

一种新的氧合球蛋白 ——神经球蛋白*

赵同标^{1,2)} 常智杰³⁾ 赵新全¹⁾**

(¹⁾中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; ²⁾中国科学院研究生院, 北京 100039;

³⁾清华大学生物科学与技术系基因组研究所, 北京 100084)

摘要 神经球蛋白 (neuroglobin, NGB) 是最近发现的一种新的可以和氧可逆性结合的血红蛋白家族成员, 主要表达于脊椎动物的脑中. NGB 蛋白是由 151 个氨基酸组成的单体蛋白, 有着古老的进化起源. 迄今为止, 已证明它具有储存、转运氧气和保护神经细胞的功能. NGB 基因的表达调节至少有两条信号转导途径参与. NGB 的发现为中风等缺氧相关疾病的治疗提供了新的方向.

关键词 神经球蛋白, 氧气, 脑, 神经细胞

学科分类号 Q726

血红蛋白类球蛋白家族是一类存在于细菌、原生生物、霉菌、植物和动物中的氧结合亚铁血红素蛋白, 可以通过含铁卟啉环与氧可逆性结合, 参与氧的转运与贮存. 到目前为止, 脊椎动物中共有 4 种球蛋白被发现, 一种是血液中参与氧储存与转运的血红蛋白 (hemoglobin); 另一种是肌肉中协助氧进入线粒体的肌红蛋白 (myoglobin); 第三种是细胞中充当氧缓冲剂, 便利氧扩散和参与清除细胞毒性 NO 的细胞球蛋白 (cytoglobin); 第四种就是新近发现的神经球蛋白 (neuroglobin, NGB)^[1]. 神经球蛋白是 Burmester 等^[2]2000 年新发现的一种具有高的氧亲和力, 并且大量表达于脑组织的脊椎动物单体球蛋白. 本文就 NGB 的结构、功能、调控和进化方面所取得的研究进展作简要评述.

1 神经球蛋白的结构组成

神经球蛋白由一条多肽链构成, 相对分子质量为 17 000, 含 151 个氨基酸残基^[2]. X 射线晶体结构分析 (分辨率为 0.195 nm) 显示, 人神经球蛋白有两种晶体结构形式: 一种是典型的 0.4 nm × 0.2 nm × 0.1 nm 菱形结构, 不稳定; 另一种是稳定结构形式, 个体单元参数 (unit-cell parameters) 为 $a = 3.96$ nm, $b = 9.49$ nm, $c = 6.75$ nm, $\beta = 94.4^\circ$, 其中每个不对称晶格可以容纳 2 到 4 个分子^[3].

小鼠中神经球蛋白含量较低, 约占总蛋白量的 0.01%. 虽然同脊椎动物中的其他几种球蛋白相类

似, 神经球蛋白属于含有卟啉环的亚铁血红素球蛋白, 卟啉环中心的亚铁态铁原子有 6 个配位键, 然而与血红蛋白、肌红蛋白的氨基酸序列同源性较低^[1,2], 分别小于 21% 和 25%. 此外, 配体结合和蛋白质动力学研究表明: 由于神经球蛋白末端组氨酸残基 (HisE7) 占据亚铁血红素的第 6 个配位键位点, 外来配体必须和来自于分子内部的配体竞争结合位点, 细胞球蛋白具有类似机制, 这是一种全新的配体结合调节机制^[4]. 传统观点认为, 球蛋白中卟啉环中心亚铁态铁原子的第六配位键处是一个空的配体结合位点, 接受外来的配体. 迄今为止, 这种结构上的差别所造成的生理功能差异还未见报道.

人 NGB 基因位于 14 号染色体 (14q24), 有 3 个内含子, B12-2、E11-0 和 G7-0. 内含子 B12-2 和 G7-0 在脊椎动物的血红蛋白类球蛋白家族中是保守的, 而中心内含子 E11-0 为神经球蛋白和细胞球蛋白所独有^[2].

2 神经球蛋白的功能

神经球蛋白具有高的氧亲和力且能和氧可逆性

* 国家重点基础研究发展规划项目 (973) (G1998040813); 中国科学院知识创新工程基金资助项目 (KZCX1-09-01); 中国科学院海北高寒草甸生态系统开放试验站基金.

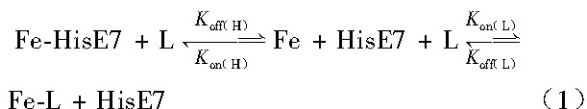
** 通讯联系人.

Tel: 0971-6143618, Fax: 0971-6143282

E-mail: xqzhao@public.xn.qh.cn

收稿日期: 2003-04-22, 接受日期: 2003-05-28

结合, 半饱和氧分压约为 $P_{50} = 0.266 \text{ kPa}$, 大于血红蛋白 ($P_{50} = 3.458 \text{ kPa}$) 而小于肌红蛋白 ($P_{50} = 0.133 \text{ kPa}$)^[2]. 神经球蛋白作为氧携带者, 能够增强氧气扩散进入线粒体的能力, 提高氧利用率, 从而满足神经细胞活跃的需氧代谢需求^[5]. 由于 HisE7 占据神经球蛋白亚铁态铁原子的第 6 个配位点, 外来氧气、一氧化碳等配体必须和分子内部的配体竞争这一结合位点. 氧气、一氧化碳等配体同神经球蛋白结合的动力学方程式可见式 1 (L : 氧气或一氧化碳等外来配体, K_{off} : 配体分离率, K_{on} : 配体结合率). 神经球蛋白和氧气结合的动力学参数 (未列出) 显示神经球蛋白为氧气的供给者^[1,5], 这从动力学方面证明了神经球蛋白是氧携带者的推测.



神经球蛋白能够增强低氧情况下神经细胞的存活能力, 具有明显的保护神经细胞功能. 培养的脑皮层细胞中, 低氧诱导 NGB 表达可减少神经细胞的损伤, 抑制 NGB 表达可增加神经细胞损伤, 而过表达 NGB 能增强细胞的低氧耐受能力^[6]. 体外试验提示, NGB 是脑病理性缺血的内在神经保护因子^[7]. NGB 的这种保护神经细胞功能无疑为脑中风等缺氧相关疾病的治疗指出了新的方向.

Trent 等^[8]根据亚铁血红素蛋白家族的功能相似性推测: 神经球蛋白可以清除细胞内 NO 和 O_2 或者作为 NO、 O_2 等气体配体的氧感受子, 通过低氧信号转导途径调节下游基因的表达, 从而使细胞适应氧浓度的变化.

3 神经球蛋白基因表达调节

NGB 基因表达受 sGC-PKG (soluble guanylate cyclase-protein kinase G) 信号途径调控. 氯化血红素 (hemin) 诱导 NGB 基因在 mRNA 和蛋白质水平表达增强; 阻断 sGC-PKG 信号途径明显抑制氯化血红素对 NGB 基因表达的诱导^[9].

尽管低氧诱导 NGB 基因表达的调控机制还不是很清楚, 但有一系列的试验表明, 细胞低氧信号转导途径参与了这一过程. 低氧和低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 的诱导子如 CoCl_2 和 Deferoxamine (Dfx) 等都能使 NGB 基因表达增强. 另外在 NGB 基因 5' 端非编码区发现了多条 HIF-1 结合位点相同序列, 提示 NGB 为 HIF-1 α 的靶基因^[6,7].

此外, MEK (mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase) 的抑制子能够阻断低氧诱导 NGB 基因表达, 提示有另外的途径参与了 NGB 基因表达调控^[9].

4 神经球蛋白的分子进化

不同物种中神经球蛋白的氨基酸序列保守程度大于血红蛋白和肌红蛋白. 例如, 人和鼠神经球蛋白氨基酸序列具有 94% 的同源性, 而人和鼠中血红蛋白、肌红蛋白氨基酸序列同源性只有 77% ~ 85%^[2]. 神经球蛋白同血红蛋白、肌红蛋白的氨基酸序列具有较低的同源性 (同源性分别低于 21% 和 25%), 然而, 高级结构中末端和最近端的组氨酸和苯丙氨酸残基在 3 种球蛋白中都紧随 C 螺旋 (C-helix, PheCD1) 之后, 呈明显的保守特征^[1,2]. 系统发生分析发现, 神经球蛋白基因的分化早于血红蛋白和肌红蛋白基因, 并且脊椎动物神经球蛋白和无脊椎动物的神经球蛋白具有相同的进化祖先^[2].

哺乳动物和鱼类 NGB 基因有 4 个外显子和 3 个内含子, 而血红蛋白与肌红蛋白基因有 3 个外显子和 2 个内含子. 除了相同的内含子 B12-2 和 G7-0 之外, 哺乳动物和鱼类神经球蛋白基因中具有独特的内含子 E11-0, 可能是伴随着神经系统早期功能分化形成而形成的^[1,2].

5 结 语

氧是有机体代谢和维持生命活动所必需的, 静息状态下仅占体重 2% 的脑消耗了人体总耗氧量的 20%, 脑是如何高效率地利用氧一直是科研工作者感兴趣的问题. 神经球蛋白的发现无疑为这一问题的解决提供了新的重要线索. NGB 对神经细胞的保护功能, 为脑中风等缺氧相关疾病的治疗以及低氧适应机理等领域的研究提供了新思路.

参 考 文 献

- 1 Pesce A, Bolognesi M, Bocedi A, *et al.* Fresh blood for the vertebrate globin family. *EMBO Rep*, 2002, **3** (12): 1146 ~ 1151
- 2 Burmester T, Weich B, Reinhardt S, *et al.* A vertebrate globin expressed in the brain. *Nature*, 2000, **407** (6803): 520 ~ 523
- 3 Pesce A, Nardini M, Dewilde S, *et al.* Human neuroglobin: crystals and preliminary X-ray diffraction analysis. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2002, **58** (Pt 10 Pt 2): 1848 ~ 1850
- 4 Kriegl J M, Bhattacharyya A J, Nienhaus K, *et al.* Ligand binding and protein dynamics in neuroglobin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (12): 7992 ~ 7997
- 5 Dewilde S, Kiger L, Burmester T, *et al.* Biochemical

- characterization and ligand binding properties of neuroglobin, a novel member of the globin family. *J Biol Chem*, 2001, **276** (42): 38949 ~ 38955
- 6 Sun Y, Jin K, Mao X O, *et al.* Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (26): 15306 ~ 15311
- 7 Sun Y, Jin K, Peel A, *et al.* Neuroglobin protects the brain from experimental stroke *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (6): 3497 ~ 3500
- 8 Trent J T 3rd, Hargrove M S. A ubiquitously expressed human hexacoordinate hemoglobin. *J Biol Chem*, 2002, **277** (22): 19538 ~ 19545
- 9 Zhu Y, Sun Y, Jin K, *et al.* Hemin induces neuroglobin expression in neural cells. *Blood*, 2002, **100** (7): 2494 ~ 2498

A New Oxygen-binding Globin: Neuroglobin*

ZHAO Tong-Biao^{1, 2)}, CHANG Zhi-Jie³⁾, ZHAO Xin-Quan^{1) **}

(¹⁾ Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

²⁾ Graduate School of The Chinese Academy Sciences, Beijing 100039, China;

³⁾ Tsinghua Institute of Genome Research, Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract Neuroglobin (NGB) is a newly discovered member of the hemoglobin family that reversibly binds O₂ and is expressed predominately in vertebrate brain. NGB is a monomer composed of 151 amino acids, with high oxygen affinity. It is of ancient evolutionary origin. Hithertos, it has been proved to associate with oxygen storage, transport and neuron protection. NGB gene expression is mediated by at least 2 signal transduction pathways. The discovery of NGB provides a new direction for treating patients with strokes and other hypoxia-related diseases.

Key words Neuroglobin (NGB), oxygen, brain, neuron

* This work was supported by grants from The Special Funds for Major State Basic Research of China (G1998040813), Key Project of The Chinese Academy of Sciences (KZCX1-09-01) and Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station Found, The Chinese Academy of Sciences.

** Corresponding author. Tel: 86-971-6143618, Fax: 86-971-6143282, E-mail: xqzhao@public.xn.qh.cn

Received: April 22, 2003 Accepted: May 28, 2003