

简 报

一些球蛋白可解离基的相互作用特征

戴 亚

(合肥经济技术学院加工工艺系, 合肥 230052)

关键词 蛋白质, 可解离基, 氢键, 盐桥

球状蛋白质的结构分析有助于蛋白质三维结构的认识. 维持蛋白质三维结构的作用力至少有3种类型, 即氢键、盐桥(亦称盐键或静电键)和疏水键. 维持三维结构的作用力可以看作是解离基和非解离基各自间的以及两者之间的相互作用.

1 球状蛋白质的可解离基的分类

在蛋白质分子中, 可解离基来自侧链上的基团, 此外, 还有肽链两个末端的少数 α -羧基和 α -氨基. 如果是结合蛋白, 还包括辅基部分的可解离基. 本文所研究的可解离基主要是 Asp, Glu, Arg, His, Lys 等荷电氨基酸残基中的所有可解离的含 N 和 O 的基团以及 N 和 C 末端的 α -氨基和 α -羧基.

可解离基解离后产生带正、负电荷的基团, 蛋白质分子所带电荷的性质和数量决定于其解离基的种类、数目及溶液中的 pH 值. 蛋白质分子中的静电相互作用对于结构和性能的影响已经引起了人们的很大兴趣和高度重视.

Lee 和 Richards 算法给出了蛋白质分子及其原子的可及性^[1], 按照可及性大小将原子分为三大类^[2]: I 类, 可及性为 0, 完全埋藏的原子; II 类, 可及性大于 0 而小于 $5\text{\AA}^2$, 部分埋藏的原子; III 类, 可及性大于 $5\text{\AA}^2$, 暴露的原子. 对于具有两个可解离原子的基团来说, 再附加两个小类: IA 类, 一个原子属于第 I 类, 而另一个原子属于第 II 类或第 III 类; IIA 类, 一个原子属于 II 类, 而另一个原子属于 III 类.

2 可解离基的键合方式

根据原子间的距离可以判断盐桥和氢键的形式^[2], 这一距离用两套标准, 即硬标准和软标准. 硬标准是指给体和受体的距离在 $3.5\text{\AA}$ 之内, 假设形成了氢键或盐桥; 软标准为 $4\text{\AA}$, 氢键; $5.5\text{\AA}$, 盐桥. 如果一个可解

离基在 $4\text{\AA}$ 内至少有一个氢键对象或在 $5.5\text{\AA}$ 内至少有一个盐桥对象, 就把它看作“成对”.

按照上述规定, 根据蛋白质分子中可解离基形成盐桥、氢键的作用情况, 作者以软标准详尽地分析了 36 种蛋白质中可解离基的键合方式, 作出了分类统计, 见表 1.

2.1 氢键

由表 1 可见, I, IA, II, IIA 类基团平均 87% 以上形成氢键. I 类基团形成氢键的百分率最高(近似 100%); III 类基团形成氢键的比例只有 31.3%, 这是因为暴露的基团与溶剂分子发生了作用, 当与溶剂分子形成氢键的机会增加时, 分子内成对势必减少(III 类只有 55%). 分子内成对的趋势与其可及性相反地关联着, 因为表面上的极性基团趋向于与水分子形成氢键^[3]. 近年来的实践证明, 这种氢键的形成, 与蛋白质的结构和功能有密切关系. 本文所说的氢键系指蛋白质分子内氢键.

所有的 IA 和 IIA 类基团明显地接近分子表面, 因为其中至少有一个原子暴露于溶剂中(可及性相对较大), 大多数这类基团分子内成对(参见表 1). 在多数情况下, 与溶剂分子形成氢键的是暴露的原子, 而埋藏的原子则可分子内成对.

2.2 盐桥

如果 I 类可解离基已经质子化, 无疑基本上形成了盐桥, 从表 1 的数据可以看出, I 类基团形成盐桥的统计平均值为 79.3%, 说明该类基团中荷电基团的比例是较高的. 因为考虑到有些基团虽已质子化, 但可能会受到距离、空间位阻等因素的限制而难以成桥, 然而, 根据文献[2]的报道, 36 种蛋白质分子中仅发现 6 个完全埋藏的盐桥, 并且都位于各自的活性中心处, 绝大多数是

由完全埋藏的基团与部分埋藏或暴露的基团所形成的。

表1 36种蛋白质中可解离基键合方式的分类统计

(软标准)

比率 键合方式	分 类	I	IA	II	IIA	III
氢 键		~100	87.5	87.3	87.5	31.3
盐 桥		79.3	62.3	71.0	67.8	37.0
成 对		100	98.4	95.0	94.6	55.0

(硬标准)

比率 键合方式	分 类	I	IA	II	IIA	III
氢 键		97.7	78.8	72.7	64.4	18.9
盐 桥		43.0	44.3	35.5	63.8	15.1
成 对		98.3	89.8	87.7	79.2	28.4

III类可解离基形成盐桥的百分数只有37%(参见表1),这个较低的比例也是因为它们的较大暴露,受到极性溶剂分子的包围和作用,从而降低甚至丧失了桥接分子内其它基团的能力。

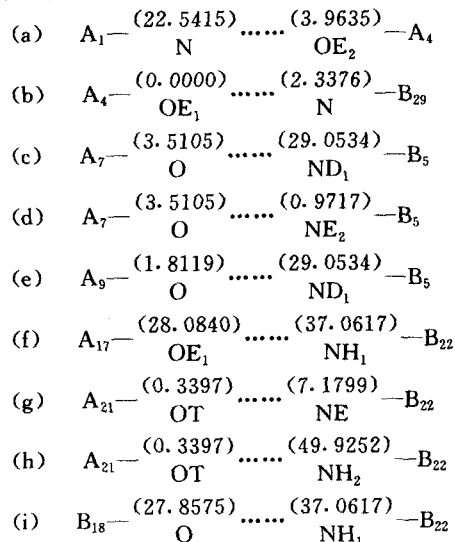
IA, IIA类可解离基的成桥比例分别为62.3%和67.8%,高于III类基团而低于I类。这两类基团中至少有一个原子是暴露的。II类可解离基的成桥趋势(成桥比例为71%)类似于IA, IIA类,由此可以得到埋藏的可解离基成桥的可能性较大。确定盐桥是离子的还是电中性的问题,引起了人们的重视,因为成桥的埋藏基团荷电就在蛋白质内部低介电常数的环境中产生大的电场,可以起影响功能的作用。然而,这一确定尚存在不少问题,因为可得到的这方面的数据有限。荷电还是以中性形成出现取决于质子的位置,但在蛋白质的 α 射线研究中,质子一般不能被识别。从表1可明显看到IA, II, IIA类基团形成氢键的数目和比例都高于相应的盐桥,这就是说,在一些强盐桥中的许多基团形成了附加氢键,要求这种盐桥主要是离子的。

3 胰岛素分子中可解离基的键合情况

为了具体地考察胰岛素分子中的可解离基及其键合情况,作者运用文献[4]的方法计算了猪胰岛素分子及其每个原子的可及性,按照文献[5, 6]报道的胰岛素分子中氢键和盐桥的形成情况,实际地考察了胰岛素分子中可解离基的键合情况。

胰岛素分子中有8个荷电氨基酸中含有可解离基,即谷氨酸A₁, A₁₇, B₁₃, B₂₁; 组氨酸B₅, B₁₀; 精氨酸B₂₂; 赖氨酸B₂₉等。此外,还有两个N末端(A₁和B₁)和两个C末端(A₂₁和B₃₀)。

8个荷电氨基酸中的可解离基形成了9个氢键^[7],这些氢键均属于非螺旋氢键^[6],即:



成氢键原子上方括号内的数据是该原子的可及性($\text{\AA}^2$)。从可及性数据来看,氢键(b), (d)较埋藏;氢键(f), (i)较暴露。这些氢键对胰岛素的结构和功能具有重要意义。

胰岛素分子中有4个荷电氨基酸(B₁₀, B₁₃, B₂₁和B₂₉)中的可解离基未形成非螺旋氢键。两个组氨酸(B₅和B₁₅)中一个残基(B₅)形成了非螺旋氢键,而另一个(B₁₀)则没有,与此类似,4个谷氨酸残基中有2个残基(A₄和A₁₇)形成了非螺旋氢键,而另外2个残基(B₁₃和B₂₁)则没有。对此,我们不妨比较一下两个组氨酸残基的可及性,或许可得到一些解释。

N	(4.3413)	N	(0.0000)
CA	(0.0000)	CA	(0.1670)
C	(0.0000)	C	(0.0000)
O	(13.9287)	O	(0.9059)
CB	(13.3579)	CB	(4.5083)
CG	(0.1388)	CG	(0.2776)
ND ₁	(29.0534)	ND ₁	(30.0553)
CD ₂	(0.1388)	CD ₂	(14.1584)
CE ₁	(37.0682)	CE ₁	(40.0737)
NE ₁	(0.9717)	NE ₂	(29.5661)
B ₅ His	(98.9989)	B ₁₀ His	(119.7123)

B₁₀中的可解离基团的可及性明显大于B₅,比较暴露于溶剂(水),易受水分子作用和影响,难于形成非螺旋

旋氢键。

此外,胰岛素分子中的两个N末端和两个C末端均未形成非螺旋氢键,这些末端的N、O原子可及性也相对较大,但A₁与A₅形成了螺旋氢键(A₁— $\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{O}}}(0.0000) \dots (1.3358) \text{—A}_5$),A₁与A₄形成了4→1氢键(A₁— $\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{O}}}(0.0000) \dots (0.0000) \text{—A}_4$),A₂₁与B₂₃形成了A、B链间氢键(A₂₁— $\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{O}}}(0.0000) \dots (0.0000) \text{—B}_{23}$),这些氢键中成键原子的可及性很小或为0.0000,因而这3个氢键均是埋藏的。

胰岛素分子中存在着两对盐桥,即B₂₂侧链胍基与A链C端羧基形成了盐桥,A₄侧链羧基与A链N端氨基亦形成了盐桥,从成桥基团可及性来看,前对盐桥是比较暴露的,后对盐桥部分埋藏。同时,注意到从胰岛素原转化为胰岛素时必然伴随着A链N末端的暴露(A₁中N原子的可及性为22.5416,相对很大),以及在不同种属胰岛素中A₄的变异都恒定保持为酸性残基这样一些事实,说明A₄侧链羧基与A链N端氨基形成的盐桥的作用是相当奥妙的。形成盐桥的这些基团同时亦

形成了氢键,这两对盐桥应是离子的。这两对盐桥可能对活性部位的准确构象起稳定和保证作用。

参 考 文 献

- 1 Lee B, Richards F M. The interpretation of protein structures; estimation of static accessibility. *J Mol Biol*, 1971; **55**:379
- 2 Rashin A A, Honig B. On the environment of ionizable groups in globular proteins. *J Mol Biol*, 1984; **173**:515
- 3 温元凯,戴亚,孟庆涛等.由残基计算蛋白质的可及表面积. *生物化学杂志*,1989;**4**:344
- 4 戴亚.根据蛋白质的可及性分析细胞色素C的结构和功能. *生物物理学报*,1990;**4**:393
- 5 北京胰岛素结构研究组.胰岛素晶体结构的研究:1.8埃分辨率的胰岛素分子. *中国科学*,1974;**6**:591
- 6 王大成,常文瑞,戴金壁.胰岛素分子中的非螺旋氢键. *生物化学与生物物理学报*,1983;**1**:55
- 7 常文瑞,戴金壁,张季平等.经各向异性温度因子修正后的1.2Å分辨率的猪胰岛素晶体结构. *生物物理学报*,1986;**2**:149

人溃疡型胃癌中结合β半乳糖苷凝集素的分离纯化*

许凤浩 刘在贵

(滨州医学院生化教研室,滨州 256603)

关键词: 胃癌, 内源性凝集素, 肿瘤, 细胞内糖结合蛋白

动物凝集素是一种细胞内或细胞膜上的糖结合蛋白,参与细胞间的识别连接,调节细胞的生长发育^[1]。不同的肿瘤细胞,其凝集素含量不等,类型不一^[2]。结合β半乳糖苷凝集素是肿瘤细胞凝集素中的一种,广泛分布于人肺癌^[3],人肝细胞瘤^[4],小鼠黑色素瘤^[5],及纤维肉瘤和癌基因转化的大鼠细胞瘤中^[6]并调节着肿瘤细胞之间,肿瘤细胞与基质之间的粘附,参与肿瘤细胞的转移。胃癌是山东省的一种高发恶性肿瘤,人胃癌中是否含有结合β半乳糖苷的凝集素及含量高低,联机检索证明国内外均未见报道。本文使用去唾液酸的胎球蛋白柱研究比较了正常人胃和人溃疡型胃癌中此种凝集素含量的变化,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 溴化氰活化的 Sepharose 4B 和 Sephadex G 50: pharmacia; 胎球蛋白: Fluka; PMSF: Merck; SDS-PAGE 标准蛋白: 华美公司。

13例人溃疡型胃癌标本和3例人胃大部切除标本均来源于外科手术。

1.2 亲和层析载体的制备 按文献[7]。

1.3 结合β半乳糖苷凝集素的分离纯化 将人胃癌及正常胃标本洗净,称重,剪碎。每克标本加4—

* 山东省教委资助课题。

收稿日期: 1992-06-13 修回日期: 1992-09-20