

生物力能学机理的新探讨

〔美〕E. 拉克尔 著



科学出版社

内 容 简 介

本书主要是介绍生物体内的能量变换与传递的问题。阐释了光合磷酸化、氧化磷酸化的能量变化和线粒体膜、叶绿体膜等的能量传递过程及其各种膜的结构与功能等等。它与植物的光合作用、呼吸作用的关系也较为密切。

本书可作为生物科学工作者学习生物力能学机理的参考书，也可供大专院校生物化学专业师生及有关科技人员参考。

E. Racker

A NEW LOOK AT MECHANISMS IN BIOENERGETICS

Academic Press, 1976

生物力能学机理的新探讨

〔美〕E. 拉克尔 著

林哲甫 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980年7月第一版 开本：787×1092 1/32

1980年7月第一次印刷 印张：6 3/4

印数：0001—4,080 字数：149,000

统一书号：13031·1264

本社书号：1759·13—10

定价：1.05 元

前言

“你说，你现在简直已经没有资格再去从事著述了。而我要鼓励你的，恰恰就是这一点。假如我劝你去学溜冰。我想，你一定不会说你的平衡动作还没有到家，而推却我的建议，对吧？一个人在溜冰场上学溜冰。总是那样东摇西晃的，把自己弄得像只狗熊。事实上，一个人无论在哪一方面要取得进步，他总免不了要像狗熊那样摇摇晃晃地前进的。”

George Bernard Shaw

给一位青年评论家的忠告

1973年4月，我曾经在波莫纳（Pomona）学院的 Robbin 讲座上作了一系列的讲演。这本书就是以当时的讲稿为基础写成的。这些讲稿在我对这个学院的热心于基础科学的学生讲述之前就已经写好。本来毫不踌躇地打算，对这些讲稿作一些修订之后就拿去付印出版。可是在过去的几年里，生物力能学的研究领域中的许多变化。当我校订完最后一讲的时候，我发现前面的几讲需要重写。而当我重写了前面的几讲之后，发现后面的几讲又过时了。

我早在五岁的时候，就学会了溜冰。但著书立说却是年逾半百以后的事。我从来没有很好地学习过平衡动作。我“果断地”从 Shaw 的忠告中找到了慰藉。我不敢在读者面前炫耀花式滑冰，只要我能够平安无事地在冰上滑行，就得谢天谢地了。

现在的这本书，并不是我原先发表的《生物力能学机理》

一书的新版。我避免了重复。我常常告诉别人，这是另一本书。虽然书中有些地方是一些间断思索的产物并不连贯。但全书的一个长处是它的篇幅不大。

这本书和我的第一本书一样，每一讲的内容，都以本人实验室内完成的工作为主。当然，我也常常引用到其它研究者的重要著述。书中可能会湮没了一些杰出的重要贡献。这种疏忽在许多时候并不是故意的。这是由于我自己没有能力去处理生物力学领域中浩若烟海而且捉摸不定的文献资料所造成的。不过有时候，我却是有意识地回避讨论一些氧化磷酸化方面还有争议的实验和假说。在我看来，这些实验和假说目前对于实验工作的指导意义还不是很大的。那么这方面的遗漏，只能归咎于我本人判断能力的贫乏。例如，在我的第一本书里，遗漏了 Mitchell 的化学渗透假说，这仅仅是因为我没有认识到它作为一个工作假说的潜在价值。在目前的这本书中，我已经尽力弥补了这个缺陷。也许，现代科学家参与荣誉授受的机会是太多了。二十世纪生物化学的研究工作，看来有点像中世纪时代建造教堂那样。参与工作的人们很难取得什么重大的成果，仅有的一点点也很快就会被人们遗忘的。

我的这些讲演，是给准备献身于研究工作的生物学与生物化学的青年学生们做的。目前，我们科学界中的科学精神并不太高。社会以至一些国家的主管机构对基础科学研究的同情和支持都越来越少了。基础科学研究被看作是一种奢侈品。其实，社会对基础科学的冷落也不是现在才开始的。记得当 Faraday 证实了他在电学上的第一个发现时，一位名叫 Gladstone 的人(后来他是英国的财政大臣)问 Faraday，这玩艺儿有什么用处？Faraday 回答他说：“噢，先生，将来有一天你会从它身上征收赋税的。”这个小故事一方面告诉了我们，有

Gladstone 那样的人对基础科学不感兴趣,但另一方面也告诉了我们, Faraday 的创造力远远超越了时代现实。在基础科学研究中,如果以是否有用这种考虑来支配我们的努力,那意味着是一种灾难。我认为,当一项基础科学研究的成果被创造出来之后,运用我们集体的智慧和创造能力,总可以发掘到它的实际用途,这是没有疑问的。也许,我们的学生在下一代就能够沟通基础科学和应用科学之间的通讯渠道吧。

我得衷心感谢国家肿瘤研究所、国家科学基金委员会以及美国肿瘤学协会多年来在经费上所给予我的支持。如果没有这些支持,如果没有同事们、许多年青有为的学生们以及一些曾经在我的实验室里工作过两年(或两年以上)的高级研究人员的支持和协助,那么,我这本书中谈论到的工作,都将是不可能完成的。我应该感谢那些在书中提到的,近年完成的一些实验中有特殊贡献的人,他们是: W. Arion, R. Berzborn, A. Bruni, B. Bulos, C. Burstein, C. Carmeli, R. Carroll, R. Christiansen, D. Deters, E. Eytan, J. Fessenden-Raden, L. Fisher, G. Hauska, P. Hinkle, Y. Kagawa, A. Kandrach, B. Kanner, A. Knowles, E. LaBelle, D. Lang, S. Lien, A. Loyter, G. McCoy, C. Miller, N. Nelson, H. Nishibayashi, I. Ragan, D. Schneider, P. Scholnick, R. Serrano, H. Shertzer, E.-M. Suolinna, 和 J. Telford。我还要特别感谢 Mike Kandrach 先生和 Judy Caveney 夫人。我们的实验室在 Mike 先生的管理下,一直能够正常地开展工作。Judy 夫人是我的秘书,她在这本书的出版工作中给了我很多热诚耐心的帮助。这本书的完稿,和他们的帮助是分不开的。在手稿写作的过程中, G. Schatz, G. Eytan, 和 C. Miller 诸位帮助我做了许多图解,这是要感谢他们的。最后,但并不是不重要的,是要感谢我的妻子 Franziska 和我们的女儿 Ann, 在我写作这本书的时候,她们给我出过许多主意,这些都是书中没有提到的。

目 录

前言	i
1. 伤脑筋的事情对你有好处	1
1.1 开场白	1
1.2 什么是氧化磷酸化作用?	5
1.3 我们是怎样测量氧化磷酸化作用的	7
1.4 拆离膜的第一个手段	9
1.5 偶联因子 F_1 的异位性质	12
1.6 电子显微镜观察	15
1.7 拆离颗粒的离析	18
1.8 氧化磷酸化的重组	24
2. 光合磷酸化作用	29
2.1 论生命的起源	29
2.2 光合磷酸化中的电子传递途径	30
2.3 另外一些和线粒体相似的地方	33
2.4 一个偶联因子的拆离	35
2.5 叶绿体中的质子迁移	40
2.6 叶绿体膜的不对称装配	43
2.7 光合磷酸化作用的逆转	45
3. 膜的功能与结构、磷酸化与电子传递的偶联机理	48
3.1 概述	48
3.2 膜的功能与结构	49
3.3 磷酸化作用与电子传递的偶联机理	55
3.4 关于一些实验问题的探讨	63
4. 偶联装置	71
4.1 偶联装置中的局部反应及其组成成分	71

4.2 由 ATP 驱动的质子泵	92
5. 氧化链与线粒体内膜的局部解剖学	94
5.1 氧化链的分析	95
5.2 氧化链中的催化复合体及个别催化剂的离析	96
5.3 氧化链的三个段落	99
5.4 氧化链的局部解剖学	106
6. 氧化磷酸化的拆离与重组	114
6.1 概述	114
6.2 线粒体膜与叶绿体膜功能的重组	116
6.3 盐杆菌 (<i>Halobacterium halobium</i>) 质子泵的重组以及由 视紫红质催化的光合磷酸化的重组	131
7. 离子泵的重组及其作用机理	134
7.1 概述	134
7.2 离子泵的重组	135
7.3 从拆离与重组实验中我们能了解到些什么?	144
8. 能量代谢的控制	159
8.1 氧化作用的控制	159
8.2 巴斯德效应	163
8.3 竞争机理	163
8.4 肿瘤细胞中的高水平需氧糖酵解作用 (瓦布格效 应)	168
8.5 肿瘤细胞的 ATP 酶	170
8.6 肿瘤细胞离子泵的修复	174
略语表	183
参考文献	186
索引	198

1. 伤脑筋的事情对你有好处

当你已经把一个完美的论据建立起来之后，请不要把你在建立这个论据时使用过的“脚手架”统统拆掉。

Clark Maxwell

1.1 开 场 白

在我们还没有深入讨论线粒体膜和叶绿体膜结构与功能方面的详细情节之前，我想先给大家讲一讲，我在生物力能学这个领域内进行科学研究所得到的经验和教训。当你在科普性的杂志上（比方说《科学的美国人》）或者专业性的刊物上，读到了一篇篇精采的科学文章时，你所获得的印象一定是很深刻的。你接触到的是清晰的说理、漂亮的实验、重要的进展。甚至，你的视野还可以远眺到更有意义的未来。文章中的数据常常都是毫不含糊的，而结论也都充满着说服力。作者往往还能够把实验室里遇到的，使人振奋的事情告诉你，你一定很欣赏。可是，你要知道，在这些文章中，对于研究工作的某些方面总是不会提到的。比方说，文章中提到的一些发现，实际上是怎样取得的？在取得这些发现的过程中，作者究竟花费了多少的心血、遇到了些什么使人伤脑筋的东西？在解决问题之前究竟有过哪些想法？有多少偶然的事件？在这第1章里，我乐于给在座的听众描绘一幅在我看来和现实相符合的关于科学研究活动的图画。在这幅图画里头，有许许多多令人伤脑筋的难题、疑问和巧遇，还有，就是研究工作者

之间的相互帮助。我觉得,我的学生应该了解这些问题,这不仅可以避免产生失望情绪,而且可以让他们得到一个概念,就是难题、疑问都是孕育着未来的种子。只要我们追随着这些难题和疑问,它们可以把我们带到未知的领域中去,或者来到挑战性的问题面前。让我们模仿歌德的艺术夸张手法,可以这样说:对于一个名付其实的科学工作者来说,没有别的任务比要不断地产生一系列漂亮的实验更为困难的了。或者像Piet Hein 所说的“最有研究价值的,还是那些没完没了的难题。”

首先,我想先给大家讲讲我是怎样搞起氧化磷酸化来的,我自己是怎样想的?在我通向这座科学之宫(或者说这座科学城堡)的道路上遇到过些什么?你们在听了我的叙述之后,可能会作出不同的选择。那要看你是把我所讲的当做一篇美丽的神话故事,还是一场可怕的恶梦而定。

现在让我们来开始谈第一个问题。一位生物化学工作者是怎样选择他的研究题目的?谈得更具体一点,为什么一位慎重的医学博士要去研究氧化磷酸化而没有去研究与此有关联的其它医学问题?

四十多年以前,我还是一个医学院的学生。那时候,我想当一名精神病医生。我很想了解精神病,以便去治疗这些病人,使他们恢复健康。这是一个很合情合理的问题,其间充满了经济的和社会的意义。当时我在维也纳,这种向往简直使我入了迷。我跟从 Freud 学习,但我并没有学好。不久之后,我的思想就被一些疑虑所缠绕。在听了 Freud 的一次讲课之后,这种疑虑就更加严重了。Freud 说,精神病是黑夜的一个儿子,它无法用精神的办法去治愈。在精神病的病因论上他是一个生机论者。

1938 年,当一大批精神病患者在维也纳发生的时候,我离开了维也纳,来到了英国 Quastel 博士的实验室内工作。

Quastel 在 1936 年发表过一篇很吸引人的关于精神紊乱与胺类化合物的关系的论文 (Quastel, 1936)。我开始对墨斯卡灵、苯基丙胺以及其它一些类似的生物来源的胺类化合物感到兴趣。这类化合物大剂量使用时,可以引起类似精神病的症状。1938 年我成了生物化学上的一名嬉皮士 (即颓废派——译者注)。1941 年我来到了美国,我对生物胺类已经不那么感兴趣了。我得到了关于脊髓灰质炎方面应用性研究的经费。支持我研究的基金项目代号叫做“平凡的进军”(March of Dimes),那时我的年薪少得可怜,只有 1,200 美元。在研究脊髓灰质炎病毒对大脑代谢的影响时,我观察到大脑的酵解途径出了问题。而且追踪到问题的关键,在于 3-磷酸甘油醛脱氢酶发生了失活 (Racker 与 Krimsky, 1948)。当我仔细地考察了这个在酵解作用中处于关键地位的酶之后,我发现过去人们对这个酶的作用方式所提出的假设是不正确的。Warburg 和 Christian (1939) 对这个酶的作用方式曾经提出过一个既简单又有独创性的机理,如表 1.1 中的机理 1 所示。在这个机理中,第一步是醛分子与无机磷酸分子之间形成一个加成物。然后第二步是加成物直接被氧化成为 1, 3-二磷酸甘油酸。由于 Warburg 在生物化学界中举足轻重影响太大了。所以他提出的这个机理也就被所有的生物化学教科书盲目接受了。更有甚者,是纽约城内一家生财有道的商号,竟将假想中的加成物——二磷酸甘油醛的售价抬高到每 100 毫克值 1,000 美元之巨。然而,我们却能够毫不含混地指出 (Racker 与 Krimsky, 1952), 3-磷酸甘油醛脱氢酶能够催化两步反应 (见表 1.1, 机理 2), 第一步,是醛-酶复合物被氧化,生成一个被酰基化了的酶。我们已经取得了这个中间产物的结晶品 (Krimsky 与 Racker, 1955)。第二步有磷酸参与,酰基化了的酶分子中,一个硫酯键被磷酸解,从而产生 1,3-二磷酸甘油

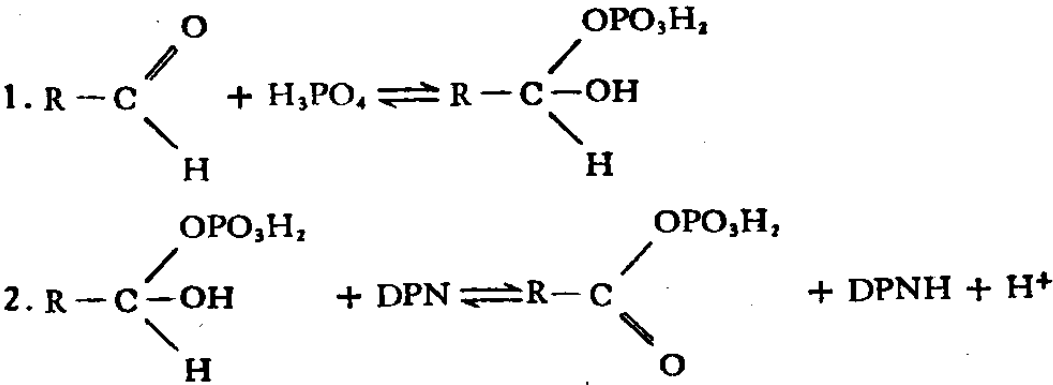
酸，磷酸甘油酸激酶能够将此产物 1-位上的磷酸基团转移给 ADP,产生 ATP. Warburg 从来没有接受过我们的这个机理。在他看来，他的化学模式更简单一些也更好一些。在这些经历当中，我得到了两条经验。

经验 1：化学好，但自然界更美好。

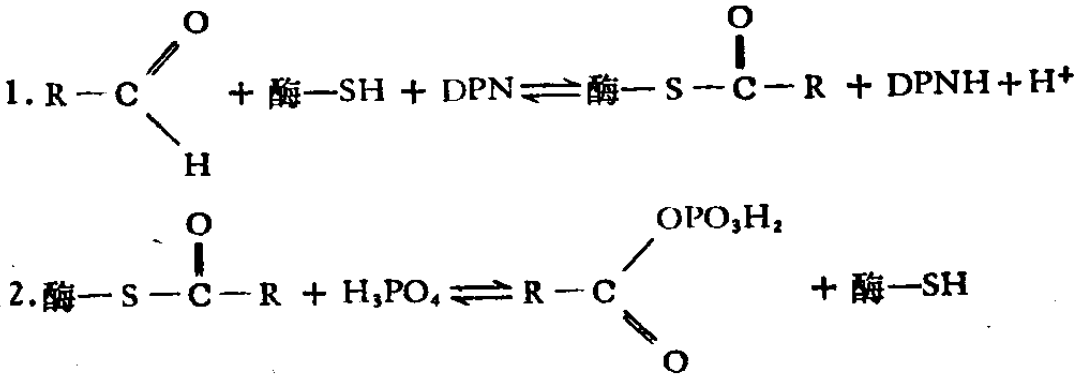
经验 2：如果你没有经费条件去开展基础理论的研究，那么你就先去开始进行应用性的研究。如果你的思路合乎逻辑，那么你的研究很快就会成为基础理论的研究。

表 1.1 3-磷酸甘油醛脱氢酶的作用机理

机理 1.



机理 2.



讲到这里，你们大概可以明白我为什么会对氧化磷酸化作用感到兴趣了。我之所以转向研究这些基本问题，并不是由于我完全失去了对生物胺类的兴趣，而是我越来越确信，如果我们缺乏最基本的生物化学知识，我们将无从了解人体与

精神上的种种病变。事实上,我近年来,又重新研究起生物胺来了 (McCauley 与 Racker, 1973)。青年时代,在我头脑里飞翔过当一名精神病医生的理想,可是目前我面对着的,依然是一个被急性病痛蒙住了眼睛的,迷信药物的社会。除了选择基础理论研究之外,我无法找到更恰当的研究课题了。

1.2 什么是氧化磷酸化作用?

现在让我们来讨论一下,在线粒体内膜上发生的一些过程。请看图 1.1。其中的反应主要是氧化还原反应。一些底物(例如丙酮酸)进入三羧酸循环,并把氢原子提供给 DPN (尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸)。这些被还原了的核苷酸(即 DPNH)随即被线粒体的氧化链一步一步地重新氧化。氧化时产生的能量能够被保存起来,生成 ATP (5'-三磷酸腺嘌呤核苷)。事实上,ATP 的生成是必然地要和氧化过程相偶联的。所以当没有 ADP 和 P_i (5'-二磷酸腺嘌呤核苷与无机磷酸)可供使用时,呼吸作用就要停止。将来我们还要回头来讨论这个问题。这是一个很重要的调节机理,称为“呼吸控制”。从图中可以看到,有三类化合物能够干扰氧化磷酸化作用。

这三类化合物包括:(1) 氧化链的抑制剂,例如氰化物,抗霉素等;(2) 解联剂,如 2,4-二硝基苯酚或羧络羧基-对-三氟甲氧苯胺等。它们都能够破坏能量的贮存过程,使氧化产生的能量以热的形式散失;(3) 能量转移抑制剂,例如寡霉素、鲁塔霉素(rutamycin)(Lardy 等人,1958)等,它们都能妨碍氧化产生的能量转移到 ATP 分子中去。这些能量转移抑制剂既能阻止 ATP 的生成作用与氧化作用相偶联,也能抑制线粒体 ATP 酶将 ATP 水解。我们以后还会详细地谈到,这个对寡霉素敏感的 ATP 酶的活动,能部分地反映出氧化磷

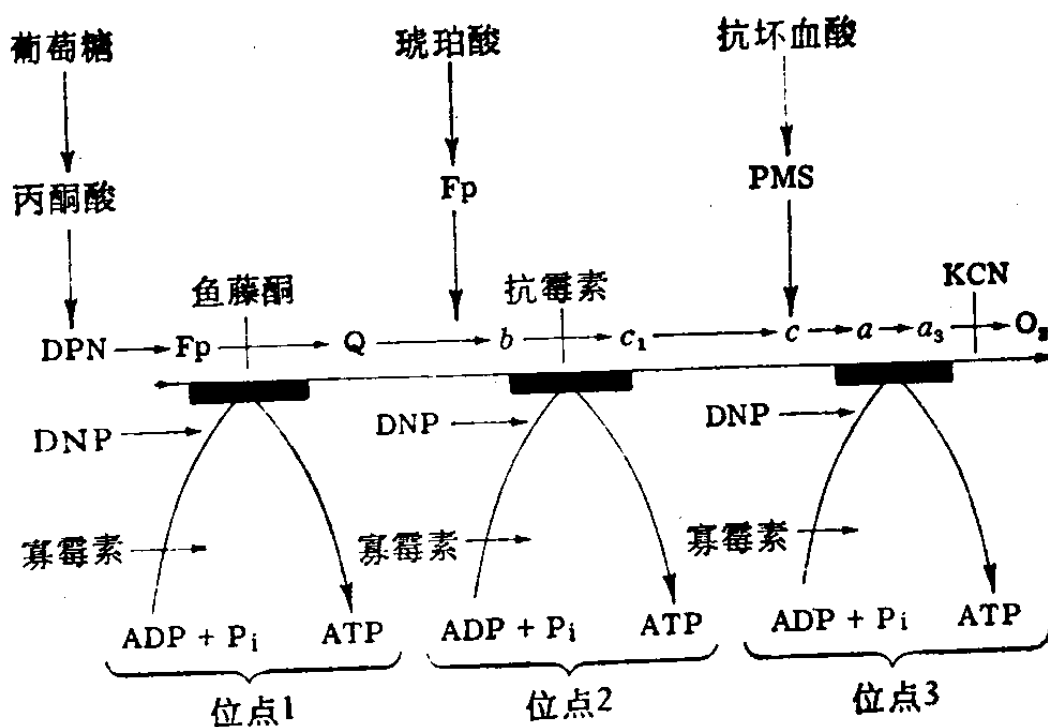


图 1.1 线粒体中发生的氧化磷酸化过程。

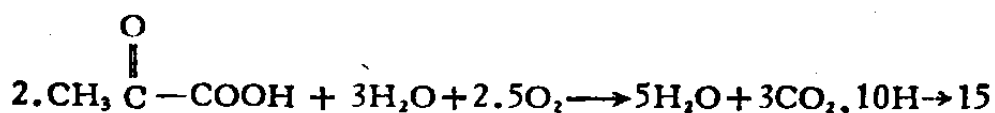
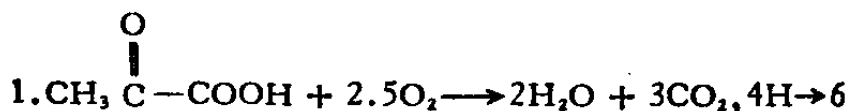
DNP——二硝基苯酚

酸化作用的逆向过程。

当每一分子 DPNH 被分子氧所氧化之后，将有三分子 ATP 产生出来。我们说，这个反应的 P:O 比率是 3。这个比率表达了这个过程效率。三十多年以前 (Ochoa, 1943) 就已经知道，每当一分子丙酮酸被氧化之后，可以从 ADP 和 P_i 合成出 15 分子的 ATP 来。可是每分子丙酮酸只能提供 4 个氢原子给 2 原子的氧。根据 P:O 比率为 3 来进行计算，应该是只产生 6 分子的 ATP (见表 1.2)。要产生 15 分子的 ATP，还需要 6 个氢原子，那么这 6 个氢原子又从何而来呢？我想，如果给这个问题找到了答案的话，也就等于找到了一把钥匙，去解决这样一个疑难问题，即自然界为什么要设计出一个如此复杂的、担负特殊功能的三羧酸循环来？我相信，这个三羧酸循环的一个主要任务，在于通过催化水的裂解来提高能量的产率。有三个反应步骤可以让水分子进入三羧酸循环。第一个反应是由延胡索酸，转变成苹果酸，另外两个反应是比较间接的，即乙酰辅酶 A 的利用以及琥珀酰辅酶 A 的利

表 1.2 氢原子从哪里来?

氧化作用 ATP 分子数



用。当三羧酸循环运转的时候，这些水分子中的氢原子与氧分离，然后转移给 DPN 或黄素蛋白(例如琥珀酸脱氢酶)。接着以电子或质子的形式，通过线粒体的氧化链而被传递。这个过程我们以后还要讨论。

我想告诉大家一件小事情。那是在 Dchoa 根据他那具有独创性而又简单的实验，确定了 P:O 比率等于 3(Ochoa, 1943) 之后几年发生的事。一位英国的头面物理化学家发表了一篇很长的综述论文，通过详尽的热力学计算，指出理论上最高的 P:O 比率不超过 2 (Ogston 与 Smithies, 1948)。记得当时我的头脑被搞得很混乱。一天我把这篇论文带到我们平常举行的午餐会上，和 Ochoa 博士进行了讨论。而 Ochoa 却很风趣，耸了耸肩膀说：“时间将会告诉我们的。”而后来的事实果然如此。数学上的运算都没有错，但是计算中所依据的 ATP 水解自由能数值却是不正确的。讲到这里，我要介绍我学到的另一条经验。

经验 3: 一个干脆利索的实验，比几百道拖泥带水的计算都要强。

1.3 我们是怎样测量氧化磷酸化作用的

现在让我们来看看图 1.2, 从中看到我们可以采用好几种

不同的方法去测量氧化磷酸化作用。比较老的一种方法是采

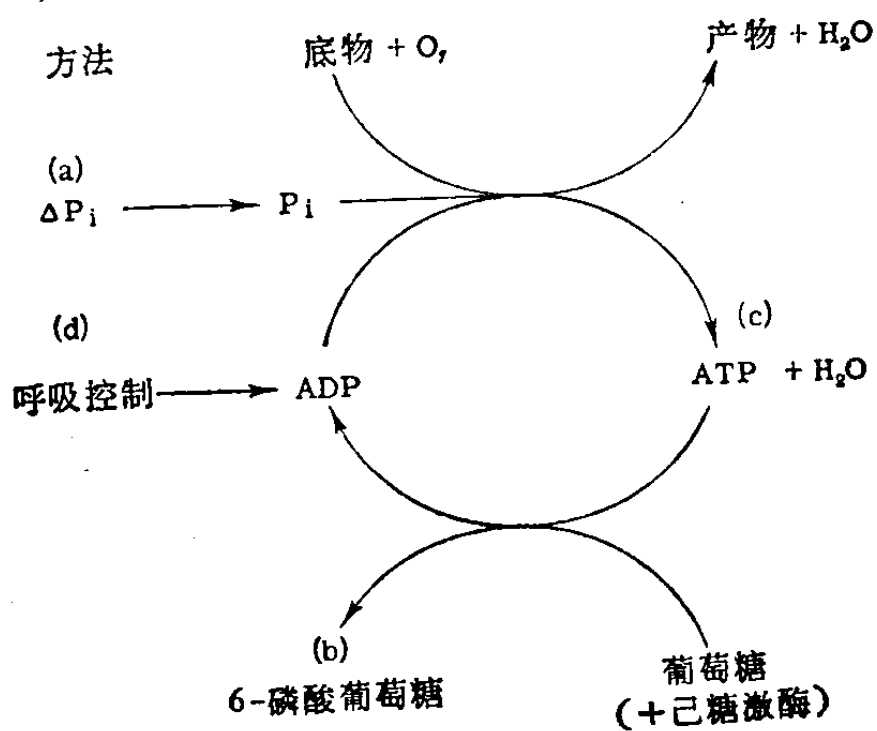


图 1.2 氧化磷酸化作用的测量方法。(a) 测定无机磷酸盐 (P_i) 的消失(可用比色法进行);(b) 测定 6-磷酸葡萄糖的生成量(可用同位素法或酶分析法);(c) 测定 ATP 的生成量(可用酶分析法);(d) 呼吸控制法(可用极谱测氧法)。

用检压法测定氧的吸收速率。目前这种方法已为极谱测氧法所代替。测定无机磷酸盐消失速率的方法是 Ochoa 使用过的一种经典方法,目前已被更为灵敏可靠的 $^{32}P_i$ 法所代替。 $^{32}P_i$ 先参入到 ATP 分子中,然后在有过量己糖激酶存在的条件下,再参入到 6-磷酸葡萄糖分子中去。这个方法的优点是适用于各种各样的反应系统。甚至有活跃 ATP 酶存在的反应系统也可以采用这种方法。 ATP 酶的活动对于亚线粒体颗粒来说,是一个严重的问题。因为它能十分迅速地催化 ATP 进行水解。采用 Chance 与 Williams (1956) 提出的极谱测氧法测量氧化磷酸化时,要靠加入少量 ADP 的办法去促进呼吸作用。这种方法操作简便,适用于测定具有呼吸控制能力的完整线粒体。但不适用于测定个别的磷酸化位点,当有 ATP 酶活性存在时,也不能采用这种方法。此外还有一些其

它的方法,例如用萤火虫法测定 ATP,或用酶分析法测定 6-磷酸葡萄糖的生成量等等,这些方法都有一些缺点,例如,由于有腺苷酸激酶的存在而使空白值过高等。

现在让我来谈谈有关氧化磷酸化作用的一些实验情况。生物化学的历史启示我们:要弄清楚一个多酶体系的活动规律,那只有将这个体系的各个组份逐个地拆离开来,并加以分析,才能办到。当我们着手将氧化磷酸化体系进行拆离的时候,可供参考的资料是很少的。当时只有少数几篇关于将线粒体碎裂为具备催化氧化磷酸化能力的亚线粒体颗粒的报道 (Cooper 与 Lehninger, 1956; Ziegler 等人, 1956; Kielley 与 Bronk 1958; McMurray 等人, 1958)。至于将可溶性组份进行拆离的资料,可以说还完全没有。

1.4 拆离膜的第一个手段

根据我自己在拆离一些可溶性多酶体系 (例如拆离磷酸戊糖循环的氧化还原反应)所获得的经验,我认为要完成拆离任务,需要有三个必要的条件:第一,需要有大量稳定的原材料;第二,需要有廉价的劳动力;第三,需要有新的观点。十五年前,当我们开始着手拆离线粒体膜的时候,第一个条件是具备了。当时我们可以用牛心制备出大量稳定的线粒体 (Green 等人, 1956)。而充沛的劳动力也解决了,那就是我的研究生帮了我的忙。Harvey Penefeky 高高兴兴地承担了这份探险式的劳动任务。可是那时候,我们却委实是没有什么新的观念。所以当时我把我们的工作称之为“仪器的研究”。因为我们没有自己的观点,只不过在使用一件新的仪器设备而已。就是在那时候,澳大利亚的 Nossal 博士设计了一台机械震荡器,把酵母细胞与玻璃珠混合在一起加以震荡,可以将酵母细胞

碎裂。我们采用了这套装置来碎裂线粒体。在开头的一些实验里,我们很成功,把线粒体碎裂之后,再进行离心处理,分出亚线粒体颗粒。这些颗粒能够氧化像琥珀酸一类的底物,但却不能产生 ATP。除非我们把一个蛋白质性的成分(我们称它为 F_1)回加到颗粒中去,否则就没有 ATP 的生成(Penefsky 等人,1960)。可是不多久以后,我们的实验变得越来越困难,实验结果无法重复。Harvey Penefsky 一再向我报告了这些研究结果。这些结果“方向正确”。但是我感到我们正面临着伤脑筋的问题。那时候我认识到进行膜的研究工作时,还需要有第四个必要的条件,那就是需要有一种哲学思想。我开始发展了“Tagfy”的哲学思想——“伤脑筋的事情对你有好处”。自此之后,这种哲学思想一直在支持着我们的研究工作。在这一章的其余部分中,我想继续阐明这种哲学思想的价值。不过在这样做之前,我应该先将荣誉归于 O. T. Avery 博士,他曾经从肺炎双球菌中离析到了一种有遗传活性的 DNA,他在我之前预示过这种哲学思想,他说过:

经验 4: 假如你摔倒了,那没关系,只要你爬起来的时候,从地上捡起一些东西来,就好了。

因为我们在氧化磷酸化的测定方法面前碰到了困难。所以我们就改换了一个角度继续进行研究。在三十多年前,Lardy 和 Elvehjem (1945) 就曾经以惊人的洞察力指出过,在线粒体的氧化磷酸化过程与 ATP 酶活性之间有关系。我们在和 M. Pullman 博士合作的过程中,曾经致力于离析这个 ATP 酶,并同时观察我们所获得的那个含有 ATP 酶活性的可溶性偶联因子 (F_1) 的粗制剂(Pullman 等人,1958)。我们是在测定偶联因子的方法上遇到了伤脑筋的难题,而测定