

蛋白质结构层次中的超二级结构*

孙之荣

(清华大学生物科学与技术系, 北京 100084)

摘要 近年来关于蛋白质超二级结构(supersecondary motifs, Motifs)的研究已成为国际上一个热点课题, 国内也开始出现有关的研究论文, 蛋白质超二级结构是两个或几个规则二级结构单元的进一步组合, 或看成是二级结构的局域折叠。文章就蛋白质 Motifs 结构的定义, 特点, 及对这一结构层次开展研究的意义作了综述, 并对蛋白质 Motifs 研究的进展作了简要的介绍。

关键词 蛋白质, 超二级结构, Motifs 特征

1 连接多肽区

在很多蛋白质的结构中, α 螺旋和 β 折叠等二级结构单元进一步组合, 折叠成三维空间结构。在这种肽链的折叠过程中, α 螺旋和 β 折叠是被各种长度“走向”不规则的连接多肽(loop)连接而成的。高分辨率的 X 衍射晶体蛋白质的构象分析表明 α 螺旋和 β 折叠的连接短肽的构象类型是有限的^[1~3]。这些连接短肽可以反向改变链走向(180°), 或使链密集, 或改变 90° 方向, 有些连接肽则使链微微弯曲, 或发生纽结。它们在蛋白质肽链折叠过程中具有明确的结构作用。

这些连接多肽区的主链羰基($-\text{CO}$)和亚氨基($-\text{NH}$)间一般不形成氢键。当其暴露在水溶剂中时, 常与水分子相互间形成氢键。相当多的连接多肽位于蛋白质分子表面。位于蛋白质分子表面的这些连接多肽暴露在溶剂中, 肽链上的残基多是带电残基或极性残基或甘氨酸残基, 这表明由氨基酸序列预测连接多肽比预测 α 螺旋、 β 折叠会有比较高的准确性。不同种属的同源蛋白质的氨基酸序列的比较, 发现一些残基的插入、替换、删除多发生在连接多肽区。这说明在蛋白质进化演变过程中, 蛋白质分子内核比分子表面的连接多肽区更稳定, 即连接多肽区柔性易变^[4]。

连接多肽除了作为二级结构单元的连接功能外, 有些连接多肽还常参与形成一些结合位点和酶的活性位点。

2 蛋白质中的简单 Motifs

在蛋白质结构中, 常常发现两个或几个二级结构单元进一步组合成有特殊的几何排列的结构块, 这些结构块被称为超二级结构, 或 Motifs 结构。如图 1 所示, 是由两个 α 螺旋与连接多肽组成的最简单的具备特殊功能的 Motifs。图 1a 为 DNA 结合 Motifs; 图 1b 为钙原子结合 Motifs, 两个 α 螺旋间的连接多肽区结合钙

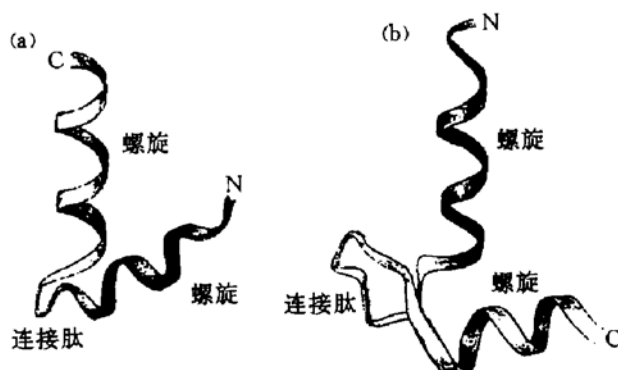


图 1 两种 α -loop- α 类型的 Motifs
(a) DNA 结合 Motifs; (b) 钙结合 Motifs.

* 国家自然科学基金资助。

收稿日期: 1994-12-05, 修回日期: 1995-04-26

原子. α -loop- α 型 Motifs 提供了在合适的位置结合或释放钙离子的结构骨架. 这是在蛋白质结构中被识别第一个功能 Motifs. 该 Motifs 包含两个 α 螺旋及 12 个残基长的连接多肽区. 其中 5 个残基是钙配位体, 其侧链包含一个氧原子.

由 β 折叠链形成的简单的 Motifs 结构, 是两条反平行 β 折叠链由连接多肽连接而成. 这一 Motifs 结构称为 β 发夹. 常发生在反平行 β 结构中, 作为隔离 β 带或更复杂的 β 折叠片的一部分^[5]. β 折叠链之间连接肽长度比较普遍为 2~5 个残基, 该类 Motifs 无特殊生物学功能.

3 频繁发生的 Motifs 结构类型

我们从精选的 240 个高精度结构的蛋白质库中^[3], 研究发现了 Motifs 的构象类型是相当有限的, 共四大类型, 11 种构象形式^[6]. 它们并非是不可能构象的随机组合. 而与连接肽所连接二级结构单元的种类有关, 与连接肽长度, 连接肽残基构象有关. 这四种 Motifs 类型是 α 拐角 (α - α corner), α 发夹 (α hairpin), β 发夹 (β hairpin), 拱型结构 (arch) 等^[6,7]. 在 α 拐角中, α 螺旋经过连接肽弯了 90° 角, 或者表述为两个不在一个平面两条 α 螺旋, 其矢量夹角为 90° . α 发夹是两条平行的 α 螺旋被连接肽所

连接, β 发夹是两条反平行 β 折叠链被连接肽连接, 拱型 Motifs 则为连接肽连接两个不同类型的不在同一平面的二级结构. 图 2 是频繁发生的四大类型简单的 Motifs 的拓扑结构图^[6]. 图 3 是它们所包含的 11 种构象和氢键模式图^[3].

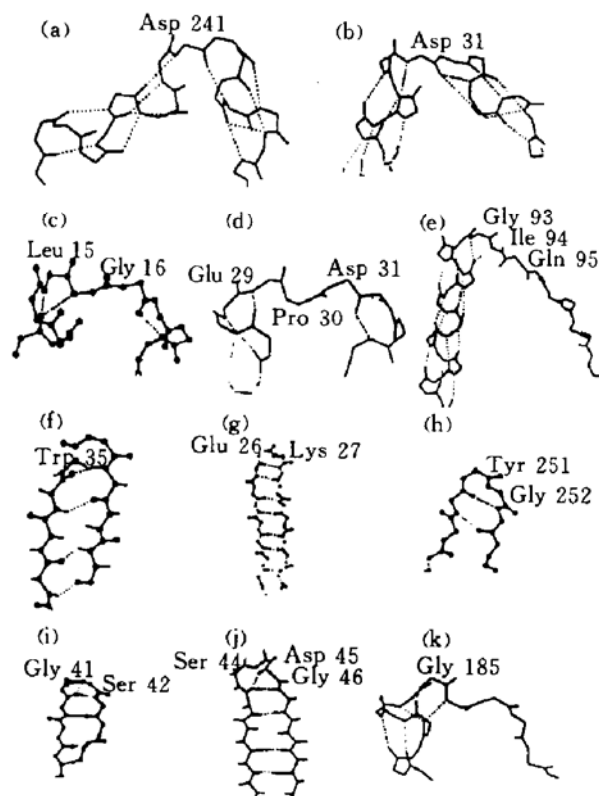


图 3 11 种构象类型的 Motifs 构象和氢键模式图
(a)(b) α 拐角; (c)(d) α 发夹; (f)(g)(h)(i)(j) β 发夹; (e)(k): 拱型结构.

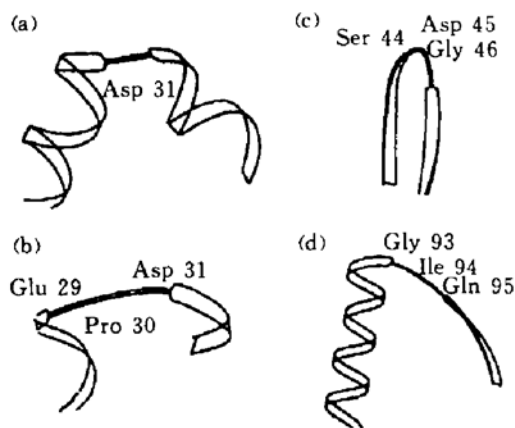


图 2 四种类型 Motifs 拓扑图
(a) α 拐角 (leca); (b) α 发夹 (2utg); (c) β 发夹 (lilg); (d) 拱型结构 (4pfk).

这些 Motifs 结构中连接多肽的亲水性、疏水性都有其特定的规律. 即使出现在非同源蛋白质结构中, 超二级结构的内核也总是以相同方式充填. 它们具有确定的序列模式特征, 带电残基, 极性残基, 以及甘氨酸的发生都有其一定规律^[6,8].

4 简单的 Motifs 结构进一步的组合

一些简单的 Motifs 可以进一步组合形成复杂的 Motifs 结构. 例如两个紧邻的 β 发夹 Motifs 可以进一步组合, 其可能的组合方式有

12种. 它们能够组合成更复杂的 Motifs 结构. 四个紧邻的反平行 β 折叠链常常组成的超二级结构模式, 称为希腊钥匙. 希腊钥匙不参与任何专一功能, 但在蛋白质结构中常常出现. 在有的蛋白质结构中, β 折叠链的交叉连接回折通过 α 螺旋实现. 这时肽链可能通过连接肽回折两次, 最终 Motifs 组成是 β -loop- α -loop- β . 简写成 β - α - β Motifs. 例如在磷酸丙糖异构酶中, 包含多个 β - α - β 结构, 几乎在每一个有平行 β 折叠片的蛋白质结构中都发现这一结构, 因此 β - α - β Motifs 由两个相互平行 β 折叠链、 α 螺旋和两个连接肽组成. 连接肽长度可以从一两个残基到十几个残基之间变化. 在这个 Motifs 结构中的两个连接肽功能不同. 连接 β 折叠链的羧端和 α 螺旋的氨端的连接肽常与形成功能结构位点和活性位点相关. β - α - β Motifs 结构有手性, 在已知蛋白质结构中发生的 β - α - β Motifs 结构的手性基本相同, 为右手性. 当几个这样的 Motifs 连接形成结构域时, 该手性对蛋白质的功能有重要影响. 另一个连接肽还未发现与其活性位点相关.

5 Motifs 和二级结构组合构成结构域

Motifs 结构中借助于侧链的堆积, 相邻的 α 螺旋和 β 折叠相互更紧密靠近. 几个 Motifs 通常会结合起来形成紧密的球形结构. 这一结构称为结构域 (domain). 因此结构域可能通过两种途径形成. 或是由 Motifs 结合排列而成, 或是由单肽链折叠而成的^[9]. 一个结构域定义为能够独立折叠成稳定的三级结构的多肽链的一部分. 结构域是蛋白质的一个功能单位. 蛋白质的不同结构域常常参与不同的功能. 例如 λ 阻遏蛋白质在多肽链的 N 端有一个结构域, 起结合 DNA 的作用, 而 C 端的结构域则起到将两个多肽链一起结合到 dimeric repressor 蛋白质分子中的作用. 蛋白质分子中, 可以包含单个结构域或多个结构域, 有时多达十多个. 结构域的内核是由 α -loop- α , α -loop- β , β -loop- α , β -loop- β 等 Motifs 构成的. 结构域可以分成三种结构类型: 即 α 结构, β 结构, 以及由 β - α - β 组

合成的 α/β 结构. 近 10 年来, 蛋白质折叠的中心法则讲到, 一级结构确定三级结构, 即蛋白质专一的三级结构是由具有独特的氨基酸序列的多肽链自发折叠形成的. 然而, 近几年来, 一组被称为伴娘 (chaperones) 的蛋白质被发现. 它们在多肽链折叠过程中起着催化促进作用. 不同的蛋白质三级结构形成需要不同伴娘.

6 结束语

通过上面简单讨论, 我们可以看到, 蛋白质超二级结构是蛋白质空间结构中极重要的一个结构层次. 它的研究与蛋白质结构比较模型及空间结构预测, 和蛋白质肽链折叠的研究密切相关. 研究已经证明, Motifs 的构象类型是有限的. β 发夹结构是很广泛存在的一类 Motifs 结构, 对它的结构模型已经开展了相当深入的研究. 现在已经能对其进行数学模型化^[9], 进行定量的描述^[10]. 这一研究表明, 与其他学科和学科分支一样, 结构分子生物学在数学模型描述方面前景也是广阔的. 最近, 我们又对 Motifs 结构进行了预测研究, 取得了较大的进展. 结果表明, 比二级结构预测有更高的精度 (75%~80%). 这可能是由于两段二级结构片段及其连接肽一起考虑的缘故^[11]. 这也是因为 Motifs 结构有确定的构象模式, 序列模式, 疏水性特征等原因.

参 考 文 献

- 1 Efimov A V. Currnet Opinion in Structure Biology, 1993; 3: 379
- 2 Thorton J M, Sibanda B L, Edwarlo M S *et al.* Bioessays, 1988; 8: 63
- 3 孙之荣, Blundell T L. 生物物理学报, 1994; (2): 289
- 4 Topham C M, Macleod A, Eisenmenger F *et al.* J M Biol, 1992; 212: 403
- 5 Sibanda B L, Thorton J M. Nature, 1985; 316: 170
- 6 孙之荣. 科学通报, 1994; 39 (24): 2260
- 7 Sali A, Blundell T L. J Mol Biol, 1990; 212: 403
- 8 Hubbard T J P, Blundell T L. Protein Engin, 1987; 1: 159
- 9 Janin J, Chothia C. Methods Enzymol, 1985; 115: 420
- 10 Sibanda B L, Thorton J M. J Mol Biol, 1993; 229: 428

11 孙之荣. 生物物理学报, 1994; (4): 665

The Supersecondary Motifs of Protein Structure. Sun Zhirong (*Department of Biological Science and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084; China*).

Abstract Simple combinations of a few secondary structure elements with a specific geometric arrangement have been found to occur frequently in protein structures. These units have been called either supersecondary struc-

ture or motifs. Motifs are formed by packing side chains from adjacent α helices or β strands close to each other. Simple motifs combine to form complex motifs. Several motifs usually combine to form compact globular structures, which are called domains. In other words, the cores of domains are built up from combinations of small motifs, such as α -loop- α , α -loop- β , β -loop- α , β -loop- β or β - α - β motifs.

Key words protein, supersecondary structure, motifs

反义寡核苷酸的化学修饰*

王升启

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 反义寡核苷酸的功能在很大程度上取决于其稳定性、生物利用度及与靶基因结合或反应的特性。通过特定的化学修饰可以改变这些物理、化学特性, 从而增加其抗病毒、抗肿瘤及对其他特定基因的表达抑制活性。

关键词 反义核酸技术, 反义寡核苷酸, 化学修饰

反义寡核苷酸技术 (antisense oligonucleotide technology) 最初是指与单链 RNA 互补的一段寡核苷酸序列。随着研究的不断深入, 发现寡核苷酸不仅可与单链 RNA 结合形成 DNA-RNA 杂合体, 而且某些特殊序列还可与双链 DNA 结合形成三链核酸 (triplex)。人们将前者称为反义 (antisense), 后者称为反基因 (antigene) 以示区别。此外, 还将能够竞争蛋白结合单链或双链 DNA/RNA 的序列称为正义 (sense)^[1]。反义寡核苷酸技术是目前所知最精确、高效及最具广泛意义的调控特异基因表达的潜在策略。这一技术为诸如病毒感染、肿瘤等重要疾病的治疗开辟了一个全新的途径。大量颇有苗头的体外和体内抗病毒及抗肿瘤药理实验结果、初步的药代动力学和毒理学实验

数据加之大规模 DNA 合成技术的进步, 已促成了用于治疗白血病 (AML)、人乳头瘤病毒 (HPV) 引起的尖锐湿疣及巨细胞病毒 (CMV) 引起的角膜炎的几种反义寡核苷酸 (ASON) 进入 I/II 期临床实验。

反义寡核苷酸的功能在很大程度上取决于其稳定性、生物利用度及与靶基因结合或反应特性。通过特定的化学修饰可以改变这些物理、化学特性, 从而增加其抗病毒、抗肿瘤及其他特定基因的表达抑制活性。本文综述介绍近年来国内外 ASON 化学修饰及生物学意义方面的研究进展。

* 总后卫生部“八·五”重点招标课题“反义寡核苷酸和核苷类抗病毒药物的研究”的部分内容。

收稿日期: 1994-12-05, 修回日期: 1995-04-11