

综述与专论

白介素-2 的结构-功能关系

徐 菽 刘新垣

(中国科学院生物化学研究所, 上海 200031)

提 要

对白介素-2 的一级结构和空间结构与其生物活性的关系, 尤其是与白介素-2 受体中不同亚基亲和力的关系作了概述和总结, 对研制具有不同生物学活性的新型白细胞介素-2 有重要的指导意义。

关键词 白介素-2, 结构功与能关系, 基因突变

白介素-2 (IL-2) 是调节体内免疫反应的重要免疫因子, IL-2 发挥作用的第一步是结合到专一的白介素-2 受体 (IL-2 R) 上。IL-2 R 含两个亚基: 低亲和力的 α 亚基 (P 55) 和中亲和力的 β 亚基 (P75), 二者共同形成高亲和力受体, 其中 β 亚基与传导信号有关^[1]。研究 IL-2 的结构-功能关系, 尤其是与 IL-2R 中不同亚基的亲合关系, 对于研制高效、低毒的 IL-2 类似物以及 IL-2 拮抗剂具有重要的意义。

IL-2 由 133 个氨基酸组成, 其分子中有 3 个 Cys, 分别位于第 58、105 和 125 位, 第 58 与 105 位 Cys 之间形成一个二硫键^[2]。IL-2 的二级结构主要是 6 个 α 螺旋区, 分别为螺旋 A (11—19), 螺旋 B (33—56) (中间被 ⁴⁷Pro 隔断, 分为 B, B'), 螺旋 C (66—78), 螺旋 D (83—101), 螺旋 E (107—113) 和螺旋 F (117—133)。成熟的 IL-2 分子, 6 个螺旋区折叠, N 端与中区靠近, 螺旋 B, C, D, F 形成一个反向平行 α 螺旋束^[3], 见图 1^[3]。

近年来利用基因定位突变法改变 IL-2 中氨基酸的顺序, 观察突变体的活性、空间结构及与受体结合能力的变化, 获得许多 IL-2 结构-功能相关的知识。现将国际上 IL-2 结构-功

能研究的主要结果以及我们的某些结果概述如下。

就 IL-2 分子整体而言, 其天然构型的稳定性对其功能有非常重要的作用。IL-2 靠 ⁵⁸Cys 和 ¹⁰⁵Cys 间形成的二硫键维持其空间结构, 如将 ⁵⁸Cys 变成 Ser, 或将 ¹⁰⁵Cys 变成 Ser、Ala 或 Leu, 以消除这两个残基之间的二硫键, 则 IL-2 的活性几乎全部消失^[4], 说明 ⁵⁸Cys 和 ¹⁰⁵Cys 之间的二硫键对维持 IL-2 的天然构型以便发挥生物学活性是必需的。¹²⁵Cys 不参与构成活性所需的二硫键, 相反会引起分子内二硫键的错配, 或分子间二聚体的形成, 这虽然不直接影响 IL-2 与受体的结合部位, 但破坏了 IL-2 分子的自然构型, 因此对基因工程 IL-2 的活性有一定影响, 若将之改为 Ser 或 Ala, 活性有所升高^[4]。

下面就 IL-2 中不同 α 螺旋区结构变化对其功能的影响分别加以概述。

1 α 螺旋 A 区 将 1—10 位氨基酸 (非螺旋区) 缺失, 活性无显著降低, 而 1—20 位氨基酸缺失 (包括螺旋 A), 则活性基本消失, 因此说明 α 螺旋 A 的存在是 IL-2 活性所必需

的^[5]。螺旋 A 内 ¹⁷Leu 及邻近部位 ²⁰Asp 的突变都使活性显著下降,极为重要的是 ²⁰Asp 变为 Lys 后,IL-2 的活性及与 β 亚基的结合能力均基本消失,但与 α 亚基的结合却不受影响^[6],这说明 ²⁰Asp 的侧链可能直接参与 IL-2 与 β 亚基的结合。对鼠 IL-2 的研究也发现,螺旋 A 附近 ³⁴Asp (相当于人 IL-2 中的 ²⁰Asp) 及其附近的 Leu (均处于 α 螺旋的同一侧面) 对维持 IL-2 活性十分重要^[7,8]。

2 α 螺旋 B 区 当第 30—49 位氨基酸缺失时,IL-2 活性急剧下降^[6]。在 α 螺旋 B, B' 中, ⁴²Phe、⁴⁴Phe、⁴⁵Tyr、⁵⁶Leu 对 IL-2 的活性很重要。当 ⁴²Phe、⁴⁴Phe 突变为 Tyr、⁴⁵Tyr 突变为 Phe 时,因侧链基团没有什么大的变化,对活性影响不大。但当 ⁴²Phe、⁴⁴Phe 突变为 Ala 或 Trp、⁴⁵Tyr 突变为 Arg,活性均急剧下降。⁵⁶Leu 突变为 Asn 时活性的下降也较突变为 Gly 显著^[6]。由此可见,这些氨基酸的侧链的极性和空间位置对 IL-2 的活性有重要影响。

3 α 螺旋 C, D, E 区 螺旋 D, E 之间 100—104 位氨基酸的缺失也造成活性的急剧下降^[4],可能因为 IL-2 从中间断开,影响了分子的整体结构。对鼠 IL-2 的研究发现, α 螺旋 E 内氨基酸的任意突变,包括 α 螺旋的破坏,均不影响 IL-2 的活性,但却破坏了与 α 亚基的结合^[7]。因此认为, α 螺旋 E 是 IL-2 与 α 亚基的结合部位,与 β 亚基的结合无关。对人 IL-2 情况如何,将待以后确定。

4 α 螺旋 F 区 螺旋 F 内缺失 114—133、124—133 或 124—126 位氨基酸都引起活性的严重下降,分别缺失 ¹²⁴Phe、¹²⁵Cys、¹²⁶Gln,活性也急剧下降^[4,6],这些氨基酸的缺失将破坏 α 螺旋的正常构象,说明这个 α 螺旋为活性所必需。但若分别取代 ¹²⁵Cys、¹²⁶Gln、¹²⁸Ile、¹³⁰Ser、¹³²Leu 为极性相反的氨基酸,活性却并不降低^[3],因此可能是 α 螺旋的整体构象稳定性对维持活性有重要作用而并非某个氨基酸的作用。由于 124—126 位氨基酸缺失, ¹²⁴Phe 缺失时对 IL-2 与 β 亚基结合力的削弱明显高

于对 α 亚基结合力的削弱,说明 α 螺旋 F 也与 β 亚基结合有关。但在此区域有一重要的氨基酸 ¹²¹Trp,将之改为 Ser,则无论活性,还是与 α 、 β 亚基的结合能力均显著降低^[6]。

用合成肽的方法改变螺旋 F 中的 119 和 117 位氨基酸为 Pro,以破坏 α 螺旋 F 的稳定性,发现 IL-2 的活性也显著降低,而且这些 IL-2 类似物对天然 IL-2 有竞争性抑制作用^[9]。我们曾用基因定位突变的方法将 ¹²⁵Cys 改为 Ser 或 Ala,由于这种改变不会破坏 α 螺旋,活性没有任何损失,相反因去除了 ¹²⁵Cys,从而消除了二硫键的错配以及分子间二聚体的形成,同时还增加了 F 螺旋的稳定性,因此活性反而增加^[10]。但将 ¹²⁵Cys 改为 Pro,破坏 α 螺旋 F 的稳定性,则活性下降 50% 以上,如将 ¹²⁷Ser 改为 Pro,活性下降 90% 以上,如将 ¹²⁵Cys、¹²⁷Ser 同时改为 Pro,更严重地破坏 α 螺旋 F 的稳定性,则活性基本消失^[12]。这些都说明了 α 螺旋 F 对 IL-2 活性的重要性。导入 Pro 的 IL-2 对天然 IL-2 均有不同程度的抑制作用^[9,12],这也说明 α 螺旋 F 的稳定性与 IL-2 和 β 亚基的结合有关。

总结以往别人的研究结果以及近来我们所作的工作,我们推测在 IL-2 结构中,与 α 、 β 亚基的结合位点是相互独立的, α 螺旋 E 可能只

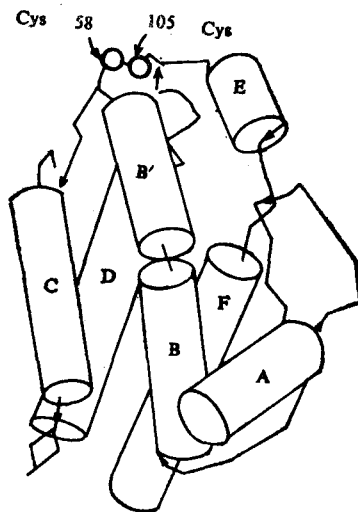


图 1 天然 IL-2 的空间结构

表 1 重组 IL-2 类似物的生物学活性和结合活性比较

部 位	突 变	活性百分比(%)	相 对 结 合 率 (%)		
			P55/P75	P55(α)	P75(β)
rIL-2 A 螺旋及 附近		100	100	100	100
	del 1—10	50—70	37		
	del 1—20	<1	<1	<10	—
	del 1—29	0			
	15Glu→Lys	100	45		
	17Leu→Asn	1.6	0.37	1	1.2
	17Leu→Val	5	2	<10	—
	20Asp→Lys	0.135	0.115	100	0.14
	20Asp→Asn	37.5	0.316	100	<0.1
B, B' 螺旋	del 30—49	0			
	30Asn→Glu	50—75			
	32Lys→Glu	50—100			
	33Asn→Asp	100			
	34Pro→Gly	19—37			
	37Thr→Ile	67			
	39Met→Gln	100			
	42,44Phe→Tyr	100			
	42,44Phe→Ala	0.4—1.2			
	42,44Phe→Trp	↓↓↓			
	45Try→Phe	66—100	60		
	45Tyr→Arg	5	1		
	47Pro→Gly	19—25			
	48Lys→Glu	100	125		
	50Ala→Trp	100	128		
	51Thr→Ile	75—100			
	52Glu→Lys	100			
	53Leu→Asn	50—100			
	54Lys→Glu	30—60	23		
	56Leu→Met	37.5	20	30—37	26.28
	56Leu→Asn	0.4—1.2			
	56Leu→Gly	1—12			
C, D, E 螺旋及其 间非螺旋 区	57Gln→Glu	33—50	38—42	12.5—16	—
	58Cys→Ser	0.135	0.1	<0.26	1.03
	del 74Gln	100	40		
	del 100—104	↓↓			
	105Cys→Ser	3—4	10		
	105Cys→Ala	0.64	7.8		
	105Cys→Leu	0.08	5.8		
	E 螺旋破坏, 任意突变 (鼠 IL-2)	10—144	0	0	100
F 螺旋	del 114—133	0			
	121Trp→Ser	0.15	0.08	<0.26	0.39
	del 124Phe	<0.13	<0.1	27	0.15
	del 125Cys	↓↓↓			
	125Cys→Ser	100	45		

续表 1

部 位	突 变	活性百分比(%)	相 对 结 合 率 (%)		
			P55/P75	P55(α)	P75(β)
F 螺旋	125Cys→Ala	↑			
	125Cys→Pro	50			
	del 124—126	<0.002	<0.001	19—34.5	<10
	125Cys, 127Ser→				
	125Pro, 127Pro	0			
	del 126Gln	↓↓↓			
	126Gln→Glu	100			
	del 127→129	19—37.5	5—24	25—50	-
	128Ile→Lys	100			
	130Ser→Asp	100			
	132Leu→Gln	100			

未注明者均为 IL-2 类似物。

与 α 亚基结合有关, 而与 IL-2 的活性毫无关系; α 螺旋 A, B, F 均为两亲性螺旋, 其疏水面相互靠近成为一疏水核, 是一重要的结构域, 可能与 IL-2 与 β 亚基的结合有关, 这三个 α 螺旋的稳定性及某些氨基酸如 ^{17}Leu , ^{20}Asp , ^{42}Phe , ^{44}Phe , ^{65}Tyr , ^{56}Leu , ^{121}Trp 的侧链基团的极性和空间位置对活性有重要影响。但关于 IL-2 的结构-功能关系, 仍有许多问题有待进一步研究。继续深入开展 IL-2 结构-功能的研究, 有可能找到分别只与受体 α 亚基或 β 亚基结合的突变体, 对研制高效、低毒的超级白介素-2 和 IL-2 拮抗剂, 开拓其临床应用作出重要贡献。

参 考 文 献

1 Smith K A. *Annu Rev Cell Biol*, 1989; 5: 397

- 2 Wang A, Lu S D, Mark D F. *Science*, 1984; 224: 1431
- 3 Brandhuber B J, Boone T, Kenney W C et al. *Science*, 1987; 238: 1707
- 4 Cohen F E, Kosen P A, Kuntz I D et al. *Science*, 1986; 234: 349
- 5 Ju G, Collins L, Kaffka K L et al. *J Biol Chem*, 1987; 262(12): 5723
- 6 Collins L, Tsien W-H, Seals C et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85: 7709
- 7 Zurawski S M, Zurawski G. *EMBO J*, 1989; 8(9): 2583
- 8 Zurawski S M, Imler J-L, Zurawski G. *EMBO J*, 1990; 9 (12): 3899
- 9 Landgraf B, Cohen F E, Smith K A et al. *J Biol Chem*, 1989; 264 (2): 816
- 10 Tang J W, Liu A P, Hou Z et al. *J Interferon Research*, 1990; 10 (Suppl. 1): S148
- 11 刘爱萍, 侯镇, 唐建伟等. 中国生物化学学会第六次全国生物化学学术会议论文摘要汇编, 南京: 1988: 138
- 12 徐获, 虞建良, 孙兰英等. 中国微生物学会第八次全国 IFN 及有关 CK 学术会议论文集, 昆明: 1991: 112

欢 迎 订 阅

《生理科学进展》

PROGRESS IN PHYSIOLOGICAL SCIENCES

邮发代号: 2-567, 季刊, 96 页, 单价: 4.00 元

本刊于 1957 年创刊, 是中国科学技术协会主管、中国生理学会主办的全国性学术期刊。

本刊主要报道有关生理学、药理学、生物化学、生物物理学、病理生理学及营养学等的新进展。设有综述、小专论、刊头专文、评述、科研思路、博士之窗、专题讲座、生理科学家、生理科学史话、教学与科研笔谈、学

术交流、学术会议、科研新闻及书刊评介等栏目。

读者对象主要为国内生理科学工作者以及有关的研究、教学、医务工作者。

本刊为国内外公开发行的正式期刊, 全国各地邮局均可订阅。

编辑部地址: 北京东四西大街 42 号, 邮政编码: 100710, 电话: 55.6970 或 513.3311-370。