

G 蛋白偶联信号转导通路及 β -arrestin 在信号转导中的作用

卢汀, 刘倩

(四川大学 生命科学学院, 中国四川 成都 610064)

摘要: GTP 偶联的调节蛋白 (G 蛋白) 的功能在细胞信号转导和调节中是十分重要的。作为一种被广泛研究的参与蛋白直接或间接地调节一些生理过程。G 蛋白有两种类型: 包含 3 个不同亚基的“大 G 蛋白”和只有 1 个亚基的“小 G 蛋白”。最近的研究显示还有另外一种化学物质 β -arrestin 参与到了 G 蛋白信号转导通路中。

关键词: G 蛋白; 信号转导通路; 跨膜受体; GTP; 调节酶; 复合体; β 抑制因子

中图分类号: Q2

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)S0-0007-03

GTP-binding Regulatory Proteins Signal Transduction Pathway and β -arrestin's Function

LU Ting, LIU Qian

(College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, Sichuan, China)

Abstract: The function of GTP-binding regulatory proteins (G-proteins) is important in the signal transduction and regulation. As a distinguished participant-proteins directly and/or indirectly regulate some physiological processes. There are two types of G-proteins: "Big G-proteins" which contain three different subunits and "small G-proteins" that have only one subunit. Recent research shows that β -arrestin: another chemical substance taking part in the G-process: .

Key words: G-proteins; signal transduction; membrane receptor; β -arrestin

(Life Science Research, 2006, 10(2): 007 ~ 009)

G 蛋白偶联的信号传递通路是细胞信号转导中的重要途径, 通过跨膜受体, 细胞识别胞外信号并将其转化为胞内应答。其中 G 蛋白偶联的跨膜受体形成了最大的信号家族。G 蛋白能与 GTP 结合并水解 GTP, 因此它起着重要胞内反应开关的作用, 大 G 蛋白有一个三亚基构造并根据 α 亚基的功能特性分为 4 个亚家族。活化的 G 蛋白将信号传递给下游的效应器分子, 比如腺苷酸环化酶和 cAMP, 并最终完成整个信号转导过程。

1 跨膜受体

在大多数信号转导通路中, 胞外信号通过跨膜受体的识别及跨膜功能蛋白的协助而传递入细胞内。跨膜受体的胞外部分先与信号分子结合。从而激活受体, 受体被激活后, 其胞内部分的构像将随之改变。随即传达出信号, 有些跨膜受体具有配基门控的离子通道的特征或电压门控离子通道的特征。传递至胞内的信号通过第二信使或其它受体识别而激活^[1]。

收稿日期: 2006-02-20; 修回日期: 2006-05-08

作者简介: 卢汀(1985-), 男, 重庆江北人, 四川大学生命科学学院学生, E-mail: luting763@qq.com.

跨膜受体分为 3 个结构域,由数个相同的或不同的亚基组成,跨膜结构域是一个通道,往往由疏水性氨基酸组成。除了便于传递信号分子外,还起着将受体跨膜部分固定于磷脂双分子层的作用,当信号传递至胞内结构域之后,需要激活一系列效应器反应包括^[1]: 1) 活化: G 蛋白、酪氨酸激酶、丝氨酸/苏氨酸激酶、酪氨酸磷酸酶; 2) 结合: 离子通道,同时形成第二信使激活后续的酶系统,其中主要是激酶系统。

2 G 蛋白偶联的受体

G 蛋白偶联受体包含了一大类受体,如 Ang 的 AT₁ 受体,ETA 的 ET-1 受体及苯肾上腺素 (PE) 去甲肾上腺素 (NE) 等的受体都是 G 蛋白偶联受体。配基与受体结合后,可活化胞内的 GTP 酶,使 G 蛋白 α 亚基与 $\beta\gamma$ 亚基分离而活化, G_{α} 可进一步活化下游的磷脂代谢,产生多种磷脂来源的第二信使如 cAMP、三磷酸肌醇 (IP₃)、二酰基甘油 (DAG)、磷脂酸 (PLA) 等,这些第二信使再进一步启动下游各自不同的信号转导途径。

G 蛋白偶联的跨膜受体的结构特征是其具有 7 个跨膜 α 螺旋^[1]。这是所有 G 蛋白偶联受体所共有的唯一结构特征,也是 G 蛋白偶联受体的识别特征。除此之外的其他部分,根据同源性来划分,可以把 G 蛋白偶联受体分为 3 类: A 受体家族包括视紫质/ β -肾上腺素受体。特征是具有一系列高度保守的核心氨基酸残基。在绝大多数家族 A 受体中,一个二硫键连接 E-II 和 E-III 环。另外,大多数受体胞内侧的 C 末端带有一个棕榈酰化的半胱氨酸残基。B 受体家族包括降钙素受体,特征是具有一个长的胞外 N 末端,其中包含一系列的半胱氨酸残基,并通过二硫键连接成网络状。C 受体家族包括 γ -氨基丁酸受体,钙离子和谷氨酸盐受体,特征是具有一个非常长的胞外 N 末端,形成了胞外配基结合位点,其仅有一个二硫键,且胞内的第 3 环非常小^[1]。

除了视紫质外,配基被跨膜螺旋锚定,对于那些配基为蛋白质或多肽的受体来说,除了跨膜结构域外,还有胞外结构域的结构性部分参与了配基与受体的结合。

G 蛋白偶联的受体会发生脱酶。此时,尽管胞外信号依然在刺激,但信号不能传递到胞内,或以微弱形式传递,在受体的脱酶和磷酸化中主要有两种酶参与: 1) cAMP 依赖的蛋白激酶; 2) G 蛋

白偶联的受体蛋白激酶。

脱酶分为两种途径^[1]。一种是通过信号链的 X 蛋白产生信号传递抑制作用,另一种是信号链之间进行相互的抑制,即一条信号链中的 X 蛋白调节另一条信号通路的 R* 脱酶。通过 G 蛋白偶联受体 (GPCR) 是以二聚体的形式发挥作用,肾上腺素的 β_2 型受体在胞内是以二聚体形式存在。

3 效应器蛋白 -GTP 酶

信号到达胞内,传递到效应器上后,进一步引起效应器反应,产生胞内反应。在这些效应器蛋白中,最主要的蛋白 GTP 酶,起着多种作用。最常见的是使反应链处于开通或闭合的开关作用。以 GTP 形式存在的 GTP 酶处于开放状态,以 GDP 形式存在的 GTP 酶处于闭合状态,调节性 GTP 酶的开关功能由鸟氨酸转换因子来控制,该因子是通过 GTP 酶的激活蛋白和 G 核苷酸分离抑制子来起作用的,调节性 GTP 酶以 GTP 酶循环的方式起作用。

通过 GTP 酶进行有效的信号传递依赖于活化状态的 GTP 浓度与失活状态的 GDP 浓度之间的相对比例^[1]。

$$[GTP 酶] \cdot [GTP] / [GTP 酶] \cdot [GDP] = K_{diss, GDP} / K_{cat, GTP}$$

4 两类 G 蛋白

一类是三聚体 G 蛋白 (heterotrimeric G-proteins), 或称为大 G 蛋白,包括: α 亚基 (35 ~ 55 kD)、 β 亚基 (35 ~ 36 kD) 和 γ 亚基 (8 ~ 10 kD)。另一类是单聚体 G 蛋白,或称小 G 蛋白,结构和功能类似大 G 蛋白中的 α 亚基,分子质量 20 ~ 30 kD。小 G 蛋白根据不同的结构同源性分为 Ras, Rho 和 Rab/Ypt 3 个亚类^[2]。

大 G 蛋白根据不同的 α 亚基的功能特性可以分为: 1) G_s 亚家族: 特征是其活性能被霍乱毒素抑制; 2) G_i 亚家族: 特征是对腺苷酸环化酶有抑制效应,自身活性被百日咳毒素抑制; 3) G_q 亚家族: 百日咳毒素和霍乱毒素不能调节 G_q 亚家族的成员活性; 4) G₁₂ 亚家族: 其活化需要通过血栓素和凝血酶的介导。

β 和 γ 亚基通常形成稳定的复合体形式。 β 亚基本身具有 7 β 折叠结构,加上 γ 亚基后,形成一个螺旋桨配 7 个叶片的结构和包含二肽 WD 的重复^[3]。

G 蛋白的整个活动状态仅存在于它被活化后

的那段时间. 当 GTP 与 G 蛋白结合后, G 蛋白上的 α 亚基与 $\beta\gamma$ 复合体分离^[3]. 此时处于活化状态, 活化的 α 蛋白直接或间接的调节特定的生理生化活动. 当 α 亚基上的 GTP 酶把所有的 GTP 都水解为 GDP 后, GTP 酶随即失活, α 亚基再次与 $\beta\gamma$ 复合体结合到一起^[4].

G 蛋白的主要功能是偶联细胞表面受体以及调控相应的生理生化活动. 在 G 蛋白水平, 通过 $G\alpha$. GTP 的信号传递能通过 RGS 以及效应器本身进行负性控制. $\beta\gamma$ 复合体信号传递的负性控制是通过光传感因子介导的^[3].

5 G 蛋白的效应分子

重要的效应器分子有磷酸酶、腺苷酸环化酶和 cGMP 特异的磷酸二酯酶. 腺苷酸环化酶催化 ATP 形成 3'-5'环腺苷磷酸 (cAMP), cAMP 是重要的第二信使, 通过活化蛋白激酶来发挥主要功能, 最后被磷酸二酯酶降解而失活.

G 蛋白激活的另一大类效应器分子是磷酸酶 C 和 β 亚家族. 迄今为止, 至少知道哺乳动物的磷酸酶 C 的 11 种异构体. 根据其序列的同源性, 现在已经分出了 4 个亚家族—— β 、 γ 、 δ 、 ϵ . 目前研究得最深入的是 β 亚家族和 γ 亚家族. 磷脂酶 $C\beta$ 是很多 G 蛋白所耦合的受体的信号传递中的效应器酶^[5]. 磷脂酶 $C\gamma$ 涉及到依赖生长因子的信号转换路径.

6 调节因子 β -arrestin 的多重作用

β -arrestin (β 抑制因子) 是 20 世纪 90 年代后期开始重视的一种重要的调节因子, 它不属于蛋白偶联受体. 在 G 蛋白偶联受体激酶 (GRKs) 使受体磷酸化后, β -arrestin 结合上来激活七跨膜螺旋受体 (G 蛋白偶联受体), 从而调节它们的信息传递和内在化.

6.1 β -arrestin 的调控作用

β -arrestin 具有和多种蛋白结合并调节它们功能的作用: 1) β -arrestin (主要是 β -arrestin1 和 β -arrestin2) 与 CXCR4 之间存在多种结合方式, 不同的结合方式会产生不同的生物学效果, 由此进一步拓展了 G 蛋白偶联受体信号转导的多样性和灵巧性^[6]; 2) Mdm2 是 P53 蛋白的负调控因子, 而 β -arrestin 能和 Mdm2 结合, 在 G 蛋白受体被激活时把 Mdm2 带到质膜上, 这种作用的后果类似 ARF (alternate reading frame of INK4a) 和 MDMX,

这两种物质都是抑制 Mdm2 介导的 P53 蛋白降解的蛋白. ARF 可以和 Mdm2 结合, 使细胞核中的 Mdm2 孤立, 造成 P53 蛋白反式激活作用的升高. 而 β -arrestin 与 Mdm2 的结合, 在一定程度上也抑制了 Mdm2 与 P53 蛋白的作用, 降低了 Mdm2 的负调控作用^[6]. 3) 另外, β -arrestin2 还能作为去甲肾上腺素受体的信号分子和 NF- κ B 分子的抑制分子. I- κ B α 作用, 从而阻止 I- κ B α 的磷酸化和降解^[6]. 4) 研究还发现, 人体胚胎期肾脏细胞中的 Fz4 (Frizzled 4) 的内吞作用依赖于添加 Wnt5A 蛋白, 并最终在多功能受体蛋白 β -arrestin 的作用下完成.

6.2 β -arrestin 调和 III 型 TGF- β 受体的内吞作用

β -arrestin2 在 III 型信号跨膜螺旋转化生长因子 β ($T\beta R III$) 受体过程中扮演了让人意外的作用.

与 β -arrestin 在 G 蛋白偶联信号转导通路中的角色类似, β -arrestin 和 $T\beta R III$ 的结合也被受体在它的色素质粒区域上的磷酸化触发^[7]. 然而, 这种磷酸化被 II 型 TGF- β 受体 ($T\beta R II$) 调和, 而 $T\beta R II$ 本身就是一种激酶. 与 β -arrestin2 的联系导致受体的内在化^[7]. 因此, β -arrestin 的调节行为远比现在认为的要广泛, 甚至延伸到整个 TGF- β 受体家族.

7 前景与展望

近年来, 对 G 蛋白信号转导通路的研究有一些新的进展和发现. 比如最近关于蛋白质 β 抑制因子在信息传递中的作用, 研究者观察到阿片类药物和细胞膜上阿片受体结合后能促使 β 抑制因子从细胞浆快速迁移到细胞核内, 并发现进入细胞核内的 β 抑制因子能够引起染色体重构并诱导药物靶基因激活^[8], 从而对细胞功能产生长期的调节作用. 这一发现为进一步揭开 G- 通路的作用机制开启了新的窗口, 下一步的研究将围绕以下几个问题进行: 1) 以阿片受体和趋化因子受体等为模型, 研究 G 蛋白偶联受体信号转导反馈调控的生物学意义和受体功能/结构关系; 2) 以 G 蛋白偶联受体信号转导通路中的重要调控蛋白 (如 β -arrestins 等) 为主要对象, 系统探讨细胞信号转导通路间的相互作用及细胞信号转导的网络系统; 3) 在分子、细胞、蛋白质组及电生理水平上深入研究阿片类药物成瘾的神经机制以及与学习记忆的关系^[8]; 4) 以细胞信号转导为手段, 探讨中草药有效成分及方剂作用的可能机制. 随着这一系列问题的展开和研究, 将使信号转导的研究迈上一个新的台阶. (下转第 14 页)

- [13] IWAHANA H ,ADZUMA K ,TAKAHASHI Y , *et al.* Multiple fluorescence-based PCR-SSCP analysis with postlabeling[J]. PCR Methods Appl ,1995 4 :275-282.
- [14] INAZUKA M ,WENZ H M ,SAKABE M , *et al.* A streamlined mutation detection system: multicolor post-PCR fluorescence labeling and single-strand conformational polymorphism analysis by capillary electrophoresis[J]. Genome Methods ,1997 , 7 :1094-1103.
- [15] KUKITA Y ,HIGASA K ,BABA S , *et al.* A single-strand conformation polymorphism method for the large-scale analysis of mutations/polymorphisms using capillary array electrophoresis [J]. Electrophoresis ,2002 23 :2259-2266.
- [16] KUYPERS A W ,LINSSEN P C ,WILLEMS P M , *et al.* On-line melting double strand DNA for analysis of single-strand DNA using capillary electrophoresis[J]. J Chromatogr B Biomed Appl ,1996 675 :205-211.
- [17] ARAKAWA H ,NAKASHIRO S ,MAEDA M , *et al.* Analysis of single-strand DNA conformation polymorphism by capillary electrophoresis[J]. J Chromatogr A ,1996 722 :359-368.
- [18] HELLER C. Principles of DNA separation with capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis ,2001 22 :629-643.
- [19] REN J , UELAND P M. Temperature and pH effects on single-strand conformation polymorphism analysis by capillary electrophoresis[J]. Hum Mutat ,1999 ,13 :458-463.
- [20] KOURKINE I V ,HESTEKIN C N ,BUCHHOLZ B A , *et al.* High-throughput, High-sensitivity genetic mutation detection by tandem single-strand conformation polymorphism/heteroduplex analysis capillary array electrophoresis[J]. Anal Chem ,2002 74 :2565-2572.
- [21] HJERTEN S. High-performance electrophoresis elimination of electroendosmosis and solute adsorption[J]. J Chromatogr , 1985 347 :191-198.
- [22] KOURKINE I V ,HESTEKIN C N ,BARRON A E. Technical challenges in applying capillary Electrophoresis single strand conformation polymorphism for routine genetic analysis[J]. Electrophoresis ,2002 23 :1375-1385.
- [23] ALBARGHOUTH M N ,BUCHHOLZ B A ,HUIBERTS P J , *et al.* Poly-N-hydroxyethylacryl -amide(polyDuramide): A novel, hydrophilic, self-coating polymer matrix for DNA sequencing by capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis ,2002 23 : 1429-1440.
- [24] DOHERTY E A S ,BERGLUND K D ,BUCHHOLZ B A , *et al.* Critical factors for high-performance physically adsorbed (dynamic) polymeric wall coatings for capillary electrophoresis of DNA[J]. Electrophoresis ,2002 23 :2766-2776.
- [25] REN J , ULVIK A , REFSUM H , *et al.* Applications of short-chain polydimethylacrylamide as sieving medium for the electrophoretic separation of DNA fragments and mutation analysis in uncoated capillaries[J]. Anal Biochem , 1999 , 276 :188-194.
- [26] ANDERSEN P S , JESPERGAARD C , VUUST J , *et al.* High-throughput single strand conformation polymorphism mutation detection by automated capillary array electrophoresis: validation of the method[J]. Hum Mutat ,2003 21 :116-122.
- [27] KASUGA T ,CHENG J ,MITCHELSON K R. Magnetic bead-isolated single-strand DNA for SSCP analysis[J]. Methods Mol Biol ,2001 163 :135-147.
- [28] TESCHAUER W ,MUSSACK T ,BRAUN A , *et al.* Conditions for single strand conformation polymorphism(SSCP) analysis with broad applicability: a study on the effects of acrylamide, buffer and glycerol concentrations in SSCP analysis of exons of the p53 gene[J]. J Clin Chem Clin Biochem , 1996 , 34 : 125-131.
- [29] ATHA D H , KASPRZAK W , O' CONNELL C D , *et al.* Prediction of DNA single-strand conformation polymorphism analysis by capillary electrophoresis and computerized DNA modeling[J]. Nucleic Acids Res ,2001 22 :4623-4653.
- [30] GLAVAC D ,POTOCNIK U ,PODPECNIK D , *et al.* Correlation of MFOLD-predicted DNA secondary structures with separation patterns obtained by capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism(CE-SSCP) analysis[J]. Hum Mutat , 2002 ,19 :384-394.

(上接第 9 页)

参考文献 (References):

- [1] KRAUSS Gerhard. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation[M]. Third, 2003@ copy-right
- [2] WU Wei-hua, ZHAO Yun-yun. GTP——Binding regulatory proteins in higher plant cell[J]. Acta Botanica Sinica, 1996, 38(5): 406-413.
- [3] DE Waard, LIU M H, WALKER D, *et al.* Direct binding of G-protein beta gamma complex to voltage-dependent calcium channels[J]. Nature, 1997, 385: 446-450.
- [4] MARGOLSKEE R F. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction [J]. J Bio Chem, 2002, 277 :1-4.
- [5] CHEN Jin-gui, HUANG Ji-rong, JOSE M, *et al.* GCR1 acts independently of heterotrimeric G protein in response to brassinosteroids and gibberellic acid in Arabidopsis seed germination[J]. Plant Physiology, 2004, 135: 907-915.
- [6] 费俭. 国家“973”研究项目——细胞重大生命活动的基础与应用研究子课题: 细胞信号转导研究进展[J]. 生命科学, 2005 ,(04) :286-287.
- [7] CHEN Wei, KIRKBRIDE C, HOW T. Beta-Arrestin 2 mediates endocytosis of type III TGF-beta receptor and down-regulation of its signaling[J]. Science, 2003, 301 (5638): 1338-1339.
- [8] Mc DONALD P H , LEFKOWITZ R J. Beta-Arrestins: new roles in regulating heptahelical receptors' functions[J]. Cell Signal, 1997, 13: 683-689.