

3-磷酸甘油醛脱氢酶的分子遗传

赫 荣 乔

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

3-磷酸甘油醛脱氢酶 (D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 是糖酵解、糖异生及光合作用碳固定循环过程中的关键酶^[1,2], 充当蛋白质结构与功能研究的重要材料, 其基因也越来越多地应用于分子遗传学的研究领域。

由于糖酵解和光合作用是细胞古老的能量代谢形式, GAPDH 的基因也在进化的早期出现。在漫长的物种进化过程中, GAPDH 的基因突变分化, 往往使一种生物体具有多个编码 GAPDH 的基因。

GAPDH 的基因首先从面包酵母细胞中分离出来。面包酵母具有 17 对染色体^[3], GAPDH 的基因存在于染色体上^[4]。葡萄糖能诱导酵母细胞产生大量的 GAPDH。Holland 推测^[5] GAPDH 被诱导产生的原因可能是该酶的基因在转录的初始阶段具有较强的起动力信号, 基因调控主要发生在转录水平。同年, 他们利用所纯化的 mRNA 制备出了互补的 cDNA 探针, 成功地分离出了酵母细胞 GAPDH 的 pGAP 491 完整基因片段, 并分析了它的氨基酸序列^[6]。一年后, Holland 等又从面包酵母中分离出了 GAPDH 的另一个同功酶的基因片段 pGAP 63^[7], 并且比较了两条基因的序列, 发现它们的编码区具有 94% 的同源性, 仅有 15% 左右的氨基酸不同。这与 Hirano 等^[8]利用电泳的方法分离出的两种不同氨基酸组成的酵母 GAPDH 亚基的结果类似。他们认为酵母 GAPDH 的亚基有两种, 即 α 和 β 亚基; 它们可组合成五种同功酶。然而, Holland 等^[9]利用分子杂交的方法从面包酵母中分离出了第三个 GAPDH 的基因完整片段 pGAP11, 该基因序列与 pGAP 491 和 pGAP 63 有 90% 的同源性, 并且这三个基因片段均能转录出各自的 mRNA。因此, 面包酵母细胞究竟有几种同功酶还需进一步探索。Toshiaki^[10]从一种嗜渗透的单倍结合孢子酵母菌中分离出了一组 GAPDH 的完整基因 pGAP1-Zr。并认为这种酵母菌至少存在两组基因来编码 GAPDH。pGAP1-Zr 与面包酵母的 pGAP 491、pGAP 63 及 pGAP 11 之间的同源性很低。

Xiao-Hong Sun^[11]从果蝇中分离出了两种编码 GAPDH 的基因, Gapdh-1 和 Gapdh-2 这两种基因的编码序列具有高度的保守性, 在果蝇的幼虫期、蛹和成虫期都有较高的表达性。Stefan 等^[12]在 *E. coli* 中成功地表达了极端嗜热古细菌的 GAPDH 的基因, 利

用该酶的热稳定性很方便地纯化出了酶蛋白。这种 GAPDH 的分子较易结晶, 用 X-Ray 衍射的方法分析其晶体结构较为方便。同时, 他们认为可以比较容易得到该酶的基因突变体, 用测定晶体结构的方法来研究 GAPDH 的不同突变蛋白分子的空间结构, 可以获得不同氨基酸残基对蛋白质分子活性与构象作用的信息。

另一方面, 除了葡萄糖能诱导酵母细胞产生大量的 GAPDH 外, Maria 等^[13]发现胰岛素可诱导人细胞增加 GAPDH 的合成量。他们用胰岛素作用于 3T3-F442A 脂肪细胞和 H35 Hepatoma 细胞株。结果胰岛素诱导 3T3-F442A 细胞产生的 GAPDH 比对照组细胞高 10 倍; H35 Hepatoma 细胞比对照组高 3 倍。他们推测, 胰岛素可能是作用于 GAPDH 基因的 5' 端的序列, 通过顺反子促进基因的表达。

近年来的研究表明, 有较多的因素可参与 GAPDH 的基因调控。除胰岛素外, 光也参与调控的过程。Cerrif^[14]报道了烟草的叶绿体中含有两种 GAPDH 同功酶, 分别由 A₁B₁ 和 A₂ 亚基组成; 但细胞质中只有一种亚基组成的酶 C₁。叶绿体 GAPDH 是光合作用暗反应过程中的关键酶, 随着光合作用的增强, 酶的浓度也平行增加。Ming-Che Shih^[15,16]研究了光对烟草 GAPDH 基因的调节作用。他们把烟草从暗处移到明处, 发现叶绿体(核编码基因) GapA 和 GapB 基因编码的 GAPDH 蛋白至少增加了 30 至 50 倍, 而细胞质的 GAPDH (GapC) 只增加了 10 倍左右。动力学分析的结果表明, GapA 和 GapB 转录的 mRNA 达到稳定水平需要 24—48 小时, GapC 转录的 mRNA 却很快达到稳定水平。他们认为光对 GapA/B 和 GapC 的调节作用可能发生在转录水平, 但两者的调控机制有差异。

目前, GAPDH 基因已经用于探索分子遗传学的基础课题研究中。Quigley^[17]从玉米叶中分离出了叶绿体的 GAPDH 基因。分析比较了叶绿体、细胞液、鸡以及线虫的 GAPDH 基因全序列。发现它们的内含子 (intron) 的核苷酸序列有相似性, 从而推测; intron 出现在原核细胞与真核细胞的分化之前。

(下转第 37 页)

本文写作过程中承邹承鲁先生的指导, 特此致谢。

参 考 文 献

1. Zieler H et al.: *Plant*, 67: 344—356, 1965.
2. Harris L I and M Waters: *The Enzymes* (Boyer P D ed.) 3rd Ed, Academic Press, New York, vol. 13c, pp. 1—49, 1976.
3. Fred S et al.: *Laboratory Course Manual for Methods in Yeast Genetics*, SH Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 186, 1986.
4. Maitra P K and Z Lobo: *J. Biol. Chem.*, 246: 475, 1971.
5. Holland M J and J P Holland: *Biochemistry*, 17: 4900, 1978.
6. Holland J P and M J Holland: *J. Biol. Chem.*, 254: 9839, 1979.
7. Holland J P and M J Holland: *J. Biol. Chem.*, 255: 2596, 1980.
8. Hirans T and D E Koshland: *Biochem. Intern.*, 1: 346, 1980.
9. Holland J P and M J Holland: *J. Biol. Chem.*, 258: 2591, 1983.
10. Toshiaki I et al.: *Agric. Biol. Chem.*, 51: 1641, 1987.
11. Xiao Hong Sun et al.: *Molecular and Cellular Biology*, 8: 5200, 1988.
12. Stefan F et al.: *FEBS Lett.*, 237: 213, 1988.
13. Maria T R and P Regina: *BBA*, 584: 309, 1988.
14. Cerff R: In Edelman M, Hallick R B and Chua N H(eds): *Methods in Chloroplast Molecular Biology*, Elsevier-North Holland, Amsterdam, pp. 683—694, 1982.
15. Ming Che Shih et al.: *The EMBO*, 7: 893, 1988.
16. Ming Che Shih et al.: *Science*, 242: 1164, 1988.
17. Quigley J et al.: *PNAS*, 85: 2672, 1988.