

《蛋白质动态性和进化论》一文中，作者认为，正是因为蛋白质构象具有多样性，所以蛋白质才能够进化。构象发生哪怕一点改变就会产生完全不一样的功能，突变也能改变蛋白质的构象平衡状态，从而改变蛋白质的功能。蛋白质这种构象变化对功能影响的程度超出了分子与细胞水平，已达到了组织水平。

《生命形态发生过程中通用机制简介》一文向我们介绍了细胞与细胞之间的动态相互作用，以及细胞与细胞外基质粘连复合体之间的动态相互作用是如何受到可溶性因子的影响，最终形成各种不同组织的过程的。

随着人们对蛋白质组学以及蛋白相互作用网络领域研究的不断深入，下一步将要面临的问题就是要搞清楚蛋白质在分子层面的动力学情况，蛋白质是如何作为受体、开关和中转站发挥其功能的，以及是如何在亚细胞水平、细胞水平乃至组织水平进行信息转导的。

一、信号传递动力学机制

蛋白质在生物体内能起到信号传递的作用，它既可以在细胞外发挥作用进行胞外的信号传递，也可以在细胞内发挥作用，参与组成胞内的信号通路。对于这些具有信号传递功能的蛋白质来说，最重要的就是它们的动力学特性。本文将就此进行探讨。

对于生物体来说，信号传递是一项基本的功能。细胞间的信号传递、细胞内的信号传递，将胞外的环境信号传递到胞内等等这些信号传递过程都是生物体必备的。近几年，人们在细胞信号传递方面的研究取得了长足的进展，并利用蛋白质遗传学相互作用资料和物理相互作用资料绘制出蛋白质间交互作用组图谱。尽管如此，研究人员目前仍然不清楚信号如何在参与构成信号通路的各个分子间传递。不过，我们可以通过基于蛋白质水平进行研究的方法来找到答案。诸如经过结合相互作用介导或共价修饰介导的信息是如何传递给下游分子的问题都能够在蛋白质水平给予解答。

我们越来越清楚信号传递过程就是依赖蛋白质分子固有的动力学特性来完成的。蛋白质分子根据不同的输入信号做出相应的反应，改变自身的能量状态，进而将信号传递出去。

不过随之又出现了许多新问题，例如：

是哪些遗传信息赋予蛋白质这种动力学特性，使其能够担负信号传导功能呢？

一个个的蛋白质结构域是如何组织起来，形成信号传导通路的呢？

在由众多组成单位形成的互相交织的信号通路体系里，各种信号是如何整合的呢？

这些信号传递蛋白质的动力学特性最终是如何确定细胞对信号的反应时间以及信号扩增放大的时间尺度的呢？

我们现在正在开发新的方法来解答上述问题，但是解决一个问题，又会冒出新的问题。如果我们能在这既复杂又神奇的研究领域取得突破，那么就能够调控信号通路，甚至重建信号通路，这对于临床来说具有巨大的治疗价值。

蛋白质的“运动”是由各种共价键和非共价键作用力来控制的。蛋白质因此可以以皮秒级、毫秒级甚至秒级的频率运动，这些不同频率的蛋白质运动组合在一起就好像一场指挥得当的交响乐。蛋白质间的相互结合作用或者化学修饰作用可以改变蛋白质本身的运动模式。这可能只会改变它们各自的运动频率，但也有可能会改变整场“交响乐”。我们已经知道，蛋白质的折叠功能实际上就是能量状态理论最好的注解。蛋白质在传递信息的过程中所发生的构象改变过程实际上就是能量状态的改变过程。能够传递信号的蛋白质构象，即蛋白质的功能构象状态实际上就是蛋白质处于较低能量状态时的构象（图1）。在蛋白质折叠与传递信号的过程中，蛋白质的构象会根据能量状态发生变化，而在不同构象间转换的速度也取决于构象间的能障（energy barrier）大小。

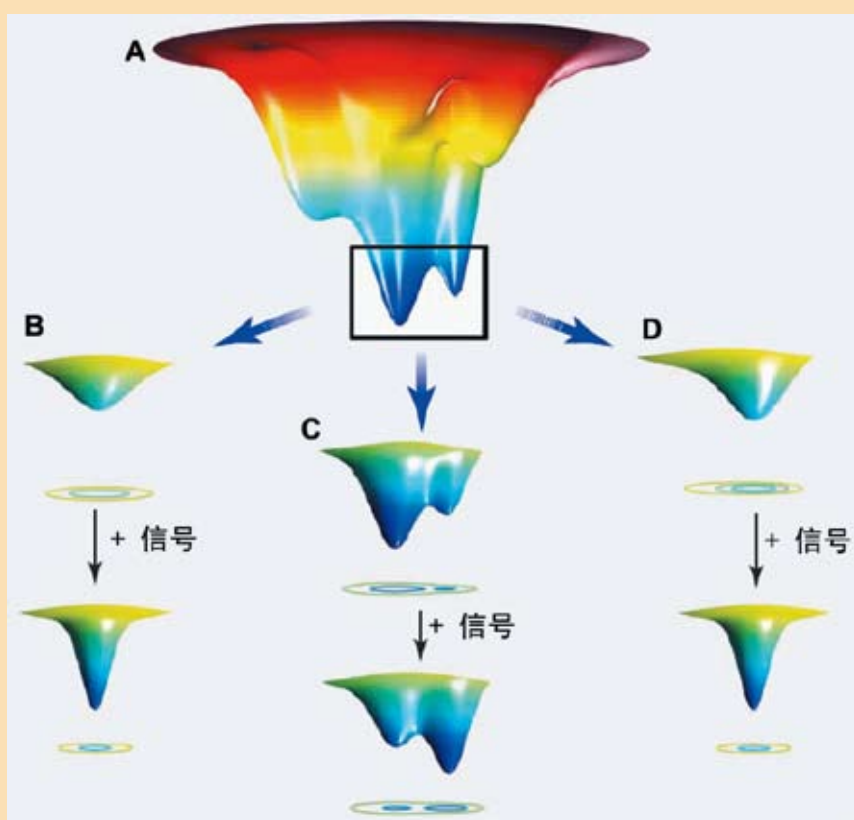


图1 有多种方法可以改变蛋白的能量状态，从而改变蛋白的动力学，使它们传递信号。A：图示说明蛋白的能量状态，红色表示高能态，蓝色表示低能态。蛋白质折叠形成天然状态的过程就是非天然状态的蛋白质沿着“能量漏斗”变成天然状态的过程。图中方框区域所示的是在热波动情况下可以变成其它几种构象的蛋白质状态；B：信号对蛋白质能量状态的一种改变方式就是减少一个能量阱里各种状态蛋白质的总量。这就降低了蛋白质的动力学，使得同一种构象被固定下来；C：信号对蛋白质能量状态的另一种改变方式。蛋白质可以在两种不同的构象间保持平衡，而信号刺激可以改变这两种状态间的相对能量，引起两种构象蛋白质的重新分布；D与C稍有不同，在没有配体存在的情况下，处于高能态的蛋白质也会部分转变成有信号刺激时的构象，如图中所示，两种构象状态部分重叠。在图中，部分蛋白质会在信号的作用下改变构象，高能态的蛋白质会变少。

蛋白质的构象不论从能量的角度来说还是从动力学的角度（比如在不同能级间转换的频率和强度）来说，实际上都是由蛋白质本身的序列所决定的，同时也是环境进化选择的结果。要弄清楚蛋白质是如何传递信号的，就需要先弄清楚蛋白质的能量状态是如何借助与其它蛋白质、肽段或小分子配体之间的相互作用以及磷酸化等共价修饰作用来进行调节的。因此，蛋白质的静态图像（static image），比如X射线衍射晶体分析图像（x-ray crystallography）等就非常有价值，它可以作为我们研究蛋白质能量状态的起点。但是，我们必须先对蛋白质所有的状态有一个总体的了解与把握，然后才能对蛋白质的功能进行深入研究。

让我们以氧分子与血红蛋白结合这个简单的过程为例。在这个过程中，血红蛋白需要改变

构象，使氧分子能够进出血红蛋白分子。当生物物理学家看到血红蛋白的分子结构时马上就想到了上述氧合的作用机制。

可以想象，要弄清楚蛋白质所有的能量状态将会是一件多么困难的工作，这要比弄清楚蛋白质的结构困难得多。不过幸运的是，近几年我们对蛋白质动力学以及蛋白质运动与功能之间的关系的研究都取得了很大的进展，同时在方法学上也有了突破，因此能够更深入地了解蛋白质的动力学信息，并对细胞生理学中复杂的蛋白相互作用信号通路进行更多的研究。用于研究蛋白质动力学问题的实验技术方法只能在相对较窄的范围内起效，而用于特定系统的研究方法还需要与该系统相匹配。生物信号传递过程经历的时间跨度非常大，其中生物体对光刺激信号和电刺激信号做出的反应是最快的信号传递过程，反应时间处于飞秒级至皮秒级水平。而大范围的构象重建过程所需要的时间就长得多，处于毫秒级甚至到了秒级水平。细胞信号传递网络由各种分子结合事件构成，这些分子结合事件可以是暂时的也可以是长期稳定存在的，因此，某些信号传递过程所需要的时间会更长。

我们并不是现在才意识到蛋白质的动力学特性对于它们功能的重要性。早在50多年前，生物物理学家就知道蛋白质的运动是它们发挥功能所必需的条件。但是直到蛋白质动力学计算机模拟技术、核磁共振技术（NMR），尤其是弛豫色散技术（relaxation dispersion）以及单分子光谱分析技术等现代技术手段高度发展的今天，我们才得以对皮秒级至毫秒级的信号传递过程进行精细的研究。加上我们对各种复杂信号传导网络相关生物学知识的积累，才得以在信号传递网络研究方面取得重大进展。接下来，我们将利用几个在最近得到充分研究的信号传递系统，向读者展示蛋白质是如何利用其自身的动力学特性来作为开关和转换器在信号传递过程中发挥作用的。

1. 输入信号改变了蛋白质的能量状态

输入信号可以经由各种不同能量状态组成的蛋白质的能量状态发生改变来进行传递。我们对别构效应（allostery）新的理解无疑支持了蛋白质动力学理论，并且按照最新的别构效应理论，蛋白质就是由处于平衡状态的各种不同构象异构体混合而成。在输入信号的作用下（比如蛋白质与输入信号分子结合），蛋白质分子的能量状态发生改变，结果整个蛋白质群体的组成发生改变，导致某个特定下游事件发生，这样就完成了信号传递过程。

那么输入信号分子是如何改变蛋白质的能量状态，进而产生信号放大效应的呢？这其中最关键的作用机制可能就在于信号传递蛋白质分子效应结构域所具有的可塑性，换句话说，就是该结构域有好几种折叠方式和动力学状态。对广泛存在的各种PDZ信号通路进行的深入研究就发现了能够与输入信号分子发生联系的分子内结构和动力学通路结构域。这些结构域都能够与上游信号分子中的某些基序结合，并将信号传递给下游分子。在复杂的细胞环境中，PDZ结构域就以这种结构域结合结构域（domain-domain assembly）的方式来传递信号。

根据PDZ信号通路蛋白结构域间的保守性，我们可以发现一个空间上连续的序列可能具有信号传递的功能。其它研究方法，例如核磁共振动力学分析法（NMR dynamics analysis）、蛋白晶体结构热波动分析法（thermal fluctuation analysis of crystal structures）以及计算机模拟分析也都发现了相似的共同结构（图2）。

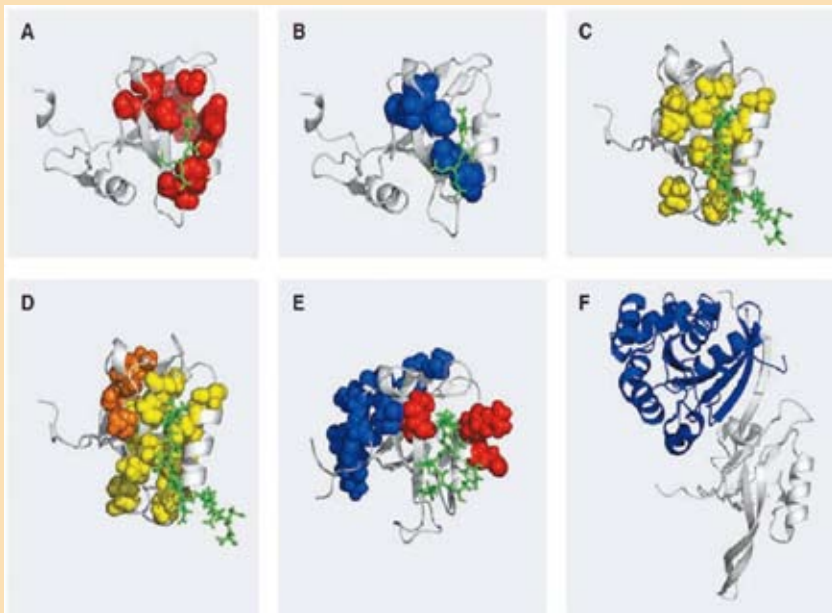


图2 PDZ结构域中信号传递的几种机制。这几种方法都将肽结合位点（图中绿色显示的是结合肽段）与PDZ结构域的远侧面结合起来，形成相似的网络结构。A：PDZ结构域中保守氨基酸残基（图中红色部分所示）与肽结合位点的结合方式；B：图中蓝色所示的是PDZ结构域晶体中热力学不稳定的氨基酸残基，这些残基上结合有绿色的肽段；C：图示二肽对PDZ结构域侧链（图中黄色部分）动力学的改变情况；D：在实验数据的基础上根据分子动力学模拟方法构建的PDZ结构域动力学网络。出人意料的是，在网络中有一个部分（橙色）的可塑性增加，其它部分（靠近肽结合位点附近的红色区域）的动力学降低；E：两个PDZ结构域间的相互作用似乎是利用了单个PDZ中同样的作用机制。图中蓝色氨基酸残基直接参与与结构域间的相互作用，与该部位远隔的红色区域的动力学增加；F：在Cdc42（蓝色）蛋白和Par-6（白色）蛋白复合体结构域间的相互作用也同样符合上述结构域内的作用机制，同样是在PDZ结构域表面的肽结合位点发生作用。

有趣的是，人酪氨酸磷酸酶1E（human tyrosine phosphatase 1E）的第二个PDZ结构域与配体结合后具有与其它PDZ结构域类似的动力学改变的特性，但是它不会发生类似的结构改变。对另一PDZ结构域——小鼠酪氨酸磷酸酶BL——动力学时间范围进行的深入研究发现，不同构象之间发生转换的速度比较慢，需要花费微秒至毫秒级的时间。相比之下，另一个PDZ结构域——人PSD-95蛋白PDZ3结构域——则缺乏动态变化过程。

在上述研究成果的基础之上，加之最近对PDZ结构域双重突变株（double-mutant cycles）的研究，我们发现不同的PDZ结构域会进化出不同的动力学特性，以配合它们各自特殊的功能。从这种角度来说，PSD-95蛋白的PDZ3结构域由于是一个刚性的蛋白相互作用结构域，所以缺乏动态变化过程。

不过，在PDZ结构域内发生的分子内信号传递似乎同时依赖结构改变和动力学改变，而其它结构域则几乎只依赖动力学改变。比如胰岛素受体底物1（IRS-1）的磷酸酪氨酸结合结构域（phosphotyrosine-binding domain）就是通过与自磷酸化的（auto-phosphorylated state）激素激活的胰岛素受体相结合来调控下游信号通路的。精细的核磁共振动力学分析发现，游离的IRS-1和与磷酸酪氨酸肽段结合的IRS-1之间在构象上只有非常细微的差别。而且，研究人员还发现有一些动力学发生改变的氨基酸序列能够与磷酸酪氨酸肽段进行远距离结合，从而介导下游信号传递。再比如，同源二聚体CAP与一个环磷酸腺苷（cAMP）结合后，它与第二个cAMP之间的亲和力就会下降，但是蛋白的整体结构并没有发生改变，只不过蛋白的运动速度变慢，从微秒级上升到了毫秒级。而且与第二个配体结合之后蛋白质的结构会被“固化（rigidification）”（图1B）。研究人员还举例说明了在cAMP结合事件中，CAP蛋白的总体结构其实并没有发生改变，只是蛋白的动力学和熵发生了改变。

生物信号传递需要整合多种输入信号，多种信号可以在同一分子内进行调控，只需要将各种不同配体对蛋白质造成的重构影响整合起来即可。比如钙调蛋白（calmodulin）这种在细胞内钙离子信号通路中起到关键作用的蛋白质就能根据胞内的钙离子浓度对多种下游信号通路进行

调控。最近还有人用核磁共振技术研究发现，与钙调蛋白不同结构域结合之后可以以不同的方式改变钙调蛋白内在的动力学特性，通过这种对构象熵（conformational entropy）的不同调控机制达到调节钙调蛋白亲和力的目的。而且，钙调蛋白信号通路也是受其不同的能量状态控制的，因为钙调蛋白有好几种低能态的构象，因此它可以在这些低能态之间转变。相对较小的钙调蛋白分子通过一个螺旋结构与两个钙结合EF手性基序（calcium-binding EF hand）相结合，形成了一个铰链状结构。

最近，有人用计算机技术详细描述了钙调蛋白在结合了和未结合配体的情况下的状态，而且他们在结合了核磁共振试验得出的距离参数和方向参数之后，还详细介绍了配体改变钙调蛋白EF手性基序的动力学状态的过程（图3A）。这些局部结构域的动力学改变增加了它们与下游信号分子，比如肌球蛋白轻链激酶（myosin light chain kinase）的亲合力。肌球蛋白轻链激酶与钙调蛋白C末端EF手性基序结合之后又会反过来影响钙调蛋白的N末端，结果使得整个钙调蛋白的铰链结构关闭。这些研究结果都与以前的核磁共振研究结果以及单分子荧光成像研究结果相一致，它们向我们展现了钙调蛋白是如何通过改变动力学状态和构象来传递多种信号的。

2. 通过一种分子内可逆的“门闩”结构起到自我抑制作用

有好几种信号传递蛋白都具有自我抑制（Autoinhibition）作用。它们使用的是一种分子内部结构域之间的相互作用机制。当一个上游信号，比如配体结合或磷酸化事件发生之后，就会导致信号传递蛋白内部结构域之间的相互作用不稳定，减弱自我抑制作用，并将信号传递给下游。从能量状态的角度来看，受自我抑制的信号传递蛋白是占多数的状态，但是当抑制作用减弱时，就会出现一些激活态信号传递蛋白。



我们现在已经可以借助核磁共振研究方法和生物化学研究方法，对这种配体信号分子对信号传递蛋白能量状态和动力学状态调控的能力进行定量研究了。目前，我们主要是对人体主要原癌基因Vav进行研究。该基因能将细胞表面受体接收到的信号转移至细胞内。在Vav蛋白信号传递过程中也存在自我抑制作用。一个酸性螺旋结构区域（名为Ac）与Vav Dbl同源蛋白（DH）的鸟嘌呤核苷酸交换因子（GEF）底物结合位点结合，起到了类似于“门闩”的作用，即自我抑制（图3B）。而在激活状态下，该Ac区域会被取代，不过在没有任何上游信号的情况下，该取代过程很慢，需要花费数微妙至数毫秒。但是如果Ac区域中第174位的酪氨酸（Tyr¹⁷⁴）被上游的激酶磷酸化修饰，就会让Ac区域与底物结合位点分离，让蛋白处于激活态（图1C）。不过令人吃惊的是，在Vav DH蛋白的抑制状态中，Tyr¹⁷⁴位点是不可及的，因此处于激活态的蛋白数量有限，这也限制了蛋白磷酸化的速率。而且我们用突变的DH蛋白研究发现，激活态蛋白的数量与它们激活下游GEF信号通路的能力成正相关。Ac区域一旦被磷酸化修饰就会丧失稳定的二级结构，变得非常“柔韧”，极富可塑性。Vav蛋白中的Ac区域实际上就是一种蛋白质“内在的不稳定区域”，这些区域在进化过程中没有进化出稳定的结构，因此非常适合进行信号传递工作。

这种自我抑制式的“信号开关”既可以被磷酸化一类的外源方式调控，也可以被蛋白质构象改变等内源方式调控。**Crk**蛋白是酪氨酸激酶**Abl**（**tyrosine kinase Abl**）的胞内调控元件，它由一个**SH2**结构域和两个**SH3**结构域组成，其间被长约50个氨基酸的接头序列所隔开。**Crk**蛋白**N**末端的**SH3**结构域能与靶蛋白中富含脯氨酸（**proline-rich**）的基序结合，但是这种结合会被**Crk**蛋白**C**末端的**SH3**结构域自我抑制掉。这种抑制作用依赖于顺式结构接头序列中**Gly²³⁷-Pro²³⁸**的作用。但是当该接头序列以非常缓慢的速度（以秒计）变成反式结构时，就会打开**Crk**蛋白**N**末端的**SH3**结构域，使其能够与富含脯氨酸的配体结合。虽然还不清楚之后发生的下游事件，但我们已经知道，**Crk**蛋白这种顺式-反式结构转换是受酪氨酸激酶**Abl**磷酸化作用介导的，**Abl**对接头序列中**Gly²³⁷-Pro²³⁸**附近的酪氨酸进行了磷酸化修饰，改变了接头序列的构象，因此发挥了调控作用。这种转换速度可以受脯氨酰异构酶（**prolyl isomerases**）调控。反过来，细胞又可以通过对脯氨酰异构酶的调控来控制**Crk**蛋白的活性。

3. 不稳定的紊乱区域位于动态开关之中

在人类基因组中，大部分外显子都携带有标签氨基酸（**signature amino acid**）编码信息。这些序列都属于紊乱序列，而我们在研究中发现，在信号传递过程中主要就是这些区域起到动力学改变的作用。通过负向选择机制（**negative design**，生物体在进化过程中会尽量避免发生某些事件，这被称为负向选择），这些不稳定的紊乱区域保持了能借助多种构象与多个识别位点发生相互作用的功能。有一些固有不稳定区域（**IDR**）本身就具有分子识别特征。某些**IDR**区域，比如前文所述的**Vav Ac**结构域在一定的情况下也能以一种稳定的二级结构与其它蛋白发生相互作用，然后再转变成不稳定状态或者再与另一个配体结合。这些**IDR**区域的亲和力是由熵（**entropy**，即该区域在与配体结合过程中有序化的难度）与焓（**enthalpy**，即该区域形成的最佳结合状态）之间的竞争平衡关系所决定的。这些**IDR**区域除了具有可延展性之外还具有几何学上的可塑性，因此它们才能够进行转变，起到长度可变的动力学纽带作用。

IDR区域能与多个配体结合的能力使得它们能在信号传递过程当中起到多方面的作用，比如图3C中所示的细胞周期调节蛋白**p21**就含有**IDR**区域。同属于细胞周期调节蛋白的**p27**也含有**IDR**区域，该**IDR**区域可以发挥长距离作用将细胞周期依赖性蛋白激酶（**Cdk**）和细胞周期调节蛋白**A**（**cyclin A**）桥接起来。核磁共振研究发现，**IDR**结合过程是分步进行的，在结合过程中以类似于“飞蝇钓（“**fly-casting**，一种钓鱼方法）”的方式搜寻配体目标，这就解释了为何在蛋白发生相互作用初期会出现多种亲和力不强的结合配对方式（图3D）。找到合适目标之后，就会同时采用多种相互作用，以多价体式的结合（**multivalent binding**）方式形成尼龙搭扣那样紧密、牢固的结合。在这种**IDR**区域与配体结合的同时自身发生折叠（即从不稳定的紊乱状态变成稳定状态）的过程中整个蛋白的熵也会增加。在另一种多价结合过程（即**Cdk**蛋白抑制剂**Sic1**被它的受体**Cdc4**识别的过程）中，**Sic1**蛋白上的多个不同结合位点都可以与其受体蛋白上的同一位点结合，整个过程就是一个动力学平衡不断被打破又恢复平衡的过程（图3E）。在这种情况下，**Sic1**蛋白上每一个结合位点与受体蛋白结合时的作用力都非常弱，这使得受体蛋白一直处于活化状态。根据上面所述我们可以发现，在任何信号通路中蛋白间发生的相互作用都是可以通过各种动力学不稳定的基序调控的。

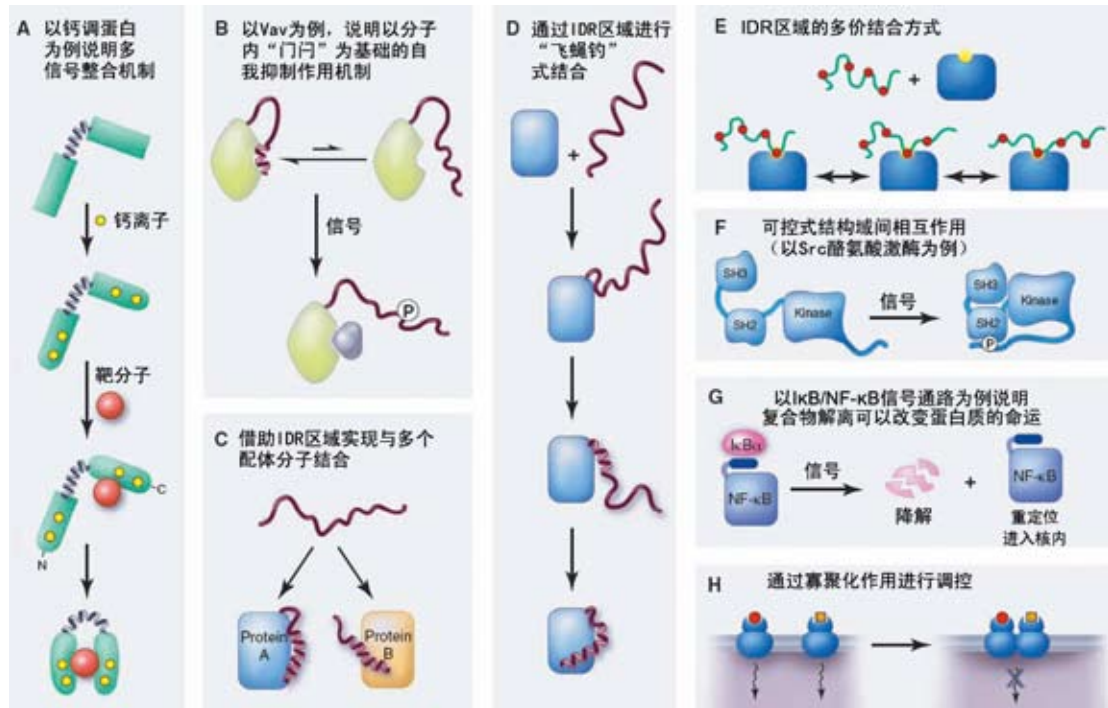


图3 此图说明了蛋白质是如何利用其自身的动力学特性来对输入信号做出相应的反应的。A: 多种信号可以整合在一起, 导致一种反应发生。图中以钙调蛋白为例。首先钙离子(黄色小圆圈)与钙调蛋白EF结构域结合, 然后再与肌球蛋白轻链激酶(红色圆圈)等靶分子结合。即钙调蛋白与一种配体结合之后可以增加它与另一种配体之间的亲和力; B: 分子内自我抑制机制在蛋白的下游靶分子作用位点被“堵塞”时会起作用。上游信号分子, 比如磷酸化信号可以“打开”自我抑制结构域; C: 固有不稳定区域(IDR)可以与多个信号蛋白分子结合, 使其能够识别两个靶分子; D: IDR区域也可以通过“飞蝇钩”的分步方式与靶分子结合; E: 在某些情况下, 多价结合方式也是通过含有多个结合位点(小红圆圈)的IDR区域实现的, 这些结合位点都能与靶分子结合; F: 结构域间动态的重组过程可以被信号(如磷酸化信号)所诱导发生; G: 解离了的蛋白质复合物可以释放出信号, 诱发下游事件, 比如蛋白在细胞中重新定位或降解; H: 受体复合体的形式赋予了更高级别的调控方式, 这样就可以对两种不同的信号(图中红色圆圈和黄色方块)做出反应。

4. 可调控的结构域间相互作用

生物体借助灵活多变的结构域间的结合方式和在信号因子作用下诱发的结构域内动力学以及结构发生的改变方式, 最终成功构建了复杂的信号通路网络。生物体所采用的这种策略实际上就是一种“乐高”式的策略(文后小词典)。在进化过程中, 生物体只用少量的“材料”就拼凑出了大量丰富多彩、各种各样的信号通路。由于在很多信号通路蛋白中都含有前文中所述的PDZ结构域, 于是更进一步增加了信号通路的复杂程度(图2)。这些信号通路蛋白中的结构域在不同的环境影响下可对信号作出不同的反应。比如, 在含有5个PDZ结构域的小鼠磷酸酪氨酸磷酸酶BL(phosphotyrosine phosphatase BL)蛋白中, 第一个PDZ结构域就可以通过与上述结构域内网络调控模式相似的结构域间调控模式对第二个PDZ结构域的亲和力及特异性进行调节。同样, Rho鸟苷三磷酸酶(GTPase)Cdc42在调控果蝇细胞极性蛋白(Drosophila cell polarity protein)Par-6时也是通过与Par-6蛋白PDZ结构域附近的CRIB结构域相结合来发挥作

用的。**Cdc42-CRIB**结合后会激活**PDZ**结构域，这是通过**CRIB**结构域稳定之后在**PDZ**结构域与配体结合位点的背面与**PDZ**结构域发生相互作用完成的，这与我们观察到的单独**PDZ**结构域在信号通路中的作用是相吻合的。通过这种间接的结构域间相互作用对**PDZ**结构域构象进行的改变增加了它与其配体之间的亲和力，触发了下游细胞极性信号通路。最近，研究人员又在果蝇视觉感光系统里的**INAD**骨架蛋白中发现了**PDZ**构象改变的现象。以前我们曾认为**INAD**骨架蛋白只是一种消极的组织模板。现在的研究发现**INAD**骨架蛋白里的**PDZ5**结构域具有氧化还原反应控制开关的作用，它可以在光刺激下将蛋白内部的半胱氨酸氧化，据此来调节与靶蛋白的结合过程，并触发下游信号通路。不过，目前我们对其中的具体细节还没有完全研究清楚。

输入信号也能促进多个结构域之间的聚集与解离（图3F）。**Src**酪氨酸激酶**SH2**和**SH3**结构域都可以进行可逆的聚集与解离，该过程部分受到临近激酶结构域与磷酸酪氨酸结合过程的控制。**SH2**结构域与结合了磷酸酪氨酸的临近激酶结构域相结合之后，可以促进**SH2**结构域与**SH3**结构域之间相互结合，同时灭活激酶活性。当激酶被激活之后，即不再与磷酸酪氨酸结合时，**SH2**结构域就会与**SH3**结构域解离。**SH2**结构域与**SH3**结构域就处于不断的聚集与解离的过程之中。结构域间的接头序列在这种聚集与解离的过程之中起到了关键性的作用。如果在接头序列中引入突变，该激酶就会形成组成型激活突变体。很明显，结构域间的接头序列偏向于进入活化状态的激酶分子，因为只有这样，才有利于加快灭活的速度（图1D）。这种结构域间的调控作用也见于跨膜**C**钙粘蛋白（**transmembrane C-cadherin protein**）。跨膜**C**钙粘蛋白在细胞发育粘附过程中发挥作用，该蛋白与钙离子结合之后，钙粘蛋白间的可变片段也会固定、稳定下来，从而改变其动力学性质，增强其粘附性。

蛋白在输入信号的作用下对其动力学和结构域构象作出调整，这会改变蛋白在细胞内的定位并加快其降解速度（图3G）。**NF- κ B**转录因子通常都是与其抑制因子**I κ B α** 相结合的。**I κ B α** 可以部分阻碍**NF- κ B**核定位序列的作用，因此**NF- κ B**就处于是在胞浆内还是进入核内的平衡状态之中。不过，大部分**NF- κ B**分子都位于胞浆内。当**I κ B α** 被磷酸化、泛素化修饰之后，就会与**NF- κ B**分子解离，并被降解，于是**NF- κ B**分子得以进入核内，激活靶基因转录。**I κ B α** 基因也是靶基因之一，这样也就形成了一个负反馈调控机制。在**I κ B α** 蛋白分子中有好几个锚蛋白重复序列结构域（**ankyrin repeat domain**）。当**I κ B α** 与**NF- κ B**结合之后，这些结构域就会固定下来。但是此时**I κ B α** 蛋白分子里中间重复序列的可塑性反而增强了。**I κ B-NF- κ B**信号通路将基因表达调控机制与信号传导网络完美地联系了起来。目前已经有好几个科研小组开始用数学方法来模拟这条信号通路的作用机制。接下来，我们将要研究信号通路中组成蛋白的动力学特性与整个系统信号通路动力学特性之间的相关性问题的。

5. 大批量分子间重组方法：可控式寡聚反应和阵列形成

细胞信号网络的组织方式要比我们所了解的更高级。最近的研究发现在某些系统内，信号分子之间，尤其是跨膜受体之间的寡聚化反应以及它们形成的阵列具有非常重要的功能。跨膜受体分子阵列可以将一系列同时发生的细胞外信号整合在一起，因此阵列本身形成与解散的动态过程就能影响到细胞对外界各种刺激信号的反应。我们可以以细菌趋向性受体（**chemotactic receptor**）为例对此现象进行详细介绍。

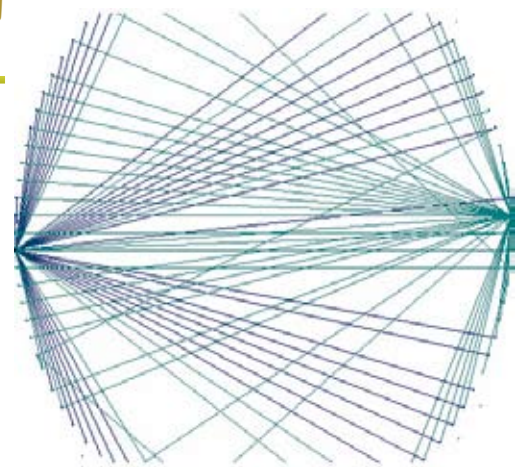
细菌趋向性受体可以聚集在一起形成异质性阵列，以探测细菌所处环境中的趋化因子信号并对细菌发出相应的运动指令。尽管这些受体只能对各种胞外配体作出反应，这种胞内的信号通路在很大程度上还是要依赖趋化因子受体的。最近有一项精细的实验清楚地证实了这种阵列的密度对胞内激酶和甲基化酶的活性具有很大的影响力。

能与很多特异性配体发生反应的G-蛋白偶联受体（GPCR）超家族蛋白在信号通路中具有至关重要的作用。这些GPCR蛋白可以通过多聚化作用表现出非常强大的功能多样性。有报道称，组成GPCR同源二聚体的各个单体间存在相互沟通现象。现在我们又发现不同GPCR蛋白相互结合之后会形成新的功能。比如吗啡与 μ 阿片受体（ μ -opioid receptor）结合之后会引起与之结合的 α_{2A} 肾上腺素能受体的构象发生改变，进而又会抑制与之相连的G蛋白活化并抑制下游的信号通路。如果吗啡或者阿片受体与肾上腺素能受体没有结合，该信号通路是不会受影响的（图3H）。按照这种理论我们可以进行很多精妙的研究，比如可以将多种受体结合起来形成一种多功能嵌合体。据观察，在大麻受体、多巴胺受体和腺甙受体组成的阵列中，腺甙受体与配体结合后能够影响大麻受体和多巴胺受体之间的相互作用。这进一步说明了蛋白间功能关系的复杂性。

生物体通过寡聚化作用来发挥调控机制的另一个例子是维-奥二氏综合征蛋白（Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASP）家族。该蛋白家族成员负责通过激活Arp 2/3复合体的方式来控制肌动蛋白。WASP VCA结构域负责与Arp 2/3发生相互作用，但是该VCA结构域通常都被临近的GBD结构域所抑制。这种自我抑制作用可以被一系列的WASP激动剂通过别构作用取消掉。这主要通过破坏VCA结构域与GBD结构域间的相互作用，“释放出”VCA结构域，使其能够与其它下游分子发生相互作用。WASP蛋白二聚化之后能够极大地提高VCA结构域与Arp 2/3蛋白之间的亲和力，导致局部信号放大。这种二聚化作用可能比较受高阶功能（比如与多价WASP结合配体发生相互作用）的“青睐”，或者适用于与富含磷脂酰肌醇4, 5二磷酸酯的区域结合从而在膜上聚集的过程。有趣的是，WASP及其相关家族成员WAVE有时也能形成异源二聚体，通过别构效应和寡聚化作用发挥更加复杂的信号整合作用，从而让生物体能够接收并整合更多的信号。

6. 发展前景：从用原子级的分辨率研究结构域的动力学到研究复杂的信号网络

细胞和生物有机体无时无刻不在接收和处理着各种信号。通过复杂的信号网络对各种信号进行整合是生物体根据需要调控生化反应途径的一种。我们曾经尝试弄清单个蛋白的基础动力学特性，希望籍此了解蛋白如何调控这些复杂的信号信息。新的技术进步让我们得以更清楚地了解到小分子蛋白质的动力学特征，也知道了蛋白质结合或共价修饰对蛋白质本身会造成何样的影响。此外，我们还发现了大量的信号通路网络组成分子。将来需要进行的工作就是将这些组成分子串联起来，绘制出它们之间相互作用的网络图。我们



能将对蛋白质动力学原子层面的研究成果应用到更高层面的蛋白质结构域之间或分子之间的相互作用当中，甚至应用到整个信号通路网络当中吗？

我们已经知道蛋白质在信号通路中是如何扮演信号接收器、开关控制器、转换器或者节点等功能的。对更高层面信号通路组成单位组织方式的了解有助于阐明生物体对多种信号的整合方式以及生物体是如何根据各种信号来做出相应反应的。已经有研究团体进行过类似的研究了。不过，目前对信号通路的研究要从分子层面提升到细胞层面乃至细胞层面之上都还存在不小的差距。这种差距既有空间上的（细胞是微米级的，蛋白是埃米级的），也有组织结构上的（在细胞器中的定位以及对信号通路的组织），还有时间上的（蛋白质分子处于皮秒级而细胞的时间尺度要长得多）和数量上的（各种细胞类型的数量、蛋白质以及小分子的数量、刺激信号的数量等，以及各种组合方式衍生出来的数量众多的功能等）。要跨越上述障碍还需要找出新的研究方法、新的研究策略以及新颖大胆的科研想法。目前开展的利用生物信息学对信号传递过程进行定量分析，利用多层次模型化方法（multiscale modeling）将分子模拟结果与生化网络联系起来，以及全细胞信号蛋白动力学图谱等研究方法都给了我们极大的信心，我们一定能够对细胞信号通路有一个全局的了解。

原文检索：

Robert G. Smock and Lila M. Gierasch. (2009) Sending Signals Dynamically, *Science*, 24:198-203.

 筱玥/编译

小词典



乐高（Lego）：1932年，丹麦木匠奥尔·科克·克里斯蒂安森发明了一种可以互相拼插的塑料玩具，并将“Leg”和“Godt”（丹麦语“玩得好”）合在一起，创造了“lego”（乐高）这一品牌。巧合的是，“lego”在拉丁语中的意思就是“拼在一起”。如果你有六块八颗凸起的长方体Lego积木，这六块积木可以砌出102,981,500多款组合。

二、用小分子物质捕获动态靶标

传统的基于结构来进行药物开发的方法主要都是借助静态的蛋白质分子来寻找药物活性靶点。不过生物大分子的别构调节效应（allosteric regulation）会受到蛋白质或蛋白质复合体构象以及动力学因素的双重影响，正是因为有了这种调节途径，我们在药物设计方面又多出了很多选择。