

从反应本身寻找：发展新型催化功能（蛋白基和聚合物基）以及酶功能定位的普适通用方法

作者：王天欣 wtx@wtxtech.com

催化和控制反应是化学中最根本的课题. 能够针对各种反应随意发展象酶那样高效主动的人工催化剂一直是化学家的梦想. 1986 年, Lerner RA的研究小组 [1] 和 Schultz PG的研究小组 [2] 提出了催化抗体的策略, 使得人们首次可以针对某些反应主动发展类似于酶的新型蛋白催化剂, 是这一领域的巨大突破. 催化抗体是利用人工合成的反应过渡态模拟物来诱导抗体的生成, 由于得到的抗体可以和过渡态模拟物稳定结合, 根据反应的过渡态理论, 它便可能通过稳定相应反应的过渡态而催化该反应.

但催化抗体的方法也存在着一系列根本的缺欠, 从而限制了其实际应用, 其主要问题是:

- 1) 得到的酶只能是抗体蛋白, 不能应用其它蛋白骨架, 从而限制了其结构多样性.
- 2) 难以应用辅酶和亚基.
- 3) 精确的反应过渡态模拟物往往难以设计和合成, 即使合成出来也不可能与实际的反应过渡态完全一样.
- 4) 许多反应和酶的机理尚不清除, 从而无法设计反应过渡态模拟物. 并且许多反应可能并不依靠稳定过渡态而完成.
- 5) 最重要的是, 诱导出的过渡态模拟物的抗体往往只有很高的结合活性, 却没有任何催化活性.

从催化抗体首次被提出到现在, 已有上百种催化抗体被制备, 但多因各种问题而未被实用, 只有一种在小规模工业合成上得到了应用 (实际上这种催化抗体也并非是用反应过渡态模拟物来诱导抗体制备的, 而是用Janda KD对催化抗体的巧妙改进: 活性抗原原来制备的[3]).

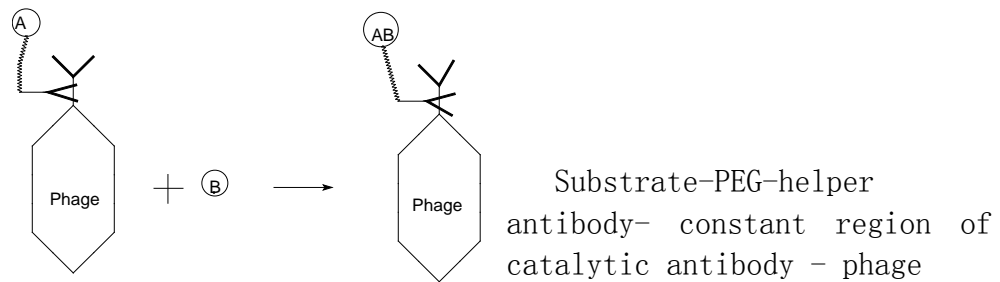
作者提出了一种全新的发展新型催化功能（蛋白基和聚合物基）以及酶功能定位的普适通用方法：从反应本身寻找. 该方法可以克服催化抗体的以上所有缺欠, 并理论上可以针对几乎任何反应.

具体方法是: 首先制备或购买一个噬菌体显示的生物大分子库, 如一个噬菌体显示的抗体库, (并不局限于抗体库, 理论上可以应用任何生物大分子库, 从而大大增加其分子多样性以利于发展新型功能). 将特定反应起始物与噬菌体连接起来, 假如这

个库中的某些噬菌体显示的抗体可以将此噬菌体上连接的特定反应起始物催化成反应终产物, 我们便可以通过针对反应产物的亲和色谱将此噬菌体筛选出来, 通过扩增, 测序或多轮再变异, 扩增, 筛选(定向进化)而得到高效的可以将此反应底物催化成反应产物的抗体. 噬菌体间的相互催化可以通过调节浓度, 粘度和固定化等方法解决.

以下给出一个基于噬菌体显示的抗体库的更具体图示. 此图示不用化学活性试剂共价固定, 而是用针对噬菌体表面特定蛋白或抗体库抗体本身的恒定区的抗体来固定底物.

1)



2)

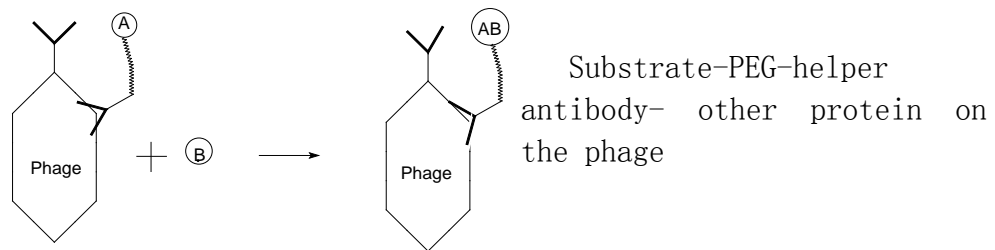


图1, 2 特定反应起始物A通过针对噬菌体表面特定蛋白或抗体库抗体本身的恒定区的帮助性抗体-聚乙二醇而被固定在噬菌体上, 在特定条件下, 它可以被有些噬菌体上显示的抗体催化与另一游离底物B结合而生成反应产物AB. 这些噬菌体可以被针对AB的亲和色谱挑出来从而得到有催化活性的抗体, 通过测序, 也可以接着变异, 扩增以进化出更高活性的抗体.

从反应本身寻找克服了催化抗体的缺点, 不需要了解反应机理, 不需要设计制备过渡态模拟物, 不会只有结合活性没有催化活性, 可以利用多种蛋白骨架. 方法的本质是将反应底物与一个允许筛选的库连接在一起, 在适当条件下在库个体上的反应起始物便会被库个体自身催化反应成反应终产物, 此库个体便可被通过其上的反

应终产物而筛选出来. 因此它也不局限于应用噬菌体库, 随着当代生物技术的发展, 可望有更多的库系统可以被此方法应用.

1997年作者提出了该方法并向催化抗体的发明者们提出了建议并得到了Janda 博士的回复, 虽然没有收到Schultz PG的回应, 数月后Schultz PG的小组发表了一篇文章应用一个已知酶作为模型证实了该方法的可行性并提出该方法可以在蛋白组研究中寻找基因组功能的对应物 [4], 但该文并未提到作者对其的建议, 由于其在从生物体内寻找具有特定功能的蛋白上的巨大的潜力可以将从基因组研究中得到的序列与蛋白的功能连接起来, 从而为蛋白组学研究作出贡献. 该方法克服了催化抗体的根本的缺欠; 现在越来越多的研究 [5, 6] 开始应用这个方法, 逐渐显示出其巨大的应用价值.

同时此方法也不局限于发展蛋白酶; 例如, 也可以应用在以高分子聚合物为载体的催化剂的发展上. 一个具体例子如下:

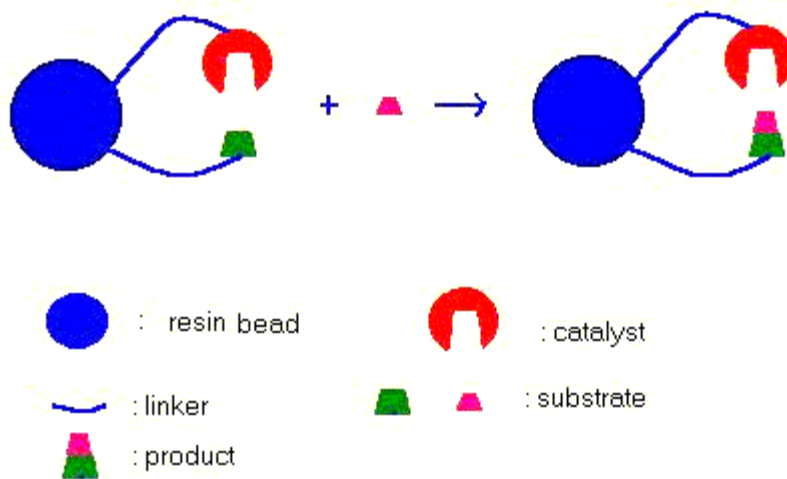


图 3 应用一珠一化合物方法构建一个化合物库以搜选人工催化剂. 底物上可以用同位素, 荧光物质等标记以方便检测催化产物, 也可以用针对产物的抗体来筛选. 从而进一步扩展了该策略的普适性.

- 1) Tramontano A, Janda KD, Lerner RA. Proc Natl Acad Sci U S A 1986 September;83(18):6736-40; Science 1986 Dec 19;234(4783):1566-70
- 2) Pollack SJ, Jacobs JW, Schultz PG; Science 1986 December 19; 234 (4783):1570-3
- 3) Janda KD, Lo LC, Lo CH, Sim MM, Wang R, Wong CH, Lerner RA. Science 1997 February 14; 275(5302):945-8
- 4) Henrik Pedersen, Holder S, Sutherlin DP, Schwitter U, King DS, Schultz PG. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998 September 1; 95 (18): 10523–10528
- 5) Liu, D.R.; Schultz, P.G. Angew. Chem. Int. Engl. Ed., 38:36-54, 1999.
- 6) Xia G, Chen L, Sera T, Fa M, Schultz PG, Romesberg FE. Proc Natl Acad Sci U S A 2002 May 14;99(10):6597-602