

蛋白的影响外, P⁵⁵蛋白也参与调节带 4.1 蛋白与 GPC 间的相互作用. Alloisio 通过对基因缺陷导致带 4.1 蛋白缺乏或 GPC 缺乏的红细胞进行研究, 发现均伴有红细胞 P⁵⁵蛋白缺乏, P⁵⁵蛋白缺乏与带 4.1 蛋白或 GPC 缺乏呈现一定的比例关系, 因此提出 P⁵⁵蛋白参与由带 4.1 蛋白和 GPC 构成的膜骨架与膜脂双层间的连结^[6]. 但带 4.1 蛋白、P⁵⁵蛋白、GPC 之间的相互关系目前尚不清楚, 也缺乏相互作用的直接证据.

Gascard^[7]将正常的和 Leach 型红细胞膜制成外翻囊泡 (IOV) 研究带 4.1 蛋白的结合量, 把带 4.1 蛋白在膜上的结合位点分为高亲和力和低亲和力位点两种, 其中 GPC/D 参与构成正常红细胞带 4.1 蛋白高亲和力位点 (约占带 4.1 蛋白全部膜结合位点的 10%) 和大量低亲和力位点的形成.

综上所述, 带 4.1 蛋白与 GPC/D 间存在相互作用, 有助于理解部分异常红细胞所出现的病理变化. 但目前的研究还停留在体外实验阶段, 对某些现象还缺乏详细的解释. 因此, 在体内生理状态下 GPC/D 与带 4.1 蛋白间的相互作用机制、相互作用的调节以及所具有的生理、病理意义有待于进一步研究和阐明.

参 考 文 献

- 1 Palek J, Lambert S. *Semin Hemat*, 1990; 27: 290
- 2 Chais J A, Mahandas N. *Blood*, 1992; 80: 1869

- 3 Reid M E, Takakuwa Y, Conboy J *et al.* *Blood*, 1990; 75: 2229
- 4 Pinder J C, Chung A, Reid M E *et al.* *Blood*, 1993; 82: 3482
- 5 Hemming N J, Anstee D J, Mawby W J *et al.* *Biochem J*, 1994; 229: 191
- 6 Pasternack G R, Anderson R A, Leto T L *et al.* *J Biol Chem*, 1985; 260: 3676
- 7 Gascard P, Cohen C M. *Blood*, 1994; 83: 1102

The Progress in Binding Sites of Protein 4.1 on Glycophorins C and D of Human Erythrocyte.

Jiao Xinfu, Shu Huying (Tongji Hospital, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China).

Abstract The human erythrocyte membrane skeleton protein 4.1 interacts with glycophorin C/D (GPC/D). This interaction particularly determines the shape and the mechanical properties of the red cell. A number of workers have provided evidence for the interaction. Recent publication has reported that GPC/D provide major membrane binding sites for protein 4.1 in normal erythrocyte, and the sites are located on amino acid residues 82~98 of GPC and 61~77 of GPD.

Key words erythrocyte membrane skeleton, protein band 4.1, glycophorin C, glycophorin D, binding site

视黄醇结合蛋白的结构与功能

金 宏

(军事医学科学院卫生学环境医学研究所, 天津 300050)

摘要 视黄醇结合蛋白 (RBP) 是视黄醇转运的载体蛋白, 作为结合小分子疏水物质的载体蛋白家族 (lipocalin) 的一个重要成员, 其结构与功能的研究正受到国外学者的重视, 文章介绍了视黄醇结合蛋白的性质、结构研究进展, 讨论了视黄醇结合蛋白与前蛋白和受体相互作用的位点和结构特点.

关键词 视黄醇结合蛋白, 结构, 视黄醇

视黄醇结合蛋白 (RBP) 是视黄醇 (维生素 A) 转运的载体蛋白, RBP 作为水不溶性的视黄醇分子的增溶物, 提供转运视黄醇从肝脏到周围组织的运转工具, 并可防止视黄醇转运过程中羟基氧化的危险, 从而增加视黄醇在转运过程中的稳定性; 同时, RBP 还对视黄醇的释放起调节作用, 结合视黄醇的 RBP (holo-RBP) 与未结合视黄醇 RBP (apo-RBP) 在血浆中的比率能调节各种组织间的视黄醇分布, 血浆中 apo-RBP/holo-RBP 比率升高时, 导致大部分组织视黄醇吸收的降低, 同时也刺激视黄醇向肝外组织分泌, 对视黄醇的营养代谢和生理状态的变化作出迅速的响应^[1,2]. 近年来, RBP 作为结合小分子疏水物质的载体蛋白家族 (lipocalin) 的一个重要成员, 其结构与功能的研究引起人们的兴趣, 这个家族成员之间氨基酸序列的类似性不大, 但它们却具

有高度相似的三维结构和基本的结构核心: β 折叠结构^[3]. 人们试图通过对其结构与功能的研究, 探讨这一类载体蛋白的作用, 揭示载体蛋白质的生物学作用机制.

Kanai 等于 1968 年首先分离提纯了 RBP, 并研究了它的部分特性, 之后, 很多实验室对 RBP 进行了细致的研究工作, 人血浆 RBP 是一种单一肽链的蛋白质, 从电泳迁移率表明为 α -球蛋白, 分子量约为 21 000, 含有 182 个氨基酸残基, 血清含量 40~50 mg/L, 沉降系数 2.13~2.30, 半衰期约为 0.5 d, 合成率为 5 mg/每天公斤体重^[1].

人血浆 RBP 182 个氨基酸残基的一级结构, 通过溴化氰裂解为 5 段, 经逐段测定而得到其序列如图 1 所示, 并被 cDNA 克隆核苷酸所证实, 人肝 cDNA 文库也已被构建^[1].

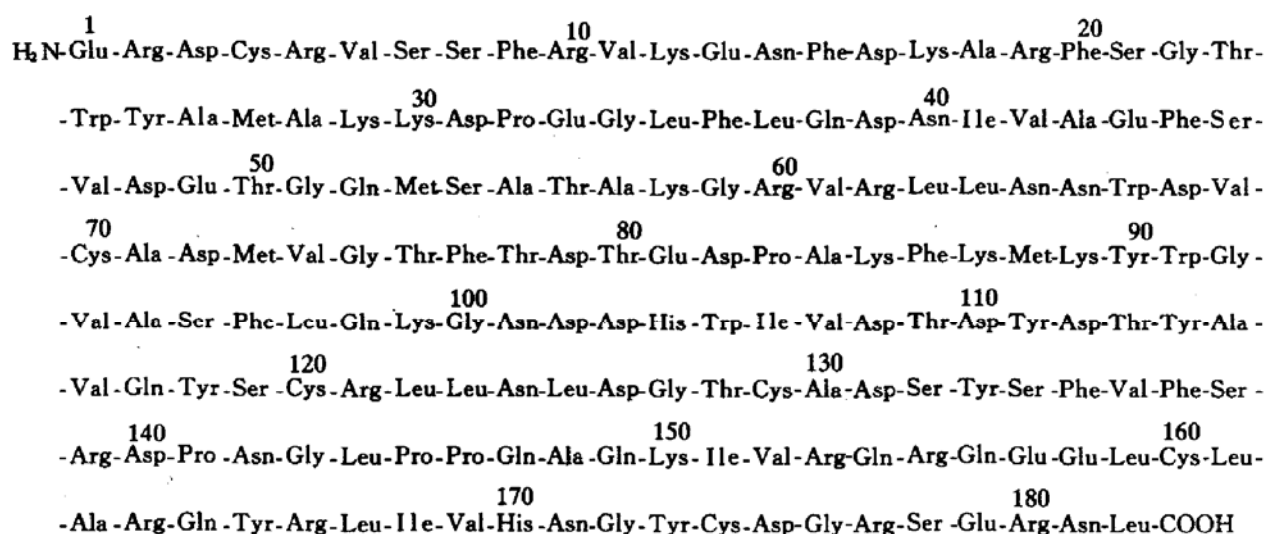


图 1 RBP 的一级结构^[1]

人血浆 RBP 晶体首先由 Haupt 和 Heide 在 1972 年观察到, 但他们得到的 RBP 针状晶体对 X 射线分析不稳定, 1984 年 Newcomer 等通过几种途径结晶出可用于 X 射线分析的晶体, 得到了晶体的空间群; 观察到 RBP 可以产生两种晶型的晶体, 它们属于相同的空间群, 但晶胞参数不同^[4]. RBP 晶体结构研究表明: 在成熟 RBP 中有 3 个二硫键, 分子中不存在翻译后的修饰^[5]. 之后, 人们对 RBP

空间结构的研究不断深入, 对其氨基酸残基的空间排列, 结合视黄醇的位点、空间结构及与前白蛋白 (TTR) 的作用位点等进行了较细致的研究.

RBP 的空间结构形式, 由于 6 个氨基酸残基: Asn14、Asn40、Asn65、Asn66、Cys160 和 Arg163 具有 α 螺旋的扭力角, 其结构以 β 折叠结构为主, 形成 8 段反平行的 β 折叠结构、7 段发夹结构, 仅有一个由 12 个氨

氨基酸残基组成的 α 螺旋, 以及 N 端和 C 端区域^[6]. 8 段 β 折叠结构、7 段发夹结构和 α 螺

旋见图 2.

β 折叠结构 A: 22~30	β 折叠结构 B: 39~47	β 折叠结构 C: 53~62
β 折叠结构 D: 68~78	β 折叠结构 E: 85~92	β 折叠结构 F: 100~109
β 折叠结构 G: 114~123	β 折叠结构 H: 129~138	α 螺旋: 146~158
发夹结构 1: 31~38	发夹结构 2: 48~52	发夹结构 3: 63~67
发夹结构 4: 79~84	发夹结构 5: 93~99	发夹结构 6: 110~113
发夹结构 7: 124~128		

图 2 RBP 二级结构单元的氨基酸残基构成^[6]

这 8 段反平行 β 折叠结构肽段在空间构成一个未完全卷上、或者说打开的“ β 桶”, 构成这个“ β 桶”结构的 ABCD 肽段可按双重旋转轴而近似于与 EFGH 肽段重合, 两个半分子的旋转角是 178° , 这个“ β 桶”是完全刚性的, 因为它的键间形成大量的氢键, 并且 β 折叠结构之间广泛的疏水作用也对“ β 桶”的刚性作出很大贡献, 这一刚性结构也很稳定. “ β 桶”的刚性禁止结合的视黄醇在其环形区的修饰, 相反“ β 桶”的入口是整个分子相当柔韧的部分, 可通过显著性的构象变化, 由未结合配体(视黄醇)转变为结合配体形式的 RBP^[7].

在 RBP β 折叠结构形成的“ β 桶”的周围是构象易变的发夹结构 31~38、48~52、63~67 和 93~99, 这些残基是“ β 桶”的“空腔”的组成部分, “空腔”就是视黄醇结合区域, 视黄醇与其结合主要是疏水相互作用, 视黄醇结合 RBP 是它的环状部分进入“空腔”, 其羟基位于入口处^[8]. Holo-RBP 和 apo-RBP 在构象上有些变化, 其中变化最大的肽段是 34~37, 特别是 Leu35 和 Phe36, 在未结合视黄醇时, Leu35 和 Phe36 的侧链位于“ β 桶”入口处, 结合视黄醇后, Leu35 侧链转向“ β 桶”的外侧, 而 Phe36 的侧链则指向“ β 桶”的内侧与视黄醇的环状部分形成疏水作用, 残基 34 和 37 则由于 35 和 36 残基的运动而发生构象变化, 但主链仍保持以前的构象; 发夹结构 2 的 48~52 残基, 由于结合视黄醇, 构象也稍有变化; 发夹结构 3 的 64~68 则由于结合视黄醇与其羟基作用, 也有微小的构象变

化, 这几个发夹结构构成视黄醇的结合位点. 这些发夹结构的柔韧性构象还可能与视黄醇释放到靶细胞的作用有关^[6]. 这些发夹结构具有构象柔韧性的证据是 RBP 可以允许视黄醇羟基的修饰, 不影响 RBP 与视黄醇衍生物的亲和性, 而视黄醇环上的修饰则导致其与 RBP 亲和性的丧失, 这也说明视黄醇结合到 RBP 主要是由疏水相互作用来稳定的, 羟基不起主要作用^[8].

RBP 转运视黄醇要表现出两种不同的分子识别性质, 即与 TTR 和膜受体的相互作用. 最近通过 RBP cDNA 碱基缺失的方法进行的结构分析表明: RBP 中的三个发夹结构 31~37, 62~68 和 92~98, 不仅构成视黄醇结合位点“口袋”的入口, 而且残基 62~68 和 92~98 完全被包括在与 TTR 和 RBP 受体相互作用区内, 两个 Leu 残基 L63 和 L64 变换成 Arg 和 Ser, 则 RBP 结合到受体的功能完全丧失. 92~98 残基缺失, RBP 结合到 TTR 的功能全部丧失, 并且相应地减弱其与受体的亲和力. Leu35 变换为 Pro, 则 RBP 结合 TTR 功能部分减弱, 但不影响与受体的相互作用. 这些结果表明: 结合 TTR 和结合受体的 RBP 的区域是类似的^[3].

哺乳动物 RBP 的视黄醇结合位点是相当保守的, 比较人、兔、鼠和牛 RBP 的一级结构能发现有大约 40 个参与形成视黄醇结合位点的氨基酸残基构象是一致的, 仅有的例外是大鼠 RBP 中第 43 位的 Ala 被极性相似的 Val 所取代^[8]. 并且 RBP 的视黄醇结合位点在未

结合视黄醇之前可结合溶剂分子, 当视黄醇存在时, 则视黄醇很易取代溶剂分子而结合到结合位点上^[7].

参 考 文 献

- 1 Goodman D S. In: Sporn M B eds. The retinoids. Orlando: Academic Press, 1984; 41
- 2 Sivaprasadarao A, Findlay J B C. Biochem J, 1988; 255: 571
- 3 Sivaprasadarao A, Boudjelal M, Findlay J B C. Biochem Socie Transa, 1993; 21: 619
- 4 Newcomer M, Liljas A, Sundelin J *et al.* J Biol Chem, 1984; 259: 5230
- 5 Kaji E H, Lodish H F. J Biol Chem, 1993; 268: 22188
- 6 Zauoti G, Ottonello S, Berni R *et al.* J Mol Biol, 1993; 230: 613
- 7 Zanotti G, Berni R, Monaco H L. J Biol Chem, 1993; 268: 10728
- 8 Zanotti G, Malpeli G, Berni R. J Biol Chem, 1993; 268: 24873

Retinol-binding Protein: Structure and Function. Jin Hong (*Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300050, China*).

Abstract Retinol-binding protein (RBP) is a carrier transporting retinol (vitamin A), and is an important member of lipocalin family which can bind small hydrophobic substances. The studies of structure and function of RBP are given much attention by scientists. The progress in properties and structure of RBP is summarized, and the binding sites and structural feature of the interaction of RBP with transthyretin and receptor are discussed.

Key words retinol-binding protein (RBP), structure, retinol

白细胞介素-2 受体 γ 链研究新进展

蔡铀庆

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100850)

摘要 白细胞介素-2 受体 γ 链 (interleukin-2 receptor γ chain, IL-2R γ c) 是约 3 年前发现的 IL-2 受体亚单位之一, 它不但参与高、中亲和力 IL-2R 的形成, 而且作为细胞因子受体超家族成员参与 IL-4、IL-7、IL-9 和 IL-15 受体以及可能的 IL-13 受体功能性复合物的形成. IL-2R γ c 基因结构与功能和蛋白质分子结构以及染色体定位已阐明. IL-2R γ c 及信号传导的异常导致人类 X 染色体连锁重度联合免疫缺陷病 (X-linked severe combined immunodeficiency, XSCID). 因此, 阐明 IL-2R γ c 在生理及病理状态下的生物学作用, 对了解淋巴细胞的生长发育和分化成熟、免疫应答及其调控等问题都有重要的指导意义.

关键词 白细胞介素-2 受体 γ 链, 基因结构与功能, 染色体定位, 信号传导, X 染色体连锁重度联合免疫缺陷病

白细胞介素-2 (IL-2) 等细胞因子与其相关受体相互作用后, 影响 T 细胞、B 细胞和 NK 等细胞的生长发育和分化成熟及生物学功能, 在 γ 链发现之前认为 IL-2 受体由 α 和 β 链组成, 并由它们形成高、中、低三种不同亲和力的受体, 与 IL-2 作用后产生不同的生物学效应, 但许多现象表明 IL-2 受体尚存在第

三种成分参与其功能性复合物的组成.

1 人 IL-2R γ 链的发现

种种现象表明高、中亲和力 IL-2R 的形成需要淋巴细胞特异的第三种成分: a. 表达在