、环境化学、分析化学等)的交叉与合作。欢迎全国(包括港澳台)各大专院校、科研院所和相关领域的科研工作者及相关企业踊跃投稿和参加会议。

### 1 征稿范围

- (1) 多相及均相光催化新反应、新构思和研究方法;
- (2) 光催化新材料和光催化剂制备新技术;
- (3) 光催化反应机理及光化学行为的研究;
- (4) 光催化在环境保护、能源利用和化学合成中的研究与成果展示;
- (5) 光催化学科发展、理论和热点问题的综述及论述;
- (6) 纳米科学、光化学、界面材料与化学等交叉学科的研究;
- (7) 自由基、中间物及快速过程研究新方法。

### 2 征文要求

(1) 提交论文摘要一式两份,寄会议联系人收,并通过电子邮件或寄软盘将摘要发送给会务组。摘要要求:A4标准纸1~2页,激光打印,标题用4号黑体,内容用小4号宋体,打印区为210mm@150mm。宣读者名下加横线。

(2) 征稿截止日期:2002年5月1日。录用通知将于2002年7月1日左右发出。

联系人: 赵进才, 闫芳

地址: 北京市中关村中国科学院化学研究所光化学实验室 邮编: 100080

电话: 01064888151, 01064859374 传真: 01064879375

E2mail: ncp2002@263.net yanfang507@xinhuanet.com