泛素_蛋白水解酶复合体通路

李存玺 王永潮*
(北京师范大学细胞增殖及调控生物学开放实验室, 北京 100875. * 联系人)

摘要 在细胞生命周期中, 在一定时间必须有新的功能蛋白的产生而启动细胞的增殖、分化和运转, 与此同时也伴有完成功能的蛋白质的降解. 细胞内蛋白质降解必须有精确的时间和空间的调节和选择. 如果蛋白质降解的时间、速率和部位出现异常, 将导致严重的细胞增殖、分化的障碍, 甚至细胞凋亡. 泛素_蛋白水解酶复合体通路是一种细胞胞质和核内蛋白 ATP 依赖性的非溶酶体降解机制, 具有高度选择性地进行细胞内蛋白的降解, 尤其是短命的功能蛋白、癌基因产物和变性变构蛋白等. 应急状态下也降解细胞内其他结构蛋白. 此种降解通路具有高度的进化上的保守性. 泛素由 76 个氨基酸组成, 广泛存在于某些细菌、酵母菌、昆虫、鱼、牛、人及高等植物之中, 功能相似而氨基酸变化很小. 此种特异性的蛋白水解通路的发现被认为是细胞周期调控、肿瘤发生发展和免疫学等研究的重大转折, 现已深入到生物医学研究的各个领域.

关键词 泛素_蛋白水解酶复合体通路 连接酶 转录因子 胞质分裂

一切生命, 都需要新陈代谢. 在正常代谢条件下, 细胞内合成和降解蛋白质必须有精确的时间和空间调节和选择. 如果蛋白质降解速率和部位出现异常, 后果不堪设想. 多种蛋白质降解途径[1]正在被逐步阐明: (1) 溶酶体途径, 主要降解细胞外入胞蛋白(如受体介导的蛋白胞饮), 应急状态下, 也降解细胞内蛋白尤其是结构蛋白. (2) 特殊细胞器内水解系统, 如线粒体内 La 蛋白酶; 高尔基体内 Kex2 水解酶; 植物叶绿体内 ClpAP 等水解酶复合体. (3) 细胞膜表面水解酶体系. (4) 高度保守的泛素_蛋白水解酶复合体通路(Ubiquitin_proteasomes pathway, UPP) 途径[2,3], 是细胞胞质和胞核内蛋白 ATP 依赖性的非溶酶体降解机制, 高效并高度选择性地进行细胞内蛋白转换, 尤其是短命的功能蛋白、癌基因产物(如 Cyclins, P21, P27, PKCs, 野生型 P53, c_Jun, c_Fos 及 c_Mos 等, 而突变型 P53 和 v_Jun 则不能被降解) 和变性变构蛋白等[4~10], 应急状态下也降解细胞内其他结构蛋白. 该蛋白水解通路的发现被认为是细胞周期[11]、细胞恶性转化和免疫学研究的转折点. 人乳头状病毒(HPV) 致瘤性已被初步证明是 P53 降解加速所致[12]. UPP 的其他作用包括 MHC_Class iv特异抗原的处理和呈递、基因表达产物的修饰、调节、应急反应、细胞表面受体修饰、DNA 损伤修复、蛋白质进入线粒体、神经递质前体的摄入、过氧化物小体的形成、核糖体的组装和细胞凋亡等[12~20]. UPP 系统已被认为是十分重要的细胞功能调节因素[21]. 现在十分明确知道的 UPP 水解底物蛋白为数不多, 水解靶蛋白的特异识别信号是什么还不完全了解. 下面介绍 UPP 系统和我们的一些工作.

1 泛素

1974 年纽约大学医学院的病理学家 Goldstein 等人, 从牛胸腺提取一种 8.5 ku 的物质 Thymopoietin, 可以体外诱导 T, B 细胞分化, 并且认为是通过 β_肾上腺素能受体和腺苷环化酶活化发挥作用. 1975 年再次提取 Thymopoietins 类似物, 只能诱导 T 淋巴细胞分化, 对 B 淋巴

细胞无效, 测定部分氨基酸序列发现在人、牛、芹菜之间高度保守, 命名为 UBIP(Ubiquitous immunopoietic polypeptide) . 后来发现从某些细菌到哺乳动物组织提取的物质, 其结构、功能、免疫学作用都类似. 同年公布全序列, 并命名为 Ubiquitin(Ub) _泛素[22, 23].

(1) Ub 结构. Ub 由 76 个氨基酸组成, 分子量为 8.451 ku, 是在人、牛、鱼、昆虫、高等植物、酵母菌和某些细菌内高度保守, 从胞核到胞质、从生殖细胞到各种类型的体细胞广泛存在的一种多肽. 燕麦与酵母有 2 个氨基酸不同, 动物与燕麦和酵母有 3 个氨基酸不同. Ub 为非常小的球形蛋白, 含有丰富的氢键. 耐热, 耐受广泛 pH 变化和水解酶消化. Ub 利用末端甘氨酸羧基与靶蛋白的 α 和 ε_氨基结合. 1984 年 Ozkaynak, Finley 和 Varshavsky 首次报道 Ub 基因. 在动物, Ub 基因可以为单体伴随延伸肽表达, 但大多数为数个最多至 52 个完全一致的重复串联结构, 无内含子. Ub 翻译成多肽后仍然首尾相接, 然后降解为单体[24].

(2) 组织分布及含量变化. 增殖活跃的肿瘤组织和胚胎组织 Ub 高表达[25], 在不同生物不同组织内表达量不同. 豚鼠、鸡胚及裸鼠多种组织内表达水平较高, 每克组织含量达几十至上百微克. 小鼠及仓鼠组织含量普遍较低, 只有几微克. 梨、茄子和胡萝卜等植物的含量一般在几十纳克.

2 连接酶

UPP 系统水解靶蛋白的第一步是将 Ub 标记到将被降解的靶蛋白上. 泛素连接酶的作用是将 Ub 共价交联到靶蛋白赖氨酸 ε_氨基上. 该酶系列分为 E1, E2 和 E3 三类, 每一类又有不同的亚类, 各有不同的功能[26, 27]. Ub 连接至靶蛋白通过图 1 三步机制: E1 叫泛素活化酶, 利用 ATP 水解释放能量活化 Ub, 其半胱氨酸与 Ub 的羧基端偶联形成稳定的 E1_Ub 硫脂键中间体; E2 也叫泛素转运酶, 各种不同的 E2 其半胱氨酸硫氢基接受活化的 Ub 形成第二个中间体 E2_Ub 或将 Ub 直接连接到靶蛋白上; E3 也叫泛素_靶蛋白连接酶, 可与 E2 一起将 Ub 与靶蛋白通过异肽键相连. E3 直接将 E2 上的 Ub 连接到靶蛋白还是仅仅将靶蛋白与 E2_Ub 靠近并不清楚. 此复杂的反应中, Ub 上的 48 位赖氨酸的 ε_氨基也必须再进一步不断泛素化形成多聚 Ub 才能被蛋白水解酶复合体识别和水解. 细胞内既存在 Ub 先多聚化后再连接机制, 也存在先连接一个单体后, 再顺次连接 Ub 而多聚化的机制[1, 21].

细胞内千万种蛋白降解的速率各不相同, 其特异性和选择性机制一直是关注的焦点. 一般认为 E1 没有特异性和选择性识别能力, E2 和 E3 在交联 Ub 时具有特异性和选择性识别能力, 在很大程度上决定靶蛋白能否被降解及其降解的速率. 所以, 泛素连接酶被认为是一类新的真核细胞调节因子[27, 28].

3 蛋白水解酶复合体

蛋白水解酶复合体命名非常混乱, 至少有下列名称: MCP(Multicatalytic proteases) 和 20S Proteasomes(水解蛋白不依赖 ATP) , Multi_protease complexes (MPC/ 26S protease 和 26S Proteasomes. 此外在哺乳动物肌肉提取了 Calpain ㊐ 鱼肌肉内提取 Proteinase iv和 Proteinase ㊐ 具丝氨酸蛋白酶活性, 与死后肌肉水解有关. 从红细胞内提取了 Macropain, 从核内提取了 cyclosome, 都具有多种水解酶活性. 日本学者 Tanaka 1987~ 1988 年首次将 Multicatalytic protease complexes 命名为 Proteasomes(Ps) , 即蛋白水解酶复合体[29~ 31].

Hase 首先在电子显微镜下观察其结构. 一年后 Orlowski 和 Wilk 纯化出 700 ku Protease,

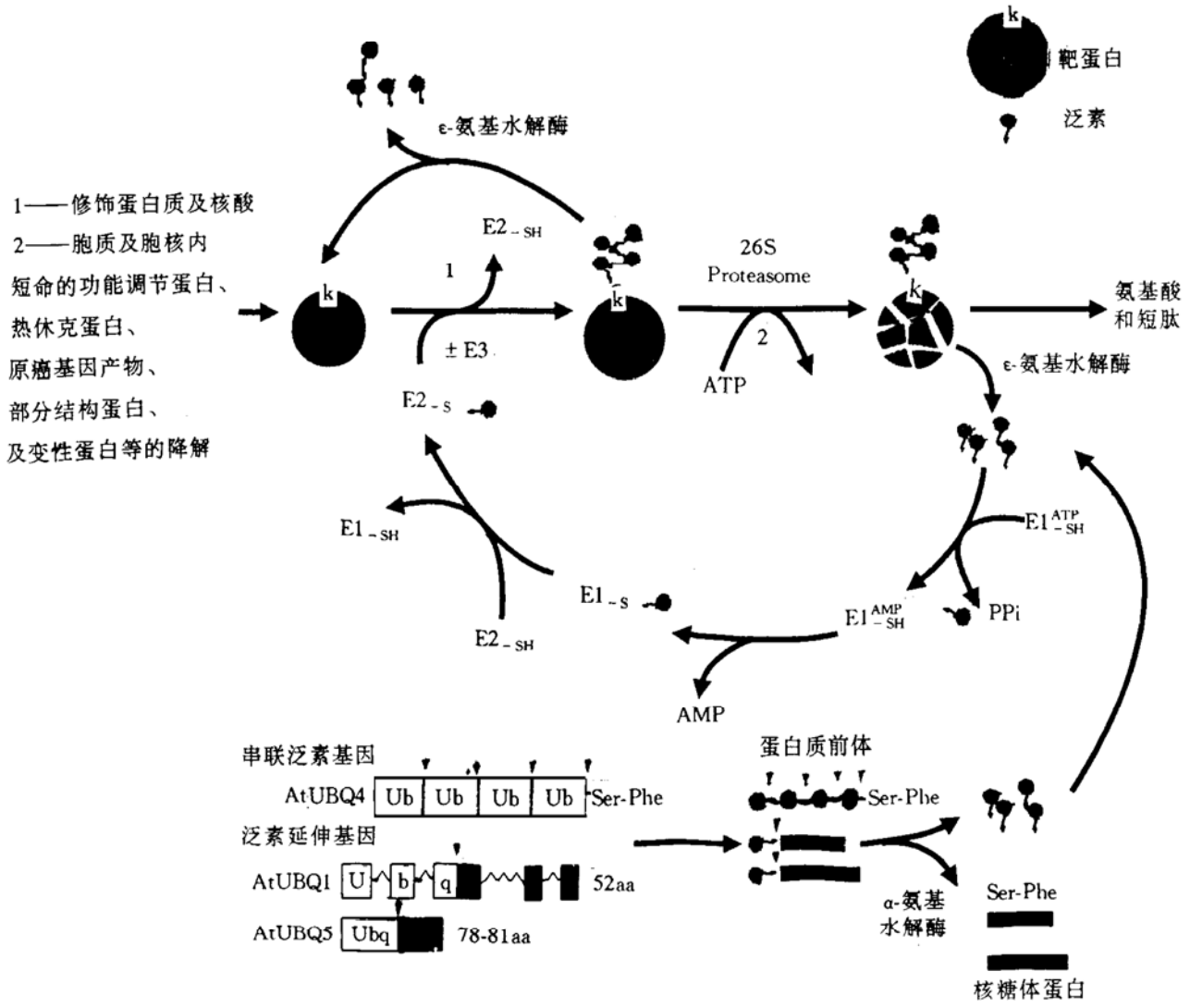


图 1 泛素_蛋白水解酶复合体通路示意图

示意泛素来源、泛素连接、泛素的再生、靶蛋白的性质和降解

证明 Ps 由数个 20~ 30 ku 亚基组成. Ps 在动物、植物、酵母中都存在. Archaebacterium 和嗜热嗜酸菌(Thermophips acidophilum)中呈阳性, 并且嗜热菌 Protease 由 α 和 β 两种亚基组成, 是非常好的模型. 一般细菌内阴性. 最近在 *E. coli* 中发现一种有 ATPase 活性、能降解 Lac Z 融合蛋白的 20S 和 Ps[32].

(1) 蛋白水解酶复合体结构. 通过负染_冷冻蚀刻处理后观察, Puhiler 等人提出一个模型, 嗜热菌 20 Ss 水解酶: 为 4 个环每环由 7 个亚单位组成. 通过免疫电镜知道, 2 个中间环由 β 亚基组成, 与 α 环相错 25°角, 2 个外环由 α 亚基组成. 共由 14 个 α 亚单位和 14 个 β 亚单位组成 α7β7β7α7 结构; 20S 圆柱体组成 26S Proteasomes 的水解核心, 核心两端各有 19S 帽状结构, 是特异性识别部位[29], 见图 2.

(2) 蛋白水解酶复合体组成. SDS 丙烯酰胺凝胶电泳为 8~ 10 条带, SDS 双向电泳为 15~ 20条带, 可能是翻译后修饰所致. 大致可分为两类: 1) α 亚基, N 端有 20 个高度保守的残基, 参与组装水解复合体, 一些真核细胞 α 亚基 C_端延长约 40 个氨基酸, 带大量电荷, 与进化有关, 可能在促进不同亚类亚基连接, 结合调节蛋白或与靶蛋白选择有关. 2) β 亚基, β 亚基 N_端变化非常大, 可再分成亚族, 但组装完成后, 就不存在 N_端变化.

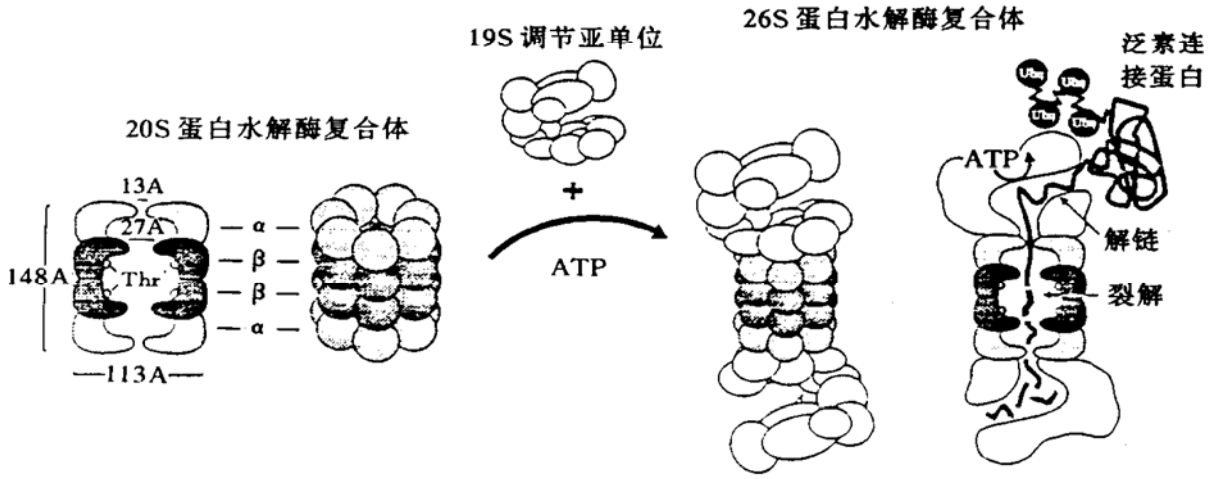


图 2 20S 和 26S 蛋白水解酶复合体模式结构图

最近实验表明,哺乳动物β亚基是两步成熟机制,包括自身降解和正确折叠. Ps 抑制剂可抑制 LMP2 在体外成熟. β亚基前序列(presequence)不能去掉,酵母去掉前序列是致死性的,高等动物 LMP7 去除前序列,影响正确折叠,20S 不能组装[33, 34].

(3) 蛋白水解酶复合体酶学特点. Orlowski 和 Wilk 1981 年就确切证明并提出了 Multicatalytic 概念,从真核细胞提取的 Ps,根据亚基序列不能推测酶学作用特点. 从嗜热菌提取的α, β亚基推测,只有糜蛋白酶样活性. 亚基异质性与靶蛋白特异性说明真核细胞 Ps 水解不同的底物,可能是由不同的亚基组成所致. 现在认为 20S Ps 至少有 9 种不同的蛋白酶活性. 26S Ps 纯化由 Tanaka 等人从 1986~ 1987 年在兔网织红细胞完成. 除含有 22~ 34 ku 亚基外(组成核心)还有 40~ 62 ku 亚基 10 条,100~ 110 ku 亚基一对,组成两端 19 S 帽,分子量总共达 2 000 ku 以上,具有了 ATP 依赖,Ub 识别的功能. 19 S 帽状结构可分为 CF1, CF2, CF3,在有 ATP 和 20 S 核心存在下组装成有活性的 26S Ps[35, 36],见图 1. CF1, CF2 和 CF3 组装需 ATP,完成后具有 NTPase 活性. 人 26S Ps 亚基 S4 有 ATPase 活性. S4N 端可能是底物识别部位,尚不清楚如何识别 Ub. 进化越高,亚基越多、越复杂[37].

(4) 水解机理. 根据 Ps 水解合成的短肽,有人提出是巯基蛋白酶,有人提出是不典型丝氨酸蛋白酶. 开始认为酶活性位点不在其中心,位于α, β或交界处或α,β亚基均参与. 通过嗜热嗜酸菌结晶纯化 Ps 的研究揭示β亚基是水解部位,酶活性位点位于 20S 圆柱体空心结构中心. 水解中心由 3 个残基 Thr1, Lys33, Glu17 和 N_端自由氨基组成,将 Thr1 和 Lys33 换成 Ala,结构完整,但酶活性丧失[38]. Lactacystin 特异结合 N 端苏氨酸可阻断酶活[39]. 泛素_蛋白水解酶复合体通路降解蛋白质过程见图 2.

(5) 抑制剂. 细胞内自然状态下存在蛋白水解酶复合体抑制因子,有 40 ku 蛋白六聚体和 31 ku 蛋白两种,前者不可逆结合. 实验中常用的抑制剂都是合成的短肽或抗生素[40],包括: lactacystin ——不可逆结合; 可逆结合的抑制剂有 Acalodomycin, Leu_Leu_Leu_aldehyde, Leu Leu NVa aldehyde, Leu Leu NLe aldehyde 和 Daunomycin 等. 细胞内也存在 Ps 活化因子,是一种 30 ku 成分,与 Ps 可逆结合,明显促进降解荧光肽.

4 UPP 的某些功能意义

(1) 变构蛋白的降解. 人类巨细胞病毒致病机制与 MHC Class iv重链有关. HCMV

US11 表达产物, 可以使 MHC Class iv型膜蛋白嵌在 ER 膜上错位, 进入胞浆, 脱糖基后被 Ps 降解. 1996 年, Wiertz 又发现 US2 与 US11 作用机制相似, 但 US2 可改变 MHC_Class iv重链的折叠, 并使重链的降解更快[41]. 在此过程中, Ps 的降解作用是限速步骤, 他们在实验中均未证实是否有 Ub 的多聚化. MHC Class iv的破坏使 T 细胞无法识别 HCMV 感染的宿主细胞, 抗原呈递等免疫机能遭到破坏而发病.

(2) 原癌基因产物的降解. P53 功能被抑制是许多 DNA 肿瘤病毒的特点. 人类乳头状瘤病毒(HPV) E6 蛋白可以直接阻断 P53 与 DNA 结合, 也可以标记新合成的 P53 为靶蛋白被泛素蛋白水解酶复合体降解. 1979 年首次发现, P53 可以和 SV40 大 T 抗原形成复合物(空间阻断), P53 功能丧失. 后来发现 P53 可以和腺病毒 E16 抗原形成复合物, 阻断其活化基因功能. HPV E6 抗原结合蛋白 E3(c) 后, 可以和 P53 形成复合物, 不但阻断其基因活化作用, 且可介导 P53 加速降解, 促进细胞增殖, 抑制凋亡过程[12].

(3) 转录调节因子的降解. Rb 基因产物可保护 E2F_1 不被 UPP 降解, E2F_1 在 G1_S 期起关键性调节作用, 过表达会导致向癌或凋亡方向发展, 游离 E2Fs 非常容易被降解. E2Fs 和 DPs 形成异二聚体, 活化与细胞周期和 DNA 复制有关的数个基因. 在小鼠中研究表明, E2F1 有肿瘤抑制功能. pRb 直接结合转录因子 E2F_1, E2F_2, E2F_3, E2F_4, E2F_5 和 DP_{s-1}, DP_{s-2}, DP_{s-3}. pRb 未磷酸化之前可与 E2Fs/ DPs 复合物结合, 阻断 E2F1 反式活化作用并变为反式抑制者(trans_repressor) 作用. G1 后期, cyclins/ CDKs 将 pRb 磷酸化, pRb 与 E2F1 解偶联. E2F1/ DP 在 CDKs 磷酸化下, 发挥反式激活(trans_activation) 作用. 进入 S 早期 E2F1 作用开始下降, 进入 S 中、后期, DP_1 被 cyclin A/ CDK2 磷酸化, 不能与 DNA 结合, E2F1 被降解[42].

(4) 细胞胞质分裂. 细胞周期包括胞核有丝分裂周期和胞质分裂周期, UPP 降解 Cyclins 在时间和空间上高度协调, 控制每个时相的蛋白完成功能后就必须被迅速降解, 如 Cyclin B 产生于晚 S 期, 分裂中期结束后, Cyclin B 在 2 min 之内迅速被降解, 以便保证细胞进入下一个时相. 细胞周期蛋白依赖性激酶及其抑制因子如 P21 和 P27 均被证明需要通过 UPP 降解, 一旦降解过程受阻, 细胞周期将停止. 利用甲基化泛素细胞内显微注射的方法还证明, 泛素在联会复合体的分离中水解联会复合体蛋白是一个中心环节. 我们的工作将集中在胞质分离是单纯的缢缩环机械的收缩过程, 还是包含了水解酶选择性的水解过程. 长期以来动物细胞胞质分裂被认为是肌动_肌球蛋白组成的缢缩环收缩的结果.

我们制备了 Ub 抗体, 利用间接免疫荧光技术、免疫酶 BA_AP 技术和免疫金银法观察了 Ub 在不同细胞后期至末期的分布, 实验材料包括人 HeLa 细胞系、MF 乳腺癌细胞系和中国仓鼠 V79_8 细胞系. M 期后期至末期某段时间 Ub 富集在细胞分裂沟. 利用激光共聚焦扫描显微镜不同光切面扫描到清楚地观察 Ub 抗原分布在缢缩环围绕的胞质的切面上, 而不是空的环状, 并可见中体部发生清晰的裂痕. 另外用 Ps 特异抑制剂 Z_Leu_Leu_Leu_aldehyde, Z_Leu_Leu_NLe_aldehyde, Z_Leu_Leu_Nva_aldehyde 和溶酶体酶抑制剂亮抑蛋白酶肽(Luepeptin) 比较研究. 结果在培养的 HeLa 细胞中加至终浓度 0.4 mmol/ L Leupeptin, 对细胞分裂过程略有影响, 而加入 Ps 抑制剂各组, 在浓度较低情况下即对细胞 M 期后期至末期有十分明显的阻断作用, 每组观察 10 个以上细胞[43], 见表 1.

卵母细胞排出第一极体是细胞胞质分裂的特殊形式, 选择正在排出第一极体的小鼠卵母细胞, 用上述同样的方法也发现Ub在分裂的卵母细胞分裂沟处有强的特异性积累. 蛋白水

表 1 蛋白水解酶复合体特异性抑制剂对 HeLa 细胞胞质分裂的影响

蛋白水解酶抑制剂	浓度/ mmol·L^{-1}	M 期后期至末期细胞分裂时间
空白对照		2 min40 s±58 s
亮抑蛋白酶钛	0.4	5 min31 s±2 min29 s
LLNva	0.2	17 min12 s±2 min42 s
LLL	0.2	18 min32 s±6 min20 s
LLNva+ LLL	0.1+ 0.1	21 min17 s±8 min16 s
LLL	0.4	> 25 min, 停止在后期

解酶复合体抑制剂作用 5 h 各实验组 90% 卵母细胞极体未脱落, 卵母细胞处于分裂停止状态, 对照组绝大部分脱落. 这表明卵母细胞排出第一极体的过程中, 泛素_蛋白水解酶复合体起到了选择性酶解作用. 没有这种特异性蛋白水解过程, 极体将不能与卵母细胞分离[44].

我们的工作表明细胞胞质分裂过程不单纯由缢缩环收缩所致, 泛素_蛋白水解酶复合体通路参与末期的细胞分裂过程.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: 39430080 和 39670358) 资助项目.

参 考 文 献

1 Vierstra R D. Proteolysis in plants: Mechanisms and functions. Plant Mol Biol, 1996, 32: 275~ 302
2 Hochstrasser M. Ubiquitin_dependent protein degradation. Annu Rev Genet, 1996, 30: 405~ 439
3 Ciechanover A. The ubiquitin_proteasome proteolytic pathway. Cell, 1994, 79: 13~ 21
4 Murray A. Cyclin ubiquitnation: the destructive end of mitosis. Cell, 1995, 81: 149~ 152
5 Pagano M, Tam S W, Theodoras A M, et al. Role of the ubiquitin_proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin_dependent kinase inhibitor P27. Science, 1995, 269: 682~ 685
6 Lee H W, Smith L, Pettit G R, et al. Ubiquitination of protein kinase C_alpha and degradation by the proteasome. J Biol Chem, 1996, 271: 20 973~ 20 976
7 Musti A M, Treier M, Peverali F A, et al. Differential regulation of c_Jun and JunD by ubiquitin_dependent protein degradation. Biol Chem Hoppe Seyler, 1996, 377: 619~ 624
8 Maki C G, Howley P M. Ubiquitination of P53 and P21 is differentially affected by ionizing and UV radiation. Mol Cell Biol, 1997, 17: 355~ 363
9 Musti A M, Treier M, Bohmann D. Reduced ubiquitin_dependent degradation of c_Jun after phosphorylation by MAP kinases. Science, 1997, 275: 400~ 402
10 Rolfe M, Chiu M I, Pagano M. The ubiquitin_mediated proteolytic pathway as a therapeutic area. J Mol Med, 1997, 75: 5~ 17
11 Barinaga M. A new twist to the cell cycle. Science, 1995, 269: 631~ 632
12 Miranda T, Greg M, David P, et al. Induction of apoptosis by P53 is independent of its oligomeric state and can be abolished by HPV_18 E6 through ubiquitin mediated degradation. Oncogene, 1996, 13: 265~ 273
13 Jeffers M, Taylor G A, Weidner K M, et al. Degradation of the Met tyrosine kinase receptor by the ubiquitin_proteasome pathway. Mol Cell Biol, 1997, 17: 799~ 808
14 Strous G J, Van Kerkhof P, Govers R, et al. The ubiquitin conjugation system is required for ligandinduced endocytosis and degradation of the growth hormone receptor. EMBO J, 1996, 15: 3 806~ 3 812
15 Sepp_Lorenzino L, Ma Z, Lebwohl D E, et al. Herbimycin A induces the 20 S proteasome_ and ubiquitin_ dependent degradation of receptor tyrosine kinases. J Biol Chem, 1995, 270: 16 580~ 16 587
16 Michalek M T, Grant E P, Gramm C, et al. A role for the ubiquitin_dependent proteolytic pathway in MHC class iv_restricted antigen presentation. Nature, 1993, 363: 552~ 554
17 Gopldberg A L, Rock K L. Proteolysis, proteasomes and antigen presentation. Nature, 1992, 357: 375~ 379

18 Song R, Harding C V. Roles of proteasomes, transporter for antigen presentation (TAP), and beta 2_microglobulin in the processing of bacterial or particulate antigens via an alternate class ⅳ_MHC processing pathway. J Immunol, 1996, 156: 4 182~ 4 190

19 Groettrup M, Soza A, Kuckelkorn U, et al. Peptide antigen production by the proteasome: complexity provides efficiency. Immunol Today, 1996, 17: 429~ 435

20 Drexler H C A. Activation of the cell death program by inhibition of proteasome function. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 855~ 860

21 Hochstrasser M. Ubiquitin, proteasomes, and the regulation of intracellular protein degradation. Curr Opin Cell Biol, 1995, 7: 215~ 223

22 Goldstein G, Scheid M, Hammerling U, et al. Isolation of a polypeptide that has lymphocyte_differentiating properties and is probably represented universaly in living cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1975, 72: 11~ 15

23 Schlesinger D H, Goldstein G. Molecular conservation of 74 amino acid sequence of ubiquitin between cattle and man. Nature, 1975, 255: 423~ 424

24 Ozkaynak E, Finley D, Varshavsky A. The yeast ubiquitin gene: head_to_tail repeats encoding a polyubiquitin precursor protein. Nature, 1984, 312: 663~ 666

25 Vassilev A P, Rasmussen H H, Christensen E I, et al. The level of ubiquitnated histone H2A are highly upregulated in transformed human cells: partial colocalization of uH2A clusters and PCNA/cyclin foci in a fraction of cells in S_phase. J Cell Sci, 1995, 108: 1 205~ 1 215

26 Hatfield P M, Gosink M M, Carpenter T B, et al. The ubiquitin_activating enzyme (E1) gene family in Arabidopsis thaliana. Plant J, 1997, 11: 213~ 226

27 Jentsch S, Seufert W, Sommer T, et al. Ubiquitin_conjugating enzymes: novel regulators of eukaryotic cells. TIBS, 1990, 15: 195~ 198

28 Jentsch S. The ubiquitin_conjugation system. Annu Rev Genet, 1992, 26: 179~ 207

29 Tanaka K. Molecular biology of proteasomes. Mol Biol Rep, 1995, 21: 21~ 26

30 Peters J M. Proteasomes: Protein degradation machines of the cell. TIBS, 1994, 19: 382

31 Chen P, Hochstrasser M. Biogenesis, Structure and function of the yeast 20S proteasome. EMBO J, 1995, 14: 2 620~ 2 630

32 Kessel M, Wu W F, Gottesman S, et al. Six_fold rotational symmetry of ClpQ, the E_coli homolog of the 20S proteasome, and its ATP_dependent activator, ClpY. FEBS Lett, 1996, 398: 274~ 278

33 Rivett A J, Mason G G F, Thomson S, et al. Catalytic components of proteasomes and the regulation of proteinase activity. Mol Biol Rep, 1995, 21: 35~ 41

34 Schmidtke G, Kraft R, Kostka S, et al. Analyis of mammalian 20S proteasome biogenesis: The maturation of beta_subunits is an ordered two_step mechanism involving autocatalysis. EMBO J, 1996, 15: 6 887~ 6 898

35 Tanahashi N, Tsurumi C, Tamura T, et al. Molecular structures of 20S and 26S proteasomes. Enzyme Protein, 1993, 47: 241~ 251

36 Koster A J, Walz J, Lupas A, et al. Structural features of archaebacterial and eukaryotic proteasomes. Mol Biol Rep, 1995, 21: 11~ 20

37 Dubiel W, Ferrell K, Rechteiner M. Subunits of the regulatory complex of the 26S protease. Mol Biol Rep, 1995, 21: 27~ 34

38 Tanaka K. Molecular biology of proteasomes. Mol Biol Rep, 1995, 21: 21~ 26

39 Dick L R, Cruikshank A A, Destree A T, et al. Mechanistic studies on the inactivation of the proteasome by lactacystin in cultured cells. J Biol chem. 1997. 272: 182~ 188

40 Wilk S, Figueiredo_Pereira M E. Synthetic inhibitors of the multicatalytic proteinase complex (proteasome). Enzyme Protein, 1993, 47: 306~ 313

41 Wiertz E J H J, Tortorella D, Bogyo M, et al. Sec61_mediated transfer of a membrane protein from the endoplasmic reticulum to the proteasome for destruction. Nature, 1996, 384: 432~ 438

42 Hofmann F, Martelli F, Livingston D M, et al. The retinoblastoma gene product protects E2F_1 from degradation by the ubiquitin_proteasome pathway. Genes Dev, 1996, 10: 2 949~ 2 959
43 李存玺, 王永潮. 泛素蛋白水解酶复合体通路参与细胞胞质分裂过程(科技快报). 中国科技文献摘要, 1997, 3: 620
44 乔 丹, 李存玺, 王永潮. 泛素蛋白水解酶复合体通路在小鼠卵细胞极体排放过程中的作用(科技快报). 中国科技文献摘要, 1997, 3: 618~ 619

(1997-11-18 收稿, 1998-04-09 收修改稿)

煤结构的新概念与煤成油机理的再认识

秦匡宗 郭绍辉 李术元
(石油大学化工学部, 北京 100083)

摘要 以化学共价键结合力为基础的煤的两相结构概念, 由于新的能强力溶解煤的溶剂(如二硫化碳与 N-甲基-2-吡咯烷酮的混合溶剂) 的发现而需要作相应的修正. 在煤有机大分子结构中同时包含有丰富的非共价键物理作用力, 包括氢键力、电荷转移力和 π-π 键力等缔合力, 在煤的结构单元之间起着重要的结合作用. 这里提出了包含物理缔合力的煤的复合结构新概念, 对煤成油的机理进行了再认识. 煤的复合结构的新概念扩大了传统的抽提物的范围, 从而更新了对煤成油主要母质的数量和质量的认识.

关键词 **煤成油 煤结构 成油机理**

近年来, 煤和煤系分散有机质已被国内外的大量勘探实践证明是一种重要的油源岩[1, 2], 煤成油成为当前有机地球化学领域研究的热点之一[3~ 5]. 源岩中有机大分子的化学和物理结构是决定成烃潜力和成烃反应过程的首要因素, 因此, 有关煤结构研究的最新进展, 理应受到有机地球化学工作者的深切关注.

80 年代以来, 煤的两相结构概念得到普遍的认可[6, 7], 即煤的有机质由分子量较小的活动相(mobile phase) 和三维交联的大分子刚性相(rigid phase) 所组成. 前者多为可溶的, 但其中相当一部分被囿于后者的网络结构之中, 成为难溶组分; 后者的结构单元之间由化学共价键相交联, 是煤的主体部分, 它不溶于常用溶剂, 相当于烃源岩中的干酪根. 煤的两相结构概念的一个重要实验支柱在于煤的难溶性, 但是这一概念由于最近发现了新的能强力溶解煤的溶剂而受到强有力的挑战.

1 煤溶剂抽提研究的新进展

长期以来的实验研究表明, 煤在常用的非极性溶剂中, 它的溶解度一般只有百分之几, 在一些极性溶剂如吡啶中, 对于溶解性能好的烟煤的溶解度也只有 20%~ 30% 左右. 但是近些年来煤溶剂抽提研究取得了重要进展, 饭野等人[8] 应用一种 N-甲基-2-吡咯烷酮(NMP, C_5H_9N, 沸点 202 ℃) 与二硫化碳的混合溶剂 (1∶1, 体积比), 在室温下对烟煤有极强的溶解力, 例如对我国枣庄焦煤(含碳 86.9%) 的抽出率可高达 77.9%. NMP 是一种无毒安全的有机溶剂, 具有较强极性和弱碱性, 其中的吡咯烷酮环对芳环特别对稠芳环化合物有很强的溶解能力, 如聚乙烯吡咯烷酮常用于色谱柱中以分离稠环芳烃. 吡咯烷酮环又是一种良好的氢键受体, 所含的氧与氮原子带有未成对电子, 其中羰基氧有很强的电负性, 能与煤中羟基、羧基等形