

蛋白激酶 C α 相互作用蛋白的结构与功能

肖虹 袁静明 石亚伟*

(山西大学生物技术研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006)

摘要 蛋白激酶 C α 相互作用蛋白(protein interacting with C α kinase, PICK1)是蛋白激酶 C α (protein kinase C α , PKC α)的靶蛋白之一, 也是在 PKC α 和突触后膜受体蛋白间起重要作用的衔接蛋白。PICK1 分别由 PDZ 结构域、BAR 结构域以及卷曲螺旋区和酸性氨基酸区组成。PICK1 中的 PDZ 结构域和受体蛋白、转运蛋白、衔接蛋白的相互作用报道较多, BAR 结构域则与支架蛋白、质膜等相互作用。PICK1 在突触可塑性、神经递质传递、外周神经感觉、细胞生长和黏连等方面发挥重要作用。本文对 PICK1 的结构和功能进行综述。

关键词 蛋白激酶 C α 相互作用蛋白; PDZ 结构域; BAR 结构域; 功能; 结构

蛋白激酶 C α (protein kinase C α , PKC α)是一类丝氨酸或苏氨酸的激酶, 广泛存在于人及动物的组织与细胞内。细胞内外不同类型的激活因子如 cAMP、Ca²⁺ 等能使 PKC α 活化而发挥其级联生物学效应诸如信号传递、细胞分化与胞饮等^[1]。在神经细胞中, PKC α 可激活突触神经传递过程中长时程抑制(long-term depression, LTD), 引起信号的脉冲传递^[2]。在 PKC α 激活过程中, 有一个称之为蛋白激酶 C α 相互作用蛋白(protein interacting with C α kinase, PICK1)起一种桥梁或转换器的功能, 导致 PKC α 与突触后膜的受体相互作用。因此, PICK1 被认为是中枢神经细胞的又一个关键性蛋白质。PICK1 在人和动物的细胞或组织内均可表达。一般位于核周区, 且是不对称分布, 多半是在靠近粗面内质网和高尔基体。然而 PICK1 在哺乳动物大脑中表达水平最高且集中在海马区的突触部分, 因而 PICK1 可能与大脑功能诸如学习记忆密切相关^[3]。

蛋白激酶大多与细胞内各种各样受体有关联, 但它们之间的相互作用和相互调节的机制不甚清楚。自 Staudinger 等^[3]发现 PICK1 以来, PICK1 与细胞内不同受体的相互作用逐渐被认识, 诸如 AMPA 受体的 GluR2 和 GluR3 亚基^[4]、代谢型谷氨酸受体 mGluR7a^[5]、多巴胺转运蛋白(DAT)^[6]、酸性敏感性通道受体(ASIC)等^[7]。因此, PICK1 是连接 PKC α 和不同类型受体的转换器, 可能参与神经递质传递和突触可塑性过程。PICK1 结构与功能的研究有助于揭示诸如大脑的学习记忆、信号传递、激素的瞬时效应等机制, 也是当前神经分子生物学

的一个新的研究平台。

1 PICK1 的分子结构

小鼠来源的 PICK1 是由 416 个氨基酸残基组成的多肽链, 单体分子量为 46 kDa(图 1)^[3]。但它的功能单元是以二聚体形式存在, 目前有关 PICK1 的结构细节报道甚少, 来自人类、大鼠、小鼠及牛等哺乳动物的 PICK1 氨基酸序列同源性比较表明, 除牛的 C 端区略短且与其他同源蛋白有较大差异外, 其他 3 个种属的 PICK1 的一级结构同源性都在 90% 以上^[8]。

根据其一级结构的氨基酸顺序和不同肽段的生物学功能, 每个单体 PICK1 可分为两个结构域和两个肽段区, 它们分别是 PDZ 结构域和 arfaptin 结构域(或称 BAR 结构域); 卷曲螺旋区和酸性氨基酸区, 其模式图见图 2^[9,10]。

1.1 PDZ 结构域

PDZ 结构域位于 PICK1 分子的 N 端区。PDZ 命名来自最初发现该结构域的 3 种蛋白质的第一个字母的组合, 即哺乳动物突触后密度蛋白(postsynaptic density protein 95kDa, PSD 95)、果蝇肿瘤阻遏蛋白(the *Drosophila* tumor-suppressor, Dlg1)和哺乳动物紧密连接蛋白(the tight-junction protein, Zo-1)。该结构域一般由 90 个左右氨基酸残基组成, 小鼠的 PICK1 为 90 个残基(20~110 位)。从一级结构推测,

收稿日期: 2005-09-22 接受日期: 2005-12-02

国家自然科学基金资助项目(No.30400065)

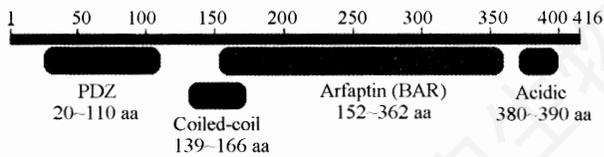
* 通讯作者。Tel: 0351-7017661, Fax: 0351-7018268, E-mail:

yaweishi@sxu.edu.cn

```

1 MFADLDYDIE EDKLGIPVTP GKVTLQKDAQ NLLIGISIGGG AQYCPCLYIV QVFDNTPAAL
61 DGTVAAGDEI TGVNGRSIKG KTKVEVAKMI QEVKGEVTIH YNKLQADPKQ GMSLDIVLKK
121 VKHRLVENMS SGTADALGLS RAILCNDGLV KRLEELERTA ELYKGMTEHT KNLLRAFYEL
181 SQTHRAFGDV FSVIGVREPQ PAASEAFVKF ADAHRSIEKF GIRLLKTIKP MLTDLNTYLN
241 KAIPDTRLTI KKYLDVKFEY LSYCLKVKEM DDEEYSCIAL GEPLYRVSTG NYEYRLILRC
301 RQEARARFSQ MRKDVLEKME LLDQKHVQDI VFQLQRFVST MSKYYNDCYA VLRDADVFP1
361 EVDLAHTTLA YGPNQGGFTD GEDEEEEEED GAAREVSKDA RGATGPTDKG GSWCDS

```

图1 小鼠 PICK1 的一级结构^[3]图2 PICK1 结构域示意图^[9,10]

该肽段的 pI 接近于 pH 7.0, 属于疏水性比较强的肽段, 与其信号传递功能是一致的。它的二级结构预测仍以 β 折叠为主, 由 6 个 β 片层结构(βA , βB , βC , βD , βE 和 βF)和 2 个 α 螺旋区(αA 和 αB)组成。典型的 PDZ 结构域在 αB 螺旋与 βB 之间形成大沟, 便于受体分子的识别与结合。根据 PDZ 识别配体的 C 末端不同残基序列可分为 3 种类型: I 型 PDZ 结构域, 其配体 C 端残基序列为(S/T)-X- ϕ (ϕ 为疏水氨基酸残基, X 为任一氨基酸残基); II 型 PDZ 结构域, 其配体 C 端识别序列为 ϕ -X- ϕ ; III 型 PDZ 结构域, 其配体 C 端识别序列为 D/E-X- ϕ 。PICK1 中 PDZ 结构域既属于 I 型又属于 II 型^[11], 表明它可能作用于较为广泛的受体蛋白(图 3)^[12]。

1.2 Arfaptin(BAR)结构域

Arfaptin(BAR)结构域是 PICK1 分子中主要的肽段, 处于 152~362 残基之间, 除少量伸展型肽段外, α 螺旋与 β 折叠分别各占一半。由于 PICK1 分

子内该肽段 arfaptin 1 和 arfaptin 2 所含的 GTPase 结合结构域类似而得名。Peter 等^[13]在比较了 PICK1 中该肽段和 arfaptin 结构域的一级结构与二级结构基础上, 提出了蛋白质分子含有这类 arfaptin 的肽段的区域统称为 BAR(Bin/amphiphysins/Rvs, BAR)结构域。目前报道的 BAR 结构域的超家族有 6 个家族成员。而 PICK1 中 BAR 结构域与 arfaptin 2 为同一家系^[14]。从果蝇两亲蛋白(amphiphysin)中 BAR 结构域的三维空间构象分析, 每个单体由 3 条缠绕的 α 螺旋形成的螺旋束, 再交叉成“新月状”(crescent)二聚体。它主要由疏水键和盐桥维系。BAR 结构域形成的二聚体通过其正电荷和膜的负电荷结合, 从而识别与诱导膜的变形、膜凹陷、膜的断裂(胞饮)(图 4)^[13]。PICK1 分子的 BAR 结构域既可与自身 PDZ 结构域结合, 也可与其他蛋白质如 GRIP 等作用, 来调节不同的蛋白质及膜间的相互作用。

1.3 卷曲螺旋区和酸性氨基酸区

从图 2 可知, PICK1 中卷曲螺旋区(coiled-coil)大部分包含在 BAR 结构域的 N 端区内, 由 139~166 位残基组成。在这 25 个氨基酸残基中, 酸性和碱性氨基酸各占 1/5, 这些电荷的存在可能在 PICK1 二聚体化中起到电荷-电荷相互作用。PICK1 分子中

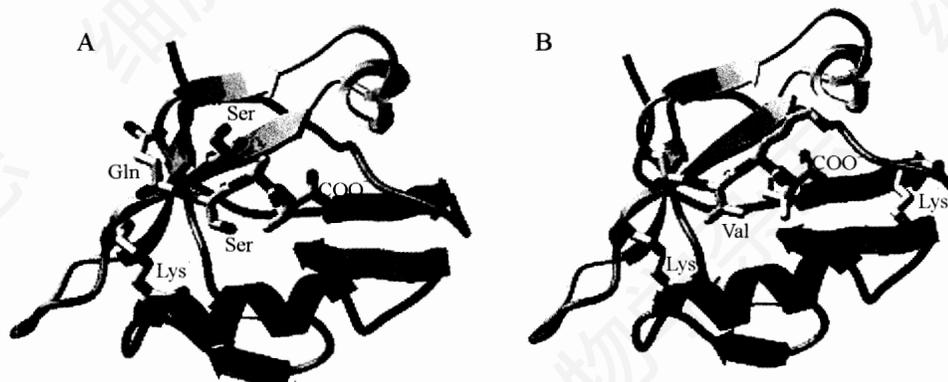
图3 PICK1 的 PDZ 结构域和 I 型配体 PKC α 的 C 末端 QSAV 肽(A)和 II 型配体 GluR2C 末端 SVKI 肽(B)形成的不同复合物的结构模型^[12]



图4 *Drosophila amphiphysin* 中 arfaptin (BAR) 结构域的空间结构模型(二聚体)^[13]

的酸性区处于 380~390 位(DGEDEEEEEED), 以谷氨酸为主, 这种负电区可能调节 PICK1 与其受体 $mGluR_7$ 的相互作用, 也可能与 Ca^{2+} 结合调节信号转导等其他生物学功能^[5]。

2 PICK1 的生物学功能

PICK1 作为神经细胞中重要的调节蛋白之一, 其结构与功能研究尚处于起步阶段。虽然已有不少涉及 PICK1 的报道, 但对其作用机制仍未形成系统化。因此, 现仅就其某些生物功能作简要介绍。

2.1 参与学习和记忆

普遍认为学习和记忆包含了突触效能的长时程变化, 这种效能变化体现在长时程增强(LTP)和长时程抑制(LTD)两种现象。这两种现象具有 Donald Hebb 所假设的对联合学习必需的特性, 即当突触前和突触后成分协同活动时, 突触的强度将增加, 学习即已发生。大脑海马区产生的 LTP 或 LTD 是和突触后膜上 AMPA 型的谷氨酸受体的数量变化密切相关。AMPA 型受体, 特别是 $GluR2$ 在突触后膜上的变化是这些受体在突触后膜和神经细胞内的循环的结果。 $GluR2$ 等受体胞吐到突触后膜位点过程是 NMDA(N-甲基-D-天冬氨酸)依赖性 LTP 的基础。反之, 受体在突触后膜上减少(或内吞)导致 LTD 的出现^[15]。在 $GluR2$ 等神经细胞膜上循环过程中, PICK1 起到至关重要的作用。

Perez 等^[12]证实 PICK1 只和活化态的 $PKC\alpha$ 结合, 在 $PKC\alpha$ 活化剂佛波酯(phorbol ester)诱导下, 首先 PICK1 和活化态的 $PKC\alpha$ 形成蛋白质-蛋白质复合物, PICK1 将活化态的 $PKC\alpha$ 移位至靠近膜上的 $GluR2$ -GRIP 蛋白质复合物, 使 $PKC\alpha$ 和 $GluR2$ 受体彼此靠近, $GluR2$ 分子中第 880 位的丝氨酸残基得以被 $PKC\alpha$ 磷酸化, 从而使定位在突触后膜上的 $GluR2$ 等受体从 $GluR2$ /GRIP 复合物中解离出来, 进而与 PICK1 形成新的 $GluR2$ -PICK1 复合物, 启动 $GluR2$ 受体在神经细胞内的运输, $GluR2$ 受体与 PICK1 的复合物再经网格蛋白(clatrin)介导的胞饮作

用, 致使 AMPA 受体在膜上数量减少, 引起 LTD。在这个过程中由于 $PKC\alpha$ 和 PICK1 的相互作用, PICK1 本身两个结构域 PDZ 和 BAR 的相互作用被终止, 导致 BAR 结构域的暴露, 得以和 GRIP 上相应序列结合, 使 PICK1- $PKC\alpha$ 复合物和 $GluR2$ -GRIP 复合物邻近, $GluR2$ 磷酸化的发生^[16]。

2.2 参与外周神经感觉过程

大脑的酸性敏感性离子通道蛋白(ASIC)是属于哺乳动物退化蛋白(degenerin)及上皮 Na^+ 通道蛋白家族, 在中枢神经元系统和外周感觉神经元中都有表达, 它们是外周神经系统中机械性刺激感受器复合物的核心部分, 能在酸性物质引起的伤害感受中起作用。Hruska-Hageman 等^[7]用酵母双杂交证实 PICK1 中的 PDZ 结构域和 ASIC、ASC2a 等酸性敏感性离子通道蛋白有相互作用。如果在 COS7 细胞中分别表达 PICK1 和酸性敏感离子通道蛋白, 在细胞中前者呈弥散样分布, 而后者呈网状样分布, 但如果两者共表达, 则会改变各自蛋白在细胞内的分布状态。为了进一步确定 PICK1 和酸性敏感离子通道蛋白在神经元中的位置, 转染海马神经元细胞, 2~3 天后, 用免疫化学染色, 发现 PICK1 和酸性敏感性离子通道蛋白一起以散点状定位在突触部位。PICK1 在哺乳动物机械感受器中, 有可能将酸性离子通道蛋白和细胞骨架联系在一起, 控制酸性离子通道蛋白在中枢和外周神经元中分布。Baron 等^[17]对 PICK1、酸性敏感性离子通道蛋白及 $PKC\alpha$ 三者的进一步研究中, 观察到活化态的 $PKC\alpha$ 通过磷酸化可以使酸性敏感性通道蛋白的电流增强约 30%, 但如果再加入 PICK1, 则会增强约 300%, 由此判断 PICK1 可能是将活化态的 $PKC\alpha$ 定位至适当区域, 调节酸性敏感性通道蛋白参与外周感觉过程。

2.3 参与神经介质传递与调节

单胺转运蛋白是中枢神经系统中突触膜上转运生物胺的一类蛋白质, 主要有 3 种: 多巴胺转运蛋白(DAT)、去甲肾上腺素转运蛋白(NET)和 5-羟色胺转运蛋白(SERT)。它们能高亲和力摄取由前突触神经末梢释放的相应神经递质多巴胺、去甲肾上腺素和 5-羟色胺, 维持胞外间隙中这些递质的一定生理浓度, 从而控制突触活性的强度和持续时间, 进而影响到个体的情绪和行为。如剔除多巴胺转运蛋白基因的小鼠, 表现出多动症和对可卡因和安非他明反应改变^[18]。

生物胺转运蛋白一般只在相应的产生同源神经递质的细胞中表达, 为了完成其生理功能, 这些转

运蛋白必须定位至特殊的或靠近突触前膜递质释放的位置。PICK1很可能就是介导了这些转运蛋白在神经细胞内区域和膜上的循环的关键蛋白。若PICK1过量表达则引起突触膜上转运蛋白的表达,而PICK1缺失则削弱这些转运蛋白的定位能力^[6]。

2.4 参与细胞的生长与黏合过程

柯萨奇和腺病毒受体(coxsackie and adenovirus receptor, CAR)是一种膜蛋白,在病毒感染和调节细胞生长等方面发挥重要作用。它的C末端区的序列GSIV和I型PDZ结构域配体的C端序列XS/TVX(X为任一氨基酸残基)相类似。该序列在病毒感染细胞中并不起任何作用,却是影响内源CAR的功能的关键模体。CAR在细胞内表达与否直接影响细胞的生长特征。例如在一些恶性肿瘤细胞(如黑色素瘤)中,消除了CAR表达,表现为细胞疯长。若用某些转化细胞重新导入肿瘤细胞使之表达CAR,则恶性细胞生长将被抑制。这一现象可能是由于CAR的C末端识别区和细胞内含PDZ结构域蛋白质间相互作用的结果。含PDZ结构域的蛋白质在CAR相互作用中提供一个网架或骨架的功能。在PICK1对CAR影响的研究中发现,PICK1与CAR结合,可以调节细胞的表型。若将CAR的C末端和PDZ结构域结合的4个氨基酸残基(GSIV)缺失,不影响腺病毒感染,但影响细胞生长和黏合^[19]。

3 小结

PICK1是近年来在细胞生物学特别是神经生物学研究中十分关注的一种蛋白质,PICK1作为PKC α 与众多受体靶蛋白相互作用间的一种衔接蛋白(adaptor protein),对于揭示细胞功能,特别是大脑功能如神经传递、学习记忆、信号放大等具有明显的现实意义。因此,PICK1的结构与功能研究有望成为揭开生命之谜的又一只巧手。

参考文献 (References)

- [1] Nishizuka Y. *FASEB J*, 1995, **9**: 484
- [2] Linden DJ *et al. Science*, 1991, **254**: 1656
- [3] Staudinger J *et al. J Cell Biol*, 1995, **128**: 263
- [4] Daw MI *et al. Neuron*, 2000, **28**: 873
- [5] Boudin H *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 30270
- [6] Torres GE *et al. Neuron*, 2001,**30**: 121
- [7] Hruska-Hageman AM *et al. Biochem J*, 2002, **361**: 443
- [8] Takeya R *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **267**: 149
- [9] Xia J *et al. Neuron*, 1999, **22**: 179
- [10] Hanley JG *et al. Neuron*, 2002, **34**: 53
- [11] Madsen KL *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 20539
- [12] Perez JL *et al. J Neurosci*, 2001, **21**: 5417
- [13] Peter BJ *et al. Science*, 2004, **303**: 495
- [14] Habermann B. *EMBO Rep*, 2004, **5**: 250
- [15] Chung HJ *et al. Science*, 2003, **300**: 1751
- [16] Lu W *et al. Neuron* 2005, **47**: 407
- [17] Baron A *et al. J Biol Chem*, 2002, **277**: 50463
- [18] Xu F *et al. Nat Neurosci*, 2000, **3**: 465
- [19] Excoffon KJ *et al. J Cell Sci*, 2004, **117**: 4401

The Structure and Function of Protein Interacting with C α Kinase

Hong Xiao, Jing-Ming Yuan, Ya-Wei Shi*

(Institute of Biotechnology, Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of National Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan, 030006, China)

Abstract Protein interacting with C α kinase (PICK1) contains a single PDZ domain known to mediate the interaction with several receptors, transporters, ion channels and kinases, and a BAR domain interacted with other proteins and membrane besides PDZ domain itself, as well as a coiled-coil and an acidic amino acid regions. PICK1, as an adaptor protein between protein kinase C α (PKC α) and receptors at synapse performs its biological function through the interaction with different partners in synaptic plasticity, neurotransmitter regulation, peripheral nervous sensory, cell-cell adhesion and cell growth. In this review, we focus on the structure and function of PICK1.

Key words PICK1; PDZ domain; BAR domain; function; structure

Received: September 22, 2005 Accepted: December 2, 2005

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30400065)

*Corresponding author. Tel: 86-351-7017661, Fax: 86-351-7018268, E-mail: yaweishi@sxu.edu.cn