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).

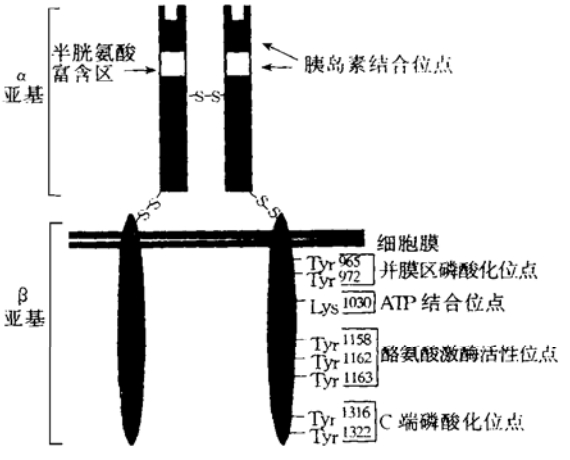

图 1 胰岛素受体结构示意图

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

1.1 胰岛素的结合位点

α 亚基肽链 N 端及富含半胱氨酸残基的结构域是胰岛素的结合位点[4]. IR 具有典型的变构酶性质, 胰岛素与之结合具有负协同性, 因此每个胰岛素受体只能以高亲和性结合一个胰岛素分子, 即使这样, 就足以充分引发相应的细胞反应[5].

1.2 β 亚基的酪氨酸激酶活性位点

酪氨酸激酶活性是胰岛素受体的重要功能[6,7], 其结构域位于 β 亚基的 996~ 1263 位氨基酸残基区域内, 这一区域的氨基酸残基序列保守性极强, 其中^{1003}GQGSFG^{1008}是 ATP 结合位点, 其后 15~ 25 个氨基酸残基处是一保守的 Lys, 参与磷酸集团的转移及随后的受体活化. 激酶的催化结构域位于 ATP 结合位点 C 端 100~ 150 个氨基酸残基处, 包含自身磷酸化的主要位点(^{1158}YET-DYY^{1163}). 位于其两侧的两段高度保守序列^{1131}RDLAARN^{1137}及^{1172}PVRWMAPE^{1179}是 IR 表现激酶活性所必需的[8]. 此外, β 亚基的 C 端尚有两个自身磷酸化位点 Y^{1316}和 Y^{1322}.

1.3 糖基化侧链

IR 是一个糖蛋白, 寡糖链共价连接到 IR 多肽骨架中天冬酰胺的氮原子上, β 亚基尚有 O 型连接的寡糖链[2,9]. IR 的糖基化是其功能表现所必需的, 若将 β 亚基的糖基化位点突变, 则胰岛素的刺激信号将不再引发糖原合成, 葡萄糖运输及 DNA 合成等细胞反应[9], 推测, 糖基化侧链在参与 β 与 α 亚基的相互作用, 传递构象变化上起着重要作用, 或者与受体的寡聚化有关.

近年来, 随着对 IR 基因定点突变的研究及 NLDDM 中突变 IR 的陆续发现, 人们对 IR 参与信号传递的结构基础有了更加深入的认识. 一些主要的突变结果归纳于表 1.

表 1 IR 主要突变位点分析

突变位点	结构区域	生物学效应
Phe^{39}→Ser[4]	α 亚基 N 端区域	对胰岛素的亲和性降低 8 倍
Leu^{233}→Pro[2]	半胱氨酸残基富含区	胰岛素抗性
Lys^{460}→Glu[10]		胰岛素抗性. 认为其影响了 IR 的再生过程
Asp^{707}→Ala[11]	α 亚基 C 端	IR 无法结合胰岛素. 认为 C 端的精确定位是胰岛素结合的必要条件
Tyr^{960}→Phe[7]	并膜区磷酸化位点	IR 介导的信号传递减弱
* Lys^{1018}→Ala[12]	ATP 结合域	IR 丧失酪氨酸激酶活性
Tyr$^{1158, 1162, 1163}$→Phe[13]	自身磷酸化位点	对胰岛素刺激信号的敏感性降低
^{1134}AAR→KPE[8]	自身磷酸化位点两侧的高度保守序列	IR 丧失酪氨酸激酶活性
Tyr$^{1316, 1322}$→Phe[14]	β 亚基 C 端	细胞分裂信号增强. 认为正常情况下, 其对 IR 介导的细胞分裂信号起抑制作用

注: * 在胰岛素受体成熟的过程中, 由于其前体剪切位点的不同, 可能形成两种亚型的成熟受体 (IR-A 及 IR-B), 两者在 α 亚基的 C 端相差 12 个氨基酸残基. 因此, 有时在受体结构中 Lys^{1018}标明为 Lys^{1030}.

2 IR 介导的信号传递途径

2.1 IR 底物分子的结构特征

胰岛素分子与 IR 结合的信息激活了 IR 的酪氨酸激酶活性, 随之自身磷酸化并产生构象变化, 与其底物-细胞内的信号蛋白发生相互作用[6,7]. 这些底物分子或直接与 IR 结合 (如 IRS-1, 2) 或与 IRS-1, Shc 等停泊蛋白结合 (如 PI3K 等), 它们共同的结构特征是含有一段 SH2 序列, 即癌蛋白 Src 同源区-2 序列, 由大约 100 个氨基酸残基组成. 底物分子通过 SH2 序列与 IR 的自身磷酸化位点或 IRS-1 的磷酸化位点结合[7,15,16].

IRS-1 是 IR 重要的底物分子, 由 IR 介导的许多信号传递途径都是以 IRS-1 为起点的. IRS-1 含有 21 个酪氨酸磷酸化位点, 分别位于 YMXM 及 YXXM motif 中, 这些 motif 周围的氨基酸序列决定了它与胞内其他下游信号分子结合的特异性[16].

1995 年, 缺失 IRS-1 基因鼠只表现出温和的胰岛素抗性的实验, 导致了 IRS-2 的发现. IRS-2 的 N 端及酪氨酸磷酸化位点同 IRS-1 的相应区段具有高度的相似性, 但 C 端只有 35% 的相似性. 在传递胰岛素对细胞分裂的刺激信号过程中,

IRS-2和 IRS-1 是可以相互替代的. IRS-2 对 IL-4 受体介导的信号传递似乎更为敏感[17].

2.2 胰岛素刺激信号的传递

胰岛素最显著的功能是提高组织摄取葡萄糖的能力，促进肝脏、肌肉和脂肪组织中的合成代谢. 另一方面，促进 RNA，DNA 合成，刺激细胞的生长分化. 这些功能通过两条主要的信号传递途径得以实现. 一条由磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）控制；另一条由 GTP 结合蛋白 Ras 控制. PI3K 首先与 IRS-1 结合，从而接近 IR 并被锚定在细胞膜上. PI3K 被 IR 磷酸化活化后，催化 PIP_2（4，5-二磷酸-磷脂酰肌醇）的形成，启动肌醇磷脂信号系统，引发细胞的 Ca^{2+} 动员及蛋白激酶 C 的持续活化，提供了细胞生长的内动力，从而促进细胞的分裂和分化. 这一效应也可以通过 IR 直接磷酸化磷脂酶 C-γ 型（PLCγ）达到. 胰岛素通过控制翻译起始及延伸因子的磷酸化程度来调节细胞内蛋白质的合成，实验报道，真核生物翻译起始因子 eIF4E 及其特异性结合蛋白 PHAS－1 的磷酸化都依赖于 PI3K 的活化[18]. 因此，PI3K 参与调节胰岛素刺激引起的蛋白质合成的过程. 此外，PI3K 亦可活化葡萄糖转运蛋白 GluT4，使之转移到细胞膜附近，负责葡萄糖的运输. PI3K 的底物分子还包括类 PKC 的一类 Ser/Thr 蛋白激酶 Akt/PKB 及近来发现的一类小分子 GTP 结合蛋白 Rac 和 cdc42（也称 p21 活化激酶，PAKs），其也通过 PI3K 为胰岛素激活，促进基因的表达，刺激细胞的生长[19]. Ras 是一族 GTP 结合蛋白，在细胞生长信号的传递中起着关键性的作用. Grb2-Sos 复合体与 IRS-1 或 Shc 的相互作用将激活的 IR 与 Ras 的活化连接起来[20,21]（Grb2 为生长因子受体结合蛋白 2；Sos 是鸟嘌呤核苷酸交换因子 Son of Sevenless）. 激活的 Ras 直接与 Raf－1 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结合，后者激活 MAPKs（mitogen - activated protein kinase）激酶，磷酸化 MAPK 相应的 Tyr 位点使之活化，取得促进细胞生长分裂的效应. 有文献报道，在 Ras 的激活过程中，Shc 途径并不是主要的，但对于 Ras 的完全活化，却是必要的[21].

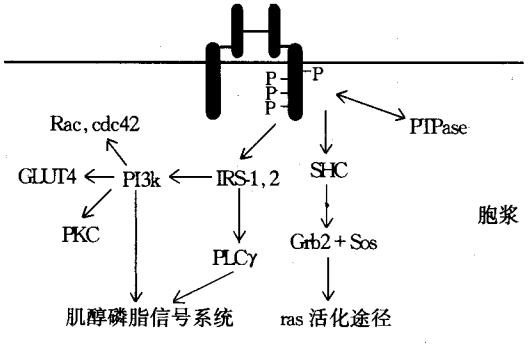

图 2 胰岛素受体介导的信号传递途径

2.3 胰岛素刺激信号的终止

一个有效的信号传递系统既要有快速而通畅的传递通路，同时在引起相应的细胞反应后亦能及时地终止信号的进一步传递. 在 IR 介导的信号传递中，酪氨酸蛋白磷酸酶（protein tyrosine phosphotase，PTPase）起着尤其重要的作用. PTPase 是 IR 的靶酶，但活化的 PTPase 却催化了 IR 的脱磷酸化，从而使 IR 转变为原本的失活状态，与此同时，IRS-1，2，Shc 等停泊蛋白的脱磷酸化，使 SH2 序列蛋白无法被 IR 激活，亦达到了抑制信号传递的作用[22]. 有研究报道，跨膜 PTPase LAR（Leukocyte antigen related）的大量表达可以有效地阻止 CHO 细胞中胰岛素刺激的受体酪氨酸激酶活性以及 DNA 的合成，IR 及 IRS-1 的 Tyr 磷酸化程度在 10 min 内可以分别降低 42% 及 56%[22].

有时，Ser 磷酸化能够降低 IR 的酪氨酸激酶活性，但是具体的位点尚不清楚，因此，PKC 所引起的 IR 磷酸化可能在信号传递的过程中起到反馈抑制的作用[6,7]. 另外，长时间的胰岛素刺激会导致 IR 本身降解，从而弱化了胰岛素刺激信号[7]. 虽然对于胰岛素信号的终止了解得还不全面，但可以肯定的是 IR 介导的信号传递途径具有一套复杂而精致的调节机制，保证了整个通路的正常启闭. 随着对 IR 及细胞内信号分子的深入研究，胰岛素信号传导的许多细节问题会逐渐被揭示清楚，对糖尿病的认识和治疗也会随之丰富起来.

参 考 文 献

1 王志珍，梁栋材（Wang Z Z, Liang D C）. 胰岛素分子结构与功能关系的复杂性. 生物化学杂志（J Biochem），1985，**1**（1）：9～21

2 岳国华，朱尚权（Yue G H, Zhu S Q）. 胰岛素受体结构与功能研究概况. 生物化学与生物物理进展（Prog Biochem Biophys），1992，**19**（1）：1～5

3 CoBB H M, Rose M O. The insulin receptor and tyrosine protein kinase activity. Biochimica et Biophysica Acta, 1984, **738** (1～2): 1～8

4 Kjeldsen T, Wiberg C F, Andersen S A. Chimeric receptors indicate that phenylalanine 39 is a major contributor to insulin specificity of the insulin receptor. J Biol Chem, 1994, **269** (52): 32942～32946

5 Taouis M, Toledano L R, Roach P, *et al*. Structural basis by which a recessive mutation in the α-subunit of the insulin receptor affects insulin binding. J Biol Chem, 1994, **269** (21): 14912～14918

6 Ullrich A, Schlessinger J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. Cell, 1990, **61** (2): 203~ 212
7 White F M, Kahn R C. The insulin signaling system. J Biol Chem, 1994, **269** (1): 1~ 4
8 Leconte I, Clauser E. Two sequences flanking the major autophosphorylation site of the insulin receptor are essential for tyrosine kinase activation. Biochem J, 1995, **306** (2): 465~ 472
9 Leconte I, Auzan C, Debant A, *et al*. N-linked oligosaccharide chanins of the insulin receptor β subunit are essential for transmembrane signaling. J Biol Chem, 1992, **267** (24): 17415~ 17423
10 Kadowaki H, Kadowaki T, Cama A, *et al*. Mutagenesis of lysine 460 in the human insulin receptor-effects upon receptor recycling and cooperative interactions among binding sites. J Biol Chem, 1990, **265** (34): 21285~ 21296
11 Hart M L, Lindhout D, van der Zon C M G, *et al*. An insulin receptor mutant ($Asp^{707} \rightarrow Ala$), involved in Leprechaunism, is processed and transported to the cell surface but unable to bind insulin. J Biol Chem, 1996, **271** (31): 18719~ 18724
12 Chou K C, Dull J T, Russell S D, *et al*. Human insulin receptors mutated at the ATP-binding site lack protein tyrosine kinases activity are fail to mediate postreceptor effects of insulin. J Biol Chem, 1987, **262** (4): 1842~ 1847
13 Wilden A P, Siddle K, Haring E, *et al*. The role of insulin receptor kinase domain autophosphorylation in receptor-mediated activities-analysis with insulin and anti-receptor antibodies. J Biol Chem, 1992, **267** (19): 13719~ 13727
14 Takata Y, Webster J G N, Olefsky M J. Mutation of the two carboxyl-terminal tyrosines results in an insulin receptor with normal metabolic signaling but enhanced mitogenic signaling properties. J Biol Chem, 1991, **266** (14): 9135~ 9139
15 Koch A C, Anderson D, Moran F M, *et al*. SH2 and SH3 domains: elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. Science, 1991, **252** (5006): 668~ 674
16 Myers G M Jr, Sun X J, *et al*. The IRS-1 signaling system. TIBS, 1994, **19** (7): 289~ 293
17 Sun X J, Wang L M, Zhang Y T, *et al*. Role of IRS-2 in insulin and cytoking signaling. Nature, 1995, **377** (6545): 173~ 177
18 Mendez R, Myers G M Jr, White M F, *et al*. Stimulation of protein synthesis, eukaryotic translation initiation factor 4E phosphorylation, and PHAS-I phosphorylation by insulin requires insulin receptor substrate 1 and phosphatidylinositol 3-kinase. Mol Cell Biol, 1996, **16** (6): 2857~ 2864
19 Tsakiridis T, Taha C, Grinstein S, *et al*. Insulin activates a p21-activated kinase in muscle cells via phosphatidylinositol 3-kinase. J Biol Chem, 1996, **271** (33): 19664~ 19667
20 Skolnik Y E, Batzer A, Li N, *et al*. The function of GRB2 in linking the insulin receptor to Ras signaling pathways. Science, 1993, **260** (5116): 1953~ 1955
21 Yonezawa K, Ando A, Kaburagi Y, *et al*. Signal transduction pathways from insulin receptors to Ras-analysis of by mutant insulin receptors. J Biol Chem, 1994, **269** (6): 4634~ 4640
22 Zhang W R, Li P M, Oswald A M, *et al*. Modulation of insulin signal transduction by eutopic overexpression of the receptor-type protein-tyrosine phosphatase LAR. Mol Endocrinol, 1996, **10** (5): 575~ 583

Insulin Receptor Signaling Pathways. DU Xin, TANG Jian-Guo (*National Laboratory of Protein Engineering, Peking University, Beijing* 100871, China).

Abstract Insulin is one principal hormone in mammals. It modulates the process of metabolism and promotes cellular growth and differentiation. Its action is mediated through insulin receptor. Insulin binding activates the tyrosine kinase activity of the receptor. The activated receptor frequently undergoes autophosphorylation and then phosphorylates cellular signal molecules, thus making it possible for insulin to elicit the corresponding response. A brief description is given on the process of signal transduction in the cell after insulin stimulation and the cellular signal molecules involved in the process.

Key words insulin, insulin receptor, tyrosine kinase, signal transduction, signal molecule

酪氨酸激酶受体 Eph 亚族的研究进展

张晓光 药立波 苏成芝
(第四军医大学生物化学及分子生物学教研室, 西安 710032)

摘要 酪氨酸激酶受体 (RTK) 参与细胞生长、分化、胚胎发育及细胞内信号传递等过程, 具有相当重要的生理功能. 目前已发现 50 多种 RTK 基因分属于 14 种亚族, Eph 亚族是其中最大的家族, 由 14 个基因组成, 一些基因主要在脑的发育中表达, 另一些则在各种组织中广泛表达. 最近该亚族胞外配体的发现为深入研究其生理功能打下基础. 综述了 Eph 亚族成员的来源、表达及其配体的研究概况.

关键词 酪氨酸激酶受体, Eph 亚族, 配体
学科分类号 Q71

收稿日期: 1997-09-20, 修回日期: 1998-03-17