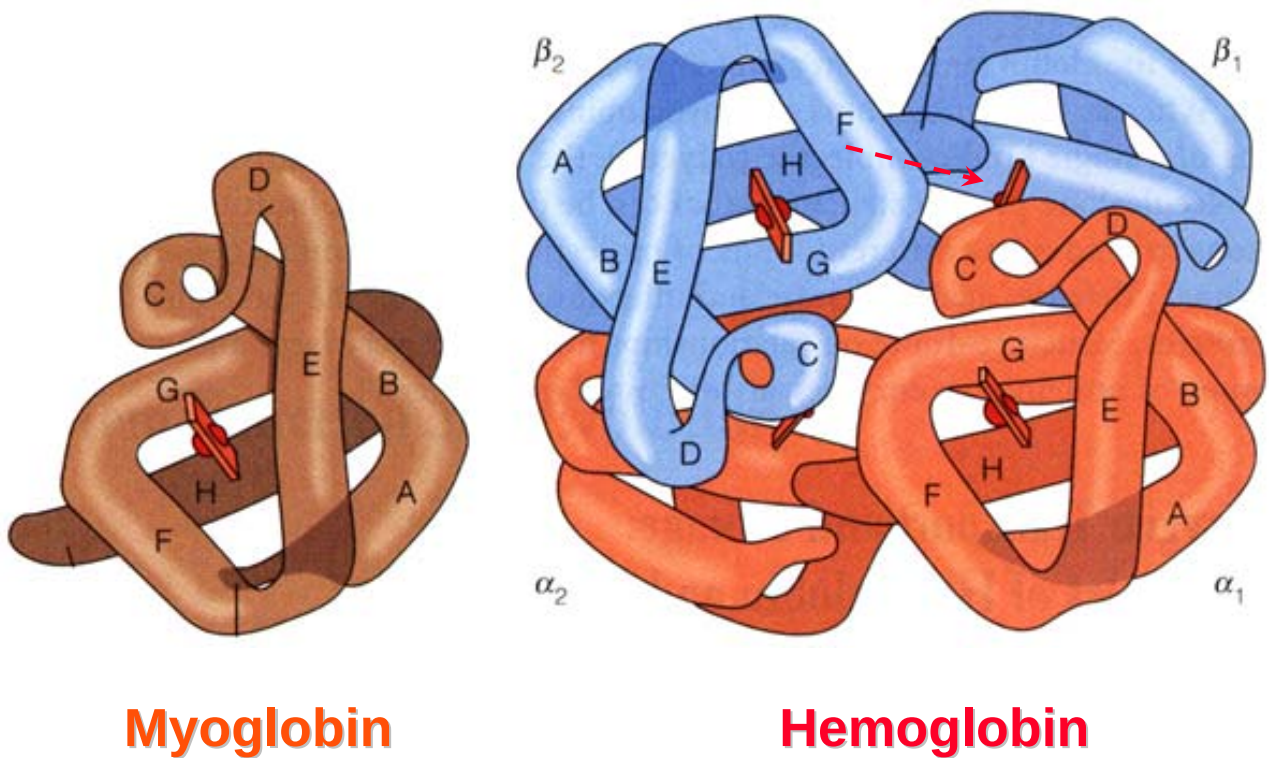


四級構造 (Quaternary structure)

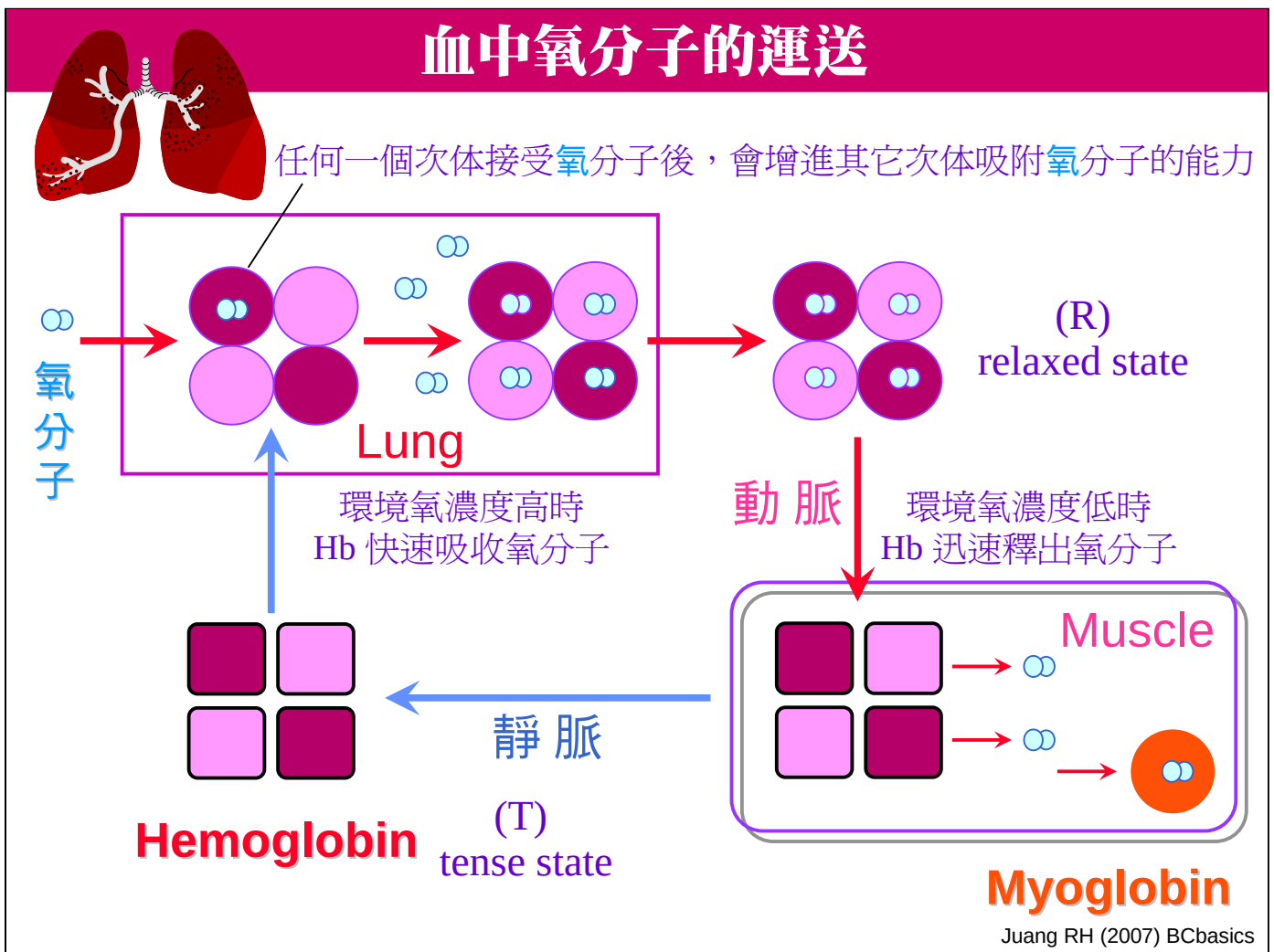


Mathews et al (2000) Biochemistry (3e) p.214

四級構造 的妙用，可以 血紅蛋白 (Hb) 與 肌紅蛋白 (Mb) 的例子說明。Hb 是四元體，有所謂的四級構造；Mb 為單元體，只有三級構造。四元體的 Hb 在血液中循環，到肺部攜帶氧分子，然後送到肌肉，交給單元體的 Mb。細胞為何有如此的安排？其目的與機制又是如何？

請注意 Mb 的四元體雖然看起來都很相似，其功能也都一樣，但卻是由 α 及 β 兩種次體以 $\alpha_2\beta_2$ 兩兩配合而成。這兩種次體，是分別由兩個獨立基因表現出來，在細胞質中各取兩個組裝起來。

血中氧分子的運送



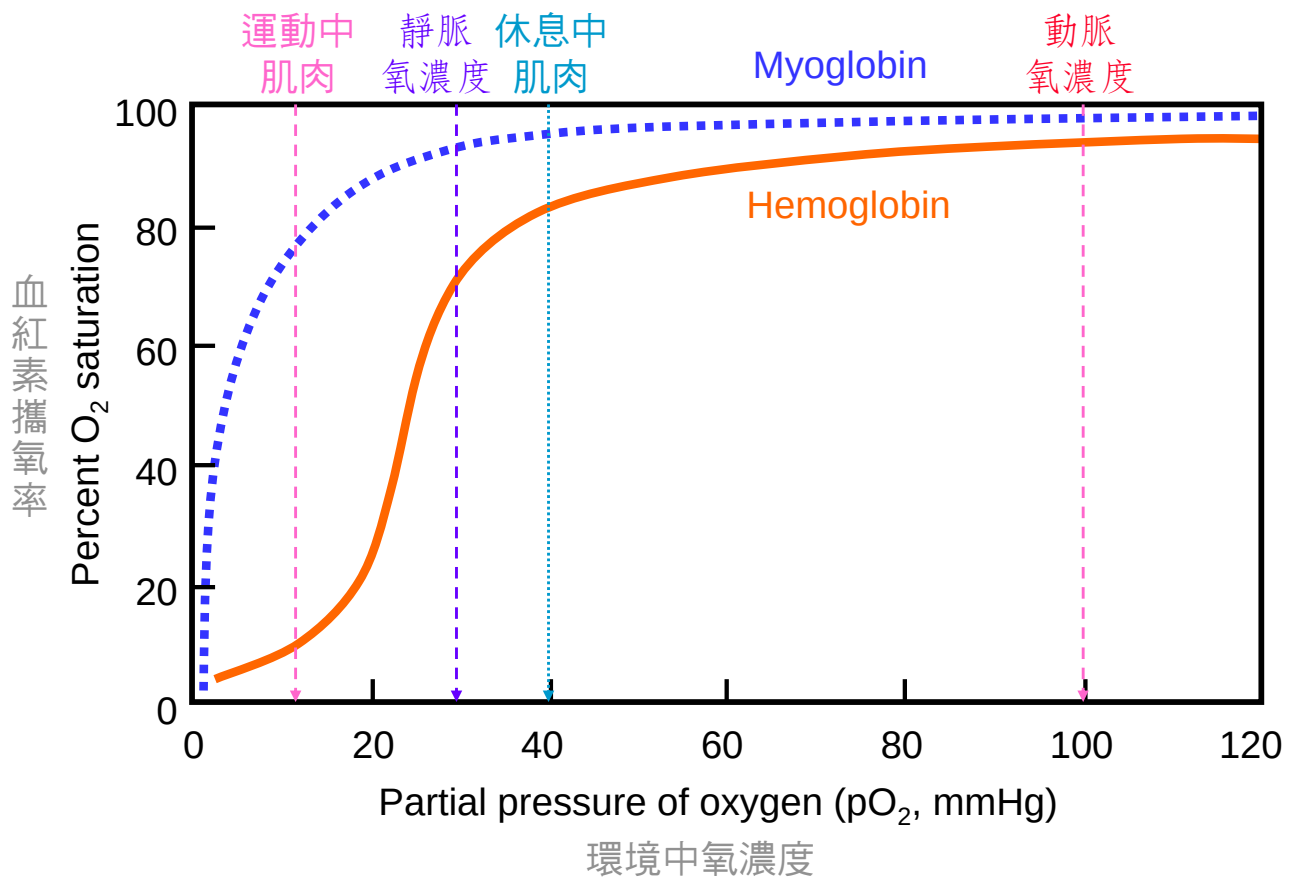
Hb 在血中循環，經肺泡取得氧分子，運送到肌肉中，下載給 Mb。因此 Hb 必須知道，何時該吸收氧分子，何時該放出。也就是說 Hb 必須有感應氧分子濃度的能力，同時還得做出吸收或放出的動作。這些能力都源自其四級構造的組成。

在靜脈中 Hb 大都不載有氧分子，這時候它的四個次體分子，都處於一種休息狀態，結合區不容易讓 heme 接受氧分子。當 Hb 循環到肺部時，環境的氧分子濃度提高了，當四個次體的任何一個分子接上一個氧分子後，馬上會牽動其它次體，使得其它次體的分子構造舒張，變得很容易接受氧分子。因此在肺部的 Hb 都很容易地滿載氧分子，經動脈輸送至肌肉。若當時肌肉相當勞累，需要大量氧分子的補充，其酸鹼度會降得比較低，Hb 就更容易釋出氧分子，而 Mb 則一味地吸收 Hb 所下載的氧分子，並無調節作用。放下氧分子的 Hb 就回復休息狀態，循著靜脈流回肺部。

蛋白質的實際構形，都不是固定不動，其分子會有某些程度的運動，上述的 Hb 分子也是如此。當其處於休息狀態時，是分子較為緊密的構形，稱之為 tense (T) 型；反之，若其構造較放鬆，則基質或其結合對象比較容易進入，稱之為 relaxed (R) 型。T 與 R 型的變化，對酵素分子的活性調節也很重要，在酵素部分會提到。

問題：想像一下，若血液中只有 Mb，則人類的生理會有何種改變或災難？

血紅素的攜氧率受環境氧濃度影響

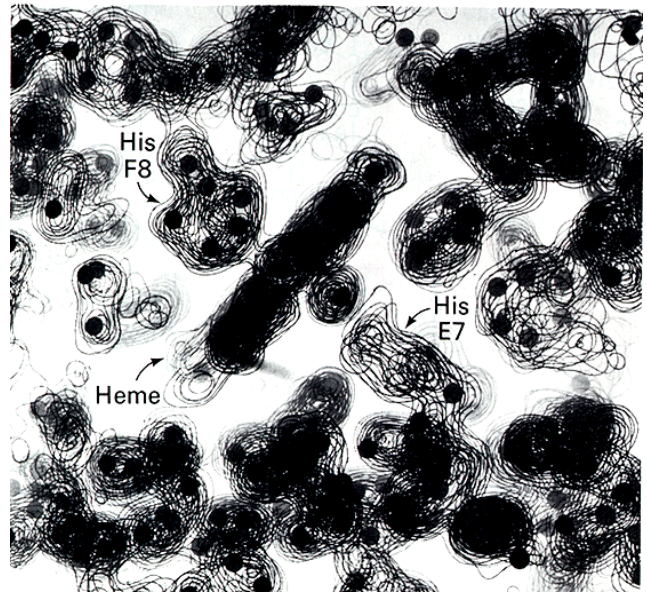
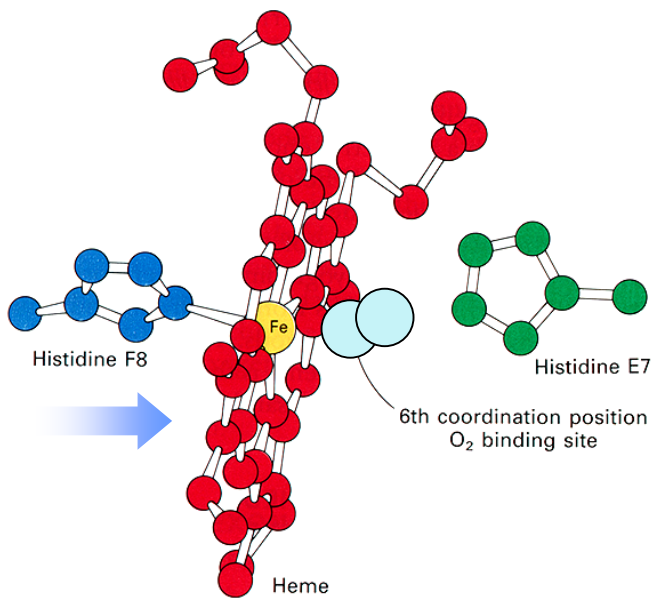


Hb 血紅蛋白是很有智慧的分子，它的行為曲線呈現一種 S 型的方式。也就是在低氧濃度時，它對氧分子的吸收作用並不強，但在高氧濃度時，就有很強的吸收能力。反之，**Mb** 就不管氧濃度如何，一味地吸收所有的氧分子。這是因為兩者所分佈的地點不同，所負擔的生理意義也不同。

上圖比較了 **Hb** 在運動中的肌肉，與在動脈中的攜氧能力，有顯著不同。因此 **Hb** 會在高氧濃度的肺部中盡量攜帶充分的氧分子，等循環到肌肉的低氧濃度環境，便會大量釋出氧分子，給在地方的 **Mb** 去攜帶，以便供給肌肉細胞使用。

問題：由上圖看來，Hb 感受氧的濃度大約是多少？

血紅素中負責攜氧的血基質 heme



以 X 光繞射法決定分子構造

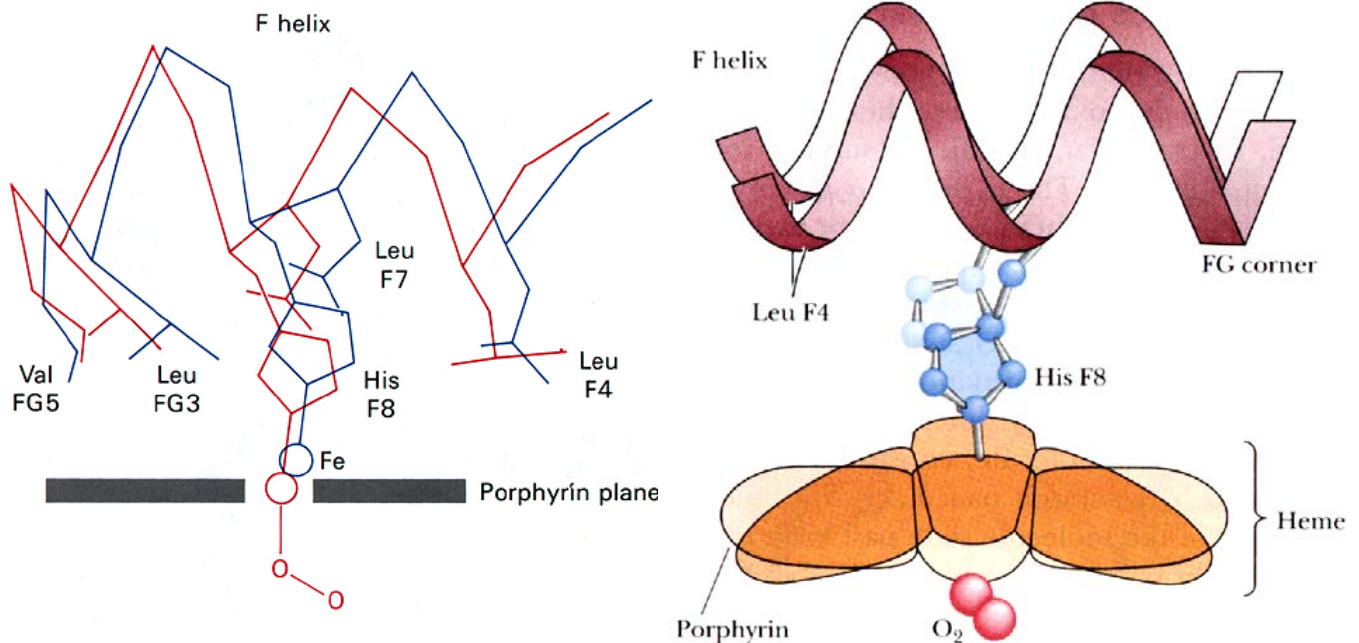
Stryer (1995) Biochemistry (4e) p.151

血紅蛋白 貯藏氧分子的地方，是在其分子上的 heme，heme 分子中央有一個鐵離子，氧分子便是與此鐵離子結合。鐵在 heme 上面是被四個氮以配位鍵抓住，但是過渡元素的鐵原子可以有六個配位鍵，另兩個則由 Hb 的兩個 His imidazole 側基所供應。但是 E7 上面的 His 結合較淺，並有一空間讓氧分子取代，如此則可攜氧。

問題：上右圖由 X-ray 繞射顯像可以精準地看到這些鍵結情形，你知道這張看來像地形圖的立體構造，是如何畫出來的嗎？

■ 請到 Lehninger Principles of Biochemistry (4e) p. 136 查看決定蛋白質構造的幾個方法。

任何次體吸收氧分子後牽動骨架



Stryer (1995) Biochemistry (4e) p.163

Garrett & Grisham (1999) Biochemistry (2e) p.486

原先 沒有氧原子時，E7 His 與鐵的配位並不強，因此 heme 平面稍稍被 F8 His 拉過去，呈現一點凹面。若氧分子進來取代 E7 His，就會把此平面拉平，而 F8 His 也會跟著被拉動，並牽動整條 F8 helix。此一牽動波及整個分子，且傳到其它的 Hb 次體上，拉動他們的分子結構 (T form → R form)，使得氧分子很容易進入。

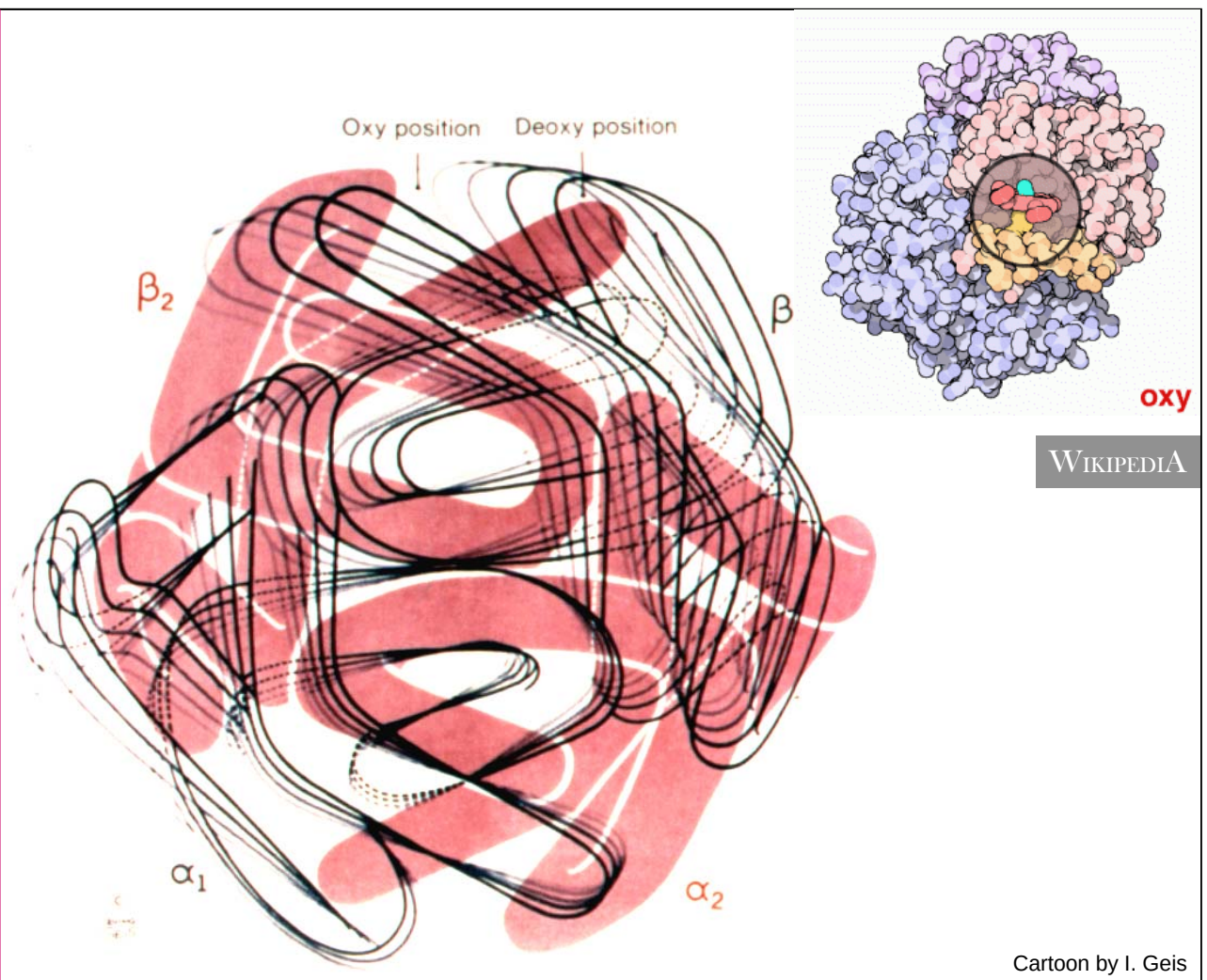
這樣的結果是，若 Hb 分子上的任何一個次體接受到氧分子，將會使得其它的幾個次體構造改變，大大提高它們結合氧的能力，是一種感受環境氧分子的機制。因此，環境的氧分子濃度可調節 Hb 的攜氧能力，使 Hb 能夠判斷何時要吸收，何時要放出氧分子。

有沒有覺得 Hb 比 Mb 有智慧？Hb 很清楚自己何時應該努力工作，何時可以休息；而 Mb 只是一昧豪奪，拼命吸收，沒有節制。

問題：Heme 並非蛋白質，必須經由代謝路徑製造之，比較麻煩且耗費能量。然而由上述 heme 的功能看來，heme 的構造沒辦法以胺基酸的組合來取代，請說明之。

■ 請先到 Lehninger Principles of Biochemistry (4e) p. 855 查看 heme 的合成代謝路徑。

牽一髮動全身 所有次體均受影響



這張 卡通當然是 I. Geis 所繪，相當傳神地表現出，Hb 四元體分子間的牽動，以及影響分子構形的程度。Geis 的蛋白質立體繪製，都依據精確的科學數據，因此上圖的抖動情形都是相當接近事實的。

■ 請到 Wikipedia 查詢 hemoglobin，就有上右圖的動畫。

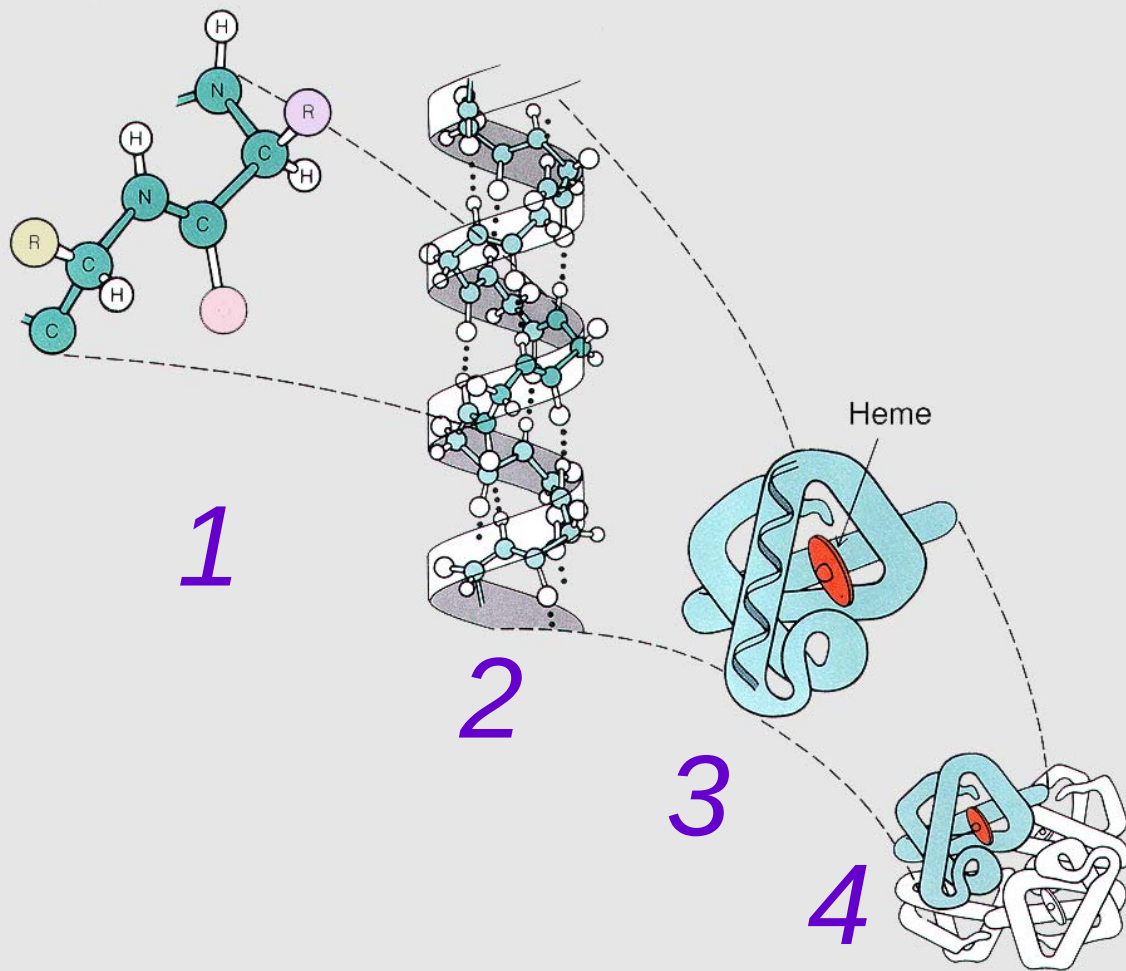
四方聯郵票好像有四級構造的效果



Juang RH (2007) BCbasics

使用 四方聯郵票有點像四級構造的機制。當你要撕下第一張郵票時，要撕兩次，最為麻煩。第二及第三張只要各撕一次，然後第四張根本不用撕。這是因為每次撕開時，都會改變其他郵票的環境。

蛋白質的四級構造



Mathews et al (2000) Biochemistry (3e) p.195

上圖 由左至右依序說明，如何一級一級組成血紅蛋白的最後構形，而形成一個有活性的分子。有很多蛋白質在三級構造即有完整活性 (如 Mb)，但有些則需要再組成四級構造 (如 Hb)，以利更複雜的生理功能。

問題：請自己思考這個問題，就是四級構造的各次體之間，是由何種力量所連結？

組合

P4-8

蛋白質四級構造的意義

一級構造 (胺基酸序列)



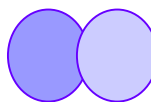
二級構造 (α helix, β sheet)



Domain (區塊 $\alpha\alpha\beta\beta$)

三級構造 (monomer) 



四級構造 (dimer) 

有形体？

序列



構形



活性



調節

有生命？

有智慧？

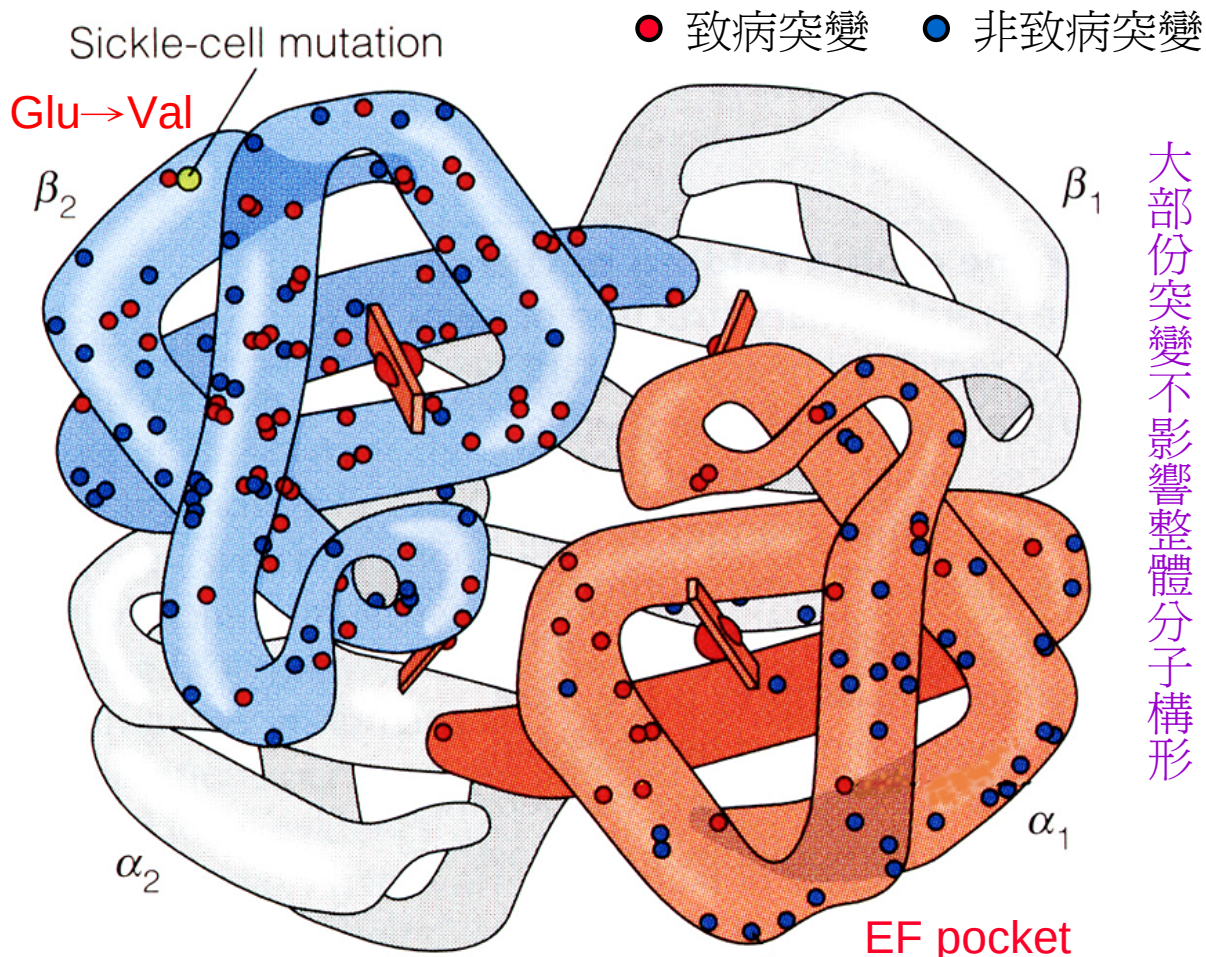
Juang RH (2007) BCbasics

蛋白質 的四級構造區分，不只是構造的組織方式，而且有生理功能上的重大意義。

單獨看一級構造時，其胺基酸序列只是一條胺基酸的連續排列，沒有人能說它是有生命的。當此胺基酸序列漸漸捲成二級構造，生成 α helix 及 β sheet 等固定結構，再集成三級的獨立單位，蛋白質因為有了固定的構形，產生了催化活性或生理功能。而當數個如此的三級構造進一步組成四級構造，分子似乎會有思辨能力，知道何時該有較大的活性，何時該休息。具有活性的蛋白質巨分子，已經是生命細胞的基礎；而具有辨別力的四級構造，則似乎有所謂的智慧了。

回想一下宇宙的生成，起先是基本粒子的組成，接著是一連串的組合，由小分子組成巨分子，到了巨分子的蛋白質，竟然還是繼續以組合來達成某些特定的功能。這些大大小小的分子，組成了細胞膜、染色體、器官組織等，也組成了生命。

鐮形血球症因於一個胺基酸之改變



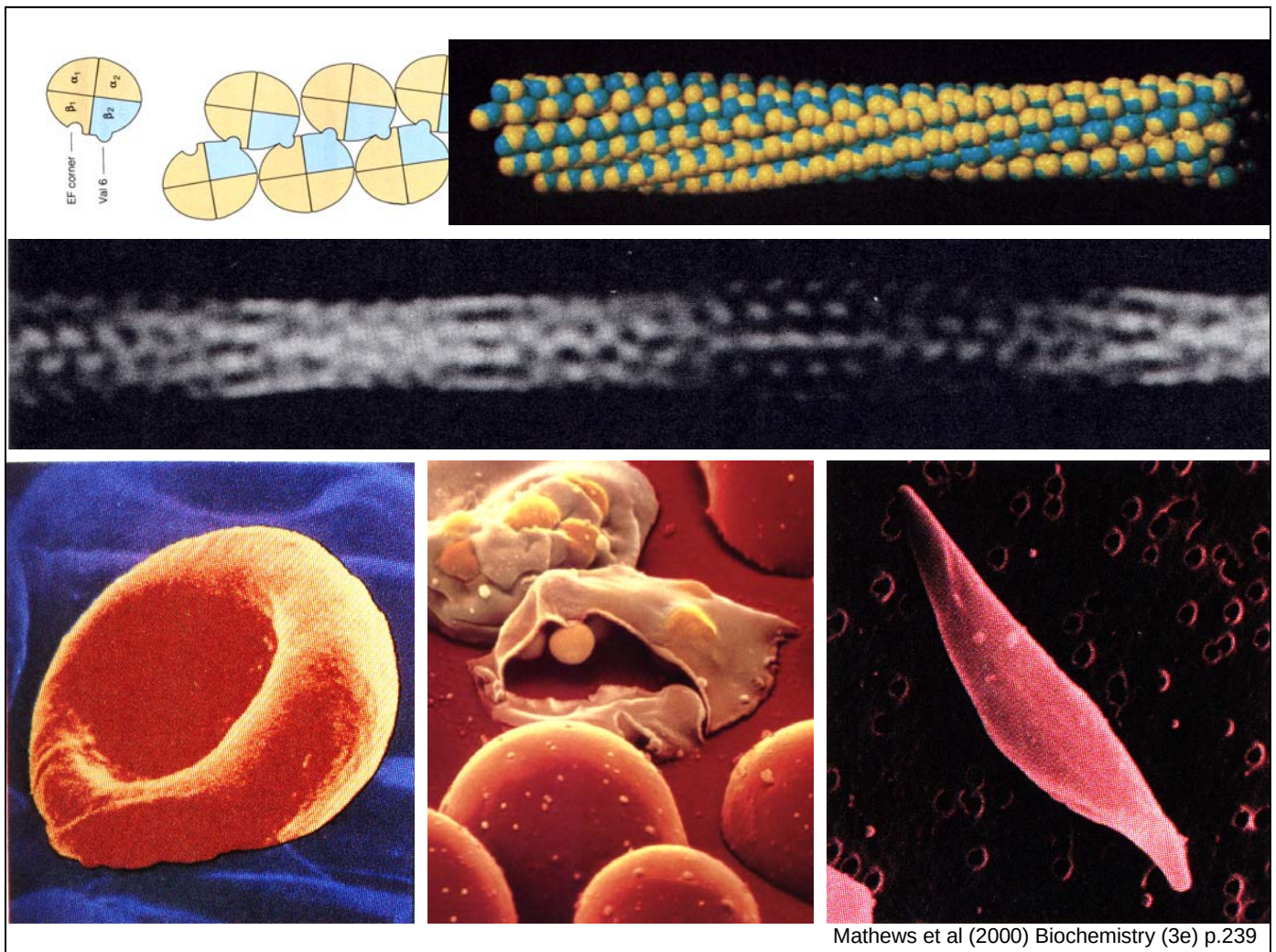
Mathews et al (2000) Biochemistry (3e) p.236

蛋白質 這樣一級一級地組合，其目的當然是要組成具有活性的分子，最好還能有調節作用。那麼，這些目的是如何達成的？這是因為蛋白質分子形成了特定的立體構形，利用此構形達成其生物活性。由四級構造推回去，可以發現構形的根本，就是一級構造的胺基酸序列，因此蛋白質的序列就是活性的根本，再往上推核酸序列就是生命的源頭－核酸。這樣當然非常正確，也合乎所有的生命法則。但是真正的生命現象還稍微複雜一點。

若以演化的全面性角度來看，構形的重要性，有時會凌駕蛋白質的胺基酸序列，或者核酸序列。血紅蛋白的演化歷史極久，所散佈的生物種類也非常多，當比較各種遠近親緣生物的血紅蛋白時，發現各種生物的蛋白質序列，因為演化的關係而有相當大的變異，但所有 Hb 的分子構形，卻大致不變。而一些重要位置的胺基酸，例如與 heme 結合的胺基酸永遠不會改變。

因此，若有人問你到底蛋白質的序列重要，還是它的構形重要？他一定是在找你麻煩。折衷的回答是，整體來說，當然要靠正確的胺基酸序列，才能有正確的構形；但是，假如胺基酸要變化，只要維持正確的構形，那蛋白質大致是活得下去；然而，那些對構形或者活性具有關鍵性影響的胺基酸，則絕對不能改變（其所對應的基因序列也不能變）。因此，兩者是互為裡表，互相影響的。

胺基酸的突變，因此有的不很嚴重，有的可能就會致命；鐮形血球就是因為血紅蛋白分子上的一個胺基酸突變所造成的。這個研究由 Pauling 所主導，他也把這種源自分子層次變異，所造成的疾病命名為 molecular disease。



镰形血球 是因為其中的血紅蛋白，有一個胺基酸突變，由 Glu 變成 Val，側基變成較大的非極性基團；此一改變，剛好使得血紅蛋白能夠一個接一個地連結起來，成為一個巨大的長條狀構造，其長度可到把血球撐開來，看起來像鐮刀，因此稱為鐮形血球。

這種突變會造成呼吸困難而致死，本來應該無法在地球上生存，但是在非洲瘧疾肆虐的地區，卻意外的發現，瘧疾原蟲無法在鐮形血球中寄生，因此反而成了有利的基因。

問題：你能否把 Glu 與 Val 的分子構造精確畫出來？以便比較其分子大小與帶電性，然後考量這樣的改變，如何影響一個分子？

構形

Conformation

構形 是蛋白質的一切。

若沒有正確的構形，蛋白質將喪失其活性，在細胞內也會很快被消滅。
蛋白質的一切行為，都可以其構形來說明；而構形的形成，乃根基於其一級構造的胺基酸序列；後者又是由基因上核苷酸序列所轉譯而得的。

Juang RH (2007) BCbasics

構形 幾乎是蛋白質的一切 (稍微保守一點)。

蛋白質的各種功能中，沒有任何一項是與其構形無關；也可以說是蛋白質的外形，造就了它所有的功能；而形成正確構形的指令，就藏在其一級構造的胺基酸序列當中。另外，絕大部份的性質，也都與構形有關；只有分子量、等電點，並不在乎有無正確構形，主要是決定於其胺基酸的排列順序。因此，蛋白質的一級構造可說極為重要，但只有一級構造還是無法順利推算出正確的蛋白質構形，到目前都還是科學界的一大挑戰。

幾年前，我曾懸賞若能舉出任何蛋白質的功能，與其構形無關，我將付出一千元台幣。到目前沒有人領賞，這個挑戰還繼續有效。(哈哈！我一定贏。因為 ... 所以蛋白質一定不會有活性的。)

四級構造的功能與效用

■ **活性調節作用：** hemoglobin

可調節酵素催化活性的開啟或關閉

■ **酵素複合体：** pyruvate dehydrogenase

聚集數種酵素在一起可提高催化效率

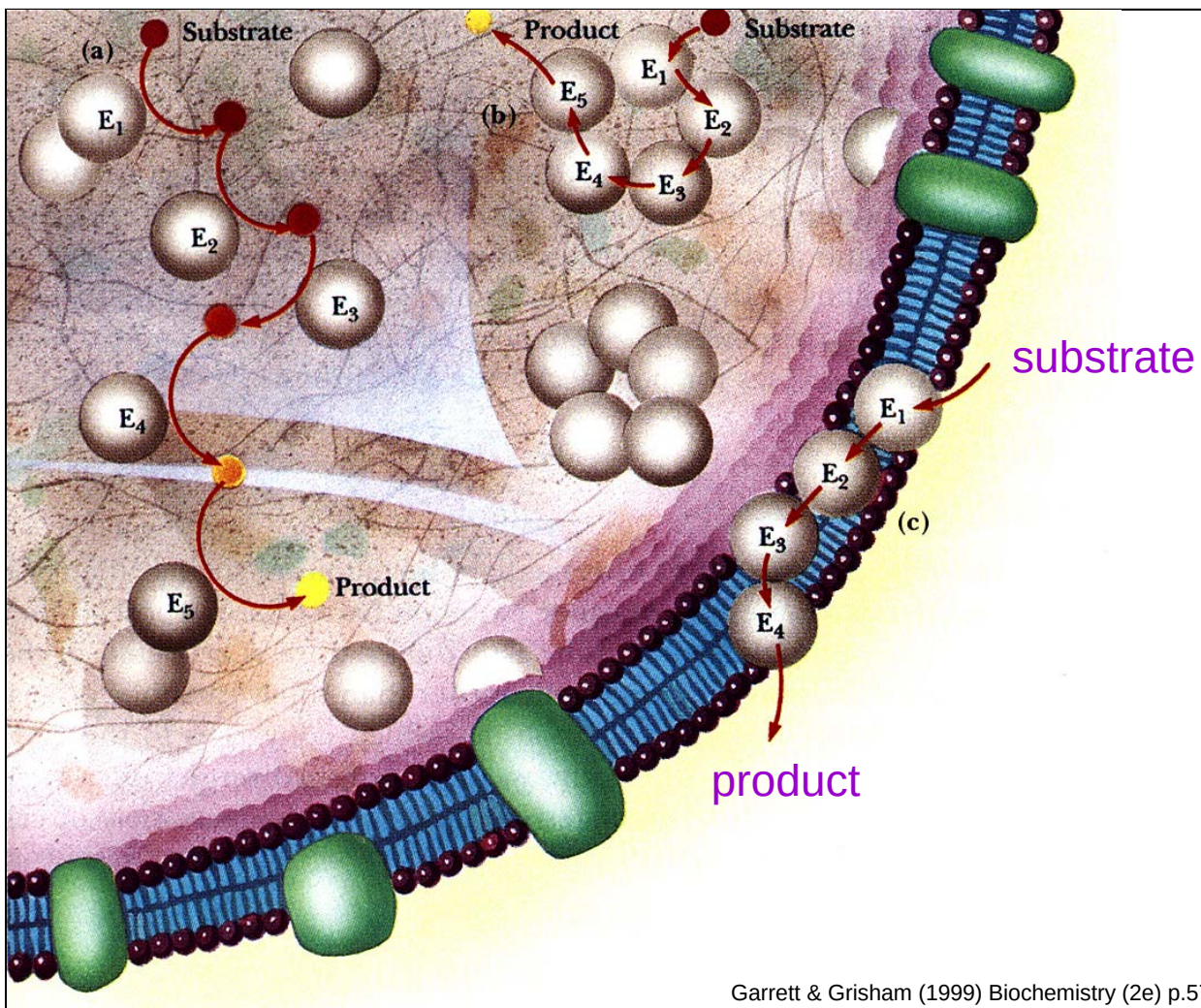
■ **組合構造組織：** actin, myosin, virus

小單位蛋白質聚集成為生物體的構造成份

Juang RH (2007) BCbasics

蛋白質 為何要再聚成四級構造？原因不外 (1) 蛋白質或酵素活性的調節與 (2) 組成生物的構造。Pyruvate dehydrogenase 是極特殊的酵素複合體，包含三種酵素，剛好可以催化三個連續的反應，這樣的複合體，可使反應效率增加很多。

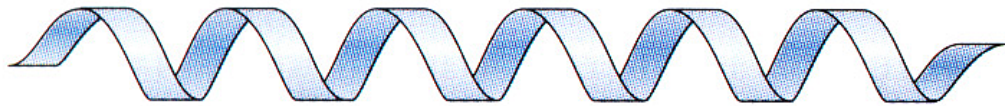
■ 請先到 Lehninger Principles of Biochemistry (4e) p. 604 查看 pyruvate dehydrogenase 的基本構造；p. 182 看 actin 及 myosin 的肌肉構造與功能。



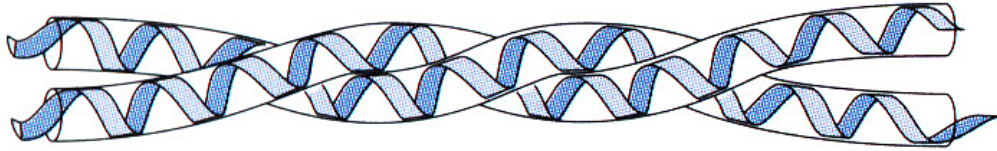
有些 催化連續反應的酵素群，可能聚集在一起，則上一個酵素的產物，就很快可以被下一個酵素用為基質，增加反應速率。這種組合方式，在細胞中也很常見。

■ 一個最好的例子就是粒線體膜上的電子傳遞反應。請先到 *Lehninger Principles of Biochemistry* (4e) p. 697 大致先看一下，是非常重要的生理程序。

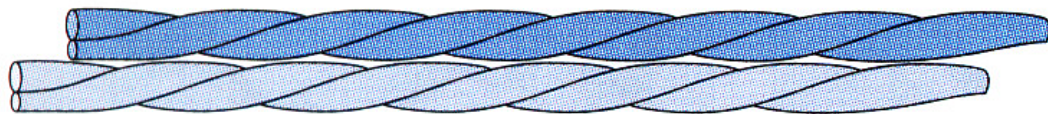
α -Helix



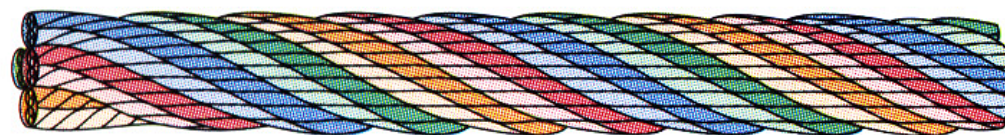
Coiled coil of two α -helices



Protofilament (pair of coiled coils)



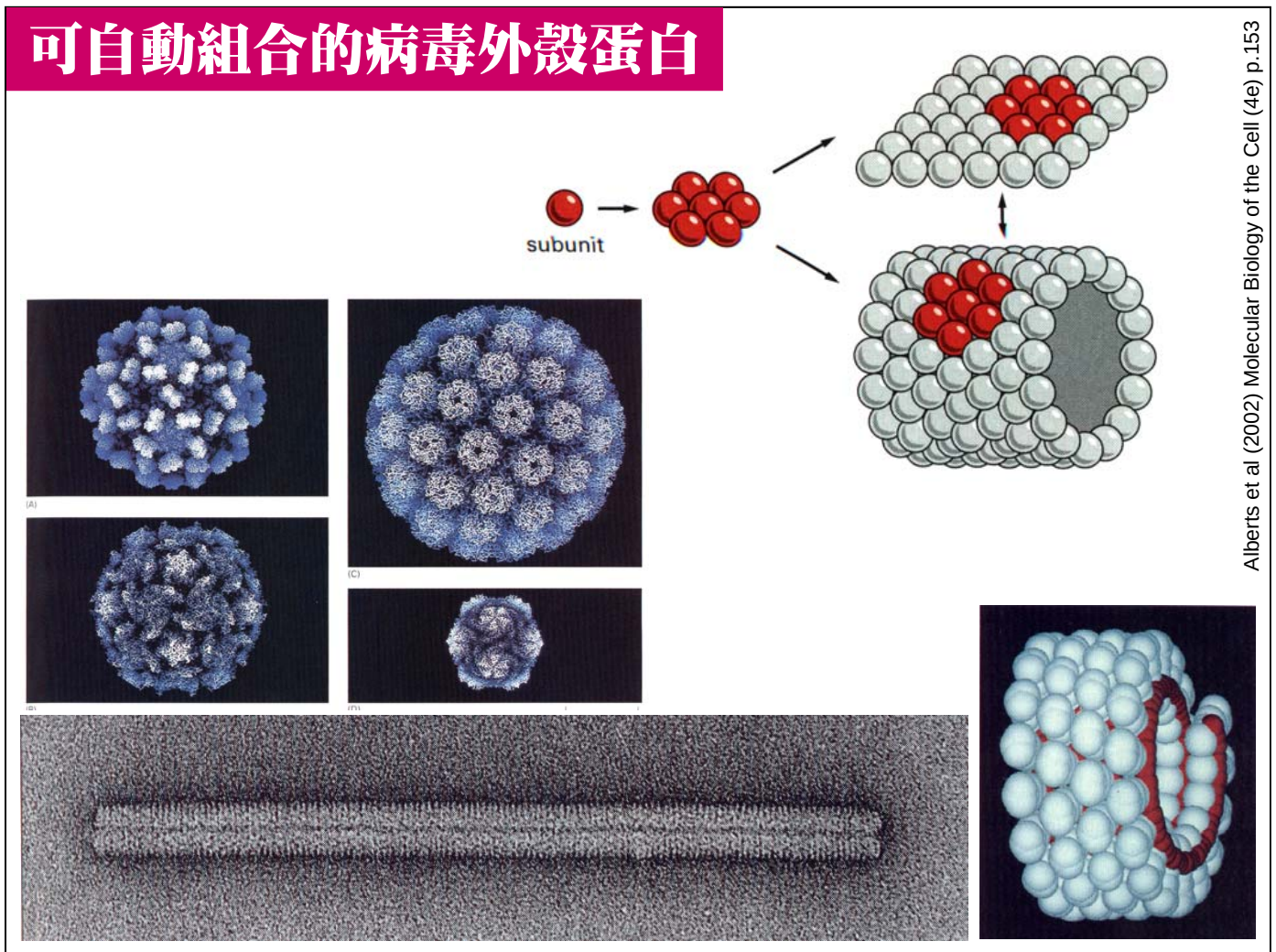
Filament (four right-hand twisted protofibrils)



α **Helix** 有時會兩兩交纏，形成叫做 coiled coil 的構造，後者再集成更複雜的構造。這些構造已經很難去分辨是那一級的構造，通常作為構造性的細胞材料。像上圖的角質素，是由許多 α 螺旋一級一級地組合，可以組成像羽毛、指甲、牛角般硬度的物質。蛋白質可以做出如此廣泛而性質不同的種種物質 (從牛排到牛角)，實在令人驚嘆。

■ 請到 Lehninger Principles of Biochemistry (4e) p. 126 查看 keratin 的構造，看它如何組成毛髮。

可自動組合的病毒外殼蛋白



另一個 常見但是同樣複雜的超級構造，就是病毒的蛋白質外殼。病毒外殼也是由基本的小單位蛋白質，依照其自身之組合規律所組成，因此有種種不同的病毒外表，但是都相當具有規律性，甚至會產生結晶。這也是『組合』的一個實例。

■ 請到 Lehninger Principles of Biochemistry (4e) p. 145 查看病毒的組裝。

組合

P4-16