

科技消息

胰岛素受体的蛋白工程

生物工程,特别是蛋白质工程是我国生命科学研究的重点项目。胰岛素研究是我国曾经取得过突出成就而比较基础的课题。这里,仅对胰岛素受体的蛋白工程研究现状提供一些信息。

1985 年,美国 Genetech 公司的 Ullrich 小组和加州大学的 Rutter 小组先后(只差二个月的时间)分别发表了人胰岛素受体的 cDNA 和由此推断的全部氨基酸序列,仅五个月以后又完成了有功能的人胰岛素受体基因的表达。在这些开创性工作的基础上,短短三年中,胰岛素受体的蛋白工程研究已经出现了令人瞩目的进展。

从一年一度的美国糖尿病年会的窗口可以看到国际上有关胰岛素研究的概况。1987 年年会的热点是受体酪氨酸蛋白激酶(TPK)的性质及其在胰岛素发挥生物功能过程中传递信息的作用,但是由于在鉴定受体 TPK 确切的生理底物过程中遇到的种种困难,过去一年中这方面的研究有些阻滞的趋势。然而受体蛋白工程的研究却出现了令人鼓舞的新形势,成为 1988 年年会的热门。在年会组织的两次“激素受体”专题讨论会上提出报告的十七篇论文中,就有十二篇涉及受体基因的研究。

由于篇幅所限,在此仅列出胰岛素受体蛋白工程研究的一些情况。关于胰岛素受体分子结构的示意图,请参看图 1。已经得到的受体蛋白工程产物有:

一、切去受体分子的一部分。其中包括:(1)切去 β 亚基 C 端一部分氨基酸残基;(2)切去 β 亚基膜内部分和越膜部分;(3)切去整个 β 亚基;(4)切去 α 亚基 N 端 80% 的序列;(5)切去膜外部分,越膜部分,以及膜内部分前 6 个氨基酸残基。

二、单个氨基酸残基的改变。其中包括:(1)已被鉴定为 β 亚基中 ATP 结合位点的 1018 位 Lys 去除或用 Arg、Met 或 Ala 取代;(2) β 亚基中可能发生自磷酸化作用的 Tyr,如 1162 Tyr 为 Phe 取代,1162、1163 两个 Tyr 都为 Phe 取代及 960 Tyr 为 Phe 取代;(3) α 亚基中推测可能参与与胰岛素分子结合的一个片段,如 88 Phe 为 Leu 取代,89 Phe 为 Leu 取代及 88、89 两个 Phe 都为 Leu 取代。

三、复合修饰。如切去 α 亚基 N 端 80% 的序列,同时, β 亚基 1162、1163 两个 Tyr 都被 Phe 取代。

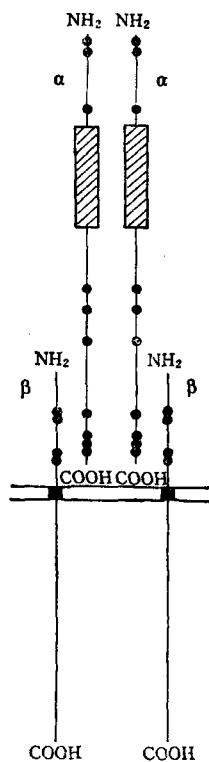


图 1

受体及 TPK 家族的 TPK 性质和功能,特别是激素信息越膜传递的机制等重要问题。这些结果不仅检验了过去十多年中用一般方法已经得到的结果,而且提供了许多新的认识。

在临床方面,过去十多年中对糖尿病和有关的胰岛素抵抗症等疾病的遗传学研究已经鉴定到三种致病天然突变胰岛素分子 (Phe^{B21} → Ser, Phe^{B21} → Leu, Val^{A3} → Leu) 和两种突变的胰岛素原分子 (Arg⁶⁵ → His, His¹³¹⁰ → Asp)。近一两年中,通过对病人胰岛素受体基因的分析,也发现了两例天然突变的受体,一例是严重的 A 型胰岛素抵抗症病人受体前体分子中的碱基加工部位 Arg-Lys-Arg-Arg 突变成 Arg-Lys-Arg-Ser,因此不能被正常水解成为成熟的 α 亚基和 β 亚基。另一例是表现有严重胰岛素抵抗症的 Leprechaunism 病人的杂合子受体基因,来自母亲的等

四、杂交。其中有人胰岛素受体细胞外部分与癌基因产物 v-ros 的越膜和膜内部分或与细菌 aspartate chemotactic 受体的越膜和膜内部分杂交以及人胰岛素受体细胞外部分与上皮生长因子受体的越膜和膜内部分杂交。

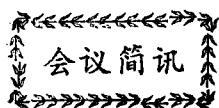
对以上用蛋白工程得到的表达改造了的胰岛素受体的细胞或从该细胞中分离纯化的胰岛素受体,测定其与胰岛素的特异结合,TPK 活力, β 亚基的自磷酸化,葡萄糖传输,葡萄糖摄取,氨基酸摄取,糖元合成酶活力,核糖体蛋白 6S 的磷酸化作用,受体的内部化作用,胸腺嘧啶参入等指标来研究胰岛素受体与胰岛素结合的性质和动力学,受体各个亚基和各个 domain 的结构和功能,它们之间的相互关系,胰岛素受

位基因发生错义突变使 α 亚基 460 位 Glu 变成 Lys, 来自父亲的等位基因发生无意义突变使 α 亚基 671 位以后序列全部缺失。所以糖尿病等有关疾病的临床研究已经深入到基因水平的分析。顺便提一点, 受体的抗体, 特别是多种具有不同抗原决定部位的单克隆抗体, 已经广泛应用于鉴定表达的受体, 受体的亲和层析纯化以及受体的结构功能研究。

1987年前有关胰岛素受体蛋白工程的工作几乎全由 Ullrich 和 Ruttev 两个小组垄断, 但很快, 从 1988 年年会也可以看出, 进行受体基因表达研究和蛋白工程的实验室已明显增加, 说明在受体 cDNA 工作突破后不久原来做受体研究的实验室就紧跟着着手建立这项

分子生物学的技术, 并且很快获得了成果。看来, 在胰岛素研究领域内, 运用 DNA 重组技术已经是一个十分普遍的现象了。蛋白质工程的成功设计必须有蛋白质结构功能研究的成果做基础, 蛋白工程的最后完成则有赖于越来越完善的 DNA 重组技术的应用。如果蛋白质研究工作者能够应用基因研究手段, 而 DNA 研究工作者也掌握一定的蛋白质科学知识, 蛋白质工程的发展就会迅速得多。科技人员知识不断更新补充, 不同领域的研究人员之间有更多的共同语言和知识交叠, 这是生命科学时代提出的新要求。

(王志珍寄自美国)



第五届国际镁学术会议在日本京都召开

1988 年 8 月 8 日—12 日在日本京都召开了第五届国际镁学术会议, 与会者有 30 个国家的代表共 329 人。会议主题为“镁与健康”。国际镁的研究学会主席为法国 J. Durlach 教授, 这次会议的本地组织委员会主席为京都大学 Y. Itokawa 教授, 会议交流形式分为专题报告与自由交流二种, 自由交流又分为报告形式与以墙报展出形式二种同时进行, 专题报告的内容如下: 1. 细胞生物学与镁; 2. 人类与动物的营养与镁; 3. 镁的内分泌方面; 4. 镁缺乏的临床诊断及治疗; 5. 镁的环境问题; 6. 镁与心血管疾病——缺血性心脏病、心律不齐、高血压等; 7. 镁与利尿剂; 8. 镁的目前临床课题。自由交流的内容除包含上述的专题外, 尚有镁与胃肠病学、神经病学、血液病学、肿瘤、牙科病学、围产期医学、矫形学、肾脏病学、体力锻炼、过敏反应等的关

系。会议报告有 54 篇, 自由交流 99 篇墙报 46 篇。

镁的研究在国际上越来越引起人们的重视, 它的研究与医学密切联系涉及基础医学如营养、生理、生化、病理、药理、公共卫生等及临床医学如内科、内分泌科、神经科、牙科、泌尿科、老年病科、预防医学等。并有国际镁研究的专门期刊“Magnesium Research”(季刊)。杨福愉同志任该刊编委。

在我国目前已有一些医学单位或生物学科单位进行镁的研究或涉及镁问题的研究。因此, J. Durlach 教授曾建议我国也成立镁研究的组织, 现经与有关部门商讨同意这个建议将成立一个镁研究小组, 归属于中国生物物理学会下生物膜专题组内, 第六届国际镁学会议将于 1991 年在印度召开, 并经商定将于 1994 年在我国召开第七届国际镁学术会议。