

蛋白质解旋对构象性疾病的影响

任含笑, 高 谦, 贾 音, 李闻捷

基金项目: 国家自然科学基金(面上项目)(No. 81170834); 国家

自然科学基金(青年科学基金项目)(No. 81300748)

作者单位: (200433) 中国上海市, 第二军医大学附属长海医院实验诊断科

作者简介: 任含笑, 在读硕士研究生, 研究方向: 晶状体蛋白功能与老年性白内障病因学。

通讯作者: 李闻捷, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 晶状体蛋白功能与老年性白内障病因学。wenjieli@pku.org.cn

收稿日期: 2015-06-16 修回日期: 2015-09-08

Influence of protein unwinding on conformational diseases

Han-Xiao Ren, Qian Gao, Yin Jia, Wen-Jie Li

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81170834); National Natural Science Foundation of China (Youth Science Foundation) (No. 81300748)

Department of Experimental Diagnosis, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Wen-Jie Li. Department of Experimental Diagnosis, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. wenjieli@pku.org.cn

Received: 2015-06-16 Accepted: 2015-09-08

Abstract

• Protein unwinding includes advanced structure changes, the formation and fracture of disulfide bond and so on. Protein unwinding is widely involved in the physiological and pathological processes *in vivo*, of which advanced structure changes have important influences on the occurrence and development of conformational diseases. In order to seek for the common pathological mechanism and corresponding intervention approach, this review summarizes the current information about conformational diseases, especially about cataract and Alzheimer's disease.

• **KEYWORDS:** protein unwinding; conformational diseases; cataract; Alzheimer's disease

Citation: Ren HX, Gao Q, Jia Y, *et al*. Influence of protein unwinding on conformational diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(10):1727-1729

摘要

蛋白质解旋包括高级结构的改变、二硫键的形成及断裂等;蛋白质的解旋广泛参与生物体内多种生理和病理过

程,其中高级结构的改变对构象性疾病的发生、发展有重要影响。本文综述蛋白质解旋对构象性疾病的影响,并以白内障及阿尔兹海默症为例,探寻此类疾病共有的某些发病机制及相应的干预途径。

关键词: 蛋白质解旋; 构象性疾病; 白内障; 阿尔兹海默症

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.10.13

引用: 任含笑, 高谦, 贾音, 等. 蛋白质解旋对构象性疾病的影响. 国际眼科杂志 2015;15(10):1727-1729

0 引言

1996年, Carrell等^[1]首先提出蛋白质构象病的概念,是人类在疾病认识上的一次飞跃。蛋白质构象病是指由于蛋白质的折叠错误而引起构象改变,尽管蛋白质的一级结构不变,但其构象的改变仍可影响其功能;这些错误折叠的蛋白质聚积成为毒性蛋白,严重时可导致疾病的发生,即蛋白质构象病^[2]。例如,白内障、阿尔兹海默症、疯牛病等。其主要特征是某些蛋白折叠成稳定的替换性构象(大多数是由 α 螺旋变为 β 折叠),这种构象的蛋白质在多数情况下易在组织中聚积为纤维状沉淀物^[3],进而产生毒性而致病^[4]。

蛋白质解旋包括高级结构的改变、二硫键的形成及断裂等。研究表明蛋白质解旋可能与构象性疾病的发病机制有密切关系,对蛋白质解旋的深入研究有望为构象性疾病,尤其是对白内障等常见病的药物预防开辟新途径。

1 蛋白质结构与功能

1.1 蛋白质的一级结构与功能 蛋白质一级结构是空间结构的基础,特定的空间构象主要由蛋白质的肽链和侧链R基团来维持。在细胞内,蛋白质多肽链合成后,即可根据一级结构的特点进行盘曲和折叠,继而形成特定的空间构象^[5]。

1.2 蛋白质的高级结构与功能 蛋白质高级结构包括二级结构、超二级结构、结构域、三级结构以及四级结构。其中二级结构指多肽链在一级结构的基础上进一步盘曲折叠形成的构象,如 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规则卷曲等;超二级结构指在球状蛋白质分子一级结构基础上,相邻的二级结构在三维折叠中相互靠近并相互作用,在局部区域形成规则的二级结构的聚合体;三级结构是指一条多肽链在二级结构(超二级结构及结构域)的基础上进一步盘曲、折叠而产生的空间结构。在某些蛋白质中,二硫键对于维系其三级结构起非常重要的作用;四级结构是由相同或不同的亚基或分子按照一定的排布方式聚合而成的聚合体结构,根据亚基数目不同,可将寡聚蛋白分为二聚、三聚、四聚体等。

2 蛋白质解旋

2.1 二级结构的转换 从Cohen等^[6]首创的电镜学说到

Serpell 等^[7]和 Blake 等^[8]的精细结构学说,都提示不同的错误折叠的蛋白质有相似的分子结构。一般蛋白质由 α 螺旋和无序结构组成,而错误折叠的蛋白质变为富 β 折叠结构^[9]。大分子蛋白质的折叠遵循一个独特的轨迹,这种分子最终达到最小自由能时所对应的构象是蛋白质的稳定构象^[10]。当蛋白质发生基因突变、翻译后修饰、或者所处环境改变时,其 Loop 区肽链转变为 β -折叠,此结构由很多非极性残基构成疏水核心,使 α 螺旋表面的亲水面减少^[11],从而使蛋白质的功能发生改变。

2.2 四级结构的转换 四级结构是由相同或不同的亚基或分子按照一定的排布方式聚合而成的聚合体结构。有研究表明,大肠杆菌萤光素酶是由 α 和 β 两个亚基组成的异二聚体蛋白。在 β 亚基的再折叠过程中加入 α 亚基,能形成有活性的 $\alpha\beta$ 异二聚体; β 亚基单独存在时可以形成稳定的同二聚体。而 α 亚基和 β 同二聚体同时存在时,不能形成有活性的 $\alpha\beta$ 异二聚体^[12]。说明蛋白质四级结构的改变可影响蛋白质的功能。

2.3 二硫键的断裂及形成 二硫键是两个还原型巯基(-SH)被氧化而形成的二硫共价键(-S-S-)。细胞有些蛋白质的结构和功能需要二硫键维持;而有些蛋白质的活性则需要巯基来维持。二硫键的形成迫使同一或不同肽链的不同区域的氨基酸残基向一起集合靠拢,由此肽链迅速折叠并形成稳定的空间拓扑结构,同时疏水氨基酸残基围绕着二硫键,可形成局部疏水中心,有利于形成稳定的高级结构区域^[13];而在白内障的发病机制中,当巯基被氧化成二硫键时,其三维结构被破坏,并因此而聚集,形成高分子质量蛋白(HMW)和非水溶性(WI)蛋白质^[14],最终导致蛋白质结构功能改变,这是引发老年性白内障的主要原因之一。

3 蛋白质构象病类型与作用机制

目前已知的蛋白质构象病主要分为三类:淀粉样蛋白沉积、朊蛋白构象变化以及抑丝酶构象异常引起的疾病。蛋白质的功能主要依赖于三维空间结构,而分子伴侣蛋白可监督蛋白质的折叠过程,因此在多数情况下蛋白质的折叠错误可以避免^[3]。许多遗传、环境因素与蛋白质错误折叠和聚集有关。环境因素包括改变金属离子、病态的伴侣蛋白、pH值、氧化应激、一氧化氮(NO)诱导^[15]等,从而催化蛋白质的错误折叠。蛋白质聚集有三种方式:纤维化、无定形聚合以及有赖于氨基酸序列的低聚物,这些改变是由突变、翻译后修饰(PTMs)和蛋白质生存环境造成的^[16]。蛋白质的降解主要通过自噬体和溶酶体^[17]。分子伴侣网络的容量足够使大多数蛋白质进行正确折叠;不能被正确合成的蛋白质大约只占总量的5%~10%^[18],这些错误折叠的蛋白质在分子伴侣的协助下被泛素标记,进而被泛素-蛋白酶体系统(UPS)降解。可溶性和不溶性蛋白质的聚集可使分子伴侣的组成和功能降低,并诱导内质网应激反应以及抑制泛素蛋白酶复合体系统。酪氨酸激酶(BTK)的变异对于蛋白质构象病至关重要,其单个核苷酸的变异可能影响蛋白质的稳定性^[19]。当错误折叠或未折叠的蛋白质聚集超过了UPS的降解能力时这些蛋白质就不再被降解,反呈聚集,而这些大量聚集的蛋白质会破坏细胞稳态网络,从而形成构象病^[17]。

4 蛋白质解旋与晶状体疾病

老年性白内障是由于蛋白质在晶状体内大量无规聚集、水不溶性蛋白成分增加、使晶状体变为混浊、光线难以穿过不透明的晶状体,从而阻碍光线到达视网膜上的光感受器而导致。这些蛋白主要由 α -和 β 、 γ -晶体蛋白组成^[16]。老年性白内障的主要病因是PTMs,例如 α 晶体蛋白的糖基化、广泛的氨甲酰化以及氧化反应(包括羟自由基、超氧离子、蛋氨酸氧化)等;非原生的二硫键形成、细胞骨架断裂、谷氨酸盐和天冬酰胺脱酰胺作用也是 α 晶体蛋白主要的翻译后的重要修饰形式。此外,视网膜、视紫红质的突变,脉络膜小疣、玻璃体、睫状体中蛋白质聚集等也与白内障的发生有关^[16]。

5 蛋白质解旋与阿尔兹海默症

蛋白质的错误折叠是由于形成了稳定的、惰性蛋白中间体,这种中间体叫做熔球态(molten globule, MG),而此类错误折叠的蛋白质所形成的包涵体被称为淀粉样沉淀。在某些情况下蛋白质在执行生理或病理功能时发生构象变化,这种构象变化被认为是蛋白质为了功能多样化和具有的构象多样化的潜能。因此,MG这种状态就是为了实现构象变化的灵活性而存在。例如 apoE4,是在血液脂质运输和中枢神经系统中起重要作用的蛋白质,同型 apoE4 含量增加被认为是阿尔兹海默症的主要危险因素之一。而 β 淀粉样蛋白异常折叠形成叫做 amylospheroid (ASPD)的沉淀物^[20],ASPD是由神经毒素组成的寡聚物 amyloid- β (A β),A β 是由 β 分泌酶1(BACE1)引发的蛋白质水解淀粉样前蛋白(APP)生成的^[21],其主要由40或42个氨基酸残基组成,沉积在脑组织细胞外并围绕着脑血管壁。这些改变存在于退化的神经元胞质里,包含过度磷酸化的 Tau 蛋白的聚集物^[22]。沉淀物聚集在神经斑而形成淀粉样斑块是造成阿尔兹海默症的主要原因^[23]。有报道称 γ 分泌酶复合物可将细胞膜上的垃圾蛋白降解为小片段,细胞可重新利用这些小片段,这对 β 淀粉样蛋白的产生和降解起重要作用,为该病医治提供了新的思路和期待^[24]。

6 小结

通过对蛋白质错误折叠、聚集机制的研究为寻找针对构象性疾病的普适性治疗方法提供希望,而对特定蛋白质构象病的研究同样也为治疗其他构象病提供了新的思路。

本课题组近10余年研究表明, β B2晶状体蛋白天然性的保持及变性聚集,对于晶状体混浊及白内障的发生、发展具有独特的作用:随着年龄增长 β B2水溶性蛋白含量反而升高,且 β B2具有类伴侣蛋白的作用,可以弥补 α 类晶体蛋白功能下降而带来的不利影响。实验表明,对于UVB或亚硒酸钠诱导的大鼠白内障模型施以二硫苏糖醇(DTT)等还原剂可以有效降低该蛋白聚集形成HMW,减少晶状体混浊^[25];施以叔丁醇类巯基结合物,可以通过对晶体蛋白的游离巯基进行部分烷基化,从而减少晶体蛋白之间的非特异性交联、减少晶状体混浊^[26]。

参考文献

- 1 Carrell RW, Lomas DA. Conformational disease. *Lancet*1997; 350(9071):134-138
- 2 Lee C, Yu MH. Protein folding and diseases. *Ksbmb* 2005;38(3): 275-280

- 3 Berrocal R, Vasquez V, Krs S, *et al.* α -synuclein misfolding versus aggregation relevance to parkinson's disease: critical assessment and modeling. *Mol Neurobiol* 2015;51(3):1417-1431
- 4 Chu Y, Kordower J. The prion hypothesis of Parkinson's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2015;15(5):28
- 5 唐媛, 李春花, 张媛. 蛋白质的二级结构预测研究进展. *现代生物医学进展* 2013;13(26):5180-5182
- 6 Cohen AS, Calkins E. Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature* 1959;183(4669):1202-1203
- 7 Sunde M, Serpell LC, Bartlam M, *et al.* Common core structure of amyloid fibrils by synchrotron X-ray diffraction. *J Mol Biol* 1997;273(3):729-739
- 8 Serpell LC, Blake CC, Fraser PE. Molecular structure of a fibrillar Alzheimer's A beta fragment. *Biochemistry* 2000;39(43):13269-13275
- 9 Francioso A, Punzi P, Boffi A, *et al.* β -sheet interfering molecules acting against β -amyloid aggregation and fibrillogenesis. *Bioorg Med Chem* 2015;23(8):1671-1683
- 10 Csermely P, Sandhu KS, Hazai E, *et al.* Disordered proteins and network disorder in network descriptions of protein structure, dynamics and function; hypotheses and a comprehensive review. *Curr Protein Pept Sci* 2012;13(1):19-33
- 11 Santucci R, Sinibaldi F, Fiorucci L. Protein folding, unfolding and misfolding: role played by intermediate States. *Mini Rev Med Chem* 2008;8(1):57-62
- 12 胡红雨, 许根俊. 蛋白质的结构转换. *生物化学与生物物理进展* 1999;1:9-11
- 13 徐国恒. 二硫键与蛋白质的结构. *生物学通报* 2010;45(5):5-7
- 14 张可可, 竺向佳. 晶状体蛋白的外消旋化及其在白内障发病机制中的研究进展. *中华实验眼科杂志* 2014;32(6):563-567
- 15 You D, Lee J, Kim J, *et al.* Effect of nitric oxide on conformational changes of ovalbumin accompanying self-assembly into non-disease-associated fibrils. *Nitric Oxide* 2015;47:1-9
- 16 Surguchev A, Surguchov A. Conformational diseases: looking into the eyes. *Brain Res Bull* 2010;81(1):12-24
- 17 Hipp MS, Park SH, Hartl FU. Proteostasis impairment in protein-misfolding and -aggregation diseases. *Trends Cell Biol* 2014;24(9):506-514
- 18 Duttler S, Pechmann S, Frydman J. Principles of cotranslational ubiquitination and quality control at the ribosome. *Mol Cell* 2013;50(3):379-393
- 19 Väliäho J, Faisal I, Ortutay C, *et al.* Characterization of all possible single-nucleotide change caused amino acid substitutions in the kinase domain of bruton tyrosine kinase. *Hum Mutat* 2015;36(6):638-647
- 20 Parthasarathy S, Inoue M, Xiao Y, *et al.* Structural insight into an Alzheimer's Brain-Derived Spherical Assembly of Amyloid β by Solid-State NMR. *J Am Chem Soc* 2015;137(20):6480-6483
- 21 Chakraborty S, Basu S. Structural insight into the mechanism of amyloid precursor protein recognition by β -secretase 1: a molecular dynamics study. *Biophys Chem* 2015;202:1-12
- 22 Berhanu W, Masunov A. Atomistic mechanism of polyphenol amyloid aggregation inhibitors: molecular dynamics study of curcumin, exifone, and myricetin interaction with the segment of tau peptide oligomer. *J Biomol Struct Dyn* 2015;33(7):1399-1411
- 23 Zhou Z, Xiao G. Conformational conversion of prion protein in prion diseases. *ABBS* 2013;45(6):465-476
- 24 Xie T, Yan C, Zhou R, *et al.* Crystal structure of the γ -secretase component nicastrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(37):13349-13354
- 25 付清, 耿宇, 张建荣, 等. 二硫苏糖醇复合物对 SD 大鼠硒性白内障的抑制作用. *国际眼科杂志* 2008;8(9):1767-1769
- 26 李静, 薛炼, 张军, 等. 叔丁醇治疗 SD 大鼠硒性白内障的疗效观察. *第二军医大学学报* 2008;29(9):1056-1059