

参与激素作用的蛋白质激酶

隋德新 马玉璉

(江苏农学院生化教研室,扬州)

提 要

本文概括了蛋白质激酶的种类、结构及其在复杂的代谢调节中的重要作用。

关键词 蛋白质激酶, Ser/Thr 类(蛋白质)激酶, 激素, 代谢调节

一、蛋白质激酶的种类

蛋白质激酶的分类是根据它所作用的底物蛋白质上氨基酸残基的种类进行划分的。第一类激酶是修饰丝氨酸和苏氨酸残基的(Ser/Thr), 通常, Ser 的反应性强于 Thr; 另一类激酶是修饰酪氨酸(Tyr)残基的。目前, 尚未发现对三种氨基酸残基同时修饰的激酶^[2,3]。

根据 Ser/Thr 激酶的活化分子的类型, 这类激酶可分为三个亚类。(1) 受环核苷酸活化的蛋白质激酶;(2) 以环核苷酸和钙离子为活化剂的蛋白质激酶;(3) 为所谓的独立的蛋白质激酶, 即, 不需要环核苷酸和钙离子为活化剂, 但是, 并不说明这类激酶不受激素调节。可能是尚未识别出第二信使对这些激酶的作用, 这也是蛋白质激酶研究领域需要解决的问题^[2,4]。

酪氨酸激酶是近来才发现的, 是一个激动人心的研究领域。目前, 该类激酶分成两组: 其一是激素的受体位于细胞膜上, 典型的例子是胰岛素受体; 其二是与细胞转变和恶变相关的癌基因产物。这两组激酶具有一些类似的性质, 如具有酪氨酸激酶活性的大部分激素受体参予细胞生长的调节, 而癌基因蛋白质导致失控细胞增殖。目前, 有关酪氨酸磷酸化的真正作用了解的不多。本文主要讨论 Ser/Thr 类激酶的性质和作用。使用的术语有: 多底物激酶, 用来描述具有多个蛋白质底物的蛋白质激酶; 专一性激酶指的是仅作用一种蛋白质底物的蛋

白质激酶。蛋白质激酶的种类见表 1。

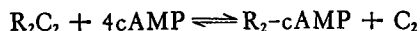
二、依赖环核苷酸的蛋白质激酶

1. 依赖 cAMP 的蛋白质激酶(cA-PrK)

1950 年, Earl Sutherland^[4] 首先发现了 cAMP, 随后, Ed Krebs 及其同事纯化了依赖 cAMP 的蛋白质激酶(cA-PrK)^[1]。现在, cA-PrK 已成为我们了解其它蛋白质激酶的基础^[4,5]。

以 cAMP 为第二信使的激素, 通过与细胞膜外表面的专一性受体结合, 激活了膜上的腺苷酸环化酶, 该酶催化 ATP 环化生成 cAMP, 然后, 胞内 cAMP 活化 cA-PrK。如图 1 所示。

cA-PrK 由四个亚基组成, 两个相同的调节亚基(R)和两个相同的催化亚基(C)。cAMP 活化蛋白质激酶的过程是:



其中, 二聚体的催化亚基(C₂)有活性, 可使它的底物磷酸化。四聚体(R₂C₂)称全酶无活性, 原因尚不清楚。推测有可能是调节亚基阻碍了底物蛋白与催化亚基的接近; 或是阻碍了催化亚基与 ATP 的有效结合。在 cAMP 浓度下降时, 催化亚基与调节亚基结合失去活性, 细胞恢复到基态(图 1)。

cA-PrK 是一种多底物激酶, 一些底物蛋白磷酸化部位附近的氨基酸顺序已经测定, 这对 cA-PrK 识别底物的过程有所帮助。在已报道的几乎所有顺序中都包括一个或多个碱性氨

表 1 参与激素作用的蛋白质激酶

激 酶	缩写	注 释
A. Ser/Thr 类蛋白质激酶 1. 依赖环核苷酸的蛋白质激酶 (1) 依赖 cAMP 的蛋白质激酶 (2) 依赖 cGMP 的蛋白质激酶 2. 依赖 Ca^{2+} 的蛋白质激酶 (1) 依赖钙调素的蛋白质激酶 (2) 肌球蛋白轻链激酶 (3) 磷酸化酶激酶 (4) 蛋白质激酶-C 3. 独立的激酶 (1) 酪蛋白激酶-I (2) 酪蛋白激酶-II (3) 糖原合成酶激酶-3 (4) 糖原合成酶激酶-4	cA-PrK cG-PrK CaM-PrK MLCK PhK PrK-C CK-I CK-II CKS-3 CKS-4	Ser/Thr 类蛋白质激酶 为蛋白质激酶研究模型 与 cA-PrK 有类似性,但胞内作用不清楚 为多功能蛋白质激酶 为 Ca^{2+} /CaM 所活化,肌球蛋白轻链是唯一底物 在细胞内,对磷酸化酶十分专一 活性取决于磷脂和 Ca^{2+} 只修饰底物上 Ser 残基 可修饰底物上 Ser 和 Thr 残基 参与蛋白质磷酸化酶活性调节 只发现糖原合成酶是其底物
B. 酪氨酸类蛋白质激酶 1. 与受体有关的蛋白质激酶 2. 致癌基因		为一些激素的受体,可自身磷酸化 具有 Tyr 蛋白质激酶活性的病毒癌基因的蛋白质产物,不受激素调节。

氨酸,即,赖氨酸(Lys)或精氨酸(Arg)在磷酸化丝氨酸或苏氨酸的 N-端一侧。常见的是 -Lys-Arg-x-x-Ser/Thr 或者 -Arg-Arg-x-Ser/Thr (x: 为任意一种氨基酸)顺序。然而,就能被 cA-PrK 磷酸化的蛋白质来说,上述序列并非绝对需要。例如,心肌收缩肌钙蛋白 I 是 cA-PrK 的很好底物,测得的磷酸化附近的氨基酸顺序是 -Arg-Arg-Ser-。

cA-PrK 有两种同工酶形式,根据阴离子

交换色谱分析结果定义为: I 型和 II 型。I 型和 II 型的 C-亚基相同,而 R-亚基不同。II 型的 R-亚基比 I 型的略大 ($55000 > 50000$); 此外,II 型的 R-亚基是其 C-亚基的自身底物,这种能使激酶自身磷酸化的过程称自动磷酸化,这也是大部分激酶的共性。两种类型的同工酶比例与动物种类有关,也有组织特异性。如兔心肌 I 型占 70%,而豚鼠心肌 I 型占 80%,这种差异至今尚无满意的解释^[2,10]。

2. 依赖 cGMP 的蛋白质激酶 (cG-PrK)^[8,9]

cG-PrK 和 cA-PrK 有许多类似性,一般认为,二者具有相同的祖先基因。然而,cG-PrK 是一个二聚体,分子量为 70000,与 cGMP 结合后不解离。此外,对 cA-PrK 有抑制作用的抑制剂不抑制 cG-PrK。cG-PrK 可在同样部位使 cA-PrK 的蛋白质底物磷酸化,只是速度慢些,因此,两个激酶表现了类似的序列要求,但 cG-PrK 所作用的磷酸化部位周围碱性氨基酸比例高些。

cG-PrK 的真正作用仍是目前研究和讨论的课题。原因之一是该酶的专一性底物太少,其二是尚难肯定是否所有的 cGMP 的作用是

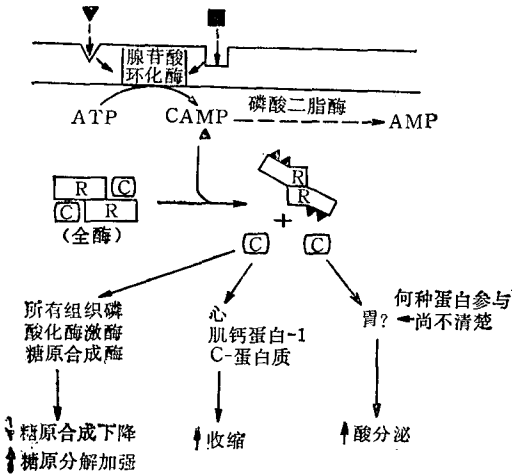


图 1 cAMP 对 cA-PrK 的活化及对细胞功能的影响

受激素介导。关于 cGMP 和 cAMP 作用相反的假说至今尚无有力的证据。但是,对肿瘤的研究结果表明:在许多肿瘤细胞中, cAMP/ cGMP 的摩尔比值是下降的^[10],并且在一些患肿瘤的动物尿液中, cGMP 的含量明显增加,其增加速度与肿瘤的大小和生长速度有关^[10]。通过对环核苷酸及其有关酶的研究有可能为肿瘤诊断和治疗提供方便手段^[10]。

三、依赖 Ca^{2+} 的蛋白质激酶^[11]

许多激素作用受 Ca^{2+} 浓度调节。与 cAMP 不同, cAMP 的生成只有一种机制,而 Ca^{2+} 则有几条途径:(1)通过活化 Ca^{2+} 通道, Ca^{2+} 可跨过质膜进入细胞质;(2)可从胞内 Ca^{2+} 库中释放出来。许多激素既要求释放胞内 Ca^{2+} ,亦要求胞外 Ca^{2+} 流向激素作用的部位。 Ca^{2+} 和 cAMP 的另一个差别是: Ca^{2+} 的作用并不都受蛋白质激酶介导。例如:条纹肌肉收缩时,受肌钙蛋白-C(Tn-C)调节。

钙调素 (CaM) 是一种结合 Ca^{2+} 的蛋白质,几乎存在于所有组织中,它负责调节胞内 Ca^{2+} 的作用^[9],如图 2 所示。

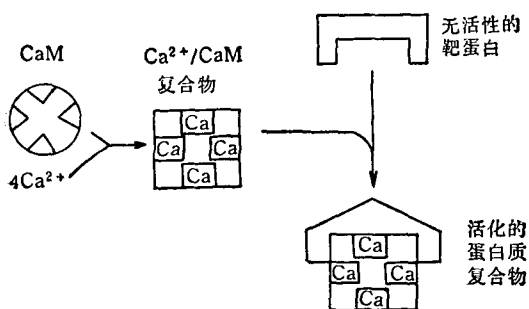


图 2 Ca^{2+} /CaM 复合物对靶蛋白的活化作用

图中每分子 CaM 能结合 4 个 Ca^{2+} ,只有 Ca^{2+} /CaM 复合物才能与靶蛋白结合,并改变靶蛋白的功能。除下面提到的蛋白质激酶外,一些其它酶与 Ca^{2+} /CaM 结合成复合物而被活化。如环核苷酸磷酸二酯酶的同工酶和磷酸化酶^[6,10,18]。

1. 依赖 CaM 的蛋白质激酶^[10-12]

近来,人们发现,在大部分组织中,有一种

普通的蛋白质激酶受 Ca^{2+} /CaM 复合物活化(图 2)。起初,人们认为,在肝和骨骼肌中作为糖原合成酶激酶和在脑组织中作为突触-I 激酶。现在,人们弄清了无论哪种激酶都能磷酸化两种底物,因而该酶被命名为依赖钙调素的多底物蛋白质激酶。这种激酶由自动磷酸化的亚基构成,所识别的磷酸化序列是 Arg-x-x-Ser/Thr。

这种激酶可能的生理作用包括:灭活肌和肝糖原的合成;活化肾上腺和脑组织中儿茶酚胺和五羟色胺的合成。因为发现在脑组织中该激酶有相当高的浓度,推测在该组织中,它的作用可能更广泛^[10,12,19]。

2. 肌球蛋白轻链激酶 (MLCK)

MLCK 受 Ca^{2+} /CaM 复合物活化,其活化方式与依赖 CaM 的多蛋白激酶完全相同(图 2),MLCK 仅由一个亚基组成,只有一个底物,即,收缩蛋白肌球蛋白的 P-轻链亚基^[13,20]。

MLCK 的生理作用是在条纹、平滑和非肌肉组织中调节肌球蛋白轻链的磷酸化作用。平滑肌的收缩伴随着 MLCK 的活化,并同时增加肌球蛋白轻链的磷酸化作用。相反,在条纹肌收缩期间肌球蛋白轻链的磷酸化作用不增加。这表明在平滑肌收缩的调节中 MLCK 起着重要的调节作用。这是一个重要的研究领域。在大部分非肌肉组织中,存在着收缩蛋白和 MLCK,但浓度很低。在此处,肌球蛋白轻链的磷酸化作用可能涉及到维持细胞形状和促进分泌^[18,13]。

3. 磷酸化酶激酶 (PhK)

磷酸化酶激酶与上述依赖 Ca^{2+} /CaM 的激酶不同,它含有一个 CaM 分子作为整合亚基。该酶由四种完全不同的亚基构成,即, $\alpha, \beta, \gamma, \delta$, δ 是 CaM,纯化的该酶无活性,但可用如下机制活化:(1)把 Ca^{2+} 直接结合到 CaM 上,可使该酶活性提高并使该酶自动磷酸化;(2)在 Ca^{2+} 存在下,添加 CaM 或 Tn-C 也可使该酶活性略增;(3)通过 cA-PrK 使 α 和 β 亚基磷酸化,从而导致该酶以(1)的方式活化。磷酸化的作用是减少活化所需的 Ca^{2+} 量和增加该酶对其底

物(磷酸化酶 b)的亲性。在肝、心和骨骼肌的糖原分解过程中,磷酸化酶激酶通过对其底物的磷酸化起着中枢的调节作用。但是,于体外,该酶专一性较差,可使一些其它蛋白质磷酸化。这些蛋白质在完整的组织内是否为该酶的底物尚不清楚^[6,10]。

4. 蛋白质激酶-C(PrK-C)^[6,14,15]

PrK-C 是依赖 Ca^{2+} 和磷脂的蛋白质激酶的缩写形式。虽然该酶分布较广并对底物专一,但直到最近才被发现。原因之一是它的活化机制太复杂;其二是同时发现了一个第二信使系统(二酰甘油和肌醇磷酸)见图 3。

图 3 是目前人们坚持的能导致胞内 Ca^{2+} 增加的激素作用模型。这种激素与它的受体结合,刺激膜磷脂和脂酰肌醇 4, 5-二磷酸(PIP_2)分解成肌醇 1, 4, 5-三磷酸(IP_3)和二酰甘油,释放的 IP_3 进入细胞质,于胞质内,它使贮存在内质网中的 Ca^{2+} 释放,而二酰甘油仍保留在质膜内。

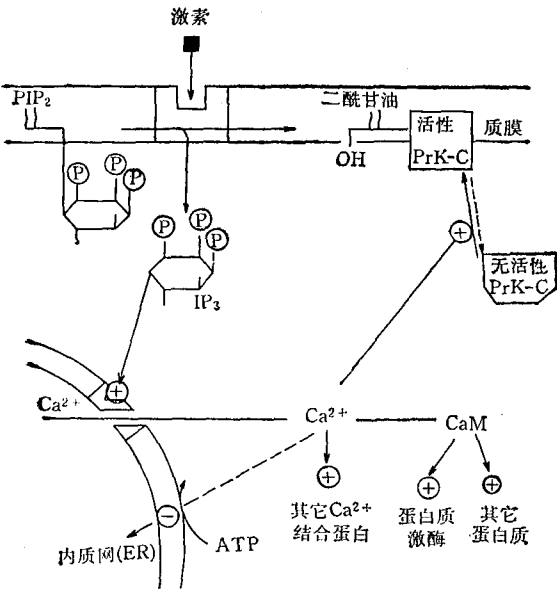


图 3 激素导致胞内 Ca^{2+} 增加的模式图

PrK-C 需要 Ca^{2+} 和磷脂来维持活性,二酰甘油对其活性提高也有促进作用。一般认为,PrK-C 的激素诱导活化作用分两步完成: 第一步是当胞内 Ca^{2+} 浓度增加时,使 PrK-C 结合到含有磷脂的质膜上;第二步是活化的二酰

甘油对激酶的直接作用。

通过代谢作用去除 IP_3 和二酰甘油时,激素的作用可逆转,随着 Ca^{2+} 通过质膜泵回到内质网和泵出细胞, Ca^{2+} 和二酰甘油的去除可使酶从膜上解离,酶活性回到基态水平。

刺激 PIP_2 分解的激素是独特的,在此过程中,产生两种第二信使 (IP_3 和二酰甘油),在这种情况下, Ca^{2+} 被看作“第三信使”。这为确定 PrK-C 在调节这些激素作用时造成了困难。胞内 Ca^{2+} 增加将活化依赖 CaM 的蛋白质激酶和 PrK-C, 因此,蛋白质磷酸化的增加不能机械地理解为只由 PrK-C 所致。但是,就 PrK-C 的生理功能而言,也有一些线索。(1) 激酶的磷脂依赖性意味着它只有与膜结合时才有活性。这表明它的底物是膜蛋白或与膜紧密结合的细胞骨架蛋白质;(2) PrK-C 能被沸波醇酯(一种促进肿瘤的试剂)活化,因此,把沸波醇酯加到细胞中可导致 PrK-C 活性增加;(3) 纯化的蛋白质可作为 PrK-C 的底物在体外验证^[16,17]。

这些结果表明: 激素受体和离子通道这两组膜蛋白是 PrK-C 的很好底物。此外,这种激酶参与细胞生长的调节和分化作用。目前的一些研究可望在不久的将来更好地了解蛋白质激酶-C 的功能^[14-17]。

四、独立的激酶^[6,10]

1. 酪蛋白激酶 I 和 II^[6,13]

酪蛋白激酶是因为它能够磷酸化酪蛋白而得名。后经一些工作证明,该酶有广泛的组织分布,在细胞内能使许多生理上有关的底物蛋白磷酸化。酪氨酸激酶分为两种类型(I型和II型),二者的结构与功能都有差别。I型是一个单体,分子量 37000,它只能利用 ATP 作为磷酸基的供体,修饰 Ser 残基;相反,II型则是一个四聚体,结构为 $\alpha_2\beta_2$,分子量 140000,它既可用 ATP 作磷酸基供体,也可利用 GTP 作磷酸基供体,底物上可修饰基团为 Ser 和 Thr 残基。

2. 糖原合成酶激酶 (GSK)^[6,10]

GSK 是一组激酶,有五种活性成分。使用

人胰岛素基因 5' 末端多变区和糖尿病

韩晓亮 池芝盛 张世荣*

(北京协和医院内分泌科)

提 要

人胰岛素基因 5' 末端多变区的基因型依碱基对的多少分为 LL、SL 和 SS 三种形式。LL 基因型和 NIDDM 的关系密切; IDDM 患者中 SS 基因型多于正常对照。LL 基因型和糖代谢异常有关, 可能是动脉粥样硬化的基因标志; SL 基因型和高脂血症有关。

关键词 人胰岛素基因, 5' 端多变区, 糖尿病

近年, 对人胰岛素基因 5' 端多变区和糖尿病的关系方面提出了一些新的观点。本文就 5' 端多变区和非胰岛素依赖型糖尿病 (NIDDM)、胰岛素依赖型糖尿病 (IDDM)、糖基化血红蛋白 (HbA_{1c})、高甘油三酯血症及动脉粥样硬化的关系做一简要的综述。

一、人胰岛素基因及其 5' 端多变区

人胰岛素基因位于第 11 对染色体的短臂上, 现已知人胰岛素基因的全部核苷酸序列和

* 中国科学院动物研究所内分泌室

糖原合成酶作底物监测蛋白质激酶分离提纯时, 发现 GSK 的三种活性成分实际上是 cA-PrK、磷酸化酶激酶和酪蛋白激酶-II。其余两种活性成分是 GSK-3 和 GSK-4, 均为单独的激酶。GSK-4 对糖原合成酶是专一的, 其活性不受激素控制; GSK-3 可使糖原合成酶和 II 型 cA-PrK 的 R-亚基磷酸化, GSK-3 也参于蛋白质激酶的活性调节, 推测它可能参于胰岛素的作用, 此外, 能被 II 型酪蛋白激酶磷酸化的蛋白质也是 GSK-3 的底物。

参 考 文 献

- 1 Krehs E B *et al.* *Pharmacological Reviews*, 1966; 18: 163
- 2 Flockhart D A *et al.* *CRC Crit Rev Biochem*, 1982; 2: 133
- 3 Chock P B *et al.* *Ann Rev Biochem*, 1980; 49: 813
- 4 Sutherland E W *et al.* *Recent Progress in Hormone Research*, 1965; 21: 623
- 5 Hardman J G. In: Dumont J eds. *Hormones and cell regulation*, Amsterdam: Elsevier/North-Holland Bioche-

- mical Press, 1980; 4: 257
- 6 Robert J R *et al.* In: Choh H L ed. *Hormonal proteins and peptides*, London & New York: Academic Press, 1983; 3: 93
- 7 Ross E M *et al.* *J Biol Chem*, 1978; 253: 6401
- 8 Iyengar R *et al.* In: Schrader W T & Malley B W eds. *Laboratory Methods Manual for hormone action and molecular endocrinology*, Academic Press: New York, 1982: 244
- 9 Murad F *et al.* *Advances in Cyclic Nucleotide Research*, 1980; 11: 175
- 10 Kenneth J M *et al.* *Sci Prog*, 1987; 71: 221
- 11 Siddle K. In: Elkeles R S & Taivill A S eds. *Biochemical aspects of human disease*, London & New York: Academic Press, 1983: 147
- 12 Klee C B *et al.* *Ann Rev Biochem*, 1980; 49: 487
- 13 Tash J S *et al.* *Cell*, 1980; 21: 57
- 14 Wise B C *et al.* *J Biol Chem*, 1982; 257: 8481
- 15 Mazzei G J *et al.* *Life Sci*, 1983; 33: 119
- 16 Parkar P J *et al.* *EMBO J*, 1984; 3: 953
- 17 Castagan M *et al.* *J Biol Chem*, 1982; 257: 7847
- 18 Vandermeers A *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1987; 84: 1076
- 19 刘富林, 生物科学动态, 1988: 2
- 20 王明运主编, 激素生物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 20--26

[本文于1989年1月7日收到]