



物理所完成二硫键异构酶异常生物活性的物理解析

文章来源: 物理研究所

发布时间: 2009-12-03

【字号: 小 中 大】

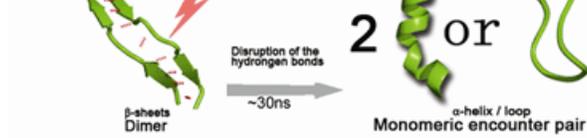
中国科学院物理研究所软物质物理实验室翁羽翔研究组和中科院生物物理研究所王志珍研究组合作,开展了细菌二硫键异构酶(DsbC)二聚体的蛋白质动态结构研究,报道了二硫键异构酶的热不稳定性,解释了困惑生物学家的关于还原性二硫键异构酶参与二硫键氧化通路这一异常现象的分子机制。该工作是物理学、生物化学和分子生物学相关科研人员联合攻关,密切合作的结果。结果刊登在2009年11月的*Biophysical Journal*, 97, 2811 - 2819, 2009上。

蛋白质的活性结构和晶体条件下测定的“冻结”结构并不一致,甚至存在很大的差异,由此导致蛋白质的某些生物功能完全不同于晶体结构所对应的情形,出现预想不到的结果。因此有必要发展生理条件下确定或部分确定蛋白质动态结构的物理学方法。脉冲升温-时间分辨中红外瞬态吸收光谱是一种具有高时间分辨率、可以实现无损测量的蛋白质动态结构研究方法。该方法通过脉冲激光热效应诱导蛋白质动态结构的变化,并由一束中红外激光在蛋白质二级结构指纹区探测瞬态吸收光谱,给出蛋白质动态结构信息。此前,翁羽翔研究组基于国内技术,建立了宽谱带测量脉冲升温-时间分辨瞬态光谱仪,用于蛋白质动态结构的研究(*Biophysical Journal*, 93, 2756-2766, 2007)。

二硫键异构酶是由两个单体分子通过交界面上9对氢键连接而成的二聚体蛋白质,存在于细菌的周质腔中,和其他还原酶一道组成蛋白质二硫键还原通路,负责催化蛋白质中错误配对的二硫键的还原和异构。细菌周质腔还存在由一组氧化酶蛋白质单体(DsbA和DsbB)组成的二硫键氧化通路,负责底物蛋白中自由巯基氧化形成二硫键。过去一直以为二硫键的氧化通路和还原通路各行其道,井水不犯河水。近年来研究发现,二硫键异构酶对氧化通路也有贡献,能够在某些条件下部分行使氧化酶的功能。这点令生物学家困惑不解,因为之前晶体结构发现二硫键异构酶是一个稳定的二聚体,而二聚体由于结构位阻的原因,不能参与氧化通路的反应。

稳态变温傅立叶红外(FTIR)光谱研究发现,生理条件下二硫键异构酶在较低温度下可能发生变构。脉冲升温-时间分辨瞬态中红外光谱研究表明,在热脉冲作用下,二硫键异构酶两个单体分子结合界面间的氢键断裂时间约为30纳秒,并由相应的时间分辨瞬态红外吸收差谱确认了单体的形成。生物物理所进一步的生化实验证实了二硫键异构酶确实存在二聚体的热解聚过程。最后,王志珍研究组和美国密西根大学任国平博士从分子生物学的角度,对比测定了一系列基因敲除菌株与野生型菌株体内二硫键异构酶的氧化酶活力,探寻该异常生物活性对温度的依赖性。同时也进行了体外二硫键异构酶氧化酶活力的测定。体内和体外实验结果都证实二硫键异构酶确实具有异常的氧化酶活性,并且该氧化酶活力随温度的升高而增加。由此可见,二硫键异构酶的热不稳定性使其获得了新的氧化酶活力,从而揭示了二硫键异构酶热解聚单体参与二硫键氧化通路的分子机制。

此项工作得到了国家自然科学基金委和973项目的资助。



二硫键异构酶二聚体热解聚示意图。实验表明，在热脉冲作用下，位于二聚体结合界面区、由9对氢键构成的β-片层结构约在30纳秒的时间尺度内发生断裂，导致二聚体解聚成单体。

打印本页

关闭本页