

complex between human CD8 α and HLA-A2. *Nature*, 1997, **387** (6633): 630~ 634

4 Porcelli S A. The CD1 family: a third lineage of antigen presenting molecules. *Adv in immunology*, 1995, **59**: 1~ 98

5 Zeng Z H, Castano A R, Segelke B W *et al.* Crystal struc-

ture of mouse CD1: an MHC-like fold with a large hydrophobic binding groove. *Science*, 1997, **277** (5324): 339~ 345

6 Moody D B, Reinhold B B, Guy M R *et al.* Structure requirements for glycolipid antigen recognition by CD11r restricted T cells. 1997, *Science*, **278** (5336): 283~ 286

蛋白质的豆蔻酰化

许正平

(浙江大学生物科学与技术系, 杭州 310027)

李伯良

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

蛋白质豆蔻酰化是指真核细胞中豆蔻酰基在豆蔻酰 CoA: 蛋白质 N 端豆蔻酰转移酶 (Myristoyl CoA: protein N-myristoyltransferase, NMT) 的催化下, 从豆蔻酰 CoA 转移至蛋白质 N 端甘氨酸残基并形成酰胺键的一种蛋白质脂酰基修饰方式, 为翻译偶联的不可逆过程^[1]. 自 1982 年发现 cAMP 依赖蛋白激酶 N 端被豆蔻酰化后, 已确定了 100 多种豆蔻酰化蛋白质. 另外, 在蛋白质的序列库中还发现很多蛋白质含有豆蔻酰化位点. 本文对蛋白质豆蔻酰化的生物学功能及调控等作一简述.

1 豆蔻酰化蛋白及其生物学功能

细胞内豆蔻酸占总脂肪酸的比例小于 1%, 那么, 在进化中为什么会选择豆蔻酸这种稀有脂肪酸作为新生肽 N 端的修饰基团呢? Peitzsch 和 McLaughlin 认为原因在于其中等程度的疏水性有利于与膜 (或蛋白质) 的可逆结合, 而其他脂肪酸如软脂酸等由于疏水性大, 结合比较牢固. 因此, 推测豆蔻酰化与蛋白质的调节控制有关.

已发现的豆蔻酰化蛋白主要可分为以下几大类: 丝氨酸/苏氨酸激酶、酪氨酸激酶、激酶底物蛋白、磷酸酯酶、参与信号传导的其他蛋白 (如 G 蛋白 α 亚基)、蛋白和囊泡运输的调控蛋白以及病毒的结构或非结构蛋白.

豆蔻酰化蛋白质参与了细胞生长发育、信号传导和肿瘤发生以及病毒复制组装等重要生

理过程^[1]. 其实, 前三者都与信号传导有关, 因为细胞的生长发育是通过信号传导来调节的, 而肿瘤发生则与信号传导的异常有关.

参与信号传导的豆蔻酰化蛋白有 cAPK Ca 亚基等丝氨酸/苏氨酸激酶, 多种酪氨酸激酶, 钙调磷酸酶 B 亚基, MARCKS, G 蛋白 α 亚基和 ADP 核糖基化因子等. G 蛋白介导的信号传导途径、酪氨酸激酶介导的信号传导途径和蛋白/囊泡运输过程中均有豆蔻酰化蛋白的参与^[2]. 最近, 发现 cGMP 依赖的蛋白激酶 II (cGK II) N 端是豆蔻酰化的, 而该蛋白在 cGMP 介导的信号传导途径中发挥重要作用^[3]. 其实, 在三类与生长因子信号传导途径有关的蛋白激酶家族中, 均含酰化蛋白质, 说明酰化的形式可能决定激酶与其他调节分子作用的方式^[2].

Src 家族酪氨酸激酶的膜结合与致癌性和细胞转化功能密切相关, 而豆蔻酰修饰是这些激酶膜结合的一个关键因素. 无豆蔻酰化的 Src 和 Lck 不能诱发细胞转化. Magnuson 等发现在结肠癌发生的早期, 细胞中 NMT 活力明显上升, 认为高水平的豆蔻酰转移酶活性可能导致蛋白质的畸形豆蔻酰化, 从而引起信号传导的紊乱, 最终导致肿瘤的发生. 这些说明 NMT 的活性/表达在正常细胞中是受调控的. 事实上, King 等在牛脑中已分离纯化了一种

NMT 蛋白抑制剂 NIP₇₁, 它以灵敏的 on/off 开关方式调节 NMT 活性. 最近, 他们又在牛脑中确定了 NMT 的激活剂 NAF45 的存在, 说明牛脑中具有 NMT 活性的正负调控机制.

多种病毒蛋白, 包括逆转录病毒、嗜肝 DNA 病毒、乳多孔病毒、小 RNA 病毒以及呼吸孤病毒等的多种结构和非结构蛋白均是豆蔻酰化, 其中一些蛋白的豆蔻酰化对病毒复制组装或产生有感染性的病毒颗粒是必需的, 如 HIV-1 的 pr55^{gag} 蛋白等. HIV 的 gag 蛋白豆蔻酰化对病毒颗粒的芽生是必需的, 只有完全抑制 HIV gag 蛋白的豆蔻酰化才能抑制病毒颗粒的芽生. 然而, 即使在没有完全抑制豆蔻酰化的情况下, 也导致子代病毒无感染性. 因此, 抑制 gag 蛋白的豆蔻酰化是抗 HIV-1 等病毒的一条途径.

2 豆蔻酰化蛋白功能的调控

既然豆蔻酰化是一个不可逆过程, 那么细胞/生物体是怎样实现对豆蔻酰化蛋白的调控的呢? 最近, 提出了“豆蔻酰化开关”的调控概念, 反映了豆蔻酰基在蛋白质构象变化中的“开关”作用^[4].

2.1 豆蔻酰-静电开关

该机制通过调控蛋白表面正电荷的存在与否调节一些豆蔻酰化蛋白与膜的亲和力. 疏水性酰基链插入磷脂双分子层对豆蔻酰化蛋白的膜结合是必要的, 但不是足够的, 蛋白质内部的一簇碱性残基与酸性磷脂的静电结合提供了另外一种作用力. 当其中有三个 Ser 残基被磷酸化后, 蛋白质表面的正电荷减少, 两者之间的静电引力相应减小, 导致蛋白质从膜上脱落. 去磷酸化则恢复膜结合. 如 MARCKS, Src 和 HIV-1 基质蛋白等的膜可逆结合.

2.2 豆蔻酰-GTP 开关

GTP 与 Arf 蛋白结合后影响蛋白 N 端的构象, 从而裸露出豆蔻酰基, 后者引导蛋白与膜的可逆结合.

2.3 豆蔻酰-钙开关

无钙条件下, 视网膜恢复蛋白的豆蔻酰基

被包裹于疏水口袋中. 钙与恢复蛋白结合后诱导构象变化, 从而暴露疏水口袋并暴露出豆蔻酰基团, 使蛋白插入视杆细胞外层膜 (ROS). 钙结合蛋白的 EF-hand 超家族的其他一些成员也可能利用了这种可逆调控机制.

还有蛋白质的不均一酰化也可能是豆蔻酰化的调控方式. 在牛视杆细胞中发现一些豆蔻酰化蛋白发生了不均一酰化现象, 即转导素、恢复蛋白和 cAPK Ca 均被 C12:0、C14:0、C14:1^{Δ5} 和 C14:2^{Δ5,8} 不均一酰化^[1]. 这种细胞株专一的酰化现象可能与细胞中特殊的酰基 CoA 代谢有关. 不均一酰化使得同一蛋白的不同亚基有不同的疏水性或构象, 可能具有独特的生理意义.

3 展 望

对蛋白质豆蔻酰化感兴趣的部分原因在于催化这种共价修饰的酶: 豆蔻酰 CoA: 蛋白质 N-豆蔻酰转移酶是一个抗病毒、抗真菌和/或抗肿瘤的药物治疗靶蛋白. 但是, 目前对豆蔻酰化蛋白的生物学功能和豆蔻酰基的确切作用了解得还不够清楚, 豆蔻酰转移酶的晶体结构也还未解析. 因而该酶的专一性抑制剂的筛选不仅有利于研究豆蔻酰转移酶和豆蔻酰化蛋白的生物学功能, 而且将为针对 NMT 的治疗药物的分子筛选和设计奠定基础. 目前, 国内外多家实验室正在开展 NMT 的豆蔻酰类似物类、肽类抑制剂和拟肽类抑制剂的筛选、合成工作.

参 考 文 献

- 1 Johnson D R, Bhatnagar R S, Knoll L T *et al.* Genetic and biochemical studies of protein N-myristoylation. *Annu Rev Biochem*, 1994, **63**: 869~914
- 2 Casey P J. Protein lipidation in cell signaling. *Science*, 1995, **268** (5208): 221~225
- 3 Vaandrager A B, Ehlert E M E, Jarchau T *et al.* N-terminal myristoylation is required for membrane localization of cGMP-dependent protein kinase type II. *J Biol Chem*, 1996, **271** (12): 7025~7029
- 4 Bhatnagar R S, Gordon J I. Understanding covalent modification of proteins by lipids: where cell biology and biophysics mingle. *Trends Cell Biol*, 1997, **7** (1): 14~20