

## 微型述评

## 膜结合鸟苷酸激酶蛋白质家族的结构与功能

朱克毅 万永奇 谢 维\*

(东南大学医学院分子医学研究所, 发育遗传学实验室, 南京 210009)

**摘要** MAGUKs 蛋白家族成员位于细胞表面, 通过其 PDZ、SH<sub>3</sub>、GK 结构域调节离子通道受体的聚集, 构建细胞骨架, 参与信号转导, 调控细胞周期进程, 并与机体神经发育密切相关。

**关键词** MAGUKs, PDZ 结构域, SH<sub>3</sub> 结构域, GK 结构域

**学科分类号** Q71

膜结合鸟苷酸激酶 (membrane-associated guanylate kinase, MAGUKs) 蛋白质家族成员位于细胞表面, 结构保守, 含多个蛋白结合位点, 包括三个或多个 PDZ (PSD-95/DLG/ZO1) 结构域, 一个 SH<sub>3</sub> (src homology 3) 结构域, 一个 GK (guanylate kinase-like) 结构域或由 WW 域参与构成, 是细胞膜表面蛋白复合物的组织核心<sup>[1]</sup>。作为细胞支架分子 (scaffolding molecular), MAGUKs 不同结构域有不同的结合特异性, 与多种蛋白质作用, 形成不同的蛋白质复合物, 而且 MAGUKs 蛋白分子内部可以多聚化后再与其他分子作用, 呈现繁多的种属和组织亲和和特异性。这种动态的聚合与解聚为机体的发育、功能的完善所必需, 并能确保细胞间识别与通讯的准确性、特异性, 使细胞间协调合作, 保证整体的生命活动。MAGUKs 蛋白分布广泛, 成员众多, 因其最先在突触处发现, MAGUKs 又称为 SAPs (synaptic associated proteins)。这些蛋白质有的富集于突触处, 如 PSD-95、Chapsyr-110, 参与突触处信号转导; 有的在上皮细胞连接处, 如 SAP97/hDlg、ZO-1、ZO-2, 维持细胞极性, 参与细胞间信号转导; 其他如 p55 蛋白是红细胞膜骨架蛋白。在脑、胰腺、消化道上皮、胎盘等许多器官组织中, MAGUKs 蛋白质家族成员都发挥着不可替代的作用。本文将对近年来 MAGUKs 的研究做一回顾和总结, 分别介绍 MAGUKs 三个结构域的结构特点及其生物学功能, 并简介其成员。

## 1 PDZ 结构域

### 1.1 结构特点

PDZ 结构域多位于细胞连接处, 是 MAGUKs

中最具特色的结构域。PDZ 源于三个蛋白质的首字母, 分别为哺乳动物突触后密度蛋白 PSD-95 (postsynaptic density protein)、果蝇肿瘤抑制蛋白 DLG (disc large tumor suppressor gene)、哺乳动物紧密连接蛋白 ZO<sub>s</sub>, 所以也称 PDZ 域为 Dlg 类似物区域 (DHR, Dlg homologous region), 又因最初确证的 PDZ 域均含 Gly-Leu-Gly-Phe 序列, 也称为 GLGF 重复序列。PDZ 域有 90 个氨基酸残基, 与一特定短肽序列 (Xxx-Ser/Thr-Xxx-Val) 达 10~100 nmol 亲和力, 这些短肽序列多位于作用蛋白的 C 端, 有助于不同蛋白质作用时形成特异的蛋白复合物。PDZ 域分为两组, 一组-2 位为疏水性氨基酸 (Ser, Thr, Tyr), 另一组-2 位是亲水性氨基酸 (Phe)。PDZ 域由两个  $\alpha$  螺旋, 六个  $\beta$  片层构成。因 PDZ 配体 C 端肽序列 (T/S) XV 的-3, -2, 和 0 位允许不同的氨基酸替代, 而且每一 MAGUKs 蛋白内部每个 PDZ 域有不同的结合特异性, 从而有多种不同的结合蛋白<sup>[2,3]</sup>。蛋白质本身通过 N 端 Cys 二硫键交连形成同源寡聚体加强这一作用, 该位点也是棕榈酰化位点, 用于调节蛋白与脂质双层的作用。由此可见, 是 PDZ 域的本身特性决定了含 PDZ 域蛋白的重要作用。

### 1.2 PDZ 域生物学功能

PDZ 域的功能主要通过其结合蛋白来体现, 它聚集与锚定配体蛋白于特定亚细胞域。多种离子通道受体均含 PDZ 域的靶肽段序列 (S/TXV), 这决定了含 PDZ 蛋白在离子通道受体的聚集、组装

\* 通讯联系人。

Tel: 025-3220761, E-mail: wei.xie@seu.edu.cn

收稿日期: 2001-04-23, 接受日期: 2001-06-22

中起重要作用. 已知离子通道受体只有聚集后才能发挥其活性, 介导神经冲动发生、递质传递. 只有 PDZ 域先与其配体蛋白作用, 才能保证配体蛋白发挥生物活性.

与 PDZ 域作用的众多离子通道受体中, 最受关注的是谷氨酸能神经受体, 谷氨酸能神经元在中枢神经系统内提供最初的兴奋性冲动. 其中兴奋性谷氨酸能突触处的 NMDA 受体 (N-methyl-D-aspartate), 位于突触后高电子密度区的中央区域 (postsynaptic density, PSD), 受电压和配体双重门控, 对  $\text{Ca}^{2+}$  有高度通透性, 在递质与受体结合后可直接或间接通过第二信使改变通道状态, 调制突触后神经元的兴奋或抑制. 如 SAP90/PSD95 的第一、二个 PDZ 域与 NMDA 受体的 C 端保守序列作用, 介导多种突触的形成. NMDA 受体的 C 端突变导致共济失调发生. 尤为重要, NMDA 受体介导海马处长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 效应, 与人的学习记忆有关<sup>[1,2]</sup>. 另两种谷氨酸能神经受体, KA 和 AMPA 受体通道都是低电导阳离子通道, 可选择性通透  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ , 但不透过  $\text{Ca}^{2+}$ . 这是否提示以 PDZ 域蛋白为核心, 组织不同的离子通道聚集, 从动作电位的发生、膜的去极化、递质的释放介导神经冲动的传递<sup>[1]</sup>.

另一重要的离子通道是  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 4b 型  $\text{Ca}^{2+}$  泵 C 端肽与 hDlg 的 PDZ1、PDZ2 共表达有 nmol 的亲性和 ( $K_D = 1.6 \text{ nmol/L}$ ), 而与 PDZ3 达  $\mu\text{mol}$  的亲合力 ( $K_D = 1.2 \mu\text{mol/L}$ ).  $\text{Ca}^{2+}$  泵与 NMDA 受体均可与 PSD-95/Chapsyn 作用, PSD-95 这种形成同源/异源多聚体的能力, 使  $\text{Ca}^{2+}$  泵和 NMDA 受体在同一膜区域聚集.  $\text{Ca}^{2+}$  的局部聚集有助于外排的  $\text{Ca}^{2+}$  通过激活的 NMDA 受体进入树突, 限制  $\text{Ca}^{2+}$  信号的持续时间. DLG 与 CaMK II 在突触处伴随存在, 一分子 CaMK II 可磷酸化一个 DLG 蛋白分子, 持续激活 CaMK II 产生的表型类似于 DLG 突变表型, 使 DLG 异位表达. 因此, CaMK II 依赖的 DLG 磷酸化调节突触发育, 在突触的活性和结构中间提供一联系枢纽<sup>[4]</sup>.

MAGUKs 蛋白也通过 PDZ 域使多种  $\text{K}^+$  离子通道受体聚集, 发挥作用, 有电压依赖性  $\text{K}^+$  通道 (voltage-dependent  $\text{K}^+$  (KV) channels)、Shaker  $\text{K}^+$  通道 (KV1.4)、内向整流  $\text{K}^+$  通道 (inwardly rectifying  $\text{K}^+$  channel)、神经 G 蛋白门  $\text{K}^+$  通道 ( $\text{K}_G$ ). 原位 mRNA 分析表明, 二者可在特定的神经区域处如海马、黑质区共免疫沉淀, 调节微区域

神经膜的兴奋性<sup>[1]</sup>.  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  的电压门控通道是磷酸化作用的长期调节对象, 加磷酸基团使其电压敏感性增高, 容易被激活而运输离子, 通过可逆磷酸化使细胞内二级信使实现效应. MAGUKs 蛋白本身包含磷酸化位点, 作为辅助多肽与  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  离子通道连接, 有长期调节形成门控离子通道的功能. PDZ 蛋白与多种离子通道受体作用, 作为蛋白质复合物的组织核心, 网络配基, 调节下游信号元件, 发挥网络协同作用, 如 InaD 介导的果蝇光转导级联反应.

## 2 SH<sub>3</sub> 结构域与 GK 结构域

### 2.1 SH<sub>3</sub> 结构域与 GK 结构域结构特点

GK 和 SH<sub>3</sub> 域彼邻共存是 MAGUKs 蛋白的结构特点之一. SH<sub>3</sub> (Src homology 3) 是由 55~70 个氨基酸组成的蛋白质域, 无代谢活性, 介导特定蛋白质间的作用. 最初是在 v-Src 癌基因酪氨酸激酶产物的同源序列中发现该结构域, 现已知 SH<sub>3</sub> 蛋白结构域在许多信号分子和细胞骨架分子中存在. SH<sub>3</sub> 的经典配体, 至少有 7 个氨基酸长, 包含 -P-X-X-P-序列. 已知 SH<sub>3</sub> 序列可将底物耦合于酶上, 从而调节酶活性, 也能把配体蛋白定位于特定的亚细胞结构域内. GK 域 (guanylate kinase like) 是鸟苷酸激酶类似物, 本身无酶活性, 既不能与 GMP 结合, 也不能与 GDP 结合, 不依赖酶活性而介导蛋白质分子间的作用. 已在酵母中确认负责与核苷酸结合和有催化作用的 GK 域氨基酸序列, 该序列在 MAGUKs 蛋白质家族成员中有分化保守性.

### 2.2 SH<sub>3</sub> 结构域与 GK 结构域生物学功能

SH<sub>3</sub>、GK 域也是通过其结合蛋白体现自身生物活性. GK 域结合蛋白 (GKAP, guanylate kinase associated protein), 多位于神经系统中. 在转染的 COS 细胞 (Chinese hamster ovary cells) 中, 这些蛋白质招募 PSD95/SAP90 和含 GK 域蛋白, 如突触后支架蛋白 Shank, 作用于特定部位. 果蝇 Dlg 研究显示, GK 域作为 Dlg 的负性调节因子抑制细胞增生. 在 PSD-95 分子内, PDZ 不与 GK 域结合, PDZ 域却可降低 GK 域与其他蛋白的结合活性.

GK 和 SH<sub>3</sub> 结构域不仅介导 MAGUKs 蛋白与其他蛋白相互作用, 尤为重要是这两结构域之间也可在分子间和分子内结合. 多认为分子间的 SH<sub>3</sub>/GK 域结合能介导 MAGUKs 多聚体形成, 分子内

的 SH<sub>3</sub>-GK 域作用则有调节功能. 更因有额外的三级结构, SH<sub>3</sub>-GK 结构不单独与 SH<sub>3</sub> 域或 GK 域作用, 使二者倾向于分子内作用. SH<sub>3</sub>-GK 结构在 MAGUKs 蛋白中有保守性, 即使在 PSD-95、DLG 这两种亲源关系较远的分子中也存在一致性. 通过 SH<sub>3</sub> 域点突变 (L460P) 或截短 GK 域的 C 端 ( $\Delta$ C) 来打断 SH<sub>3</sub>-GK 分子内的作用, 不影响哺乳动物中 PSD-95 与 K<sub>v</sub>1.4 及 GKAP 的结合, 却抑制 PSD-95 介导的 K<sub>v</sub>1.4 通道聚集, 导致突触结构破坏和果蝇神经盘恶性增生, 说明调节分子内 SH<sub>3</sub>-GK 作用 (如 SH<sub>3</sub> 和 GK 分别与配体的结合, 或通过磷酸化作用) 能控制 PSD-95 突触后位点的靶向和聚集活性<sup>[5]</sup>.

### 3 MAGUKs 蛋白质家族成员

MAGUKs 蛋白质家族成员繁多复杂, 目前研究较多的是 DLG 蛋白及其类似物.

果蝇 DLG, 由 *dlg* (*discs large gene*) 基因编码, 102 ku, 多位于突触和表皮细胞隔壁连接 (*septate junction*). 它与细胞分化有关, 控制细胞增生, 维持细胞极性, 诱导果蝇成神经细胞 (*neuroblast*) 不均等分裂产生顶端成神经细胞和基底神经节母细胞. *Dlg* 突变会改变细胞形态结构, 粘着功能丧失, 细胞恶性增生, 致机体癌变发生.

hDlg/SAP97, 人 *Dlg* 的类似物, 104 ku, hDlg 过表达抑制细胞从 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期进入 S 期. APC (*adenomatous polyposis coli*) 的 S/TXV 基序与 hDlg 的 PDZ 域作用形成的 APC-hDlg 复合物, 也抑制细胞周期的进程. 人乳头瘤病毒 18 的 E6 蛋白 (*human papillomavirus 18 E6 proteins*) 与 DLG 的 PDZ 域作用, 激活 DLG 蛋白的降解, 正调控细胞周期.

NE-Dlg (*neuronal and endocrine Dlg*) / SAP102, 由 *DLG3* 基因域编码, 倾向于在分化和非增生细胞中表达, 而在增生细胞中, 如食管癌细胞, 则转录后表达下调. *DLG3* 位于 Xq13.1, 与帕金森症 (*dystonia parkinsonism syndrome DYT3*) 的基因域相邻, 提示编码 NE-Dlg 的基因突变与这一病症有关. NE-Dlg 通过 PDZ 域与 p51-Nedasin

蛋白 S 型作用, 阻碍 NE-Dlg 与 NMDA2B 作用, 干扰突触处神经递质的传递. NE-Dlg 以 APC 非依赖途径调控  $\beta$  连环蛋白体内水平, 从而控制细胞增生, 改变粘附能力. NE-Dlg 的 SH<sub>3</sub> 域周围碱性  $\alpha$  螺旋与钙调素以 Ca<sup>2+</sup> 依赖方式结合, 但这种结合不影响 PDZ 域与 NR2B 结合.

其他 MAGUKs 蛋白成员有 MAGI-1, 用两个 WW 域替代 SH<sub>3</sub> 域, 与 wnt 的信号转导有关; Harmonin 蛋白, 突变产生 Usher 综合症 (耳聋、眼瞎为主要症状); ZO-1、ZO-2、ZO-3, 构成细胞间紧密连接, 还有众多成员, 不一而足.

MAGUKs 蛋白质家族随着生物进化衍变得庞大而复杂, 但结构和功能又有自身的保守性. 它在分子内、分子间有错综复杂的结合特异性, 维持机体内环境的稳定, 提高细胞间的协调和一体化程度. 以上研究显示它参与组织形态结构的构建, 调控细胞周期增殖, 激发信号转导, 尤应关注的是它与神经发育有密切关系, 如海马处神经元的发育, 突触形成等. 但该蛋白质家族作为有功能的支架分子, 究竟如何靶向聚集受体和通道蛋白, 如何接受上游信号分子的调控, 激发下游级联反应, 仅依据其氨基酸序列的识别远不能解释, 这些研究还有待拓展与深化, 才能真正揭示该家族蛋白质在细胞间识别与通讯, 生物体发育进程中的作用.

**致谢** 感谢袁榴娣博士对本文进行审校, 并提出宝贵意见.

### 参 考 文 献

- 1 Fujita A, Kurachi Y. Breakthroughs and views SAP family proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **269** (1): 1~6
- 2 Craven S E, Bredt D S. PDZ proteins organize synaptic signaling pathways. *Cell*, 1998, **93** (4): 495~498
- 3 Garner C C, Nash J, Haganir R L. PDZ domains in synapse assembly and signalling. *Trend Cell Biol*, 2000, **10** (7): 274~280
- 4 Koh Y H, Popova E, Thomas U, *et al.* Regulation of DLG localization at synapses by CaMK II-dependent phosphorylation. *Cell*, 1999, **98** (3): 353~363
- 5 Shin H, Hsueh Y P, Yang F C, *et al.* An intramolecular interaction between Src homology 3 domain and guanylate kinase-like domain required for channel clustering by postsynaptic density 95/SAP90. *J Neurosci*, 2000, **20** (10): 3580~3587

## Structure and Function of Membrane-associated Guanylate Kinase Family Proteins

ZHU Ke-Yi, WAN Yong-Qi, XIE Wei\*

(Laboratory of Developmental Genetics, Molecular Medical Institute, Southeast University Medical School, Nanjing 210009, China)

**Abstract** Membrane-associated guanylate kinase family proteins mediate the clustering and aggregation of ion channels, receptors and cell adhesion molecules via their PDZ, SH<sub>3</sub>, GK domains, respectively. MAGUKs construct the cytoskeleton, take part in the signal transduction and modulate the cell cycle process, as well as the neural development. The characters of MAGUKs' structure, their functions and some members of the family were explicated.

**Key words** MAGUKs, PDZ domain, SH<sub>3</sub> domain, GK domain

\* Corresponding author. Tel: 86-25-3220761, E-mail: wei.xie@seu.edu.cn

Received: April 23, 2001 Accepted: June 22, 2001

## 中国将召开首次必需脂肪酸国际会议

联合国《世界营养宣言》发表以来, 各国科学家纷纷将营养科学、预防医学放在人类健康问题研究的首位。这是因为人类生活水平在普遍提高的同时, 由于不重视营养的均衡摄入而导致各种疾病的发病率不断上升, 有些疾病如心血管病、糖尿病等已经成为人类的一大杀手。

脂肪酸与维生素、氨基酸一样是人体重要的必需营养素, 但却长期被人们忽视。近年来, 国际科学界包括中国医学界和营养界深入研究了脂肪酸与生物和遗传之间的关系, 从而发现人类的许多疾病都与此有关。因此国际上每年都召开“必需脂肪酸的世界大会”、“脂肪酸与类脂国际会议”等, 以交流世界各国在此领域的研究成果。

日前中国国家科技部已批准中国营养学会等单位, 主办 2002 年 4 月 24 日 27 日在上海召开的中国首届“必需脂肪酸与人类营养健康国际研讨会”。届时将有世界卫生、医学、营养界的著名科学家和相关的国际组织参会。这次会议将与世界人类的营养健康紧密相关, 并将成为国际营养界的一次盛会。

会议网址: <http://www.efacnf.org>, 电子信箱: [welcome@efacnf.org](mailto:welcome@efacnf.org), 电话: (021) 53828652.