

# 藻红蓝蛋白裂合异构酶对几种脱辅基藻胆蛋白的催化作用

朱菁萍<sup>1</sup> 周 明<sup>2\*</sup> 赵开弘<sup>2</sup> 曾志雄<sup>2</sup> 周宜开<sup>1</sup>

<sup>1</sup>( 华中科技大学同济医学院公共卫生学院, 武汉 430022 )

<sup>2</sup>( 华中科技大学环境科学与工程学院, 武汉 430074 )

**摘 要** PecE/PecF 是层理鞭枝藻藻红蓝蛋白  $\alpha$  亚基 ( $\alpha$ -PEC) 生物合成的裂合异构酶。以 4 种脱辅基藻胆蛋白为底物, 初步研究了 PecE/PecF 对底物蛋白的催化专一性。结果表明, PecE/PecF 可催化藻蓝胆素 (PCB) 与高度同源的层理鞭枝藻不同亚种的  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的体外重组, 也可催化经 128 位 Trp 定点突变到 Phe 而得到的  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的体外重组, 但 PecE/PecF 对 PCB 与藻蓝蛋白  $\alpha$  亚基 ( $\alpha$ -CPC) 脱辅基蛋白的体外重组无催化作用。 $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的重组不受表面活性剂 Triton X-100 的影响, 而 Triton X-100 可改进 PCB 与  $\alpha$ -CPC 脱辅基蛋白的重组。

**关键词** 裂合异构酶, 藻胆蛋白, 重组

中图分类号 Q814 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2002)06-0703-06

藻胆蛋白 (Phycobiliprotein) 是存在于蓝藻和红藻光合作用捕光复合物中的功能色素蛋白。由于其广阔的应用前景, 近年来对藻胆蛋白在食品、化妆品、医药和生物工程领域的研究开发较多。但目前使用的藻胆蛋白仍局限于从藻中直接提取。对藻胆蛋白生物合成及其与藻胆色素的共价偶联机制的研究将有助于通过基因工程手段和体外重组方法人工“合成”藻胆蛋白。

PEC(藻红蓝蛋白, phycoerythrocyanin)  $\alpha$  亚基的可逆光致变色特性使其在生物光电器件、生物光开关材料方面具有潜在的应用前景。Zhao 等<sup>[1]</sup> 发现, 在层理鞭枝藻中, PEC 操纵子 E、F 基因编码的 PecE、PecF 是 PEC  $\alpha$  亚基 (简称  $\alpha$ -PEC) 生物合成的裂合异构酶。PecE/PecF 催化 PCB(藻蓝胆素, phycocyanobilin) 异构为 PVB(藻紫胆素, phycoviolobilin), 并与  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的 Cys-84 残基以硫醚键共价连接, 从而生成具有天然活性的  $\alpha$ -PEC。通过初步研究 PecE/PecF 在体外催化反应中对底物藻胆色素的专一性<sup>[2]</sup>, 发现在几种色素底物中, PCB 是酶的专一性底物。但是对底物脱辅基蛋白的专一性还未见报道。本文以 4 种脱辅基藻胆蛋白为底物, 研究层理鞭枝藻藻红蓝蛋白裂合异构酶 PecE/PecF 的底物专

一性, 同时用 Triton X-100 模拟生物体内小分子, 研究其对 PecE/PecF 催化作用的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

*E. coli* TG1、*E. coli* BL21(DE3) 由本室保存。克隆载体 pBluescript SK(+) 为 Stratagene 公司产品, 表达载体 pET 30a 购自 Novagen 公司, 质粒 pET 30a-pecE 和 pET 30a-pecF 由本室构建和保存。DNA 回收试剂盒为 CLONTECH 公司产品, 限制酶和 Taq 酶、T4 DNA 连接酶、IPTG、X-gal 为 SABC 产品。亲和层析介质购自 Amersham Pharmacia 公司。色素 PCB 由德国慕尼黑大学 Hugo Scheer 教授惠赠。光谱用 Lambda 25 型紫外可见光谱仪 (Perkin-Elmer) 和 F-4500 型荧光光谱仪 (日立) 测定。

### 1.2 克隆

基因 I ~ III 分别用 PCR 方法从不同的藻 DNA 模板中扩增得到 (表 1)。由于藻种来源不同, 两种模板在序列上稍有差异。经扩增得到的片段用 *Sma* I、*Xho* I 酶切后, 与同样双酶切的克隆载体 pBluescript 连接, 转化 *E. coli* TG1, 用含有 IPTG 和 X-gal 的氨苄青霉素平板筛选, 挑取白色菌落。根据质

收稿日期 2002-06-17, 修回日期 2002-08-15。

基金项目 国家自然科学基金资助 (No. 30270326)。

\* 通讯作者。 Tel 86-27-87541634 Fax 86-27-87541634 E-mail jingpingzhu@263.sina.com

粒大小和酶切检验初步鉴定阳性重组子,并经测序进一步证实。重组质粒经 *Sma* I、*Xho* I 酶切后得到的小片段与经 *Eco*RV、*Xho* I 酶切的表达载体 pET30a 连接,转化 *E. coli* BL21,用含有卡那霉素的平板筛选。根据质粒大小和 IPTG 诱导表达的外源融合蛋白分子量进一步鉴定阳性重组子。DNA 片段 IV 由基因 III 按文献 [3] 定点突变而得。

表 1 实验中使用的几种基因片段和蛋白质  
及它们相应的 PCR 模板

Table 1 Genes and proteins used in the experiments  
and their corresponding PCR templates

Number	Gene	Protein	Source of template
I	pecA	apo- $\alpha$ -PEC	Munich <sup>a</sup>
II	cpcA	apo- $\alpha$ -CPC <sup>b</sup>	Munich <sup>a</sup>
III	pecA	apo- $\alpha$ -PEC	Wuhan <sup>c</sup>
IV	pecA	apo- $\alpha$ -PEC	Wuhan <sup>c</sup>
V	pecE	PecE	Munich <sup>a</sup>
VI	pecF	PecF	Munich <sup>a</sup>

[ a ] Template of *M. lamosus* PCC 7603 is a gift from Prof. Hugo Scheer, Munich University, Germany. [ b ] Apoprotein of phycocyanin  $\alpha$ -subunit. [ c ] Template of *M. lamosus* UTEX 1931 is extracted in our lab.

### 1.3 蛋白质的表达与纯化

表达载体 pET 30a 中 T7 启动子下游有 6 个组氨酸的密码子,由此构建的重组质粒在大肠杆菌中诱导表达得到的外源融合蛋白 N 端都带有 6 个组氨酸,故可采用亲和层析法提纯。含各种表达质粒的 *E. coli* BL21 分别在 1L 含 30 $\mu$ g/mL 卡那霉素的 LB 培养基中,37 $^{\circ}$ C 培养至  $OD_{600} = 0.4 \sim 0.7$ ,加入终浓度为 1mmol/L 的 IPTG 诱导 5h 后,离心收集细胞,2 次蒸馏水洗 2 次,-20 $^{\circ}$ C 保存。将冻存的细胞重悬于 0.5mol/L NaCl、20mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.2)中,超声 30min,离心,上清用镍螯合层析柱纯化。柱平衡缓冲液为 0.5mol/L NaCl、20mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.2),洗脱液为 100mmol/L EDTA、0.5mol/L NaCl、20mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.2)。得

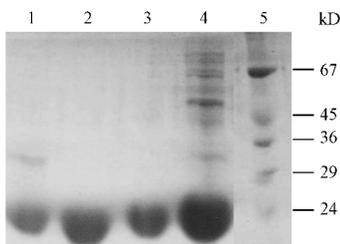


图 1 纯化后的蛋白质 I ~ IV 的 SDS-PAGE 谱图

Fig.1 SDS-PAGE of protein I ~ IV after purification.

1. Protein I ;2. Protein II ;3. Protein III ;4. Protein IV ;5. Protein molecular weight standard

到的收集液体积约 7mL,蛋白质浓度约 10mg/mL (Bradford 法测定)。将收集液对 0.5mol/L NaCl、50mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.2)透析 3 次,以除去  $Ni^{2+}$ 。经纯化的蛋白质 I ~ IV 和 PecE、PecF (图 1、2) 可直接用于重组。蛋白质重组生成的产物色素蛋白质用同样的方法提纯。

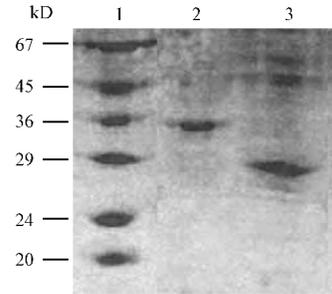


图 2 纯化后的蛋白质 V、VI 的 SDS-PAGE 谱图

Fig.2 SDS-PAGE of protein V, VI after purification.

1. Protein molecular weight standard 2. Protein V 3. Protein VI.

### 1.4 体外重组

藻胆蛋白的体外重组实验分为直接重组和催化重组。直接重组为脱辅基蛋白与色素的直接反应,催化重组为蛋白质与色素在酶 PecE/PecF 催化下的偶联反应。

在无 Triton X-100 的重组体系(简称体系 I)中,加入 166mmol/L NaCl、16mmol/L 磷酸钾缓冲液、100mmol/L Tris-HCl、1mg/mL 脱辅基藻胆蛋白、(1mg/mL PecE 和 1mg/mL PecF) 10 $\mu$ mol/L PCB 以及其它必要的辅助因子:5mmol/L  $\beta$ -巯基乙醇、3mmol/L  $Mn^{2+}$  等。反应总体积为 1.0mL。溶液 pH 值为 7.0 ~ 8.0。37 $^{\circ}$ C 暗处反应 2 ~ 3h 后,离心,上清经亲和层析柱提纯后直接用光谱测定。

在上述蛋白质 I ~ IV 的重组体系 I 中分别加入 1% Triton X-100 构成体系 II(又称有 Triton X-100 的重组体系),得到的直接和催化重组反应混合物提纯后用光谱检测。

### 1.5 光谱测定

天然藻胆蛋白作为捕光蛋白,可吸收一定波长的光。通过光谱检测已纯化的色素蛋白质,由其光谱特征可判断重组产物的结构与光学活性。紫外可见光谱扫描范围 300 ~ 800nm,扫描速度 960nm/min,狭缝宽度 1.0nm。荧光光谱扫描速度 1200nm/min,狭缝宽度 5.0nm/5.0nm。

色素蛋白质可逆光化学性质的测定,按文献 [4] 操作。 $\alpha$ -PEC 的可逆光化学性质即光化学活性大小 ( $\Delta A$ ) 近似等于  $\alpha$ -PEC 的吸光度值 ( $A$ ),因此催化重

组生成的  $\alpha$ -PEC 的吸光度值可用于表征酶的催化活性<sup>[1,2]</sup>。

## 1.6 色素蛋白质变性实验

为进一步确定重组产物中色素的种类,用酸性尿素(8mol/L, pH2)使其变性,紫外可见光谱检测变性后的色素蛋白质。这时蛋白质与色素间的作用很弱,色素基本呈游离时的结构状态,色素蛋白质的吸收光谱与游离色素的吸收光谱很相似,因此从吸收峰最大值可以判断色素的种类。

## 2 结 果

### 2.1 定点突变

X 射线衍射数据表明<sup>[6]</sup>在空间上  $\alpha$ -PEC 的 128 位 Trp 与 84 位 Cys 相邻,该 Trp 与 84 位上连有的辅基色素存在较强相互作用。为了考察该相互作用对辅基色素与脱辅基蛋白重组的影响,我们通过 PCR 在基因 III 中引入一个定点突变,从而得到蛋白质 IV。蛋白质 IV 与蛋白质 III 相比,只是将后者 128 位的 Trp 替换为 Phe,二者仅相差一个氨基酸。

以基因 III 为模板, P<sub>1</sub>、P<sub>3</sub> 和 P<sub>2</sub>、P<sub>4</sub> 为引物分别扩增 DNA 模板。得到的片段 1、2 经琼脂糖凝胶电泳纯化后置于同一反应试管内作为模板,再以 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub> 为引物进行第二轮 PCR,得到的全片段经 Sma I、Xho I 消化后,与同样双酶切的 pBluescript 连接,转化 *E. coli* TG1,用含有 IPTG 和 X-gal 的氨苄青霉素平板筛选,挑取白色菌落。根据质粒大小和酶切检验初步鉴定阳性重组子。

P<sub>1</sub> ~ P<sub>4</sub> 序列如下,其中 P<sub>3</sub> 序列中的斜体 A、P<sub>4</sub> 序列中的斜体 T 为引入的突变碱基:

P<sub>1</sub> 5' AACCCGGGAAGACCACGTTAACCGAAGC 3'

P<sub>2</sub> 5' CGCTCGAGCAAAGGACATTCGCTGTTTA 3'

P<sub>3</sub> 5' GCTACATAAAAGCTGGGAGACAAGCC 3'

P<sub>4</sub> 5' TCCCAGCTTTTATGTAGCGGCTCTAG 3'

pBluescript 载体上有两个 Pvu II 酶切位点,分别位于多克隆位点两端,pecA 基因上也有一个 Pvu II 酶切位点,距 Sma I 酶切位点约 380bp。经过定点突变后,pecA 基因上 Pvu II 酶切位点处的 CAGCTG 变成了 CAGCTI(P<sub>3</sub>、P<sub>4</sub> 序列中的下划线部分),使该 Pvu II 酶切位点消失。用酶 Pvu II 分别消化突变和未突变的质粒 pBlue-pecA,应得到的片段大小分别为 910bp 和 270bp、640bp。琼脂糖凝胶电泳谱图(图 3)与预计吻合。最后对突变序列测序确认。

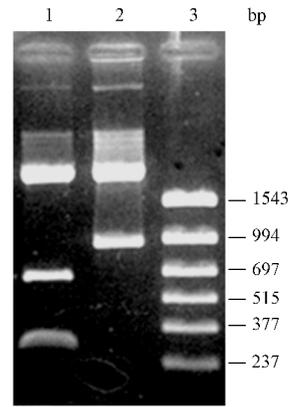


图 3 重组质粒用酶 Pvu II 消化后的琼脂糖凝胶电泳谱图。

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of recombinant plasmids digested by Pvu II.

1. pBlue-pecA (not mutated); 2. pBlue-pecA (site-directed mutated); 3. DNA molecular weight standard.

### 2.2 光谱分析

在一定波长的光激发下, $\alpha$ -PEC 中辅基色素 PVB 的双键发生可逆的顺反异构,从而使  $\alpha$ -PEC 的吸收峰在 500~570nm 间发生位移。因此,根据该可逆光致变色性质可判断  $\alpha$ -PEC 重组是否成功。

2.2.1 PecE/PecF 在体系 I 中的催化作用:由蛋白质 I 催化生成的色素蛋白质 I 产生 570nm 最大吸收峰和 590nm 荧光发射峰(图 4),有光化学活性,与文献[4]报道的数据吻合,可见该色素蛋白质为具有天然活性的  $\alpha$ -PEC。

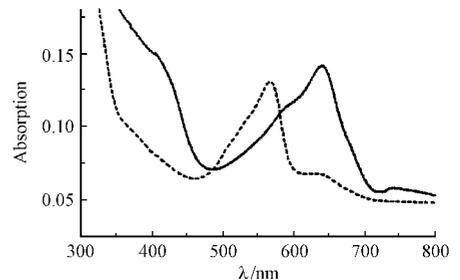


图 4 体系 I 中蛋白质 I 与 PCB 直接重组产物和催化重组产物的吸收光谱

Fig. 4 Absorption spectrum of reconstituted products of protein I in the presence (dashed line) and absence (solid line) of PecE/PecF (in system I).

如图 5、图 6 所示,催化生成的色素蛋白质 II 没有光化学活性,具有 640nm 最大吸收峰和 660nm 荧光发射峰,光谱性质与天然  $\alpha$ -CPC 不吻合,由此可推断生成的色素蛋白质 II 不是具有天然活性的  $\alpha$ -CPC。催化生成的色素蛋白质 III、IV 与色素蛋白质 I (即  $\alpha$ -PEC) 具有非常相似的光谱性质和光化学活性。图 5d 表明蛋白质 IV 与 PCB 催化重组生成的色

素蛋白质仍具有与天然  $\alpha$ -PEC 相同的可逆光致变色性质。

蛋白质 I ~ IV 的直接重组产物均具有 640nm 左右的最大吸收峰和 660nm 的荧光发射峰,无光化学活性。

蛋白质 III 的直接重组和催化重组产物变性后的吸收峰最大值分别为 660nm、595nm (图 7a),表明所连色素分别为 PCB<sup>[2]</sup>和 PVB<sup>[4]</sup>。变性实验表明,催化生成的色素蛋白质 I、III、IV 中所连的色素均为 PVB,进一步证实生成的色素蛋白质确为  $\alpha$ -PEC,而直接重组生成的色素蛋白质 I、III、IV 中所连色素均为 PCB。

由吸收峰最大值(690nm)可知,体系 I 中蛋白

质 II 催化重组和直接重组产物(图 7b)中共价偶联的色素均为中胆绿素<sup>[5]</sup>(mesobiliverdin,简称 MBV)。MBV 的基本骨架(图 8c)与 PCB 相同,也是线性四吡咯环结构,但比 PCB 少 2 个 H 原子,即多一个双键,一般认为是后者的氧化形式。

2.2.2 PecE/PecF 在体系 II 中的催化作用:吸收光谱显示,在体系 II 中,蛋白质 I、III、IV 催化重组和直接重组生成的色素蛋白质种类同体系 I,它们共价偶联的色素种类也分别与体系 I 一致。

在体系 II 中,蛋白质 II 直接重组和催化重组产物的吸收峰均蓝移至 632nm 左右(图 9)。两种产物共价连接的色素均为 PCB(图 7b)。

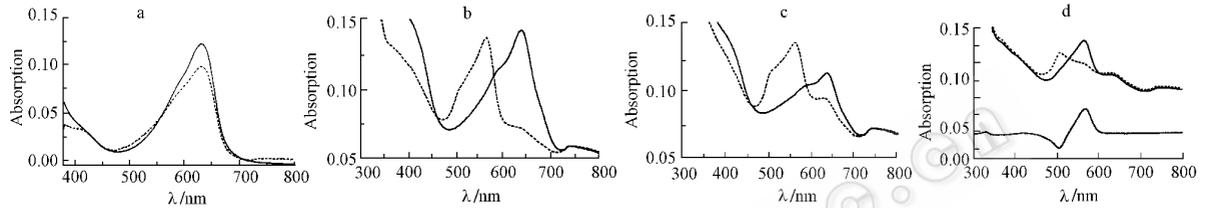


图 5 体系 I 中三种层理鞭枝藻脱辅基藻胆蛋白与 PCB 直接重组和催化重组生成产物的吸收光谱

Fig.5 Absorption spectrum of PCB-reconstituted products of three apophycobiliproteins from *Mastigocladus laminosus* in the presence( dashed line ) and absence( solid line ) of PecE/PecF( in system I ).

( a ) Protein II ( b ) Protein III ( c ) Protein IV and ( d ) Is the absorption spectrum( the top ) of ( c ) under 500nm( solid line ) and 570nm irradiation( dashed line ) the curve( the bottom ) is its corresponding difference spectrum.

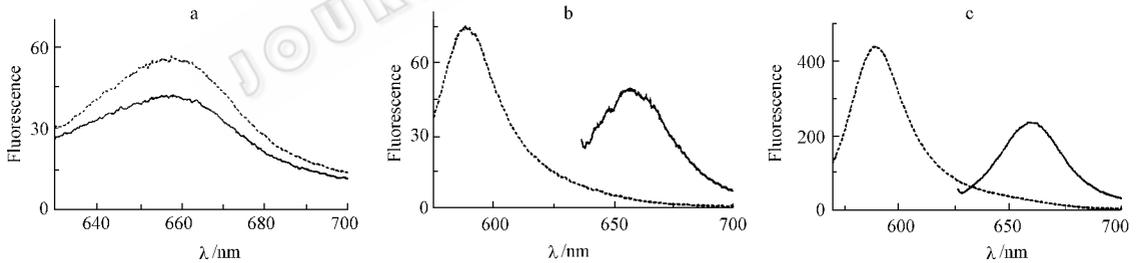


图 6 体系 I 中三种层理鞭枝藻脱辅基藻胆蛋白与 PCB 直接重组和催化重组生成产物的荧光光谱

Fig.6 Fluorescence spectrum of PCB-reconstituted products of three apophycobiliproteins from *Mastigocladus laminosus* in the presence( dashed line ) and absence( solid line ) of PecE/PecF( in system I ).

( a ) Protein II ; ( b ) Protein III ; ( c ) Protein IV

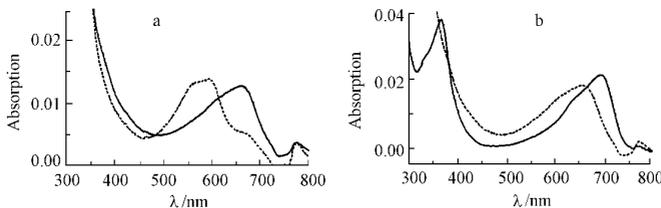


图 7 体外重组产物经 8mol/L 尿素( pH2 )变性后的吸收光谱

Fig.7 Absorption spectrum of reconstituted products denatured by 8mol/L urea( pH2 ).

a. protein III in the presence( dashed line ) and absence( solid line ) of PecE/PecF( in system I ); b. protein II in the absence of PecE/PecF in system I ( solid line ) and system II ( dashed line ).

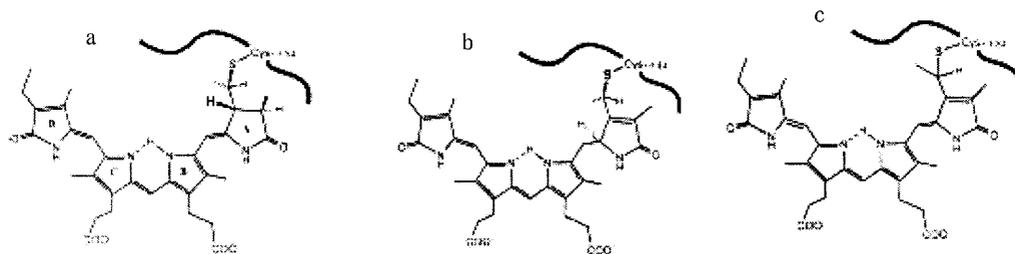


图 8 几种与蛋白质共价连接的色素的结构

Fig.8 Structures of several bilins bonded to proteins

a. phycocyanobilin ; b. phycoviolobilin ; c. mesobiliverdin.

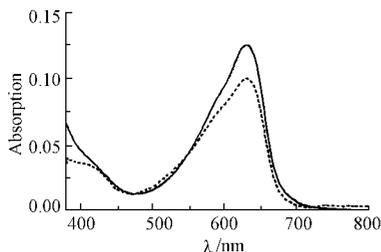


图 9 体系 II 中蛋白质 II 与 PCB 直接重组和催化重组生成产物的吸收光谱。

Fig.9 Absorption spectrum of reconstituted products of protein II in the presence( dashed line )and absence( solid line ) of PecE/PecF in system II ).

## 3 讨论

### 3.1 酶 PecE/PecF 对底物蛋白质的催化专一性

蛋白质 III 与 I 为高度同源的不同层理鞭枝藻亚种的藻红蓝蛋白  $\alpha$  亚基脱辅基蛋白。实验结果表明 PecE/PecF 可催化蛋白质 III 与 I 的重组,生成的产物具有与天然  $\alpha$ -PEC 相同的光谱性质和光化学活性。

色素与蛋白质间的相互作用主要有共价作用(硫醚键)和静电作用。蛋白质 III 中 Trp-128 和 Cys-84 空间距离较近,推测前者可能参与蛋白质和色素间的相互作用。Trp 和 Phe 均为芳香类氨基酸,但 Trp 比 Phe 多一个吡咯环,静电作用和形成氢键的能力均比后者强,将 Trp 残基替换为 Phe 残基后,预期会对蛋白质功能有一定影响。实验结果表明,催化生成的色素蛋白质 IV 表现出与催化生成的色素蛋白质 III 同样的光谱性质和光化学活性,说明色素与 Trp 残基之间主要是芳香环间的色散力相互作用,而不是静电作用和氢键作用。可以通过进一步将 Trp 残基替换为其它类型的氨基酸残基,研究蛋白质与色素间的相互作用。

蛋白质 I、II 一级结构高度同源,三级结构骨架相同,肽链走向基本相同,螺旋及非螺旋结构也基本

类似。比较图 5a 和图 9,可以确定 PecE/PecF 不能催化蛋白质 II 与 PCB 的重组。可能是由于结构上的差异使 apo- $\alpha$ -CPC 中的空穴不能容纳 PVB,阻碍了酶异构功能的发挥,而酶裂合功能的发挥也需依赖特定的底物蛋白质结构。推测二者由于功能上的不同要求(吸收不同波长的光),在由同一祖先基因进化的过程中结构上出现细微的差异,致使 PecE/PecF 无法识别后者。实验已证明酶与 PCB 的直接相互作用较小,当体系中没有其他底物或辅助因子时,PCB 不能异构为 PVB<sup>[2]</sup>。因此可以肯定,PecE/PecF 连接异构功能的发挥需要酶、底物蛋白和色素的共同作用,三者缺一不可。

### 3.2 重组体系中表面活性剂的影响

蛋白质 I、III、IV 与 PCB 体外直接与催化重组生成的产物种类均不受体系中 Triton X-100 的影响,说明 PecE/PecF 对  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的催化作用不依赖于 Triton X-100。

蛋白质 II 的直接重组和催化重组实验说明 PecE/PecF 对蛋白质 II 无催化作用,其在体系 I、II 中的不同实验现象表明 Triton X-100 在重组中发挥了重要的作用。蛋白质 II 在体系 I、II 中的直接重组产物共价连接的色素分别为 MBV 和 PCB,表明 Triton X-100 可以避免 PCB 转化为 MBV。蛋白质 II 与蛋白质 I、III、IV 的结构不同,因此后三者的重组实验不受 Triton X-100 的影响。

裂合异构酶 PecE/PecF 功能的发挥需要酶、底物蛋白和色素的共同作用,三者缺一不可。同时,PecE/PecF 可催化高度同源的层理鞭枝藻不同亚种的  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的体外重组,也可催化经定点突变得到的  $\alpha$ -PEC 脱辅基蛋白的体外重组,生成具有可逆光致变色性质的  $\alpha$ -PEC,且其催化作用不受 Triton X-100 的影响;由于结构上的差异,PecE/PecF 不能催化  $\alpha$ -CPC 脱辅基蛋白的体外重组。

## REFERENCES (参考文献)

- [ 1 ] Zhao K H ,Deng M G ,Zhen M *et al.* Novel activity of a phycobiliprotein lyase both the attachment of phycocyanobilin and the isomerization to phycoviolobilin are catalyzed by the proteins PecE and PecF encoded by the phycoerythrocyanin. *FEBS Letters* 2000 **469** 9 ~ 13
- [ 2 ] Storf M ,Parbel A ,Meyer M *et al.* Chromophore attachment to biliproteins :specificity of PecE/PecF a lyase-isomerase for the photoactive 3<sup>1</sup>-Cys- $\alpha$ 84-phycoviolobilin chromophore of phycoerythrocyanin. *Biochemistry* 2000 **40** :12444 ~ 12456
- [ 3 ] Ausubel F M ,Brent R ,Kingston R E *et al.* *Short Protocols in Molecular Biology* 3<sup>rd</sup>ed ,John Wiley & Sons ,Inc. ,1995 pp.268 ~ 271
- [ 4 ] Zhao K H ,Scheer H. Type I and type II reversible photochemistry of phycoerythrocyanin  $\alpha$ -subunit from *Mastigocladus laminosus* both involve Z ,E isomerization of phycoviolobilin chromophore and are controlled by sulfhydryls in apoprotein. *Biochim Biophys Acta* ,1995 ,**1228** 244 ~ 251
- [ 5 ] Arciero D M ,Bryant D A ,Glazer A N. In vitro attachment of bilins to apophycocyanin. *J Biol Chem* ,1988 **263** :18343 ~ 18349
- [ 6 ] Duerring M ,Huber R ,Bode W *et al.* Refined three-dimensional structure of phycoerythrocyanin from the cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* at 2.7Å. *J Mol Biol* ,1990 **211**( 3 ) 633 ~ 644
- [ 7 ] Schirmer T ,Bode W ,Zuber R. Refined three-dimensional structures of two cyanobacterial c-phycocyanins at 2.1Å and 2.5Å resolution. *J Mol Biol* ,1987 **196** 677 ~ 695

## Catalysis of Lyase-isomerase PecE/PecF for Several Apophycobiliproteins

ZHU Jing-Ping<sup>1</sup> ZHOU Ming<sup>2\*</sup> ZHAO Kai-Hong<sup>2</sup> ZENG Zhi-Xiong<sup>2</sup> ZHOU Yi-Kai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>( School of Public Health ,Tongji Medical College ,Huazhong University of Science and Technology ,Wuhan 430022 ,China )

<sup>2</sup>( College of Environmental Science and Engineering ,Huazhong University of Science and Technology ,Wuhan 430074 ,China )

**Abstract** Phycoerythrocyanin( PEC ) lyase-isomerase PecE/PecF from *Mastigocladus laminosus* is the specific enzyme for biosynthesis of PEC  $\alpha$ -subunit(  $\alpha$ -PEC ). In this work ,the specificity of PecE/PecF on substrate apoproteins was reported. PecE/PecF could catalyse the reconstitution of phycocyanobilin( PCB ) with apoproteins of  $\alpha$ -PEC from two different subspecies of *Mastigocladus laminosus* ,as well the site-directed mutated apoprotein of  $\alpha$ -PEC with Trp at 128 to Phe *in vitro* , but could not catalyse the reconstitution of PCB with apoprotein of phycocyanin  $\alpha$ -subunit(  $\alpha$ -CPC ) from *Mastigocladus laminosus* . The surfactant Triton X-100 had no effect for the reconstitution of  $\alpha$ -PEC ,while it could improve the reconstitution of PCB with apoprotein of  $\alpha$ -CPC .

**Key words** lyase-isomerase , phycobiliprotein , reconstitution

Received : 06-17-2002

This work was supported by Grant from National Science Foundation of China( No. 30270326 ).

\* Corresponding author. Tel 86-27-87541634 ; Fax 86-27-87541634 ; E-mail : jingpingzhu@263. sina. com.

## 张树政院士八十寿辰庆典在北京举行

中科院微生物研究所于2002年10月22日上午在中科院青年公寓隆重举行了“张树政院士八十寿辰庆典”活动。科技部徐冠华部长、中国科学院路甬祥院长、中科院生物局康乐局长等送来了贺信，邹承鲁、杨福愉、王志珍、李季伦、张广学、周同惠、田波、郑儒永院士以及许许多多的张树政院士的同事、朋友、学生等近200人出席了庆典活动。

张树政院士是我国著名生物化学家。在近50年科研工作中，为推动我国酶科学的发展和糖生物学的研究作出了突出贡献，首先建立了国内等电聚焦和聚丙烯酰胺凝胶电泳等新技术，首次发现了多种糖基酶的作用和工业化前景，领导和组建了国内第一个糖工程实验室，是中国糖生物工程学和糖工程前沿计划的倡导者，为我国生物化学、酶学、糖生物学、糖生物工程学等前沿领域的建立和发展作出了重要贡献，成就卓著。在孜孜不倦探索生命科学的同时，张先生始终满腔热情地投入到人才的培养工作中，培养出许多今天已成为我国生命科学领域的将帅人才和科研骨干。

张树政院士严谨的学风、创新的学术思想、正直的人格和高尚的科学道德，教育了一代又一代人，她唯真求实、严谨治学、不懈拼搏的科学态度和甘为人梯、诲人不倦的高尚情操，为广大科学工作者所称颂和敬仰。

衷心祝愿张树政院士健康长寿，为我国的科学事业再立新功。

(中国科学院微生物研究所)