

抗体酶的研究与展望

Researches and Prospects of the Abzyme

许金焜¹ 张宇峰² 沈赞聪²

(北京医科大学药学院,教授¹;博士生² 北京 100083)

抗体酶自 1986 年问世以来,一直是科学界的“宠儿”,短短的 10 多年,研究的范围不断拓宽,研究的成果层出不穷,采用的技术日益先进。它集生物学、免疫学、化学于一身,采用单克隆、多克隆、基因工程、蛋白质工程等高新技术,开创了催化剂研究和生产的崭新领域,使模拟酶的研究水平发生了质的飞跃,预示着在催化化学、化学动力学、医学、制药学等诸多领域广阔的应用前景。

一、抗体酶的诞生

抗体与酶都是高分子物质,在进化过程中形成各自不同的使命。它们的结构虽然不同,但却具有两大共性:都是蛋白质;都能高选择性高紧密性地与靶分子结合;抗体特异性地结合抗原且帮助巨噬细胞摄入,并摧毁抗原;酶则高选择性地结合化学反应中特定结构的物质,并催化化学反应,使反应在温和条件下高效率地进行。

但酶的种类与抗体的种类相比简直不可同日而语,已知的酶仅有几千种,而抗体种类达千万种之多。从原则上讲,免疫系统能对任何抗原产生抗体,因而抗体的种类是无穷尽的。如果能赋予抗体以酶的催化活性,则无疑可使酶的王国极大地扩展,使温和条件下高选择性高效率的化学反应极大地增加,其前途和效应都是不可估量的。

时至今日,酶催化反应的理论多达 23 种。其中,诺贝尔奖二次得主鲍林于 1946 年提出:酶催化化学反应的原因在于酶与高能态的过渡态相结合,从而

大大降低了化学反应的活化能。他还预言:对于某种酶催化的反应,则存在某种稳定分子,其结构与化学反应的过渡态相似,此过渡态相似物能与该酶紧密结合,从而阻化酶催化反应。在过去的 30 多年中,大量这样的过渡态相似物已经合成出来,并实实在在地起着酶反应的阻化剂的作用。

受鲍林理论的启发,詹柯斯于 1969 年提出:抗体若能与化学反应的过渡态结合,则这样的抗体必具有催化性能。这就意味着,抗体一旦能与过渡态相结合,它就具有酶的性质,即在温和条件下高效专属地催化化学反应。

使抗体兼具有酶的性质,其意义之重大是不言而喻的,其难度也是可想而知的,它激励着科学家们孜孜以求、不懈努力地探索。

初看起来,有了鲍林的理论 and 詹柯斯的假设,兼具酶性质的抗体——抗体酶似已呼之欲出了,但要把理论变为现实,往往有赖于技术上的重大突破,而单克隆技术的成功为抗体酶的问世最后铺平了道路,终于在 1986 年,罗诺和斯库兹分别在科学杂志上报道了获得抗体酶的喜悦。

二、抗体酶的制备

抗体酶通常采用诱导的方法,即单克隆技术来制备。因为过渡态极不稳定,是一种稍纵即逝的结构,其寿命约为 10^{-13} 秒,因此不可能用它对动物进行免疫。用 1 个或几个其它原子或原子团取代过渡态的特定原子或原子团获得在形状、电性、酸碱性等诸

至今仍然处于生存、发展的危机和困惑之中。在西方提出“回归自然”和“重视传统医学”的今天,中医生存与发展的危机与困惑,竟然出现在中医的故乡,令人汗颜,催人自省。无论如何这是无法向国家、民族和历史交待的。

1996 年春,在回答某报记者关于中医发展前景的看法时,笔者当时的说法是:中医正处于逐步消亡的边缘,也处于新的突破的前夜。我以为,“君子生于忧

患”,多一点生存危机并非坏事。好在中国和世界人民的健康需要中医,中国的社会进步与经济发展需要中医。所以,客观的需要与生存的危机,都在推动着中医走出困惑,获得新生。百年的历史终于使我们明白:走出“中医西医化”的误区,是摆脱中医生存危机、获得健康发展的决胜之举,因为生存与发展是一个统一体。中医自身的科学规律是其生存的基因,生存就孕育着发展。
(责任编辑 蔡德诚)

方面与过渡态相似的稳定物质,即过渡态相似物,然后用它作为半抗原和载体蛋白一起对动物进行免疫,最后取免疫动物的脾细胞与骨髓肿瘤细胞进行杂交,其杂交细胞就会源源不断地分泌单克隆抗体,经筛选和纯化,可得抗体酶。

抗体酶亦可用拷贝的方法获得。用已知的酶作为抗原免疫动物,通过单克隆技术,制得抗该种酶的抗体。再以此种抗体免疫动物,再次采用单克隆技术,经筛选与纯化,就可获得具有原来酶活性的抗体酶。因为抗原与该抗原产生的抗体具有互补性,经过上述两次拷贝,就把酶的活性部位的信息翻录到抗体酶上,使该抗体酶能高选择性地催化原酶所催化的反应。这种方法虽然不能产生新的催化反应,但对自然界来源稀少的紧缺酶,不失为一种有价值的有潜力的方法。

抗体酶的另一来源为天然抗体酶。近来,已在全身红斑狼疮病人的血清中分离出抗体酶,它具有催化水解 DNA 的活性。这提示人们:在有免疫性缺陷的病人体内存在着抗体酶。

此外,通过基因工程、蛋白质工程和化学修饰等方法亦可制得抗体酶。将编码的人工合成的基因转入细菌或酵母的表达系统,采用突变等手段随机产生抗体,经筛选和纯化可得抗体酶;或对抗体进行化学修饰,引入酶的催化基团,把抗体改造为抗体酶。

可以预期,随着科学的不断进步,抗体酶的制备方法将日益先进。多克隆技术、多次免疫和细胞杂交的交替应用、基因工程等将会不断地推陈出新;更方便更快捷更价廉的生产技术将会不断涌现,因此抗体酶的性能也会不断地提高。

三、抗体酶涉及的领域

时至今日,抗体酶家族已初具规模,具有数百个成员,它们的性能业已测定,与没有催化的化学反应的速率常数相比,抗体酶催化化学反应的速率常数大都达 10^3 倍,更有甚者,个别的抗体酶速率常数达 10^7 倍,完全可以与酶相媲美。

目前,研究较多的抗体酶的反应有:酯水解反应、酰胺水解反应、环合反应、形成酰胺键的反应、克莱森重排反应、脱羧反应、三苯基水解反应、过氧化反应、烯烃的异构化反应、氧化—还原反应、加成—消除反应等。

科学家已合成了诸多的过渡态相似物,并作为半抗原免疫动物。随着研究的不断深入,提出了许多新问题:哪些类型的化学反应可以由抗体酶催化?如何制备性能优异的抗体酶?抗体酶的催化效率如何?是否存在上限?所有这些问题既具有挑战性,又非常引人入胜。

现在较一致的看法是,过渡态相似物起着举足

轻重的作用。已经总结出一些指导性原则:形状互补、电性互补、酸—碱互补等。一般说来,若过渡态相似物含有芳香环的疏水化合物,其作为半抗原的效果较理想;若过渡态相似物为极性强的亲水性小分子,其作为半抗原的效果较差。

四、抗体酶存在的问题及可能的对策

对绝大多数的抗体酶说来,其催化能力一般为酶的 $1/1\,000$ 。究其原因,与酶的几乎完美无缺的结构相比,抗体的结构要简单得多,它由两条重链和两条轻链组成。况且,酶经过了几百万年的进化,而抗体酶仅是经几星期或数个月的诱导而产生的,在结构和功能上当然不可同日而语。再者,严格说来,完全和过渡态一样的稳定分子是不存在的,过渡态相似物毕竟不是过渡态本身,其形状、电性、键长、键角、极性等均有差异,其转动能级和振动能级亦不会相同。可以推测,假如过渡态能稳定存在,用它诱导产生的抗体酶的性能必定优于用过渡态相似物诱导获得的抗体酶。

此外,抗体酶的存在率低,制备过程费时费事且价格昂贵。

人们已做出种种努力以提高抗体酶的催化活性和效率,采取的方法有以下几种:

(1) 克隆免疫反应因子的基因 通过扩增免疫动物的脾细胞或杂交细胞的 mRNA,得出单独产生重链和轻链的噬菌体文库,然后通过载体中存在的非对称限制点位使之重新组合。这样的含上百万个高水平表达的轻链和重链片断的文库可在大肠杆菌中表达和组装。这样,既保留了亲本单克隆的识别及亲和特性,又利用了免疫因子的多样性,可以在更多的抗体中选择抗体酶。

(2) 改善过渡态相似物的设计与合成 特别是改变半抗原的抗体结合点位的亲水/疏水性质。在半抗原中引入带电荷的基团,它相应诱导出的抗体中的互补性功能团对底物产生协同作用,半抗原中的中性氨基酸可以诱导抗体产生氢键,半抗原中的大片非极性表面诱导抗体产生疏水袋。这些均在不同程度上提高了相应抗体酶的催化性能。

(3) 抗体结合点位的化学和遗传修饰 或是通过抗体结合点位的选择性化学衍生,引入天然或人工合成的催化基团;或是利用点位专一性突变,引起抗体结合点位氨基酸的改变,在二硝基苯和磷酸胆碱专一的抗体的活性点位引入组氨酸,增加了抗体酶的催化性能。

(4) 多种半抗原的综合应用 过渡态相似物与过渡态总是存在差异,但是要做到过渡态相似物的某一部分与过渡态的相应部分相同却是可能的。可

(下转第 64 页)

制、技术投入规模和方式、技术队伍建设等环节的同步推进。瞄准技术发展的前沿,从山西自身特点和需要出发,坚持引进与开发相结合的方针,采取政府支持下科研院所、大专院校、企业单位共同开发和联合攻关的方式,也许是可持续发展技术能力建设最为有效的形式。

山西作为国家主体之下的一个省区,在制度建设方面既有其一定的局限性,也有其自身的制度调控空间。随着国家可持续发展战略的不断推进,全国性的政策、制度和管理方式必将发生相应的变化。就山西而言,制度支撑能力的突破策略是:改进补充与革新重建并举,局部攻坚与整体渗透并行,重点突破与配套建设同步。具体地讲,一方面,要对现有的制度、法规、政策、规定等进行全面的审查、修订,对那些与可持续发展精神相抵触的条款、内容进行修改,同时进行相应增补、完善工作。另一方面,组织力量进行可持续发展地方法规和政策的研究工作,条件成熟时进行法案条例的起草并正式立法,为可持续发展的全面推进做好适当的制度安排。从近期具体工作来看,成立适当的可持续发展管理和协调机构(如山西省 21 世纪议程管理中心),组建一支稳定的可持续发展专家队伍(从事研究、咨询、技术指导、法规起草等工作),建立相应的可持续发展管理体制,

(上接第 17 页)

以合成多种的过渡态相似物,每一相似物都与过渡态的某一部分相同,以这样的相似物连续免疫动物,多次地采用杂交技术,最后所得的抗体酶的催化性能就能优于单一相似物所诱导的抗体酶。

(5) 在抗体酶中引入辅助因子 这些辅助因子可以是天然的,也可以是人工合成的。

五、抗体酶的应用前景

抗体酶的研究是当今科学前沿多学科研究的交汇点,吸引着合成化学家、生物学家、免疫学家、化学动力学家、催化学家的格外关注。它突破了传统的胶束、大分子、配位化合物等模拟酶的框框,开辟了崭新的模拟酶研究的方向,开辟了催化剂研究的新领域,无论是在理论探索方面或是实践应用方面,都具有极其广阔的前景。它将在医学、化学、生物学、免疫学、制药学等诸多学科中发挥重要的作用。

(1) 可以使不可能发生的化学反应变为可能。

(2) 可以使苛刻条件下的化学反应在温和条件下实现。

(3) 可以选择性地催化平行反应中的某一反应,从而大大增加产品的产率。它可以实现有机化学家梦寐以求的不对称合成,只催化生成某一光学异构

显得十分紧迫和必要。

在以上三个方面取得明显突破之后,可持续发展能力建设重点应当适当向中间层次转移,把公众参与作为接续突破的主要对象,借助制度的规范和调动能力,以可持续发展观念意识为支撑,建立起公众参与可持续发展的渠道、机制、体制和有效方式,通过广大群众的积极性、主动性、创造性推动可持续发展事业的全面进步。当然,相关制度的构建、技术的支撑是一个长期、渐进的过程,突破之后的接续工作也是十分重要和关键的。

参考文献

- [1] 国家计委,国家科委. 中国 21 世纪议程. 北京: 中国环境科学出版社,1994
- [2] 刘思华主编. 可持续发展经济学. 武汉: 湖北人民出版社,1997
- [3] 北京大学中国可持续发展研究中心. 可持续发展之路. 北京: 北京大学出版社,1994
- [4] 山西省计委,山西省 21 世纪议程. 太原: 山西人民出版社,1999(即出)
- [5] 董小垲,张复明. 可持续发展: 兴晋富民的战略选择. 国土与区域经济,1995(2)

(责任编辑 孙立明)

体的反应,使原料的利用率大大提高。

(4) 在不久的将来,有可能研究成功蛋白质氨基酸序列快速分析的抗体酶,从而大大简化和加速蛋白质氨基酸序列的测定。

(5) 病毒蛋白在水解过程中的过渡态相似物诱发的抗体酶,可作为医学上的接种疫苗。

(6) 指导未知酶的寻找。有些反应,如 Cope 重排和 Diels—Alder 反应,明明知道是酶催化的,但时至今日,人们对催化上述反应的酶仍一无所知,对这些反应的抗体酶的结构和功能的研究无疑会对未知酶的寻找提供方向性的提示。

(7) 通过对抗体酶的研究,对其过渡态相似物结构的研究,无疑对确定基元反应的过渡态提供十分有用的信息,为确定化学反应机理提供依据。

短短的 10 来年,抗体酶的研究获得了迅猛的发展,取得了长足的进步。人们常常感叹裁缝手艺的精巧绝伦,而现今,科学家正在使动物的免疫系统成为制造催化剂的“高级裁缝”,使它根据过渡态相似物的几何形状、电性结构、酸碱性质等“量体裁衣式”地制造抗体酶,使科学迈向催化剂制备的自由王国,这将使人类朝实现控制化学反应的目标不断逼近。

(责任编辑 肖庆山)