

综述与专论

氨酰 tRNA 合成酶的分子网络和功能

贾捷 金由辛*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 氨酰 tRNA 合成酶是生命进化过程中最早出现的一类蛋白质, 氨酰 tRNA 合成酶帮助氨基酸转移到相应的 tRNA 上, 进而参与蛋白质的合成保证了生命体的严谨性和多样性. 随着后基因组时代的到来, 氨酰 tRNA 合成酶的结构和功能成为新的研究热点. 结构生物学和生物信息学的研究表明, 氨酰 tRNA 合成酶在真核生物体内以多聚复合物的形式行使功能, 形成复杂的分子网络体系. 最新的实验证据显示, 氨酰 tRNA 合成酶不但是蛋白质合成过程中一类最重要的酶, 而且参与了转录、翻译水平的调控、RNA 剪接、信号传导和免疫应答等众多生命活动.

关键词 氨酰 tRNA 合成酶, 分子网络, 氨酰 tRNA 合成酶复合物

学科分类号 Q71

氨酰 tRNA 合成酶 (ARS) 是生物进化初期就出现的一种重要的功能蛋白质. 氨酰 tRNA 合成酶正确识别相应 tRNA 并使其氨酰化的机制, 是中心法则的重要保障. 氨酰 tRNA 合成酶根据其结构特点被分为 I、II 两大类^[1]. 基于进化上的亲缘关系, 每一大类又被从大到小分为 a、b、c 三个亚类 (图 1). I 类合成酶具有由“HIGH”和“KMSKS”两个标签序列构成的 Rossmann 折叠, 通常以单体或是二聚体的形式存在. II 类酶含有 3 段保守序列, 第一段中有一个参与二聚体形成的保守脯氨酸残基. 第二段和第三段中含有保守的精氨酸残基, 由这两段构成的活性中心参与氨酰 AMP 的合成及 tRNA 的结合. 与所有物种中都保守存在的 20 种氨基酸不同的是, 氨酰 tRNA 合成酶及其对应的 tRNA 在进化过程中有较大的改变. 目前的研究结果表明, 酶与 tRNA 的变化是一个相互适应共同进化的过程, 这种结构上的进化使得氨酰 tRNA 合成酶及其 tRNA 具有更高的种属特异性和更多的生物学功能.

1 氨酰 tRNA 合成酶复合物

在过去 20 多年中, 随着基因组研究的开展和深入, 结构生物学和生物信息学这两门新兴学科得到了充分的发展. 越来越多的氨酰 tRNA 合成酶及其与氨基酸或 tRNA 的共晶结构数据被报道, 氨酰 tRNA 合成酶的结构特点和进化规律逐步展现在我们面前. 通常在真核生物中, 几种不同的氨酰 tRNA 合成酶与相关蛋白质偶联在一起, 形成一个

大的多聚复合物来行使复杂的生物学功能. 在低等真核生物酵母中, 谷氨酰 tRNA 合成酶 (ERS)、甲硫氨酰 tRNA 合成酶 (MRS) 与 Arc1p 蛋白的 N 端相偶联在体内形成稳定的复合物, 这种结构有利于氨酰 tRNA 合成酶行使催化功能及核内 tRNA 向胞质的运输^[2]. 而在哺乳动物体内则发现了两类复合物, 一种是缬氨酰 tRNA 合成酶 (VRS) 与转录延伸因子 EF-1H 复合物, 主要是帮助氨酰化的 tRNA 向核糖体的转运, 另外还发现复合物与 EF-1 α 存在相互作用^[3]. 这种模式在苯丙氨酰 tRNA 合成酶 (FRS)、亮氨酰 tRNA 合成酶 (LRS)、组氨酰 tRNA 合成酶 (HRS) 和天冬氨酰 tRNA 合成酶 (DRS) 中也有报道. 另外一类的氨酰 tRNA 合成酶复合物是由 8 种酶和 3 种辅助蛋白质组成, 在人体中首先发现^[4]. 其中包含一个双功能酶谷氨酰脯氨酰 tRNA 合成酶 (EPRS)、异亮氨酰 tRNA 合成酶 (IRS)、亮氨酰 tRNA 合成酶 (LRS)、谷氨酰胺 tRNA 合成酶 (QRS)、甲硫氨酰 tRNA 合成酶 (MRS)、赖氨酰 tRNA 合成酶 (KRS)、精氨酰 tRNA 合成酶 (RRS) 和天冬氨酰 tRNA 合成酶 (DRS), 以及 3 个辅助蛋白质 p18、p38 和 p43 (图 1).

* 通讯联系人.

Tel: 021-54921222, 021-54921011

E-mail: yxjin@sunm.shenc.ac.cn

收稿日期: 2003-09-03, 接受日期: 2003-10-28

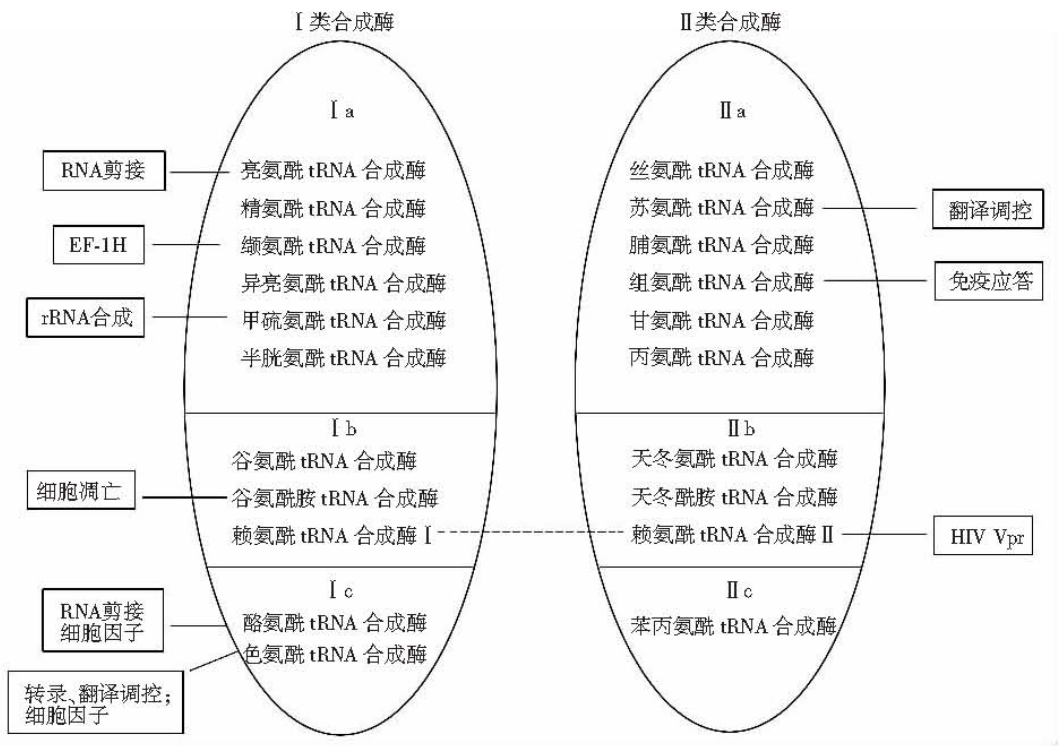


Fig. 1 Classification and new function of aminoacyl-tRNA synthetases

图 1 氨酰 tRNA 合成酶分类及新发现的生物学功能

赖氨酰 tRNA 合成酶在两类中都有存在（用虚线标出），但主要以 II 类酶的形式存在。圈外框中所标出的为各种氨酰 tRNA 合成酶除蛋白质合成外所具有的特殊生物学功能。

由于真核生物的氨酰 tRNA 合成酶复合物结构复杂、功能多样，其各基团相互之间的关系以及空间结构引起了人们的较大兴趣。在过去两年中，研究人员利用 X 射线和 NMR 技术解析得到 p43 的 C 端结构及 EPRS 的部分肽段结构，又通过化学交联、酵母双杂交技术和利用电镜观察不同离子强度和非离子去垢剂干预下的复合物结构，勾画出了复合物相互关系的初步轮廓。在这个模型中，QRS、RRS 和 p43 结合在 p38 的 N 端，MRS、KRS、DRS、p18、EPRS、IRS 和 LRS 锚定在 p38 的 C 端（图 2）^[5]。其中 p18 负责复合物与 EF-1H 的相互作用，p38 作为复合物的结构支架保证复合物的稳定性和灵活性，p43 与原核生物中的 Arcp1 类似，帮助复合物与 tRNA 的结合。

利用 Clustal X 软件对不同种属的氨酰 tRNA 合成酶进行同源结构分析，我们可以发现与原核生物相比较，通常在真核生物肽段的 N 端或者 C 端存在有几十到一百个左右的氨基酸残基，它们像是一段附加的肽链存在于真核生物氨酰 tRNA 合成酶

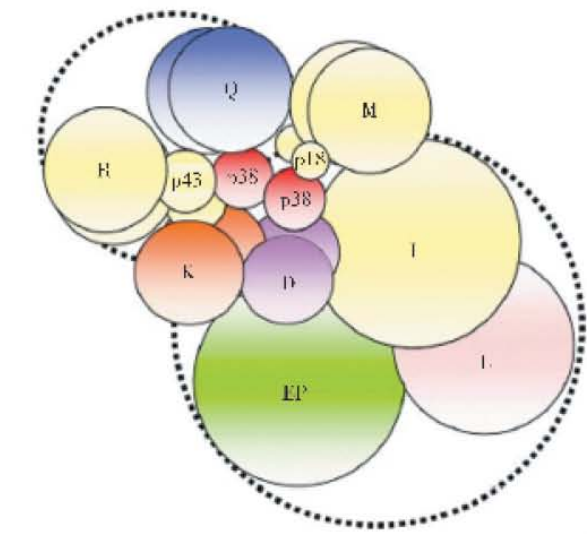


Fig. 2 The model of the multi-ARS complex consisted of eight kinds of aminoacyl-tRNA synthetases and three auxiliary proteins^[5]

图 2 8 种氨酰 tRNA 合成酶和 3 种辅助蛋白构成的氨酰 tRNA 合成酶复合物模式图^[5]
QRS、RRS、MRS、KRS、DRS 及 p43、p38 均以二体形式存在。

中. 因为原核生物中不存在氨酰 tRNA 合成酶复合物, 所以真核生物中这些附加的肽段, 被认为负责氨酰 tRNA 合成酶复合物的稳定性以及在真核生物体内一些特殊的生命活动功能.

2 氨酰 tRNA 合成酶的新功能

最新的研究证据表明, 氨酰 tRNA 合成酶除了负责蛋白质合成外还参与了多种生命活动, 包括转录、翻译水平的调控、RNA 剪接、信号传导和免疫应答几大方面 (图 1).

在色氨酸操纵子的转录调控中, 色氨酰 tRNA 合成酶对色氨酸 tRNA 的氨酰化水平直接影响到转录效率. 在 *E. coli* 中, 当色氨酰 tRNA 合成酶表达量较少或活力缺失后, 大量未氨酰化的色氨酸 tRNA 的集聚, 诱导核糖体在色氨酸操纵子翻译进行到 14 个氨基酸残基后发生停滞. 这种停滞进而诱导形成一种抗终止的高级结构来阻止转录的结束, 色氨酸操纵子的表达因此而增加. 与之不同的是, *B. subtilis* 内的 AT 蛋白质被未氨酰化的色氨酸 tRNA 所激活, 过量表达的 AT 蛋白质可以使 TRAP 结合到色氨酸操纵子 RNA 上的活力丧失, 使得色氨酸操纵子的表达不再受到抑制. 最新研究结果表明, 色氨酸 tRNA 对 AT 蛋白质的调节是发生在转录和翻译双重水平上的^[6,7].

蛋白质翻译水平的调控促使蛋白质合成效率与环境的变化相适应. 在原核生物中, 多数 RNA 结合蛋白质合成受到翻译水平上反馈调节机制的影响. 大肠杆菌中苏氨酰 tRNA 合成酶就可以抑制自身 mRNA 的翻译效率, 这种负反馈抑制的机制属于竞争性抑制. 苏氨酰 tRNA 合成酶结合在 mRNA 的操纵子上, 竞争性地抑制了核糖体 30 S 亚基的结合, 阻碍了 mRNA 翻译的起始. 苏氨酰 tRNA 合成酶 mRNA 的操纵子由 4 个结构域所组成, 其中结构域 2 和结构域 4 类似于苏氨酸 tRNA 的反密码茎环的结构, 可以被苏氨酰 tRNA 合成酶 C 端结构域中相同的氨基酸残基所识别. 核糖体亚基结合在苏氨酰 tRNA 合成酶操纵子的 1、3 结构域, 当苏氨酰 tRNA 合成酶结合在 2、4 结构域后, 氨酰 tRNA 合成酶 N 端形成的空间构象阻碍了核糖体亚基向 1、3 结构域的靠近^[8]. 以上实验结果表明, 苏氨酰 tRNA 合成酶的合成存在生长速度依赖性. 当生长速度加快时, 体内的苏氨酸 tRNA 浓度增加, 苏氨酰 tRNA 合成酶就主要发挥氨酰化功能, 自身合成不再受到抑制. 此外, 生长速度加快时高

浓度的核糖体高效地竞争性结合在苏氨酰 tRNA 合成酶操纵子上, 保证氨酰 tRNA 合成酶翻译的顺利进行. 反之, 生长速度放慢时体内苏氨酸 tRNA 和核糖体浓度较低, 分别受到操纵子 2、4 结构域和苏氨酰 tRNA 合成酶的竞争性抑制, 使得苏氨酰 tRNA 合成酶的翻译受到抑制.

在 *Neurospora crassa* 和其他一些真菌中, 研究人员发现, 线粒体酪氨酰 tRNA 合成酶是蛋白质 I 类内含子的剪接信号, 存在类似功能的还有酵母线粒体中的亮氨酰 tRNA 合成酶. 人源甲硫氨酰 tRNA 合成酶在胞内的定位受到多种生长因子的调节, 包括胰岛素、血小板衍生长因子和成纤维细胞生长因子. 此外核内的甲硫氨酰 tRNA 合成酶被证明与核糖体 RNA 的合成有关^[9]. 酵母氨酰 tRNA 合成酶复合物中的辅助蛋白质 Arc1p 与 Los1p 相互作用帮助 tRNA 的运输, 人氨酰 tRNA 合成酶中的 p43 也参与了核内 tRNA 转运. 对于这些辅助蛋白质而言, 其细胞因子活性更引起研究人员兴趣. p43 存在于多种细胞系中, 通过激活 MAPKs 和 NF- κ B 诱导多种细胞因子和趋化因子的分泌表达, 如 TNF、IL-8、MCP-1、MIP-1 α 和 IL-1 β ^[10]. p43 还能诱导单核细胞的粘着和内皮细胞的调亡. 这种细胞因子活性不仅表现在辅助蛋白质中, 也存在于人源的氨酰 tRNA 合成酶中.

人 QRS 可以与调亡信号调节激酶 ASK1 相作用, 通过使 ASK1 失活来抑制细胞调亡. 因为 ASK1 和 JNK 的活性可以受到谷氨酰胺的抑制, 因此 QRS 可能是通过谷氨酰胺来抑制 ASK1 活性的^[11]. 酵母双杂交实验表明, 人 KRS 可以和 HIV-1 病毒蛋白 R (Vpr) 相作用, 赖氨酸 tRNA 的氨酰化可以被 Vpr 所抑制. 从基因组数据分析得知赖氨酸 tRNA 序列可以作为 HIV-1 反转录的引物, 据此猜测 KRS 与 Vpr 的相互作用会影响到 HIV-1 的反转录起始^[12].

与疾病相关的氨酰 tRNA 合成酶还包括最新报道的、在促血管生成信号通路中发挥作用的人酪氨酰 tRNA 合成酶 (YRS) 和色氨酰 tRNA 合成酶 (WRS). 这个发现最早来源于抗血管生成因子 EMAP II 与 p43 结构同源性比较, 和 IL-8 与缺失突变的酪氨酰 tRNA 合成酶功能相似性的研究^[13]. 在高等真核生物酪氨酰 tRNA 合成酶的 C 端有一段 EMAP II 的同源序列, 这段序列在原核生物和低等真核生物中是不存在的. 分段表达的 C 端结构域表现出 EMAP II 的部分活力, 如诱导 TNF α 的表达

等,但并不具有 EMAP II 抗血管生成的活性. 由酪氨酰 tRNA 合成酶 N 端催化结构域构成的小酪氨酰 tRNA 合成酶同样也具有细胞因子活性,可以激活 PMN 细胞的迁移. 小酪氨酰 tRNA 合成酶含有一个 Glu-Leu-Arg (ELR) 标签序列, ELR 结构是 CXC-趋化因子的特征序列,这个结构使得小酪氨酰 tRNA 合成酶具有同 IL-8 相似的促血管生成活性. 然而完整的酪氨酰 tRNA 合成酶没有表现出任何的细胞因子活性,这说明体内存在的 RNA 剪接和蛋白质酶切作用对于蛋白质功能多样性有着重要意义. 抗增殖细胞因子 γ -干扰素 (IFN- γ) 可以上调人色氨酰 tRNA 合成酶的基因和蛋白质表达. 在用 IFN- γ 处理过的细胞中会表达一种缺失 N 端 48 个氨基酸残基的色氨酰 tRNA 合成酶,这种小色氨酰 tRNA 合成酶具有拮抗由 VEGF 引起的促血管生成活性^[14]. 与酪氨酰 tRNA 合成酶类似的是,这种拮抗血管生成活性在完整的色氨酰 tRNA 合成酶中也不存在.

临床研究发现,在多肌炎病人(一种肌肉损伤疾病)的血清中人组氨酰 tRNA 合成酶 (HRS) 作为一种自身抗原而存在. 15% ~ 25% 的病人含有抗组氨酰 tRNA 合成酶的抗体,还有少数病人含有抗丙氨酰 tRNA 合成酶、甘氨酰 tRNA 合成酶、异亮氨酰 tRNA 合成酶、苏氨酰 tRNA 合成酶或天冬酰胺 tRNA 合成酶的抗体. 组氨酰 tRNA 合成酶直接与免疫细胞相互作用,刺激活性单核细胞和未成熟树突细胞的趋化性^[15]. 从病原学角度来讲, HRS 和上面提到的 QRS、KRS、YRS 及 WRS 都可以作为理想的筛药靶点,筛选用于治疗相应病症的药物.

3 结束语

体外研究证据表明,单独存在的氨酰 tRNA 合成酶具有氨酰化活力,因此真核生物体内的氨酰 tRNA 合成酶复合物并不是蛋白质合成所必需的,这样的结构有利于氨酰 tRNA 合成酶在体内的稳定性和蛋白质合成的高效性. 氨酰 tRNA 合成酶及其辅助蛋白质的生物功能多样性表明,在生物体内存在着复杂的生物分子网络体系,这种生物大分子之间的相互作用和体内所发生的精巧的 RNA 及蛋白

质加工,为我们揭开了后基因组研究的新篇章.

参 考 文 献

- 1 Eriani G, Delarue M, Poch O, *et al.* Partition of tRNA synthetases into two classes based on mutually exclusive sets of sequence motifs. *Nature*, 1990, **347** (6289): 203 ~ 206
- 2 Simos G, Sauer A, Fasiolo F, *et al.* Hurt, conserved domain within Arc1p delivers tRNA to aminoacyl-tRNA synthetases. *Mol Cell*, 1998, **1** (2): 235 ~ 242
- 3 Negrutskii B S, Shalak V F, Kerjan P, *et al.* Functional interaction of mammalian valyl-tRNA synthetase with elongation factor EF-1alpha in the complex with EF-1H. *J Biol Chem*, 1999, **274** (8): 4545 ~ 4550
- 4 Quevillon S, Robinson J C, Berthonneau E, *et al.* Macromolecular assemblage of aminoacyl-tRNA synthetases: identification of protein-protein interactions and characterization of a core protein. *J Mol Biol*, 1999, **285** (1): 183 ~ 195
- 5 Kim J Y, Kang Y S, Lee J Y, *et al.* p38 is essential for the assembly and stability of macromolecular tRNA synthetase complex: implications for its physiological significance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (12): 7912 ~ 7916
- 6 Valbuzzi A, Yanofsky C. Inhibition of the *B. subtilis* regulatory protein TRAP by the TRAP-inhibitory protein, AT. *Science*, 2001, **293** (5537): 2057 ~ 2059
- 7 Chen G, Yanofsky C. Tandem transcription and translation regulatory sensing of uncharged tryptophan tRNA. *Science*, 2003, **301** (5630): 211 ~ 213
- 8 Sankaranarayanan R, Dock-Bregeon A C, Romby P, *et al.* The structure of threonyl-tRNA synthetase-tRNA (Thr) complex enlightens its repressor activity and reveals an essential zinc ion in the active site. *Cell*, 1999, **97** (3): 371 ~ 381
- 9 Ko Y G, Kang Y S, Kim E K, *et al.* Nucleolar localization of human methionyl-tRNA synthetase and its role in ribosomal RNA synthesis. *J Cell Biol*, 2000, **149** (3): 567 ~ 574
- 10 Ko Y G, Park H, Kim T, *et al.* A cofactor of tRNA synthetase, p43, is secreted to up-regulate proinflammatory genes. *J Biol Chem*, 2001, **276** (25): 23028 ~ 23033
- 11 Ko Y G. Glutamine-dependent antiapoptotic interaction of human glutaminyl-tRNA synthetase with apoptosis signal-regulating kinase 1. *J Biol Chem*, 2001, **276** (8): 6030 ~ 6036
- 12 Stark L A, Hay R T. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) viral protein R (Vpr) interacts with Lys-tRNA synthetase: implications for priming of HIV-1 reverse transcription. *J Virol*, 1998, **72** (4): 3037 ~ 3044
- 13 Wakasugi K, Schimmel P. Two distinct cytokines released from a human aminoacyl-tRNA synthetase. *Science*, 1999, **284** (5411): 147 ~ 151
- 14 Wakasugi K, Slike B M, Hood J, *et al.* A human aminoacyl-tRNA synthetase as a regulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (1): 173 ~ 177
- 15 Howard O M Z, Dong H F, Yang D, *et al.* Histidyl-tRNA synthetase and asparaginyl-tRNA synthetase, autoantigens in myositis, activate chemokine receptors on T lymphocytes and immature dendritic cells. *J Exp Med*, 2002, **196** (6): 781 ~ 791

Macromolecular Network and New Function of Aminoacyl-tRNA Synthetases

JIA Jie, JIN You-Xin *

(State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology,
Shanghai Institutes for Biological Sciences, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Aminoacyl-tRNA synthetases (ARS) are the oldest enzymes in the evolution. The amino acids are transferred to the cognate tRNAs by the aminoacyl-tRNA synthetases, and then involved in the synthesis of the protein. This process is very important to keep the stability and variety of the lives. With the coming of the post-genome research, one of the main objectives becomes to illustrate the structures and the function of the aminoacyl-tRNA synthetases. Based on the data from the structure biology and the bioinformatics, the multi-ARS complex seemed to be the main form in the eukaryote. In addition, mammalian ARSs consist of a sophisticated macromolecular network with the auxiliary proteins or the elongation factors. The recent discoveries show that aminoacyl-tRNA synthetases not only are the most important enzymes to the synthesis of the protein, but also are involved in the diverse cellular processes, such as regulation on the transcription and translation level, RNA splicing and trafficking, apoptosis, angiogenesis and inflammation.

Key words aminoacyl-tRNA synthetase, macromolecular network, multi-ARS complex

* Corresponding author. Tel: 86-21-54921222, Fax: 86-21-54921011, E-mail: yxjin@sunm.shenc.ac.cn

Received: September 3, 2003 Accepted: October 28, 2003

第三届国际人类蛋白质组大会即将于 2004 年 10 月召开

随着人类基因组计划的完成,蛋白质组研究已成为 21 世纪生命科学发展的先导,成为生命科学乃至自然科学最活跃的学科领域。由国际人类蛋白质组组织(HUPO)发起的国际人类蛋白质组大会是国际蛋白质组领域中规模最大、影响最广、水平最高的世界性会议,每年举办一次。2004 年 10 月 25 日至 27 日,第三届国际人类蛋白质组大会将在北京召开。这将是亚太地区主办的第一次大型国际蛋白质组学大会。若干诺贝尔奖获得者及国际蛋白质组研究领域著名专家将应邀作大会报告。预计 3000 余名代表将出席本次大会。

本届大会的主题是“蛋白质组——解析基因组”。会议的主要议题将包括:蛋白质组学技术;糖蛋白质组学;神经蛋白质组学;微生物蛋白质组学;肝脏蛋白质组学;亚细胞蛋白质组学;蛋白质化学;蛋白质结构;蛋白质生物信息学;疾病蛋白质组学;药物蛋白质组学;植物和动物蛋白质组学等。

会议同期将举办“Ex-HUPO”大型生命科学分析仪器、实验室技术及相关设备展览。会前还将举办“人类蛋白质组计划”系列卫星会。

大会由国际人类蛋白质组组织、中国人类蛋白质组组织、国家生物医学分析中心、北京市科学技术委员会共同主办。

有关参会及参展详细信息请查阅大会网站: www.hupo2004.cn

联系人: 陈宁 电话: 86-10-82327644 传真: 86-10-82802515 E-mail: Beijing2004@newlife.org.cn

通信地址: 北京市海淀区学院路 38 号北京大学医学部会议中心一层 100083 第三届国际人类蛋白质组大会会务组