

- (Tokyo), 1994; **116**: 121
- 16 Winder S J, Walsh M P. *J Biol Chem*, 1990; **265**: 10148
- 17 Abe M, Takahashi K, Hiwada K. *J Biochem (Tokyo)*, 1990; **108**: 835
- 18 Winder S J, Allen B G, Fraser E D *et al.* *Biochem J*, 1993; **296**: 827
- 19 Mezgueldi M, Fattoumt A, Derancourt J *et al.* *J Biol Chem*, 1992; **267**: 15943
- 20 Tang D T, Kang H M, Jin J P *et al.* *Biophys J*, 1995; **68**: A163

Calponin: A New Regulatory Protein for Smooth Muscle Contraction. Tang Dachun, Xiang Jizhou¹⁾, Lu Wentong (*Department of Medical Molecular Biology, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China; ¹⁾Department of Pharmacology, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China*).

Abstract Calponin is a smooth muscle-specific

regulatory protein. The evidences of molecular cloning revealed the existence of 2 isoforms: α and β , composed of 292 and 252 residues respectively. Calponin binds to actin and inhibits actomyosin Mg^{2+} -ATPase activity, thereby smooth muscle contraction. The actin-binding domain of calponin lies in 38 residues (145~182). Ser175 plays a critical role in the interaction of calponin with actin and the inhibition of the ATPase. It also binds to calmodulin in a Ca^{2+} -dependent manner. The calmodulin-binding domain is between residue 52 and 144. Both binding and inhibition of the ATPase can be regulated by phosphorylation and dephosphorylation of calponin.

Key words calponin, contractile protein, smooth muscle

胆碱酯酶结构与功能及磷酰化酶重活化机理

罗春元

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要 对近几年来应用计算机模拟和分子生物学定点突变技术研究乙酰胆碱酯酶的结构与功能关系的进展进行了综述, 对不同抑制剂的抑制作用机理及重活化药物对不可逆抑制剂有机磷酸酯磷酰化酶的重活化作用机理研究进展也进行了综述。

关键词 乙酰胆碱酯酶, 有机磷, 磷酰化酶, 重活化机理

胆碱酯酶依其底物特异性分为乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和丁酰胆碱酯酶 (BChE) 两种, 前者是维持体内胆碱能神经冲动中非常重要的递质水解酶, 能高效地水解神经递质乙酰胆碱 (ACh) 从而维持神经冲动的正常进行; 后者的功能则至今仍不十分清楚。多种来源的 AChE 的一级结构均已由其 cDNA 序列推导出来, 电鳐 AChE (TcAChE) 的晶体 X 射线衍射已经完成, 因此, 近几年来利用计算机模拟与基因工程定点突变技术相结合对酶的结构与

功能的研究有了长足的进展。在此基础上, 对其不可逆抑制剂有机磷酸酯类的抑制作用机理和重活化剂对磷酰化酶的重活化作用机理等方面的研究均得以深化。本文对此作一综述。

1 酶的结构与功能的关系研究进展

过去蛋白质化学、酶催化反应动力学及抑制动力学的研究表明, AChE 的催化活力中心

有三个功能部位, 即酯解部位、阴离子部位和疏水部位; 此外, 在外周还有一个功能部位即外周阴离子部位. 1991年, Sussman等完成了TcAChE的X射线晶体衍射, 从而确定了酶的三维空间结构. 晶体衍射的三维结构与过去所推测的结构的最大区别是发现通向酶活性中心为一细长而下端扩展的峡谷, 长约2 nm, 在峡谷的四周内壁上镶嵌着14个芳香氨基酸残基, 约占据了壁面积的40%, 而在酶活性中心附近则未能发现从前所认为的带6~9个负电荷的阴离子部位, 仅Glu199一个带负电荷的氨基酸残基位于活性部位的底部, 且它与Glu443通过水分子或直接进行氢键结合. 因此, 从前人们认为的活性中心阴离子部位和外周阴离子部位可能均存在于这一细长的峡谷之中, 而与底物的阳离子结合可能主要不是阴离子而是芳香环上的离域电子. 由于峡谷很深且壁上排列了众多的芳香氨基酸残基, 因此, 各种底物、激动剂及抑制剂的结合方式和位置就可能是多种多样的, 这就较好地解释了以前研究所得到的存在多种结合部位的现象^[1].

分子生物学技术在研究AChE结构与功能关系中的应用, 尤其是定点突变技术给这一领域的研究带来了新的有力手段. 如酶活性中心催化三联体单元的组成(在TcAChE中为Ser200, His440和Glu327三个氨基酸残基)在不同种类的AChE实验中均得到了证实, 因为当这几个氨基酸残基中任何一个被突变为Ala以后, 虽然酶的表达并不降低, 但酶的催化活力完全消失^[2]; TcAChE中Glu327和Asp326两个相邻的酸性氨基酸当前者突变为Gln或Asp时, 酶的活性消失, 但后者突变为Asn时对酶的活性影响很小^[3].

计算机模拟显示不同AChE以及BChE肽链的空间折叠方式是非常相似的, 如HuAChE(人脑AChE)与TcAChE在空间结构上可很好地叠合, HuBChE(人血清BChE)空间折叠也相似^[4~6]. 在功能上BChE与AChE的主要不同是前者水解丁酰胆碱(BCh)的速度很快, 而后者仅特异性水解ACh, 对BCh的水

解速度很慢. 在所有已知的AChE中, 活性中心峡谷四周的14个氨基酸的芳香性均保留了下来; 而在BChE结构中, 则有6个芳香氨基酸残基被非芳香氨基酸所代替. 提示这可能是BChE具有水解BCh特异性的关键因素. 计算机模拟显示HuAChE的Phe288和Phe290阻碍BCh进入到AChE的酯解部位, 用定点突变方法将这两个氨基酸突变成为Leu和Val所得到的双突变体, 其水解BCh的速度与水解ACh的速度相等, 即表现出BChE的特性, 而且BChE特异性的抑制剂对这一双突变体也有很强的抑制作用, 而对野生型酶的抑制作用则弱得多, 从而证实了它们是决定AChE底物特异性的主要因素^[6]. Vellom等^[7]将小鼠AChE突变4个氨基酸残基Phe295, Arg296, Phe297和Val300也得到相似的结果. 他们的研究还表明几种抑制剂特异性抑制作用的机制也不一样.

亲和标记实验结果表明, TcAChE的Trp84应是酶活性中心阴离子部位组成部分之一, 因为它能被特异性地标记, 而且活性中心特异性的配体edrophonium存在时可阻止它被标记^[8]; TcAChE与ACh对接也表明底物的季铵阳离子与Trp84处于范德化力的作用距离以内^[1], 实验将其突变为酸性氨基酸Glu或是极性氨基酸Ala都产生无活性的蛋白质, 而在所有的突变研究中, 只发现组成催化三联体的三个氨基酸残基的突变, 及这一突变可以不通过影响酶蛋白的表达和折叠而使酶的活性完全丧失. 可见, 这一残基在与季铵阳离子的结合中起至关重要的作用^[9,10]. Ordentlich等的研究进一步证实, 带电荷的底物或抑制剂均通过与HuAChE的Trp86的吲哚环作用而不是通过离子间相互作用, 但中性底物及抑制剂则通过与另外一些部位起作用. 他们比较了Trp86的非芳香性突变体及芳香性突变体对不同底物的催化活性及抑制剂的抑制活性的影响, 表明, Trp86的芳香性突变体W86F与野生型非常相似, 但非芳香性突变体(W86A和W86E)对带电荷底物硫代乙酰胆碱(ATC)

的 K_m 值增加至少 100 倍, 而对中性底物 TB (乙酰胆碱的季氮被碳取代后的化合物) 无明显影响. 对抑制剂的作用也相似, 使带电荷的抑制剂的抑制常数增大 100~10 000 倍, 但对中性抑制剂的影响则小得多. 另一方面, 位于活性中心催化基团附近的酸性氨基酸残基 Glu202 的突变则对带电荷与不带电荷的底物和抑制剂的选择性无甚区别^[11]

AChE 与 BChE 的另一个显著不同之处为前者有明显的过量底物抑制现象而后者则没有. 酶的这种底物抑制作用和外周部位抑制作用的机理, 近年来通过底物和抑制剂对各种突变体的作用观察和计算机模拟也得到了进一步的阐明. 用亲和标记方法表明, TcAChE 第 270~278 位氨基酸可能参与了外周部位的形成, 因为外周部位特异性抑制剂丙吡啶 (propidium) 能有效地阻止标记物 DPA 对这一肽链的标记^[8]. 与这一肽链直接相邻的残基在 TcAChE 中为 Trp279, 而在 BChE 中这一相应位置被非芳香氨基酸 Ala 所取代, 因此它可能是参与同外周配体的阳离子结合的残基. 突变实验结果证实了 Trp279 为外周部位的重要组成部分, 因为外周配体丙吡啶对突变体的抑制能力不足原来的 1/10, 而活性中心特异性抑制剂 edrophonium 的作用则无明显影响^[3]. Shafferman 等^[10]以 HuAChE 所进行的突变实验则表明, Asp74 或 Trp286 (相应于 TcAChE 中 Asp72 和 Trp279) 的突变不但明显降低了外周部位配体对酶的抑制作用, 而且可部分或完全消除底物抑制作用, 从而印证了 Radic 等对酶的外周部位和底物抑制作用的部位可能是相互交叠的观点. Barak 等^[12]进一步比较了几类不同作用方式的 AChE 抑制剂与多种 HuAChE 突变体作用的变化规律并结合计算机模拟分析表明, 不同抑制剂与外周部位有堆叠作用、芳香环与芳香环的相互吸引或 π 电子与阳离子的相互吸引等多种作用方式, 而且抑制剂与这一部位的结合也不仅仅限于一完全相同的位置. 他们的研究表明, 酶的外周部位由排列在活性中心峡谷口附近的一群氨基酸残基参

与, 因为这些氨基酸残基的单一突变或组合突变可明显改变抑制剂对酶的作用, 但各种不同的抑制剂与外周部位作用时有自己的选择性而不是完全一致, 不过均有 Trp286 和 Asp74 的参与, 因此, 这两个氨基酸残基是这一部位共用的作用核心.

X 射线晶体衍射是观察抑制剂与酶相互作用最直接的方法. Harel^[13]对 edrophonium, 十甲铵 (C_{10}) 和他克林 (tacrine, THA) 与 TcAChE 的复合物进行了晶体衍射测定, 证明 C_{10} 的两个季铵阳离子头分别与活性中心峡谷顶部和底部的芳香残基 Trp84 和 Trp279 的吲哚环紧密接触, edrophonium 的季铵氮原子仅与活性中心的 Trp84 相作用, THA 则依靠它的三环结构与 Trp84 和 Phe330 的芳香环呈堆叠状作用, 这一结果非常支持芳香环之间形成电荷转移复合物的作用模式. X 射线衍射的结果得到了 Trp84 和 Phe330 参与了酶活性中心阴离子部位组成和 Trp279 参与外周部位组成的直接依据.

2 磷酸化酶的重活化作用机理

有机磷酸酯类抑制剂是 AChE 的一大类抑制剂, 它们是日前使用的杀虫剂的主要品种之一. 有机磷酸酯类抑制剂之中有些可被作为化学武器使用或是因作为杀虫剂使用时使人中毒, 使得寻找能解救中毒的酶的重活化剂一直是前沿研究课题之一. 近年来, 随着对 AChE 的结构与功能认识的深入, 对这种不可逆抑制作用的机理和酶被磷酸化后的重活化作用机理也进行了较为深入的研究. 关于有机磷酸酯的不同光学异构体抑酶作用能力存在显著差异的原因, Barak 等^[4]的模拟结果表明, P(-) 构型的异丙氧基甲基磷酸酯类分子中的异丙氧基与 HuAChE 的 Phe297 和 Phe295 两个芳香残基的空间位阻作用是它们抑酶作用显著降低的主要因素, BChE 中这两个位置均为脂肪氨基酸残基, 因此立体特异性就不明显. 梭曼是一种很强的 AChE 抑制剂, 其磷酸化酶的重活化一直是研究的重要方向. 计算机模拟表明,

它与 TcAChE 的作用过程中, 磷酰氧与底物的羰基氧相似, 均能与 Gly118 和 Gly119 形成氢键结合, 烷氧基 (RO) 上的叔丁基则类似与 ACh 的季铵基团的取向, 与 Trp84 和 Phe330 上芳香环有强的范德华力作用. 梭曼的四种光学异构体中, 仅 P(-) 两种异构体是酶的强烈抑制剂, 较 P(+) 两种异构体的抑酶能力强数千倍以上. 模拟显示具有强抑酶能力的 P(-)C(-) 和 P(-)C(+) 两种异构体与酶复合物的空间结构差别不大, 仅在 C(-) 构型中由于不对称 C 上的甲基的空间位阻干扰使 His440 的咪唑环旋转了 60° , 从而使其质子转移至 Ser 氧的作用离开了线性位置, 这可以较好地解释实验中观察到的 HI-6 对 P(-)C(+) 异构体与酶的加成物的重活化作用比 P(-)C(-) 异构体强得多的现象^[14].

对于常用于重活化有机磷抑制的 AChE 的重活化剂发挥重活化作用时与酶活性部位的氨基酸残基相互作用的差异, Ashani 等^[15]以氯磷定 (2-PAM) 和 HI-6 为代表进行了分析. 2-PAM 是单吡啶季铵盐, 实验证明它的亲核能力比 HI-6 要大一倍, 但它对有机磷化合物 (MEPQ) 抑制的小鼠 AChE (EMP_{R,S}-AChE) 的重活化能力仅为 HI-6 的 1/4, 因此实际重活化能力 HI-6 比 2-PAM 大 8 倍. 位于活性中心峡谷入口的几个氨基酸残基的突变体仅使 2-PAM 的重活化能力下降到原来的 1/1.6~1/3, 而 HI-6 则下降到原来的 1/5~1/70, 这表明双吡啶 HI-6 发挥重活化作用时第二个季铵吡啶环起了重要作用. BChE 的实验结果也证实了这一点, 因在 BChE 中这些芳香氨基酸残基被脂肪族氨基酸所代替, 这时 HI-6 的重活化能力反而小于 2-PAM. 在活性中心季铵离子结合部位的几个氨基酸残基的突变体中, Trp86 和 Tyr337 的几种突变使药物重活化能力减小不到 1/2, 但 Glu202 的突变 (E202Q) 使重活化能力下降到原来的 1/13~1/33. 计算机模拟显示, 2-PAM 的季铵氮与酶活性中心 Trp86、Tyr337 和 Phe338 的芳香

环的距离从 0.48 nm 到大于 0.62 nm 不等, 与实验中它们不明显影响药物的重活化作用相符. HI-6 的第一个吡啶环与 2-PAM 的取向相同, 但其第二个环上的酰胺基与外周部位的 Trp286、Tyr72 和 Tyr124 紧密接触. 对 EMP_{R,S}-AChE·HI-6 的基态和五价过渡态的分子动力学模拟表明, Tyr124 羟基与 HI-6 连接两个吡啶环的双亚甲基醚链的氧原子可形成氢键, 它限制了 HI-6 在峡谷内的活动, 并由于第二个环的锚定而缩短了第一个吡啶环上季铵氮至 Trp86、Tyr337 和 Phe338 的距离. 因此 HI-6 的重活化能力优于 2-PAM 可能来自胍氧原子进攻时在酶活性部位更好的取向.

老化是有机磷抑制 AChE 后的一种变化, 以梭曼抑制的酶最为显著. 酶一旦老化以后就不能被目前已知的所有药物重活化. 老化为一种自动催化的脱烷基反应, 从 pH-老化曲线推测可能分别有 pK 为 4.5 和 pK 为 6.0 的两个基团参与这一催化过程. Qian 等^[14]通过计算机模拟显示, 在梭曼与酶的复合物中 Glu199 距梭曼频哪基的手性碳原子为 0.33 nm, 非常有利于与脱烷基后形成的镱碳离子产生静电稳定作用, 因此它可能是 pK 为 4.5 的催化基团. 而 pK 为 6.0 的催化基团可能为 His440, 因为它与烷氧基上的氧原子可形成氢键, 这两个基团产生一种“推-拉”效应而协同促使烷基的脱落. 糜蛋白酶 (Cht) 与有机磷酸酯形成的共价结合物晶体衍射表明, Asp194 (与活性部位的 Ser195 相邻, 相应于 TcAChE 中的 Glu199) 与烷基上这一碳原子的距离大于 0.9 nm, 因此不能像在胆碱酯酶中那样与镱碳离子发生作用, 而梭曼的四种异构体抑制的 Cht 均未见有脱烷基现象^[16]. TcAChE 的突变体实验也支持 Qian 等的观点, 因为将 Glu199 突变为 Gln 以后, 梭曼抑制的酶的老化速度减慢到原来的 1/150~1/700^[17]. HuAChE 的突变实验也得到相似的结果, 梭曼抑制的 E202Q 突变体的老化速度仅为野生型酶的 1/150, 而且梭曼抑制的 E450A 突变体的老化速度仅为野生型的 1/30, DFP 抑制的这些突

变体的老化则减慢到无法检测出来^[18]。

对于酶老化以后药物便失去重活化能力的机制, 也有不少研究者进行过探索. 过去认为是脱烷基以后磷原子上的氧带有负电荷而排斥负电性的亲核试剂的进攻所致, 但实验却表明引入负电荷只使亲核反应速度降低, 而重活化剂对于老化酶的作用则完全消失, 因此尚不能用对亲核试剂的排斥来得到圆满的解释. 对酶与梭曼和 DFP 等的共价结合物的核磁共振谱的分析直接观察到老化酶的活性部位的确有 $P-O^-$ 的存在, 而未老化酶则未见负电荷. 老化酶虽然不能被亲核性的药物重活化, 但一旦变性以后就很容易将老化残基通过亲核反应置换下来, 这也表明老化酶对重活化剂的异常抗性不能仅归于对亲核试剂的电性排斥作用^[19]. 应用荧光标记技术的研究却表明, Cht 老化以后酶的空间构象发生了明显的变化, 并以此来解释不能被药物重活化的原因^[20]. 然而, Cht 的 X 射线衍射的结果却未能见到酶的空间结构在老化后有明显的改变, 因此认为荧光标记实验中观察到的构象改变可能是具有巨大的空间位阻的标记化合物所带来的变化. 衍射发现老化酶的 $P-O^-$ 中的负氧原子与 His57 的咪唑环上带正电的氮原子比在未老化酶中明显靠近, 具有一种盐桥作用的性质, 故认为这一盐桥作用力可能是阻止磷酸化残基在药物亲核进攻时调整取向从而阻碍重活化作用的主要因素^[16], 但在 AChE 中是否存在这一情况尚有待实验证实. 应用尿素变性电泳也证实老化酶的构象比正常酶稳定得多, 在以 BChE 进行的实验中, 不同有机磷酸酯所生成的老化酶其稳定性也有区别, DFP 抑制的酶、塔崩抑制的酶较不稳定, 梭曼和沙林抑制的酶的稳定性最好. 这些结果表明, 另一个 R 基 (R_2) 的大小、取向及亲脂性对老化酶的稳定性均有影响. 模拟表明 R_2 对残基上的 $P-O^-$ 与 His438 的 N^e 盐桥的形成有阻碍作用^[21].

综上所述, 近几年来在酶的三维结构已得

到确立的基础上, 随着分子生物学和计算机模拟等新技术在 AChE 研究领域中的广泛应用, 从前无法弄清的酶结构与功能关系的许多问题已开始得到阐明, 如酶活性中心的组成、酶外周部位的组成和调节机理及其与底物抑制作用的关系、酶的底物选择性机理等. 在酶与有机磷抑制剂的作用机理中, 不同光学异构体与酶相互作用方式的差异、不同结构的重活化剂对磷酸化酶的重活化作用的机理差异等都已开始应用这些新的手段进行探索. 所有这些问题的阐明对新型药物的寻找以及其他相关领域如乙酰胆碱受体研究都将产生重要的影响.

致谢 本文承孙曼霁教授审阅, 在此特表谢意.

参 考 文 献

- 1 Sussman J L, Harel M, Frolow F *et al.* Science, 1991; **253**: 872
- 2 Shafferman A, Kronman C, Flashner Y *et al.* J Biol Chem, 1992; **267**: 17640
- 3 Silman I, Krejci E, Duval N *et al.* In: Shafferman A eds. Multidisciplinary approaches to cholinesterase functions, New York: Plenum Publishing Corp, 1992; 177
- 4 Barak D. In: Shafferman A eds. Multidisciplinary approaches to cholinesterase functions, New York: Plenum Publishing Corp, 1992; 195
- 5 李 松, 焦克芳. 生物化学与生物物理学报, 1995; **27**: 423
- 6 Harel M, Sussman J L, Krejci E *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1992; **89**: 10827
- 7 Vellom D C, Radic Z, Li Y *et al.* Biochemistry, 1993; **32**: 12
- 8 Weise C, Kreienkamp H J, Raba R *et al.* EMBO J, 1990; **9**: 3885
- 9 Ordentlich A, Barak D, Kronman C *et al.* J Biol Chem, 1993; **264**: 17083
- 10 Shafferman A, Velan B, Ordentlich A *et al.* EMBO J, 1992; **11**: 3561
- 11 Ordentlich A, Barak D, Kronman C *et al.* J Biol Chem, 1995; **270**: 2028
- 12 Barak D, Kronman C, Ordentlich A *et al.* J Biol Chem, 1994; **269**: 6296

(下转第 355 页)

虽然不利于维持 apo-MT 中的巯基处于还原态,但在实验 3 nmin 短暂的时间内, apo-MT 还保持了一定的还原性. 这又一次表明 MT 的抗 OH[·] 功能与所结合金属无关, 而主要是蛋白质部分中还原态的巯基作用.

参 考 文 献

- 1 周杰昊, 程 时. 生理科学进展, 1995; 26: 9
- 2 程 时, 谢 靖. 国外医学分子生物学分册, 1993; 15: 256
- 3 Suzuki K T, Imura N, Kimura M. In: Suzuki K T eds. *Metallothionein III*. Basel: Birkhauser Verlag, 1993; 29
- 4 华 玥, 程 时, 卢景秀等. 科学通报, 1992; 37: 1217
- 5 程 时, 常英姿, 王冬焱等. 中华医学杂志, 1992; 72: 749
- 6 程 时, 侯 琳, 买鸿宴等. 动物学报, 1993; 39: 412
- 7 程 时, 谢一琳, 华 玥. 生物物理学报, 1992; 8: 104
- 8 Wang G, Hou L, Cheng S *et al.* Chinese Journal of Physiological Sciences, 1994; 10: 227
- 9 Vasak M. *Methods in Enzymology*, 1991; 205: 39
- 10 Vasak M. *Methods in Enzymology*, 1991; 205: 433
- 11 Kagi J H R. In: Suzuki K T eds. *Metallothionein III*. Basel: Birkhauser Verlag, 1993; 29

A Comparison of Scavenging Hydroxyl Radical Between Zn₇- and Cd₇-Metallothionein. Yue Xiping, Zhou Jiehao, Cheng Shi (*Department of Biophysics, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

Abstract Metallothionein (rabbit liver) (MT), apo-MT, Zn₇-MT and Cd₇-MT were prepared respectively. The scavenging effects of Zn₇-MT and Cd₇-MT on hydroxyl radical were compared at various pH values, and at pH 6 the effects of Zn₇-MT were compared with related proteins and inorganic zinc salt. From these results it is concluded that the ability of Zn₇-MT to scavenge hydroxyl radical is far stronger than that of Cd₇-MT and that the ability of MT to scavenge hydroxyl radical derives from reduced —SH group in MT.

Key words metallothionein, hydroxyl radical, Zn-metallothionein, ESR spin trapping, reduced —SH group

(上接第 333 页)

- 13 Harel M, Schalk I, Ehret-Sabatier L *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 9031
- 14 Qian N Q, Kovach I M. FEBS, 1993; 336: 263
- 15 Ashani Y, Radic Z, Tsigelny I *et al.* J Biol Chem, 1995; 270: 6370
- 16 Harel M, Su C T, Frolow F *et al.* J Mol Biol, 1991; 221: 909
- 17 Saxena A, Doctor B P, Maxwell D M *et al.* Biochem Biophys Res Commun, 1993; 197: 343
- 18 Ordentlich A, Kronman C, Barak D *et al.* FEBS Lett, 1993; 334: 215
- 19 Segall Y, Waybort D, Barak D *et al.* Biochemistry, 1993; 32: 13441
- 20 Steinberg A, Drift A C M, Grunwald J *et al.* Biochemistry, 1989; 28: 1248
- 21 Masson P, Gouet P, Clery C. J Mol Biol, 1994; 238: 466

Progress in the Studies of Structures and Functions of Acetylcholinesterase and the Reactivation Mechanism of Organophosphate-inhibited Enzyme. Luo Chunyuan (*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military*

Medical Sciences, Beijing 100850, China).

Abstract After the elucidation of the three-dimensional structure of Torpedo acetylcholinesterase by X-ray diffraction in 1991, studies by computer modelling and site-directed mutagenesis have led to significant progress in the elucidation of the structure-function relationship of this enzyme. And based upon this, efforts have been made to investigate further mechanism of inhibition by irreversible inhibitors (organophosphate), and that of the reactivation of the irreversibly inhibited enzyme. In addition, progress in study of aging mechanism of the inhibited enzyme was also reviewed.

Key words acetylcholinesterase, organic phosphate, phosphorylated enzyme, reactivation mechanism