

钙调神经磷酸酶和金属钒复合物的顺磁共振 (ESR) 研究

魏 群

(北京师范大学分子生物学及生物化学研究室)

Dennisse P. Diaz, Tindong Lin, Ernest Y. C. Lee, Luis Echegoyen

(Department of Biochemistry and Department of Chemistry University of Miami, USA)

钙调神经磷酸酶是新近发现的一种磷蛋白磷酸酶^[1]。它由两个不同种亚基 1:1 组成^[2]。大亚基 A (分子量为 61K) 和小亚基 B (分子量为 19K)。B 亚基的一级结构和钙调素, 肌钙蛋白 C 非常相似。

钙调神经磷酸酶的活性除受 Ca^{2+} 、钙调素调节外, 还是一种受多种金属离子结合和调控的酶^[3]。为了探讨金属离子影响酶活的机制, 阐明它们在影响酶活时的结合位点, 我们首次采用顺磁共振的方法, 研究了金属钒离子(V_0^{3+})对钙调神经磷酸酶的作用。

金属钒是一种重要的微量元素, 在体内它能通过谷胱甘肽和儿茶酚迅速和定量地转变成 V_0^{3+} ^[4], 所以钒是一种具有生理意义的金属离子。体外酶活力测定表明, 在一定浓度范围内, V_0^{3+} 对钙调神经磷酸酶有激活作用 (未发表实验结果)。

为了探明酶和 V_0^{3+} 的结合并寻找结合位点, 首先我们进行了 A、B 二亚基的分离。全酶在含 6 mol 尿素, 80 mmol 溴化锂、DTT、EGTA 等参加的反应液中解聚后, 经 DEAE 离子交换柱得到 A、B 二亚基。然后控制严格条

件, 制得了去除所有其他一切金属离子 (包括去除 Ca^{2+} 离子) 但仍具有酶活性的全酶和金属钒离子的复合物及 B 亚基和 V_0^{3+} 的复合物。在 ESR 上分别得到了特异的 V_0^{3+} 和全酶及 B 亚基的结合图谱, 并发现了酶和 V_0^{3+} 的结合呈定量关系。随 V_0^{3+} 量的增加, 信号呈定量关系增强。分别测定 V_0^{3+} 和钙调神经磷酸酶以 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 的结合, 形成一条上升曲线, 并在大于 2:1 的图谱中, 在图谱的高灵敏区和低灵敏区都找到了特殊的峰, 表明酶和 V_0^{3+} 起码有二个或二个以上的结合位点。对 B 亚基的 ESR 研究表明, 在 B 亚基上存在着 2 个 V_0^{3+} 的结合位点。A 亚基上是否存在 V_0^{3+} 的结合位点还须进一步实验的证实。

参 考 文 献

- [1] W. Y. Cheung: *Calcium and Calcium Binding Proteins*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1988, p. 163.
- [2] Aitken, A. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 1984, 139, 663.
- [3] Pallen, C. J. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1984, 259, 6134.
- [4] Cantley, L. C. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 5210.

【本文于 1989 年 4 月 14 日收到】