

的抗旱品种提供理论基础.

参 考 文 献

- 1 Dure L. Response of plants to cellular dehydration during environmental stress. Rockville: American Society Physiologists, 1993. 91~ 103
- 2 Mundy J, Chua N H. Absciscic acid and water stress induce the expression of a novel rice gene. EMBO J, 1988, 7 (8): 2279~ 2286
- 3 Close T J, Fenton R D, Moonan R. A view of plant dehydrins using antibodies specific to the carboxy terminal peptide. Plant Mol Biol, 1993, 23 (1): 279~ 286
- 4 Asghar R, Fenton R D, DeMason D A *et al.* Nuclear and cytoplasmic localization of maize embryo and aleurone dehydrin. Protoplasma, 1994, 177 (1): 87~ 94
- 5 Goday A, Jensen A B, Culianez-Macia F A *et al.* The maize abscisic acid responsive protein Rabr 17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. Plant Cell, 1994, 6 (3): 351~ 360
- 6 Houde M, Daniel K J, Volk O H *et al.* Immunolocalization of freezing-tolerance associated proteins in the cytoplasm and nucleoplasm of wheat crown tissues. Plant J, 1995, 8 (3): 583~ 593
- 7 Neven L G, Haskell F W, Hofig A *et al.* Characterization of a spinach gene responsive to low temperature and water stress. Plant Mol Bio, 1993, 21 (2): 291~ 305
- 8 Godoy J, Lunar R, Torres-Schumann S *et al.* Expression, tissue distribution and subcellular localization of dehydrin TAS14 in salt-stressed tomato plants. Plant Mol Biol, 1994, 26 (6): 1921~ 1934
- 9 Close T J. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. Physio Plant, 1996, 97 (4): 795~ 803
- 10 Close T J, Chandler P M. Cereal dehydrins: serology, gene

mapping and potential functional roles. Aust J Plant Physiol, 1990, 17 (3): 333~ 344

- 11 Pan A, Hayes P M, Chen F *et al.* Genetic analysis of the components of winterhardness in barley. Theor Apple Genet, 1994, 89 (7~ 8): 900~ 910
- 12 Rouse D T, Marotta R, Parish R W. Promoter and expression studies on an *Arabidopsis thaliana* dehydrin gene. FEBS Lett, 1996, 381 (1): 252~ 256
- 13 Marttila S, Tenhola T, Mikkonen A. A barley (*Hordeum vulgare* L.) LEA3 protein, HVA1, is abundant in protein storage vacuoles. Planta, 1996, 199 (4): 602~ 611

Progress in Dehydrin Research. ZHAI Da-yong, SHEN Li-ming (College of Biological Science, Agricultural University of China, Beijing 100094, China).

Abstract A number of stress-induced proteins are produced in plants in response to drought stress, among which dehydrin is the most common one. Concerns on the highly conserved sequence and the large quantity expression of dehydrin have led to numerous significant findings about the biological role and the regulation of gene expression of the stress-responsive proteins. Recent progress of the dehydrin research is described.

Key words dehydrin, drought-stress, gene expression

成纤维细胞生长因子的双受体系统

郑 莉 柳 川 王会信

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 成纤维细胞生长因子 (FGFs) 对于细胞代谢的刺激作用是通过双受体系统 (dual receptor system) 介导的. 该系统包括一个酪氨酸激酶受体家族 (FGFRs) 及肝素硫酸蛋白多糖 (HSPG). 目前已知有 4 种 FGFRs 基因, 其转录过程表现出剪切多样性. FGFs 与 FGFRs 的结合表现出交叉特异性. HSPG 可促进 FGFs 与 FGFRs 的结合和受体二聚体的形成, 并增强 FGFs 对细胞调控的精度. FGFRs 通过激活不同下游信号分子影响细胞有丝分裂、神经细胞轴突生长、胚胎发育等.

关键词 成纤维细胞生长因子受体, 肝素硫酸蛋白多糖, 双受体系统

学科分类号 Q78

已知成纤维细胞生长因子 (FGFs) 家族包括九个成员, 是目前发现的最庞大的生长因子家族. 又由于成纤维细胞生长因子受体 (FGFRs) 基因以及 FGFs-FGFRs 结合特异性的多样性, 使每种 FGF 对表达不同类型 FGFRs 的组织或不同发育阶段的细胞有不同的调控作用. FGFs 与受体的结合依赖于肝素硫酸蛋白多糖 (HSPG) 分子. HSPG 除可对 FGFs 提供物理性保护外, 其在细胞表面的表达随细胞生理状态的改变而改变, 并可调节 FGFs-FGFRs 的之间的亲和力. HSPG 所以又称为 FGFRs 的辅因子. FGFRs 的表型改变常与遗传性疾病及细胞恶性转化有关. 因此对 FGFRs 信号转导的研究将有助于寻找治疗这些疾病的新手段.

1 FGFs 的高亲和力受体 ——FGFRs

1.1 FGFRs 的结构特征

FGFRs 是一类具有自身磷酸化活性的 IV 型跨膜糖基化受体. 已知四种 FGFRs 基因: flg、bek、flg-2 和 fgfr3 分别编码 FGFR1、FGFR2、FGFR4 和 FGFR3. FGFRs 具有与 PDGFR 家族相同的结构特征: a. 胞外区由三

对 Cys 形成三个典型的免疫球蛋白样结构域; b. 跨膜区为保守的疏水性区段; c. 胞内区分: 高度变异的近膜区, 酪氨酸激酶活性区其中被一插入序列分为两个完整的 TK 结构域, C 端则是信号分子的结合部位^[1].

fgfrs 基因序列呈现与结构域功能相关的保守性差异: 第一个免疫球蛋白样环状结构域 (Ig I) 的保守性最低, 该结构域对配体结合非必需, 并影响基本结合位点对配体的亲和力. Ig II、Ig II/Ig III 之间的序列、以及 Ig III 的 N 端序列是构成四聚体复合物: FGFs+ 肝素+ FGFRs 二聚体的基本结合位点. Ig II 的 N 端序列在所有的异构体中高度保守, 其中有一段 19 个氨基酸残基组成的肝素结合位点是 FGFs 结合所必需. Ig III 的 C 端序列决定配体结合特异性^[2], 如用 KFGFR (FGFR2 的一种转录产物) Ig III C 端的 50 个氨基酸残基替换 FGFR1 中的同源序列, 则杂合分子表现出 FGFR2 的配体结合特征, 但只有同时替换 Ig II 中的序列, 杂合分子才能表现出与 KFGFR 相同的对 KGF 的高亲和力. 因此配体结合与特异性需要 Ig II 和 Ig III 上多种结构元件的参与 (图 1).

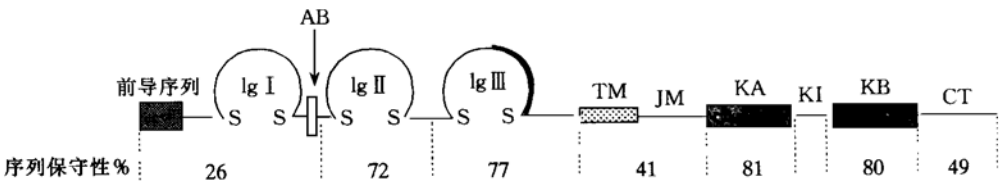


图 1 FGFRs 的结构以及序列同源性示意图

AB: 酸盒结构; TM: 跨膜区; JM: 近膜区; KA, KB: 激酶活性区; KI: 激酶插入区; CT: C 端.

1.2 FGFRs 基因转录与配体结合的多样性

fgfrs 基因通过转录中 mRNA 前体的剪切拼接可产生大量的异构体^[3]. 例如一种基因可产生三种 Ig III C 端序列不同的异构体 Ig III a, b, c. 其中 Ig IIIa 是一种可分泌形式. 另外由于基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP2) 对 FGFRs 跨膜区上游的 Val-Met 之间肽键的水解, 并释放胞外部分,

产生可溶形式的 FGFRs, 这种水解作用与 FGFRs 是否与 FGFs 结合无关. 被释放的可溶性片段依然能与 FGFs 结合, 提示它可能参与调节 FGFs 的活性^[4].

由此产生的异构体表现出不同的配体结合特征^[5]. 同时一种受体可结合几种配体. 另外, 每种异构体的表达具有组织特异性, 一个细胞又可表达多种受体异构体, 结果是一种因

子可调控多种细胞，一种细胞可同时受几种因子的调控. FGFs 信号系统的复杂性反映了

FGFs-FGFRs 在机体发育以及细胞增殖中的重要地位. 这种复杂性如表 1 所示.

表 1 FGFRs 的配体结合特征

基因	m / ku	Ig III 的变异体	特异性结合配体	有特异性表达的细胞系
fgfr1	150	IIIb	FGF1	成纤维细胞, 内皮细胞, 上皮细胞, 血管平滑肌细胞, 淋巴细胞
		IIIc	FGF1, 2, 4	巨噬细胞, 造血祖细胞, 多种肿瘤细胞
fgfr2	135	IIIb	FGF1, 2, 7	上皮细胞
		IIIc	FGF1, 2, 4	成纤维细胞, 内皮细胞, 血管平滑肌细胞, 造血祖细胞, 巨噬细胞, 淋巴细胞, 星形胶质细胞, 肉瘤细胞
fgfr3	135	IIIb	FGF1, 2	上皮细胞, 角质细胞
		IIIc	FGF1, 4, 9(2?)	成纤维细胞, 造血祖细胞, 血管内皮细胞, 单核细胞
fgfr4	110		FGF1, 2, 6	胚胎细胞和多潜能干细胞

2 FGFs 的低亲和力受体 ——HSPG

HSPG 不仅有储存和释放 FGFs 的功能, 在 FGFs-FGFRs 的结合中起更重要的微调作用^[6]. 其中研究最多的是一类称为共结合蛋白聚糖 (syndecan) 的 HSPG, 已知有四种 syndecans^[7]. 用 K562 细胞构建的三重组细胞: (1) 同时转染 fgfr1 基因和 syndecan4 基因; (2) 只转染 fgfr1 基因; (3) 同时转染 fgfr1 基因和 syndecan4 的反义基因. ¹²⁵I-FGF 的结合实验证明第 (1) 组细胞对 FGF 的亲合力比其他两组高 2~3 倍, 加入外源性的 syndecan4 可使后两组细胞对 FGF 的亲合力提高 4 倍. 这可能是由于 HSPG 诱导了 FGFs 对 FGFRs 的高亲和力构象.

除参与 FGFs-FGFRs 的相互作用, FGF2 与 HS 结合后可直接进入胞内, 此过程不依赖 FGFR. 已知 HSPG 可在细胞质与核之间循环, 因此推测 HS 是作为一种载体协助 FGFs 转移至细胞核^[8]. 有文献报道肝素可单独诱导 FGFR4 的自身磷酸化^[9]. HSPG 对 FGFs 信号系统的重要性可能要超过原来的估计.

3 从 FGFs 开始的信号传导

信号通过 FGFRs 传递时首先要发生受体

的二聚体化和自身的磷酸化反应. 受体寡聚化是受体激活的前提. FGFR1 上有 7 个酪氨酸磷酸化位点: Y-766、Y-463、Y-583、Y-653、Y-654 和 Y-730^[10].

磷酸化的 Y-766 是 PLC γ 的 SH2 结构域识别结合位点. 与其他生长因子信号途径不同的是, PLC γ 的激活对于 FGFs 引起的有丝分裂信号并不是必需的. PLC γ 激活后催化磷脂酰肌醇二磷酸水解产生 I-1, 4, 5-P3 和 DAG. DAG 可以和肌动蛋白的结合蛋白结合, 使得微管和微丝形成的聚合反应中可利用的肌动蛋白单体的数目增加, 因此 FGFRs 的 PLC γ 途径可能通过促进细胞骨架的形成和改变而影响细胞的形状、趋化性, 以及胚胎早期的细胞分化^[11].

显然 FGFRs 还有其他的途径来完成有丝分裂信号传递. Mohammadi 等的实验证明 FGFR1 可使 Shc 以及一种尚待确定的 Grb2 相伴蛋白-pp90 发生磷酸化, 已知 Shc 与 pp90 均可通过结合并激活 Grb2/SOS 复合物而激活 Ras, 打开细胞的有丝分裂开关^[12].

FGFRs 与 Shc 之间是否存在其他的因子? 除了 PLC γ 和 Ras 途径之外是否还有其他的信号传递途径? FGFs-FGFRs 系统留给我们许多待解之迷.

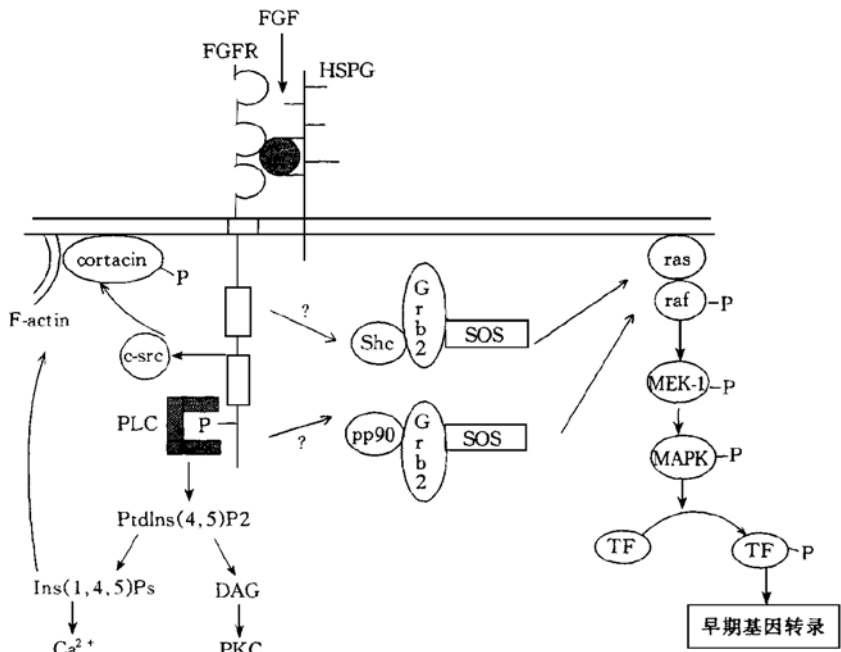


图 2 FGFs 的信号传导途径

参 考 文 献

1 Givol D, Yayon A. Complexity of FGF receptors: Genetic basis for structural diversity and functional specificity. *FASEB J*, 1992, **6** (15): 3362~ 3369

2 Wang F, Kan M, Yan G *et al*. Alternately spliced NH2-terminal immunoglobulin like loop 2 in the ectodomain of the FGFR1 lower affinity for both Heparin and FGFs. *J Biol Chem*, 1995, **270** (17): 10231~ 10235

3 Fernig D G, Gallaher J T. Fibroblast growth factors and their receptors: an information network controlling tissue growth morphogenesis and repair. *Prog Growth Factor Res*, 1994, **5** (4): 353~ 371

4 Levi E, Fridman R, Miao H Q *et al*. Matrix metalloproteinase 2 release active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (14): 7061~ 7074

5 Shi E, Kan M, Xu J *et al*. Control of fibroblast growth factor receptor kinase signal transduction by heterodimerization of consinatorial splice variants. *Mol Cell Biol*, 1993, **13** (7): 3907~ 3918

6 Mathieu M, Chatelain E, Ornitz D. Receptor binding and mitogenic properties of mouse fibroblast growth factors modulation of response by heparin. *J Biol Chem*, 1995, **270** (14): 24197~ 24203

7 Steinfeld R, VanDen Berghe H, David G *et al*. Stimulation of fibroblast growth factor receptor 1 occupancy and signaling by cell surface associated syndecans and glypican. *J Cell Biol*,

1996, **133** (2): 405~ 416

8 Roghani M, Moscatelli D. Basic fibroblast growth factor is internalized through both receptor mediated and heparansulfate mediated mechanisms. *J Biol Chem*, 1992, **267** (29): 22156~ 22162

9 Gao G, Goldfarb M. Heparin can activate a receptor tyrosine kinase. *EMBO J*, 1995, **14** (10): 2183~ 2190

10 Mohammadi M, Dikic I, Sorkin A *et al*. Identification of six novel autophosphorylation sites on fibroblast growth factor receptor 1 and elucidation of their importance in receptor activation and signal transduction. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (3): 977~ 989

11 Kenin G P, Mowie J, Wilson E *et al*. Point mutation of an FGF receptor abolishes phosphatidylinositol turnover and Ca^{2+} flux but not mitogenesis. *Nature*, 1992, **358** (6388): 678~ 681

12 Kouchara H, Kurebayashi S, Hashimoto K *et al*. Fibroblast growth factor receptors display both common and distinct signaling pathways. *Oncogene*, 1995, **10** (12): 2315~ 2322

The Dual-receptor System of Fibroblast Growth Factors. ZHENG Li, LIU Chuan, WANG Hui-xin (*Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

Abstract The activity of fibroblast growth

factors (FGFs) is mediated by a dual-receptor system. This comprises a family of four receptor tyrosine kinases (FGFRs) and heparin sulphate proteoglycans (HSPG). The binding of the FGFs to the FGFRs is marked by a pattern of overlapping specificity despite alternative splicing events generating a large number of FGFRs. HSPG receptors may stimulate the combination between the FGFs and FGFRs, and provide

additional specificity allowing a cell to fine tune its response to the FGFs. FGFRs induce the activities of downstream signal molecules which then act in different ways that affect the cell's development, mitogenesis, and neuronal differentiation, respectively.

Key words · fibroblast growth factor receptors, heparin sulphate proteoglycans, dual-receptor system

肉毒杆菌神经毒素作用机制的研究进展*

施玉樑 胡 谦¹⁾

(中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

摘要 肉毒杆菌神经毒素 (BoNT) 作用机制的研究近年取得的主要进展是: a. 证明 BoNT 是通过降低神经递质释放系统对 Ca^{2+} 的敏感性阻遏突触传递; 直接将 BoNT 导入胞内不显示胆碱能专一性. b. BoNT 与细胞表面的结合包括低亲和与高亲和相继两步, 有不同的受体. c. BoNT 的作用包括毒素与受体的结合, 内吞和导入, 变构、易位以及毒素作为酶在胞内酶裂与胞吐有关的蛋白质等过程. 毒素重链的 C 端半段、N 端半段及轻链分别是与上述过程有关的功能域.

关键词 肉毒杆菌神经毒素, 突触小泡融合, 神经递质释放, 功能域

学科分类号 Q42

肉毒杆菌神经毒素 (botulinum neurotoxin, BoNT) 包括 A、B、C1、D、E、F、G 七种血清特异的毒蛋白^[1-3]. 除肉毒杆菌 (*Clostridium botulinum*) 外, *Clostridium butyricum* 和 *Clostridium barati* 也可产生 BoNT \ E 和 \ F. 编码 BoNT \ A、\ B、\ E 的基因来源于细菌本身, 编码 BoNT \ C1、\ D 的基因来源于感染细菌的噬菌体, 编码 BoNT \ G 的基因则来源于细胞质粒^[3].

细菌先合成毒素单链, 再经酶裂成由二硫键相连的重链 (相对分子质量约为 100 000) 和轻链 (相对分子质量约为 50 000) 组成的 BoNT. 除 BoNT \ E 外, 细菌本身均具有用于酶裂的酶, 唯 BoNT \ E 是在分泌后经外源酶的酶切形成的^[3]. 酶裂是指在近其 N 端三分之一处被切除几个氨基酸残基和形成双链的过

程, 毒素的激活还需在其重链的 C 端切除一小肽^[3,4]. 打开二硫键, 可得到重链 (HC) 和轻链 (LC); HC 还可酶裂为 C 端半段 (H_C) 和 N 端半段 (H_N), 它们分别是 BoNT 的三个有独立功能的结构域^[3,4]. 氨基酸序列和抗原性的研究表明, 各类 BoNT 可能来源于一个共同的祖先基因^[4].

1 降低释放机制的 Ca^{2+} 敏感性

研究表明, BoNT 不影响神经冲动的传导, 递质的合成、储存, 而专一地破坏递质释

*国家“八·五”攀登项目和国家自然科学基金 (39470238) 资助.

¹⁾现在地址: Hu Qian, Bldg 36, Rm 2C02, NINDS/NIH, Bethesda, Md 20892 USA.

收稿日期: 1996-12-31, 修回日期: 1997-03-17