

综述与专论

分子生物物理的一些前沿领域

王 大 成

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100080)

提 要

分子生物物理是 80 年代发展迅速、成就突出的一个学科领域, 它的一些主要前沿已经成为了解一些重要生命现象分子机理的关键。进入 90 年代, 分子生物物理面临更加迅速发展的新机遇。本文概要介绍了分子生物物理一些前沿领域的研究现状及其近期展望, 主要涉及生物大分子的晶体结构和溶液结构(二维和三维核磁共振)研究, 核酸与蛋白质的专一辨识和相互作用, 蛋白质折叠研究, 新蛋白质的设计与构建等方面。

关键词 分子生物物理, 晶体结构, 溶液结构, 核酸-蛋白质相互作用, 蛋白质折叠, 蛋白质分子设计

分子生物物理是介于分子生物学、生物化学和生物物理学之间的边缘性学科, 其中心内容是三维水平的生物大分子结构及其与生物功能的关系。分子生物物理是 80 年代发展迅速、成就突出的一个学科领域, 它的一些主要前沿已经成为在分子水平上更深入阐明生命本质以及了解一些重要生命现象分子机理的关键, 并与新一代生物技术(蛋白质工程)的开拓与发展密切相关。近年来, 对这一研究领域的兴趣已迅速扩展到分子生物学家、免疫学家、药物学家、合成化学家、理论化学家和蛋白质工程学家等各方面。进入 90 年代, 这一趋势将继续发展, 使分子生物物理面临更加迅速发展的新机遇。本文主要就其一些前沿领域的现状和近期发展, 作一概要介绍。

一、生物大分子的晶体结构研究

三维水平的生物大分子的结构及其与生物功能的关系是分子生物物理的中心研究内容,

因此, 完整、精确、实时(动态)测定生物大分子的三维结构是这一研究范畴的主要基础, 过去、现在和可见的将来都处于优先发展的地位。迄今, 生物大分子完整和精确三维结构信息的主要来源仍然是以 X 射线衍射技术为中心的晶体结构分析。自从 1960 年首次测定抹香鲸肌红蛋白的晶体结构以来, 以多对同晶置换法为中心, 生物大分子晶体结构测定方法和技术经历了完善、成熟和广泛应用的发展阶段, 目前已经成为分子生物学和生物化学中一项不可或缺的强有力常规研究武器。已有一批蛋白质和核酸的晶体结构测定出来, 使一些重要生命现象的分子机理得到阐明, 一些研究领域(如酶学)受到重大影响, 并构成第二代遗传工程——蛋白质工程诞生和发展的重要基础。截止 1990 年 4 月的统计(表 1)^[1], 原子坐标已经存入国际蛋白质数据库的生物大分子总数是 535, 包括蛋白质 488, 核酸 37 (tRNA 8, DNA 29), 多糖 10。在蛋白质中, 属于序列上不同源的大约是

表1 蛋白质和核酸三维结构研究概况
在蛋白质数据库 (PDB) 中拥有原子坐标的总数
(截止 1990 年 4 月统计)

蛋白质	488
核酸 (RNA, DNA)	37
多糖	10
合计	535
已有文献报道而无坐标的	126

100 多种, 包含约 120 种不同折叠类型。由于各种原因, 还有相当数量蛋白质结构已经测定但坐标信息并没有送入数据库, 所以已定结构的实际数量要比上列统计显著地多。目前已定结构数量最多的仍是各种酶, 但一些重要对象 (如膜蛋白、病毒、核酸-蛋白复合物) 也开始得到深入研究 (表 2)^[2]。近年来, 由于方法和技术

表2 已测定晶体结构的蛋白质的分类统计
(根据 1989 年 10 月资料统计^[2])

1. 酶类	210
水解酶	140
氧化还原酶	32
转移酶	19
裂解酶	10
连接酶	5
异构酶	4
2. 酶抑制剂	10
蛋白酶抑制剂	9
糖苷酶抑制剂	1
3. 氧运输和贮存蛋白	45
4. 电子传递蛋白	38
5. 病毒	15
6. 免疫球蛋白及其抗原复合物	15
7. DNA 结合蛋白	9
8. 激素蛋白	7
9. 收缩系统蛋白	7
10. 毒素蛋白	7
11. 外源凝集素	4
12. 面膜结合蛋白	4
13. 抗病毒蛋白 (NMR)	2
14. 钙结合蛋白	2
15. 延伸因子	2
16. 激发能量传递因子	2
17. 甜味蛋白	2
18. 其它蛋白	13
晶状体蛋白, 组织相容性抗原, 膜糖蛋白, 金属结合蛋白, 核酸偶联蛋白, 癌基因蛋白, 光合作用中心蛋白, 肽抗菌素, 植物种子蛋白, 核糖体蛋白, 菌体结合蛋白, 甲状腺素运输蛋白, 1-型铜蛋白	
19. 模型结构	22
20. 核酸	33
DNA	25
tRNA	8
21. 多糖	10

的新发展, 结构测定的速度明显加快, 上列数据中大约 100 套是 1988 年存入的, 统计报告 1989 年有 170 套坐标送入数据库, 从 1989 年 10 月到 1990 年 4 月就新增加了 76 套坐标。这清楚显示, 生物大分子 (主要是蛋白质) 晶体结构数量今后几年将迅速增加, 对其它领域的影响和作用将迅速扩大。

近年来, 这一领域有一系列影响重大的研究成果, 主要包括: (1) 第一个膜蛋白 (紫菌光合反应中心, The Photosynthetic Reaction Center from the Purple Bacterium *Rhodospirillum rubrum*) 的三维结构被测定, 细菌光合作用光反应的分子机理得到阐明^[3,4]。(2) 第一个动物感染病毒 (人感冒病毒, Rhinovirus 14) 的三维结构被测定 (图 1), 病毒感染的结构基础得到了了解^[5], 由此开辟了抗感冒病毒药物设计的新方向, 并对感冒病毒的疫苗设计提供了新希望^[6,7]。(3) 第一个抗体-抗原复合物 (小鼠单克隆抗体-溶菌酶) 的三维结构得到测定^[8], 导致人新型抗体 (抗 T 细胞的单克隆抗体) 的设计和构建获得成功。同时, 首次测定人白细胞抗原 HLA-A2 的晶体结构^[9] (图 2), 使细胞调节的免疫反应的分子基础得到阐明。这两方面构成了对免疫反应结构机理的深刻了解, 具有重要的医学应用前景。(4) 首次测定 (tRNA^{Gln}-合成酶+tRNA^{Gln}+ATP) 复合物的晶体结构^[10], 奠定了阐释 tRNA 合成酶与 tRNA 专一性辨识 (“第二遗传密码”) 的结构基础。(5) 测定了一系列转录调控蛋白 (阻遏蛋白) 及其与 DNA (操纵基因片段) 复合物的结构, 揭示了 DNA-蛋白质专一辨识和相互作用的结构机理^[11]。这些情况表明, 生物大分子的晶体结构研究已广泛深入到一些基础和理论意义重大、应用前景鲜明的对象。

展望今后的发展趋势, 主要将集中在下述几个方面:

(1) 研究蛋白质和核酸结晶的规律, 寻求更多更快更好地获得蛋白质和核酸单晶体的方法与技术。目前对蛋白质和核酸的晶体生长仍缺乏规律性认识, 在相当程度上依赖于经验和

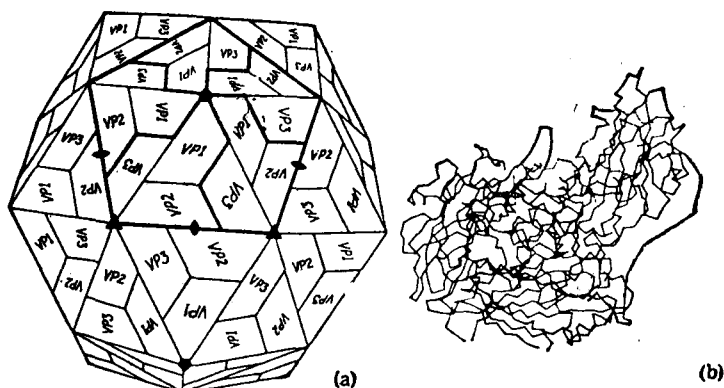


图1 感冒病毒是由四个亚基 VP1—VP4 构成的 20 面体
(a), 内含 30% RNA, 分子量 830 万。(b) 为 VP1—VP4 的肽链构象

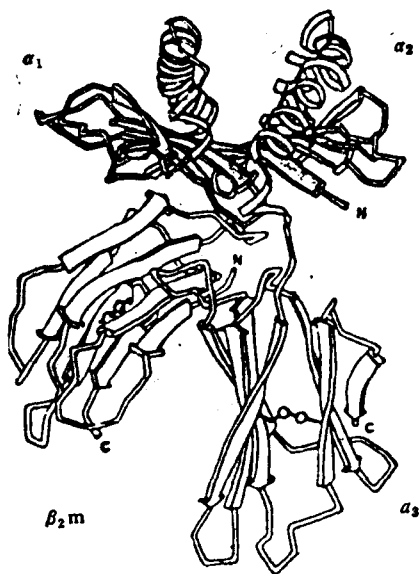


图2 人 I 类组织相容性抗原 HLA-A2 的三维结构

抗原辨识和结合位置在钳型的两螺旋之间,
它们分属 α_1 和 α_2 结构域

“手艺”, 已成为结构测定的主要限速环节, 也是三维结构研究范围局限性的主要原因。目前已知一级结构的蛋白质已经上万, 但能获得晶体的只有几百。核酸由于其内在原因, 结晶就更加困难。所以, 这方面的研究已引起普遍重视。除常规的方法外, 值得重视的有希望提高结晶成功率的新方法包括: 计算机控制的自动化晶体生长技术, 利用微重力条件生长单晶体, 晶体取向附生等。

(2) 发展衍射数据快速收集方法。大量衍射数据需要准确记录和测量, 推动衍射数据收

集技术不断发展。继 70 年代和 80 年代初期出现计算机控制的衍射仪和回摆底片法之后, 近年的主要进展是各种面探测器和同步辐射光源的运用。在转靶 X 光机上, 面探测器可使数据收集速度增加 1—2 个数量级。同步辐射可提供高强度光源, 易于使用可变波长, 能延长晶体的有效寿命, 给数据收集和结构解析带来巨大好处。同步辐射的应用已影响整个 X 射线晶体学, 像激光的出现对光学领域的影响一样。特别是使劳埃照相技术用于蛋白质单晶衍射数据收集成为可能, 它的巨大优越之处是可在极短的时间 (10^{-6} — 10^{-9} s) 内完成衍射数据收集, 从而使瞬时和动态结构研究成为现实可能。这已成为近期研究的热点, 是衍射数据收集的一个重要发展方向。

(3) 蛋白质动态结构的研究。现在已经肯定, 蛋白质分子的运动性是其基本属性之一, 具有重要的结构和功能意义。因此, 准确测定蛋白质分子的构象运动, 建立运动与时间、运动与功能的相关, 研究真实意义的蛋白质动力学, 是一个重要的研究课题。

(4) 膜蛋白、病毒、核酸-蛋白质复合物、脂-蛋白质复合物结构的研究。这些都与更复杂、更重要的生命活动相关, 是以对象而言的重大研究课题, 也是新的方法和技术发展的主要应用方向。

(5) 与蛋白质工程相结合, 研究新水平的蛋白质结构-功能关系。蛋白质工程的出现提

供了基因定点诱变、基因溶合、嫁接等修饰和改造蛋白质的新手段,大大增加了人工操纵蛋白质的能力。充分应用这些方法,通过突变体蛋白、分子裁剪和嫁接蛋白的结构与性能的研究,拓开了研究蛋白质结构-功能关系的崭新深度和广度。

二、生物大分子的溶液结构研究:二维和三维核磁共振结构分析

由于溶液体系更加接近于生理状态,而且无须通过结晶这一困难环节,所以准确测定溶液状态下生物大分子的三维结构具有十分重要的意义。长期以来,在这方面缺乏有效的方法。最近十年,随着高分辨率核磁共振谱仪(目前已达 500 和 600MHz)的出现,二维核磁共振结构分析技术迅速发展,已经可以测定小于 2 万分量子的较小蛋白质的完整溶液结构。这是目前能测定高分辨率溶液结构的唯一方法,开辟了晶体结构分析之外测定蛋白质三维结构的第二条重要途径。但对较大分子量的蛋白质二维核磁共振结构解析,方法和技术上仍有一系列困难有待解决。迄今,已有二十多个不同的球蛋白溶液结构被二维核磁方法测定,其所含残基数范围在 33—108,已测定结构的最大分子量为 1 万 2 千^[4]。在这些结构中,大约一半目前还没有相应的晶体结构。另有二十多个多肽分子的 NMR 结构也已被测定,它们常在溶液中含有机溶剂以诱导结构形成。NMR 结构的可靠性,有下列几方面证明:(1) NMR 和 X 射线衍射分析两种不同的结构解析方法独立地给出许多蛋白质的相同结构,如牛胰蛋白酶抑制剂、大麦丝氨酸水解酶抑制剂、土豆羧肽酶抑制剂等。还原性法国大豆质体兰素与白杨质体兰素之间,99 个残基有 21 个被取代,但前者的 X 射线结构与后者的 NMR 结构基本相同^[4]。(2) 不同实验室用不同的计算方法研究同一蛋白质,得到基本相同的 NMR 结构。但是,并非所有在溶液中测定的 NMR 结构都与晶体中测定的结构相同,至少已有 3 例报道有重要的差异(金属巯基蛋白, *E. coli* 磷酸载体蛋白、人

过敏激素 C3a)。这表明,2D-NMR 方法是测定小蛋白质溶液结构的完全独立的方法,而不是附属于 X 射线晶体结构分析的辅助技术。目前报道的 NMR 结构的最好精度是,成对的主链 rms 偏离为 0.9 埃。同时,在分子的不同区域,由于结构类型、环境和解析中几何制约的差异,其 rms 偏离有明显的不同。

生物大分子核磁共振溶液结构分析技术的今后发展主要有两个方面:

(1) 使小蛋白质 NMR 结构分析方法常规化、一般化,达到成熟和广泛应用的水平。目前,即使对小于 2 万分量子的蛋白质,结构解析的成功率也因具体对象和不同条件而有很大差异,对其一般应用受到很大限制。

(2) 发展三维核磁共振谱分析技术,提供测定中等大小 (20—30kD) 蛋白质溶液结构的方法。目前,研究较大蛋白质的主要困难是,二维谱中交叉峰重叠,使大于 15kD 的蛋白质 ¹H NMR 谱的指认难于运用单一的同核二维法完全解析。增加分辨率的自然的方法,是将二维解析扩展到三维。已有同核三维 NMR 谱分析的初步报道^[5],显示有很大应用前景。异核三维 NMR 分析与同位素标记相结合,已用于研究 27.5kD 的蛋白质,并证明确实大为提高了分辨率^[6]。这一方法的灵敏性也表明是足够的,对 1mmol/L 样品即可在共振时间内获得数据。此外,还有一些其它方法也可用于解决大蛋白质 NMR 结构分析的困难,如:通过小配体(同位素标记)测定与之相结合的大蛋白质结构,已成功地用于研究 35 kD 的胃蛋白酶-抑制剂复合物和 60kD 的 F₁-Peptide 复合物的结构,显示了很好的应用前景;对多域蛋白质,可通过拆分成小的独立折叠域来研究大的系统,对膜整合蛋白也可用类似的方法。

今后,核磁共振方法应用于生物大分子体系将不仅限于溶液结构测定,近期可望获得迅速发展的其它方面应用主要有:

(1) 用于蛋白质动力学研究:有可能在秒(弛豫测量)到千秒(酰胺交换)的时间尺度范围提供蛋白质动力学信息,这一可能性的技术途

径和实际应用有待开发。

(2) 用于蛋白质折叠研究: 抗体及其它跟踪方法与 2D-NMR 的结合形成一种强有力手段, 可用以辨识蛋白质折叠过程中的中间体, 并确定其结构特征, 这对研究折叠的基本分子机理有极大的重要性。

三、核酸与蛋白质的专一辨识和相互作用

对蛋白质生物合成的了解, 在生化水平已相当清楚。但是, 对遗传密码复制、转录、翻译过程中的详细分子机制, 尚有待阐明。这必须涉及以三维结构为基础的分子生物物理过程, 其中心是核酸(包括 DNA 和 RNA)与蛋白质的专一辨识和相互作用。近年来这方面研究已取得重要进展, 并将继续作为研究前沿受到重视。

DNA-蛋白质 对于所有细胞的生物功能来说, DNA-蛋白质的专一辨识和相互作用具有关键作用。过去几年, 以一系列 DNA 结合蛋白及其与相应 DNA 片段的复合物的三维结构测定为基础, 对上述过程的分子机理已有了相当多的了解。已经阐明了一些与基因复制、限制、DNA 超结构有关的一些蛋白质三维结构(如 *E. coli* DNA 聚合酶 I, 限制性内切酶 *EcoRI*, 组蛋白及其复合物等), 不过, 了解得最为详细的还是一系列基因转录调节蛋白及其与 DNA 的复合物。目前, 至少已有 7 个阻遏蛋白和 5 个这类蛋白与其作用 DNA (操纵基因片段)复合物的三维结构得到测定(表 3)。精确的空间结构图景揭示出 DNA-蛋白质辨识和作用的主要情况^[11], 包括: (1) 调控蛋白参与 DNA 辨识结合的是处于二体分子表面的一对二重相关的 α 螺旋, 它们在所有已定调控蛋白结构中具有相同的构象, 彼此倾斜, 中心距离约 34 Å, 以“螺旋-转折-螺旋”的模式参与辨识和结合(参见图 3); (2) 位置专一的辨识主要涉及 α_2 螺旋, 它位于 DNA 的主槽中, 用其特征的氨基酸侧链进行位置专一的辨识和结合。辨识和结合的作用力包括氢键、盐键和范氏作用。

表 3 现已测定三维结构的 DNA 调控蛋白及其复合物

蛋白质	复合物
λ cro	λ cro-17 base pair Operator
Phage 434 repressor	434 repressor-Operator
Phage 434 cro	434 cro repressor-14 base pair operator
λ repressor	λ repressor-20 base pair PL1 operator
Trp repressor	Trp repressor-18 mer Complex

螺旋 α_2 的 N 端主链和侧链与 DNA 磷酸酯链相互作用, 贡献于辨识和结合; (3) DNA 主要以 B 型构象参与结合, 但在结合过程中有扭转变形(图 4); (4) 对 DNA 结合蛋白的更广泛研究显示, 真核生物转录调控蛋白与 DNA 辨识和结合的模式包括 3 种一般类型(图 5)^[12]:

① 螺旋-转折-螺旋 (helix-turn-helix): 两段螺旋被一 β 转折分开, 其中一段为“辨识螺旋”, 直接与暴露在 DNA 主槽中的碱基接触; ② 锌指模块 (zinc finger motif): 单个 Zn^{2+} 与 Cys 和 His 配位, 在两配位位置之间有肽段(一般含 13 个残基)像手指一样伸出, 这种类型又可分为配位体全是 Cys 和 (2Cys + 2His) 2 种亚型; ③ 亮氨酸拉链式模块 (leucine zipper motif) 在 2 段 α 螺旋对侧相间排列 4—5 个 Leu 残基, 其疏水侧链交错对插形成拉链式结构。

RNA-蛋白质 病毒中心含有 30% 左右的 RNA, 是研究 RNA-蛋白质相互作用的很好模型。但在已经测定结构的绝大多数病毒中, RNA 由于结构柔性都是不可见的, 致使这方面的直接信息不多。最近首次报道在豆荚斑纹病毒 (PBMV) 中观察到确定的 RNA 结构^[13], 提供了 RNA-蛋白质相互作用的一些信息。近年最引人注目的成就是, Yale 大学的 Steitz 小组 (1989 年 12 月) 首次测定了 tRNA^{Gln} 合成酶-tRNA^{Gln}-ATP 复合物的晶体结构^[14](图 6), 首次清晰地直接“看到”tRNA 合成酶与 tRNA 分子的结合与作用, 使这二者间专一性辨识的机理开始了解。这是遗传密码

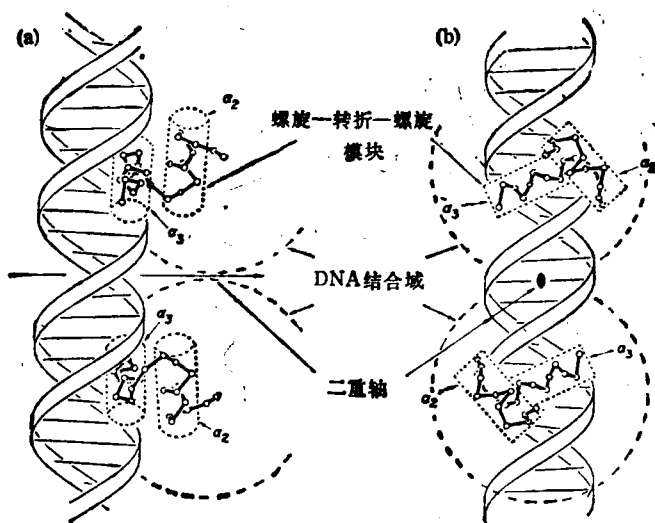


图3 基因调控蛋白·“螺旋-转折-螺旋”模块与 DNA 的专一辨识和结合

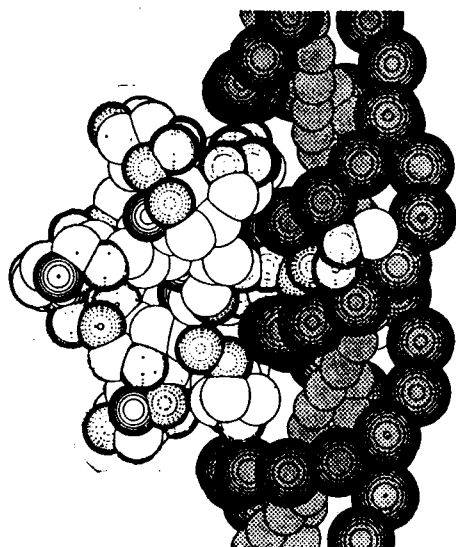


图 4

DNA 主要以 B 型构象与蛋白质结合,但分子骨架需发生扭转变形,图中可见 DNA 骨架的弯曲

翻译中的关键一步,因为遗传密码的翻译如果需要字典,它就存在于 tRNA 合成酶与同类 tRNA 分子的专一辨识中,这一辨识机理有时称为“第二遗传密码”。上述研究成果为“第二遗传密码”的解译奠定了坚实的基础,被认为是这一领域的一个里程碑。

核蛋白体三维结构 核蛋白体是蛋白质生物合成的主要场所,氨基酸按特定序列装配成

为多肽链就在这里进行。要了解蛋白质生物合成内在过程的精细机理,必须阐明核蛋白体的分子结构。核蛋白体是包括复杂的核酸-蛋白质相互作用的超分子体系,一个典型的细菌核蛋白体分子量为 230 万,大亚基 (50S) 含 35 个不同的蛋白质和 2 个 RNA 链,小亚基 (30S) 含 21 个蛋白质和一个 RNA 链。最近,活性核蛋白体颗粒已经获得结晶,并已对其三维结构的解析发起攻击,联合晶体学研究和三维重构给出了初步模型^[20]。这是在 90 年代可望有突破性进展的重要课题。

显然,在这一领域,涉及蛋白质生物合成的所有重要环节,都在三维水平全面推进。

四、蛋白质折叠研究

一个基因编码一个功能蛋白,任何天然功能蛋白质都具有确定的三维结构特征。目前,从编码基因的核苷酸序列翻译成多肽链的氨基酸序列的过程已相当清楚,这是一个一维信息翻译成另一个一维信息的过程。但是,这样形成的线性多肽链的一维信息如何进一步“翻译”形成具有三维特征的天然结构,目前还基本不清楚。这就是所谓蛋白质折叠问题。这是分子生物学至今尚未解决的基本问题之一,由于它的中心研究内容涉及蛋白质一级结构与高级结

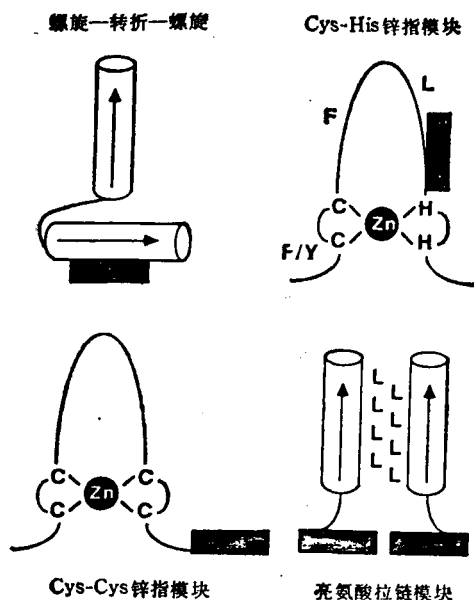


图5 蛋白质与 DNA 专一辨识和结合的
三类(四种)结构模式
阴影部分为与核酸结合位置

构的关系,因此也是分子生物物理的研究前沿。随着蛋白质工程的出现,给蛋白质折叠研究带来了新的推动力。蛋白质工程通过基因修饰和基因合成来改造现有蛋白质的结构与性能并设

计和构建新型蛋白质分子,这就必须要了解氨基酸残基序列是如何影响和决定其三维结构特征的。现行的蛋白质折叠研究实际包括相互联系的两个方面:体内新生肽链的折叠和体外变性蛋白的重折叠。前者由于方法和技术上的困难,目前所知尚不多;当前我们关于蛋白质折叠的知识大多来自后一方面。

近期在这一领域研究的主要问题包括:

(1) 蛋白质折叠的热力学和动力学控制。蛋白质折叠既受热力学制约,又受动力学驱动和控制,这是目前多数人接受的观点。通过确切的实验证据,寻求使二者统一起来的折叠模型,对整个折叠研究具有重要的指导作用。

(2) 辨识折叠的中间体,确证折叠中间体的结构特征,以了解蛋白质折叠的途径。这是目前研究的难点,也是今后一段时间研究的热点。一些巧妙的设计和实验已经确认 BPTI 折叠中热力学上重要的中间体[30—51]和动力学上重要的中间体[5—55]^[21],它们都形成具有类天然结构的亚域,这对了解折叠途径有重要意义。

(3) 折叠是如何启动和开始的?这方面已

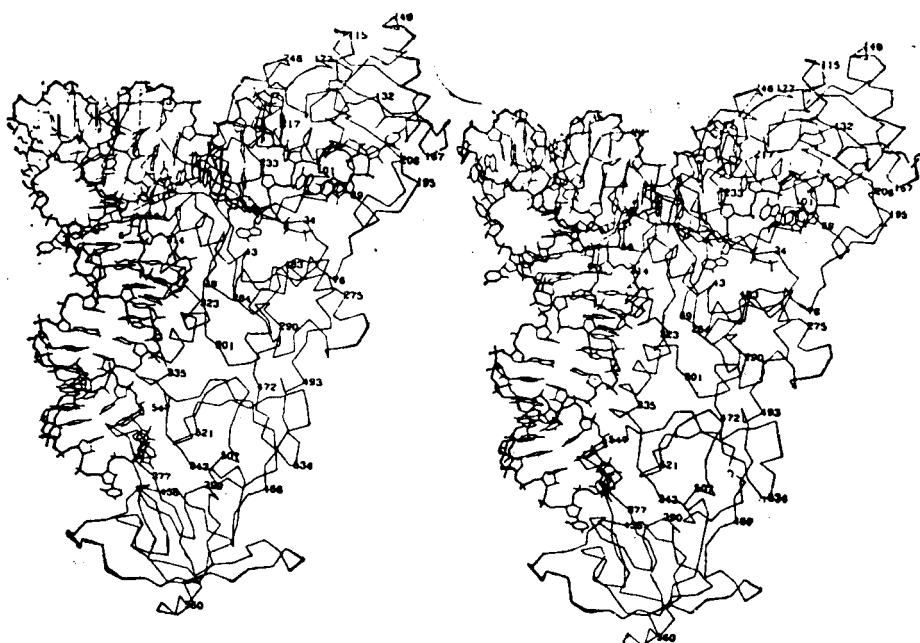


图6 tRNA^{Gla} 合成酶-tRNA^{Gla}-ATP 复合物三维结构(立体图对)
左为 L 型 tRNA 分子,酶分子在右半贯穿上下,只示出了 α 碳走向

有较多的实验积累,但还给出一个统一的图景。目前所有合理的模型都强调下列因素的重要作用:①疏水性卷曲;②二级结构或一个(或多个)专一相互作用的形成。

(4) 促进或催化折叠的分子伴侣物的研究。折叠的自发性是过去公认的一条原则,但近来发现,对一些多域和多亚基蛋白质,它们的折叠和组装需要伴随一些外源蛋白质分子(“分子伴侣”)来促进和催化。已在细胞内发现一系列这类分子伴侣物^[22,23], 确认这类伴侣物的存在、性质和作用,是了解蛋白质折叠的一个重要方面。

五、新蛋白质的设计与构建: 蛋白质工程中的生物物理问题

蛋白质工程是本世纪 80 年代初诞生的一个新兴科学领域,其主要内容是通过有控制的基因修饰和基因合成,对现有蛋白质加以定向改造,并设计、构建和最终生产性能比自然界存在的蛋白质更加优良更加符合人类社会需要的蛋白质新品种。蛋白质工程是一边缘性很强的研究领域,它产生的重要基础之一就是蛋白质的三维结构知识,其进一步发展也在极大程度上仰赖于以蛋白质三维结构及其与生物功能关系为中心的有关研究,所以也是当前分子生物物理研究的重要前沿。作为新一代遗传工程,作为一种新型的强有力研究手段,蛋白质工程不仅对于生物高技术新兴领域的开拓与发展,而且对于一些基本生物学问题的深入了解和最终阐明,都具有重要意义。

蛋白质工程面临的最大挑战也是最振奋人心的目标,是创造自然界中不存在的优良蛋白质,这就要求从头设计和构建新蛋白质分子。这已成为分子生物物理的一个重要研究方向。围绕这一中心,其主要研究课题包括:

(1) 以精确的结构-功能关系为基础,改造现有蛋白质。这里包含两个层次的研究:一是改善现有蛋白质的结构与性能,如提高热稳定性、抗氧化能力,改变最适作用 pH, 提高催化效率等;第二个层次是通过分子剪裁或残基替

换,在现有蛋白质中植入新的性能,如新的底物专一性,新的辅酶专一性,新的抗体特征等。

(2) 蛋白质构象的预测,包括各类突变对蛋白质结构与性能的影响研究。Anfinsen 关于 RNase 变性后自发重折叠的经典实验表明,在特定环境下蛋白质特征构象的主要信息寓存于其氨基酸序列中。于是从序列知识预测蛋白质的构象就成为一重要研究课题。蛋白质分子的改造和新蛋白质分子的设计都需预先知道局部改变或全新合成的氨基酸序列对分子构象的影响,使近年来构象预测的研究受到更广泛的重视。目前预测二级结构的方法至少有 15—20 个,成功率可达 60—75%^[24],尚不能令人满意;三维构象的预测只对同源蛋白质有明显成效,一般只能获得很有限的正确率。这方面迫切需要新思想、新方法,以及更多的蛋白质三维结构知识的积累。

(3) 蛋白质分子的从头设计。要按人的意愿创造自然界中不存在的蛋白质,就必须研究蛋白质的从头设计。在蛋白质折叠机理未被了解之前,对从头设计的现实性曾有很多疑虑。最近这一领域的突破性进展,已显示出它将以比构象预测更快的速度推进的态势。目前,一些简单结构类型的蛋白质的从头设计和合成,包括 α 螺旋蛋白、 β 折迭层蛋白、纤维蛋白、膜通道蛋白等,都已获得不同程度的成功。特别

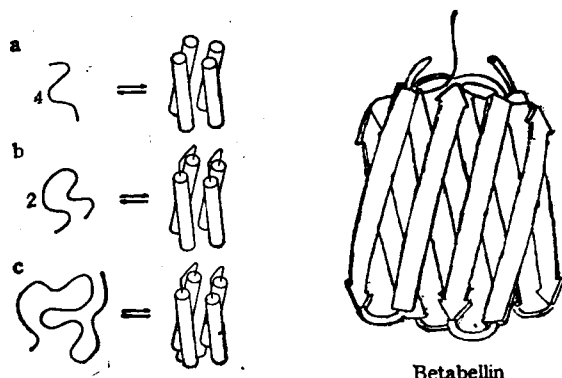


图 7 四螺旋束蛋白(α -4, 左)和 β 层蛋白 (betabellin, 右)的设计和构建

是 Du Pont 公司一个小组设计和构建成功一种四螺旋束结构(图 7),一系列指标证实它具有期望的结构特征,其稳定性比天然结构还

蛋白质二硫键异构酶——一种可能参与蛋白质生物合成的酶

唐 建 国

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100080)

提 要

蛋白质二硫键异构酶分布很广, 种属间比较保守, 定位于内质网膜上, 组织分布、活力水平与含二硫键的蛋白质的合成平行, 而且底物专一性很差, 催化巯基二硫键交换, 提示它可能参与蛋白质的生物合成。

关键词 蛋白质二硫键异构酶, 蛋白质生物合成, 巯基二硫键交换

二硫键的形成是蛋白质生物合成中后加工的关键步骤之一, 尽管蛋白质分子中的二硫键早已为人所知, 但对二硫键在蛋白质生物合成中的形成机制至今了解甚少。

在相当长的时间里, 关于二硫键形成的许多工作是用蛋白质化学的研究方法来进行的, 即通过对蛋白质分子的折叠中所形成的二硫键中间物的研究来观察二硫键的形成。这虽然与

生物体内的过程有差距, 但这一工作是很富有成果的。60 年代初, Anfinsen 及其同事从他们的经典工作: 即一条肽链的蛋白质分子, 如核糖核酸酶, 在变性剂中还原, 去除变性剂和还原剂后, 能以较高的产率形成天然二硫键, 恢复其天然的构象和活力, 提出了蛋白质分子的高级结构是由其一级结构决定的, 二硫键并不包含结构信息的观点^[1]。1973 年, Wetlaufer 等^[2]用

高^[3]。以此为标志, 表明蛋白质分子的头头设计已跨越了第一个里程碑。目前, 在设计蛋白质中引入活性的研究也已展开。这一方面的深入发展, 必将对未来的生物学和新一代生物技术的开拓产生深刻影响。

(4) 以蛋白质为靶的药物设计。这是有重要应用前景的研究课题, 为科学界和实业界共同重视, 一些公司予以巨额投资。目前, 围绕着抗病毒(如感冒病毒, 爱滋病毒)药物的设计, 开展着大量的活跃研究。

参 考 文 献

- 1 Protein Data Bank Newsletter, 1990; No. 52
- 2 Protein Data Bank Newsletter, 1989; No. 52
- 3 Deisenhofer J et al. Nature, 1985; 318: 618
- 4 Deisenhofer J, Michel H. Science, 1989; 245: 1463
- 5 Rossmann M G et al. Nature, 1985; 317: 145
- 6 Palmenberg A. Nature, 1987; 392: 668
- 7 Alper J. Science, 1990; 247: 804
- 8 Amit A G et al. Science, 1987; 233: 747
- 9 Bjorkman, P J et al. Nature, 1987; 329: 506
- 10 Rould M A et al. Science, 1989; 246: 1135
- 11 Brennan R G, Matthews B W. TIBS, 1989; 7: 286
- 12 Cox M J, Weber P C. J Appl Crystallogr, 1987; 20: 366
- 13 Schlichting I et al. Nature, 1990; 345: 309
- 14 Wright, P. TIBS, 1989; 7: 255
- 15 Oschkinat H et al. Nature, 1988; 332: 374
- 16 Fesik S W et al. Biochem Biophys Res Commun, 1989; 159: 842
- 17 Tsang P et al. Peptide Research, 1988; 1: 87
- 18 Struhl K. TIBS, 1989; 7: 137
- 19 Chen Z et al. Science, 1989; 245: 154
- 20 Yonath A, Wittmann G. TIBS, 1989; 8: 339
- 21 Staley J P, Kim P S. Nature, 1990; 344: 685
- 22 Rothman J E. Cell, 1989; 59: 591
- 23 Ellis R J et al. TIBS, 1989; 8: 339
- 24 Fasman G D. TIBS, 1990; 7: 295
- 25 Kim P S. Protein Eng, 1989; 2: 249

【本文于1990年9月17日收到, 12月15日修回】