

文章编号:1000-1336(2004)05-0394-03

硒蛋白的生物合成与调控

程天德 吴永尧

(湖南农业大学生化与发酵工程实验室,长沙 410128)

摘要: 硒蛋白是硒以硒半胱氨酸(Sec)形式参与形成的蛋白质。Sec作为参与蛋白质的第21种氨基酸,由硒蛋白mRNA上的UGA编码。在原核生物中,Sec参与硒蛋白的相关因子及其参与机制已基本阐明,Sec在SBLA、SBLB、SBLC、SELD及Sec插入序列(SECIS)等的共同作用下参与到蛋白质中。在真核生物中,Sec参与硒蛋白的可能途径是:Ser-tRNA^{[Ser]Sec}通过磷酸丝氨酰-tRNA^{[Ser]Sec}最终转变为Sec-tRNA^{[Ser]Sec},并在延伸因子及相关蛋白质因子的作用下参与到硒蛋白中。硒蛋白的合成在翻译前水平、mRNA水平、供硒水平等都受到相应的调控。

关键词: 硒蛋白; 硒半胱氨酸; 生物合成; 调控

中图分类号: Q51

硒(Se)是人和动物必需的微量营养元素,大量的研究表明,Se具有多重生物学功能,人和动物的许多疾病被证实与硒营养缺乏密切相关,甚至有资料提示硒与艾滋病也有关联。

已有证据表明,硒在活体中的作用是通过参与到硒蛋白中来实现的(Burk和Hill,1994)。Se在蛋白质中的存在形式有两种:一是以可解离因子形式存在,二是以氨基酸共价键结合形式存在,前者主要见于细菌。至今为止,以共价键结合在蛋白质中的含硒氨基酸仅发现有硒甲硫氨酸(selenomethionine, Se-Met)和硒半胱氨酸(selenocysteine, Sec)。硒甲硫氨酸可以替代甲硫氨酸参与到蛋白质分子中,但这种作用是非特异性的,当生物体内甲硫氨酸不足时,硒甲硫氨酸可以被诱导而替代甲硫氨酸参与蛋白质的合成,取代后的蛋白质活性不会受到影响。硒半胱氨酸存在于硒蛋白特别是硒酶的活性中心,这些蛋白质都是硒依赖型蛋白,Sec专一性结合于这类蛋白质中,Sec若被Cys取代,就会导致蛋白质活性的降低甚至完全丧失。Sec是生物合成和参与到蛋白质分子中的第21种氨基酸^[1],密码子UGA介导Sec参与蛋白质分子是对经典生物化学的重要补充。那么,作为三个终止密码子之一的UGA是如何介导Sec参与蛋白质的呢?这是因为它有一套特殊的分子机制,下面将做重点介绍,以期对进一步了解硒蛋白的生物学功能有所帮助。

1. 蛋白质的生物合成

1.1 UGA是Sec的遗传密码 Sec在原核生物和真核生物中有自己独特的密码子UGA。通过序列分析,发现硒蛋白mRNA的可读框(open reading frame, ORF)中含有一个或多个UGA密码子。cDNA转染实验也显示,UGA在mRNA中的位置与硒蛋白一级结构中Sec的位置相对应,由此可确证Sec由UGA编码,而且,UGA作为Sec的密码子在自然界中是通用的。由于UGA同时又是正常的终止密码子,因此,UGA要翻译Sec必然需要特殊的翻译机制,即含有与UGA配对的tRNA反义密码以及合成硒半胱氨酰tRNA的酶,以识别mRNA上编码Sec的密码子UGA。

1.2 UGA解读为Sec的信号元件 硒蛋白mRNA中含有UGA解读为Sec的信号元件,以区分Sec的密码子UGA和终止密码子UGA。在原核生物中,信号元件为编码区中一个由40个碱基组成的序列,位于紧邻UGA密码子的下游,呈特殊的茎环结构。该茎环结构是UGA解读为Sec所必需的,它的任何改变都会影响UGA密码子的解读。在真核生物中,UGA解读为Sec取决于硒蛋白mRNA的3'非翻译区(UTR)内的一种特殊的序列结构——“硒半胱氨酸插入序列(SECIS)”。只有当mRNA中存在这种SECIS时,UGA才能被作为硒半胱氨酸的密码子而被翻译。进一步研究发现,硒蛋白mRNA的3'UTR中也存在茎环结构,而且茎环结构的序列改变会减弱甚至消除Sec参与多肽链的功能,提示这种茎环结构即为SECIS。有些硒蛋白mRNA的3'UTR中所含的茎环结构还不止一个,如硒蛋白P mRNA的3

收稿日期:2004-05-11

作者简介:程天德(1980—),男,硕士生,E-mail:ctdy@163.com

UTR 中就含有两个茎环结构^[2],这可能与其功能相关,例如它可以支持 10 个 UGA 密码子的解读。SECIS 的茎环结构及其中的保守核苷酸是 SECIS 行使功能所必需的^[3](图 1)。

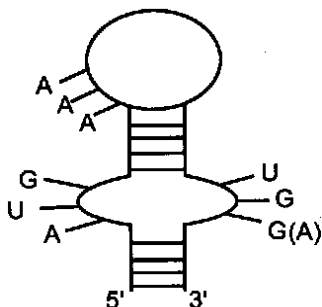


图 1 真核生物硒蛋白 SECIS 的结构及保守区

真核生物硒蛋白的 SECIS 的保守区:(1)环上的 AAA 保守碱基;(2)茎内环 5 端非配对的 AUG 保守碱基;(3)茎内环 3 端 UGG(A)保守碱基。保守区内的任何碱基发生突变或缺失,都会导致 SECIS 的活性大为降低甚至丧失。除以上保守碱基外,茎的长度也是影响 SECIS 活性的一个重要因素,保持 SECIS 较高活性的长度为 10~12 bp。整个 SECIS 结构含有 80~150 个核苷酸^[4]。Martin 等^[5]报道,一般情况下,SECIS 与 Sec 的密码子之间至少应相距 51~111 个核苷酸,才有利于 UGA 密码子的解读,而有些真核生物则需要相距 2000 个核苷酸以上才有利于 UGA 密码子的解读。

由此可见,真核生物硒蛋白 mRNA 的 SECIS 不同于原核生物的 UGA 翻译信号(有时也称为 SECIS),前者位于远离 UGA 密码子的下游区,是 3' UTR 的一部分。这种翻译信号的差异就决定了真核生物和原核生物具有不同的信号识别机制。

1.3 Sec 参入多肽链的相关因子 Sec 的合成及其参入到硒蛋白多肽链中的过程极其复杂,它有一套特殊的机制,并且需要相关的蛋白质因子来保证这一过程的实现。真核生物和原核生物所需因子之间也存在比较大的差异。

在原核生物中,这一过程是在 2 个顺式作用元件(cis-acting element)和 4 个翻译因子的协同作用下完成的。这些因子的名称及功能如表 1^[6,7]。

真核生物的 Sec-tRNA^{Sec}不能为 EF1a 所识别,因此,在真核生物中必定有其他的蛋白质因子来识别。Yamada^[8]通过实验发现,牛肝细胞提取液中存在一种与 EF1a 不同,但可以专门识别 Sec-tRNA^{Sec}的延伸因子,从其层析行为推测,它可能与一种防止 Sec-tRNA^{Sec}碱水解的蛋白质因子属同一物质,然而,

表 1 硒蛋白合成因子的名称及功能

名称	功能
Sec-UGA 密码子	引导 Sec 特异性插入位点
SECIS 元件	介导 Sec 的特异性插入
SELA (Sec 合成酶)	硒半胱氨酸 tRNA (Sec-tRNA ^[Sec]) 合成
SELB (特异的翻译因子)	结合 Sec-tRNA ^[Sec] 并识别 SECIS 介导 Sec 插入
SELC (特异的载体 tRNA ^[Sec])	合成和运载 Sec 的载体
SELD (硒磷酸化合物合成酶)	(硒供体) 硒磷酸化合物 (selenophosphate) 合成

这种延伸因子不能与 SECIS 结合,因此必须寻找专门识别 SECIS 的蛋白质因子,至于说这种因子是一种还是多种,目前的研究提示为多种,所以真核生物 Sec 的参入机制更复杂,涉及的蛋白质因子更多。

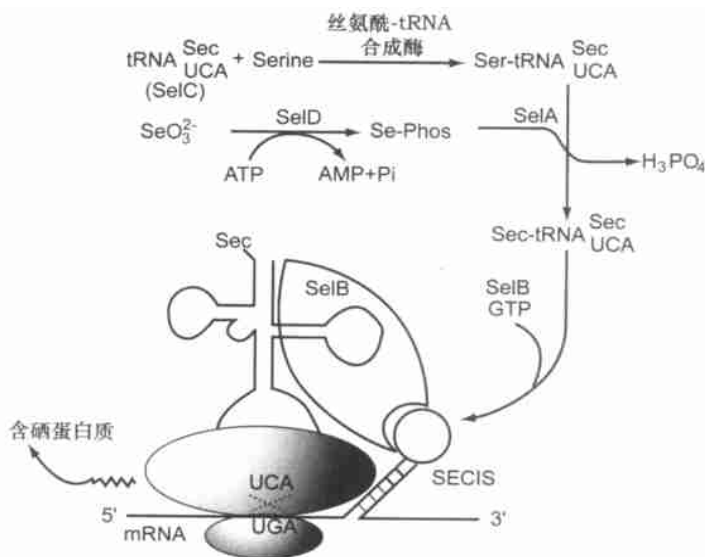
1.4 硒蛋白的合成 Sec 参入蛋白质的机制极其复杂,目前,原核生物中硒蛋白的合成机制已经基本阐明,真核生物硒蛋白的合成研究也取得了一定的进展^[9]。

经过一系列研究,Forchhammer^[10]提出了原核生物 Sec 参入到硒蛋白的机制(图 2)。

在此需要说明的是,上述机制只适用于 Sec 通过密码子 UGA 特异地参入硒蛋白,对于其他含硒蛋白的合成,硒的参入可能采用另外的途径,如通过 Cys 或 Met 的密码子、硫代谢途径、翻译后修饰等,所有这些都还有待进一步完善。

在真核生物中也有类似原核生物的 tRNA^{[Ser]Sec}这种 tRNA 在哺乳动物细胞中以 Ser-tRNA^{[Ser]Sec}、磷酸丝氨酸-tRNA^{[Ser]Sec}及 Sec-tRNA^{[Ser]Sec}三种形式存在,提示它是携带 Sec 的 tRNA。因为 Ser 是合成 Sec 的前体,所以真核生物的 Sec 合成途径可能是 Ser-tRNA^{[Ser]Sec}通过磷酸丝氨酸-tRNA^{[Ser]Sec}最终转变为 Sec-tRNA^{[Ser]Sec}。Fujiwara 等^[11]从牛肝细胞提取液中发现,真核 Sec-tRNA^{[Ser]Sec}虽不能被延伸因子 EF-1 识别,但可被一种特异性的 Sec-tRNA^{[Ser]Sec}保护因子 SePF 识别。这一结果提示,SePF 在真核生物的硒蛋白合成中可能起重要作用,同时也为探索真核生物的硒蛋白合成机制提供了新的线索。

目前,真核生物的 Sec-tRNA^{[Ser]Sec}、SECIS、和 UGA 三者之间的相互作用机制还不是十分清楚;硒蛋白基因至今也未能在原核生物中异源表达;真核生物 Sec 的合成及其进入蛋白质的途径将成为硒蛋

图2 原核生物 Sec 进入硒蛋白的模式图^[10]

白分子生物学研究的热点。

2. 硒蛋白的调控

2.1 翻译前调节 硒蛋白合成的早期假说是:蛋白质一级结构中丝氨酸或半胱氨酸经翻译后修饰成为硒蛋白,即由硒原子替代丝氨酸中的氧或半胱氨酸中的硫,但在大量的研究工作中均未找到无活性的前体蛋白质,因此,这种假说站不住脚,但这些研究却提供了另一个有用信息,即在硒缺乏时,没有可被多克隆抗体识别的蛋白质,也没有由 UGA 编码的硒半胱氨酸末端多肽,说明硒缺乏时硒蛋白合成的调节发生在翻译之前或开始阶段。

2.2 mRNA 水平的调节 蛋白质的合成速率几乎都受其 mRNA 浓度变化的调节^[12],许多研究表明,硒缺乏会使其 mRNA 的浓度下降。用 nuclear run-on 试验检测硒状态对 cGSH-Px mRNA 合成的影响,结果提示硒状态对 mRNA 的调节发生在转录后。对硒蛋白 mRNA 的调节可作为利用有限量的硒发挥最大效用的一种方法。因此在缺硒时,可通过降低硒蛋白的 mRNA 来保存对生物存活更重要的硒蛋白。

2.3 供硒水平的调节 通过调节 mRNA 去影响硒蛋白合成不是硒状态影响硒蛋白合成的唯一机制。有研究显示,去除培养细胞中的硒,会引起细胞 cGSH-Px 的活力降低,但 mRNA 并未同时减少,这表明参入蛋白质所需形式的硒的供应可限制硒蛋白的合成。在细菌中进行的有关研究表明,硒状态可影响动物组织 tRNA^{[Ser]Sec} 的形成。二种形式的 tRNA^{[Ser]Sec} 适宜的 RNA 群体不同,因此 tRNA^{[Ser]Sec} 形

式的变化可调节硒蛋白的合成。现已确认硒的供应影响硒蛋白的合成,而且这种影响因硒蛋白的不同而异。

2.4 其他因素的调节 不同种属不同组织硒蛋白的表达也不同。最近研究表明,豚鼠肝、肾中的 mRNA 水平和转录速率都很低,而骨髓系统中的 mRNA 水平和转录速率却很高,这种酶活性的组织差异性由转录调节决定。

对硒蛋白的生物合成、基因表达与调控的研究已经获得了许多重要成果,但仍有不少问题尚未澄清。真核生物 Sec 合成与参入蛋白质的很多细节仍不清楚,例如,至今尚无直接证据证明磷酸丝氨酰-tRNA^{[Ser]Sec} 是合成过程的中间产物;Sec 合成的具体步骤和相关的酶也未得到阐明;硒营养水平对硒蛋白 mRNA 稳定性的调节机制也不清楚。硒蛋白的生物合成、基因表达与调控过程是相当复杂的,要完全弄清仍需做大量的研究和论证工作。

参 考 文 献

- [1] Kvicala J. *Cas Lek Cesk*, 1999, 138(4): 99—106
- [2] Burk RF *et al.* *FEBS Lett*, 2004, 563(1-3): 185—190
- [3] Shen Q *et al.* *RNA*, 1995, 1: 519—525
- [4] Croteau S. *J Biol Chem*, 1996, 98(2): 405—417
- [5] Martin GW *et al.* *RNA*, 1996, 2: 171—182
- [6] Bradley A *et al.* *J Biol Chem*, 2004, 279: 8011—8017
- [7] Thanbichler M. *Gene*, 2003, 312: 17—25
- [8] Yamada K. *FEBS Lett*, 1995, 377: 313—317
- [9] Driscoll DM *et al.* *J Nutr*, 2003, 133(5 Suppl 1): 1517S—1520S
- [10] Forchhammer K *et al.* *J Mol Biol*, 1991, 266(10): 6324—6328
- [11] Fujiwara T *et al.* *Biochimie*, 1999, 81(3): 213—218
- [12] Burk RF *et al.* *Annu Rev Nutr*, 1993, 13: 65—81