

专论与综述

硒代半胱氨酸 (selenocysteine): 密码表中第二十个氨基酸?

孔 原 冷 麟

徐 万 祥

(复旦大学生物化学系, 上海)

(上海市计划生育科学研究所)

提 要

已知所有的氨基酸中, 只有遗传密码表内的 20 种基本氨基酸才能在核糖体中直接掺入肽链; 但最近发现于原核、真核生物中的含硒酶里的硒代半胱氨酸 (Se-Cys) 似亦有此特点。生化、遗传实验均表明 Se-Cys 对应于终止密码子 UGA; 相应的 tRNA (95 bp) 基因已经找到。但其转录产物上所携的 Se-Cys 很可能由原先携带着的 Ser 经 O-磷酸 Ser 而来。上述发现显示了 UGA 作为有义密码子的保守性; 也许它正处于从有义密码子变为无义密码子的进化过程中。

分子生物学的发展揭示, 生物界五光十色的外表下隐藏着深刻的统一性。所有已考察的生命形式所使用的遗传密码, 都对同样二十种简单的氨基酸。因为这 20 种氨基酸都能在核糖体上直接掺入肽链, 所以它们被称为“普遍 (common, 一译“基本”) 氨基酸”或“标准氨基酸”; 其余众多的非标准氨基酸 (也称“附加 (additional) 氨基酸”) 则都是通过蛋白质转译后修饰已合成肽链中的“普遍氨基酸”而来的^[1]。但最近生化工作者的研究显示, 普遍氨基酸的行列中又出现了第 21 个成员——硒代半胱氨酸 (selenocysteine)。

硒 (Se), 是哺乳动物必需的微量元素^[2]。如果摄入量过少, 会产生肝坏死或白肌病; 摄入量过多也不好, 如牛会得晕倒病; 对人来说, 0.1 ppm 的硒是有益的, 而大于 10 ppm 就会致癌^[3]。硒与氧、硫同属氧族元素。硒代半胱氨酸相当于 Cys 的巯基 S 或 Ser 的羟基 O 为 Se 替代。它在原核、真核生物中均有发现, 主要存在于一些含硒酶如甲酸脱氢酶 (以下简称 FDH)、谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心。体内这些酶都处于中性、厌氧的环境里。Se 基团比巯基的氧化

还原电位还低 100—150 mV, 正是由于这个原因, Se 对维持这些酶的正常功能起着重要的作用^[2,4]。直到不久前, 人们还认为硒代半胱氨酸是 Cys 转译后修饰的产物。那么有什么事实证明硒代半胱氨酸是由 tRNA 携带并直接在核糖体上掺进肽链的呢?

A. Böck 发现, 如果只供给 *E. coli* 半胱氨酸, 其 FDH 活力下降 75%; 如果只给 Ser, 则该酶活力全部消失^[4]。这显示, *E. coli* 甲酸脱氢酶中的硒代半胱氨酸从 Cys 或者 Ser 经转译后修饰产生的可能性不大。

进一步实验发现, 硒代半胱氨酸掺入肽链是与转译同时进行的, 由 mRNA 中的 UGA (遗传密码中 3 个终止密码子之一) 指导。F. Zinoni 等将 *E. coli* 甲酸脱氢酶 FDH_H 的基因 *fdh F* 与 *lac Z* 基因重组在质粒 pFM 54 中后发现, 在培养基中 Se 减少时, *fdh F-lac Z* mRNA 的产物也减少; 一旦培养基中不含 Se, 转译就终止在肽链第 140 个三联体密码子——UGA 处。而在 *E. coli* 和 *S. typhimurium* 的无 FDH_H 和 FDH_N 活力突变株中, 他们也测不到相当于仅仅不含 Se 的 FDH 交叉反应物质。他们还

发现,第 140 位 UGA 突变为 UCA(编码 Ser)的突变株中无 FDH_H 活力,若突变为 UGC 或 UGU(均编码 Cys)则 FDH_H 活力降低;而且减少 Se 供给不会在这些突变株中终止转译^[6]。F. Zinoni 等以及 Y. Sukenaga 等的基因顺序分析结果表明,哺乳动物(人、鼠)的谷胱甘肽过氧化物酶基因中,UGA 恰与其产物中的硒代半胱氨酸对应^[4,6]。W. Leinfelder 等在 *E. coli* 中的测定结果也是如此^[3]。

证明硒代半胱氨酸是在转译中由 UGA 指导直接掺入蛋白质的强有力证据,是发现能携带硒代半胱氨酸并识别 UGA 的 tRNA。W. Leinfelder 等的工作已逼近了这一点^[3]。他们通过对不摄入 Se 的 *E. coli* 突变株的研究发现,正常菌株摄入硒代半胱氨酸所需基因中的一个(编号为 *Sel C*),很可能就是编码这样一种 tRNA 的。该基因片段长度为 233 bp,不存在可能编码蛋白的“开读框(open reading frame)”结构,而其中 95 个 bp 的转录产物则可以组成一个典型的三叶草型 tRNA 分子。在 DNA 一级结构上,这段 95bp 的顺序之前具备了为 *E. coli* 中众多基因所共有的启动子顺序(-10 区、-35 区)和初级结构。显然,该基因是可以表达的,实验也确实显示带有这一基因片段(在质粒 pMN 73 内)的 *E. coli* FDH 突变细胞,恢复了将硒代半胱氨酸合成掺入蛋白质的能力。这个设想中的 tRNA 是迄今知道的最大的 tRNA 分子之一,这是因为它拥有一个巨大的额外臂。其氨基酸接受臂比其他 tRNA 多 1 个碱基,并在几个所有其他 tRNA 均含有相同碱基的位置上发生变动。反密码子则为 TCA,恰与 UGA 配对。

细胞如何区别 FDH_H 基因中第 140 位的 UGA 是充当终止密码子,还是编码硒代半胱氨酸?有迹象表明, FDH_H 基因中该 UGA 的前后 DNA 片段的顺序起相当重要的作用。F. Zinoni 等指出,上述 UGA 突变为 UGC 或 UGU 的 *E. coli* 菌株仍可将一些 Se 摄入 FDH_H ^[6]。

但是,硒代半胱氨酸并不是直接酶促连接

到 tRNA 上去的,W. Leinfelder 等在其实验中发现 *sel C* 基因产物(设想中的 tRNA)不能携带培养基中直接供给的游离硒代半胱氨酸。考虑到在真核细胞中已发现硒代半胱氨酸的碳架来自 Ser,他们认为体内的硒代半胱氨酸可能是由 Ser 的羟基 O 为 Se 取代所致。新近在自然界发现一种 UGA 抑制基因 tRNA,它可在 UGA 密码子编码位置上掺入 Ser 和 O-磷酸 Ser。这一事实较有力地支持了上述推测。也许 O-磷酸 Ser 是 Ser 变成硒代半胱氨酸的中间物^[3]。至于前述一些实验中发现硒代半胱氨酸无法从 Ser 产生,则可能是由于某种因素阻断上述途径的缘故。

在 UGA 指导下硒代半胱氨酸直接从核糖体掺入蛋白质的现象,在从极低等的生物 *E. coli* 到鼠,再到最高等的生物——人类中均有发现。这说明,此种蛋白质合成机制在系统发育上是保守的^[3]。人们还发现,*M. formicicum* 中不含 Se 的 FDH 与 *E. coli* 的 *fdh F* 产物有同源顺序,后者的硒代半胱氨酸就处于同源区内^[6]。这些情况不禁使人揣测:是否 UGA 原来是一个有意义的密码子?是否只是在氧气进入生物圈后,由于硒代半胱氨酸这个可高度氧化的氨基酸只能存在于厌氧生物或者生物某些厌氧系统中,故而其密码子 UGA 才在大多数生物及其主要器官中逐渐被废弃,自然成为终止密码子的呢?如果真是这样,硒代半胱氨酸其实不是生物遗传密码表中的新客,倒是一位久被忽略的“遗老”。

参 考 文 献

- [1] Devlin, T. M.: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, 2nd ed., 1986, 29.
- [2] Lehninger, A. L.: *Principles of Biochemistry*, 1st ed., 1982, 272.
- [3] Leinfelder, W. et al.: *Nature*, 1988, 331, 723.
- [4] Söll, D.: *Nature*, 1988, 331, 662.
- [5] Williams, D. R.: 《生物无机化学原理》(中译本),冯子道译,科学出版社,1987,35,76。
- [6] Zinoni, F. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 3156.

[本文于1988年4月21日]