

# 蛋白质的静态可及性

温元凯 戴亚 赵辉 孟庆涛

(中国科学技术大学量子生物化学实验室,合肥)

## 提 要

根据蛋白质分子表面的实际状况, Lee 和 Richards 提出了“可及性”(Accessibility)的概念。本文主要介绍这一新概念,并对蛋白质可及性的定义和计算方法进行了讨论,分析了可及性在研究蛋白质结构-功能关系中的应用。

自然状态的球状蛋白质仅存在于水中,生物大分子发挥其生物功能大多是在溶液中或界面上进行的,它们与水相互作用的分析研究是蛋白质结构理论的重要组成部分。

## 1. 可及性的定义

1971年, Lee 和 Richards 首先提出了“可及表面”(Accessible surface area)的概念<sup>[1]</sup>,习惯上,人们把可及表面称为可及性,我们建议用 Ac 表示之。

可及性的原始定义<sup>[1,2]</sup>是:假设水分子是一个半径为 1.4 Å 的小球,将这个溶剂小球绕着蛋白质切片表面上的原子(如图 1)旋转时,该水分子球心轨迹所形成的表面,即为这种蛋白质分子的可及表面。

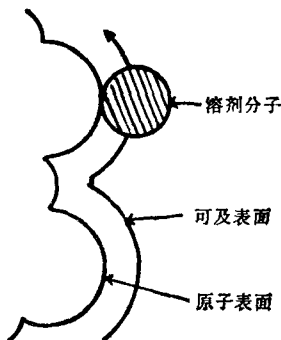


图 1 蛋白质分子的部分可及表面在二维空间的表示

如果溶剂分子能够绕着蛋白质分子表面上

某原子旋转而作出部分圆弧,我们就认为该原子是可及的(Accessible),亦即该原子对溶剂是暴露的。否则,就是埋藏的。可及表面弧线半径为原子的 van der Waals 半径与溶剂分子半径之和。

可及性实质上反映了水分子或其离子、小分子进入大分子的程度。

后来, Richards<sup>[2]</sup>改进了可及性的原始定义,他所定义的分子表面是由探测球内表面轨迹绘出的,而不是由探测球球心轨迹所绘出。

Lee 和 Richards 曾将可及性简单地定义为可及表面面积(A)乘以 100 再除以  $4\pi R^2$ ,即

$$\text{可及性} = 100A/4\pi R^2$$

但是,由于蛋白质分子中原子半径 R 不同,各原子的可及性不能直接相加,使用范围就受到了限制,因此,目前文献中所用的可及性一般是指可及表面,不再是 Lee 和 Richards 的原始定义了。

## 2. 可及性的计算

可及性的计算是根据 X-射线衍射所测得的三维空间坐标,从化学因素和生物学作用来分析这种三维结构,用一叠透明的塑料纸片,由计算机来制备一系列空间填充模型,这样可以表现出生物大分子内部基团和原子的暴露情

况,从而获得一系列简单有用的信息。

既然可及性的计算是建立在三维空间基础之上的,目前还没有多少能反映出生物大分子振动和柔性方面的资料。由于没有考虑到潜在的柔性因素和基团的运动,所以得到的结果是静态可及性。

将蛋白质结构通过一套具有适当的 van der Waals 半径连接的球体来描述,取一组具有一定间隔的平行平面,把天然形态的蛋白质分子割成片状。先计算出每一切片的可及表面,再把所有的切片的可及表面取和,就可以近似地求出蛋白质分子的总可及表面。实际上,这种计算是一种近似积分,其积分的准确性将随着切割间距的减小而增加。通常是根据不同方位的切割而重复计算几次,以便获得一个可靠的平均值。

Shrake 和 Rupley<sup>[3]</sup> 在 Lee 和 Richards (1971) 计算的基础上,集中注意了原子间的接触,计算了溶菌酶和胰岛素中原子的可及性。

Connolly 研究了几种表示蛋白质和核酸的可及性的计算方法,其中一种是点表面 (Dot Surface) 算法<sup>[4,5]</sup>,由程序 MS (the Dot Molecular Surface Program) 给出。

根据原子的三维坐标来精确计算可及表面或分子体积,还有几种较为精确的方法<sup>[6,7]</sup>。所有这些方法,计算的精确度较高,但在计算机上处理时耗时很多,尤其是用于大量蛋白质结构单元组成的体积时更是如此。

除了上述这些方法之外,还有一些精确度较低但可快速近似的方法<sup>[8,9]</sup>。Zehfus 等<sup>[10]</sup>利用 Lesk 和 Rese<sup>[9]</sup> 近似方法,由相应的惯性椭球表面对一个连续蛋白质切片的可及表面进

行估算,并根据切片中非氢原子数目对其分子体积进行近似处理。这种估算比精确求解快得多,误差也只有 3—8%。

### 3. 可及性计算的应用

#### (1) 两种状态下蛋白质可及表面面积的变化

为了研究折叠对蛋白质可及性的影响,我们比较一下非折叠和天然状态蛋白质的可及性<sup>[11]</sup>,见表 1。

表 1 10 种蛋白质在两种不同状态下的可及性 ( $\text{\AA}^2$ )

蛋白质	伸展状态	天然状态
胰岛素	8,380	3,440
猪胰蛋白酶抑制剂 (PTI)	9,440	3,700
核糖核酸酶-S	19,840	6,550
葡萄球菌核酸酶	23,800	7,840
溶菌酶	20,560	6,480
木瓜蛋白酶	33,850	9,210
枯草菌溶素	40,090	9,790
刀豆球朊	37,030	10,230
羧肽酶	49,870	11,260
乳酸脱氢酶 (LDH)	53,080	17,060

由表 1 可见,当蛋白质分子从非折叠状态卷曲、盘绕成天然状态时,可及性减小 3—4 倍。可及性的变化可以为从一级结构推测三级结构提供一个量的依据<sup>[12]</sup>,这就是说,只要给出氨基酸残基的初级排布序列,分别计算出非折叠状态和天然状态的原子或残基的可及性,再比较可及性的大小,得出其暴露(或埋藏)的比例,就能够大概地预测蛋白质的三级结构<sup>[13-16]</sup>。

在蛋白质折叠过程中,不同原子的可及性的缩减程度是不同的,表 2 列出了天然状态蛋白质中各种类型的原子的可及性对于完全伸展

表 2 折叠过程中原子可及性缩减的倍数

蛋白质	主 链				侧 链			总		
	C $\alpha$	N	C	O	C,S	N,O	总	非极性	极性	总
核糖核酸酶-S	0.71	0.23	0.21	0.21	0.35	0.44	0.39	0.36	0.34	0.35
溶菌酶	0.60	0.14	0.26	0.22	0.26	0.49	0.35	0.28	0.36	0.32
肌红蛋白	0.55	0.14	0.21	0.17	0.27	0.47	0.34	0.29	0.32	0.30
平均	0.62	0.17	0.23	0.20	0.29	0.47	0.36	0.31	0.34	0.32

开链结构中相应原子可及性缩减的倍数。

对于侧链中的原子来说,存在着非极性原子(C, S)比极性原子(O, N)更埋藏的趋势。这一趋势不适用于主链原子。主链羰基O原子和C $\alpha$ 原子在非折叠状态下可及性较大,折叠后的显著缩减而使天然蛋白质平均可及性明显减小;主链酰胺N原子和羰基C原子也显

著缩减,但因为原子的可及性很小,以致于对分子的可及性影响甚微。

如果我们计算极性原子(O, N)和非极性原子(C, S)对蛋白质分子可及性的贡献,就可以发现一个新的观点。现以核糖核酸酶-S、溶菌酶和肌红蛋白为例作出图2。

由图2可见,非极性原子(C, S)竟占总可

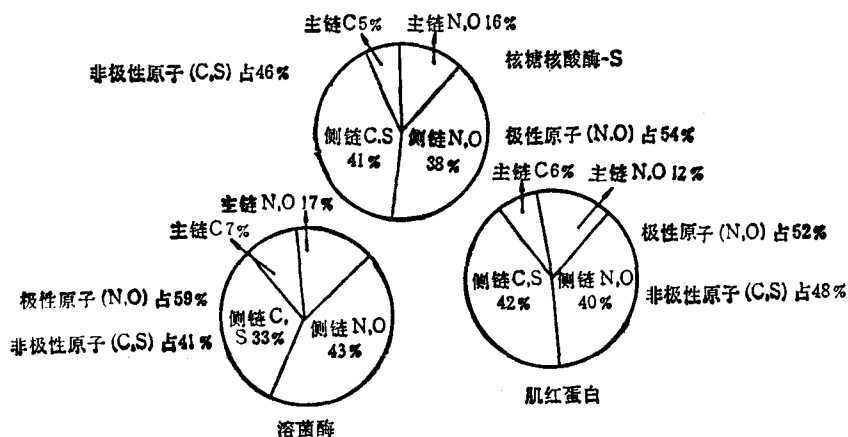


图2 三种蛋白质中各种原子对分子总可及性的贡献比例

及表面的40—50%。这与球蛋白的经典观念(即极性原子绝大部分位于球面,非极性原子埋藏于球内)相差甚大!

Chothia 曾比较了六种蛋白质从非折叠状态到折叠状态过程中可及表面积的变化<sup>[12]</sup>,发现从非折叠状态形成二级结构时,其表面约有1/3到一半被埋藏(35—54%),而且被埋藏的表面的极性(约50%)大于保留的可及表面的极性(约38%)。当形成三级结构时,被埋藏的二级结构表面总额达32—60%。被埋藏的表面非极性(61—74%)比保留的可及表面的非极性(50—63%)要大。

## (2) 残基的埋藏和暴露

残基的可及性由残基中所有原子的可及性取和得到。分析残基的可及性数据<sup>[1,3]</sup>,我们可以发现:较大的非极性氨基酸趋向于埋藏更深,在从非折叠状态变成天然状态结构的过程中,非极性残基从暴露变得埋藏的程度比极性残基要大2—3倍。这一观点与蛋白质折叠的“油滴”模型相一致。在溶菌酶中,折叠对甘氨酸的暴

露影响最小,在天然结构中,甘氨酸残基的相当高的暴露与其位于链的弯曲处相符。

大多数蛋白质分子中含有30—50%的带有非极性R基的氨基酸残基。在天然状态中,这些残基几乎都集中在分子内部,并且不与溶剂接触。然而,它们之间的相互作用却是维系蛋白质三维结构的最重要的作用力。

对于一个具体的残基说来,在折叠过程中,被埋藏的面积主要取决于自身构象和特定序列。当一个残基从伸展的构型进入一个 $\alpha$ -螺旋体之中时,平均埋藏 $77 \text{ \AA}^2$ ;当一个残基进入 $\beta$ -折叠片内部时,平均埋藏 $117 \text{ \AA}^2$ <sup>[12]</sup>。这种差别可能是由于溶剂的存在而使侧链残基彼此更为有效地屏蔽,从而使前一过程的埋藏相对减小。

## (3) 可及性与疏水自由能的关系

在蛋白质中被埋藏的极性基团几乎都形成氢键,未荷电残基的疏水性与它们在伸展状态中的可及表面积成简单比例。于是,可以得到残基疏水性与被埋藏的几率间的关系<sup>[12]</sup>。

已经发现,球状蛋白质的可及性与疏水自

由能成线性关系,进一步研究还发现蛋白质中残基的疏水自由能与其可及性之比近似为 25 Cal/Å<sup>2</sup>[12]。这样,在不同的生化过程中,只要计算出可及性的变化值,就有可能探索到溶剂和疏水性所起的作用。例如,当蛋白质卷曲和交联时,通过对可及性变化的估计,可以显示出在盘绕和聚合过程中,疏水性是一种主要的作用因素。

此外,人们运用可及性这一重要概念,讨论和计算了蛋白质分子面积、体积和堆积密度。为揭示生物大分子的结构特征以及结构-功能关系做出了许多有益的工作。饶有兴趣的是可及性还可以为确定反应位置提供依据。近来,已经开始利用计算机来研究蛋白质可及性与静电势的关系,讨论不同 pH 下蛋白质分子可及性的变化情况,使可及性的生物学意义越来越明显。

### 参 考 文 献

[1] Lee, B. and Richards, F. M.: *J. Mol. Biol.*, 1971,

- 55, 379.  
 [2] Richards, F. M.: *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 1977, 6, 151.  
 [3] Shrake, A. and Rupley, J. A.: *J. Mol. Biol.*, 1973, 79, 351.  
 [4] Connolly, M. L.: *QCPE Bull.*, 1981, 1, 75.  
 [5] Connolly, M. L.: *Science*, 1983, 221, 709.  
 [6] Finney, J. L.: *J. Mol. Biol.*, 1978, 119, 415.  
 [7] Richards, T. J.: *J. Mol. Biol.*, 1984, 178, 63.  
 [8] Wedak, S. J. and Janin, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, 77, 1736.  
 [9] Lesk, A. M. and Rose, G. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 4043.  
 [10] Micheal, H. et al.: *Biopolymers*, 1985, 24, 2511.  
 [11] Chothia, C.: *Nature (London)*, 1975, 254, 304.  
 [12] Chothia, C.: *J. Mol. Biol.*, 1976, 105, 1.  
 [13] McDonald, M. J. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1985, 183, 105.  
 [14] Tüchsen, E. and Woodward, C.: *J. Mol. Biol.*, 1985, 185, 421.  
 [15] Cohen, F. E. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1982, 156, 821.  
 [16] Lesk, A. M. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1985, 183, 267.

[本文于 1987 年 4 月 25 日收到]

(上接第 123 页)

红细胞膜经不同剂量邻苯三酚处理后,均出现 HMP,同时收缩蛋白(带 1,2 蛋白)减少。说明 HMP 的出现与收缩蛋白减少有一定的对应关系,但 HMP 的出现究竟是 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 直接作用还是其它活性氧作用的结果还有待进一步研究。

由于红细胞膜上蛋白质和脂质的过氧化,必然导致膜功能的改变。由表 2 可见,氧化红细胞膜丧失重新封闭能力(封闭度为 11.8%)。我们曾经报道<sup>[3]</sup>红细胞重新封闭能力与细胞“年龄”有关。随着细胞老化,红细胞失去重封闭能力(年轻红细胞膜封闭度为 92.9%,老化红细胞膜封闭度为 35.7%)。由此启示老化红细胞膜不能重封闭的原因可能与膜的过氧化损伤有关。

综上所述,邻苯三酚能通过自由基反应直接或间接地引起红细胞膜脂质和蛋白质过氧化导致膜损伤,因此可作为研究衰老机理的参考。

同时,由于邻苯三酚对红细胞膜体外反应重复性好,方法简便,拟可作为一种膜过氧化损伤实验模型验证和筛选抗衰药物。

刘光万、尤永进同学参加部分测试工作,特此致谢。

### 参 考 文 献

- [1] 曹锡清等:《生物化学与生物物理进展》,1986,2,17。  
 [2] Dodge, J.T. et al.: *Arch. Biochem Biophys.* 1963, 100, 119.  
 [3] 秦德安等:《生物化学与生物物理进展》,1986,5,56。  
 [4] 林克椿,袁松清:《生理科学进展》,1985,1,83。  
 [5] Fairbanks, G. et al.: *Biochemistry.* 1971, 10 (13), 2607.  
 [6] Kiyomi, K. et al.:《卫生化学》(日文),1984,30,333。  
 [7] Marklund, S. et al.: *Eur. J. Biochem.* 1974, 47, 469.  
 [8] Carrel, W. R.: *Brit. J. Haematol.* 1975, 30, 259.  
 [9] Hochstein, P.: *Federation Proceeding.* 1981, 40, 183.

[本文于 1987 年 5 月 18 日收到]