

·学科进展·

结构生物学——21世纪生命科学的重要前沿

潘宪明*

(中国科学院生物物理研究所,生物大分子国家重点实验室,北京 100101)

[摘要] 结构生物学是以生物大分子的结构、运动和相互作用的研究为基础来阐明生命现象的科学,现已发展成为分子生物学的主流。它的研究内容包括生物大分子三维结构的测定以及与生物大分子发挥生物功能相伴随的动态的结构变化。生物学分支学科中的一些热点、重点都必然也必须在结构生物学研究的水平上得到最终的彻底的阐明。对生命本质认识的这种飞跃将带给人类一个崭新的世界。本文简要介绍结构生物学研究现状及发展。

[关键词] 结构生物学,蛋白质折叠,变性,构象,分子设计

20世纪的中、后期,科学研究的重点和热点逐渐转向生命科学,带来了生物学研究的巨大进展。数理化科学广泛而又深刻地渗入生物学的结果,开辟了在分子水平研究生命运动的新学科——分子生物学。分子生物学迅速渗入生物学每一个分支学科领域,全面改变了生物学的面貌。可以说,分子生物学在生命科学研究领域中无处不在。古老的生物学因为分子生物学的研究而重新焕发青春。

结构生物学是以生物大分子的结构、运动和相互作用的研究为基础来阐明生命现象的科学。它的研究内容包括生物大分子三维结构的测定以及与生物大分子发挥生物功能相伴随的动态的结构变化。

1 蛋白质的空间结构

构成生物体的物质种类很多,但其中最重要的无疑是蛋白质和核酸。蛋白质是生命活动的主要承担者。蛋白质中氨基酸残基从氨基端向羧基端的排列顺序,或简称氨基酸序列,通常称为蛋白质的一级结构。1957年,Sanger测定了含有51个氨基酸残基的胰岛素分子的氨基酸序列并阐明了其二硫键的连接方式,这是蛋白质一级结构测定的开端。目前,有上10万种的蛋白质氨基酸序列已经被测定而进入数据库。

1953年,James Watson和Francis Crick阐明了DNA的双螺旋结构,当时人们相信,蛋白质可能也像DNA一样具有简单而优美的结构,蛋白质的结构和功能的关系可以用简单的原理来描述。1958年,英国的John Kendrew首次用X-射线晶体衍射法解出了肌红蛋白的低分辨率晶体结构,其结果大大出乎人们意料。John Kendrew指出:“也许(肌红蛋白)分子最明显的特征就是

* 1996年度国家杰出青年科学基金获得者。
本文于1996年12月6日收到。

其结构复杂和无对称性。分子中氨基酸残基的排列缺乏人们所想象的任何规律,而且比任何蛋白质结构理论所预期的更为复杂。”

目前,虽然一级空间结构的测定已经取得了重大成果,但已知结构的蛋白质仍然只不过是自然界数以百万计的蛋白质中微不足道的一部分,尚需完成的工作仍然是任重而道远。

2 蛋白质的折叠与去折叠

蛋白质在行使其生物功能时,必须具有特定的三维空间结构。蛋白质三维结构形成的信息包含在自身的一维序列中。

2.1 蛋白质的变性

蛋白质较易受外界因素影响而丧失活性,这一过程通常称之为蛋白质的变性。关于蛋白质变性的理论是我国生物化学家吴宪教授,基于自己在本国实验室所做的大量工作,他于1931年首先提出的。他指出,蛋白质变性不是化学结构而是其空间结构的变化所导致的。经过半个多世纪科学实践的考验,证明这一理论是完全正确的。《Advances in Protein Chemistry》是蛋白质研究领域内国际上最具有权威性的综述性丛书,在该丛书的第47卷发表了著名生物化学家、蛋白质研究的老前辈美国 Edsall 教授的文章“吴宪与第一个蛋白质变性理论(1931)”,对吴宪教授的贡献给予极高的评价,并全文刊登了吴宪教授64年前的关于蛋白质变性理论的论文。一篇在1931年发表的论文居然在1995年仍然值得在第一流的丛书上重新全文刊登,这在国际科学界是极为罕见的^[1-3]。

2.2 蛋白质天然构象的热力学性质研究

研究蛋白质天然构象的热力学性质,是了解蛋白质天然构象形成的关键。测定体系热力学参数的直接方法是量热法。以往,由于量热法所需样品量大,精度低,很难应用于蛋白质的热力学性质研究。近年来,电子技术的发展使这一困难得到了克服。差分扫描量热(difference scanning calorimetry, DSC)和等温滴定量热(isothermal titration calorimetry, ITC)两种方法所需样品量不到1 mg,热量分辨率好于 10^{-5} J,完全能满足蛋白质热力学性质的研究。

2.3 蛋白质折叠动力学研究

蛋白质折叠动力学研究可分为去折叠(变性)和重折叠(复性)动力学。快速反应动力学是研究蛋白质折叠的重要方法。典型的停流(stop-flow)实验的时间分辨率在ms范围。目前,对蛋白质折叠动力学研究的几个重要问题已经形成了比较一致的看法:首先,蛋白质在重折叠的最初几个ms内,就形成了类似于天然构象的二级结构;接着在最初的10—100 ms内,有部分的三级结构形成,它们将进一步稳定已形成的二级结构。部分折叠的蛋白质中含有天然结构的成分。

2.4 酶活性部位柔性

早在19世纪, Fischer 对于酶作用机制提出了著名的锁钥学说,认为底物和酶活性部位在结构上密切互补,正如一把钥匙只能开一把锁一样。这一学说还同时意味着酶分子活性部位具有精确而又严密的刚性结构。一直到本世纪中, Koshland 才首先认识到底物的存在可以诱导酶活性部位发生一定的结构变化,并提出了著名的诱导契合学说,认为酶的活性部位并不是和底物在结构上严密互补的,而是在底物的存在下发生一定的构象变化,才导致二者在构象上的互补关系。

10年前,我们实验室在邹承鲁先生的领导下,开始了对酶的活力和构象变化的比较研究,发现在低浓度变性剂作用下,酶分子(例如:核糖核酸酶A、甘油醛-3-磷酸脱氢酶)的失活先于其整体构象的变化。进一步研究其它十几个酶,也发现了同样规律。在此基础上,邹承鲁先生提出了酶活性部位柔性学说,即酶活性部位的构象相对于整个酶分子来说更具柔性,更易发生变化。邹承鲁先生的这一学说深刻的阐明了酶分子的结构,特别是其活性部位的动态结构与酶生物活性的关系,现已得到国际同行的广泛认同。

2.5 错误的蛋白质折叠状态导致构象病

蛋白质折叠状态与生物功能之间的密切关系已经不只是理论上的认识。对一些疾病的致病因子在分子水平的研究,已经提出了所谓的“构象病”。对“蛋白粒子病”(The Prion Diseases)的有关研究使人们惊奇地发现,“搔痒病”(scrapie)等一系列神经脱变性疾病因子是一类被称为蛋白粒子的蛋白质,或者更确切地说是折叠状态发生了变化的蛋白粒子,而不是其组成或序列变化的蛋白粒子。变化了的蛋白粒子能引起蛋白质构象的传染性和遗传性病变,是一种不寻常的致病因子,是一些传染性、遗传性、自发性疾病的病因。这一发现提供了蛋白质的折叠状态与生物功能关系的十分重要的例证。

3 蛋白质结构预测与分子设计

目前已知氨基酸序列的蛋白质分子大约为9万个,而己知空间结构的蛋白质仅仅为5000个左右,蛋白质分子三维结构测定的速度远远落后于其氨基酸序列测定的速度。近年来,随着蛋白质工程和计算机技术的发展以及人类基因组计划的实施,蛋白质结构预测已经成为分子生物学中最活跃的领域之一。

结构预测中一个成功的例子是1987年Pear和Taylor对HIV病毒蛋白酶结构的预测。HIV病毒蛋白酶能将病毒编码的多聚蛋白水解成有活性蛋白。因此,人们尝试通过设计该蛋白酶的抑制剂达到抗爱滋病目的。HIV病毒蛋白酶有99个氨基酸残基,序列中有天冬氨酸蛋白酶家族中共有的保守活性中心。Asp-Thr-Gly,由此推测HIV病毒蛋白酶是一种天冬氨酸类蛋白水解酶。这类水解酶通常由两个结构近似的对称结构域构成,氨基酸残基在300左右,由此推测HIV病毒蛋白酶是二聚体。根据这类酶中已知结构的模型,用计算机建立了HIV病毒蛋白酶的结构和多聚体组装模式。

蛋白质分子设计就是在深入了解蛋白质结构与功能关系的基础上,有目的地改造蛋白质,使之不失去原有功能,而具有更好的物理,化学性能。例如:酶有优良的催化功能,但不能在工业应用中较剧烈的条件下保持稳定。改造蛋白质的稳定性,使其能在特定条件下保持活性,是分子设计中重要目标之一。例如:核糖核酸酶由104个残基组成,有两对二硫键,二硫键的形成对蛋白质的稳定有重要作用,在核糖核酸酶中增加一对二硫键,能提高其热稳定性。日本的Satoshi Nishikawa等人建立了Tyr24和Asn84位突变为Cys的分子模型,计算出突变后可形成二硫键,而不影响分子的功能。他们用基因技术得到了这个突变体。实验证明,这个突变体在保持了酶的活性基础上,大大提高了热稳定性。这是分子设计的一个成功例子。

分子设计的方法可用于药物设计。近年来,国际上用该方法已产生出许多大有希望的治疗用药物,包括几种目前正在进行人体实验的治疗爱滋病、癌症和其他疾病的药物。例如,

美国的 Charles E. Bugg 等人, 用分子设计的方法找到了嘌呤核苷磷酸化酶 (PNP) 的抑制剂。人体内需要 PNP 以保证其 T 细胞的正常功能, 但 PNP 也能切开天然嘌呤的合成仿制品——一种抗癌剂和抗病毒剂, 从而影响治疗。因此, 必须找到一种抑制剂和药物一起使用, 以抑制 PNP 的作用, 使药物有足够时间完成治疗使命, 这种抑制剂还必须能进入 PNP 作用的细胞内部。研究者们用计算机设计了可能的候选药物, 用 3 年多时间合成了大约 60 种化合物, 找到了 PNP 抑制剂。通常, 发明一种酶的抑制剂需要十多年, 合成上千种候选化合物并耗费上千万美元。

尽管蛋白质结构预测和分子设计的最终目标还很遥远, 但现有的实例都证明: 不论完善与否, 以结构预测为基础的药物设计是非常有用的。1982 年前, 在美国只有 Merck 公司组织了一小批研究人员从事以结构预测为基础的药物设计。今天, 美国 and 全世界的大医药公司都有这样的研究小组。在美国的医药界还出现了主要利用结构预测方法设计药物的公司。这些迹象表明: 以结构预测为基础的药物设计方法已经扎下根来, 正在为创制今后的药物作贡献^[4-6]。

4 结束语

结构生物学的兴起虽然还只有短短的几年, 但已经展示了广阔的应用前景。青霉素的发现, 是 20 世纪自然科学中最伟大的发现之一, 拯救了千千万万人的生命。但多年来广泛使用的结果, 不少细菌已经对青霉素产生了抗药性, 使过去用青霉素可以很容易治疗的疾病又重新成为对人类健康和生命的威胁。细菌对青霉素的抗药性, 是由于在细菌细胞内大量诱导出一种酶——青霉素酰胺酶, 将青霉素迅速水解而使之失效。经过对青霉素酰胺酶的多年研究, 现已解出青霉素酰胺酶高分辨率的晶体结构, 并对该酶的作用方式有了较深入的了解, 这就为设计该酶的有效抑制剂, 抑制青霉素酰胺酶的作用, 使青霉素得到重新成为有效杀菌药物, 提供了一条现实的途径。

生物学分支学科中的一些热点, 如神经生物学和细胞生物学之所以出现今天这样生气盎然的局面, 完全是因为从分子生物学引进了新鲜血液。今后生物学的各个领域的研究也必将共享结构生物学的最新成果而作出自己的新贡献。人类基因组 30 亿碱基对的全序列测定将在 2001 年完成。可能在不久的将来, 控制细胞分裂的周期蛋白和控制细胞编程死亡的两蛋白、控制神经活动的通道蛋白和许多受体蛋白, 都将会有高分辨率的结构分析结果。新生肽链的折叠规律, 细胞内与细胞间的跨膜信息传递、基因结构与基因调控, 生物能的转换、传递和利用, 神经网络的结构功能, 直至感情、学习、记忆这些最高级的生命运动形式, 都必然, 也必须在结构生物学研究的水平上, 得到最终的彻底的阐明。对生命本质认识的这种飞跃将带给人类一个崭新的世界。

参 考 文 献

- [1] Short N. Forty years of molecular information. *Nature*, 1993, **362**: 783 - 784.
- [2] Marx J. How Cells Cycle Towards Cancer. *Science*, 1994, **263**: 319 - 321.
- [3] Hillis D M et al. Application and Accuracy of Molecular Phylogenies. *Science*, 1994, **264**: 671 - 677.

- [4] Finkel T, Epstein S E. Gene therapy for vascular disease. *FASEB J.*, 1995, 843 - 851.
- [5] Fasman G D. Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation. New York: Plenum Press, 1989.
- [6] Eisenhaber F, Press B, Argos P. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1995, 30 (1): 1 - 94.

STRUCTURAL BIOLOGY—SCIENCE OF THE 21ST CENTURY

Pan Xianming

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, CAS, Beijing 100101)

Abstract The present study and develop of structural biology are briefly reviewed in this paper. Structural biology, which has been the backbone of molecular biology, clarifies life based on the study of the structures, movements and interactions of biomacromolecules. Structural biology consists of the measurements of the three dimensional structures of biomacromolecules and the structural changes while they function biologically. The hot and key points of this branch of biology must be completely and finally clarified on the level of structural biology.

Key words structural biology, folding of protein, denaturation, conformation, molecular design

·资料·信息·

第三届中韩基础科学联委会在韩国召开

根据国家自然科学基金委员会与韩国科学与工程基金会签署的协议,第三届中韩基础科学联委会于1998年4月7—10日在韩国大田市召开。中、韩双方各有6名联委会委员参加会议。中方是:信息科学部主任陈俊亮院士(中方主席)、化学科学部主任王夔院士、工程与材料科学部主任蔡睿贤院士、生命科学部主任强伯勤院士、数理科学部主任白以龙院士以及地球科学部主任钱祥麟教授。

双方委员共同回顾了1997年度中韩协议的执行情况,对共同召开的双边学术研讨会及中韩互派科学考察团赴对方国家进行科学考察的有关情况进行了总结;讨论了1998年度中韩共同资助召开双边学术研讨会的申请项目,并确定共同资助10项;确定今年10月将在韩国召开的“古环境与生物多样性”学术研讨会,中韩各有30名科学家参加会议,其中,地球科学和生命科学领域的科学家各占15名,其他主要的亚太国家,如日本、俄罗斯等各邀请2名科学家参加。联委会还探讨了今后可轮流在中国和韩国举行此类共同感兴趣的双边研讨会。

经协商,第四届中韩基础科学联委会将于1999年3月底或4月初在中国上海召开。

(国际合作局 张永涛 供稿)