

嵌入膜蛋白的结构及其在脂双层中的排布

范 培 昌

(华东师范大学生物学系, 上海)

部分或全部肽链嵌入膜脂双层、在破解脂双层结构后才能释放的蛋白质, 谓之嵌入膜蛋白^[1]。它们极其重要, 参与了细胞的许多调节和代谢过程。其中包括: 细胞间的相互作用与识别; 激素刺激作用; 离子或代谢物的定向运输; 氧化与光合磷酸化反应, 乃至脂类的生物合成等等^[1,2]。

近年来, 由于单克隆抗体亲和法和基因顺序分析技术的应用, 使得原来所知不多的有关嵌入膜蛋白结构、性质, 以及在膜中的拓扑图形等信息增加许多, 使我们有可能总结出一些有价值的概念。

作者提出, 根据嵌入膜蛋白在脂双层中的拓扑图, 可以把它们归为单、双和多螺旋跨膜共三类。每一类又分为 N-内和 N-外两亚类。提出这种看法, 不仅因为每类有相似的结构和跨膜螺旋数, 也由于各类有着各自特定的功能。最后本文还从中归纳出嵌入膜蛋白具有的六项基本结构特征。

需要说明的是, 这种分类有一定意义。例如, Steck 等人在作了大量实验后, 于 1978 年提出了人红细胞膜带 3 蛋白跨膜的 S 型模型^[3]。现在证明这种模型是不正确的^[4]。又如, 1974 年 Inouye 对 *E. coli* 外膜脂蛋白提出了正确的超螺旋结构模型^[5]。但在 1975 年, Braun 和 Wolff 又错误地提出该蛋白在脂双层中含 β 结构^[6]。如果当时已有本文所提的这种分类, 这些错误是可以避免的。当然, 人们不能用今天的成果去指责过去, 也不能认为今天的结果必然正确。但尽早归纳出一些概念供今后参考, 从而少走弯路也是有益的。

一、嵌入膜蛋白在脂双层中的排布

迄今报道过的资料证明, 嵌入膜蛋白的跨膜部分不是 α -螺旋, 就是 3_{10} 螺旋^[7]。据此, 按其在膜中的拓扑图, 作者建议把嵌入膜蛋白归为三类: 类 I, 单螺旋跨膜蛋白类 (Single helical transmembrane proteins); 类 II, 双螺旋跨膜蛋白类 (Double helical transmembrane proteins); 类 III, 多螺旋跨膜蛋白类 (Multi-helical transmembrane proteins)。在每一类中又可因多肽链 N-末端在膜两侧的不同位置, 再细分为 N-外 (N-out) 和 N-内 (N-in) 两亚类(图 1)。作者的这一建议, 不仅考虑到各类各有类似结

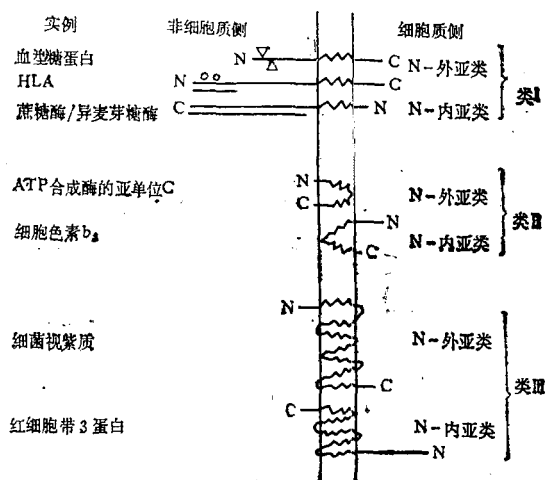


图 1 作者所建议的嵌入膜蛋白之分类、膜中排布及实例示意图

N 肽链的 N 末端; C 肽链的 C 末端;
△ O-连接之寡糖链; ○ N-连接之寡糖链

构、相同的跨膜螺旋数和拓扑图形, 也因为各类各有类似功能:

类 I——单螺旋跨膜蛋白类

凡一螺旋跨膜,肽链两末端区段分位于膜两侧的嵌入蛋白质,属此类。在类 I 中,最早被详细研究的是人红细胞血型糖蛋白 (Glycophorin)^[2,7],和 M13 噬菌体的外壳蛋白^[8]。前者,在其略偏 C-末端的肽链中央,有一段大多为疏水氨基酸残基组成的 α -螺旋段(图 2)^[9]。16 个寡糖链全位于 N-末端第 50 位残基前。最近在鼠

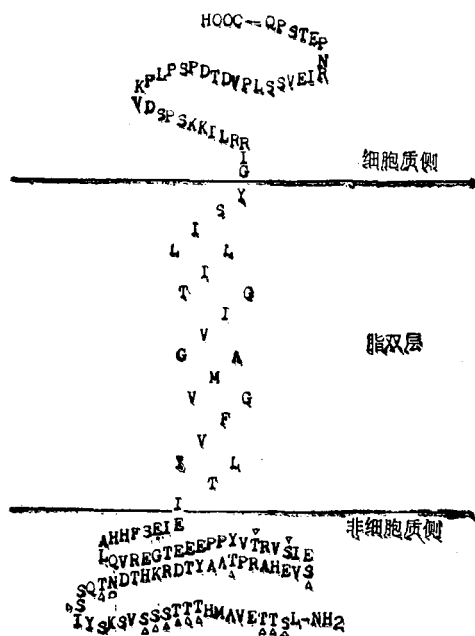


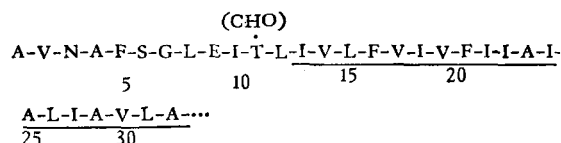
图 2 属类 I、N-外亚类的血型糖蛋白之氨基酸顺序及其在脂双层中的排布^[9]

△ O-连接寡糖链; ○ N-连接寡糖链。

组织中鉴定出的胸腺细胞 W3/3 抗原,无论就分子量、总糖含量,还是跨膜拓扑图都类同于血型糖蛋白^[9]。人(HLA-A, -B 或-C)和小鼠(H2-K 或-D)的组织亲和性抗原(Histocompatibility antigen),都是由两条异质性肽链所组成(见图 1)。其重链也如血型糖蛋白以单螺旋跨膜, N-末端在非细胞质侧,只是寡糖链皆为 N-连接。该抗原的轻链称为 β_2 -小球蛋白 (β_2 -microglobulin),是在膜外和其重链非共价结合着^[10]。除上述外,已知具类似结构并可归为类 I、N-外亚类的还有许多。如水泡性口膜炎病毒(VSV)被膜的 G 蛋白^[11]; 西门利克森林病毒

(SFV) 被膜的 E₁ 尖突蛋白(E₁ Spike protein)^[12]; 流感病毒的血球凝集素糖蛋白(Haemagglutinin glycoprotein)^[13]; 结合膜的免疫球蛋白(Membrane-bound immunoglobulin)^[14]等等。如此众多的例子,促使作者提出以下结论:凡参加细胞间或细胞与其周围环境中所存物质间“识别”的嵌入膜蛋白,都以多肽链近中段的一个疏水螺旋跨膜,其两端分露于膜两侧构成亲水区, N-末端位于非细胞质区,具寡糖链。也就是说,类 I 中的 N-外亚类与“识别”功能有关。

本类的 N-内亚类也以单螺旋跨膜,但 N-末端位于双层的细胞质侧。属于本亚类的例子有小肠刷状边缘膜的蔗糖酶/异麦芽糖酶(Sucrase/isomaltase)^[15]。这是一种称为双链双酶的嵌入膜蛋白(见图 1),是以异麦芽糖酶多肽链第 12—31 位氨基酸残基(见下式划线部分)呈



疏水螺旋插入脂双层中,使活性部位 C-端肽段全部露于膜外。人红细胞膜的乙酰胆碱酯酶也有类似结构^[16]。酶活性部位位于膜外的嵌入膜蛋白是否均属此亚类,因例子不多还难作出最后结论。

类 II——双螺旋跨膜蛋白类

凡肽链以两个螺旋嵌入膜中,其 N-和 C-末端均位于膜同侧的嵌入膜蛋白属于本类。由于两个螺旋以反平行方式排列成发夹状,常称为螺旋发夹(Helical hairpin)^[17]。属本类 N-内亚类,且结构已被详细研究过的蛋白质,要算细胞色素 b₅^[17]。就其一级顺序而论,在近 C-末端处有 40 个残基长的疏水段,它足以跨膜两次。现已证实,该疏水段中央有一脯氨酸残基(第 115 位),就是由它使螺旋改变方向形成了“发夹”(图 3)。显然,这种结构增加了分子与膜结合的牢固程度,提取时也因此较类 I 困难。

ATP 合成酶 F₀ 部分中最小的亚单位 C(又名 DCCD-结合亚单位),直接参与了质子穿越

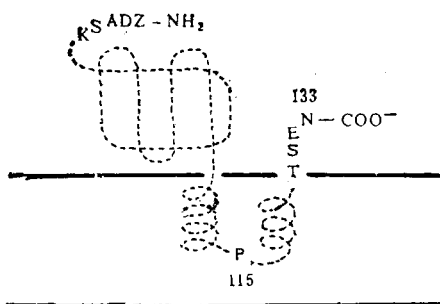


图3 隶属于类II、N-外亚类的细胞色素b_h在脂双层中排布示意图^[17]。

膜的转移。由于 Wachter 和 Sebald 的工作, 10个种属的亚单位C一级顺序已经公布^[18]。大多数学者认为它在膜中呈螺旋发夹结构^[19]。由图4可见, 其螺旋发夹中央也有个脯氨酸残基, 其N-末端也在非细胞质侧属N-外亚类。

上述两例都和电子或质子的跨膜运输有关, 但因例子有限, 尚难对本类专有功能作出判断。值得指出的是, 最近 Engelman 和 Steitz 提出了蛋白质入膜或越膜分泌的螺旋发夹假说 (Helical hairpin hypothesis)^[7], 认为任一种多肽嵌入膜或越膜分泌, 都是经由螺旋发夹结构而自发进行的^[7]。又认为凡有前导肽的蛋白质, 该前导肽必组成“发夹”的螺旋1^[7]。如果此说成

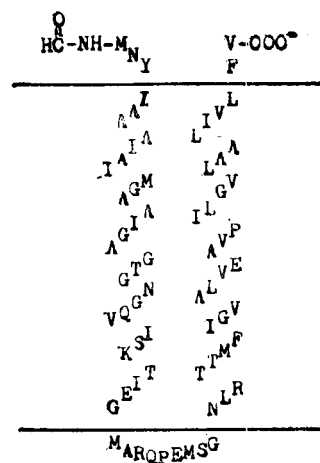


图4 来自 *Streptococcus faecalis* 的ATP合成酶F₀亚单位C在膜中的螺旋发夹结构^[19]

立, 那么膜中的这种双螺旋排布是普遍存在的, 只是对某些蛋白质而言 (主要是分泌蛋白质和N-内亚类的嵌入膜蛋白), 由于前导肽酶 (Leader peptidase) 切去“发夹”的螺旋1 (即前导肽段) 等原因^[7], 使这种双螺旋排布只是一度存在过。显然, 这类暂时出现过的双螺旋应不属本类范畴。

类III——多螺旋跨膜蛋白类

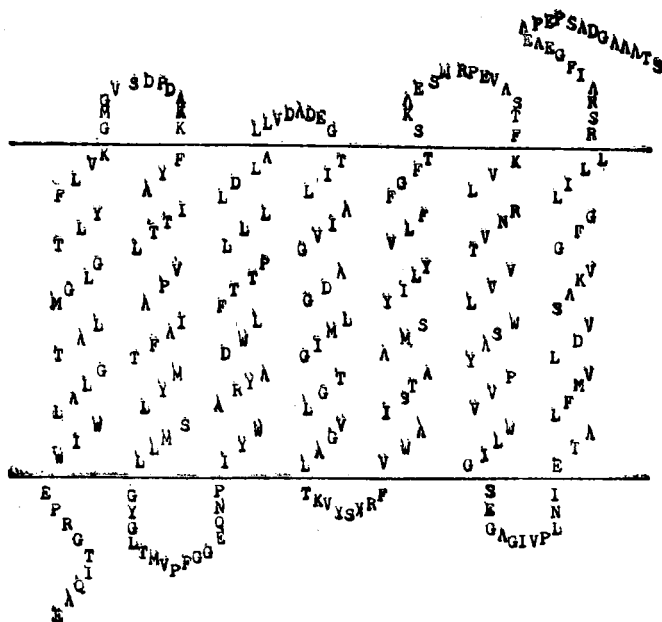
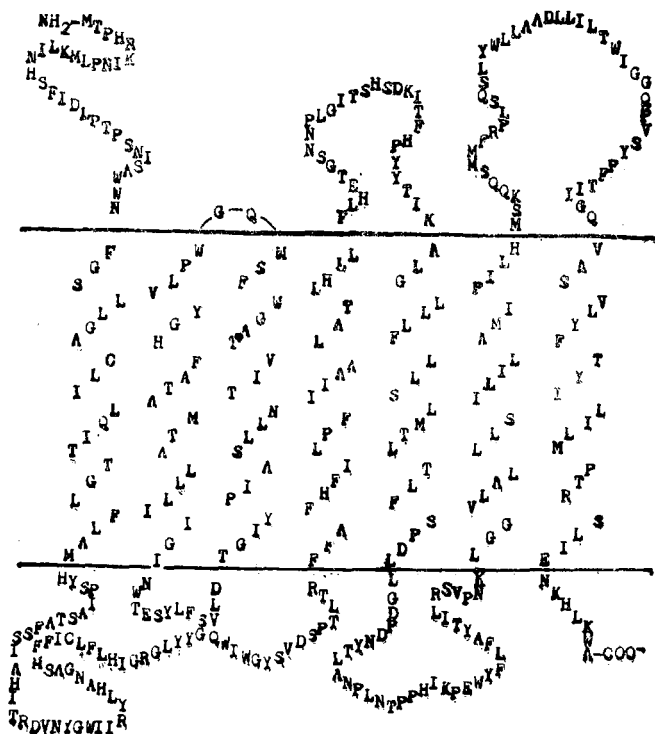


图5 属类III、N-外亚类的细菌视紫质七螺旋跨膜的氨基酸顺序^[20]

DNA 顺序推测出的细胞色素 b 一级顺序^[22], 也认为是七螺旋跨膜^[23]。图 7 系作者根据文献

[22]和[23]绘制的细胞色素 b 七螺旋跨膜的氨基酸顺序。

具有阴离子通道功能的人红细胞膜带3蛋白(Band 3 protein),最近也证明它是一种至少五螺旋跨膜的嵌入膜蛋白^[4],只是其N-末端在



细胞质侧,属 N-内亚类。具有离子通道功能的肌质网 Ca^{2+} -ATPase 也是多螺旋跨膜蛋白质^[24]。这许多实例给人的印象是,它们都有“孔”、“泵”或“通道”的功能,虽然现在还难以区别 N-内和 N-外亚类有何功能上的差异。

• 20 •

N-外亚类,但它却不具该亚类应有的 N-末端有糖链、螺旋内不含或极少含带电氨基酸,以及具有“识别”功能等特点。从其初级结构看(图 8)^[23],它有两纵列疏水顺序(图 8 中 H 列之 I 和 II 列),其两侧各有一带电残基列(图 8 之 P_a 和 P_b、P_c 列)。显然,脂蛋白单体间就是由这

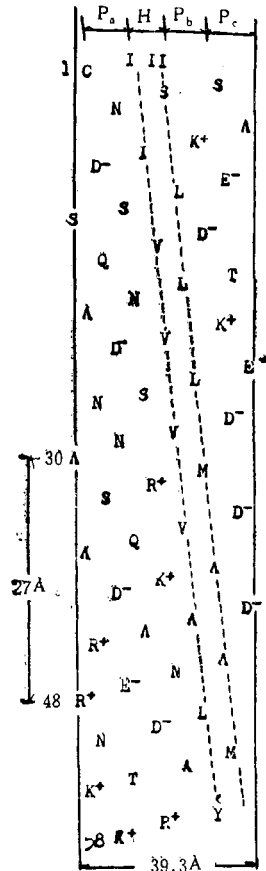


图 8 大肠杆菌外膜脂蛋白的氨基酸顺序及其螺旋平面示意图
虚线示两列疏水残基。据文献[25]加以简化。

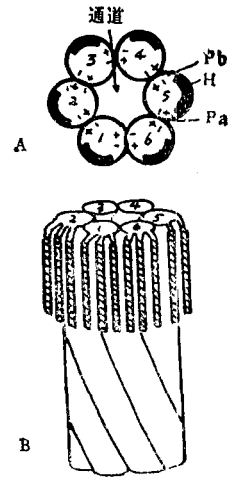


图 9 六个 *E. coli* 外膜脂蛋白单体聚合成孔的超螺旋结构示意图^[23]
A 为顶面观

两列带电残基,以互补的离子键结合成超螺旋结构(图 9A)。也就是说,它实际上是以多螺旋跨膜(图 9B),因而也有多螺旋成“孔”的功能,只是这种多螺旋系由多个蛋白质,而不是一条多肽链所组成。

二、嵌入膜蛋白的结构特征

从以上所举实例,作者把嵌入膜蛋白的结构特征初步归纳如下:

1. 嵌入膜蛋白嵌入脂双层的肽段,主要是一至多个横越膜的 α -或 3_{10} 螺旋结构^[7](到目前为止,尚未证明脂双层中有 β -结构存在)。凡属类 I、N-外亚类的跨膜螺旋中不含或极少含带电氨基酸残基^[1,2,7]。

2. 嵌入膜蛋白虽存在疏水的入膜肽段,但就整个肽链而言,除类 III 中少数嵌入膜蛋白

表 1 一些嵌入膜蛋白氨基酸组成的百分比

类 型	蛋白质名称	占全部氨基酸残基的百分数(%)		
		带电氨基酸	不带电氨基酸	
			亲 水 的	疏 水 的
I	血型糖蛋白	23.9	47.7	28.0
II	细胞色素 b ₅	37.5	29.9	32.6
III	带 3 蛋白	29.2	32.6	36.5
III	视紫质	24.5	30.2	49.1
III	细菌视紫质	13.4	17.8	68.8

青霉素结合蛋白的结构、功能与 β -内酰胺抗 生素的作用机理研究进展

李在威 杨 频

(山西大学 分子研究所, 太原)

英国科学家 Fleming 1929 年发现青霉素并于 40 年代进入临床应用以来, 以其为代表的 β -内酰胺抗生素药物的发展, 在医药工业生产、

临床应用和科研方面一直占有重要地位。又由于它对细菌细胞壁具有特殊的选择性毒性^[1], 使得 β -内酰胺抗生素在具有副作用的其它药物

外, 通常只具中等程度的疏水氨基酸(表 1)^[1]。

3. 许多嵌入膜蛋白, 尤其是类 II, 既有亲水区又有疏水区, 所以它类似于去污剂的结构, 被 Sim 称为亲水脂蛋白质 (Amphiphathic proteins)^[1]。

4. 嵌入膜蛋白跨膜螺旋数越多和膜结合越牢固, 分离纯化也越难。除非疏水残基近 70% (如视紫质) 变成脂溶性分子, 纯化才变得较为容易。

5. 嵌入膜蛋白需用去污剂增溶; 一旦除去去污剂, 除少数将形成不溶性凝集物外, 大多数将形成具有一定大小的水溶性缔合物^[1]。

6. 凡属 N-外亚类的嵌入膜蛋白应无前导肽 (即著名的蛋白质越膜或入膜信号假说中所述之信号肽), N-内亚类则有^[7]。

参 考 文 献

- [1] Sim, E.: *Membrane Biochemistry*, pp. 43—54, Chapman and Hall, London New York, 1982.
- [2] Capaldi, R. A.: *Trends. in Biochem. Sci.*, 7, 292, 1982.
- [3] Steck, T. L. et al.: *Biochemistry*, 17, 1216, 1978.
- [4] Ramjeesingh, M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 729, 150, 1983.
- [5] Inouye, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 2396, 1974.
- [6] Braun, V. and Wolff, H.: *J. Bacteriol.*, 123, 387, 1975,

- [7] Engelman, D. M. and Steitz, T. A.: *Cell*, 23, 411, 1981.
- [8] Wickner W.: *Ann. Rev. Biochem.*, 48, 23, 1979.
- [9] Brown, W. R. A. et al.: *Nature*, 289, 456, 1981.
- [10] Nathenson S. G. et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, 50, 1025, 1981.
- [11] Katz, F. N. and Lodish, H. F.: *J Cell Biol.*, 80, 416, 1979.
- [12] Caroff, H. et al.: *Nature*, 288, 236, 1980.
- [13] Wilson, I. A. et al.: *ibid.*, 289, 366, 1981.
- [14] Rogers, J. et al.: *Cell*, 20, 303, 1980.
- [15] Brunner, J. et al.: *J. Biol. Chem.*, 254, 1821, 1979.
- [16] Ott, P. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 729, 193, 1983.
- [17] Von Jagow, G. and Sebld, W.: *Ann Rev. Biochem.*, 49, 281, 1980.
- [18] Sebld, W. and Wachter, E.: *FEBS Lett.*, 122, 307, 1980.
- [19] Ovchinnikov, Y. A. et al.: *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 11, 445, 1982.
- [20] Engelman, D. M. et al.: *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 77, 2023, 1980.
- [21] Birge, R. R.: *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 10, 315, 1981.
- [22] Anderson, S. et al.: *Nature*, 290, 457, 1981.
- [23] Capaldi, R. A.: *Biochim. Biophys. Acta*, 694, 290, 1982.
- [24] MacLennan, D. H. et al.: *Ann. NY Acad. Sci.*, 358, 138, 1980.
- [25] Inouye, M.: *Membrane* (Manson, L. A. ed.), Vol. 10, pp. 141—208, Plenum press, New York, London, 1979.

[本文于 1985 年 7 月 10 日收到]