

综述与专论

蛋白质磷酸化作用的结构基础*

李 林

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 蛋白质可逆磷酸化涉及到几乎所有细胞活动的调节, 着重探讨了影响蛋白激酶作用专一性的几个因素和磷酸化影响蛋白质功能的结构基础及作用机制.

关键词 蛋白质磷酸化, 专一性, 结构基础, 调节作用

蛋白质可逆磷酸化几乎调节着生命活动的每一过程, 细胞的生长和分化, 具体到基因复制转录调控、蛋白质合成调控和代谢调控, 分子识别和信号传导, 肌肉收缩, 肿瘤发生以及包括学习记忆在内的神经活动等都与蛋白质磷酸化密切相关^[1]. 蛋白质的磷酸化调节方式最早是在 50 年代由 Krebs 和 Fisher 在研究糖原磷酸化酶时发现, 他们因此获得了 1992 年的诺贝尔奖. 由于蛋白质磷酸化作用具有显著而又广泛的生物学意义, 所以围绕着磷酸化的研究已成为当今生命学科中的一个引人注目的焦点.

蛋白质的磷酸化是由蛋白激酶催化产生的. 到目前为止, 已发现的蛋白激酶约有 300 种左右. 尽管种类繁多, 然而它们是由同源进化而来. 目前已知的蛋白激酶基本都存在一个比较保守的由约 270 氨基酸残基构成的核心催化结构域. 在这些众多的激酶中, 许多激酶本身也受磷酸化的调节, 即它们在其他蛋白激酶的底物. 在诸如细胞信号传导、细胞周期调控等系统中, 蛋白激酶等构成纵横交错的网络, 通过一系列蛋白质 (包括蛋白激酶本身在内) 的磷酸化构成严密的调控网. 随着对这些调节网络的揭示和对磷酸化调节意义认识的不断加深, 有两个问题越来越受到研究者的关注, 一个是蛋白激酶作用专一性的问题, 另一个是磷酸化影响蛋白质功能的分子机制问题. 本文主

要从以下这两方面介绍近几年的研究进展.

1 影响蛋白激酶作用专一性的因素

1.1 蛋白质底物的结构特征

关于蛋白激酶作用的底物专一性问题, 这些年主要集中在蛋白质底物磷酸化部位区域的肽段序列特征上. 发现了一些规律性的特征^[2,3]. 例如, 依赖 cAMP 蛋白激酶 (PKA) 催化的磷酸化位点的序列特征为: RRXS(T)Y. 在磷酸化的位点 Ser (S) 或 Thr (T) 残基的 N 端间隔一个残基的位置通常是两个甚至两个以上的碱性残基 Arg (R), X 一般是比较小的残基, Y 一般是比较大的疏水残基. 然而, 序列特征显然还不能完全解释蛋白激酶的底物专一性. 底物的三维结构也在很大程度上影响了蛋白激酶的专一性. 根据已报道的一些工作, 存在这么几种情况: a. 有的蛋白质不能被某个蛋白激酶作用, 但却有被其识别的肽段序列. 例如, 6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2, 6-二磷酸酯酶存在受 PKA 作用的磷酸化位点, 合成的磷酸化部位肽段不仅是 PKA 的底物, 也是依赖 cGMP 蛋白激酶的一个比较好的底物, 然而全酶并不能被依赖 cGMP 蛋白激酶磷酸化^[4]; b. 有的蛋白质可以被某个蛋白激酶作用, 但它的磷酸化区域的肽段却不能被蛋

* 国家自然科学基金资助项目 (39370168).

收稿日期: 1996-06-12, 修回日期: 1996-09-15

白激酶识别. 细菌中的两个蛋白激酶, HPr (histidine-containing phosphocarrier protein) 激酶和异柠檬酸脱氢酶激酶被发现只能磷酸化天然的底物, 而不作用于合成的肽段^[5]; G 蛋白偶联受体激酶-1 (G protein-coupled receptor kinase 1, GRK-1) 的两处自身磷酸化部位的肽段在 mmol/L 水平时既不影响 GRK-1 的自身磷酸化作用, 也不影响 GRK-1 对受体底物的磷酸化作用, 而且肽段本身基本上不能被磷酸化^[6]. 在前面第一种情况中是蛋白质底物的三维结构影响了蛋白激酶对其原本存在的特征序列肽段的识别与磷酸化作用, 而后一种情况显然说明蛋白激酶识别的是底物三维结构而不是一级结构 (序列特征). 此外, 有一些别构酶的磷酸化受别构剂的调节, 如丙酮酸激酶的磷酸化作用受其激活剂的抑制和抑制剂的激活^[4]. 还有些蛋白质受某个蛋白激酶作用的位点只有在其他的位点被磷酸化甚至是其他的蛋白激酶磷酸化后才暴露出来. 磷酸化酶激酶的 β 亚基被 PKA 磷酸化后, 其 α 亚基才能被接着磷酸化; 糖原合成酶存在多个磷酸化位点, 只有一个位点被蛋白激酶 CK2 磷酸化后, 另一个位点才被另一激酶糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase 3, GSK-3) 磷酸化, 而接着有另外三个位点被 GSK-3 进一步磷酸化^[7]. 这些都反映了蛋白质底物的其他结构因素对磷酸化作用的影响.

1.2 蛋白激酶的结构特征

蛋白激酶家族存在一个同源的催化结构域. 不同的蛋白激酶还存在表现它们个性的其他结构域, 有的还存在调节亚基. 不少工作已表明蛋白激酶的催化结构域以外的结构域, 以及其他亚基在其作用的专一性方面起着重要的作用. 例如, G 蛋白偶联受体激酶 (GRKs) 是一个涉及到 G 蛋白偶联受体脱敏作用的蛋白激酶家族, 到目前为止发现了 6 个成员^[8]. GRKs 是一类胞浆酶, 由三个结构域构成. 当外界信号持续作用 G 蛋白偶联受体时, GRKs 通过其 C 端结构域以不同方式被转移到膜上. 比如, GRK-1 通过 C 端的聚异戊二烯基化,

GRK-2 和 GRK-3 通过 C 端结构域与 G 蛋白的 $\beta\gamma$ 亚基结合, GRK-5 直接通过 C 端结构域与膜上的磷脂作用, 而 GRK-6 通过 C 端的棕榈酰化等与膜发生作用而转移到膜上. 然后通过其 N 端结构域与活化的受体结合, 从而激活了中央催化结构域的 Ser/Thr 激酶的活力, 对受体位于胞内的 C 端尾部的多个 Ser 和 Thr 残基磷酸化. 该磷酸化引起了一类休止蛋白 (arrestin) 结合在受体上, 而导致 G 蛋白与受体的解偶联, 从而产生了所谓“脱敏现象”. 在这里, 首先 GRKs 被定位到膜上是其发挥功能所必需的, 不同的 GRK 根据它们 C 端结构域的不同结构特点以不同方式与膜相互作用^[8]. 另一方面, GRKs 的 N 端结构域与受体的相互作用又是其在体内的催化活性所需要的. 有趣的是, 即使在受体激活下, GRK 对其催化的受体 C 端尾部肽段的亲和力仍然是比较低的, K_m 值在毫摩尔水平, 而 GRK 对受体的亲和力反映在 K_m 值上是在微摩尔水平^[9]. 这一现象提示, GRKs 与其底物受体的结合亲和力主要是取决于 GRKs 的 N 端结构域与受体 (膜内第三 loop 区) 的相互作用, 而不是其催化结构域与受体上的磷酸化位点区域的肽段之间的相互作用.

近年来还提出了一种“靶向亚基” (targeting subunit) 假说. 这个假说认为: 一些具有催化亚基 (C_{sub}) 和调节亚基 (R_{sub}) 的蛋白激酶或蛋白磷酸酯酶, 其 R_{sub} 同时具有靶向作用, 又被称作靶向亚基 (T_{sub}). T_{sub} 的作用是将 C_{sub} 定位在靶位点 (T_{loc}) 上, 从而使 C_{sub} 靠近特定的底物或远离其他底物和抑制剂等. 同时, T_{sub} 与 C_{sub} 的相互作用可以改变 C_{sub} 的性质, 诸如催化活性和底物专一性等. 而且, 这种改变可以因为 T_{sub} 与 T_{loc} 和 T_{sub} 与 C_{sub} 之间的平衡而可逆变化^[10]. 依赖周期蛋白的蛋白激酶 (cyclin-dependent protein kinases, CDK) 是一类在调节细胞周期中起关键作用的蛋白激酶家族. 周期蛋白 (cyclin) 起着调节亚基的作用, 是 CDK 催化活性所必需的. 现在已知在真核细胞中至少有两种主要的

CDK, CDK1 (又称为 $p34^{cdc2}$) 和 CDK2, 和 5 类 cyclin (A~E). 从体外的实验看, 不同的 CDK 对相同的底物催化性质相似. 那么它们在体内怎样准确地在不同时期得到活化? 已有的一些证据表明, Cyclin 不仅起着调节亚基的作用, 同时也起着 T_{sub} 的作用, 将 CDK 定位到特定 T_{loc} , 使得在不同时期不同的 CDK 分别被活化并作用各自的底物^[10].

1.3 分子粘合 (molecular glue) 机制

与上述“靶向亚基”假说有相似之处的发现是存在两类所谓的“接应蛋白” (adaptor protein)^[11]. 一类称作“脚手架蛋白” (scaffold protein), 它的作用是通过与一系列蛋白激酶的结合作用将它们按序排列, 使其逐个活化并作用到下一个分子. 已发现的一个蛋白, Sterile 5 (Ste5p), 由 917 个氨基酸组成, 它与类似于 MAPK (致有丝分裂原激活蛋白激酶, mitogen-activated protein kinase) 信号途径中的一系列蛋白激酶, Ste20p、Ste11p (类似于 MEKK 或称 MAPKKK)、Ste7p (类似于 MEK, 即 MAPKK) 和 Fus3p 或 Kss1p (类似于 MAPK) 相结合而调节了它们的顺序作用^[11]. 另一类称作“锚定蛋白” (anchoring protein), 它的作用更相似于前面提到的“靶向亚基”. 已发现 II 型 PKA 通过其调节亚基 (R II) 与一类激酶锚定蛋白 (A-kinase anchoring proteins, AKAPs) 结合^[11]. R II 在“靶向亚基”假说中被看作是 T_{sub} ^[10]. 已有几个 AKAPs 被发现并得到克隆^[12]. 从 AKAPs 发挥的功能来看, 它至少含有两个功能区或功能域, 一个是激酶的结合部位, 一个是与锚定点相互作用的部位. 根据所发现的 AKAPs, 推测一个锚定蛋白不止结合一个蛋白激酶. 比如, AKAP79 被发现可以同时结合 PKA、PKC 和 Ca^{2+} , 钙调蛋白依赖的蛋白磷酸酯酶 2B, 形成的复合物可能作用在多个与这三个酶催化作用有关的受体或通道^[11]. 到目前为止, 对锚定蛋白或者脚手架蛋白究竟如何调节它们所结合的蛋白激酶还是不清楚的.

当然, 探讨蛋白激酶在细胞内的作用, 它

的作用专一性很大程度依赖于它的组织分布及其在细胞中的定位^[7]. 然而, 从前面可以看出, 许多蛋白激酶在细胞中的定位确实有着其结构因素在起作用.

综上所述, 关于蛋白激酶在细胞中作用的专一性问题是十分复杂的. 一方面蛋白激酶及其底物的结构因素直接影响了它们之间的相互识别与作用; 另一方面, 在细胞内, 看来存在一系列的所谓“接应蛋白”对蛋白激酶的亚细胞作用位点的确定和作用顺序起着关键的调节作用. 到目前为止, 可以说对于这一方面的认识还是十分粗浅的.

2 磷酸化调节机制的几种模式

众多的蛋白质被蛋白激酶磷酸化后, 功能上受到了激活或抑制. 蛋白质磷酸化与功能调节的关系是丰富多采的, 归纳起来大致有以下几类: a. 单一部位的磷酸化导致单一的功能变化; b. 多个部位的磷酸化导致单一的功能变化; c. 多个部位的磷酸化分别导致不同的功能变化; d. 单一部位的磷酸化导致多个功能的不同变化. 此外, 还发现了一些蛋白质被磷酸化但其功能不受影响的情况.

到目前为止, 对磷酸化作用的认识主要还是它产生的效应或结果, 而对于其导致功能变化的结构基础了解还很少. 根据为数不多的研究实例, 磷酸化的调节机制主要可分为以下几种模式:

2.1 磷酸化导致蛋白质整体构象的较大变化

这种情况中, 磷酸化部位远离功能部位, 磷酸化产生的结构信息经过了一个远距离的构象传导而影响到活性部位, 因此而导致了蛋白质构象的巨大变化. 对于许多别构酶, 通常它们的磷酸化位点靠近蛋白质的 N 或 C 端, 可能多属于这类模式. 到目前为止, 对这一模式研究得比较清楚的例子是糖原磷酸化酶 (glycogen phosphorylase, GP) 的磷酸化. GP 是第一个被发现受磷酸化调节的蛋白质. GP 的活性形式为双体, 每个亚基有 842 个残基, 分为两个结构域, 催化部位位于分子中心两个

结构域的相接处。N 端结构域 (10~ 484) 含有磷酸化部位 (Ser-14) 和 AMP、果糖-6-磷酸等多个别构部位。磷酸化位点与活性部位的距离约为 3.5 nm。GP 的磷酸化形式 (GP_a) 和去磷酸化形式 (GP_b) 分别获得了结晶并得到了解析^[13]。通过对 GP_a 和 GP_b 结构的比较, 可以清楚地发现磷酸化导致的巨大构象变化。主要的结构变化有: a. GP 的 N 端的结构是两个 α 螺旋中间加一个帽状结构 ($\alpha 1$ -cap- $\alpha 2$), 位于两亚基的界面, 磷酸化后的一个亚基上的磷酰基与另一亚基帽状结构中的 Arg43 相互作用, 而将该帽状结构拉向自己亚基的 $\alpha 2$, 而产生了一个高亲和力的 AMP 别构部位; b. 在 T 态的 GP_b 中, 活性部位离分子表面约 1.5 nm, 282~ 286 loop 结构阻碍了活性中心通道, 活性部位中的 Arg569 包埋在内部。磷酸化后或者在别构激活剂存在时, 以上的 loop 结构被移开, 而 Arg569 暴露形成了底物识别部位, 等等^[13]。

2.2 磷酸化导致功能部位区域构象的变化

磷酸化部位靠近功能部位, 磷酸基团直接与功能部位区域中的某个或某些残基相互作用, 而改变或调整了功能部位的构象。晶体结构显示 PKA 的催化亚基由两个“叶瓣”(lobe) 构成, 催化中心位于由两个“叶瓣”之间形成的裂缝的底部。Thr197 残基是该酶的一个自身磷酸化位点。这个位点十分靠近催化部位, 磷酰基与催化残基 (Asp166) 相邻的一个残基 (Arg165) 有直接的相互作用。同时, 磷酰基与上下两个“叶瓣”的某些残基 (His87, Lys189) 也有相互作用, 从而使得催化部位呈现较紧凑的结构^[14]。这个位点的磷酸化对 PKA 的催化功能是十分重要的。另外两个蛋白激酶, p34^{cdc2} 和 MAPK 的结构也已得到解析。它们与 PKA 的结构都十分相似^[15]。不同于 PKA 的是, p34^{cdc2} 和 MAPK 相应于 PKA 的 Thr197 的位点 (p34^{cdc2} 的 Thr161, MAPK 的 Thr183 和 Tyr185) 不是自身磷酸化位点, 而是由其他激酶催化的磷酸化位点。比较去磷酸化形式的 p34^{cdc2} 和

MAPK 与磷酸化形式的 PKA 的结构发现, p34^{cdc2} 和 MAPK 的活性部位表现一种开放的构象, 与催化或底物结合有关的一些残基的位置或空间取向不正确或不合适等^[15]。例如, PKA 中 Lys72, Glu91 和 Asp184 对 ATP 的磷酸基团的取向是非常重要的。而在 p34^{cdc2} 中, 相应的三个残基 Lys33、Glu51 和 Asp145 位置明显不同, 有的包埋, 有的取向不合适, 等等。由此可以看出在相应于 PKA 的 Thr197 位点的磷酸化对维持局部构象的重要性。另外一个研究比较清楚的是, HPr 蛋白的 Ser46 的磷酸化直接与其功能部位相互作用, 而导致了其活性中心 His15 附近区域也是该蛋白质的一个表面的结构的变化, 从而影响了其功能^[13]。

2.3 磷酰基的空间位阻效应导致功能丧失

异柠檬酸脱氢酶 (ICDH) Ser113 磷酸化后, 该酶完全失活, 不能结合底物异柠檬酸, 但仍然可以结合辅酶。磷酸化并没有改变酶的活性部位的构象。对 ICDH 的晶体结构分析表明, 磷酸化在 Ser113 后的磷酰基占据了底物异柠檬酸的一个羧基的位置。当以苹果酸 (四碳糖, 比异柠檬酸缺少一个乙基结构) 代替异柠檬酸为该酶的底物时, 尽管催化活力降低了许多, 但磷酸化形式的酶与去磷酸化形式酶对它的结合亲和力基本相同, 而磷酸化形式的酶完全不能结合异柠檬酸^[16]。结合一些定点突变的研究和分析, 也证明是磷酰基的空间位阻效应导致 ICDH 的失活。另外一个关于磷酸化不改变蛋白构象的例子是 cystatin, 一个 Cys 蛋白水解酶的可逆抑制剂, 由 116 个氨基酸组成, Ser80 可被磷酸化。NMR 和晶体 X 射线衍射的结果都表明该磷酸化基本不影响 cystatin 的构象。然而, 该磷酸化的功能到目前还不清楚。

2.4 磷酸化提供被其他蛋白质识别的标志

SH2 结构域作为一个结构元件在细胞信号传导系统中的作用及其重要性已十分清楚^[17]。与酪氨酸蛋白激酶相关的受体所介导的信号传导的过程, 首先是活化的受体或自身磷酸化, 或被游离的酪氨酸激酶磷酸化, 磷酸

化的 Tyr 残基则被下一步的信号蛋白上的 SH2 结构域所识别和结合, 使信号进一步传递下去. SH2 结构域与磷酸化的 Tyr 肽段的复合物的晶体结构已得到解析^[18]. 在这里, Tyr 残基的磷酸化起着一种标志的作用, 被 SH2 结构域所识别和结合. 在前面, 提到了 GRKs 在 G 蛋白偶联受体的胞内 C 端尾部多个 Ser/Thr 位点的磷酸化, 能引起一类休止蛋白对受体的结合. 磷酸化是休止蛋白结合所必需的. 显然, 这里的磷酸化作用也是提供一个识别的标志或结合的位点, 休止蛋白的结合导致 G 蛋白与受体解偶联, 从而产生所谓“脱敏现象”^[8,9].

综上所述, 尽管到目前为止, 被了解的磷酸化调节机制的例子并不多, 但已反映出模式的多样性. 总的来看, 磷酸化的作用可以分为两类, 一类是相对静态的影响, 比如磷酸基团本身的空间位置和标记作用; 另一类则是磷酸化引入了一个负电性基团, 通过与蛋白质分子上其他基团的相互作用, 改变或调整了蛋白质的空间构象, 从而导致激活或抑制. 蛋白质, 特别是酶的活性调节方式非常多, 许多调节方式不外乎以上两类作用. 那么磷酸化的作用与其他调节方式之间是否会有什么联系? 现在已有不少研究工作表明, 磷酸化对某些蛋白质结构和功能的影响确实与其他一些调节方式, 如别构调节、糖基化等相似或相同. 比如前面提到的 GP 的磷酸化对一些结构的影响相似于别构调节^[15]. 这可能表明一个基本的现象, 即蛋白质(酶)的调节性(包括磷酸化的调节)是寓于蛋白质本身的结构与功能的特定关系中.

蛋白质磷酸化广泛涉及到生命活动的各个方面, 贯穿了生命科学研究的各个领域. 对蛋白激酶作用专一性以及磷酸化对蛋白质调节作用的结构基础的深入研究、揭示与阐明不仅有助于人类对于涉及到蛋白质磷酸化的细胞活动的深刻认识. 而且在此基础上, 将产生一系列预防和治疗人类疾病的有效药物. 相信围绕着磷酸化的研究势必对揭示生命现象的本质, 对

预防和治疗人类疾病及有效药物的开发应用具有十分重要的理论和应用价值.

参 考 文 献

- 1 敖世洲主编. 蛋白质可逆磷酸化对细胞活动的调节. 上海: 上海科学技术出版社, 1994, 1~ 253
- 2 Pearson R, Kemp B. Protein kinase phosphorylation site sequences and consensus specificity motifs: Tabulations. *Methods in Enzymol*, 1991, **200**: 62~ 81
- 3 Meggio F, Marin O, Pinna L. Substrate specificity of protein kinase CK2. *Cell Mol Biol Res*, 1994, **40**: 401~ 409
- 4 李 林. 糖酵解途径中的蛋白质磷酸化作用. 见: 敖世洲主编. 蛋白质可逆磷酸化对细胞活动的调节. 上海: 上海科学技术出版社, 1994. 115~ 130
- 5 Saier Jr M. Bacterial protein kinases that recognize tertiary rather than primary structure? *Res Microbiol*, 1994, **145**: 647~ 650
- 6 Palczewski K, Buczylo J, van Hooser P *et al.* Identification of the autophosphorylation sites in rhodopsin kinase. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 18991~ 18998
- 7 Walsh D, van Patten S. Multiple pathway signal transduction by the cAMP-dependent protein kinase. *FASEB J*, 1994, **8**: 1227~ 1236
- 8 Premont R, Inglese J, Lefkowitz R. Protein kinases that phosphorylate activated G protein coupled receptor. *FASEB J*, 1995, **9**: 175~ 182
- 9 Haga T, Haga K, Kameyama K. G protein coupled receptor kinases. *J Neurochem*, 1994, **63**: 400~ 412
- 10 Hubbard M, Cohen P. On target with a new mechanism for the regulation of protein phosphorylation. *TIBS*, 1993, **18**: 172~ 177
- 11 Faux M, Scott J. Molecular glue: kinase anchoring and scaffold proteins. *Cell*, 1996, **85**: 9~ 12
- 12 Mochly-Rosen D. Localization of protein kinases by anchoring proteins: a theme is signal transduction. *Science*, 1995, **268**: 247~ 251
- 13 Johnson L. The effects of phosphorylation on the structure and function of proteins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1993, **22**: 199~ 232
- 14 Bossemeyer D. Protein kinases structure and function. *FEBS Lett*, 1995, **369**: 57~ 61
- 15 Morgan D, De Bondt H. Protein kinase regulation: insights from crystal structure analysis. *Curr Opin Cell Biol*, 1994, **6**: 239~ 246
- 16 Dean A, Koshland D. Electrostatic and steric contributions to regulation at the active site of isocitrate dehydrogenase. *Science*, 1990, **249**: 1044~ 1046

17 Pawson T. Protein modules and signalling networks. *Nature*, 1995, **373**: 573~ 580

18 Waksman G, Kominos D, Robertson S *et al.* Crystal structure of the phosphotyrosine recognition domain SH2 of v-src complexed with tyrosine-phosphorylated peptides. *Nature*, 1992, **358**: 646~ 653

Structural Basis of Protein Phosphorylation. LI Lin (*Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai*

200031, China).

Abstract Protein reversible phosphorylation is critically involved in regulation of almost every cellular process. Several factors which influence or determine the specificity of protein kinases and the structural aspects of regulation of protein by phosphorylation are mainly discussed.

Key words protein phosphorylation , specificity, structural basis, regulation

神经生长因子结构与功能研究进展

俞萍 柳川 王会信

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 神经生长因子 (NGF) 是神经营养因子家族的典型代表, 它控制着脊椎动物周围和中枢神经系统中部分神经元的发育和存活. NGF 的三维结构是以“胱氨酸结”和 β 折叠为基础, 它以二聚体的形式结合细胞表面的受体从而发生生物学效应. 参与这些反应的氨基酸残基已通过化学修饰和定点突变法加以确定, 这有助于更进一步理解其结构与功能的关系.

关键词 神经生长因子, 结构, 功能, 基因突变, 化学修饰

阐明蛋白质和酶的结构与功能的相互关系必须精确了解其空间结构及识别作用底物的活性中心基团, 蛋白质的三维结构可以通过 X 射线晶体衍射方法进行研究, 活性中心基团则可以用传统的化学修饰法和现在常用的定点突变法得以确定. 这些实验方法和手段为我们提供了更多更新的结构与功能的信息.

小鼠颌下腺神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是最早发现的生长因子之一, 很久以前就对其进行过大量的化学修饰实验, 得出了许多零星散在的研究结果. 直到前不久阐明了 NGF 的空间结构才使我们对它的结构与功能有了系统的了解. 近几年 Ibanez 等利用基因工程技术进一步研究了 NGF 结构与活性的关系, 使我们逐步对其结构和功能的相关性有了更深入更完整更丰富的认识.

1 NGF 的三维结构和“胱氨酸结”超家族

神经生长因子最早是从小鼠颌下腺中分离纯化的, 其活性功能中心是同源 β 二聚体, 即 β NGF, 每个单体由 118 个氨基酸残基组成, 含三对分子内二硫键. 1991 年 McDonald 等^[1]成功地用 X 射线衍射方法分析了 NGF 分子的三维结构. NGF 富含 β 折叠, 每个单体的折叠由三条伸长的扭曲的反平行的 β 折叠形成. 整个分子呈长形, 有一个平的疏水性很强的表面, 该表面使两个亚基头对头由疏水的非共价作用连结形成二聚体. 这些连结位于分子的上、中、下三个区域, 由芳香性残基和三个二硫键起主导作用. 每个单体的上部是三个 β 发

收稿日期: 1996-10-03, 修回日期: 1997-02-03