

专论与综述

信号肽与初生蛋白质的跨膜运送过程

胡 二 丁 杨 静

提 要

在真核和原核细胞中,分泌蛋白与膜蛋白的氨基端常含一段称为信号肽的疏水性短肽。它的功能是引导分泌蛋白和膜蛋白在翻译过程中进入或嵌入内质网膜。本文讨论信号肽引导初生蛋白质进入内质网的分子机制,并对当前这一方面的进展情况作一综述。

近十几年来,分泌蛋白与膜蛋白的形成过程一直是细胞生物学家和分子生物学家关注的焦点之一,因为这一过程不仅涉及细胞功能的基础理论研究,而且在病毒感染和细胞癌变等医学领域中也具有重要意义。近几年来发表的有关论文达数百篇,使这一领域成为发展较为迅速的生物学领域之一^[1]。

分泌蛋白与膜蛋白大都含有一部分甚至很大一部分亲水性氨基酸残基。这些亲水基团是如何克服能量上的阻碍,穿过疏水的脂双层膜而进入内质网的,这是一个十分令人感兴趣的问题。在各种初生蛋白质移位过程的模型中,Blobel 等^[2]提出的信号肽学说最有说服力。近十年来的研究,包括信号肽与信号肽酶的发现、信号肽识别体与其受体的纯化,均为这一假说提供了实验证据,并使这一学说趋于完善。近年来基因工程技术的发展为这一领域的研究提供了一个新的有效的研究手段。通过基因工程技术人们能够定向地改变蛋白质肽链中一个或几个氨基酸。用这种遗传工程的方法,人们对信号肽所携带的信息以及其引导蛋白质肽链移位的详细机理有了新的认识。

信 号 肽 假 说

真核细胞中至少有三类蛋白必须首先进入内质网,然后再利用不同的机制到达其发挥功能的部位。它们分别是分泌蛋白、溶酶体蛋白和某些膜蛋白。在为这些蛋白编码的基因中,许多基因的 5' 端,即蛋白质的 N 端,都有一段 DNA 编码了一段长度为 15—35 个氨基酸残基的疏水性肽段。这一短肽在成熟的分泌蛋白或膜蛋白中并不存在,它的功能是引导随后产生的蛋白多肽链穿过内质网膜进入腔内。新生蛋白质的折叠、二硫键形成以及糖基化作用均在肽链进入内质网以后进行。因此,人们将这一短肽称为信号肽。

信号肽将初生蛋白质导入内质网内部的过程是极复杂的。图 1 表示蛋白按照信号肽假说移位进入内质网的细节。

在分泌蛋白或膜蛋白的 mRNA 与游离的核糖体大小亚基结合形成翻译复合体之后(图 1A),肽链的翻译从起始密码开始。首先产生

作者现在地址: Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University, USA.

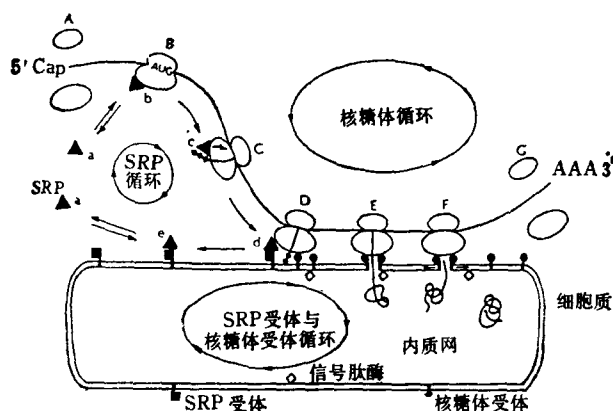


图 1 信号肽引导初生蛋白质进入内质网的示意图

的是含疏水残基的信号肽。当翻译进行到大约 50—70 个氨基酸之后,信号肽段露出核糖体大亚基 (图 1 B)。这时位于细胞质中的信号肽识别体 (Signal peptide Recognition Particle, 以下称 SRP) 专一性地识别出带有信号肽段的核糖体。通过与初生肽链及核糖体的相互作用, SRP 一方面暂时抑制翻译的继续进行, 另一方面通过位于内质网膜表面的信号肽识别体受体的相互作用, 将这些含分泌蛋白 mRNA 的核糖体带至内质网膜表面 (图 1 C、D)。内质网膜表面含有的信号肽识别体受体又叫停靠蛋白 (Docking Protein)。它有两方面的作用, 其一, 通过与 SRP 的作用使被暂时抑制的翻译过程恢复进行; 其二, 以目前尚不清楚的方式, 引起内质网膜上一种特定的核糖体受体蛋白的聚集。这种受体具有通道的功能, 可以使翻译出来的肽链从核糖体大亚基直接进入内质网腔内 (图 1 E)。信号肽进入膜后即被内质网膜内的信号肽酶切除。当核糖体与通道蛋白结合后, 信号肽识别体 (SRP) 及受体便离开各自的结合位点, 进入下一轮循环。在翻译完成之后, 核糖体大小亚基解聚, 大亚基与核糖体受体的相互作用消失, 核糖体即成为游离的亚基, 进入下一轮的翻译过程 (图 1 F、G)。核糖体受体在翻译结束之际亦发生解聚, 通道消失, 内质网恢复成完整的脂双层膜。进入内质网的蛋白质在信号肽切除之后即进入折叠、糖基化及二硫键

形成等过程。

在这一模型中, 有三个完整的循环过程: 核糖体的循环, 信号肽识别体的循环以及核糖体受体与信号肽识别体受体的循环。这一系列复杂的循环过程构成了真核生物中初生肽链穿过内质网膜的蛋白质移位装置 (Protein Translocation Machinery)。

信号肽的移位信息

信号肽引导蛋白质移位的信息在哪里, 它又是如何被细胞感知的, 这是人们长期以来感到困惑的问题。对大多数真核细胞分泌蛋白的信号肽氨基酸顺序进行分析, 均没有发现明显的氨基酸顺序上的保守性, 但是系统的比较却使人们发现了信号肽的一个共同特点: 其整体疏水性。

信号肽一般由含 20 个左右氨基酸残基的多肽链构成。中间部分是一段长约 12 个氨基酸的疏水肽段, 称为信号肽的疏水核。在疏水核前面是数个碱性氨基酸残基。信号肽酶的切点在疏水核以后的一段富含丙氨酸的区域。最常见的切点为丙—X—丙^[3]。从一级结构可以推测疏水核区的肽段易于形成 α 螺旋, 而疏水核以后的肽段易形成 β 折叠。

疏水核是信号肽最重要的部分, 也是人们推测移位信息的所在地。用点特异性突变技术, 在 DNA 水平上将疏水核中的疏水氨基酸

表 1 信号肽一级结构与信号肽酶切点

蛋 白 质	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
前胰岛素原																																	
脂蛋白																																	
白蛋白原																																	
促乳素																																	
乳球蛋白																																	
乳白蛋白																																	
α -球蛋白																																	
溶菌酶																																	
伴清蛋白																																	
卵类粘蛋白																																	
β -酪蛋白																																	
k-酪蛋白																																	
催乳激素																																	
垂体促激素原																																	
转化酶																																	
干扰素																																	
免疫球蛋白轻链																																	
免疫球蛋白重链																																	
胰高血糖素																																	
生长激素																																	

注: || 表示疏水核区的开始与结束。

↓ 表示信号肽酶切点。

变成亲水氨基酸,信号肽的功能便丧失^[4]。疏水核的长度也与移位的效率密切相关。疏水核的长度一般约为十二个氨基酸残基,如果任意增加疏水核的长度,亦可影响信号肽的功能。图2表明了信号肽的疏水结构以及在蛋白跨膜过程中信号肽的位置。

通常的信号肽具有两个特点,一是位于分泌蛋白前体的N端;二是在引导分泌蛋白或膜蛋白进入膜以后,信号肽将被位于真核生物内质网或原核生物质膜内侧的信号肽酶所切除。但是,近年来的研究表明这些特点并不是绝对的。有许多分泌蛋白和膜蛋白的移位信息,虽然确由一部分疏水肽段所携带,但这一部分肽段可以不在N端,也可以不被信号肽酶所切除。某些复杂的膜蛋白甚至含有一段以上的信号肽段。表2中列出了一些不同类型的信号肽蛋白。

卵白蛋白是人们首先发现的含内部信号肽的蛋白^[5],它的前体与成熟形式都没有被信号

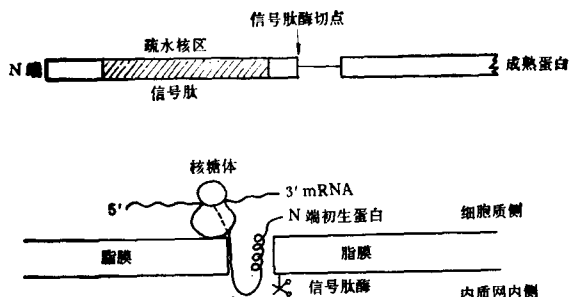


图2 信号肽疏水结构及穿膜过程示意图

肽酶切除的过程,其N端氨基酸结构在第九位有带电基团,疏水结构并不明显。为了研究此蛋白的移位信号,人们利用体外翻译系统在蛋白质翻译进行的不同时刻将微粒体加入,观察其蛋白质移位发生情况。由于真核生物中移位和翻译过程是紧密偶联的,只有在信号肽段翻译刚好完成并露出核糖体大亚基时才会引起移位。人们观察到翻译进行到约60—70个氨基酸时,核糖体与膜蛋白结合从而发生蛋白质的移位。这一结果使人们推测卵白蛋白的信号肽

表 2 含不同类型信号肽的蛋白质

信号肽类型	蛋 白 质	
含不可切除的 N端信号肽	乳糖透性酶	细胞色素 p-450
	E. coli 信号肽酶	唾液酸苷酶
	环氧化物水化酶	异麦芽糖酶
含不可切除的 一个内部信号肽	卵清蛋白	MP 26
	大肠杆菌素 (E 1)	
含不可切除的 多个内部信号肽	红细胞膜第三带蛋白	视蛋白
	白钙 ATP 酶	葡萄糖转运蛋白

区域在距N端 25—45 个氨基酸之间。后来人们利用基因工程技术将卵白蛋白 N 端的 22—41 位氨基酸的 DNA 顺序加到细胞质蛋白 α -珠蛋白的N端,这样产生的杂种蛋白使原来由游离核糖体翻译并留在细胞质中的 α -珠蛋白变成了由膜上的多核糖体翻译的分泌蛋白。这一结果表明卵白蛋白的移位信息确实位于N端 21—41 位疏水肽段中。

如果将正常的N端信号肽放入蛋白质的中间,其功能是否还存在呢? Talmadge^[6]将 β -半乳糖苷酶的几个残基放在分泌蛋白前胰岛素原前面,使转译起始位置与前胰岛素原的信号肽切除位点之间有 39 个氨基酸残基。这样的融合蛋白仍然可以产生移位并被信号肽酶所切除。

因此,将信号肽仅仅定义为位于N端的一段短肽链是不够恰当的。更广义的定义应该是初生蛋白质穿过膜所必须的一段疏水性多肽链,它可能位于蛋白质的各个部位,携带有蛋白质移位所必须的部分或全部信息。

信号肽对于蛋白质移位是否构成必要条件,即它是否携带了蛋白质移位所需要的全部信息,这是近年来人们争论的问题之一。已有的实验证据表明信号肽对蛋白质穿膜过程是必需的。利用特异性点突变技术使信号肽段疏水性改变或完全切除,将导致分泌蛋白不能分泌,膜蛋白不能嵌入膜外。用基因工程技术将信号肽段相应的 DNA 加到珠蛋白基因前面,这样制造出来的融合蛋白就能够进入到内质网膜内。另外,大肠杆菌的质膜的移位机理与真核细胞内质网膜的移位机理类似。大肠杆菌中存

在着两种完全相同的转化酶,一种分泌到质膜外,另一种只存在于细胞质中。这两种蛋白由同一个基因产生的两种 mRNA 合成,而这两种 mRNA 的唯一区别仅在于分泌蛋白 mRNA 的 5' 端有一段编码信号肽的顺序。这些事实都有力地说明了信号肽对蛋白质跨膜过程是必需的。

但是,信号肽是否包含了所有的移位信息,这一问题的答案显然因蛋白质的不同而有所差异。至少有一些蛋白质其移位所需要的信息不仅存在于信号肽中,而且也存在于成熟蛋白中。 β -内酰胺酶是大肠杆菌的一种分泌酶蛋白,它含有N端信号肽。但当人们研究信号肽与分泌突变体的关系时却发现有许多突变体的分泌过程被抑制了,突变的位置却不在信号肽中而在酶蛋白内部^[7]。用基因工程的手段将一个翻译终止密码引入这一蛋白的基因中,结果表明酶蛋白的 C 端对分泌过程也是必需的^[8]。另外,用噬菌体受体蛋白 lam B 与细胞质蛋白 β -半乳糖苷酶融合所产生的杂合蛋白进行研究,结果也表明 lam B 蛋白的信号肽并不足以使 β -半乳糖苷酶成为分泌蛋白^[9]。

信号肽识别体及其受体

1980 年, Walter 与 Blobel^[10]发现狗胰脏细胞的细胞质中存在某种活性物质可以使在高盐浓度下失去移位活性的内质网膜恢复移位活性。他们利用疏水层析和梯度离心法成功地纯化了这一物质,并将它命名为信号肽识别体(SRP)。这是一个由 6 条多肽链与一条单链 RNA 组成的核蛋白体。肽链的 SDS 电泳分子量为 72k, 68k, 54k, 19k, 14k 及 9k Dalton。RNA 的沉降系数为 7S,其大小约为 300 个核苷酸,整个复合体的大小约为 11S。

通过 RNA 的顺序研究,人们发现 7S RNA 与真核细胞中的中等重复序列 Alu 同源。7S RNA 由两个部分组成: 5' 端与 3' 端为 Alu 序列,分别有 100 和 50 个核苷酸;中部序列与 Alu 不同源, Southern Blot 实验表明它也是基因组中的一个中等重复序列,重复度较 Alu

低,人们将这一长约 150 核苷酸的顺序称为 S-序列。蛋白质与 7S RNA 的位置关系可以用核苷酸酶水解来确定。用 Micrococcal 核酸酶可以将 SRP 切为两个无活性的部分,一部分含 RNA 的 3' 与 5' 端以及 14k 与 9k 蛋白;另一部分含 S-序列和另外四种蛋白。这一分析结果表明在生理条件下,3' 与 5' 端的 Alu 序列可以折叠成碱基配对的双股螺旋结构。

如果降低 Mg^{2+} 浓度,SRP 将解离成无活性的 RNA 与蛋白质。重新调整离子强度,可以使蛋白质与 RNA 重组而恢复活性。用这一方法可以进行各种重组实验以研究不同种类的 RNA 与蛋白质的相互作用。由此人们发现从狗胰脏细胞中提取的 SRP 蛋白可以与非洲爪蟾和果蝇的 7S RNA 重组成具有功能的 SRP,其中果蝇的 7S RNA 与狗的 7S RNA 并不同源。这一结果说明 SRP 中蛋白质与 RNA 的识别作用不是十分专一的。

SRP 特异性地只与制造分泌蛋白、溶酶体蛋白和膜蛋白的多聚核糖体结合,而不与制造珠蛋白等细胞质蛋白的核糖体结合,说明 SRP 能以某种方式识别移位信号。SRP 的识别作用有两种可能,即对 mRNA 的识别或对新生肽链的识别。迄今为止的实验证据表明 SRP 的识别作用是直接针对新生肽链的。Hortin 与 Boime^[11] 在蛋白质体外翻译系统用 β -羟亮氨酸代替正常的亮氨酸,使 β -羟亮氨酸进入初生多肽链。这样产生的多肽链既不能被 SRP 识别,也不能产生移位。这就给我们两点提示:首先,信号肽的疏水性是重要的, β -羟亮氨酸中的羟基削弱了信号肽核区的疏水作用,这可能就是丧失识别与移位过程的原因。其次,SRP 的识别作用可能不在 mRNA 或核糖体上而在新生多肽链上。但是这也不能排除信号肽之外的蛋白部分对识别作用产生影响的可能性。Wiedmann^[12] 利用光亲合标记的方法,将一具有潜在活性的化合物偶联到 Lys-tRNA 的 Lys 上,在光照射下,这一化合物产生活性基因,可以与邻近的蛋白形成共价键。他们将光亲合标记的 Lys-tRNA 放入蛋白质体外翻译

系统,使带有活性基团的 Lys 进入初生蛋白质的多肽链。加入 SRP 后,用光辐射激活赖氨酸上的反应基团,使之与邻近的蛋白生成共价交联。结果表明与 N 端含赖氨酸的信号肽发生交联的是 SRP 中的 54k 蛋白。这一结果充分说明 SRP 识别的是信号肽本身。

SRP 的功能是识别制造分泌蛋白或膜蛋白的核糖体,并通过与初生肽链及与核糖体的相互作用,暂时抑制翻译的进行。这一抑制现象在体外被广泛地观察到,并有证据表明 SRP 的 14k 与 9k 两蛋白与翻译的抑制有关^[13]。但是这种抑制效应并不是移位的必要前提。利用重组实验证明当加入失去 14k 与 9k 蛋白的 SRP 时,蛋白质的翻译抑制效应消失了,但仍有正常的移位发生。人们推测蛋白质翻译抑制效应可能是细胞的一种增加可靠性的方法。由于移位只在翻译进行到一定程度才发生。超过这一程度($\sim 70aa$) 就将不再发生,这时暂时抑制翻译可以保证所有翻译出来的蛋白质都能正常移位。

信号肽假说中另一个重要因子是信号肽识别体受体(或称停靠蛋白)。Meyer^[15] 和 Gilmore 等^[16] 利用亲和层析将其纯化,并测得整个蛋白 SDS 分子量为 72k。这一受体蛋白由两个结构域组成。细胞质部分由亲水侧链构成,分子量约 60k,膜内部分富含疏水残基,分子量约 12k。细胞质部分可被各种蛋白酶所降解,如果将降解后的可溶部分加入被蛋白酶消化后失去活性的内质网膜,受体的活性恢复。这一特性提供了纯化 SRP 受体的活性检验系统。最近, Tajima 等^[17] 通过对此 SDS 分子量为 72k 的 SRP 受体基因的研究和氨基酸顺序疏水性分析,发现此受体的嵌膜肽段在其疏水核中含有带电荷的赖氨酸,由此人们推测此 SRP 受体很可能需要别的蛋白质的作用来获得稳定性。新发现的 30k 蛋白就可能有此功能。

SRP 受体能够与 SRP 特异性结合并使被 SRP 抑制的翻译继续进行,二者相互作用的细节目前尚不清楚。在受体与 SRP 结合后,即

从整个复合体中解离出来,核糖体进而与别的膜蛋白结合。SRP 受体与 SRP 的相互作用并不负责核糖体与膜的结合。在内质网膜中,SRP 受体的量比观察到的结合在内质网膜上核糖体中的要少得多,这说明 SRP 只起到催化性作用。另外,人们还观察到加入内质网膜后,SRP 对核糖体的亲和力大大降低,这又表明受体的结合能使 SRP 从核糖体上解离出来。

SRP 与其受体的作用可以成为一种细胞响应外界刺激的调节手段。在外界刺激下,刺激产生的第二信使间接地使 SRP 及 SRP 受体的量增多,而使蛋白质移位能力增加,从而提高分泌蛋白或膜蛋白的量以响应外来信号。

移位过程中的能量因素

人们早已知道,真核生物中的线粒体与叶绿体膜上的蛋白质移位系统和内质网的蛋白移位系统大不相同。区别之一在于前者的翻译与移位过程不是偶联在一起的。移位在线粒体和叶绿蛋白翻译完成之后再行,并且需线粒体和叶绿体膜两侧的电化学梯度。加入离子载体和电子传递抑制剂会直接破坏这一梯度,从而抑制移位过程。对于内质网膜系统,人们一直认为移位是不需要能量的。Engelman 认为蛋白质移位的能量来自翻译过程中 ATP 水解^[18],因为在内质网蛋白移位系统中,蛋白质的翻译与移位是紧密偶联的。但是,这方面的实验证据却很少。近年来,Perara^[19]用基因工程技术获得了进展。他们成功地将内质网膜上蛋白质翻译与移位解偶联并证明移位需要能量。此部分能量与翻译所需能量并不相同。如图 3 所示,通过建造一个表达质粒,使相应的 mRNA 编码区在 3' 端去掉了正常的终止密码,这样核糖体在翻译完成之后就不会掉下来。利用改变终止翻译位置,可以使质粒刚好产生移位所要求的肽链长度,同时又使翻译终止。由此他们发现,当翻译停止后加入内质网膜时,只有加入 ATP 才能进行正常移位,并且移位进入内质网内的多肽链可以进行正常的糖化修饰过程。这

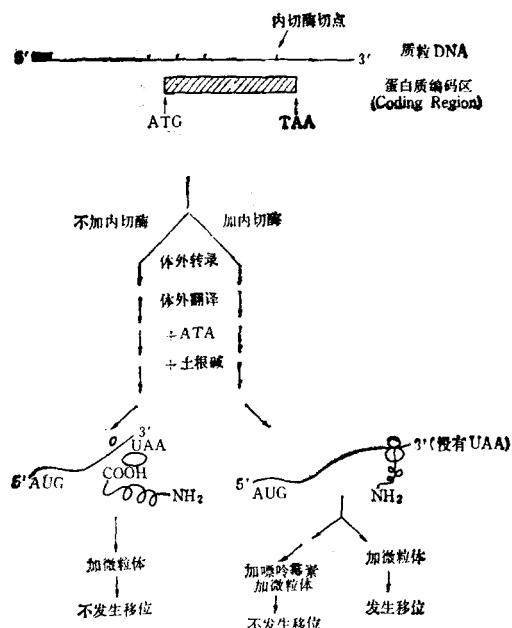


图 3 Perara 实验示意图

用内切酶将终止码切除之后,核糖体翻译进行到 mRNA 3' 端不会掉下,这时加入 ATA 和土根碱抑制以后翻译的起始与延伸。这样产生的未完成肽链能够正常移位。嘌呤霉素与不加内切酶的对照实验说明了核糖体以及译出的肽链长度都与移位有关。

一实验证明移位过程确实需要能量。同时也可说明核糖体在移位过程中的作用。如果加入嘌呤霉素,使肽链离开核糖体,移位仍不能发生。

目前对于能量在移位过程中的作用的研究才刚刚有所进展,对于具体的作用机制尚不清楚。根据信号肽模型,移位之初需要将整个信号肽段及附加的一些亲水残基移入膜中;而移位系统一旦建立,以后各步则是将氨基酸残基逐个推入。这两个过程显然不同,对能量的要求也可能不同。最近,Single 等^[20]提出蛋白质移位时并不是将氨基酸逐个推入,而是以结构域或亚结构域(Subdomain, 10—30aa)为移位单位进行整体移动。在这个模型中,能量的重要性更为突出。

移位终止信号与特殊膜蛋白

如图 4 所示,膜镶嵌蛋白大致可分为三类:一是 C 端在细胞质中, N 端在内质网内部,仅穿膜一次的简单跨膜蛋白,如图 4 中 A 所示。真

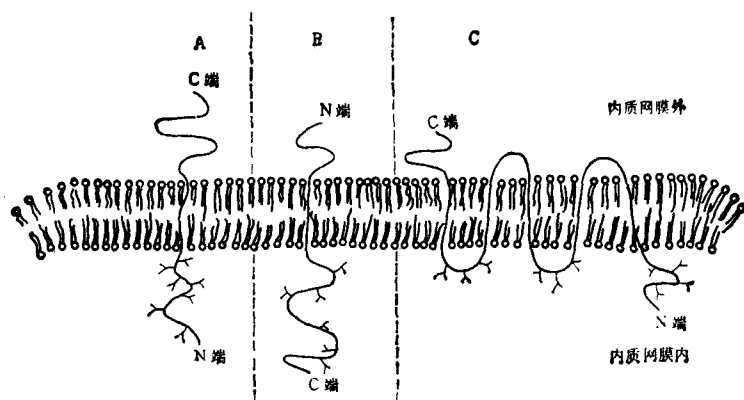


图4 膜蛋白镶嵌入膜的三种方式

核和原核生物中有许多蛋白属于此类，如血型糖蛋白，VSV-G蛋白，HLA-A重链蛋白，LDL-受体等等。第二类是N端在细胞质中，C端在内质网内部的简单跨膜蛋白，如图4中B所示。属于这一类的蛋白有流感病毒唾液酸苷酶，转铁蛋白受体和唾液酸糖蛋白受体等。第三类是复杂的跨膜蛋白，如图4中C所示，肽链穿过脂双层膜一次以上。葡萄糖转运蛋白， Ca^{2+} -ATP水解酶，视蛋白及红细胞膜上的阳离子转运蛋白都属此类。

膜蛋白在以上面这三种方式嵌入内质网膜以后，随即以目前尚不十分清楚的某种方式定向地移到其功能位点。新生膜蛋白从内质网膜运动到其功能位点的这个过程可能是通过膜流动来实现的。对LDL-受体、血型糖蛋白和VSV-G蛋白的详尽研究表明在此移动过程中，膜蛋白与膜相对位置的拓扑关系并不发生改变。

简单膜蛋白穿膜肽段可能是未被切除的信号肽本身，也可能是蛋白质中另外一段别的疏水肽段。Blobel^[21]及Sabatini在信号肽模型的基础上提出膜蛋白中另有一种特殊信号——移位终止信号，它的作用与信号肽的作用相反，引起膜上核糖体受体及通道的解聚，使后续肽段不能进入内质网膜，从而使移位终止。这一模型可以解释简单蛋白镶嵌入膜的过程。对于复杂膜蛋白，只要假设蛋白的每一个穿膜肽段

都含一个信号肽(包括内部信号肽)和一个终止肽段，也可以作出合理的解释。

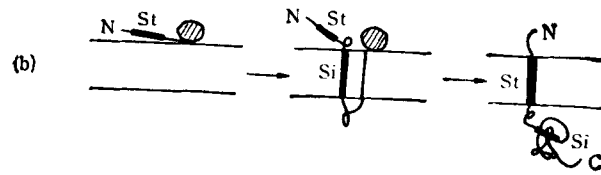
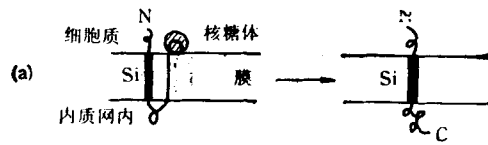
Blobel^[22]用基因工程手段发现Opsin蛋白内部含有数个特殊信号肽段，可以引起蛋白移位的终止，同时还引起后续肽段移位的开始。由Lingappa等^[23]对IgM重链的研究表明疏水性是终止信号的重要特点之一。如果在DNA水平上将一段疏水多肽融合到一个分泌蛋白的羧基端，这一蛋白就会变成膜蛋白，其羧基端嵌入膜中。

终止信号的功能可能是通过被动或主动两种不同方式来实现的。被动终止信号主要适用于有一端嵌入膜内的锚蛋白(Anchor Protein)。这种蛋白的羧基端含有一段长约20个氨基酸的疏水肽段。在翻译完成之后，这段氨基酸进入膜内，由于其疏水性，它们自动留在脂膜中。这一过程中并不涉及别的蛋白。然而，主动性的终止过程则需要特异性受体或别的蛋白参与。

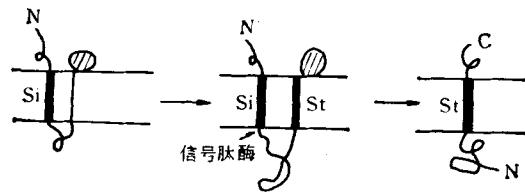
但是，Blobel与Sabatini的模型并不能解释所有的跨膜蛋白。有一些蛋白除信号肽之外只含有较短的疏水肽段，对这种蛋白来说，很难说什么是它们的内部信号肽和移位终止信号。

近年来人们对蛋白质移位过程的认识有了迅速发展。SRP及SRP受体的发现为信号肽理论提供了重要依据，同时也使人们有可能对

1. N 端在细胞质中, C 端在内质网内的简单跨膜蛋白。



2. C 端在细胞质中, N 端在内质网内的简单跨膜蛋白。



3. 多次穿膜的复杂跨膜蛋白。

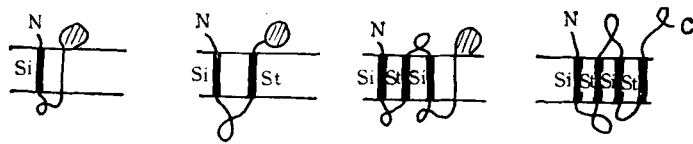


图 5 利用信号肽及移位终止信号解释三种膜蛋白形成的模式图

图中 Si 是信号肽,其功能是引起移位的开始。St 表示移位终止信号,它使蛋白质移位停止。在某些情况下,膜蛋白的跨膜部分可以就是非切除性信号肽自身(如 a),但亦可能是另一段疏水性肽段(如 b)。复杂跨膜蛋白含数个信号肽和移位终止信号,它们按翻译出来的先后依次发挥作用。最终形成复杂的跨膜蛋白。

移位过程作更详细的探讨。相信在不远的将来,人们有希望发现蛋白质移位所涉及的其它蛋白或核酸因子,最终在分子水平上从核酸、蛋白质和人工脂双层膜出发建立起一个完整的蛋白质移位装置模型。

主要参考文献

[1] Rapoport, T. A. et al.: *Critical Review in Biochem.*, 1986, **20**, 73.
[2] Blobel, G. et al.: *J. Cell Biol.*, 1975, **67**, 852.
[3] Perlman, D. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1983, **167**, 391.
[4] Bedouelle, H. et al.: *Nature*, 1980, **285**, 78.
[5] Palmiter, R. D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1978, **75**, 94.

[6] Talmadge, K. et al.: *Nature*, 1981, **294**, 176.
[7] Koshland, D. et al.: *Cell*, 1982, **30**, 903.
[8] Koshland, D. et al.: *Cell*, 1980, **20**, 749.
[9] Moreno, F. et al.: *Nature*, 1980, **286**, 356.
[10] Walter, P. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1980, **77**, 7112.
[11] Hortin, B. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1980, **77**, 1365.
[12] Wiedmann, M. et al.: *J. Cell Biol.*, 1987, **104**, 201.
[13] Siegel, V. et al.: *J. Cell Biol.*, 1985, **100**, 1913.
[14] Siegel, V. et al.: *Nature*, 1986, **320**, 81.
[15] Meyer, D. I. et al.: *Nature*, 1982, **297**, 647.
[16] Gilmore, R. et al.: *J. Cell Biol.*, 1982, **95**, 463.
[17] Tajima, S. et al.: *J. Cell Biol.*, 1986, **103**, 1167.
[18] Engelman, D. M. et al.: *Cell*, 1981, **23**, 411.
[19] Perara, E. et al.: *Science*, 1986, **232**, 348.
[20] Singer, S. J. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1987, **84**, 1015.

衰变加速因子——补体激活途径中的一个膜调节蛋白

汪 策

(同济医科大学病理生理教研室, 武汉)

提 要

衰变加速因子 (DAF) 是补体激活途径中的一个重要膜调节蛋白。主要存在于红细胞、粒细胞、单核细胞、淋巴细胞及血小板表面上。能阻止两条途径 C3 及 C5 转化酶的装配并加速其衰变。在 C3 及 C5 转化酶的调控中起到了中心作用。其缺乏与疾病——阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH) 有密切关系。

补体激活的两条途径中, 有许多调节蛋白都是作用于 C3 及 C5 转化酶而发挥作用, 如补体第一型受体 (CR1)、I 因子、C4 结合蛋白 (C4bp)、H 因子、衰变加速因子 (Decay-accelerating factor, DAF) 等。除 CR1 和 DAF 存在于细胞膜上外, 其他均存在于血清中。其中 DAF 能影响两条途径中 C3 及 C5 转化酶的装配并加速它们的自身衰变, 与上述调节因子一道共同控制着补体活化的程度, 为一重要的膜调节蛋白。并且, DAF 的缺乏与阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH) 有关。近年来关于 DAF 的报道有增多的趋向, 本文拟讨论有关 DAF 的研究进展及其与 PNH 的关系。

一、DAF 的分布及理化性质

Hoffmann^[1,2] 于 1969 年首先描述了人类的能抑制补体活性的糖蛋白, 它存在于人类红细胞膜上, 不久, 从兔体内也将其提取出来。当时并不知道它为何物, 后来才阐明这种物质实际上是 DAF 与 CR1 两种不同分子的混合物。

直到 1980 年, Burge 等^[3]才从豚鼠红细胞基质中将 DAF 真正分离出来, 称作 DAF-S (S 代表 Stroma, 基质); 随后, 人类 DAF 也相继从红细胞膜及其它细胞中分离或检出^[4,5,7,8]。迄今, DAF 已在正常人几乎所有的循环血细胞 (红细胞、多形核白细胞、单核细胞、淋巴细胞及血小板) 表面上发现^[3,4,7], 但却不表达于 NK 细胞上^[18]。1986 年, Asch 等^[8]借抗 DAF 单抗、间接免疫荧光及荧光活化细胞分类器 (FACS) 发现 DAF 还表达于人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 上, 其荧光密度几乎为外周血细胞的 4—7 倍, 平均每个内皮细胞上有 3.3×10^5 个 DAF 分子; 将融合的 HUVEC 用 ³⁵S 标记, 发现 DAF 可在其中合成, 这是第一次发现 DAF 在骨髓外来源的细胞上合成和表达, 这可能与保护内皮细胞免受补体介导的损伤有关。此外, DAF 还广泛地存在于各种组织的上皮细胞和外分泌腺细胞, 各种分泌物如唾液、尿液中, 在豚鼠还发现于血清中。DAF 广泛地分布, 特别是存在于与补体密切接触的细胞表面上, 反映了其重要的生物学意义^[21], 将于后述。

[21] Blobel, G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1980, **77**, 1496.

[22] Friedlander, M. et al.: *Nature*, 1985, **318**, 338.

[23] Mize, N. K. et al.: *Cell*, 1986, **47**, 711.

[24] Davis, N. G. et al.: *Cell*, 1985, **41**, 607.

[本文于 1987 年 6 月 16 日收到]