

支架蛋白

——信号转导系统中的分子胶水

倪福太¹⁾* 李 勇²⁾⁽¹⁾四平师范学院生物系, 吉林 136000; ⁽²⁾军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850

摘要 信号转导系统存在一种本身不具备酶活性的蛋白质——支架蛋白。它能同时结合两个或多个蛋白质, 支架蛋白的作用类似分子胶水, 将功能相关的蛋白粘合在一起, 从而保证了信号传递的特异和高效。

关键词 支架蛋白, 信号转导, 有丝分裂原激活的蛋白激酶途径

学科分类号 Q7

细胞信号转导的本质是蛋白质与蛋白质的相互识别和结合^[1], 例如: 配体和受体之间的识别和结合, 酪氨酸激酶、丝/苏氨酸蛋白激酶和底物之间的识别和结合。这种蛋白质的两两相互作用已被证明是信号转导的普遍现象和基本要素^[2]。支架蛋白的发现大大拓展了蛋白质相互作用的范围。

参与同一信号传递途径的蛋白质往往以大分子聚合物的形式, 从细胞中被分离出来。在这个聚合物中存在一种与一般信号转导蛋白作用不同的蛋白质。它本身不具备酶的活性, 能同时结合两个或多个信号转导蛋白, 这种蛋白质被命名为支架蛋白 (scaffold protein)^[3]。它的作用就象分子胶水, 将功能相关的蛋白粘合在一起, 从而保证了信号传递的特异性和高效性。目前已经发现了多个支架蛋白, 存在于多种信号转导系统中^[4]。

支架蛋白的广泛存在显示, 由多个蛋白质稳定聚集而组成的多聚体, 即信号转导体 (signalosome), 可能是信号传递的基本功能单位^[5]。信号转导体概念的提出深刻地影响了信号转导机制的研究。

1 支架蛋白的种类

根据功能的差别, 支架蛋白可分为两种, 催化型和锚定型^[5]。催化型支架蛋白均涉及有丝分裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 途径。MAPK 途径有多种形式, 在哺乳动物细胞中已发现三种, 在酵母中已发现五种, 但其核心成分都由三个激酶组成, 包括 MAPKKK (MAPKK 激酶), MAPKK (MAPK 激酶) 和 MAPK。在信号传递时, 它们被顺序激活。支架蛋白将三个激酶或其中的两个固定在一起, 使酶和底物相互靠近, 有利于底物被激酶磷酸化。此外, 支架蛋白通过将同一途径的激酶结合在一起, 避免了其他途径的干扰, 保证了信号传

递的特异性^[6]。锚定型支架蛋白将参与同一信号转导途径的几个蛋白质 (包括蛋白激酶、蛋白磷酸酶等) 固定在细胞的特定区域, 使得这些蛋白质可对外界刺激作出迅速应答。这类支架蛋白广泛存在于传递感觉和神经信号的 G 蛋白信号转导系统中^[5]。

2 催化型支架蛋白

Ste5: 在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中发现的 Ste5 是支架蛋白的原型。大多数有关支架蛋白的理论均起源于对 Ste5 的研究。酿酒酵母中存在多种不同的 MAPK 途径, 分别对假菌丝形成、孢子形成、渗透压、生长和有性生殖进行调控^[7]。其中信息素 (pheromone) 所激活的 MAPK 途径调控有性生殖。这一途径中的蛋白质失活将导致酵母失去有性生殖能力, 因此, 将编码这些蛋白质的基因命名为 sterility (ste) 基因。

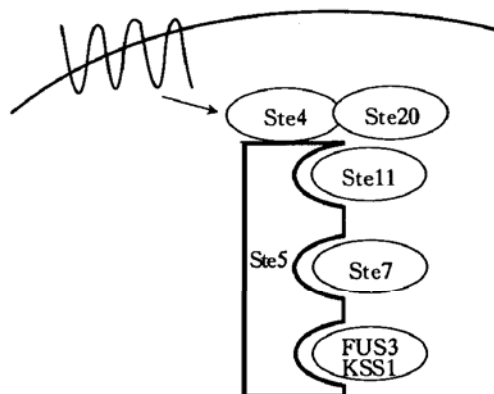


Fig. 1 Schematic diagram of Ste5 signalosome

图 1 Ste5 信号转导体示意图

* 通讯联系人。

Tel: 010-68272105, E-mail: liyong@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2000-09-18, 接受日期: 2000-11-03

信息素和相应的受体结合后, 激活相应的 G 蛋白. 使 G $\beta\gamma$ 亚基 (Ste4/ Ste18) 脱离 G α 亚基, 和支架蛋白 Ste5 结合 (图 1). 进而激活 Ste20, 再激活 MAPK 途径中三个核心的激酶 Ste11 (MAPKKK), Ste7 (MAPKK) 和 Fus3 (MAPK)^[8].

3 锚定型支架蛋白

3.1 AKAP

蛋白激酶 A (PKA) 由两个催化亚基和两个调节亚基构成 (R2C2). 其中调节亚基有两种 (R I, R II), 他们在细胞定位上有差异. R I 型的 PKA 主要游离于细胞质中, R II 型的 PKA 附着于神经突触后膜. 这是由于锚定蛋白 AKAP (A-kinase anchoring proteins) 的作用. AKAP 在进化上是保守的, 在线虫、果蝇和哺乳动物中都存在. 在哺乳动物中, AKAP 家族包括多个成员, 他们的共同特点是都含有一个 R II 亚基结合位点. 此外, 蛋白激酶 C (PKC) 和蛋白磷酸酶 2B (PP2B) 分别结合在 AKAP 的不同位点 (图 2)^[9]. 从而将具有相反作用的 PKA、PKC 和 PP2B 整合在一个复合体中, 协同调控离子通道的开放^[10].

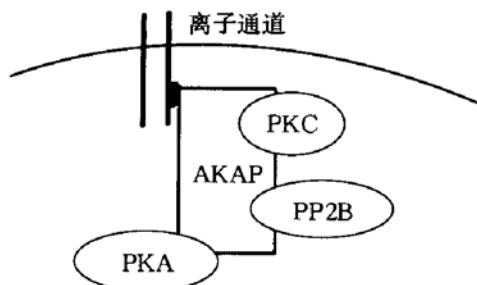


Fig. 2 Schematic diagram of AKAP signalosome

图 2 AKAP 信号转导示意图

3.2 Ina-D

果蝇感光细胞中光子激活的信号转导系统是从光子激活视紫红质 (rhodopsin) 开始的, 而后通过 G 蛋白耦联的磷脂酶 C (phospholipase C, PLC), 最终导致离子通道的开放, 改变膜的极性. 从而将光信号转变成神经冲动. 支架蛋白 Ina-D 含有 5 个 PDZ 结构域^[11]. PDZ 结构域含有 80~90 个氨基酸, 它具有联接两个蛋白质的作用. 它既可以和一些跨膜受体和离子通道蛋白结合, 也可以和其他蛋白质带有的 PDZ 形成异源双体. PDZ 结构域和目的蛋白的 C 端结合, 目的蛋白的结合区都含有一个疏水的氨基酸. Ina-D 通过 PDZ 结合该途径中的主要成分, 包括: PLC、PKC 和组成钙离子通道

的亚基 TRP (图 3)^[12], 形成一个光信号转导体. 从而大大提高了反应速度, 使一个光子产生神经冲动所需的时间仅为 10 ms.

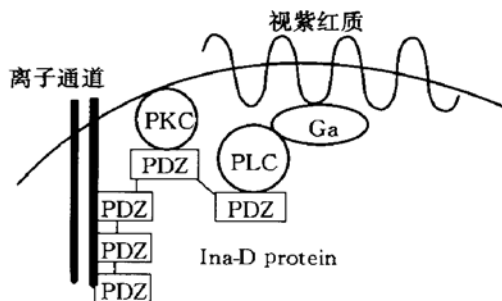


Fig. 3 Schematic diagram of Ina-D signalosome

图 3 Ina-D 信号转导示意图

4 支架蛋白发现的意义

4.1 在信号转导的研究方面

细胞可对外界环境中数目庞大的刺激起反应. 而细胞膜上受体的数目远远小于其可识别的配体的数量, 细胞内信号转导蛋白的数目又远远小于受体的数量. 即细胞可以利用少数信号转导蛋白应答多种刺激、传递多种信息. 这表明细胞信号转导蛋白是重复使用的. 细胞如何利用同一蛋白质传递不同信息是一个长期困扰人们的问题. 支架蛋白的发现一定程度上揭示了信号转导的特异性问题^[13]. 例如, 在酵母中, 蛋白质 Ste11 至少参与两种不同的 MAPK 途径. Ste11 通过不同的支架蛋白和不同的底物结合, 对应信息素刺激, Ste11 和支架蛋白 Ste5 结合, 激活 Ste7 调控有性生殖; 对应渗透压的变化, Ste11 和另一种支架蛋白 Pbs2 结合, 激活 Hog1 调控渗透压^[14].

支架蛋白的发现对信号转导的基本法则, 信号在传递过程中的级联放大, 提出了挑战. 多年来人们一直认为, 在由多个蛋白质组成的信号转导途径中 (如: A-B-C), 一个 A 会激活多个 B, 一个 B 又会激活多个 C, 这样信号在传递过程中会逐级放大. 但是, 支架蛋白将 A、B、C 耦联成一个整体, 限定了参与反应底物的数目, 从而也就限制了信号的放大. Scott 等通过精巧的反证实验, 证明在 Ina-D 信号转导复合体中并不存在信号的级联放大. 他们假设: 如果存在信号放大, 中介信号转导分子数目的变化会影响放大的倍数. 但是, 含有较少 G 蛋白的 α 亚基 (Ga) 或 PLC 的突变体对于一个光子刺激的应答和野生型具有同样的放大倍数. 实验结果还显示, 信号的强弱不取决于中介分子的

量, 而取决于和信号转导体相耦联的离子通道的数目. 综合以上结果表明, 一个光子激活一个视紫质(受体), 从而激活一个信号转导体, 最终打开一个或多个离子通道(效应器)^[15].

目前, 越来越多的证据显示信号的传递是以信号转导体为单位, 而非单个蛋白质^[16, 17]. 信号转导体的具体作用机制还有待进一步研究. 其中支架蛋白的行为可能比想象的更复杂. Ste5 的发现者之一 Elion 在对 Ste5 的深入研究中发现, 只有从核转移到细胞质中的 Ste5 才能支持信号转导^[18].

4.2 在细胞生物学研究的方面

支架蛋白的发现不但对细胞信号转导的研究有重要意义, 对整个细胞生物学的研究而言, 也有所启示.

随着基因组计划的即将结束, 在理论上, 蛋白质的数目和一级序列已基本明确. 今后研究的重点是阐明蛋白质的功能. 作为功能基因组研究的有力工具, 蛋白质组研究, 正在蓬勃开展. 目前, 又有人提出细胞组 (cellomics), 研究蛋白质在细胞三维空间中的定位. 蛋白质的定位与其功能有密切的联系. 细胞内存在一个高度有序的网络, 它由细胞膜的内表面、细胞骨架、各种细胞器和支架蛋白组成. 蛋白质在细胞内并非均匀的随机分布, 其运动也非各向同性, 其行为受到细胞网络的调节. 支架蛋白的研究是细胞组研究的重要组成, 它的发现揭示了细胞调控蛋白定位的一种方式. 著名评论杂志《Current Opinion in Cell Biology》今年四月用整版刊登了支架蛋白研究的最新进展, 充分说明支架蛋白研究的重要地位^[19].

支架蛋白的存在, 确立了大分子多聚酶体在信号转导中的重要地位. 此外, 在其他一些目前生物学的热点现象中, 如: 细胞凋亡和细胞周期的调控, 大分子多聚酶体均起到重要作用. 这使得人们不得不重新认识在分子生物学界一度冷落的多聚酶体的研究. 这一现象提示, 随着生命科学的飞速发展, 生物化学基本规律的研究显得尤为重要^[20].

参 考 文 献

- Hunter T. Signaling-2000 and beyond. *Cell*, 2000, **100** (1): 113~ 127
- Pawson T. Protein modules and signaling networks. *Nature*, 1995, **373** (6014): 573~ 580
- Pawson T, Scott J D. Signaling through scaffold, anchoring, and adapter proteins. *Science*, 1997, **278** (3546): 2075~ 2080
- Faux M, Scott J D. Molecular glue: kinase anchoring and scaffold protein. *Cell*, 1996, **85** (1): 9~ 12
- Burack W R, Shaw A S. Signal transduction: hanging on a scaffold. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, **12** (2): 211~ 216
- Garrington T P, Johnson G L. Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, **11** (2): 211~ 218
- Herskowitz I. MAP kinase pathways in yeast: for mating and more. *Cell*, 1995, **80** (2): 187~ 197
- Choi K Y, Satterberg B, Lyons D M, *et al.* Ste5 tethers multiple protein kinases in the MAP kinase cascade required for mating in *S. cerevisiae*. *Cell* 1994, **78** (3): 499~ 512
- Colledge M S, Scott, J D. AKAPs: from structure to function. *Trends Cell Biol*, 1999, **9** (6): 216~ 221
- Westphal R S, Tavalin S J, Lin J W, *et al.* Regulation of NMDA receptors by an associated phosphatase-kinase signaling complex. *Science*, 1999, **285** (5424): 93~ 96
- Harrison S C. Peptide surface association: the case of PDZ and PTB domain. *Cell*, 1996, **86** (3): 341~ 343
- Tsunoda S, Sierralta J, Sun Y M. A multivalent PDZ-domain protein assembles signalling complexes in a G-protein-coupled cascade. *Nature*, 1997, **388** (6639): 243~ 249
- Schaeffer H J, Weber M J. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. *Mol Cell Biol*, 1999, **19** (4): 2435~ 2444
- Whitmarsh A J, Davis R J. Structural organization of MAP-kinase signaling modules by scaffold proteins in yeast and mammals. *Trends Biochem Sci*, 1998, **23** (12): 481~ 485
- Scott K, Zuker C S. Assembly of the Drosophila phototransduction cascade into a signalling complex shapes elementary responses. *Nature*, 1998, **395** (6704): 805~ 808
- Tzivion G, Luo Z, Avruch J. A dimeric 14-3-3 protein is an essential cofactor for Raf kinase activity. *Nature*, 1998, **394** (6688): 88~ 92
- Sternberg P W, Alberola I. Conspiracy theory: Ras and Raf do not act alone. *Cell*, 1998, **95** (3): 447~ 450
- Mahanty S K, Wang Y M, Farley F W, *et al.* Nuclear shuttling of yeast scaffold Ste5 is required for its recruitment to the plasma membrane and activation of the mating MAPK cascade. *Cell*, 1999, **98** (4): 501~ 512
- Hancock J F, Moon R T. Cellular aspects of signal transduction. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, **12** (2): 153~ 156
- Welch G R, Clegg J S, Kell D B. Macromolecular interactions: tracing the roots. *Trends Biochem Sci*, 2000, **25** (3), 150~ 153

1 Hunter T. Signaling-2000 and beyond. *Cell*, 2000, **100** (1):

Scaffold Protein: the Molecular Glue in Signal Transduction

Ni Fu-Tai^{1)*}, Li Yong²⁾

(¹⁾Siping Normal College, Jilin 136000, China; ²⁾Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract There exists a special kind protein, lacking intrinsic enzymatic activity, in signal transduction system, termed scaffold protein. It has ability of binding two or more proteins simultaneously. It permits signal transduction in a specific and efficient manner by binding functionally related proteins into a signalosome.

Key words scaffold protein, signal transduction, MAPK pathway

* Corresponding author. Tel: 86-10-68272105, E-mail: liyong@nic.bmi.ac.cn

Received: September 18, 2000 Accepted: November 3, 2000

Smads 蛋白及其介导的 TGF- β 胞内信号传导

赵俊芳 刘 成 刘成海

(上海中医药大学肝病研究所, 上海 200032)

转化生长因子 β (TGF- β) 具有广泛的生物学效应, 其信号传导通路一直是研究热点。最近发现, Smads 蛋白是 TGF- β 受体 (T β R) 复合物的下游蛋白, 可将信号从胞膜直接转至胞核。Smads 蛋白家族分为三类: 受体调节性 Smads (the receptor-regulated Smads, R-Smads), 主要有 Smad1、2、3、5, 有不同于其他二类 Smads 的特异性丝氨酸基序, 可被活化的 T β R I 识别, 是 T β R 复合物的下游; 公用 Smads (the common Smads, Co-Smads), 目前在哺乳动物发现的有 Smad4, 是必需的信号中转分子; 抑制性 Smads (the inhibitory Smads, I-Smads), 主要有 Smad6、7, 也可与 T β R I 结合, 且作用更强, 因而可与 R-Smads 竞争与 T β R 的结合。Smads 蛋白家族中参与 TGF- β 信号传导的有 Smad2、3、4、7。Smads 蛋白与 T β R I 接触并继而受激酶活化的关键在于 Smad 锚着蛋白——SARA (Smad anchor for receptor activation) 蛋白的作用。SARA 蛋白有两个特殊结构域: 一是含双锌指结构的 FYVE 结构域, 其可与磷脂酰-肌醇-3-磷酸高度特异性结合, 从而调节胞内蛋白质与胞膜的相互作用; 另一为 Smad 结合域 (Smad binding domain, SBD), 可与未活化的 Smad2/3 直接、特异性结合。此外 SARA 蛋白的 C 端可与 T β R I 直接结合。这样使得

T β R I-SARA-Smad 复合体形成, T β R I 激酶使 Smad2/3 活化, 后者继而与复合体解离并与 Smad4 形成杂聚体, 进入细胞核, 通过三种方式调节转录: 直接与 DNA 结合, 这经由靶基因启动区特异性的 Smad 结合元件 (Smad binding elements, SBE) 而实现, 现已发现在 VII 型胶原、JunB、PAI-1 及 Smad7 基因启动区均有 SBE; 与其他转录因子如 fos/jun、TFE3、ATF2、PEBP2/CBF 等协同作用以调节转录, 这一途径在某些效应中是必需的; 与转录复合活化物如 p300/CBP 或复合抑制物如 TGIF、c-Ski、SnoN 结合, 以激活或抑制转录。SARA 在 TGF- β 经 Smads 胞内信号传导中起了起始作用, 其基因突变可导致 Smad 异常, 进而强烈抑制信号传导。但新近又有研究发现 Smad3 介导的 TGF β 信号传导可无需 SARA 蛋白的转运, 其机制不明。在 Smads 通路中, 受体蛋白激酶的促磷酸化起了正性调节作用, 而泛素-蛋白酶体通路 (ubiquitin-proteasome pathway) 起了负反馈调节作用。通过泛素的标记与蛋白酶体使活化 Smads 降解, TGF β 使其自身胞内信号终止。除正、负调节外, Smad7 作为 TGF- β 的早期即刻基因作用靶点, 起了自身负反馈调节作用。