

ras P²¹ 蛋白与细胞增殖

陈 禹 保

(北京师范大学生物系, 北京)

提 要

本文论述了 ras P²¹ 蛋白的性质及 ras P²¹ 与细胞增殖调控的关系。ras P²¹ 蛋白可能通过调节细胞增殖信号的传递、周期运行等一系列生化事件来实现其功能。

许多研究表明: 细胞内存在的病毒同源性 DNA 序列对细胞的增殖和分化有调控作用^[1]。其中 ras 基因族是这类基因中引人注目之一, 据不完全统计, 在 42 种肿瘤病变中都发现有 ras 基因族的突变。近年来的研究发现 ras 基因的表达式有细胞周期依赖性, 与细胞增殖调控密切相关^[2,3]。ras 基因及其产物是怎样调控细胞生长、增殖、分化的? 以什么方式发挥作用呢? 这已成为细胞增殖调控和肿瘤发生学的中心问题之一。

ras P²¹ 的性质

哺乳类 ras 基因族至少可分为三类^[4]: Harvey、Kirsten 和 N-ras 基因。Harvey (Ha)、kirsten (ki)-ras 最初从它们相应的小鼠肉瘤病毒中分离出来, N-ras 基因从人的

神经胚胎瘤细胞中分离。由于这三种基因的产物都是 21,000 道尔顿的多肽分子, 故称为 rasP²¹; rasP²¹ 具有许多共同的特点^[5]:

具有与 GTP、GDP 结合的特性。ras P²¹ 象 G 蛋白一样, 能结合 GTP、GDP, 以 1:1 的比例结合成为一个 ras P²¹。GTP 或 ras P²¹。GDP 复合物, 且 ras P²¹ 对 GTP 的亲合力大于对 GDP 的亲合力, 因此 GTP 能把 ras P²¹ · GDP 复合物中的 GDP 置换出来, 以 ras P²¹ · GTP 的形式行使生物学功能。

具有弱 GTP 酶活性。象 G 蛋白一样, 能将结合的 GTP 水解, 由原来的 ras P²¹ · GTP 转变为 rasP²¹ · GDP, 并释放出无机磷 (Pi), 一旦发生水解, 其生物学功能随之消失; 若 ras 基因突变, 则 rasP²¹ · GTP 酶活性下降甚至消失, 但不降低对 GTP 的亲合力。

- 263(7), 3208.
- [8] Sancar, A. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 4274.
- [9] Kornberg, A.: *DNA Replication*, Freeman and Co., San Francisco, 1980.
- [10] Burgers, P. M. J. and Kornberg, A.: *J. Biol. Chem.*, 1982, 257(19), 11474.
- [11] Wu, Y. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1984, 259(25), 12117.
- [12] Hawker, J. R. & McHenry, C. S.: *J. Biol. Chem.*, 1987, 262(26), 12722.
- [13] Mok, M. & Marian, K. J.: *J. Biol. Chem.*, 1987, 262(34), 16644.
- [14] LaDuca, R. J. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1986, 261(16), 7550.
- [15] Johnson, K. & McHenry, Y. C.: *J. Biol. Chem.*, 1984, 259(11), 14589.
- [16] O'Donnell, M. E.: *J. Biol. Chem.*, 1987, 262(34), 16558.
- [17] Johnson, K. & McHenry, Y. C.: *J. Biol. Chem.*, 1982, 257(20), 12310.
- [18] Crute, J. J. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1983, 258(18), 11344.
- [19] Johnson, K. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1986, 261(25), 11460.
- [20] Lasken, R. S. et al.: *J. Biol. Chem.*, 1987, 262(4), 1720.

[本文于 1988 年 2 月 8 日收到]

具有自身磷酸化作用。自身磷酸化是 rasP^{21} 独特的性质,常发生在 rasP^{21} 分子的第 59 位丝氨酸上。由于具有与 GTP 结合的特异性活性,因此 rasP^{21} 可能具有激酶的功能,但目前没有发现对别的底物进行磷酸化。如果 59 位为丙氨酸,尽管 58 位为丝氨酸,但不发生自身磷酸化,可见自身磷酸化反应在 ras 蛋白 GTP 结合位点内,具有区域选择性的磷酸基转移。

具有高度的保守性。从酵母中发现的 ras 基因到人类的 ras 基因,其同源性可达 65% 以上,如果酵母 ras 基因致死突变,可用哺乳类的 ras 和病毒 $\text{H}_a\text{-ras}$ 来补偿其作用,由此提示 ras 在整个生命活动中起重要作用。

ras P²¹ 与细胞的信号传递

rasP^{21} 位于细胞膜的内表面,与 G 蛋白有许多相似的性质,认为 rasP^{21} 可能是类似于 G 蛋白调节的信号传导复合物组分,参予信号传递的调节。并有实验支持这种看法。

细胞内具有 GTP 结合活性的蛋白较少,其中最主要的是腺苷酸环化酶(简称 AC)复合物的 G 蛋白,通过对 G 蛋白的调节机制分析,或许能更好地理解 rasP^{21} 与细胞功能的调节关系。腺苷酸环化酶由几个亚基组成,其中 α 亚基包括接受外来刺激信号起刺激调节作用的 $G_s\alpha$ 和接受抑制信号起抑制调节作用的 $G_i\alpha$,外界信号分别通过相应受体进入刺激途径。当外界信号与受体结合时,导致 G 蛋白解离成亚单位^[6](见图 1)。腺苷酸环化酶活化是由于激动型受体启动 G_s 蛋白解离成 $G_s\alpha \cdot \text{GTP}$ 和 $\beta \cdot \gamma$, $G_s\alpha \cdot \text{GTP}$ 复合物,活化腺苷酸环化酶的催化亚基。当 $G_s\alpha \cdot \text{GTP}$ 中的 GTP 水解转变为 $G_s\alpha \cdot \text{GDP}$ 和 P_i 时,随之对腺苷酸环化酶的活化作用也就消失。 $\beta \cdot \gamma$ 亚基可与 $G_s\alpha$ 重新结合形成 $G_s\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ 复合体。抑制型受体与抑制型信号结合,启动 G_i 蛋白解离,抑制腺苷酸环化酶的活性;从 G_i 释放的 $\beta \cdot \gamma$ 亚基与 $G_s\alpha$ 亚基结合消除 $G_s\alpha$ 对腺苷酸环化酶的活化作用。这个系统象一个动态平衡体系,

通过各种激动剂和抑制剂与相应的受体结合,借助于 G 蛋白来调节细胞内第二信使的浓度,控制细胞生理功能。若 rasP^{21} 象 G 蛋白一样调节 cAMP 系统,那么当 rasP^{21} 突变后,丧失 GTP 酶活性,有一个持续的 $\text{rasP}^{21} \cdot \text{GTP}$ 活性形式,导致上述系统的调节失控。从酵母 ras 基因的研究来看: rasP^{21} 似乎是腺苷酸环化酶的调节因子^[7]。 ras 基因突变的酵母株与腺苷酸环化酶活性显著增高的 IAC 酵母株相似,细胞内 cAMP 浓度升高,细胞膜有环化酶

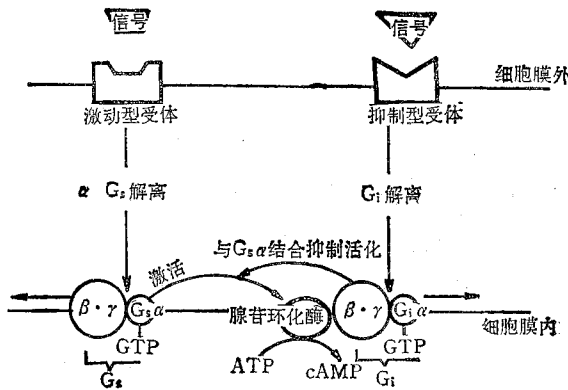


图 1 激动型和抑制型 G 蛋白对环化酶调节的一般机制
激动型信号与激动型受体结合,导致 $\beta \cdot \gamma$ 与 $G_s\alpha$ 解离,结合有 GTP 的 $G_s\alpha$ 与环化酶作用使之活化。抑制型信号与抑制型受体结合,导致 $\beta \cdot \gamma$ 与 $G_i\alpha$ 解离,游离的 $\beta \cdot \gamma$ 与 $G_s\alpha$ 结合,消除 $G_s\alpha$ 的活化作用。

活性。 ras 功能缺陷的酵母株表型与腺苷酸环化酶缺陷的酵母株相似。推测 rasP^{21} 直接或间接调节腺苷酸环化酶和 cAMP 的信号传递。最近 Tefterey Field 等^[8]在研究酵母 ras 基因功能时,进一步确认腺苷酸环化酶可由 rasP^{21} 来活化调节,在调节过程中仅以 $\text{rasP}^{21} \cdot \text{GTP}$ 的形式起作用,与 $\text{rasP}^{21} \cdot \text{GTP}/\text{rasP}^{21} \cdot \text{GDP}$ 的比值无关(见图 2)。并且认为这种作用方式可以用来说明哺乳类的 rasP^{21} 作用,但人们在不同实验中发现有矛盾的现象。在非洲爪蟾的卵成熟分裂研究中,用显微注射的方法向卵中注射 rasP^{21} 的单克隆抗体,导致雌激素诱导的卵成熟分裂加快,且与 rasP^{21} 抗体浓度成线性关系^[9]。可能由于 rasP^{21} 抗体与 G 蛋白有交叉反应,抑制腺苷酸环化酶活,促进细胞分裂;也可

能是由于 $ras P^{21}$ 抗体直接与腺苷环化酶作用,抑制其活性。可是在胰岛素诱导的卵成熟分裂时,注射 $ras P^{21}$ 抗体抑制卵的成熟分裂^[10]。这

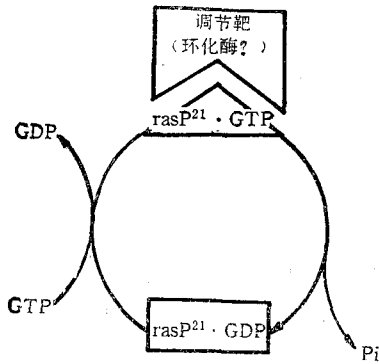


图2 腺苷环化酶可能被 $ras P^{21}$ 活化模型
 $ras P^{21}$ 以 $ras P^{21} \cdot GTP$ 形式可能活化腺苷环化酶,一旦 GTP 水解成为 $ras P^{21} \cdot GDP$, 不能活化腺苷环化酶。

矛盾的现象可能是不同的激素诱导中参予的受体不同,其激酶对 $ras P^{21}$ 修饰的位点不同,导致 $ras P^{21}$ 的作用不一样;也可能是 $ras P^{21}$ 对不同激酶的阻断作用不一样所致;甚至是由于 $ras P^{21}$ 调节膜下细胞骨架的空间组装,使膜的构象与受体的构象及受体与调节子的位置改变,从而调节信号的传导^[11]。

$ras P^{21}$ 除认为参预 cAMP 信号传递途径外,还可能在磷脂酰肌醇 (PI) 转换途径中起调节作用。当生长因子与细胞膜上受体结合时,导致 PI 转换加快,生成三磷酸肌醇 (IP_3) 和二酯酰甘油 (DG), IP_3 能动员细胞贮存 Ca^{2+} 释放, Ca^{2+} 作为第三信使起作用; DG 能活化蛋白激酶 C (简称 PKC), PKC 又使其他蛋白发挥作用,如 S_6 激酶磷酸化;通过 IP_3 和 DG 触发的一系列生理生化事件,最终使信号放大,启动细胞 DNA 合成和分裂。在正常情况下, G 蛋白调节磷脂酶 C 的活性,控制第二信使 IP_3 和 DG 浓度,保证信号有序化进行。分裂旺盛的细胞和转化细胞中, PI 转换增高, IP_3 和 DG 浓度明显高于非分裂细胞的含量;转化细胞中 PI 转换处于一个永恒的活化态,说明 PI 转换的调节失控。通过 ras 基因的转化研究发现: $ras P^{21}$ 似乎参予 PI 转换调节。正常 $3T_3$ 细胞

和 ras 转化的 $3T_3$ 细胞,在蛙皮素 (Bombesin) 刺激时, ras 转化的 $3T_3$ 细胞内 IP_3 浓度要高得多, ras 基因完全转化的 $3T_3$ 细胞内, IP_3 浓度总是处于一个高水平状态。但有些学者认为 $ras P^{21}$ 可能调节磷脂酶 A_2 ^[12,13], 通过活化磷脂酶 A_2 使磷脂分解成花生四烯酸 (arachidonic acid), 花生四烯酸激活磷脂酶 C (简称 PLC), 同时也刺激核苷酸环化酶和蛋白激酶 C, 调节磷脂酶 A_2 活性, 控制细胞内信使产生。用显微注射 H- $ras P^{21}$ 于成纤维细胞内, 没有发现 PI 代谢的变化, 但磷脂酶 A_2 明显被活化。目

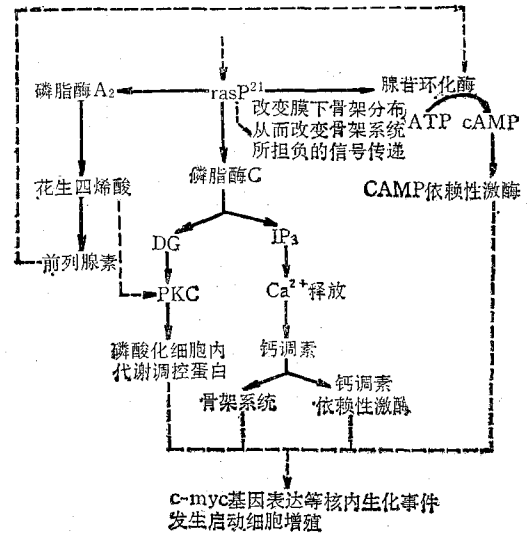


图3 $ras P^{21}$ 参预信号传递的可能作用途径

前一些学者更倾向于 $ras P^{21}$ 调节生长因子刺激的 PI 转换和 DNA 合成^[14], 但对 $ras P^{21}$ 与 PI 转换的调节机制还不太清楚。cAMP 途径和 PI 转换途径, 在功能上是相拮抗的, $ras P^{21}$ 在同一细胞内又是怎样调节这一对信号系统呢? 尽管 $ras P^{21}$ 与 G 蛋白有许多性质相似, 但在行使功能上可能是各自独立的, 能不能把 $ras P^{21}$ 与 G 蛋白等同起来有待于研究。现将 $ras P^{21}$ 可能作用于信号传递的调节途径综合于图 3。

$ras P^{21}$ 与细胞的“获能-前进”

据 Pledger 等提出的“获能-前进”模型 (Competence-progression model), 一个静止

的细胞 (G_0 Cell) 进入细胞周期运行, 必须经过两个事件即“获能”和“前进”事件, 分别受相应的获能因子和前进因子作用, 在获能因子作用下使细胞获得进 S 期的潜能, 这种细胞在前进因子的作用下, 便很快进入 S 期。获能建立 (competence-establishing) 过程, 除获能因子刺激外, 还要相应的获能基因如 C-Myc 等表达, 待获能一旦建成, 就有向“前进”过渡的趋势, 在过渡中, 需要起促进作用的因子, 其中 $rasP^{21}$ 似乎在“获能→前进”过程中发挥作用, 促进过渡。肝细胞在一般情况下处于 G_0 期, 细胞周期基因处于关闭状态。经过肝切除手术, 肝细胞由于切除刺激进入增殖态, 这个过程可分为三个阶段^[15], 即第一阶段为获能建立过程。表现为 C-Myc 基因表达, cAMP 值由上升转为下降, 在末期有 K_i -ras 基因表达, 随即进入“前进”期, 此时期分二个阶段: 一是 K_i -ras 基因继续表达, P^{53} 基因表达, cAMP, cAMP 依赖性蛋白激酶浓度升高。接着进入对 Ca^{2+} 敏感阶段即为第三阶段, 此时 H-ras 基因表达, cAMP, cAMP 依赖性蛋白激酶由峰值下降, Ca^{2+} 通道打开, 触发 DNA 合成酶, 起动 DNA 合成进入 S 期。由此可看出不同种类 ras 基因似乎充当不同事件的调节角色。 K_i -ras 似乎与腺苷环化酶活性有关, 通过触发腺苷环化酶活性调节 cAMP 浓度, 使“获能”过渡到“前进”。 Ha-ras 似乎抑制腺苷环化酶活性, 与 Ca^{2+} 功能有关, 至于是直接触发 Ca^{2+} 通道, 还是参予 PI 转换间接地调节 Ca^{2+} 通道, 有待探讨研究。

rasP²¹ 与细胞周期运行

细胞周期有序运行是一系列细胞分裂周期基因 (cell division cycle genes 简称 CDC 基因) 顺序表达调控的。现在已发现的癌基因大多是 CDC 基因, 研究表明 $ras P^{21}$ 亦能调控细胞周期运行^[4,16,21]。用温度敏感突变株的 kirsten 肉瘤病毒转化正常兔肾 (NRK) 细胞, 在 41℃ 时, $ras P^{21}$ 处于非活化状态, 在 36℃ 时, $ras P^{21}$ 处于活化状态。当 $ras P^{21}$ 处于非

活化状态, 没有血清情况下, 细胞阻断在 G_0/G_1 处, 把此时的细胞转入 36℃ 进行无血清培养, 细胞可进入 S 期、 G_2 期, 最终分裂; 在 41℃ 无血清条件下的细胞, 如果向其中加入血清同样使细胞分裂; 说明 $ras P^{21}$ 活化具有与血清刺激相同的效果, 可能活化的 $ras P^{21}$ 在信号传递中起作用。但 $ras P^{21}$ 活化后, 再使 $ras P^{21}$ 失活, 让细胞阻断在 G_2 期, 血清则再不能诱导此时期的细胞进入 M 期; 通过活化 $ras P^{21}$ 仍能使细胞进入 M 期。看来血清刺激细胞进入细胞周期运行的机制与 $ras P^{21}$ 促使细胞进入细胞周期运行的机制在一定程度上具有独立性, 血清生长因子触发了决定 G_2 期运行的 G_1 期事件; $ras P^{21}$ 除接受外来刺激信号起始细胞增殖活动外, 在正常细胞的 G_2 期运行中还起重要作用, 并且独立于其他因子的作用。有实验表明^[2]一旦 G_2 期的 $ras P^{21}$ 表达后, 其他因子对细胞进入 M 期没有影响。这样就可推论: $ras P^{21}$ 通过影响细胞内的调节机制, 可能直接地刺激 G_2 期细胞转运, 不是间接地以自体分泌的方式来调节细胞 G_2 期转运, $ras P^{21}$ 在调节细胞周期运行时似乎即有把外界信号传入细胞内, 起动细胞进入细胞周期的作用, 又有受细胞内信号的反馈调节来影响细胞内调节机制的作

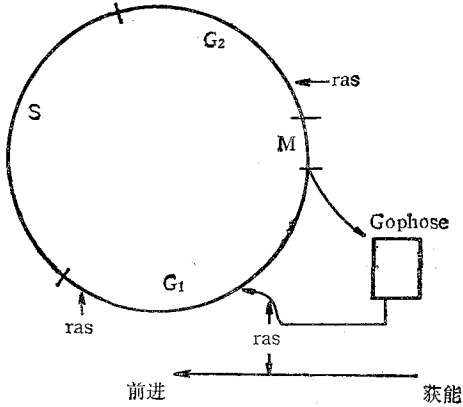


图 4 细胞周期内 ras 基因表达时相及在“获能—前进”模型中表达时间

用, 进一步调控细胞周期运行的独立性和协调性; 当然细胞内的调节机制是一个相当复杂的问题。 $ras P^{21}$ 在细胞周期时相表达见图 4。但

Hirschhorn 等点印迹杂交法分析细胞周期依赖性基因表达时,发现在静止和增殖的细胞中,相应于 $c-k_i$ -ras 癌基因序列的 mRNA 水平相等^[17]。这种矛盾现象说明在不同细胞中是以不同的方式调节基因表达的。

结 束 语

细胞增殖通过细胞周期来完成。肿瘤、癌是由于细胞增殖的失控,使细胞处于“永恒的细胞周期”(immortal cell cycle)内。在许多因 ras P²¹ 点突变引起的肿瘤或癌如膀胱癌,可能由 ras P²¹ 突变,改变了原有的细胞增殖调控顺序,使细胞对控制增殖的信号应答失灵,维持细胞周期的独立性,失去协调性,导致细胞无限增殖,其具体机制目前尚不清楚,也有人认为 ras P²¹ 与肿瘤无关^[18]。ras P²¹ 能抑制正常细胞的分化^[19]。ras P²¹ 对正常细胞分化的抑制作用在机理上可能与刺激分裂的因子作用机制相似,可能发生在信号传递途径。ras P²¹ 在细胞生长、增殖、发育分化过程中起重要作用,但具体的生化、分子机理有待于分子生物学从系统和综合

的角度去阐述。

参 考 文 献

- [1] Feramisco, J. R. et al.: *Cell*, 1984, 38, 109.
- [2] Jon, P. Durkin et al.: *Mol. Cell Biol.*, 1987, 7(1) 4444.
- [3] Goyette, M. et al.: *Science*, 1983, 219, 510.
- [4] Cooper, G. M. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 1983, 738, 9.
- [5] Gibbs, J. B. et al.: *TIBS*, 1985, 9, 350.
- [6] Gilman, A. G.: *Cell*, 1984, 36, 577.
- [7] Takashi, Toda et al.: *Cell*, 1985, 40(1), 27.
- [8] Jefferey, Field et al.: *Mol. Cell Biol.*, 1987, 7, 2128.
- [9] Sadler, S. E. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 1986, 6, 719.
- [10] Amrute, Beshpande, et al.: *Mol. Cell Biol.*, 1987, 7, 1285.
- [11] Hanley, M. R. et al.: *Nature*, 1987, 328, 668.
- [12] Burgoyne, R. D. et al.: *TIBS*, 1987, 12, 332.
- [13] Bar-sagi D. et al.: *Science*, 1986, 233, 1061.
- [14] Gregory, Parris et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1987, 83, 2648.
- [15] Wiffield, J. F. et al.: 1987, (in press).
- [16] Campisi, et al.: *Cell*, 1984, 36, 241.
- [17] Hirschhorn, R. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1984, 81, 6004.
- [18] Chesa, P. G. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1987, 84, 3234.
- [19] Olson, E. N. et al.: *Mol. Cell Biol.*, 1987, 7, 2104.

[本文于1988年2月8日收到]

中国科学院生物物理研究所视觉信息加工开放 研究实验室欢迎国内外科学家来室工作

中国科学院生物物理研究所视觉信息加工开放研究实验室,研究视觉信息的加工机制,并以此为基础探索脑的工作原理,和为神经计算机设计提供原理。开放研究实验室在王书荣、郭爱克、汪云九、刁云程和李朝义等几位研究员领导下,有一支以中年科学家为主力的多学科的研究队伍;开放实验室已从多种渠道获得经费支持,并具备良好的实验工作条件。它在视觉神经回路、图象特征抽提、心理物理和行为研究以及视觉计算理论和数学模型研究中已取得一系列先进成果。

实验室主要研究方向和内容

一、视觉信息加工的神经回路和网络,以及神经递质和调质在视觉信息加工中的作用;

二、各级视觉神经元感受野的时空特性,和图象特征的综合;

三、视觉计算理论,初级视功能计算网络的算法及计算机模拟;

四、视觉图象学习,记忆和理解的神经机制和认知模型;

五、视觉行为的运动控制。

视觉信息加工开放研究实验室实行向国内外开放的原则,鼓励竞争,促进流动,择优资助上述领域内的研究。本室资助课题实行基金制,国内外视觉神经科学家均可在《研究课题指南》范围内申请课题,经同行评审和批准后便可来室进行科学研究。

《研究课题指南》函索即寄

[中国北京——100080 海淀区中关村]

中国科学院生物物理研究所视觉信息加工开放研究实验室 汪云九、吴奇久]