

综述与专论

蛋白质的结构转换

胡红雨 许根俊

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 许多不相关的蛋白质含有相同的短肽序列却形成不同的空间构象. 结构转换广泛存在于蛋白质折叠和功能过程中, 具有重要的生物学意义. 综述了 Serpin 和 EF-Tu 的失活、血细胞凝集素的激活、蛋白酶成熟、亚基装配和蛋白质淀粉样化等过程中肽链同源肽段的结构转换模式, 并讨论了它在理解蛋白质折叠机理和“构象病”病因中的应用.

关键词 蛋白质折叠, 结构转换, α/β 转换, 淀粉样化

学科分类号 Q51

蛋白质的空间结构是体现生物功能的基础, 蛋白质折叠则是形成空间结构的过程. 早在 70 年代, Anfinsen^[1]就提出了蛋白质一级结构决定其高级结构的著名学说, 认为蛋白质折叠是受热力学因素控制的. 天然蛋白质处于能量最低 (即热力学最稳定) 的状态. 一般来说, 天然蛋白质的结构是相对稳定的, 结构的稳定性也是其保持生物个体功能和物种的相对稳定所要求的.

蛋白质担负着复杂的生化反应, 同时在生物合成以后, 蛋白质本身也经历着繁杂的生理过程. 蛋白质自翻译以后, 还需进行一系列的翻译后过程, 包括跨膜转运、修饰加工、折叠复性、生化反应、生物降解等. 这些过程似乎都伴随着蛋白质的结构转换, 不但受蛋白质肽链自身的热力学稳定性所控制, 而且还受动力学过程控制. 这不仅是蛋白质拓扑学因素的需要, 而且也是某些蛋白质生理功能调节所必需的. 近年来, 由于某些蛋白质结构转换和错误折叠所引起的“构象病”的发现, 成了刺激蛋白质构象转换与生物功能关系研究热潮的一个重要原因. 这里的结构转换 (structural transformation or structural switch) 与通常意义的结构变化 (structural change) 或构象变化 (conformational change) 不同. 前者指较大程度的结构变化, 往往导致三级结构和二级结构的转变; 后者则仅仅为蛋白质空间结构的扰动或柔性. 本文将从几个方面简述蛋白质结构转换的研究背景和发展前沿.

1 同源肽段的结构转换

许多实验表明, 蛋白质多肽片段 (fragment) 在水溶液中具有与原同源肽段 (segment) 不一定相同的二级结构^[2]; 同一片段在不同的溶剂环境中能进行二级结构的构象转变^[3]; 甚至同一肽段在不同的蛋白质中的二级结构也不一样^[4]. 天花粉蛋白的 α 螺旋同源片段在水溶液中则形成 β 折叠结构, 可在六氟异丙醇中则转变为典型的 α 螺旋结构^[5,6]. Minor 和 Kim^[7]曾设计一个称为“变色龙”肽段 (chameleon), 分别插入蛋白质 G 的 IgG 结合结构域的不同二级结构区域中, 结果此肽段形成两种不同类型的二级结构. 插入原 α 螺旋区域的肽段形成 α 螺旋结构, 而插入原 β 折叠区域的同样肽段则形成 β 折叠结构. 同样地, Gasset 等^[8]发现与传染粒子蛋白 (prion) 的 α 螺旋同源多肽片段形成 β 折叠结构的现象. 另一有趣的研究进展是有关蛋白质炼丹术 (protein alchemy) 问题, Dalal 等^[9]通过分子设计置换一半以下的氨基酸残基, 可将一个 β 折叠为主的蛋白质成功地转换成为全 α 螺旋折叠类型的蛋白质. 蛋白质中肽链序列虽然有一定的构象形成势, 但不是绝对的. 有时随着环境因素的变化而进行结构的转换. 很可能这是蛋白质为了适应生物功能调节和进化的要求所必需的生理转化.

收稿日期: 1997-09-08, 修回日期: 1998-01-05

2 二级结构的转换

丝氨酸蛋白酶抑制剂 (serpin) 家族是研究蛋白质结构转换的典型范例. 体内新合成的或体外再折叠复性的纤溶酶原激活物抑制剂 (plasminogen activator inhibitor) 具有蛋白酶抑制剂的活力 (active form, A 型), A 型抑制剂的活性部位是一段 Loop 区域, 此结构可直接插入靶蛋白酶的活性中心形成复合物从而抑制蛋白酶的活性. 有意思的是 A 型抑制剂能够慢慢转化成无活性的潜伏型 (latent form, L 型) 抑制剂, 其 Loop 区肽链转换为 β 折叠链加入抑制剂蛋白的 β 折叠片层中. 因此, 抑制剂活性部位有关的残基被包埋导致活力丧失^[10]. 另一些抑制剂, 如 α_1 -antitrypsin, 其 Loop 区先被蛋白酶解再向 β 折叠链的构象转变成无活力的裂解型 (cleaved form, C 型)^[11]. L 型抑制剂可以通过变性和复性方法转变成 A 型, 然后又慢慢变成 L 型. 流感病毒血细胞凝集素 (influenza hemagglutinin, HA) 在 pH 诱导下的结构变化与细胞膜融合功能紧密相关的. HA 在 pH 7.0 时, 其空间结构是由 helix-loop-helix 的头状单体结构域组成的三聚体蛋白 (HA-N); 可在低 pH (pH < 5) 条件下, 中间 Loop 区域转化为螺旋结构并与另两段螺旋连接共同形成一股长螺旋, 三条长螺旋再绕成三股螺旋束, 称为成融态 (fusogenic state, HA-L)^[12]. HA-L 可介导病毒和宿主细胞的膜融合. 另一例子是蛋白质生物合成过程中的延长因子 EF-Tu, 其中的开关区域 (switch region) 的六个残基肽链 ProGluGluLysAlaArg 也存在 α 和 β 的构象转换^[13]. 当 EF-Tu 与 GTP 结合成为有活性的 GTP 型时, 这六肽序列形成 α 螺旋结构; 而它与 GDP 结合时形成无活性的 GDP 型, 此序列则转换为 β 折叠结构. 从上述例子可以看出, 这种 Loop/ α 、Loop/ β 或 α / β 间的二级结构转换构成蛋白质活性调节的开关.

3 前体肽辅助蛋白质折叠

一些蛋白酶, 如 subtilisin, α -lytic protease 和 papain 等, 新合成的蛋白质产物含有一段前体肽. 前体蛋白能够自发地折叠成正确的三维空间结构. 然后通过蛋白酶的自身酶解切除前体肽, 得到有蛋白酶水解活性的成熟蛋白酶. 虽然成熟蛋白是相当稳定的, 但若通过体外变性, 却不能重新折叠成有生物活性的功能蛋白. 可是, 如果在复性过程中加入前体肽, 则又能再折叠成有活性的蛋白酶分

子^[14]. 显然, 前体肽对于成熟蛋白的再折叠和复性是至关重要的. 一个有趣的问题是生物为什么选择蛋白酶前体, 仅仅是为了保证成熟蛋白的正确折叠? 一种解释是生物体存在着自身调节的因素. 为了协调蛋白质合成和蛋白质降解的矛盾, 选择失去再折叠能力的成熟蛋白酶, 以保证生物体对于蛋白酶活力的控制. 前面提到的 Serpin 抑制剂的 A 型和 L 型或 C 型的相互转化可能也是这种适应活性调节的类型.

4 萤光素酶的亚基转换

大肠杆菌萤光素酶 (luciferase) 是由 α 和 β 两亚基组成的异二聚体蛋白 ($\alpha\beta$). 当 β 亚基单独存在时能形成非常稳定的同二聚体 (β_2). 如果在 β_2 二聚体和 α 亚基同时存在时, 它们不能重组成为有活性的 $\alpha\beta$ 异二聚体. 可是, 在 β 亚基的再折叠过程中加入 α 亚基, 则能形成有活性的 $\alpha\beta$ 异二聚体^[15]. 此实验说明, 在热力学能量上 β_2 比 $\alpha\beta$ 稳定, 而形成 $\alpha\beta$ 的速率大于 β_2 , 有活性的 $\alpha\beta$ 异二聚体的形成是由动力学因素控制的. 究竟这种四级结构的相互转变的生物学意义还不清楚.

5 蛋白质淀粉样化

已有很多事实证明, 基因工程产物包涵体的形成和蛋白质淀粉样化 (amyloidosis) 所引起的疾病都与蛋白质积聚有关^[16]. 蛋白质积聚往往由蛋白质的错误折叠所引起的, 而蛋白质构象元件的结构转换是导致蛋白质错误折叠的主要原因. 典型的例子是与疯牛症病因直接相关的 prion 蛋白的积聚. 正常细胞中 PrP^c 的一段序列是 α 螺旋结构^[17], 若此 α 螺旋发生结构转换成 β 折叠, 则变成为积聚型的 PrP^{sc}, PrP^{sc} 蛋白引起病状并有传染性^[18]. 如果在 PrP^{sc} 蛋白中加入六氟异丙醇, 则 β 折叠重新转化为 α 螺旋, 同时积聚溶解并丧失传染性^[19]. 溶菌酶的氨基酸残基突变与人类某些淀粉样化疾病有关. Asp67His 突变体的热稳定性下降且易形成纤维状积聚体, 其中 α 螺旋结构明显减少, 整个积聚体主要由 β 折叠结构所构成^[20]. 另外, β APP 蛋白 (β amyloid precursor protein) 的剪切和结构转换为 β 淀粉样肽 (β amyloid), 并以多肽链间的 β 折叠形成纤维状沉积物^[21]. 这种由于结构转换引起的淀粉样蛋白沉积与老年痴呆症的发生有关. 其他容易形成淀粉样化并引起疾病的蛋白质还有 transthyretin, crystallin 等^[16, 22, 23]. 很显然, 蛋白

质的淀粉样化是许多“构象病”的直接原因。

6 问题和展望

一般来说,蛋白质的一级结构决定高级结构,给定的一级序列就能自发地折叠成特定空间结构和生物功能的蛋白质分子。这已有大量实验事实证明。然而,上述几个例子表明并不是所有蛋白质的天然活性状态一定是热力学上的最稳定态;动力学因素对折叠途径和亚稳态的形成有一定程度的影响^[24]。在某些特别蛋白质(如上所述)的折叠和功能过程中,动力学因素的作用相当重要。假如某个蛋白质折叠成天然态的活化能较大,折叠反应受动力学因素控制,先达到结构亚稳态;接着才受热力学因素的影响,蛋白质慢慢转化为能量最低状态。

从上述例子中看,具有 β 折叠结构的蛋白质容易形成积聚,而纤维状的蛋白质积聚体中往往含有大量的 β 结构存在。蛋白质由于突变或其他因素引起 α 螺旋向 β 折叠的转换或许是比较普遍的结构转换模式,具有较广泛的生物学意义。这方面还有许多例子有待进一步发现。考察 α 螺旋和 β 折叠的结构特征,发现 β 折叠往往含较多的非极性残基,并埋在蛋白质内部形成疏水核心;而 α 螺旋通常是两性的,亲水面位于表面,疏水一侧朝向蛋白质内部。 α/β 的结构转换导致疏水核的暴露和亲水面的减少,容易引起蛋白质分子间形成交叉 β 折叠结构(cross- β -sheet)这可能是引起 prion 等蛋白质分子间积聚的主要原因。那么,从热力学或动力学观点看,究竟是什么内在因素引起这种 α 螺旋向 β 折叠的转换。这或许是今后认识蛋白质结构转换和分子积聚本质的基础。

总之,蛋白质的结构转换与蛋白质功能和蛋白质积聚问题已开始受到人们的关注。对下列几个疑难问题的认识,将会对生命科学的发展产生重大影响。a. 蛋白质折叠是受热力学还是动力学控制; b. 结构转换的生物学意义; c. α/β 转换有多大的普遍性,其诱发因素是什么; d. 蛋白质在什么条件下会形成积聚(淀粉样化),它与人类疾病的关系; e. 为什么 prion 蛋白有传染性,它跟 DNA 遗传和传染有无关系。f. 基因变异所产生的疾病有多少是与蛋白质折叠有关。

参考文献

1 Anfinsen C B. Principles that govern the folding of the protein

- chains. *Science*, 1973, **181** (4096): 223~ 227
- 2 胡红雨, 鲁子贤 (Hu H Y, Lu Z X). 二级结构形成: 蛋白质折叠起始的框架模型. *生物化学与生物物理进展 (Prog Biochem Biophys)*, 1994, **21** (6): 508~ 512
- 3 Searle M S, Williams D H, Packman L C. A short linear peptide derived from the N-terminal sequence of ubiquitin folds into a water stable non-native β -hairpin. *Nat Struct Biol*, 1995, **2** (11): 999~ 1006
- 4 Wilson I A, Haft D H, Getzoff E D, *et al.* Identical short peptide sequence in unrelated protein can have different conformations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82** (16): 5255~ 5259
- 5 Hu H Y, Lu Z X, Du Y C. Solution conformation of T18 peptide derived from Trichosanthin by NMR studies and comparison of T14, TDK and T18 peptides. *Chin J Biochem Biophys*, 1996, **28** (4): 231~ 239
- 6 Hu H Y, Lu Z X, Du Y C. Solution conformation of N-terminal fragments of Trichosanthin small domain (TCS182-200): circular dichroic studies. *J Pept Res*, 1997, **49** (2): 113~ 119
- 7 Minor D L, Kim P S. Context-dependent secondary structure formation of a designed protein sequence. *Nature*, 1996, **380** (6576): 730~ 734
- 8 Gasset M, Baldwin M A, Prusiner S B, *et al.* Predicted α -helical regions of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (22): 10940~ 10944
- 9 Dalal S, Balasubramanian S, Regan L. Protein alchemy: changing β -sheet into α -helix. *Nat Struct Biol*, 1997, **4** (7): 548~ 552
- 10 Wang Z L, Mottonen J, Goldsmith E J. Kinetically controlled folding of the serpin plasminogen activator inhibitor 1. *Biochemistry*, 1996, **35** (51): 16443~ 16448
- 11 Lee K N, Park S D, Yu M H. Probing the native strain in α_1 -antitrypsin. *Nat Struct Biol*, 1996, **3** (6): 497~ 500
- 12 Carr C M, Kims P S. A spring-loaded mechanism for the conformational change of influenza hemagglutinin. *Cell*, 1993, **73** (4): 823~ 832
- 13 Abel K, Yoder M D, Hilgenfeld R, *et al.* An α to β conformational switch in EF-Tu. *Structure*, 1996, **4** (10): 1153~ 1159
- 14 Gallagher T, Gilliland G, Wang L, *et al.* The prosegment-subtilisin BPN' complex: crystal structure of a specific 'Foldase'. *Structure*, 1995, **3** (9): 907~ 914
- 15 Baldwin T O, Christopher J A, Raushel F M, *et al.* Structure of bacterial luciferase. *Curr Opin Struct Biol*, 1995, **5** (6): 798~ 809
- 16 Kelly J W. Alternative conformations of amyloidogenic proteins govern their behavior. *Curr Opin Struct Biol*, 1996, **6** (1): 11~ 17
- 17 Riek R, Hornemann S, Wuthrich K, *et al.* NMR structure of the mouse prion protein domain PrP (121~ 231). *Nature*, 1996, **382** (6587): 180~ 182
- 18 Harrison P M, Bamborough P, Daggett V D, *et al.* The prion folding problem. *Curr Opin Struct Biol*, 1997, **7** (1): 53~ 59
- 19 Safar J, Roller P P, Gajdusek D C, *et al.* Thermal stability and conformational transitions of scrapie amyloid (prion) protein correlate with infectivity. *Protein Sci*, 1993, **2** (12): 2206~ 2216
- 20 Brooth D R, Sunde M, Bellotti V, *et al.* Instability, unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis. *Nature*, 1997, **385** (6619): 787~ 793
- 21 Lansbury P T, Costa P R, Griffiths J M, *et al.* Structural model for the β -amyloid fibril based on interstrand alignment of an antiparallel-sheet comprising a C-terminal peptide. *Nat Struct Biol*, 1995, **2** (11): 990~ 998

- 22 Thomas P J, Qu B H, Pedersen P L. Defective protein folding as a basis of human disease. Trends in Biochem Sci, 1995, **20** (11): 457~ 459
- 23 Taubes G. Misfolding the way to disease. Science, 1996, **271** (5255): 1493~ 1495
- 24 Baker D, Agard D. Kinetics versus thermodynamics in protein folding. Biochemistry, 1994, **33** (24): 7505~ 7509

Structural Transformation of Proteins. HU Hong-Yu, XU Gen-Jun (Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract Many unrelated proteins share identical short peptide sequence but adopt different

conformations. Structural transformation that occurs in the process of protein folding and functioning is of great significance in biological organisms. The structural transformation of peptide segment in the process of serpin and EF-Tu inactivation, hemagglutinin activation, protease maturation, subunit assembly and protein amyloidosis is reviewed and its implication for the understanding of protein folding and “ conformational diseases ” is also discussed.

Key words protein folding, structural transformation, α/β transition, amyloidosis

胰岛素受体介导的信号传递

杜 欣 唐建国¹⁾

(北京大学生命科学院, 蛋白质工程国家重点实验室, 北京 100871)

摘要 就胰岛素与其受体结合后, 信号传递的过程及参与信号传递的细胞内信号分子进行了综述. 胰岛素作为一种重要激素, 参与机体的新陈代谢, 调节细胞的生长分化. 其发挥生理功能的第一步是与靶细胞膜上的受体相结合, 激活胰岛素受体的酪氨酸激酶活性, 随之磷酸化细胞内的信号分子, 从而使胰岛素的刺激信号转化为细胞反应.

关键词 胰岛素, 胰岛素受体, 酪氨酸激酶, 信号传递, 信号分子

学科分类号 Q73

胰岛素是胰岛 β 细胞分泌的一种重要激素, 具有复杂而多样的生物功能, 多年来一直是蛋白质结构与功能研究的活跃领域. 众所周知, 胰岛素发挥生理功能是通过它与细胞膜上的胰岛素受体 (简称IR) 相结合而实现的, 通过结合后的一系列后续过程激发细胞内特定的生理生化反应^[1~3]. 而受体结合后过程是人们一直关注并试图搞清楚的核心问题, 也是近10年来胰岛素研究的热点问题.

1 IR参与信号传递的结构基础

IR是一个跨膜糖蛋白, 由两个 α 亚基 (分子质量为135 ku) 和两个 β 亚基 (分子质量为95 ku) 以二硫键连接而成. α 亚基由719个氨基酸残基组成, 位于细胞外表面; β 亚基由620个氨基酸残基组成, 分为三个结构区域: 194个氨基酸残基组成的N端区域暴露在细胞表面, 通过二硫键与 α 亚基相连; 由23~26个疏水性很强的氨基酸残基组成的跨膜区域以及由403个氨基酸残基组成的C

端区域^[2] (图1).

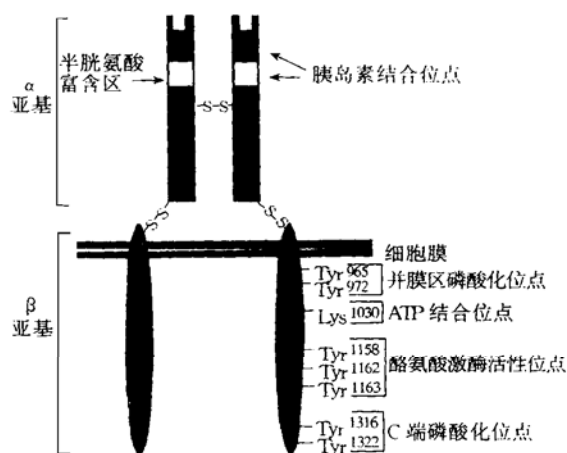


图1 胰岛素受体结构示意图

¹⁾ 通讯联系人: 北京大学生命科学院, 北京 100871.

收稿日期: 1997-09-15, 修回日期: 1998-02-28