

A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体结构的研究*

万柱礼 梁栋材

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

摘 要

本文报道了 A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体结构的研究, 其空间群为 $R3$, 晶胞参数: $a_H = b_H = 78.6 \text{ \AA}$, $c_H = 50.0 \text{ \AA}$, 不对称单位包含两个分子. 收集了 $2.2 \text{ \AA}$ 分辨率三个独立区的衍射数据并进行了处理. 参考三方二锌和三方四锌猪胰岛素结构模型, 以结构模型逐步逼近和立体化学制约最小二乘技术并结合差值 Fourier 图人工分析, 对模型多次进行重建调整和精化, 最终偏离因子 $R = 0.218$, 独立区内两个 A1 色氨酸残基在电子密度图上表现十分清晰. 本文对 A1-(D-色氨酸)胰岛素在晶胞中的密堆积、构象之间的差异以及有关胰岛素结构与功能的一些问题进行了讨论.

关键词: A1-(D-色氨酸)胰岛素空间结构, 胰岛素衍生物结构

近年来, 随着对生命现象认识的深入, 在胰岛素研究中也发现了许多全新的有关分子结构与功能的现象^[1]. 但是, 其结构与生物活力的详细关系仍是一个未解开的谜^[2]. 为了阐明这个中心问题, 就目前而言, 最有效的手段还只能是先研究活力不同的胰岛素和胰岛素类似物. Krahl^[3] 和 Geiger^[4] 等人先后对胰岛素 A 链 N 端的 A1-Gly 用不同构型的氨基酸取代, 制备了一系列 A1-位置置换不同的氨基酸的类似物, 探讨他们与生物活性之间的关系. 其结果表明, 用 L 或 D 型氨基酸取代 A1-Gly 以后, 所有由 L 型氨基酸取代的衍生物的生物活力严重降低到 10% 左右, 而所有由 D 型氨基酸取代的衍生物则保留了 70—80% 的生物活力. 若去掉 A1-Gly 几乎全部丧失胰岛素生物活力^[5]. 文献[6]我们报道了低生物活性的 $2.1 \text{ \AA}$ A1-(L-色氨酸)胰岛素晶体结构的研究结果, 对三方四锌晶型的 A1 修饰 L 构型色氨酸胰岛素的生物活力与结构关系进行了讨论. 本文侧重报道, 高活性 A1 修饰 D 型色氨酸胰岛素的晶体结构. 进而从三维构象上深入讨论 D 构型氨基酸比 L 构型氨基酸具有较高生物活性的机理.

一、结晶和衍射数据的处理

A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体生长条件和 X 射线晶体学分析结果文献[7]已经报道. 但是结构分析工作所用晶体的晶胞参数为: $a = b = 78.6 \text{ \AA}$; $c = 50.0 \text{ \AA}$. 与前文发表的晶体学参数有较大差异, 它们虽属同一 $R3$ 空间群, 但属不同的晶型见表 1.

本文 1988 年 11 月 23 日收到, 1989 年 3 月 15 日收到修改稿.

* 国家自然科学基金资助项目.

表 1 晶体学参数

胰 岛 素	空间群	晶胞参数 (Å)
三方二铰	R3	$a = b = 82.5 \quad c = 34.0$
三方四铰	R3	$a = b = 80.7 \quad c = 37.6$
A1-(D-Trp)	R3	$a = b = 78.6 \quad c = 50.0$
*A1-(D-Trp)	R3	$a = b = 79.5 \quad c = 43.8$

* 文献[9]中发表的晶胞参数。

选用四颗质量较好的 A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体, 在 PW1100 四圆衍射仪上沿 c 轴方向收集 17.7 Å 到 2.2 Å 分辨率半球数据, 共 18333 个反射。衍射数据经 LP 因子和辐射损伤校正, 但未进行吸收校正。应用 HRS 方法^[8]统一了四颗晶体的衍射强度数据。最终获得 5127 个独立反射, 其合并因子 $R_m = 0.075 \left(R_m = \frac{\sum_i \sum_j |I_{ij} - \bar{I}_i|}{\sum_{ij} I_{ij}} \right)$ 。

二、结构的测定与精化

1. 结构的测定

从表 1 可以看出 A1-(D-色氨酸)胰岛素与三方二铰和三方四铰胰岛素属于不同的晶型。在晶胞 c 轴方向上, 它与三方二铰胰岛素差 16 Å, 与三方四铰胰岛素差 13 Å。从理论上讲是不能使用同晶差值 Fourier 技术建立 A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体结构模型。所以, 在结构测定的开始阶段, 首先使用分子置换法试图建立 A1-(D-色氨酸)胰岛素初始模型。但是, 经过计算后没有得到满意的结果。

我们知道胰岛素分子在 $R3$ 空间群中, 独立区内是以独特的二聚体聚合形式, 以非结晶学二次轴相联系。在晶胞内又是以六聚体形式堆积, 六聚体与六聚体之间主要是以非共价键的 Van der Waals 键联结。从这点考虑, A1-(D-色氨酸)胰岛素在同一 $R3$ 空间群中, 二聚体和六聚体之间的特定空间排布关系不应该与天然胰岛素及其他胰岛素衍生物在 $R3$ 空间群中的空间排布方式有原则差异。从一级结构, 特别从 X 射线晶体学分析结果, 我们深信 A1-(D-色氨酸)胰岛素仍然保留六聚体聚合形式, 而且六聚体之间在晶格内的堆积虽然会有重大差异, 但不应有根本改变。从这点出发, 决定了我们测定 A1-(D-色氨酸)胰岛素结构模型的特殊技术路线, 即从结构模型逐步逼近技术作为我们解出结构的主要手段。此工作大致分为五个阶段:

(1) 3.5 Å 分辨率结构模型的确定

从较低分辨率作为起点, 以三方二铰猪胰岛素 1.2 Å 分辨率高精度结构为基础^[9], 建立 A1-(D-色氨酸)胰岛素的六聚体以及它们在晶胞内堆积的试用模型 (I) 计算电子密度图所用 Fourier 系数为 $(3|F_o| - 2|F_c|)$ 。依据第一套 Fourier 图, 非常粗略地确定了主链肽链走向。经反复多次人为地调整了部分主链表现不好的残基, 逐步逼近直至主链与电子密度图基本吻合。计算偏离因子 $R = 0.382$ 。此时的模型 (II) 已具有 A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体结构自身的特殊性。

(2) 3.0 Å 分辨率结构模型的确定

在 3.5 Å 分辨率建立的模型 (II) 的基础上, 提高分辨率至 3.0 Å, 计算 $(3|F_o| - 2|F_c|)$

Fourier 图。根据电子密度图重建结构模型,特别是对分子 II 的模型中部分肽链的走向进行了多次修改,并反复调整了分子 I 中部分残基的位置,同时也考虑部分侧链的拟合,建立试用模型 (III)。

(3) 2.2 Å 分辨率结构模型的确定

使用 A1-(D-色氨酸)胰岛素全部衍射数据,计算 $(3|F_o| - 2|F_c|)$ Fourier 图。不断调整主链和侧链全部基团,使它们都达到最佳吻合,并去掉不可靠部分的残基,重新建立它们在结构模型中的客观位置。

(4) 溶剂区非结合水分子的确定

经计算, A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体中的溶剂总量为 47%。由于它在 c 轴方向比三方二锌猪胰岛素拉长 16 Å。在此方向上六聚体与六聚体之间的空隙明显加大。在这些区域中非结合水显然应多于三方二锌猪胰岛素。在结构模型准确确定的基础上,将 $(3|F_o| - 2|F_c|)$ Fourier 图画在玻璃板上将这一区域比较弥散的电子密度确定为溶剂(非结合水)。按照电子密度的分布,分三次共给出 117 个水分子。

(5) 将上述溶剂区非结合水的结构给予固定,重新计算 $(3|F_o| - 2|F_c|)$ Fourier 图,对 A1-(D-色氨酸)胰岛素二聚体的主链及侧链结构进行了一些必要的调整。然后固定 A1-(D-色氨酸)胰岛素二体结构,计算 $(3|F_o| - 2|F_c|)$ Fourier 图,重新对溶剂区非结合水进行调整。这样多次反复最终得到 A1-(D-色氨酸)胰岛素客观的结构模型。

2. 结构的精化

A1-(D-色氨酸)胰岛素晶体结构模型的进一步调整和精化主要采用 Handrickson 等人^[10] 的立体化学制约最小二乘技术。在精化过程中,多次计算 $3|F_o| - 2|F_c|$ 为系数的 Fourier 综合,以监视模型在精化过程中的变化,并考虑结构模型与电子密度以最佳拟合,对一些基团位置给予必要的人工调整,以求精化的结构具有最大的客观性。在结构精化的最后阶段,根据差值 Fourier 综合,分三次给出经过验证的结合水分子共 117 个。经过精化后的结构,最终偏离

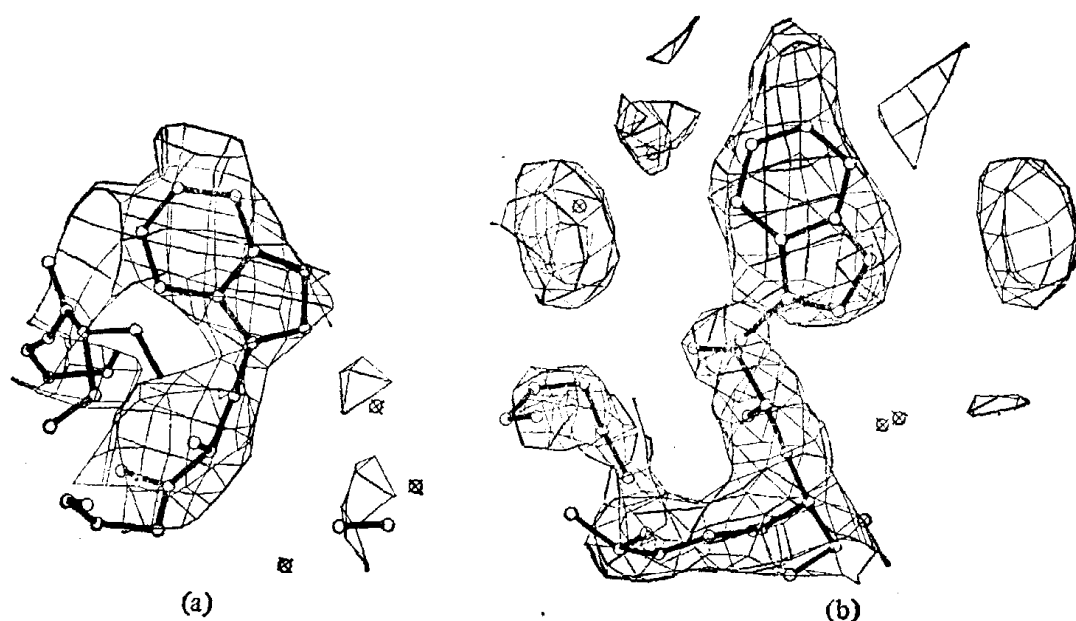


图 1 分子 I 中 A1-Trp 残基的表现 (a) 和分子 II 中 A1-Trp 残基的表现 (b)

因子为 $R = 0.218$, 键长与制约值的均方偏差为 $0.068 \text{ \AA}$.

在模型调整中,为了判断 A1-(D-色氨酸)胰岛素结构的可靠性和客观性以及独立区内两个 A 链 N 端 A1 色氨酸残基的表现。经过重复多次地将与 $1.2 \text{ \AA}$ 猪胰岛素结构有明显差别的区域和 A1-Trp 残基从各个阶段的结构模型中删除,然后使它们在电子密度图中重现。从而肯定了它们在构象上的客观真实性。A 链 N 端 A1-Trp 残基的表现分别示意于图 1 中的(a)及(b)。从图中可以看出分子 I 和分子 II 的 A1-Trp 残基在 $(3F_o - 2F_c)$ Fourier 图上表现十分清晰。

三、结果和讨论

1. 结构比较

构象差异的比较是目前探讨结构柔性和作用方式的重要途径。其结果取决于所用模型的精度。高精度的 $1.2 \text{ \AA}$ 分辨率猪胰岛素晶体结构^[9]和 $1.9 \text{ \AA}$ 分辨率牛胰岛素晶体结构^[10]为 A1-(D-色氨酸)胰岛素进行结构比较提供了良好的分子模型并为分析构象变化的环境因素提供了基础。结构比较使用了最小二乘 ROTMOL (W. Steigemann) 程序。

表 2 A1-(D-色氨酸)胰岛素二体分子不同肽段间叠合偏离($\text{\AA}$)

(1) 分子 I 与分子 II 之间的结构差异

片段	主链	侧链	片段	主链	侧链
A1—A21	1.27	2.03	B1—B30	3.19	4.32
A2—A7	1.07	1.75	B1—B8	3.20	4.59
A6—A11	0.80	0.85	B9—B19	0.58	3.58
A12—A19	0.81	1.27	B20—B23	0.74	1.97
			B23—B27	1.04	1.88

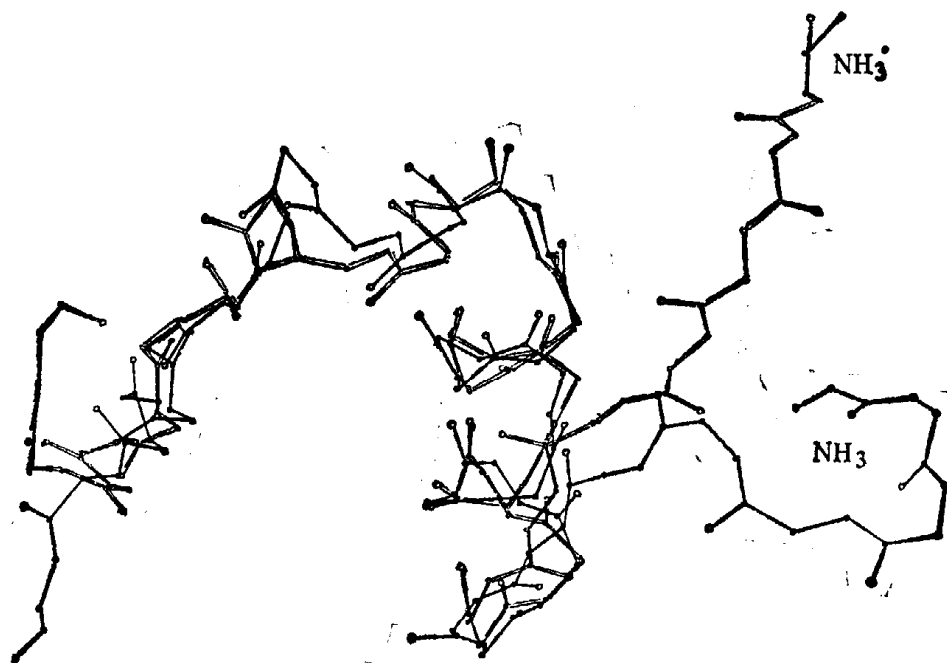


图 2 A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 IB 链与分子 IIB 链的叠合
(双线为分子 I, 单线分子 II)

以 A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 I 和分子 II A 链主链(包括 C, C α , N, O 原子)和 B 链主链全部原子为叠合基础. A 链主链位置 (A1—A21) 平均偏离为 1.27 Å, B 链主链全部原子 (B1—B30) 平均偏离为 3.20 Å. 分子各个不同部位的构象偏差列于表 2. 从表中可以看出吻合较好的包括 B9—B19, B20—B23, A6—A11 和 A12—A19, 它们的平均偏离在 0.58—0.81 Å; 其次是 B23—B27 和 A2—A7, 叠合平均偏离在 1.04—1.07 Å; 差别最大的是 B 链 N 端 B1—B8 肽段, 平均偏离为 3.20 Å. 图 2 给出了以 B 链 B9—B19 主链原子为叠合基础的 B 链叠合图. 从图中可以清晰地看到, B 链的主链 N 端和 C 端出现显著的改变. 我们知道

表 3 不同肽段叠合计算的各自偏差 (Å)

片段	分子 I		分子 II	
	主链	侧链	主链	侧链
A1—A21	1.09	1.99	1.79	3.29
A2—A7	0.64	1.86	1.22	2.19
A6—A11	0.58	0.88	0.90	1.26
A12—A19	0.75	1.26	0.84	1.49
B1—B30	1.58	2.16	4.69	6.06
B1—B8	1.04	2.52	3.04	4.62
B9—B19	0.48	0.97	0.52	1.45
B20—B23	0.56	1.03	0.58	1.76
B23—B27	0.58	0.57	0.44	1.49

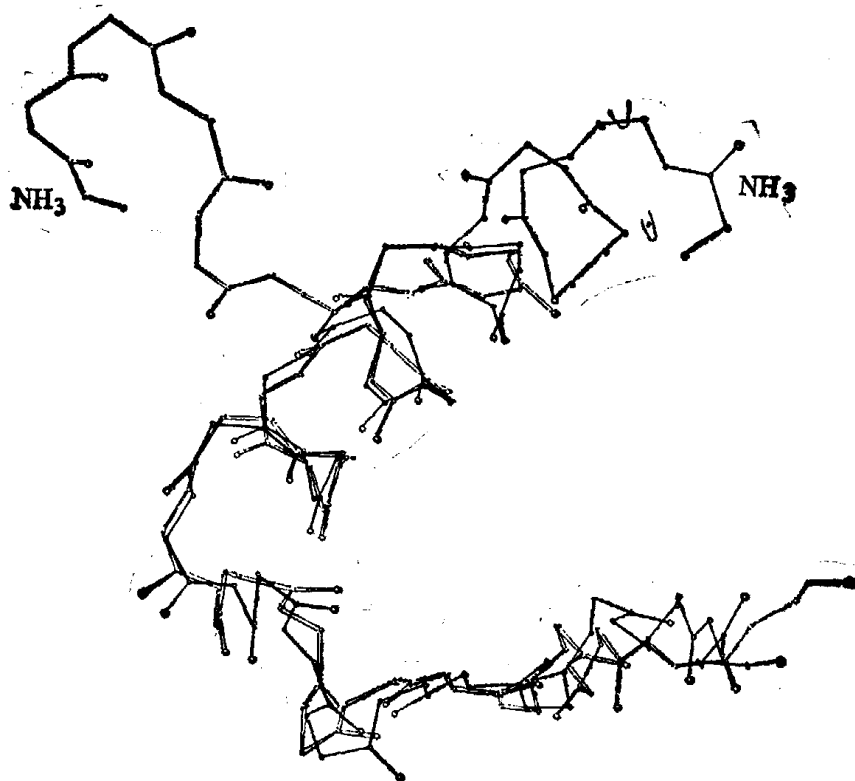


图 3 A1-(D-Trp) 胰岛素分子 IIB 链与 A1-(L-Trp) 胰岛素分子 IIB 链的叠合
(双线为 A1-(D-Trp) 胰岛素, 单线为 A1-(L-Trp) 胰岛素)

三方二锌胰岛素和三方四锌胰岛素构象的主要区别是在分子 II 中 B1—B8 肽段。许多研究工作都明确指出 B1—B8 的高运动贡献于受体的作用^[12,13], 是胰岛素发挥生物功能所必需的一个组成部分。A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 I 与分子 II 在 B 链 N 端上的构象差异, 为胰岛素分子 B 链 N 端的高运动性提供了重要旁证。

(2) 与 A1-(L-色氨酸)胰岛素的结构比较

A1-(D-色氨酸)胰岛素和 A1-(L-色氨酸)胰岛素分子 I 以及分子 II 构象的最小二乘叠合分析结果表明, 两个分子 I 之间 A 链主链全部原子的平均偏离为 1.09 Å, B 链主链全部原子的平均偏离为 1.58 Å, 两个分子 II 之间的 A 链主链原子平均偏离为 1.79 Å, B 链主链全部原子平均偏离为 4.69 Å (见表 3)。从分子 I 的 A, B 链叠合骨架图^[14]看出, 体现胰岛素分子结构特征的二级结构骨架部分是基本吻合的。从表 3 中, 各个不同肽段分别单独进行叠合的偏差看, 分子 I 中吻合较好的是 B9—B19, B20—B23, B23—B27 和 A6—A11, 平均偏离低于 0.58 Å。其次是 A2—A7 和 A12—A17, 平均偏离在 0.64 Å 和 0.75 Å。分子 II 中吻合最好的包括 B23—B27, B9—B19 和 B20—B23, 平均偏离在 0.44 至 0.48 Å。其次是 A12—A19, A6—A11 和 A2—A7。吻合最差的是 B 链 N 端 B1—B8 段, 平均偏离高达 3.04 Å。图 3 展示了 A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 II B 链与 A1-(L-色氨酸)胰岛素分子 II B 链的叠合情况。分子 II B 链 N 末端的移动距离高达 21.2 Å。从上述分子 I 和分子 II A, B 链的叠合情况分析, 分子 I A, B 链主链原子基本实现了最佳吻合。分子 II 除 B 链 N 端 B1—B8 肽段平均偏离很大外, 其余各段的平均偏离较小, 也已达最佳叠合。这些结果表明, A1-(D-色氨酸)胰岛素分子的构象, 除了分子 II 的 B 链 N 端 B1—B8 肽段外, 基本上保持着三方二锌猪胰岛素分子的结构¹⁾。此外分子中可能的与受体结合的表面^[1]与三方二锌猪胰岛素相同, 这可能是 A1-(D-色氨酸)胰岛素保留相当高的生物活力的原因。

2. 六体在晶体中的密堆积

从上述结构比较可知, A1-(D-色氨酸)胰岛素的结构基本上保持了三方二锌胰岛素相似的结构走向。虽然分子的局部结构发生一定程度的改变。前面曾提到, A1-(D-色氨酸)胰岛素的晶体虽属三方晶系 $R\bar{3}$ 空间群, 但其晶胞参数中 c 轴方向与三方四锌猪胰岛素和三方二锌猪胰岛素分别有 26% 和 32% 的变化, 远远大于通常公认的 1%—5% 不同晶度的容许范围。经过理论上分析和实践经验的判断, 我们认定 A1-(D-色氨酸)胰岛素与天然猪胰岛素在聚合形式以及它们在 $R\bar{3}$ 晶格中的空间排布方式, 都不应该有原则性的差异。所以, 决定了测定 A1-(D-色氨酸)胰岛素结构的特殊技术路线和方法, 即在无重原子衍生物的情况下, 只参考已知三方二锌和四锌猪胰岛素结构的六聚体模型, 以结构模型逐步逼近技术作为主要手段, 通过反复重建模型, 最终解出具有较高精度的结构。这在方法和技术措施上以同晶型方法解决具有很高不同晶度的衍生物结构提供了一个实例。

从 A1-(D-色氨酸)胰岛素和三方二锌猪胰岛素在晶格中的堆积, 即六聚体之间的接触 (见表 4(a), (b)) 可以看出, 在 A1-(D-色氨酸)胰岛素中 A 链 N 端直接参与了六聚体间的接触, 其中 A1-Trp(N) 与 A14-Tyr(CD₂), A17-Glu(CD) 和 A17-Glu(OE₂) 的接触距离分别为 4.0, 3.7 和 2.6 Å。A1-Trp(CA) 与 A14-Tyr(CB) 和 A17-Glu(OE₂) 的接触距离分

1) 万柱礼, 博士学位论文, 1988 年 7 月

表 4(a) A1-(D-Trp) 胰岛素六聚体之间分子接触

原子距离 (Å)		原子距离 (Å)		原子距离 (Å)	
I A1N—II A14CD2	4.00	I A1CA—II A14CB	3.61	I A1C—II A14CB	4.03
I A1O—II A14CD2	4.04	I A1N—II A17CD	3.73	I A1N—II A17OE2	2.57
I A1CA—II A17OE2	3.81	I A5CG—II A14CG	3.71	I A5CG—II A14CZ	3.77
I A5CD—II A14CB	3.40	I A5CD—II A14OH	3.27	I A5OE1—II A14OH	3.73
I A19OH—II A14CB	3.10	I A19OH—II A14CG	3.46	I A19OH—II A14CD1	3.94
I B25CG—II A15NE2	3.79	I B25CD1—II A15NE2	3.06	I B25CE1—II A15CG	3.17
I B25CE1—II A15OE1	3.54	I B25CZ—II A15OE1	3.52	I B25CD2—II A15NE2	3.65
I B27O—II A18CB	3.77	I B27O—II A18CG	3.60	I B27O—II A18OD1	3.54
I B27CB—II A18OD1	3.75	I B28O—II A18ND2	3.84	I B29O—II A17C	3.89
I B29O—II A17O	3.60	I B29N—II A18CG	3.99	I B29N—II A18ND2	3.74
I B29CA—II A18CB	3.93	I B29CA—II A18CG	3.77	I B29CA—II A18ND2	3.50
I B29C—II A18CA	3.28	I B29C—II A18O	3.17	I B29C—II A18OD1	3.67
I B29O—II A18N	3.57	I B29O—II A18C	3.46	I B29O—II A18CG	3.22
I B29O—II A18ND2	2.79	I B3OCA—II A15O	3.77	I B30CB—II A15CA	3.87
I B30CB—II A15C	3.84	I B30CB—II A15O	3.16	I B30OT—II A15O	3.97
I B30C—II A16C	3.99	I B30OT—II A16C	3.09	I B30CA—II A17C	3.57
I B30C—II A17O	3.46	I B30C—II A17CB	3.46	I B30O—II A17CB	3.98
I B30OT—II A17CG	3.77	I B30N—II A18N	3.72	I B30N—II A18O	3.52
I B30CA—II A18C	3.34	I B30CA—II A18O	3.51	I B30C—II A18C	3.67
I B30C—II A18OD1	3.11	I B30O—II A18N	3.63	I B30O—II A18CA	3.54
I B30O—II A18CB	3.82	I B30CB—II A18N	3.54	I B30OT—II A18C	3.29
I B30OT—II A18CB	3.24	I B30OT—II A18CG	3.07	I B30OT—II A18OD1	3.99

表 4(b) 三方二锌猪胰岛素六聚体之间分子接触

原子距离		原子距离		原子距离	
I A18O—II A14CB	3.65	I A18CB—II A14CD1	3.66	I A18CB—II A14CE1	3.62
I A18OCG—II A14CE1	3.53	I A18OD1—II A14CE1	3.61	I A18OD1—II A14CZ	3.55
I A18OD1—II A14OH	3.43	I A18ND2—II A14CE1	3.89	I A19CZ—II A14CD2	4.04
I A19CE2—II A14CD2	3.88	I A19OH—II A14CD2	3.91	I B25CE1—II A14O	3.85
I B25CZ—II A14C	3.98	I B25CZ—II A15N	3.92	I B25CZ—II A15CG	3.79
I B25OCD1—II A18OD1	3.51	I B25CE1—II A18OD1	3.74	I B27CB—II A18ND2	3.40
I B27OG1—II A18CG	3.80	I B27OG1—II A18ND2	2.85	I B27CG2—II A18CG	3.86
I B27CG2—II A18OD1	3.99	I B27CG2—II A18ND2	3.64	I B30CB—II A17O	4.09
I B30CB—II A18ND2	3.69	I B29O—I B30OT	3.48	I B30C—II B22NH1	4.07
I B30OT—II B22CZ	3.62	I B30OT—II B22NH1	2.93	I B30OT—II B22NH2	3.62

别为 3.6 和 3.8 Å。A1-Trp(O) 和 A1-Trp(C) 与 A14-Tyr(CD₂) 和 A14-Tyr(CB) 的接触距离都为 4.0 Å。而三方二锌胰岛素的 A 链 N 端显然没有参加六聚体之间的相互作用。由于 A1 色氨酸残基伸向分子的外部并参与了六体间密堆积接触, 而仅 A1 色氨酸吡咯环的长度就有 5 Å 左右, 因此, 在六聚体之间分子与分子相互作用中, 为了满足 Van der Waals 合理键长范围 (大约 3.5 Å), 六体在晶胞中的排列周期只有沿着 c 轴方向增长才能满足 A1-(D-色氨酸)胰岛素六体在晶胞中的相互作用并从而达到紧密堆积。

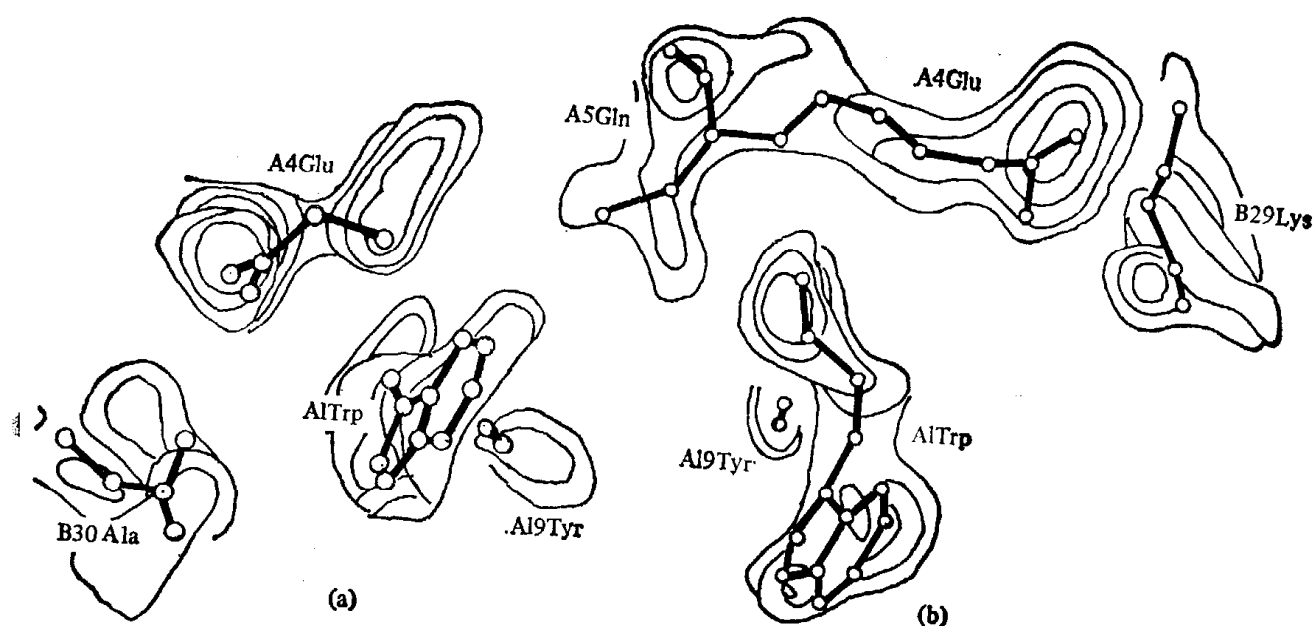


图 4 A1-(D-Trp) 胰岛素分子 I (a) 和分子 II (b) A 链 N 端微环境

表 5(a) A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 I 吡啶环与自身分子相邻残基的接触

原子	距离(Å)	原子	距离(Å)	原子	距离(Å)
A1CG1—A40E1	4.74	A1CB—A40E1	4.33	A1N—A40E1	4.89
A1O—A40E1	4.89	A1CB—A40E2	4.91	A1CE3—A40E2	4.73
A1CG—A40E2	4.65	A1CD2—A40E2	4.54	A1CE2—A40E2	4.88
A1N—A5CG	4.31	A1C—A19OH	3.68	A1CA—A19OH	4.18
A1N—A19OH	4.77	A1C—B30O	4.91	A1CA—B30O	4.33
A1CB—B30O	4.78	A1N—B30O	3.30	A1CD1—B30O	4.91
A1N—B30OH	4.32	A1CD1—B30OH	4.96		

表 5(b) A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 I 吡啶环与相邻分子的接触

原子	距离(Å)	原子	距离(Å)	原子	距离(Å)
A1NE1—B1CE1*	3.79	A1CE2—B1CE1*	4.15	A1CZ2—B1CE1*	4.20
A1CD1—B1CE1*	4.56	A1CZ2—B1CZ*	4.83	A1CE2—B1CZ*	4.48
A1NE1—B1CZ*	3.73	A1CD1—B1CZ*	4.30	A1NE1—A14CD2**	3.82
A1CE2—A14CD2**	4.14	A1CD1—A14CD2**	3.42	A1CD2—A14CD2**	4.02
A1CG1—A14CD2**	3.60	A1CE3—A14CD2**	4.85	A1N—A14CD2**	4.54
A1CB—A14CD2**	4.08	A1CA—A14CD2**	4.13	A1NE1—A14CE2**	4.33
A1CD1—A14CE2**	4.32	A1CG1—A14CE2**	4.42	A1CD2—A14CE2**	4.42
A1CE3—A14CE2**	4.98	A1CE2—A14CE2**	4.39	A1CZ2—A14CE2**	4.93
A1CZ2—A17OE1**	3.97	A1CE2—A17OE1**	3.64	A1CD2—A17OE1**	4.54
A1CD1—A17OE1**	3.80	A1CG1—A17OE1**	4.59	A1NE1—A17OE1**	3.13
A1CZ2—A17OE2**	4.47	A1CE2—A17OE2**	4.02	A1CD1—A17OE2**	3.68
A1CG1—A17OE2**	4.91	A1NE1—A17CG**	4.55	A1CD1—A17CG**	4.71

* 与相邻分子 I B1-Phe 残基的接触。

** 与相邻分子 II A14-Tyr 和 A17-Glu 残基的接触。

表 6 A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 II 吡啶环上的原子与相邻分子残基的接触

原子	距离(Å)	原子	距离(Å)	原子	距离(Å)
A1N—A40E2	4.10	A1CD1—A21OD1*	4.36	A1NE1—A21OD1	3.36
A1CE2—A21OD1	4.26	A1CZ2—A21OD1	4.51	A1NE1—A21ND2	3.71
A1CD1—A21ND2	4.05	A1CE2—A21CG	4.79	A1NE1—A21CG	3.66
A1CD1—A21CG	4.42	A1NE1—A21CB	4.68		

* A21——相邻分子 II A 链 A21-Asn.

3. A1-Trp 残基的表现及其微环境

A1-(D-色氨酸)胰岛素分子 I 和分子 II A 链 N 端的微环境分别示意于图 4(a) 和 (b). A1-Trp 残基的部分原子与相邻残基的最近接触距离分别列于表 5(a) 及 (b) 和表 6.

我们曾提到^[6], A1 的 α -氨基是在胰岛素分子与其受体相互作用表面的疏水区边缘, 也是极性区的重要成员之一. 其 α -氨基在结构上应该比较自由, 但实际上在各种胰岛素分子中它的构象都十分稳定. 它的正电荷对分子的功能表现十分关键^[14]. A1-(L-色氨酸)胰岛素^[6]和 A1-(D-色氨酸)胰岛素结构分析表明, 相对于原来 A1-Gly 没有侧链的情况, A1-(L-色氨酸)胰岛素分子的 A1-Trp 残基伸向分子的内部, 而 A1-(D-色氨酸)胰岛素分子的 A1-Trp 残基伸向分子的外部. 正是由于 L 构型氨基酸伸向了分子内部, 严重阻挡了胰岛素分子与受体分子的结合并且屏蔽了 α -氨基的正电荷与受体分子的相互作用, 造成 L 构型氨基酸 A1 位取代胰岛素修饰物的生物活力严重下降. 而 D 构型氨基酸却保持了相当高的生物活性.

德意志联邦共和国霍克斯特公司药物合成部 Rolf Geiger 教授为我们提供纯 A1-(D-色氨酸)胰岛素制剂, 在此表示感谢.

参 考 文 献

- [1] 王志珍等, 生物化学杂志, 1(1985), 9.
- [2] 北京胰岛素结构研究组, 中国科学, 1974, 7: 591.
- [3] Krail, G. et al., *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 356(1975), 981.
- [4] Geiger, G. et al., *ibid.*, 363 (1982), 1231.
- [5] Brandenburg, D. et al., *ibid.*, 355(1975), 961.
- [6] 万柱礼等, 中国科学 B 辑, 1989, 1: 33.
- [7] 万柱礼等, 中国科学 B 辑, 1985, 7: 631.
- [8] Fox, G. C. et al., *Acta Cryst.*, 20(1966), 886.
- [9] 常文瑞等, 中国科学 B 辑, 1986, 7: 719.
- [10] Konnert, J. H. et al., *Acta Cryst.*, A32(1976), 614.
- [11] 李密等, 中国科学 B 辑, 1989, 9: 940—947.
- [12] Dodson, G. G. et al., *Biopolymer*, 22(1983), 218.
- [13] Yip, C. C., in *Insulin* (Ed. Hollendery, M. D.), 1985, 21.
- [14] Rosen, P. et al., in *Insulin: Chemistry, Structure, and Function of Insulin and Related Hormones*. (Ed. Brandenburg, D. et al.), Walker de Gruyter and Co., Berlin, 1980, p. 403.