

P. versicolor D-甘油醛-3-磷酸脱氢酶 低分辨率 X 射线结构分析

林政炯 高义贵 宋时英 李 军 赵宝光

梁树坚 谢贵福 邹承鲁

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

D-甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 是糖酵解代谢途径中一个关键酶, 它的四个化学上等价的亚基与辅酶 NAD^+ 的结合呈现协同作用。因而是研究酶的变构调节机理的很好模型。过去已经证明, 在 NAD^+ 存在下, 活性中心羧甲基化的 GAPDH 酶经紫外光照射会生成一种新的荧光衍生物。此光化学反应是一种“半位”反应, 与催化和变构作用紧密相关。我们正在用 X 射线衍射方法系统地进行光照酶以及全酶、羧甲基酶的结构分析, 同时还开展了相应的缺 NAD^+ 酶的结构研究。期望对此酶的变构与催化机制的结构基础有更多的了解。GAPDH 酶分子量达十四万四千, 开展此酶的研究将使我国的蛋白质晶体学进入大分子量蛋白质领域。

我们以中国南海 *P. versicolor* 龙虾为原料, 经分离、纯化、制备与晶体培养, 获得了适合于 X 射线衍射研究用的上述各种酶晶体, 并完成了空间群与晶胞参数测定, 为开展空间结构研究提供了物质基础。最近, 收集了四种酶晶体 $5\text{\AA}$ 分辨率衍射数据, 应用分子置换方法, 建立了可靠的结构模型, 计算出晶体学偏离因子为 0.46, 完成了电子密度图的计算与初步分析, 获得了一些有意义的结构信息。 $5\text{\AA}$ 分辨率晶体结构测定的成功是本课题研究所取得的一个重要的阶段性进展。

现有结果表明, 全酶、羧甲基酶和光照酶晶体以及对应的缺 NAD^+ 酶即 apo 酶、apo 羧甲基酶等晶体属同一晶型, 晶胞参数很接近, 然而这些酶晶体的衍射强度分布和低分辨率电子密度均表现出差异。这提示着活性部位的修饰、荧光衍生物生成反应以及辅酶的结合的确导致某种构象变化, 这种变化可能主要集中在远离分子表面的 NAD^+ 结合区附近, 因而不影响酶分子在晶胞中的堆砌。对 *P. versicolor* 酶、 NAD^+ 的结合不大可能导致像 *B. stearothermophilus* 酶那样涉及亚基内两个结构域相对运动的较大幅度的构象变化。在 *P. versicolor* 酶 C2 晶型中, 酶分子坐落在晶体学二重轴上, 根据已经建立的结构模型, 红与黄亚基、蓝与绿亚基在空间结构上应当分别是等同的。对红、黄与蓝、绿两对亚基之间空间结构是否等同所作的初步探索表明, 在全酶与光照酶电子密度图上, 红、黄亚基的 NAD^+ 与 Cys-149 的 SH 基之间有大的密度相连, 而蓝、绿亚基对应部位的密度较稀薄。这一事实以及其他一些事实暗示着红、黄与蓝、绿两对亚基的空间结构很可能不是完全等同的。这有利于甘油醛-3-磷酸脱氢酶分子具有“二体的二体”式结构的看法。高分辨率的精细结构分析正在进行中。

[本文于 1987 年 1 月 2 日收到]