

- Verlag, 1991. 9~ 21
- 9 Hawke K H, Boyd V L. Chemical C-terminal sequencing. In: Jornvall H, eds. *Methods in Protein Sequence Analysis*. Basel: Birkhauser Verlag, 1991. 35~ 45
 - 10 Bailey J M, Tu O, Issai G, *et al.* C-terminal sequence analysis of polypeptides containing C-terminal proline. In: Crabb J W ed. *Techniques in Protein Chemistry VI*. San Diego: Academic Press, 1995. 239~ 247
 - 11 Bailey J M, Miller C G. Automated methods for C-terminal protein sequencing. In: Smith B J ed. *Protein Sequencing Protocols*. Totowa: Humana Press, 1997. 259~ 269
 - 12 Miller C G, Hawke D H, Tso J, *et al.* Automated C-terminal protein sequence analysis using the Hewlett-Packard G1009A C-terminal protein sequencing system. In: Crabb J W ed. *Techniques in Protein Chemistry VI*. San Diego: Academic Press, 1995. 219 ~ 227
 - 13 Stark G R. Sequential degradation of peptides from their carboxyl termini with ammonium thiocyanate and acetic anhydride. *Biochemistry*, 1968, **7** (9): 1796~ 1807
 - 14 Boyd V L, Bozzini M, Guga P J, *et al.* Activation of the carboxy terminus of a peptide for carboxy-terminal sequencing. *J Org Chem*, 1995, **60** (11): 2581~ 2587
 - 15 Anumula K R, Tang S. Novel chemistry for sequencing of proteins from carboxyl terminus yields a simple method. *FASEB J*, 1995, **9** (6): 1275
 - 16 Mo B L, Li J, Liang S P. Chemical carboxy-terminal sequence analysis of peptides using acetyl isothiocyanate. *Anal Biochem*, 1997, **252** (1): 169~ 176
 - 17 Inglis A S, De Luca C. A new chemical approach to C-terminal microsequence analysis via the thiohydantoin. In: Imahori K, Sakiyama F eds. *Methods in Protein Sequence Analysis*. New York: Plenum Press, 1993. 71~ 78
 - 18 Anumula K R, Tang S. Carboxy terminal sequencing of protein by a novel manual method. *FASEB J*, 1996, **10** (8): 2956
 - 19 Boyd V L, Bozzini M, Zon G, *et al.* Sequencing of peptides and proteins from the carboxy terminus. *Anal Biochem*, 1992, **206** (2): 344~ 352
 - 20 Bozzini M, Zhao J, Yuan P-M, *et al.* Applications using an alkylation method for carboxy-terminal protein sequencing. In: Crabb J W ed. *Techniques in Protein Chemistry VI*. San Diego: Academic Press, 1995. 229~ 237
 - 21 Inglis A S. Chemical procedures for C-terminal sequencing of peptides and proteins. *Anal Biochem*, 1991, **195** (1): 183~ 196
 - 22 Mo B L, Li J, Liang S P. A method for preparation of amino acid thiohydantoin from free amino acids activated by acetyl chloride for development of protein C-terminal sequencing. *Anal Biochem*, 1997, **249** (2): 207~ 211
 - 23 莫碧兰, 李江, 梁宋平 (Mo B L, Li J, Liang S P). 一种用于蛋白质C端序列测定的脯氨酸乙内酰硫脲 (TH-Pro) 新制备方法. *中国生物化学与分子生物学报* (*Chin J Biochem Mol Biol*), 1998, **14** (2): 186~ 191

Mechanism and Progress of (iso)Thiocyanate Approach for C-Terminal Sequence Analysis of Proteins. MO Bi-Lan, LI Jiang, LIANG Song-Ping (Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha 410081, China).

Abstract Protein C-terminal sequence analysis is an important technique in protein chemistry and molecular biology. (iso)Thiocyanate approach appears to be the prevailing method since it was first described by Schlack and Kumpf in 1926. The chemical mechanism, the advances of (iso)thiocyanate approach and the preparation of amino acid thiohydantoin are reviewed and discussed in detail.

Key words protein C-terminal sequencing, (iso)thiocyanate approach, activation, coupling, cyclization, cleavage, amino acid thiohydantoin

细胞外基质与基质金属蛋白酶*

赵云阁 欧尔比特·安尼瓦尔¹⁾ 祝 诚

(中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 细胞外基质 (ECM) 是存在于细胞之间的动态网状结构, 由胶原、蛋白聚糖及糖蛋白等大分子物质组成。这些大分子物质可与细胞表面上的特异性受体结合, 通过受体与细胞骨架结构直接发生联系或触发细胞内的一系列信号传导而引起不同的基因表达, 从而导致细胞的生长和分化。作为降解 ECM 成分最重要的酶-基质金属蛋白酶 (MMPs) 及其组织抑制因子 (TIMPs) 在这一过程中起着非常重要的作用。MMPs 是一类依赖金属离子锌并以 ECM 成分为水解底物的蛋白水解酶。其在转录水平的表达受到生长因子、细胞因子及激素等因素的严格调控, 在蛋白质水平其活性也受到其激活剂和抑制剂的调节。MMPs 通过对 ECM 成分的水解来影响其降解与重组的动态平衡而参与多种细胞的生理和病理过程。

关键词 细胞外基质, 基膜, 基质金属蛋白酶, 基质金属蛋白酶组织抑制因子

学科分类号 Q26

* 95 攀登预选项目。 ¹⁾ 新疆师范大学生物学系, 乌鲁木齐 830053.

收稿日期: 1998-02-23, 修回日期: 1998-06-15

ECM 是存在于细胞与细胞之间的结缔组织, 以前认为它只起细胞与细胞的连接与支持作用, 并无其他重要功能. 目前证实 ECM 不仅参与多种细胞的生理过程, 如: 细胞的迁移、分化、增殖、生殖等过程. 而且还参与炎症、肿瘤浸润、转移等病理过程. 所以降解 ECM 的 MMPs, 已成为目前研究的焦点.

1 细胞外基质 (ECM)

ECM 是一类由胶原、蛋白聚糖及糖蛋白等大分子物质组成的动态网状结构. 它可以分为基膜 (BM) 和间隙结缔组织 (ICT) 两大类.

1.1 基膜 (BM)

BM 是一层厚约 40~ 400 nm 特殊的 ECM, 它将上皮细胞或内皮细胞与下层的基质分开. 大多数 BM 由两层不同的电子密度层组成: 紧贴上皮或内皮细胞质膜, 厚度约为 10~ 50 nm 的低电子密度层, 以及靠近基质约 30~ 300 nm 厚的高电子密度层. 但也有些组织的 BM 由三层组成, 中间为高电子密度层, 两侧各为低电子密度层. BM 是由胶原、蛋白聚糖和非胶原性的糖蛋白等大分子组成的超分子网状结构. 它的主要成分为 IV, VII 型胶原、层粘连蛋白 (LN)、蛋白聚糖等组成^[1]. 其中, IV 型胶原通过其 N 端和 C 端与其他大分子连接形成一个相对规则的网状结构. 虽然目前已发现 IV 型胶原有六种 α 链, 即 $\alpha 1$ (IV) - $\alpha 6$ (IV), 但在 BM 中 IV 型胶原的主要成分是由 $\alpha 1$ (IV) 和 $\alpha 2$ (IV) 组成, 其分子质量分别为 185 和 170 ku. LN 是由 α 、 β 和 γ 三条链组合而成, 其分子质量分别为 400 ku、200 ku 和 210 ku. BM 的特异性是通过不同的组织特异性的 LN、IV 型胶原及蛋白聚糖的不同组合来实现的. 在 BM 的结构上含有许多与细胞膜表面受体特异结合的结合位点, 这些细胞表面受体主要是整合素. 整合素由 α 和 β 两个亚基构成, 至少已发现 $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 、 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 、 $\alpha 7\beta 1$ 、 $\alpha V\beta 3$ 、 $\alpha II\beta 3$ 和 $\alpha 6\beta 4$ 等九种整合素. 其中, $\alpha 1\beta 1$ 和 $\alpha 2\beta 1$ 既可以与 IV 型胶原结合, 也可以与 LN 结合, $\alpha 6\beta 1$ 和 $\alpha 7\beta 1$ 只与 LN 结合, 而 $\alpha 5\beta 1$ 只与纤粘连蛋白 (FN) 结合^[2].

1.2 间隙结缔组织 (ICT)

ICT 是由胶原等异源物质组成的复杂网状结构, 存在于基质及特化组织 (骨和软骨) 等部位. ICT 的主要成分为胶原, I 和 III 型胶原存在于大多数结缔组织中, 而 II 和 IX 型胶原则大量分布于软骨

组织中. 除胶原外, ICT 还含有 FN、弹性蛋白、tenascin 以及各种蛋白聚糖^[3].

2 MMPs

许多酶类可以降解 ECM 成分中的大分子蛋白, 但主要的降解酶有丝氨酸蛋白酶类、半胱氨酸蛋白酶类和 MMPs 三大类. 在这三类蛋白水解酶中, MMPs 被认为是最重要的一类, 因为: a. MMPs 直接以酶原的形式分泌到 ECM 中, 并在正常生理条件下发挥作用. b. MMPs 的表达及活性均受到严格调控, 且在 ECM 重组的部位易于诱导表达. c. MMPs 中的一些酶是迄今为止已发现的唯一能分解纤维类胶原的酶^[2~4].

2.1 MMPs 家族简介

MMPs 家族中已经被发现的成员有五大类, 20 种之多 (表 1). 第一类为胶原酶, 他们的主要水解底物是纤维类胶原, 即 I、II、III 型胶原. 前三种酶分别作用于 $\alpha 1$ (I) 链上的 Gly775~ Ile776 和 $\alpha 2$ (I) 链上的 Gly775~ Leu776 之间的肽键, 将 I 型胶原水解成 1/4 和 3/4 片段. 第二类为明胶酶, 他们的主要水解底物是变性胶原、及 BM 的主要成分 IV 型胶原和 V 型胶原等, 他们都可以作用于 $\alpha 1$ (IV) 链的 Gly446~ Ile447 位点和 $\alpha 2$ (IV) 链的 Gly464~ Leu465 位点使 IV 型胶原降解成为 1/4 和 3/4 的片段. MMP-2 可以分解糖蛋白成分 FN 和 LN, 而 MMP-9 则不能^[5]. 第三类为基质水解酶类, MMP-3 和 -10 的水解底物比较广泛, 如 III、IV、V 型胶原、明胶、蛋白聚糖以及糖蛋白等. 第四类为膜型-MMPs, 他们是 MMP 家族中的新成员, MMP-14、-15、-16、-17cDNA 分别含有 3.4、3.53、3.1 和 1.55 kb, 可分别编码 582、699、604 和 518 个氨基酸, 分子质量分别为 63、72、64 和 70 ku. 目前已发现 MMP-14 和 MMP-16 可以激活 MMP-2^[2]. 第五类为其他 MMPs, 其中 MMP-7 的水解底物也较广泛, 如: 蛋白聚糖、明胶、IV 型胶原、FN、LN 及 entactin 等^[4].

MMPs 家族成员都存在以下五个基本特性: a. 他们都以酶原的形式分泌到 ECM 中, 并在适当条件下在该部位被激活而发挥生理作用. b. 他们的活性都依赖于 Zn^{2+} 的存在, Ca^{2+} 对其活性及稳定性也起一定作用. c. 他们结构上具有 40%~ 50% 的同源性. d. 在体内存在他们的天然激活剂和抑制剂 (MMPs 组织抑制因子-TIMPs 及血浆抑制因子—— $\alpha 2$ 巨球蛋白). e. 至少能水解一种 ECM 成分.

表 1 基质金属蛋白酶家族

组别名称	MMP 编号	分子质量/ ku	水解底物
I 胶原酶:			
胶原酶-1	MMP-1	52	I , II , III, VII, X 型胶原; 明胶; TNF-α
胶原酶-2	MMP-8	75	I , II , III型胶原
胶原酶-3	MMP-13	52	I 型胶原
胶原酶-4	MMP-18	不详	不详
II 明胶酶:			
明胶酶 A	MMP-2	72	明胶; I , IV, V, VII, X 型胶原; 弹性蛋白; FN; TNF-α
明胶酶 B	MMP-9	92	明胶; IV, V 型胶原; 弹性蛋白; TNF-α
III 基质水解酶:			
基质水解酶-1	MMP-3	55	蛋白聚糖; LN; 明胶; III, IV, V, IX 型胶原; TNF-α; MMP-1; MMP-8; MMP-9; FN
基质水解酶-2	MMP-10	55	蛋白聚糖; FN; III, V, IV 型胶原; MMP-8; 明胶
基质水解酶-3	MMP-11	61	FN 和 LN
IV 膜型 MMPs:			
膜型 1-MMP	MMP-14	63	酶原型 MMP-2
膜型 2-MMP	MMP-15	72	不详
膜型 3-MMP	MMP-16	64	酶原型 MMP-2
膜型 4-MMP	MMP-17	70	不详
V 其他:			
端肽酶	MMP-4	不详	I 型胶原的 α1 链和 FN
3/4 胶原内肽酶	MMP-5	不详	I , II , III型胶原降解后的 3/4 片段及明胶
酸性金属蛋白酶	MMP-6	不详	软骨、蛋白聚糖及胰岛素的 β 链
基质水解素	MMP-7	28	LN; FN; 蛋白聚糖; 纤溶酶原激活因子; 明胶; 弹性蛋白; IV 型胶原; entactin; tenascin; TNF-α; MMP-1; MMP-9
巨噬细胞弹性蛋白酶	MMP-12	54	弹性蛋白; FN; IV 型胶原
Cossins/ Pendas	MMP-19	不详	不详
Enamelysin	MMP-20	不详	不详

注: TNF-α: 肿瘤杀伤因子-α; MMP: 基质金属蛋白酶; FN: 纤粘连蛋白; LN: 层粘连蛋白.

2.2 MMPs 的结构域

所有的 MMPs 都含有至少三个相似的结构域, 自氨基端到羧基端依次为信号肽结构域、前肽结构域和催化结构域. 信号肽结构域由 17~ 29 个氨基酸组成. 紧接着的结构域是由 77~ 87 个氨基酸组成的前肽结构域, 这个结构域中存在一个高度保守的氨基酸序列: PRCGV (N) PD, 其中的半胱氨酸对酶原形式的维持起重要作用. 在酶原的激活过程中, 这个结构域就会被水解掉^[6]. 在所有 MMPs 的催化结构域中都含有一段十分保守的氨基酸序列: HEXGHXXGXXH, 其中的三个组氨酸被认为可以与酶活性中心部位 Zn²⁺ 结合而形成配位键, 从而对酶的催化活性起重要作用. 除了 MMP-7 外, 其他所有 MMPs 在碳末端都含有一个血结合素样结构域, 关于这个结构域的功能还没有完全搞清楚, 它可能介导 MMPs 与 ECM 成分或与 MMP 抑制剂的结合^[7, 8]. Knauper 等 (1993 年) 证明 MMP-1 和 MMP-8 在去掉这个结构域后, 其活性仍然很高, 但却失去对三股螺旋形式的胶原的水解

能力. 但 MMP-7 和 MMP-12 的活性并不依赖于这个结构域. 明胶酶中该结构域参与酶原型的明胶酶与 TIMP 的结合及 MT-MMP 对 MMP-2 的激活过程^[8]. 在膜型 MMPs 和 MMP-11 的前肽结构域和催化结构域之间还存在一个三咪唑基二氢咪唑裂解位点, 这一位点是蛋白质降解过程中易于断裂的部位, 所以这些 MMPs 在分泌过程中很易在该位点裂解掉前肽而被激活. 在明胶酶的催化结构域中还插入了一个 FN 样结构域, 其在明胶酶与底物明胶的结合中起作用. 在 MMP-9 的催化结构域和血结合素样结构域之间还存在一个富含脯氨酸的 α2 (V) 胶原样的结构域, 该结构域的功能还不清楚. 在 MT-MMP 的羧基端存在一个跨膜结构域, 可将该酶定位于细胞浆膜上^[9].

2.3 MMPs 的激活与抑制

2.3.1 MMPs 的激活: MMPs 既可以被体内存在的天然激活剂激活, 也可以在体外被特定的化学物质所激活. Okada 等 (1990 年) 发现胰蛋白酶和糜蛋白酶可以激活 MMP-3 和-8, 而对 MMP-2 和-9

则没有激活作用. 组织蛋白酶 B 和 G 也可能是 MMP 的体内激活剂^[7]. 另外有些 MMPs 也可以激活其他 MMPs, 如: MMP-14 和-16 就可以激活 MMP-2. 所有 MMPs 都可被体外激活剂激活, 如: 有机汞化合物 APMA、表面活性剂 SDS、SCN⁻ 等^[4].

关于 MMPs 的激活机制目前还不十分清楚, 但公认的学说为“半胱氨酸开关”学说. 该学说认为当 MMP 以酶原的形式存在时, 其活性中心部位的 Zn²⁺ 除了与催化结构域保守序列中的三个组氨酸上的咪唑基形成配位键外, 还与前肽结构域保守序列中的半胱氨酸形成一个配位键, 此时前肽段将酶的活性中心覆盖住, 因而没有催化活性. 某些激活剂可直接打断 Cys-Zn²⁺ 之间的配位键, 使前肽段移位, 一个水分子进入并与催化结构域保守序列中的谷氨酸结合, 然后该水分子再与 Zn²⁺ 结合形成配位键, 即水分子取代了半胱氨酸, 从而使酶的活性中心暴露, 底物进入该疏水区域而被催化降解. 有些激活剂可以将前肽段水解去掉, 或裂解掉前肽中一段, 然后酶本身进一步自动裂解而使前肽去除, 即 Cys-Zn²⁺ 打开, 使酶活性中心暴露而激活. 另外, 有些激活剂还能从 MMPs 的羧基末端水解掉一个小肽段, 从而使其进一步被激活而形成分子质量更小的超活性形式. 另一种激活机制可能是某些激活剂可以改变 MMPs 的空间构象, 使其发生某种程度的扭曲, 当扭曲产生的张力大于打开 Cys-Zn²⁺ 的键能时, Cys-Zn²⁺ 打开而被激活.

2.3.2 MMPs 的抑制: 已发现的 MMPs 的天然抑制剂有两类, 一类是 MMPs 的组织抑制因子 (TIMP), 已发现四种, 分别为 TIMP-1、-2、-3 和-4. 另一类是 MMPs 的血浆抑制剂 α_2 -巨球蛋白 (α_2 -M)^[10]. 另外, MMPs 的活性也可被络合剂 EDTA 和 1, 10-Phenylthiolin 所抑制^[8].

TIMP-1 是一个由 184 个氨基酸组成的糖蛋白, 其分子质量为 28.5 ku. TIMP-2 则是一个非糖化的由 194 个氨基酸组成的蛋白质, 其分子质量为 21 ku. Negro 等 (1995 年) 证明 TIMP-2 只抑制 MMP-2 的活性, 而不影响 MMP-9 的活性. TIMP-3 也是一个分子质量为 21 ku 的蛋白质, 它可以与 ECM 成分结合. 包括 TIMP-4 在内的所有 TIMPs 均可与激活以后的 MMPs 1:1 结合, 从而抑制其活性. TIMP-1 和 TIMP-2 都含有 12 个半胱氨酸, 他们靠二硫键两两结合而形成大小不等的六个环 (loop), 其中在其氨基端构成三个比较大的环, 在羧基端形成三个比较小的环. 氨基端的三个

大环可以与 MMPs 催化结构域相互作用而起抑制作用^[2,3]. 这种抑制作用很有可能是 TIMP 上的半胱氨酸与活性中心部位的 Zn²⁺ 结合, 而覆盖在其活性中心部位, 由于空间位阻效应使底物不能与其结合而发挥其抑制作用. 也有可能是 TIMP 氨基末端上的三对半胱氨酸与激活型的 MMP 竞争酶活性中心上的 Zn²⁺, 从而使酶失活. TIMPs 除了能抑制已激活的 MMPs 的活性外, 还能阻止或延缓酶原型 MMP 转变为激活型 MMP 的过程^[4].

3 MMPs 的调节

MMPs 在体内的表达、激活以及对底物的分解过程都受到严格的调控. 这种调控可通过以下几个不同水平实现: 转录水平的基因表达调控; 转录后 mRNA 稳定性、蛋白质的翻译与酶原分泌的调控; 酶原激活的调控以及激活后抑制剂对其活性的调控.

首先, MMPs 的表达受到激素、生长因子及细胞因子的调控. 甾体激素孕酮可以抑制子宫内中 MMP-1、-3、-7、-9 和-11mRNA 的表达. 而且这种抑制作用是通过作用于 MMP 启动子 AP-1 位点上的激素反应元件来实现的. 孕酮对 MMP-7 的调节是一种间接调节, 首先孕酮作用于子宫内膜的基质细胞使其分泌 TGF- β , 然后 TGF- β 以旁分泌的形式作用于上皮细胞, 从而抑制 MMP-7 的表达. 但 MMP-2 的启动子中不含 AP-1 结合位点, 它的启动子中存在富含 GC 的序列, 更象一个管家启动子, 所以 MMP-2 的表达调控与其他 MMPs 是不同的. 糖皮质激素 (地塞米松) 既可以抑制 MMP-1 和 MMP-3mRNA 的表达, 也可以使已转录的 mRNA 的稳定性降低, 从而减少 MMP-1 和-3 蛋白的产生. 另外, 地塞米松还可以抑制 IL- β 的表达, 而使 MMP-9 的表达减少. 表皮生长因子 (EGF) 的作用与糖皮质激素的作用正好相反. 肿瘤坏死因子 (TNF- α) 和白介素-1 α (IL-1 α) 对 MMP-1、-3 和-9 的表达都具有上调作用^[4].

MMPs 对 ECM 成分降解的过程, 既受到其激活剂的调控也受其抑制剂的调控. 过去认为 MMP 对 ECM 的降解过程中, 需要 MMPs 和其抑制剂 (主要是 TIMPs) 之间的相互协调作用. 更确切一点说应该需要 MMPs 及其激活剂和抑制剂三者之间的协调作用. 例如: 在对宫外孕患者研究发现, 输卵管着床部位既有 MMP-2 mRNA 的高度表达, 也有其激活剂 MMP-14 mRNA 的高度表达. 而在

非着床部位及正常妊娠者的输卵管中, 只有 MMP-2 mRNA 的表达, 而没有 MMP-14 mRNA 的表达^[11]. 这说明 MMP 的生物活性既受到其抑制剂的调节, 也受到体内激活剂的调节.

MMPs 之间的相互作用、MMPs 与其抑制剂及其作用底物之间的关系如图 1 所示. MMPs 家族中各成员间的相互作用很有可能象血液凝固过程中各种凝血因子间的作用一样, 是一个有序过程.

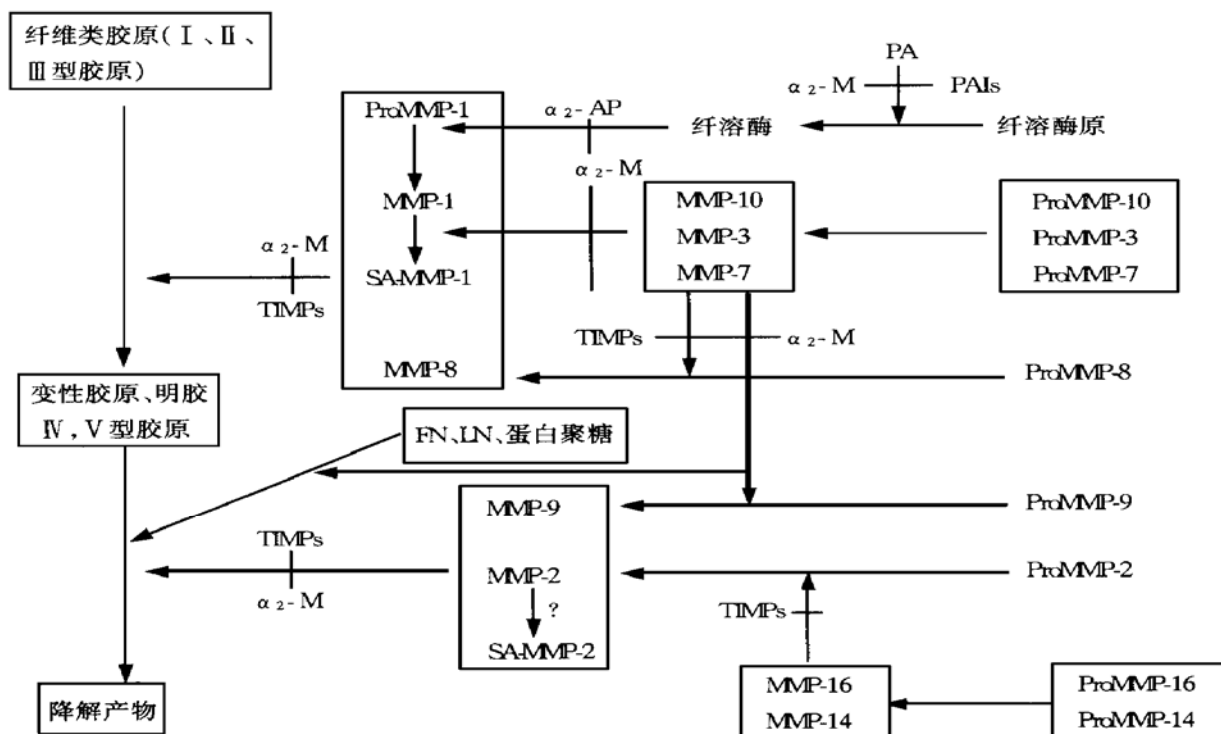


图 1 MMPs、TIMPs、纤溶系统及 MMPs 作用底物的关系

α₂-AP: α₂ 抗凝血酶; α₂-M: α₂ 巨球蛋白; PAIs: 纤溶酶原激活因子抑制剂; PA: 纤溶酶原激活因子; ProMMP: 酶原型基质金属蛋白酶; MMP: 活性基质金属蛋白酶; SA-MMP: 超活性基质金属蛋白酶; TIMP: MMPs 的组织抑制因子; →: 表示激活; ⊣: 表示抑制; FN: 纤粘连蛋白; LN: 层粘连蛋白.

4 展 望

ECM 广泛存在于机体各组织、器官中, 目前的观点认为, 细胞的生物学行为不仅仅取决于细胞发育的本身, 也受到其他细胞及 ECM 的控制. 组成 ECM 的大分子物质, 除了他们之间的相互作用外, 也可以作用于细胞表面上的特殊受体, 这些受体再与细胞骨架结构直接发生联系或触发细胞内的一系列信号传导而引起不同的基因表达, 从而导致细胞的生长与分化. 这种作用可能是存在于细胞外的 ECM 通过细胞骨架与细胞内基质 (染色质和核基质) 联系的来实现的. 因此, ECM 不仅起细胞与细胞之间机械支持和连接作用, 也是细胞和细胞之间信号传递的桥梁. MMPs 可以通过分解 ECM 成分来调节其降解和重组之间的动态平衡, 以达到消除某些特殊信号、显现某些隐含信号、甚至使基质中已存在的生物活性物质释放或激活的目的, 进

而参与细胞和组织器官的各种形态和功能变化. 这些变化既包括各组织和细胞的生长、增殖、分化; 生殖过程中子宫内膜的周期性变化、排卵、胚胎着床等生理变化. 也包括肿瘤细胞的浸润和转移, 炎症的发生及扩散等病理变化. 因此通过对 ECM 和 MMPs 的进一步研究, 不仅可以阐明 ECM 和 MMPs 在上述生理过程中的作用及作用机理, 为生命科学研究开创新领域、新局面, 也可以了解 ECM 和 MMPs 在肿瘤、炎症发病及转移中的机制, 从而发现或创建与 ECM 和 MMPs 有关的新的预防 and 治疗方法.

参 考 文 献

- 1 Timpl R, Brown J C. Supramolecular assembly of basement membranes. BioEssays, 1996, 18 (2): 123~ 132
- 2 Hurskainen T. Expression and localization of matrix metalloproteinases (MMPs) -2, -9, -14 (MT-MMP-1) and the tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in human placenta and some malignant tumors implications for trophoblasts and tumor cell

- invasion. *Acta Universitatis Ouluensis Medica*, 1996, D382 (4): 17~ 36
- 3 Reponen P. The Primary structure and developmental expression of mouse type IV collagenases. *Acta Universitatis Ouluensis, A Scintiae Rerum Naturalium*, 1994, A262 (1): 1~ 33
 - 4 Hulboy D L, Rudolph L A, Matrisian L M. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Molecular Human Reproduction*, 1997, 3 (1): 27~ 45
 - 5 Giannelli G, Falk-Marzillier J, Schiraldi O, *et al.* Induction of cell migration by matrix metalloproteinase-2 cleavage of laminin-5. *Science*, 1997, 277 (11): 225~ 228
 - 6 Woessner J F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J*, 1991, 5 (8): 2145~ 2154
 - 7 Murphy G, Docherty J P. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 1992, 7 (2): 120~ 125
 - 8 Baragi V M, Fliszar C J, Conroy M C, *et al.* Contribution of the C-terminal domain of metalloproteinases to binding by tissue inhibitor of metalloproteinases. C-terminal truncated stromelysin and matrilysin exhibit equally compromised binding affinities as compared to full-length stromelysin. *J Biol Chem*, 1994, 269 (17): 12692~ 12697
 - 9 Puente X S, Pendas A M, Liano E, *et al.* Molecular cloning of a novel membrane-type matrix metalloproteinase from a human breast carcinoma. *Cancer Res*, 1996, 56 (5): 944~ 949
 - 10 Zhu C, Woessner J F JR. A tissue inhibitor of metalloproteinases and α -macroglobulins in the ovulating rat ovary: Possible regulators of collagen matrix breakdown. *Biology of Reprod*, 1991, 45 (2): 334~ 342
 - 11 Bjorn S F, Hastrup N, Lund L R, *et al.* Co-ordinated expression of MMP-2 and its putative activator, MT1-MMP, in human placenta. *Mol Hum Reprod*, 1997, 3 (8): 713~ 723

Extra Cellular Matrix and Matrix Metalloproteinases. ZHAO Yun-Ge, Orbit¹⁾ ANWAR, ZHU Cheng (*The State Key Laboratory of Reproductive*

Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; ¹⁾ *Department of Biology, Xinjiang Normal University, Ürümqi 830053, China).*

Abstract Extra cellular matrix (ECM) is a dynamic reticular structure, which distributes among cell spaces. The structural proteins of ECM are varied and include collagens, proteoglycans, multidomain glycoproteins and other biomacromolecules. These proteins can combine with the specific receptors which exist on the surface of cells. This will result in different gene expression by connecting with intracellular skeleton frame directly or initiating signal transduction cascades, and lead to cells proliferation and differentiation. Matrix Metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) play an important role in the process of ECM destruction and remodeling. MMPs is also a Zn^{2+} dependant proteolytic enzyme. MMPs expression is regulated strictly by growth factors, cytokines, and hormones at transcription level, by their natural activators and inhibitors at protein level. MMP participate various cells physiological and pathological process by degrading different ECM components.

Key words extra cellular matrix, base membrane, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases

蛋白质溶液 NMR 结构测定的一些新进展

高广华 王大成

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 新的标记技术的进展和采用稀释的液晶作为溶剂以提供额外的结构信息, 提高了核磁共振技术测定蛋白质溶液三维结构的精度, 扩大了分子质量测定范围. 目前已经利用多维¹⁵N, ¹³C, ²H 标记 NMR 测定了许多分子质量为 30 ku 左右的蛋白质溶液结构, 这一上限可能还会被进一步提高.

关键词 核磁共振, 蛋白质三维结构, 液晶, 偶极耦合, 同位素标记

学科分类号 Q51, Q633

多维核磁共振作为测定生物大分子, 特别是蛋白质溶液三维结构最重要的手段, 近年来取得了飞速的发展. 1997 年 10 月 Nature 结构生物学分册的增刊全面综述了 NMR 用于生物大分子研究的最新进展^[1]. 在这一领域一直存在着两个备受关注的

问题, 即 NMR 测定蛋白质溶液结构的分子质量有无上限^[2]和蛋白质溶液 NMR 结构能否达到与 X 射线晶体结构相比拟的分辨率水平^[3]. 一般认为 NMR 最适于中等分子质量的蛋白质的溶液结构测