

研究快报

3Å 分辨率去 B 链羧端七肽胰岛素晶体结构的测定

王大成 陆国光 张季平 谢殿霖 常文瑞 鲁子贤* 梁栋材

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

去 B 链羧端七肽 (B 24—B 30)-胰岛素 (DHPI) 是经限制性酶解后产生的一种胰岛素类似物, 它基本上丧失了天然胰岛素的生物活力, 从而在研究胰岛素三维结构与功能关系中具有重要地位。同时, 由于与二聚体形成相关的 B 链羧端肽段的去除, 使其以单体形式存在。不少证据表明胰岛素的生理活性单位应该是单体, 因此, 阐明 DHPI 的结构, 并与另一种具有基本活力的单体胰岛素类似物——去 B 链羧端五肽胰岛素的结构进行比较研究, 对了解胰岛素单体的结构特征及其与生物活力的关系, 也具有重要意义。

用于结构分析的 DHPI 晶体为晶型 B, 空间群 $P 2_1 2_1 2_1$, 晶胞参数 $a = 59.195 \text{ \AA}$, $b = 54.807 \text{ \AA}$, $c = 22.995 \text{ \AA}$, 一个不对称单位中包含两个 DHPI 分子。由于分子在晶胞中堆积紧密, 晶体母液含有大量丙酮 (30%), 使同晶置换法和分子置换法的应用都遇到极大困难。我们运用 Patterson 搜索技术 (Huber, 经 Steigemann 程序化), 首先通过自身旋转相关计算确定不对称单位中的两个分子有近似的二重对称性 ($\phi = 44^\circ$, $\psi = 90^\circ$, $\kappa = 179^\circ$)。随后选取经大幅度修饰后的三方二锌胰岛素结构作初始模型, 对不同分辨率、不同积分半径作系统的交叉旋转相关分析, 最后在 $25-6 \text{ \AA}$ 数据范围求得两个分子的取向 ($\phi_1 = 24^\circ$, $\theta_1 = 120^\circ$, $\phi_2 = 57^\circ$; $\phi_2 = 118^\circ$, $\theta_2 = 182^\circ$, $\phi_2 = 174^\circ$)。

以正确取向的两个分子为基础进行平移函数 (Crowther & Blow) 计算分析, 配合 R 因子搜索和分子在晶胞中密堆积合理性的研究分析, 确定了两个分子在晶胞中的位置 ($X_1 = 21.74 \text{ \AA}$, $Y_1 = 13.67 \text{ \AA}$, $Z_1 = 6.98 \text{ \AA}$; $X_2 = 3.96 \text{ \AA}$, $Y_2 = 26.23 \text{ \AA}$, $Z_2 = -3.55 \text{ \AA}$)。随之应用生物大分子刚体修正技术 (CORELS, Sussman) 对分子的取向和位置进行 36 轮精化, 在 $10-5 \text{ \AA}$ 范围使 R 因子从 0.543 降到 0.509; 再将分子按 A 1—A11, A 12—A20 和 B 9—B19 分成三个结构域进一步修正 29 轮, 使 R 因子降到 0.488。由此出发, 扩展到 $3 \text{ \AA}$ 分辨率, 用能量最小二乘限制性制约修正法 (EREF, Jack & Levitt) 精化 10 轮, R 因子进一步降到 0.384。至此, 结构解析的基本正确性已肯定无疑。

与三方二锌胰岛素结构相比较, 旋转函数计算结果表明, DHPI 分子的精细构象将有显著变化; 刚体修正指出, 上述三个以螺旋为基础的结构域区各自都有不小于 10° 的取向旋转。初始的 ($2F_o - F_o$) 电子密度图显示, 除 B 9—B 19 螺旋外, 其余部份构象有广泛变化, 特别是 B 1—B 8 和 B 20—B 23 差异尤其显著。进一步的模型重建和晶体学修正工作正在进行中。

[本文于 1987 年 5 月 18 日收到]

* 中国科学院上海生物化学研究所