

- pll), 1990; **76**: 10a
- 12 Chasis J A, Knowles D, Winardi R *et al.* Blood (abstr. suppl), 1991; **78**: 252a

- 13 Telen M, Chasis J A. Blood, 1990; **76**: 842
- 14 Reid M E, Takakuwa Y, Conboy J *et al.* Blood, 1990; **75**: 2229

二级结构形成：蛋白质折叠起始过程的框架模型

胡红雨 杜雨苍 鲁子贤

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 框架模型认为二级结构形成是蛋白质起始过程的结构基础。文章介绍蛋白质同源片段的溶液构象及其构象研究法和多肽二级结构的从头设计, 并综述这些研究成果应用于折叠起始过程的理论模型和蛋白质折叠起始过程的最新研究进展。

关键词 框架模型, 二级结构, 从头设计, 折叠起始

蛋白质的空间结构, 肽链折叠与生物功能的关系是蛋白质科学的重大前沿领域。自从 Anfinsen 通过对牛胰核糖核酸酶(RNase A)二硫键重组研究, 揭示蛋白质一级结构和高级结构关系以来, 已对许多蛋白质的变性和复性、折叠(folding)和去折叠(unfolding)进行了广泛的研究^[1], 提出了蛋白质折叠途径的几种模型, 比较典型的有框架模型(framework)^[2], 扩散-碰撞模型(diffusion-collision)和溶球态模型(molten globule), 发现了许多蛋白质折叠过程中的中间体(intermediate), 并且已开始探讨折叠起始点(initiation)问题^[3]。其中 BPTI 二硫键的组装和肽链的折叠研究是最突出的例子。

核糖体上新生肽链的合成, 修饰, 折叠, 组装及分泌是继基因表达之后分子生物学领域的第二战略步骤, 探索蛋白质折叠的起始过程是研究蛋白质折叠的重大突破口。Baldwin^[3]综述了蛋白质折叠起始的三种可能因素: 疏水作用, 二级结构及某些特殊作用力(如二硫键)。其中二级结构的形成是框架模型的结构基础^[4]。框架模型认为二级结构的形成在决定蛋白质折叠途径中起中心作用, 折叠起始于独立, 瞬时的肽段二级结构^[5]。因此, 研究蛋白质中肽段(segment)和游离同源多肽片段(fragment)

的结构和分子设计在探讨蛋白质折叠起始点和折叠途径问题中具有重要意义^[6]。

1 溶液中小肽的构象

1.1 蛋白质同源片段的溶液构象

按 Zimm-Brag 模型, 早期一般认为小于 20 个残基的小肽在水溶液中不能形成稳定的 α

表 1 一些在溶液中具有一定二级结构的短肽片段

二级结构	肽片段
转折	YPGDV, SYPYDV, GRGDSP
新生螺旋	蚯蚓血红蛋白 C-螺旋
螺旋	RNase A C 肽, 肌红蛋白 H-螺旋, BPTI C 端(47-58), 以 Ala 和 Glu, Lys ($i, i+4$) 为基础设计的短肽
疏水簇	甲状旁腺素 (VQWL), 质体蓝素 (KIVFKNNA)

螺旋结构。Brown 和 Klee^[7]报道, RNase A 经枯草杆菌蛋白酶水解得到 N 端含 20 残基的 S 肽和经溴化氰裂解所得的 N 端含 13 残基的 C 肽在水溶液中均有高含量稳定的 α 螺旋构象存在。这一发现, 使人们对溶液中小肽的构象有

了新的认识. 其后, 陆续发现了一系列具有稳定二级结构的小肽 (表 1). 其中蚯蚓血红蛋白 (myohemerythrin) 的 69—87 位同源片段虽然在水中无螺旋结构, 但在 H_2O/TFE 溶液中含 50% 的 α 螺旋, 称为初生螺旋结构 (nascent helix).

1.2 影响肽构象的因素

溶液中肽的构象具有很大的易变性, 受很多物理化学因素影响.

1.2.1 二级结构形成势 (secondary structure propensity) 氨基酸序列无疑是溶液中决定肽构象的最关键因素. Chou-Fasman 曾根据蛋白质晶体数据统计结果, 给出二十种氨基酸在 α 螺旋, β 折叠和转折中的形成势参数, 再利用窗口移动法计算肽段的二级结构. 这些参数反映了氨基酸的整体性质和肽段的二级结构形成倾向. Scheraga 根据主-客 (host-guest) 模型, 得出各种残基形成 α 螺旋的起始参数 σ 和延长参数 S , 采用 Zimm-Brag 方法计算肽链 α 螺旋的形成几率. 形成二级结构, 不仅与该肽内残基的性质和位置有关, 而且还受该肽段 N 和 C 端残基的影响. α 螺旋结构具有一定极性, N 端带部分正电荷, C 端带部分负电荷, 其偶极矩是 N 端指向 C 端. 两端残基的盖帽 (capping) 效应对 α 螺旋结构十分重要, 因此 Glu、Asp、Asn 常出现于 N 端, 而 Lys、His 则在 C 端的几率较大, 以平衡 α 螺旋的极性^[8].

1.2.2 疏水相互作用 (hydrophobic interaction) 疏水作用对肽的稳定性具有重要意义. 一些含长脂肪和芳香侧链的氨基酸残基, 如 Ile、Leu、Phe、Trp 等, 在溶液中其相转移自由能很低, 易形成疏水内核而稳定肽的构象. Chothia 和 Eisenberg 曾根据相转移自由能数值给出各残基的疏水性参数指标, 据此可以判别肽链的疏水性、亲水性和两亲性性质. 溶剂性质影响疏水相互作用. 一般, 醇类溶剂, 特别是三氟乙醇 (TFE) 和六氟异丙醇 (HFP), 促进肽的 α 螺旋结构的形成, 与其脂肪链的疏水性有关.

1.2.3 静电相互作用 (electrostatic interac-

tion)^[9] 电荷作用包括电荷-电荷, 电荷-偶极和偶极-偶极相互作用. Asp、Glu 和 Lys、Arg、His 残基侧链基团可带电荷, 二级结构具有一定偶极矩, 它们间相互作用, 对稳定肽构象具有一定影响. RNase A C 肽的 Glu2⁻—His12⁺ 和 BPTI C 端同源序列 Glu49⁻ 或 Asp50⁻—Arg53⁺ 间静电相互作用是稳定 α 螺旋构象的重要因素. 因此, 溶液 pH 值和离子强度影响螺旋形成程度.

1.2.4 氢键 (hydrogen bonding)^[8] 氢键是肽链形成二级结构普遍的作用力, 如螺旋和转折中的中程 CO_i 和 NH_{i+3} 或 NH_{i+4} 和 β 折叠中的远程 CO_i 和 NH_j 氢键. 另外, 侧链间氢键以及溶剂和肽链氢键作用对肽构象也有一定影响. 似乎氢键的形成跟肽链的二面角有关, 且形成过程有一定协同性.

1.2.5 柔性 (flexibility) 柔性指肽链的摆动性和侧链的振动和转动等热运动. 与蛋白质相比, 溶液中多肽的摆动性较大. 由于主链 Φ 、 ψ 、 ω 和侧链 χ' 、 χ'' 角等具有一定程度的自由转动, Pro 的 *cis/trans* 互变, 侧链基团如芳香环的转动, 造成肽链构象的摆动. 一般, 溶液中小肽是由几种构象同时存在的. 肽链增长, 温度降低, 肽链摆动性降低, 从而趋于形成稳定构象. 残基位置也与其摆动性有关.

1.3 肽溶液构象的研究方法评价^[10]

许多物理化学方法在各自的适用范围内都能用于研究溶液中多肽的构象, 包括圆二色性 (CD)、荧光光谱、振动光谱: 付立叶红外光谱 (FTIR) 和拉曼光谱 (Raman) 和核磁共振 (NMR). 由于溶液中肽链的摆动性和测量方法所藉的物理化学参数时间分辨率的限制, 使得各种方法各有千秋, 相辅相成.

圆二色性和振动光谱主要用于测定多肽和蛋白质的二级结构, 反映肽链的性质. 前者指肽链的酰胺键对圆偏振光的吸收差, 后者则是通过肽链 CO 和 NH 的振动吸收 (包括红外振动和拉曼光谱) 判断肽链的二级结构. 一般, 溶液中小肽的构象不很稳定, 有时是几种构象体同时存在, 因此这两种方法仅能提供肽链二

级结构的整体轮廓。相对来说,提供的信息量较少。荧光光谱通过发射波长、量子产率、荧光寿命、能量转移、荧光偏振等参数研究 Trp、Tyr 和 Phe 残基的运动及周围环境的影响,它能提供肽的空间结构信息。时间分辨的荧光能测定纳秒级的旋转异构体。通过生色基团间的能量转移可以计算它们的空间距离。荧光光谱对研究肽的分子动态学 (molecular dynamics) 相当有效。NMR (特别是 2D-NMR), 根据空间质子的 NOE 效应, 测定肽的空间构象, 而且还能分别检测到溶液中肽的几种稳定构象组分, 如 Pro 的 *cis/trans* 异构体, β 转折类型等, 是目前研究溶液中小肽完整构象的最有效方法。随着生物技术的发展, 抗肽抗体技术也应用于蛋白质和多肽空间构象研究。这种来源于抗原和抗体相互识别的技术, 也为研究蛋白质同源片段和天然蛋白质中相应肽段的构象相似性提供另一途径。

直链小肽在溶液中存在各种构象体组分 (conformer population), NMR 法 (时间平均效应) 和 CD 法 (不能定位) 均不能满意地给出这些组分信息。近来发展起来的 FTIR 可以提供单个构象体的结构信息。再是测定溶液中小肽各构象体之间的相互转化问题, 标记荧光供体和受体之间非发射能量转移法可以在纳秒级水平测定构象态间的动态平衡和相互转化。此外, 顺磁共振 (ESR) 法也是新发展的研究自旋标记肽构象的有效方法^[11]。

2 多肽二级结构的从头设计

多肽和蛋白质的分子设计已深入到药物和酶分子领域^[12]。从结构和性能方面分析, 一定功能的生物分子总与其发挥作用时的特定结构密切相关的。因此, 设计特定结构的多肽和蛋白质, 不仅是生物工程技术的需要, 而且还能发展蛋白质结构和折叠理论。

迄今, 二级结构的设计和改造已有丰富的知识。有关 α 螺旋和转折的设计和构建报道很多, 信号肽 (signal sequence) 和亮氨酸拉链 (leucine zipper)^[13] 是两个比较成功的例子。基

于现有的结构理论和蛋白质数据库的统计分析, 多肽和蛋白质的从头设计 (de novo design) 已有很大进展^[12]。

一般来说, α 螺旋设计较 β 折叠容易, 因此有关 α 螺旋肽的设计和理论分析报道很多。Baldwin^[14]曾设计了一系列基于 Ala、Lys 和 Glu 的十六肽, 其序列为:

(*i*+4) E, K: AcAEAAAKEAAAKEAAAKANH₂

(*i*+3) K, E: AcAEAAAEKAAAEKAAAEANH₂

发现当 Lys 和 Glu 以 (*i*, *i*+4) 顺序位置出现在肽链中, 十六肽在水溶液中具有稳定的 α 螺旋结构, 推测形成 Lys 和 Glu 间离子键, 促进 α 螺旋形成。Bradley 等设计 Glu、Lys 以 (*i*, *i*+3) 或 (*i*, *i*+4) 位置排列的合成多肽, 并用 CD 和 NMR 测定了其 α 螺旋结构。

氨基酸组成和位置是二级结构的关键。Ala、Leu、Lys、Glu 有利于 α 螺旋形成, 然而这些残基位置对螺旋形成有很大影响。Richardson^[8]曾对晶体数据中各种氨基酸残基在 α 螺旋和其两端 (N-cap, C-cap) 位置分布进行统计。Asp、Glu、Asn、Ser 常位于螺旋的 N 端; Lys、Arg、His 则位于 C 端。这些带电荷基团位于螺旋的两极, 平衡螺旋的电荷极性, 起到稳定螺旋的作用。

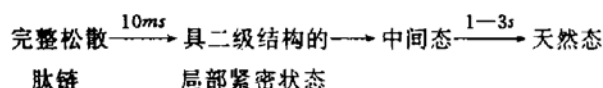
转折 (turn) 的设计所涉及到的残基数较少, Pro、Gly 残基常出现于转折中, 象 YPYD、YPGDV 等肽在水溶液中能形成稳定的转折, 并且可用 NMR 检测到。 β 折叠包含两条折叠链的肽链远程相互作用, 其实为一种超二级结构。对其理论探讨不多。因此, 设计 β 折叠的困难比螺旋大, 需要设计合成较长的肽链。最近, Pessi 等报道^[15]以免疫球蛋白重链可变区为模板设计和合成了长度为 61 个残基含六条 β 链和两个 Loop 区的全 β 型球状蛋白质, 且 Loop 区包含三个 His 作为 Zn²⁺ 等金属结合位点。可以认为这是设计全 β 型球状蛋白质最成功的典例。

超二级结构的设计已有尝试, 有许多这方面文献报道, 如 α - α hairpins, 4 α 螺旋簇 (模板装配蛋白), α/β 桶型结构 (α/β barrel) 和螺旋

-转折-折叠模块. 螺旋簇模型肽的设计和溶液中螺旋簇的形成对研究蛋白质的折叠机理的理论认识很有借鉴作用. 疏水相互作用是形成螺旋簇的主要驱动力, 一旦簇形成后, 增强了螺旋的稳定性. 金属离子^[16]和金属卟啉环促进螺旋簇的形成, 并稳定其结构. 可以设想, 这些螺旋簇肽的伸展和再折叠(refolding)是研究蛋白质折叠的热力学和动力学上相当优越的模型.

3 蛋白质折叠起始过程的框架模型

蛋白质由松散肽链折叠成完整的具有生物功能的天然态, 可以用下列框架模型途径表示:



框架模型推测二级结构形成在决定蛋白质折叠途径中起中心作用, 认为蛋白质起始于独立和瞬时的肽段二级结构. 曾使用 Flickering cluster 或 Fluctuating embryo、Nascent structure 和 Fluctuating secondary structure 等名词表示这种结构雏形. Wright^[5]总结出蛋白质折叠起始点的主要内容, 认为折叠起始于伸展态肽链上的几个位点, 这些位点能形成二级结构单元或疏水簇. 结构上不稳定且与伸展肽链互相转化的这些结构单元以非特定的布朗运动方式扩散和碰撞, 导致较大结构的形成, 并增加了结构稳定性(扩散-碰撞模型). 因此蛋白质的折叠途径可以用下列模型表示(图1).

作者从形成二级结构的作用力和折叠起始时局部作用两方面考察, 认为这种依赖于肽链短程或中程($\leq 3-4$ 个残基)相互作用的结构雏形为“局部优势结构”(local preferential structure), 包括亚稳态二级结构(α -helix, nascent helix, turn)和局部疏水簇(hydrophobic cluster). 局部优势结构可定义为: a. 不稳定或瞬时的动态结构, 或者是几种结构的平衡复合体; b. 结构内部为短程或中程($\leq 3-4$ 个残基)相互作用; c. 同一肽链中不同区域的结构是独立的; d. 局部优势结构的延伸和组

合形成蛋白质整体构象.

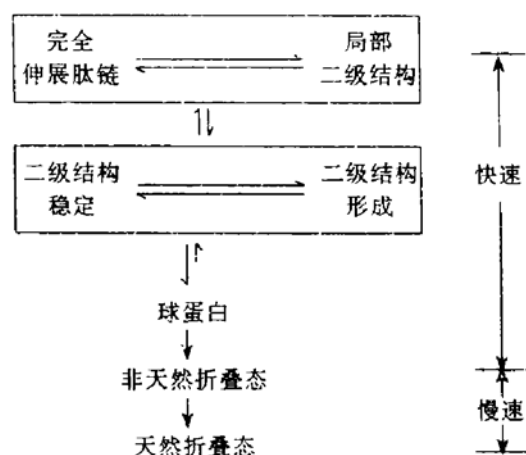


图1 基于蛋白质同源片段的蛋白质折叠途径

假设蛋白质折叠起始是基于一级结构形成二级结构的过程. 此时的相互作用仅限于局部肽段(segment)之间, 这一结构的形成与肽链其它部分无关. 因此这一肽段的结构性性质可以用游离的多肽片段(fragment)模拟. 事实上, 许多多肽片段已经起到模型的效果. 如蚯蚓血红蛋白的C螺旋肽片段的初生螺旋结构^[5](图2). 在水溶液中, 肽的整体构象是一系列转折样(turn-like)结构和松散肽链间的动态平衡.

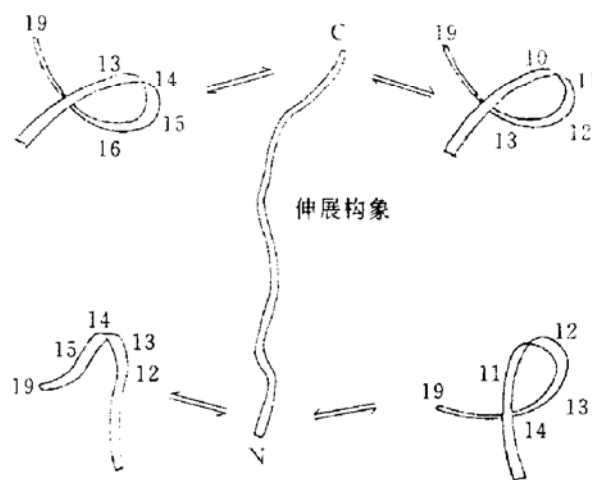


图2 蚯蚓血红蛋白C螺旋肽段的新生螺旋结构

蛋白质折叠起始是一个快速而复杂的动力学过程(10ms). 虽然已有一些实验技术可用于这方面研究, 如NMR脉冲标记技术, 但蛋白

质同源和改性肽段模型仍是一种最有效的结构、热力学和动力学模型^[5]。因此研究模型肽段的结果,可以应用于蛋白质折叠的理论和实践。从结构上分析,同源肽段与天然蛋白质有相似之处(表1),这与蛋白质折叠起始阶段的二级结构仍然保留在天然结构中的观点相一致。基于天然态的二级结构和疏水包埋区域(hydrophobic burial regions. HBR),用 Monte Carlo 法能够分析 T4 溶菌酶等蛋白质的折叠过程;而分子动力学法可模拟 RNase A S 肽及其类似物的二级结构转变。随着温度的升高,此肽经历 α -helix $\rightleftharpoons$ 3_{10} -helix $\rightleftharpoons$ random coil 的变化。

溶液中肽二级结构形成的理论分析已有诸多报道^[17],描述螺旋-无规卷曲转变的 Zimm-Bragg 模型广泛应用于 α 螺旋形成的稳定性分析。根据 Scheraga 等^[18]的主-宾理论分析,得到各氨基酸残基的起始参数 σ (nucleation parameter) 和延长参数 S (growth parameter),而计算出含 N 个残基肽链中第 i 个残基的螺旋形成几率 $P_H(i)$:

$$P_H(i) = 1/Z(0 \ 1) \prod_{j=1}^{i-1} W_A(j) \frac{\partial W_A(i)}{\partial \ln S_A(i)} \\ \times \prod_{j=i+1}^N W_A(j) \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

其中 $W_A(j)$ 为统计权重,

$$W_A(j) = \begin{pmatrix} S_A(j) & 1 \\ \sigma_A(j)S_A(j) & 1 \end{pmatrix}; Z \text{ 为配分方程,}$$

$$Z = (0 \ 1) \left[\prod_{j=1}^N W_A(j) \right] \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

主-宾方法得出的 σ 和 S 值,与 Chou-Fasman 和 Richardson 的统计结果一致。Asp^o、His^o、Glu^o 等具有很强的螺旋起始效应,而 Glu^o、Met、Ile、Leu、Ala 等具稳定螺旋结构作用。最近,DeGrado 等^[19]仍采用主-宾方法研究各种氨基酸残基在模型肽中螺旋形成自由能 ΔG° 变化(以螺旋-无规卷曲两态模型,用 CD 谱测定平衡常数 K_s , $\Delta G^\circ = -RT \ln K_s$),得出了 21 种残基(包括 Aib)的螺旋形成参数($\Delta \Delta G^\circ$, 与 Gly 相比较)。同 P_s 、 S 、 P_{mid} 值比较,具有一定

平行性,Ala、Aib 为最好的促进螺旋形成残基;Leu、Met、Phe 具有一定的螺旋形成作用,但受侧链空间位阻制约;而 Val、Thr、Ile 由于侧链 β 位的甲基支链,对螺旋形成不利。这些参数和模型考虑肽链中各残基的起始和延长效应,更接近于蛋白质折叠起始过程中的局部优势结构和肽链二级结构的稳定和延伸。

蛋白质的生物合成是在核糖体上从 N 端向 C 端逐渐进行的,体内折叠可能存在着与肽链合成同步进行的过程。新生肽链的折叠,跨膜分泌问题是研究蛋白质折叠的基本环节。首先合成的 N 端信号肽肽链富含疏水残基,一般可形成 α 螺旋结构,引导肽链跨核糖体膜分泌。信号肽螺旋肽段的形成对整个蛋白质的折叠和跨膜过程中蛋白质的去折叠过程究竟如何起作用,以及分子伴侣(molecular chaperone)在体内蛋白质折叠和组装中如何发挥功能,这些尚是目前力求解决的基本问题。体内(in vivo)新生肽链的折叠应是研究蛋白质折叠的中心课题,多肽二级结构形成的理论模型将为这一中心课题提供理论基础。

参 考 文 献

- 1 Dobson C M. Curr Opin Struct Biol, 1993; 3: 57
- 2 Kim P S, Baldwin R L. Annu Rev Biochem, 1982; 51: 459
- 3 Baldwin R L. Trends in Biol Sci, 1989; 14: 291
- 4 Ptitsyn O B. Curr Opin Struct Biol, 1992; 2: 13
- 5 Wright P E. Biochemistry, 1988; 27: 7167
- 6 Dyson H J, Wright P E. Curr Opin Struct Biol, 1993; 3: 60
- 7 Brown J E, Klee W A. Biochemistry, 1976; 10: 470
- 8 Richardson J S. Science, 1988; 240: 1648
- 9 Yang A S, Honig B. Curr Opin Struct Biol, 1992; 2: 40
- 10 Dyson H J. Annu Rev Biophys Biophys Chem, 1991; 20: 519
- 11 Miick S M. Nature, 1992; 359: 653
- 12 Richardson J S. Trends in Biol Sci, 1989; 14: 304
- 13 O'shea E K, Kim P S. Science, 1989; 245: 646
- 14 Marqusee S. Proc Natl Acad Sci USA, 1989; 86: 5286
- 15 Pessi A, Bianchi E, Crameri A et al. Nature, 1993; 362: 367
- 16 Finkbeiner M, Suck D. J Am Chem Soc, 1990; 113:

1470

17 Scholtz J M, Baldwin R L. Annu Rev Biophys Biomol

Struct, 1992; 21: 95

18 Vasquez M, Pincus M A, Scheraga H A, Biopolymers, 1987; 26: 351

19 DeGrado W F. Science, 1990; 250: 646

肽库及其在分子识别中的应用

齐 杰 鲁治滨 王玉宏 李 惟

(吉林大学分子生物学系, 长春 130023)

摘要 肽库 (peptide library) 是利用基因克隆技术将合成的一组寡核苷酸混合物 (小肽基因混合物) 克隆至线性噬菌体基因组中, 使之以融合蛋白的形式在噬菌体的外壳蛋白 (Ⅲ 或 Ⅳ) 的氨基端表达。肽库技术可以应用于与分子识别有关的许多领域, 如: 药物设计, 疫苗设计, 酶的抑制剂的筛选, 蛋白质间的相互作用的研究等等。这是一项新兴的具有很高的实用价值和理论价值的技术。文中综述了其产生、发展和未来的应用前景。

关键词 分子识别, 肽库, 基因克隆, 线性噬菌体

肽库是大量某一长度 (如六肽) 的短肽的集合, 它包括了该长度的短肽的各种可能序列或其中的绝大部分, 是近几年发展起来的一种新技术, 其原理很简单 (如图 1 所示)。显然该项技术具有重要的理论价值和实践上的应用价值, 可以用来研究蛋白质间的相互识别^[1-4]、蛋白质的折叠及空间构象预测^[5,6], 及肽与有机物 (如染料、亲和素) 间的特异相互作用^[2,7,8], 还可以用来研究酶与底物的结合、抗原-抗体的相互作用、激素与受体的结合, 以及建立在这些信息基础上的实际应用。如疫苗设计、基因定位、小分子药物设计等。由于肽库技术具有如此重要的理论价值和实际应用前景, 因此, 目前它的发展是很迅速的。这方面的报道在 *Nature*、*Science* 上多次出现过。它将给蛋白质、核酸和药物设计等领域带来一场革命。

肽库技术的形成基于两方面的进展。早在 1986 年, Geysen^[9]认为: a. 含有关键残基的短肽能够模拟蛋白质上的决定簇。b. 多数情况下, 几个关键残基与它的结合分子间形成的非共价键构成了全部结合能的绝大部分。也就是说, 蛋白质之间的相互作用或识别是通过局部肽段间的相互作用来实现的。上述这两点为肽库的提出奠定了理论基础。1988 年 Stephen 和 George^[10]建立了一种新的表达载体: Anti-body-selectable filamentous fd phage vector, 它可将外源短肽表达并伸到噬菌体的表面。可以用亲和纯化法筛选表达特异肽序列的噬菌体。通过测定噬菌体的 DNA 序列, 就可知道所表达的肽段的氨基酸序列。这一进展为肽库的提出提供了技术保障。

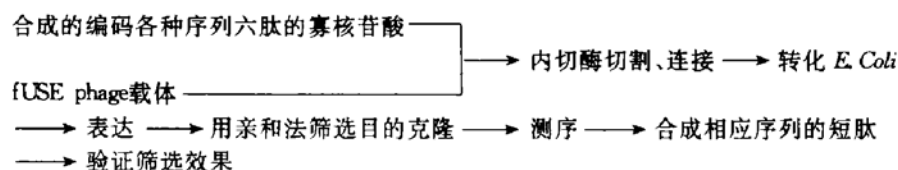


图 1 肽库技术流程图

ratory of Pharmaceutic Biotechnology, Nanjing University, Nanjing 210008). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (6): 497—500

The expression of human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (hGM-CSF) gene is finely regulated at the levels of both transcription and post-transcription. The transcriptional regulation involves some *cis*-active elements, such as the CATT (A/T) repeat sequence, GC-rich sequence, CK-1, CK-2, κ B specific sequence and inducible CsA-sensitive enhancer, which are all located in the 5'-untranscriptional region of the hGM-CSF gene. At the post-transcriptional level, a 62bp AU-rich sequence located at 3'-untranslation region of the mRNA is related to the stability of hGM-CSF mRNA. These mechanisms can up or down regulate the production of hGM-CSF when the cells receive the signals from the stimuli of cytokines and other stimulating factors.

Key words hGM-CSF gene, transcriptional regulation, post-transcriptional regulation

The Advance of Application of Ultrasound to Biotechnology. Feng Ruo, Zhao Yiyun, Li Huamao, Wang Jin. (*Institute of Acoustics Nanjing University, Nanjing 210093*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (6): 500—503

The application of ultrasound to biotechnology is one of the new interesting research fields. A number of studies has shown that some biochemical processes can be activated by ultrasound in the presence of enzymes and cells. Generally, lower intensity ultrasound can increase the activity of enzymes and immobilised enzymes or improve the metabolism of cells by the improvement of mechanism of mass-transfer of substrates. The advance and future of

applications of ultrasound to biotechnology is discussed by some examples given.

Key words ultrasound, cavitation, biotechnology

The Advances in Red Blood Cell Glycophorins Research. Mao Jianping, Sun Zhixian. (*Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (6): 504—508

Glycophorin (GP or sialoglycophorin)-A, B, C and D constitute a group of red blood cell (RBC) transmembrane proteins. GPA carried the M- and N-blood group antigens. GPB represents the Ss. and U antigens. GPC and GPD exhibit the Gerbich receptors. Some homologous peptide sequences exist in four of the GPs, but extensive similarities are within GPA and GPB family, GPC and GPD family as well. Because of its abundant sialic acid content, GPA plays a critical role in preventing and minimizing interactions of RBC to RBC, and of RBC to other cells in circulation. Binding of a ligand specific for GPA induces profound changes in membrane material behavior. GPC has a important role in regulating RBC shape, membrane deformability and membrane mechanical stability. The functions of GPA and GPC are associated with band 3 and 4.1 proteins respectively.

Key words erythrocyte, glycophorin, transmembrane protein

Secondary Structure Formation: Framework Model of Protein Folding Initiation. Hu Hongyu, Du Yucang, Lu Zixian. (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*, 1994; **21** (6): 508—513

Framework model emphasizes that secondary

structure formation is the foundation of protein folding initiation. The paper presents the solution conformation of protein fragment and methods of conformation elucidation, and De novo design of peptide with secondary structure. Also, the application of these achievements in constructing the theoretical model of folding initiation and progress on research of protein folding initiation up to date are detailedly reviewed.

Key words framework model, secondary structure, de novo design, folding initiation

Peptide Library and Its Applications in Molecular Recognition. Qi Jie, Lu Zhibin, Wang Yuhong, Li Wei. (*Department of Molecular Biology, Jilin University, Changchun 130023*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (6): 513—517

Peptide library is a collections of peptides. The peptides display on the N-terminal of p III or p VIII coat protein of bacteriophage through gene cloning. This might be used in the fields associated with molecular recognition, such as: drug design, selection of enzymes inhibitor, vaccines selection, interaction of proteins, etc. Peptide library technique is a lately developed technique with high practical and theoretical value. Peptide library birth, development and potential applications in the future are reviewed.

Key words molecular recognition, peptide library, gene cloning

The Analgesic Domain of Interleukin-2. Xu Di, Jiang Chunlei, Zheng Zhongcheng, Fan Peifang, Sun Lanying, Liu Xinyuan, Song Chaoyou, You Zhendong, Wang Chenghai, Lu Changlin. (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*). *Prog.*

Biochem. Biophys. (China). 1994; 21 (6): 518—520

Interleukin-2 (IL-2) is an important immune regulator. Recently it is found that IL-2 is also an analgesic molecule. Using the potassium iontophoresis as pain stimulus to induce tail-flick and taking the intensity of current (mA) at the moment of the response as the pain threshold (PT), it is reported that mutant 20 Leu-IL-2 (20Asp→Leu), which could not bind to the β subunit of IL-2 receptor and thus had no immune activity, could increase the PT of the rats, indicating that the analgesic and the immunal functions be related to two different domains in IL-2 molecule. Mutant 45Val-IL-2 (45Tyr→Val), which had immunal activity, had no analgesic effect, suggesting that the 45Tyr be crucial for the analgesic effect of IL-2 and the analgesic domain be located around the 45Tyr.

Key words interleukin-2, site-directed mutagenesis, analgesia, structure-function studies, central nervous system

Characterization and Distribution of the Antigen Recognized by Breast Carcinoma McAb AF9. Cai Guiying, Zeng Wenjie. (*Department of Biochemistry, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; 21 (6): 521—523

A preliminary study was made on the characterization and distribution in human tissues of AF9-recognized antigen. The results demonstrated that the antigen is a complex protein composed of carbohydrate, lipid and protein and susceptible to heating to 100°C. The determinant of AF9-recognized antigen was not present in the ferritin and carcinoembryonic antigen. Western blotting revealed that AF9-rec-