

泛素调节的蛋白质降解 ——2004 年诺贝尔化学奖成果简介

焦 姣 姚祝军

(中国科学院上海有机化学研究所 上海 200032)

〔摘要〕 以色列科学家阿龙·切哈诺沃(Aaron Ciechanover)、阿夫拉姆·赫什科(Avram Hershko)和美国科学家欧文·罗斯(Irwin Rose)因发现泛素调节的蛋白质降解被授予 2004 年诺贝尔化学奖。泛素是一种含 76 个氨基酸的多肽,存在于除细菌外的许多不同组织和器官中,具有标记待降解蛋白质的作用。被泛素标记的蛋白质在蛋白酶体中被降解。泛素控制的蛋白质降解具有重要的生理意义,它不仅能够清除错误蛋白质,对细胞生长周期、DNA 复制以及染色体结构都有重要的调控作用。

〔关键词〕 诺贝尔化学奖 泛素 蛋白质降解 基因 癌症

〔中图分类号〕 0629.72 Q519

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 1000-7857(2005)02-0022-04

UBIQUITIN-MEDIATED PROTEOLYSIS ——INTRODUCTION OF ACHIEVEMENTS OF THE NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY 2004

JIAO Jiao YAO Zhu-Jun

(Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: The Nobel Prize in Chemistry 2004 is shared among three scientists who have made fundamental discoveries concerning how cells regulate the breakdown of intracellular proteins with extreme specificity as to target, time and space. Aaron Ciechanover, Avram Hershko and Irwin Rose together discovered ubiquitin-mediated proteolysis, a process where an enzyme system tags unwanted proteins with many molecules of the 76-amino acid residue protein ubiquitin. The tagged proteins are then transported to the proteasome, a large multisubunit protease complex, where they are degraded. Numerous cellular processes regulated by ubiquitin-mediated proteolysis include the cell cycle, DNA repair and transcription, protein quality control and the immune response. Defects in this proteolysis have a causal role in many human diseases, including a variety of cancers.

Key Words: Nobel Prize in Chemistry, ubiquitin, proteolysis, gene, cancer

CLC Numbers: 0629.72 Q519

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2005)02-0022-04

收稿日期: 2005-01-05

作者简介: 焦姣,女,1982~;上海枫林路 354 号中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室,研究生,主要研究细胞信号转导过程的关键化学分子调控;E-mail: jiaojiao@mail.sioc.ac.cn

姚祝军,男,1968~;中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室研究组组长、研究员,主要从事细胞凋亡的化学生物学、天然产物与生物活性分子的合成化学以及分子影像学;E-mail: yaoz@mail.sioc.ac.cn

[5] M. Gell-Mann. *Phys. Lett.* 1964 (8):214

[6] 北京基本粒子物理理论组. 原子能, 1966 (3): 7~8; 北京基本粒子物理理论组. 北京大学学报(自然科学), 1966(2); Hung-yuan Zhu. Reminiscence of the Straton Model, Proceedings of the 1980 GUANGZHOU Conference on Theoretical Physics, Litton Educational Publishing, 4

[7] 北京基本粒子物理理论组. 1966 年暑期北京国际物理讨论会上报告; Hung-yuan Zhu. Reminiscence of the Straton Model, Proceedings of the 1980 GUANGZHOU Conference on Theoretical Physics. Litton Educational Publishing, 4

[8] C.N. Yang and R. L. Mills. *Phys. Rev.* 1954 (96): 191

[9] L D Faddeev, V M Popov. *Phys. Lett. B* 1967 (25): 29

[10] S L Glashow. *Nucl. Phys.* 1961 (22): 579; S Weinberg. *Phys. Rev. Lett.* 1967 (19): 1 264; A Salam. Proceedings of the 8th

Nobel Symposium, Ed. N. Svartholm (Almqvist and Wiksell, Stockholm 1968)

[11] J D Bjorken. *Phys. Rev.* 1969(179):1 547

[12] J D Bjorken, E A Paschos. *Phys. Rev.* 1969(185): 1 975

[13] M J G Veltman. *Nucl. Phys.* 1968 (B 7):637; G. t' Hooft. *Nucl. Phys.* 1971 (B 35):167; G. t' Hooft, M.J.G. Veltman. *Nucl. Phys.* 1972 (B 44): 189; G t' Hooft, M. J. G. Veltman. *Nucl. Phys.* 1 972 (B 50): 318

[14] M Gell-Mann, F. E. Low. *Phys. Rev.* 1954 95; E C Stueckelberg, A Peterson. *Helvetica Physica Acta*, 1953 (26): 499

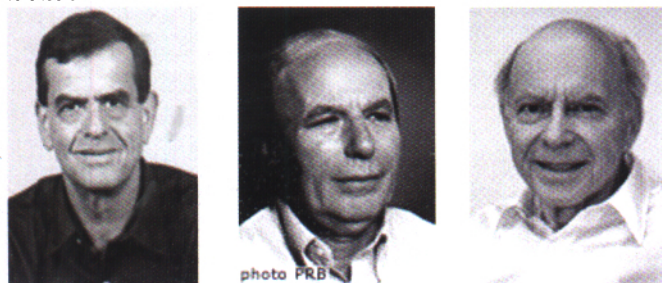
[15] S Bethke. hep-ex/0407021.

[16] Chao-Hsi Chang, Yu-Qi Chen. *Phys. Rev.* 1992 (D 46):3 845; *Erratum. Phys. Rev.* 1994 (D 50): 6 013

(责任编辑 胡春华)

1 引言

瑞典皇家科学院将 2004 年的诺贝尔化学奖授予了以色列科学家 Aaron Ciechanover、Avram Hershko 和美国科学家 Irwin Rose(图 1)^[1-2],以表彰他们发现了泛素调节的蛋白质降解。



Aaron Ciechanover Avram Hershko Irwin Rose

图 1 获得 2004 年诺贝尔化学奖的 3 位科学家

在这 3 位获奖的科学家中,最年长的是美国科学家 Irwin Rose。他出生于 1926 年,1952 年在芝加哥大学获得博士学位,曾经在位于美国费城的福克斯·蔡斯癌症研究中心主持工作,目前在加利福尼亚大学欧文分校担任专家职务。以色列科学家 Aaron Ciechanover 最年轻,他 1947 年出生于以色列的海法,1981 年在海法的以色列理工学院获得医学博士学位,目前在该理工学院的医学科学研究所担任教授。另一位获奖者是 1937 年出生在匈牙利考尔曹格的犹太后裔、以色列科学家 Avram Hershko,他于 1969 年在耶路撒冷的希伯来大学获得医学博士学位后,一直与 Aaron Ciechanover 在以色列理工学院共事。

3 位科学家获得诺贝尔奖的主要工作是发现泛素介导的蛋白质降解,这一工作是在 20 世纪 70 年代到 80 年代间完成的。早在 1942 年,科学家们就已发现了蛋白质分子的降解现象,其中 Avram Hershko 也属于早期探索者之一,但这个阶段几乎所有的研究都把方向瞄准在三磷酸腺苷(ATP)的作用上。20 世纪 70 年代至 80 年代间,Aaron Ciechanover 与 Avram Hershko 曾在 Irwin Rose 主持的福克斯·蔡斯癌症研究中心做访问学者。在此期间,他们联名发表了一系列论文,揭示了泛素介导的蛋白质降解机理,从而指明了蛋白质降解研究的方向。其中 1979 年在 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 上发表的论文^[3]被诺贝尔化学奖评选委员会称为“突破性成果”,并奠定了他们获得诺贝尔奖的基础。

2 2004 年诺贝尔化学奖研究成果简介

2.1 待降解蛋白质的标记

真核细胞中含有 6 000 至 30 000 个蛋白质合成基因,编码至少同等数量的蛋白质。在对蛋白质的研究中,很多工作都致力于阐述细胞怎样控制特定蛋白质的合成,而对其相反过程即蛋白质的降解,研究得相对较少。大多数负责蛋白质降解的酶作用时都不消耗能量。在已知的许多蛋白质降解酶中,一个典型的例子是胰蛋白酶,其作用是将小肠中的食物蛋白质转化为氨基酸。另一个典型的例子是细胞中的溶酶体,其作用是降解从细胞外吸收进来的蛋白质。它们在作用的过程中均不消耗能量。

然而,早在 20 世纪 50 年代就有实验显示,细胞内蛋白质的降解需要能量。这一现象一直困惑着研究者:为何细胞

内的蛋白质降解需要能量,而细胞外蛋白质的降解却不需要能量? 1977 年,Goldberg 及其同事^[4]在这个领域迈出了第一步。他们从不成熟的红血球及网状细胞中获得了一种提取液,这种提取液在催化异常细胞降解时需要 ATP 的参与。应用这种提取物,Aaron Ciechanover, Avram Hershko 和 Irwin Rose 在 70 年代晚期和 80 年代早期进行了一系列具有划时代意义的研究,成功地揭示了细胞内蛋白质的降解是一个多步骤反应的过程:蛋白质先被泛素(一种多肽)标记,然后被分解。通过这个需要消耗能量的过程,细胞以高度特异性的方式对不需要的蛋白质进行降解。这种通过泛素化进行的调节与一些可逆的蛋白质修饰(如磷酸化,1992 年诺贝尔医学奖)不同,它通常是一个不可逆的过程,因为最终的靶蛋白是被降解而不是被修饰的。

2.2 标记工具——泛素

早在 1975 年,就有人从牛胸腺中分离出一种含 76 个氨基酸的多肽,这种多肽曾被认为参与了白细胞的分化成熟,后来被证实具有标记待降解蛋白质的作用,被命名为“泛素”(源于拉丁语“ubique”,意为“到处”),其形态结构见图 2。



图 2 泛素——预示细胞死亡的多肽

2.3 泛素介导的蛋白质降解

Avram Hershko 在获得博士学位后一直从事肝细胞中能量依赖性的蛋白质降解的研究,自 1977 年以后转向上述网状细胞提取物的研究。但由于此提取物中含有大量的血红蛋白,因此对实验很不利。在试图利用色谱法除去血红蛋白的过程中,Aaron Ciechanover 和 Avram Hershko 发现此提取物可被分为两个组分,每一部分单独存在时都不具有活性,然而一旦这两部分被重新组合,就会引发 ATP 依赖性的蛋白质降解。1978 年,他们报道了其中一个组分的活性来源于一个对热稳定的多肽。这种多肽(active principle in fraction 1, APF-1)分子量只有 9 000,即为后来所说的泛素。而在此之前,人们对 APF-1 一无所知。随后,在 1980 年发表的 2 篇文章^[5-6]中,Aaron Ciechanover, Avram Hershko 和 Irwin Rose 报道了这一突破性的研究成果。在第 1 篇文章^[5]中,作者指出 APF-1 可以以共价键形式与提取物中的许多蛋白质牢固结合。第 2 篇文章^[6]中,作者进一步阐释了一个靶蛋白能结合多个 APF-1 分子的现象,这种现象被称为多泛素化。而蛋白质底物的多泛素化是引导其降解的信号。这些出乎意料的发现对该领域后来的研究产生了深远的影响,寻找将泛素连接到靶蛋白的酶系成为了研究的焦点。因为泛素广泛存在于多种组织器官中,其介导的蛋白质降解很可能对绝大多数细胞都具有重要的生理意义。研究者们进一步推测,细胞正是通过对以 ATP 形式储存的能量的需

求,控制泛素引导的蛋白质降解过程的特异性的。

1981 年至 1983 年, Aaron Ciechanover, Avram Herskho, Irwin Rose 及其小组成员新发现 3 种酶, 分别命名为 E1、E2、E3, 在此基础上, 他们提出了“多步泛素引发”假说^[7-8], 即通常在哺乳动物细胞中含有 1 种或数种 E1 酶、几十种 E2 酶、几百种 E3 酶。不同的 E3 酶标记蛋白酶体中不同的蛋白质, 并介导其降解(图 3)。

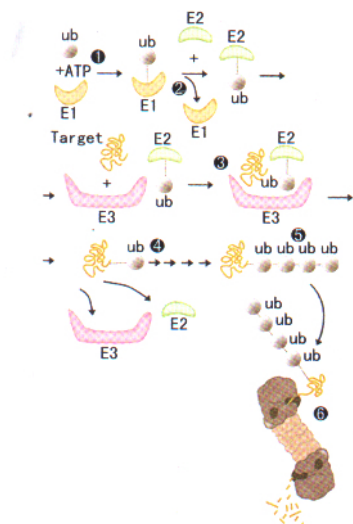


图 3 泛素介导的蛋白质降解

降解的过程如下:(1)E1 酶激活泛素分子,此过程需要消耗以 ATP 形式存在的能量;(2) 泛素分子被转移到 E2 酶上;(3)E3 酶识别待降解的靶蛋白,E2-泛素复合物结合到靶蛋白附近, 泛素标记物从 E2 酶转移到靶蛋白上;(4)E3 酶释放已被泛素标记的蛋白;(5)重复最后一步,直至蛋白质上连接的多个泛素形成一条短链;(6)泛素短链在蛋白酶体开口处被识别,泛素标记物被切除,蛋白质被切割成小片段。

以上这些研究都是在无细胞体系中进行的。在随后的研究中, Aaron Ciechanover 及其同事运用免疫化学方法对泛素介导的蛋白质降解的生理学功能进行了研究。他们利用泛素的抗体, 将泛素-蛋白质复合物从细胞中分离出来, 细胞中的蛋白质事先用泛素中不存在的放射性氨基酸进行脉冲标记。实验结果显示, 细胞中存在的错误蛋白确实通过泛素体系得到降解。在细胞中, 多达 30% 的新合成蛋白因为不能通过细胞中严格的“质量控制”, 在蛋白酶体中被降解。

2.4 蛋白酶体——细胞的废物处理机器

每个人体细胞中含有 30 000 个蛋白酶体, 它们大小约为 20S, 呈桶状结构, 能够将几乎所有的蛋白质降解成 7~9 个氨基酸长度的肽链(图 4)。蛋白酶体降解蛋白质的活性位点位于桶状结构的中心, 与细胞中其它部分隔绝。进入活性位点的唯一通路是“锁”(“lock”, 一种 19S 的复合物), 它能够识别被泛素化的蛋白质, 解除其折叠结构, 并辅助蛋白质穿过蛋白酶体的狭窄通道, 进入位于桶状结构中心的活性位点。蛋白质被降解成 7~9 个氨基酸长度的短肽片段后, 从蛋白酶体的另一端被释放。此外, 19S 复合物上还含有一种异肽酶, 能够将泛素从底物蛋白质上去除。因此蛋白酶体

本身对蛋白质并没有选择性, 具有选择性的是 E3 酶, 它只对待降解的蛋白质进行泛素标记。

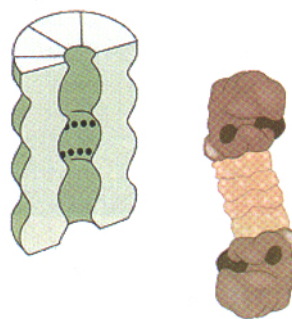


图 4 蛋白酶体——细胞的废物处理机器
(黑点显示进行蛋白质降解的活性位点)

3 近期的研究

尽管泛素标记的蛋白质降解的生物化学机理早在 1983 年就得到了阐明, 但它的生理学意义尚未得到充分认识, 仅仅知道它对降解细胞内的缺陷性蛋白质具有重要作用。但是, 对泛素体系的进一步深入研究需要在体系中引入一个不能通过泛素介导途径降解蛋白质的变异细胞。因此人们希望通过研究该变异细胞与正常细胞在不同生长环境中的具体差异, 更深入地了解细胞中哪些反应是依赖泛素体系进行的。

日本东京的 Masa-atsu Yamada 小组于 1980 年分离出一种变异鼠细胞^[9]。该细胞中的一个蛋白经过变异后具有对热敏感(低温时功能正常, 高温时则功能失常)的特性。在高温下培育时, 该细胞会停止生长, 并且会出现 DNA 合成缺陷以及其它功能失调的现象。不久, 波士顿的 A. Varshavsky 小组发现, 变异鼠细胞中这种对热敏感的蛋白质正是酶 E1。显然, 泛素的活化是细胞生存和繁殖必不可少的条件之一。因此泛素介导的蛋白质降解的重要性不仅在于能够清除错误的蛋白质, 还体现在它对细胞的生长周期、DNA 的复制, 以及染色体结构的调控作用(图 5)。

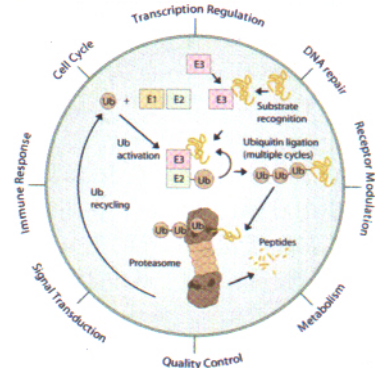


图 5 泛素介导的蛋白质降解及其主要生理功能

自 20 世纪 80 年代末以来, 已经发现泛素介导的蛋白质降解的许多重要生理意义。这里简单介绍其中比较重要的几个例子。

3.1 阻止植物的自授粉

多数植物都是双性、雌雄同株的。如果雌雄同株的植物中出现自授粉现象, 其基因多样性就会逐渐减弱。如果这种情况持续出现, 就会导致该物种的灭绝。植物避免这种情况出现的措施就是利用泛素引导的蛋白质降解来排斥自身产生的花粉。虽然这一过程的具体机理尚未被阐明, 但已知的是此过程中有 E3 酶的参与, 并且当引入蛋白酶体抑制剂时, 植物对自身花粉的排斥会受到影响。

3.2 调控细胞生长周期

细胞的复制过程涉及很多化学反应。在人体细胞的复制过程中,集中于23对染色体中的60亿个碱基对会被复制。普通细胞的有丝分裂、性细胞的形成和减数分裂都与泛素有着密切的关系。泛素中一种由多个亚单位组成的E3酶,在细胞分裂过程中作为一个蛋白复合物APC(anaphase-promoting complex, 促细胞分裂后期复合物),使细胞脱离减数分裂期。在细胞有丝分裂和减数分裂中的染色体分离期,泛素也发挥重要作用,其作用机理如图6所示:一种蛋白质复合物像绳索样捆绑于染色体上,保持其紧缩结构;当受到特定信号作用时,APC标记这一蛋白质降解酶的抑制物,此抑制物随后被运输到蛋白酶体上并被降解;降解酶从抑制物上释放,恢复活性,切除捆绑在染色体对周围的“绳索”;一旦绳索消失,染色体对就得以分离。如果减数分裂中染色体对的分离出现错误,染色体数目会被改变,就有可能导致孕期的自发性流产。若多出1条第21染色体,则会引发唐氏白痴。此外,多数恶性肿瘤中也存在染色体数目异常的细胞,染色体数目的改变亦是由有丝分裂中染色体多次分离错误所造成的。

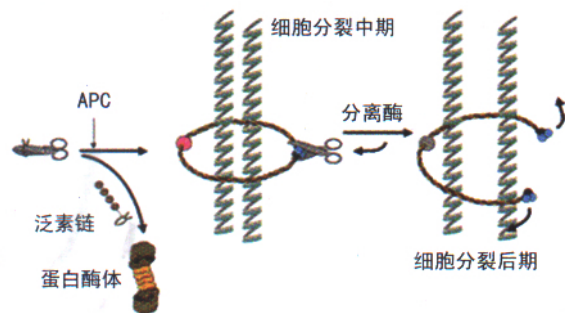


图6 染色体分离期泛素的作用

3.3 DNA的修复、癌症的产生和程序性细胞死亡

蛋白质p53是一个能够抑制肿瘤生长的基因,被誉为“基因卫士”。只要细胞能够产生p53,癌症的发展就会得到遏制。至少50%的人类癌症中有变异的p53存在。在正常细胞中,蛋白质p53始终处于合成和降解的平衡状态,并维持在较低的数量水平。这种平衡状态的维持也是通过提高泛素调节实现的。正常情况下,一种特殊的E3酶(Mdm2)与蛋白质p53形成复合物,不断被降解;当DNA遭到损伤时,p53被磷酸化,不再与Mdm2结合。脱离Mdm2的p53不再被降解,细胞中p53的数量迅速增加。p53是一种转录因子,能够控制特定基因的表达,这些基因调控细胞生长周期、受损DNA的修复和程序性细胞死亡。若p53水平升高,细胞生长周期会被中断,为受损DNA的修复提供时间。如果DNA受损比较严重,细胞就会引发称为类似自杀行为的程序性死亡。

人类乳突瘤病毒与宫颈癌的发生有很高的相关性。这种病毒能够活化细胞内一种特定的E3酶:E6-AP,使其改变识别模式,错误地对p53进行泛素化,使p53降解。通过这种机制,人类乳突瘤病毒能够逃逸p53的控制。由于p53被降解,细胞丧失对受损DNA的正常修复功能以及引发程序性细胞死亡的功能,其结果是DNA突变数增加,最终导致癌症。

3.4 免疫及炎症反应

细胞中许多对免疫防御和炎症反应起重要作用的基因都受到转录因子NF- κ B的调控。通常状态下,该转录因子与细胞质上的抑制蛋白(I κ B)相结合,不具有活性。当细胞受到细菌感染或细胞外其它信号刺激时,I κ B被磷酸化,泛素识别并标记磷酸化后的抑制蛋白,运输至蛋白酶体中进行降解。转录因子因为不再与抑制蛋白结合,活性得以恢复,被释放、运输并结合到细胞核上,激活特定基因的表达。

另外,在受到病毒感染的细胞表面,泛素—蛋白酶体系统也具有免疫防御作用。它将病毒蛋白降解成一定大小的片段,这些片段随后被T淋巴细胞识别攻击。这也是人体免疫防御机制中的一个重要组成部分。

3.5 囊肿性纤维化(CF)

囊肿性纤维化是一种遗传性疾病,是由细胞膜上的一种氯离子通道失活引起的。这种氯离子通道简称CFTR(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator),即囊肿纤维跨膜传导调节器。多数囊肿纤维化患者有一处或多处基因损伤,导致其CFTR蛋白上缺少苯丙氨酸。苯丙氨酸的缺失致使蛋白质错误折叠,被滞留在细胞内质网中。被滞留细胞最后被转运回细胞溶质,经过泛素标记,进入蛋白酶体中得到降解。如果细胞中没有氯离子通道,氯离子不能穿透细胞膜,包括肺在内的许多器官的粘液分泌会受到影响。肺内粘液聚集过多,肺功能会受到影响,受感染几率大大增加。

4 展望

由于泛素介导的蛋白质降解系统与很多疾病密切相关,该领域的研究引起了越来越广泛的兴趣。尤其是人们希望能够利用该体系消除一些不需要的蛋白,或者使一些有益的蛋白免受降解。目前,一种基于该机理研发的新药Velcade(PS341)已经进入临床试验阶段,以期用于多种骨髓瘤(一种影响机体抗原制造细胞的癌症)的治疗。

参考文献 (References)

- [1] The Nobel Prize in Chemistry 2004 – Information for the Public, <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/2004>
- [2] Advanced information on the Nobel Prize in chemistry, http://www.kva.se/KVA/Root/files/newspics/DOC/20041069421619465585542_chemadv04.pdf
- [3] Hershko A, Ciechanover A, Rose I A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979(76): 3 107~3 110
- [4] Edlinger J D, Goldberg A L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977 (74): 54~58
- [5] Ciechanover A, Heller H, Elias S, Haas A L, Hershko A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980(77): 1 365~1 368
- [6] Hershko A, Ciechanover A, Heller H, Haas A. L, Rose I. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980(77): 1 783~1 786
- [7] Ciechanover A, Heller H, Katz -Etzion R, Hershko A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981(78): 761~765
- [8] Hershko A, Heller H, Elias S, Ciechanover A. *J. Biol. Chem.*, 1983(258): 8 206~8 214
- [9] Marunouchi T, Yasuda H, Matsumoto Y, Yamada M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977 (74): 650~655

(责任编辑 李慧政)

- 25 -