

## 综述

## 蛋白质质量控制研究

石号 孙大燕 李宾 方合志\* 吕建新\*

(温州医科大学检验医学院、生命科学学院, 浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035)

**摘要** 细胞内蛋白的质量控制包括新翻译蛋白的正确折叠组装以及错误折叠蛋白的降解。生物体内精确的蛋白质质量控制机制维持着细胞的正常生理功能, 蛋白质质量控制异常通常与肿瘤、衰老等多种退行性疾病的发生有关。该文对胞质、内质网以及线粒体内的蛋白质质量控制机制进行了综述, 旨在为全面了解蛋白质质量控制异常相关疾病的发生提供参考。

**关键词** 蛋白质质量控制; 分子伴侣; 内质网; 线粒体

## Protein Quality Control

Shi Hao, Sun Dayan, Li Bin, Fang Hezhi\*, Lü Jianxin\*

(School of Laboratory Medicine and Life Sciences, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

**Abstract** Protein quality control (PQC) is a surveillance system ensuring the proper folding of newly synthesized protein and degradation of damaged or misfolded protein. Dysregulation of PQC system has been implicated in cancer, aging and other degenerative diseases. To provide a comprehensive understanding of PQC in human diseases, the role of PQC in cytosol, endoplasmic reticulum and mitochondria are discussed in this review.

**Keywords** protein quality control; chaperon; endoplasmic reticulum; mitochondria

无论是非细胞生物的病毒, 还是具有细胞结构的原核生物与真核生物, 其遗传物质发挥作用的最终执行者均为蛋白质, 蛋白质的功能与活性决定了生物体活动的各个方面。mRNA翻译所产生的蛋白序列仅是无功能的线性氨基酸链, 为蛋白质的一级结构。一级结构的氨基酸链主要通过 $\alpha$ 螺旋与 $\beta$ 折叠形成蛋白质的二级结构。之后, 根据氨基酸残基的亲/疏水性以及正/负电等特性, 蛋白质二级结构进一步折叠, 形成三级结构。多数具有三级结构的蛋白质可以独立行使生物学功能, 但是有些酶复合体如线粒体呼吸链复合体I-V需要两条或多条蛋白质一

级结构链通过折叠与组装形成蛋白质四级结构来发挥作用。此外, 蛋白质高级结构的折叠与组装通常需要一些折叠组装因子的协助才能完成。这类因子除了协助蛋白质多肽链的非共价折叠、组装或高级结构蛋白的去组装外, 本身并不是功能蛋白的组成部分, 也不参与功能蛋白的生物学功能, 因而这类因子被称为分子伴侣。

然而, 蛋白质的组装并不总是一帆风顺。虽然普遍认为, 多肽链在翻译过程中具有极高的保真性, 且不会随着细胞年龄的增长而下降, 但有相关研究发现, 即使是年轻且健康状态下的细胞, 其多肽链在翻

收稿日期: 2014-05-22 接受日期: 2014-10-16

国家自然科学基金(批准号: 81101506)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0577-86689805, E-mail: hezhifang990909@gmail.com, jxlu313@163.com

Received: May 22, 2014 Accepted: October 16, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81101506)

\*Corresponding author. Tel: +86-577-86689805, E-mail: hezhifang990909@gmail.com, jxlu313@163.com

网络出版时间: 2015-01-30 16:26

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150130.1626.005.html>

译过程中仍有约10%的新合成蛋白存在翻译错误<sup>[1-2]</sup>。与此同时,还有20%~30%的新合成蛋白在早期阶段便因折叠错误而被快速降解<sup>[3]</sup>。即使是正确折叠组装的蛋白,由于在折叠过程中将所有的疏水基团包埋在三级结构内部,可溶性蛋白与蛋白之间容易相互接触而变性聚集<sup>[4]</sup>。此外,在应激状态下出现物理或氧化损伤的蛋白如不及时清除,不仅功能性蛋白质的活性会因为变性蛋白的干扰而受到影响,同时变性蛋白的累积也会引发蛋白聚集,两个因素的结合最终导致各类疾病的发生。虽然这些蛋白聚集物的具体致病机理尚不明确,但是有研究认为,这些聚集物与细胞内其他功能组分结合后蓄积成更大的蛋白聚合物,这些聚合物最终通过附着并累积于细胞间隙,从而导致诸如阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)以及亨廷顿舞蹈症(Huntington disease, HD)等疾病的发生<sup>[5]</sup>。

事实上,由于蛋白质质量控制系统的存在,大部分蛋白质在极度复杂多变的细胞内环境中仍能较好地行使各项功能。所谓的蛋白质质量控制系统由两大块组成:(1)新合成蛋白的正确折叠及组装;(2)错误折叠或聚集的蛋白的重折叠或降解。蛋白质质量控制系统通过维持蛋白质折叠组装与降解的平衡来达到蛋白质的动态平衡。在蛋白水平无法维持蛋白动态平衡的情况下,蛋白质质量控制系统将通过唤醒细胞凋亡来清除问题细胞。另外,Keith等<sup>[6]</sup>于1962年发现了另外一种介于蛋白水平和细胞水平的蛋白质质量控制途径——细胞自噬。细胞自噬分为巨自噬、微自噬以及分子伴侣介导的自噬,它们共同作用以清除细胞中的问题蛋白,发挥蛋白质质量控制的作用。在蛋白折叠与组装过程中,一些多肽链在翻译阶段便在分子伴侣的协助下进行边翻译边折叠,剩余的新翻译蛋白与NAC(nascent chain-associated complex)蛋白和分子伴侣(主要为热应激蛋白Hsp70)结合形成复合物以防止蛋白聚集。根据有无信号肽以及信号肽的类型,这些未折叠组装的新翻译蛋白分别被释放到细胞质、内质网或者线粒体中进行折叠组装<sup>[4,7]</sup>。对于那些错误折叠和非正常聚集的蛋白,研究认为,有三种处理方式:重折叠、直接降解和蛋白质质量控制元件封闭<sup>[8-9]</sup>。在蛋白质质量控制系统中,已经明确这三种方式均需分子伴侣的参与,但是错误折叠组装的蛋白为何选择其中某一处理方式而不

是其他两种方式的分子机制尚不明确。另外,由于有些分子伴侣如Hsp70同时参与了蛋白的折叠组装、重折叠和降解过程,这也直接导致了蛋白质质量控制研究的复杂性<sup>[10]</sup>。

## 1 蛋白质质量控制下的蛋白质更新

蛋白质的更新包括蛋白质的合成与降解。蛋白质的快速更替能够使蛋白质具有较高的动态平衡能力。虽然蛋白质质量控制系统本身并不影响蛋白质的翻译速率,但却影响新翻译蛋白的折叠组装与受损蛋白的重折叠和降解。因此,蛋白质更新速率的变化很大程度上是蛋白质质量控制能力的直接体现<sup>[11]</sup>。

蛋白质的更新速率随着衰老的发生而逐渐降低,随之增加的氧化损伤蛋白更是加剧了细胞的衰老<sup>[2]</sup>。虽然,随着年龄的上升蛋白质合成的精度没有变化,但是蛋白合成速率的下降非常明显。以线粒体DNA编码蛋白为例,24个月大的小鼠与6个月大的小鼠相比,其线粒体DNA编码蛋白速率下降约35%<sup>[2]</sup>。同样地,蛋白质质量控制系统中泛素介导的蛋白酶体降解系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)以及自噬相关的溶酶体降解系统活性也随着年龄的增加而降低<sup>[12]</sup>。研究发现,能量摄入限制(Calorie restriction, CR)能够通过激活sirt1依赖的“细胞自噬-溶酶体”系统来提升细胞的蛋白质更新速率,从而发挥其抗衰老的作用<sup>[2,13]</sup>。类似的研究在线粒体编码蛋白的研究中也有报道,线粒体自噬相关的PINK1(PTEN-induced putative kinase 1)、PARKIN或者ATG7(autophagy-related protein 7)蛋白的缺失能够通过抑制线粒体自噬降低线粒体内蛋白的更新速率进而导致线粒体蛋白质质量控制能力低下<sup>[14-16]</sup>。推测由于PINK1/PARKIN/ATG7缺失导致的线粒体蛋白质质量控制异常造成了线粒体氧化呼吸链功能缺陷,从而以此引发衰老相关的神经退行性疾病<sup>[17-18]</sup>。

尽管已经明确,UPS和自噬所维持的蛋白快速更新保证了细胞具有良好的蛋白质质量控制水平。但到目前为止,蛋白质质量控制研究均只着重于单个新合成蛋白的更新。然而一方面,一些功能蛋白如线粒体内的呼吸链复合体由数个到数十个不等的亚基组成,且普遍认为存在一个呼吸链复合体亚基的缓存区以便随时响应复合体的组装<sup>[19,20]</sup>;另一方面,目前的研究认为,复合体的降解需要先行去组装成亚基才能进行最终的蛋白水解过程<sup>[21-22]</sup>。因此,呼吸链

复合体的更新可能并不直接涉及亚基的合成与折叠以及缺陷亚基的重折叠与降解。这使得复合体蛋白的更新显得更加复杂, 我们尚未发表的部分研究结果也发现, 线粒体呼吸链复合体蛋白在缺少线粒体DNA编码亚基的情况下可以在10 d以内完成全部更新。而来自其他研究小组的结果则发现, 相应的呼吸链复合体组成亚基的半衰期为300~500 h<sup>[16]</sup>, 表明复合体水平的更新与编码亚基的更新可能有着不同的质量控制机制。与此同时, 另有研究发现, 呼吸链复合体I的有些亚基虽然具有相似的合成速度, 但其整合到复合体I的速率存在较大的差异<sup>[23]</sup>。以上种种表明, 线粒体内除了单体蛋白的质量控制机制外, 还存在一个呼吸链复合体水平的质量控制系统来监视复合体的完整性。鉴于线粒体呼吸链复合体在维持细胞完整功能中的重要地位, 呼吸链复合体水平的蛋白更新及质量控制机制研究将更有助于直接揭示线粒体在各类退行性疾病发生发展中的作用。

## 2 蛋白质质量控制系统

由于各类蛋白在细胞内的定位差异, 生物体内主要存在两种蛋白质质量控制体系, 分别为胞质和内质网蛋白以及线粒体蛋白的质量控制体系。

### 2.1 胞质蛋白与内质网蛋白的质量控制

在蛋白折叠过程中, 原核生物约有60%~80%的蛋白在合成之后便已完成自动折叠, 剩余10%~20%左右的蛋白需要依靠Hsp70的协助完成折叠, 还有约15%较为复杂的蛋白需要由14个多聚GroEL(Hsp60)复合体参与完成折叠<sup>[4,10]</sup>。与原核生物类似, 真核生物中约有20%和10%的蛋白分别通过Hsp70系统和TRiC(多聚Hsp60分子伴侣)系统完成折叠<sup>[4,24]</sup>。唯一不同的是, 原核生物只有一套Hsp70系统参与整个蛋白质质量控制过程, 而真核生物中参与新生蛋白折叠的Hsp70系统与参与蛋白重折叠和降解的Hsp70为独立的两个系统<sup>[25]</sup>。

**2.1.1 胞质蛋白与内质网蛋白的折叠** 胞质、内质网以及线粒体中的Hsp70虽然具有细微的差别, 但都具有ATP酶功能域(nucleotide binding domain, NBD)、底物结合域(substrate binding domain, SBD)以及富含 $\alpha$ 螺旋的C-端10 kDa结构域。在胞质中, Hsp70通过与Dnaj(Hsp40)结合加速ATP的水解反应, 从而促进底物蛋白与Hsp70的结合并通过C-端10 kDa结构域将底物锁定在Hsp70上; 而核苷酸置换因子(nucleo-

tide substitution factor, NEF)通过与Hsp70结合, 将ADP置换为ATP后促进底物蛋白的释放<sup>[10,26]</sup>。在真核细胞胞质中, Hsp110为主要的NEF<sup>[27]</sup>; 原核生物大肠杆菌中, Grpe(Hsp24)为主要的NEF<sup>[28]</sup>。部分未折叠蛋白可通过上述的Hsp70/Hsp40/Hsp110(真核生物)或者Dnak/Dnaj/Grpe(原核生物)机制完成折叠过程。另有一些复杂结构的蛋白经前述机制被Hsp70捕获后, 进一步招募Hsp90或直接将蛋白传递给TRiC/CCT(TCP-1 ring complex, 也称为CCT for chaperonin containing TCP-1)进行蛋白的折叠。除了与Hsp70一起参与蛋白折叠外, Hsp90也直接行使一些蛋白激酶与转录因子的蛋白折叠功能。Hsp90与TRiC/CCT均需要ATP驱动完成蛋白的折叠过程, 其中, 由多聚Hsp60分子组成的双环背对背堆叠的多聚体分子复合体(TRiC)需要在GroES(Hsp10)的协助下才能完成其ATP驱动作用<sup>[29-30]</sup>。

内质网中的Hsp70为Bip/GRP78, 对应的Hsp40与NEF分别为Erdj和GRP170, 它们与Bip相互作用协助蛋白的组装。这些组装的蛋白在内质网Hsp90(GRP94)的协助下进一步组装成完整的蛋白, 其分子伴侣相关的蛋白折叠机制与胞质中类似。但是内质网内没有多聚Hsp60复合物, 且另一分子伴侣Bip不仅参与蛋白折叠, 还与Sec61蛋白复合体一起完成蛋白从胞质到内质网的转运<sup>[31]</sup>。除分子伴侣外, 内质网内还具有蛋白二硫异构酶、糖修饰酶以及凝集素等, 均参与了内质网内的蛋白折叠<sup>[29]</sup>, 因而内质网内蛋白折叠较胞质内复杂。在内质网蛋白折叠过程中, 大部分蛋白在刚进入内质网后即被糖基化修饰。修饰后的糖基化蛋白在凝集素钙黏蛋白及分子伴侣的双重作用下完成折叠, 去糖基化后的成熟蛋白进入细胞分泌途径<sup>[29]</sup>。

**2.1.2 胞质蛋白与内质网蛋白的重折叠与降解** 胞质内及内质网中, 错误折叠蛋白或者聚集蛋白可通过重折叠或者降解途径得到清除。胞质中有一类微小热休克蛋白(small heat shock proteins, sHsps), 大小介于10~40 kDa, 在应激状态下, sHsps以多聚体形式与聚集蛋白结合。Hsp70捕获该蛋白后将蛋白传递给Hsp100解聚, 解聚的蛋白可通过Hsp70或Hsp60途径完成重折叠。哺乳动物细胞内质网中由于没有sHsps, 因而不存在sHsps/Hsp70/Hsp100相关的蛋白重折叠机制<sup>[4,29]</sup>。但是内质网中的UDP-葡萄糖糖蛋白葡萄糖基转移酶(UDP-glucose glycoprotein glucosyl-

transferase, UGGT)可以再次糖基化那些未折叠完全的蛋白,糖基化的蛋白继续在凝集素钙黏蛋白及分子伴侣的双重作用下完成最终折叠并再次去糖基化<sup>[29]</sup>。

细胞质中,与Hsp70或Hsp90碳端具有相互作用的蛋白(carboxy-terminal hsp70 interacting protein, CHIP)为泛素化降解过程中的E3连接酶,问题蛋白在CHIP的协助下完成泛素化修饰过程。Hsp70或Hsp90与CHIP的复合体可招募Bcl-2,结合抗凋亡蛋白BAG-1(Bcl-2-associated athanogene 1)将靶蛋白传递给蛋白酶体26S,引发蛋白降解。若该复合体与BAG-2作用,可通过拮抗CHIP的E3连接酶作用而终止蛋白的UPS途径,蛋白将重新进入sHsps/Hsp70/Hsp100相关的蛋白重折叠途径或重新进入蛋白降解途径。若复合体与BAG-3作用,可诱导细胞自噬的发生<sup>[9,29]</sup>。另外有研究发现,将培养细胞培养基中的营养物质去除,10 h后,细胞会进行一种选择性的蛋白降解途径——分子伴侣调节的溶酶体自噬途径(chaperone-mediated autophagy, CMA),这种作用会一直持续到3 d后<sup>[32]</sup>,问题蛋白在Hsp70的同源蛋白Hsc70的作用下,被锁定在溶酶体膜上,进而进入溶酶体降解,同时在氧化应激下导致的一些聚集蛋白也通过CMA途径降解,从而发挥蛋白质量控制的作用<sup>[33-34]</sup>。进一步的研究认为,在一些蛋白受损程度较高的细胞中,蛋白的UPS途径可能无法快速、有效地清除问题蛋白,从而导致大部分分子伴侣被这些问题蛋白所占据,进而降低细胞内的蛋白质量控制水平。因此,在含有较多问题蛋白的衰老细胞中,CHIP/Hsp70复合体更倾向于与BAG-3结合,引发细胞自噬来清除问题蛋白<sup>[35]</sup>。此外,由于UPS无法清除不溶性蛋白聚集物,非水溶性的蛋白聚集物通常也是通过细胞自噬途径清除的,但是这类蛋白需要P62/NBR1(nucleoporin p62/neighbor of BRCA1 gene 1 protein)协助才能与自噬体相关蛋白LC3结合并形成成熟的自噬小体<sup>[9,29,36]</sup>。由于内质网中不存在蛋白酶体,因而内质网中蛋白的降解仍需回到胞质。胞质中有一类泛素特异性识别的分子伴侣Cdc48/VCP/p97,这类分子伴侣会协助错误蛋白的降解。内质网中错误折叠或不正常聚集的多聚糖基化蛋白首先被两个糖苷酶外切为含有7个多聚糖苷的蛋白,随后,内质网内的E3连接酶复合体(Hrd1与Hrd3)在Bip或者p97-Ufd1(ubiquitin fusion degradation 1)-Npl4(nuclear protein localization homolog 4)等

蛋白的协助下将蛋白重定位到胞质,通过UPS途径完成内质网蛋白的降解(ER-associated degradation, ERAD)。研究认为,内质网虽然同胞质一样,有一套完整的内质网相关自噬途径,但其具体机制仍不得而知。

## 2.2 线粒体蛋白质量控制

线粒体蛋白质量控制完全不同于胞质与内质网蛋白质量控制。根据质量控制发生的层次,线粒体蛋白质量控制的水平可分为以下三种:(1)分子水平的质量控制,在各类分子伴侣、热激活蛋白和蛋白水解酶等辅助蛋白的作用下完成线粒体蛋白的折叠组装以及问题蛋白的降解;(2)细胞器水平的质量控制,在特定辅助蛋白的作用下通过线粒体分裂融合和线粒体自噬行使分子水平质量控制系统所不能完成的蛋白质量控制;(3)细胞水平的质量控制,线粒体因损伤严重到无法通过前两种控制系统修复线粒体时,通过释放细胞色素C并诱导细胞凋亡来清除包含大量问题蛋白的线粒体<sup>[37]</sup>(图1)。

### 2.2.1 线粒体蛋白的折叠与组装

线粒体有自己的基因组,但仅编码13个线粒体呼吸链复合体蛋白,其余1 000多种线粒体蛋白需要通过核基因编码后转运到线粒体进行折叠。细胞质核糖体翻译的线粒体蛋白在胞质Hsp70或Hsp90的协助下保持其未折叠状态,这些蛋白通过特定的转运机制定位到线粒体的外膜、膜间隙、内膜以及基质<sup>[38]</sup>。线粒体外膜蛋白在转运进入线粒体外膜后,通过TOB/SAM复合体完成外膜蛋白的折叠与组装。膜间隙蛋白大部分为小分子蛋白,一部分蛋白可能通过自身的二硫键折叠,推测有一部分蛋白折叠需要一些辅助因子的参与。线粒体内膜蛋白的转运比较复杂,一部分蛋白通过TOM/TIM复合体直接转运至内膜并完成信号肽的切除,另一部分蛋白需要先行转运至线粒体膜基质,完成信号肽的剪切后,通过Oxa1蛋白将蛋白重新转运到线粒体内膜。目前,内膜蛋白的折叠机制尚不明确,而线粒体呼吸链复合体的大部分蛋白为内膜蛋白,因此,有关线粒体复合体的折叠组装机制更是无从知晓<sup>[38-39]</sup>。通过TOM/TIM复合体转运进入线粒体基质的线粒体基质蛋白以及线粒体基因组编码产生的蛋白在线粒体Hsp70(GRP75, a 75 kDa glucose regulated protein)的协助下完成蛋白折叠,部分蛋白需要进一步传递给Hsp60/Hsp10复合体完成折叠,因应激作用形成的聚集蛋白可在GRP75的协

## Damage

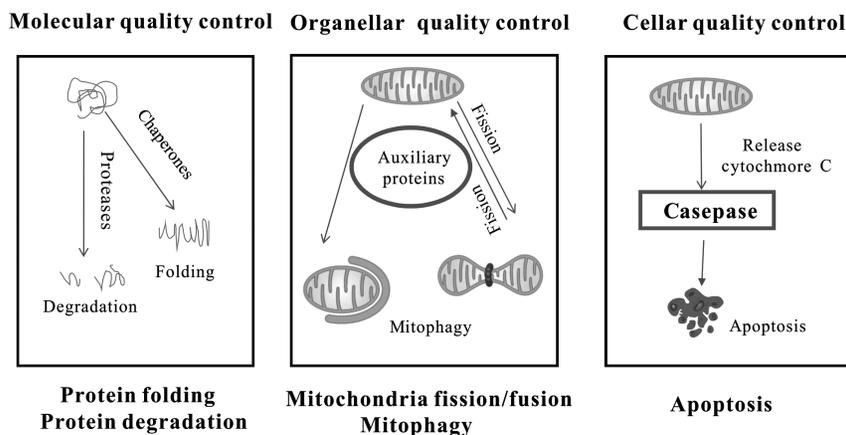


图1 线粒体蛋白质质量控制体系

Fig.1 Mitochondrial protein quality control system

助下完成蛋白的再次折叠<sup>[40]</sup>。线粒体内的另一个分子伴侣TRAP1(TNF receptor-associated protein 1, 也称Hsp75, 为Hsp90家族成员)虽然较少被报道, 但是推测TRAP1参与了线粒体蛋白的折叠与组装。

对于那些含有信号肽的膜蛋白与基质蛋白, 它们在折叠之前需要由线粒体基质内的多肽酶(mitochondrial processing peptidase, MPP)切除线粒体转运信号肽<sup>[21]</sup>。而作为膜蛋白的线粒体呼吸链复合体蛋白由多个亚基组成, 以复合体I为例: 复合体I由45个亚基组成, 其中由线粒体DNA编码的7个亚基均位于线粒体内膜。这类复合体的折叠组装极为复杂, 除需要Hsps分子伴侣外, 还需要一系列的组装因子。一直困扰我们的问题是, 亚基的折叠与复合体的组装是否同时发生, 折叠组装是发生于线粒体内膜还是线粒体基质以及这45个亚基的折叠组装是以何种顺序进行的<sup>[41]</sup>。

**2.2.2 线粒体蛋白的降解** 线粒体一部分外膜蛋白在Vms1(VCP/Cdc48-associated mitochondrial stress-responsive 1)可经由胞质类似的UPS途径进行降解, 不过大多数蛋白由位于线粒体内的蛋白酶降解<sup>[42]</sup>。线粒体基质中有Lon和ClpXP, 内膜上有面向基质的ATP依赖的m-AAA protease(AFG3L/2, paraplegin)与面向膜间隙的ATP依赖的i-AAA protease(YME1L)等。通常, 线粒体蛋白的降解由其所在区域的蛋白酶实施, 降解后的蛋白通过md11通道排出线粒体到细胞质中。然而, 除有些蛋白酶的降解作用需要GRP75参与以及一些蛋白酶如Lon只

表1 线粒体蛋白质质量控制蛋白

Table 1 Mitochondrial protein quality control proteins

质量控制元件 Quality control components	位置 Location	功能 Function
Hsp70/Hsp90	cytoplasm	Prevention of nuclear-encoded mitochondrial proteins misfolded
TOB/SAM	OM	OM proteins folded and assembled
TOM/TIM	IM	IM proteins folded and assembled
GRP75/Hsp60, Hsp10	MM	MM proteins folded and assembled
Lon, ClpXP	MM	Degradation of misfolding proteins in MM
m-AAAprotease, i-AAAprotease	IM	Degradation of proteins in MM and MMS

OM: 线粒体外膜; IM: 线粒体内膜; MM: 线粒体基质; MMS: 线粒体膜间隙。

OM: outer membrane; IM: inner membrane; MM: mitochondrial matrix; MMS: mitochondrial membrane space.

能识别折叠的蛋白进行降解外, 蛋白酶是如何识别问题蛋白进行降解的机制不得而知<sup>[21,43-44]</sup>。当问题蛋白聚集增多, 超过了分子水平的蛋白质质量控制水平, 这些问题蛋白则通过线粒体分裂/融合与自噬途径进行降解。在功能缺陷的线粒体中, PINK1会转移到线粒体外膜, PINK1通过招募E3连接酶PARKIN引起线粒体外膜蛋白的泛素化。泛素化线粒体被自噬受体P62/NBR1蛋白识别后转运到自噬体, 并最终转运至溶酶体进行降解。除自噬外, 功能缺陷的线粒体内膜长链OPA1(optic atrophy 1)在内膜蛋白酶OMA1(overlapping with the m-AAA protease 1)的作用下降解, 其降解则会抑制线粒体融合的发生<sup>[40]</sup>。

虽然线粒体内蛋白的折叠与胞质和内质网内蛋白的折叠过程有一定的相似性,比如都需要Hsp70协助蛋白折叠以及Hsp78或Hsp100参与聚集蛋白重折叠。但是,线粒体蛋白的降解也有自己的方式。一方面,线粒体内具有大量的蛋白水解酶,部分外膜蛋白可能经由UPS系统降解,线粒体内膜蛋白如呼吸链复合体蛋白的降解途径却完全不同于胞质与内质网,这些蛋白水解酶是如何识别问题蛋白进行降解的机制无从得知;另一方面,尚无线粒体呼吸链复合体水平的蛋白质量控制机制解释如上问题。鉴于线粒体呼吸链复合体在细胞活动上的重要地位,呼吸链复合体水平的质量控制研究将有助于解释线粒体在退行性疾病发生发展中的作用。

### 3 蛋白质量控制与疾病发生

蛋白质量控制缺陷与癌症的发生密切相关<sup>[45-46]</sup>。在对抑癌基因Von Hippel-Lindau(VHL)的研究中发现,分子伴侣Hsp70同时参与了VHL的折叠与降解,而分子伴侣Hsp60与Hsp90则分别参与了VHL的折叠与降解。蛋白质量调控元件Hsp60/70/90的异常将通过影响VHL而直接影响癌症的发生<sup>[45]</sup>。此外,VHL本身也是一类蛋白质量调控元件,作为HIF1 $\alpha$ 与HIF2 $\alpha$ 泛素化降解途径中的E3泛素连接酶,VHL突变将使HIF $\alpha$ 蛋白因为无法进行泛素化降解而过表达,从而引起视网膜血管母细胞瘤、肾癌等多种癌症的发生<sup>[47]</sup>。另外,有些功能异常的细胞本身具有快速分裂、增殖的特性及较高的突变率,因而其细胞内具有更多的错误折叠蛋白以及一些代偿性的分子伴侣高表达。代偿性高表达的某些分子伴侣如Hsp90最终协助那些含有大量错误折叠蛋白的细胞逃避了自噬等细胞程序性死亡途径,进而导致癌症的发生和发展<sup>[48-49]</sup>。

由于衰老的生物体具有较低的蛋白动态平衡能力,提示蛋白质量控制能力与衰老密切相关<sup>[50]</sup>。研究认为,细胞在衰老过程中由于持续性的氧化损伤以及外界环境应激作用导致细胞内有害突变的累积和蛋白损伤的加剧,进而引起错误折叠组装与非正常聚集的蛋白数量上升。此时,蛋白质量控制系统内的大量分子伴侣均被非正常水平的缺陷蛋白所占据,导致细胞内蛋白质量控制水平因缺少分子伴侣的作用而降低,细胞的功能与活性也随之下降,最终引发衰老以及衰老相关的各类疾病如AD、PD

与HD等<sup>[9,51]</sup>。相应地,如果在细胞中提高分子伴侣的表达水平,衰老过程极有可能被延缓。在线虫细胞中,抑制胰岛素样生长因子信号通路中的daf-2受体水平,可增加环境应激反应(environmental stress response, ESR)所必需的daf-16和hsf-1的活性<sup>[52]</sup>。高水平的daf-16与hsf-1协同作用,高表达一些分子伴侣来增加细胞内的蛋白质量控制能力,从而减缓衰老并减少与神经退行性疾病相关的毒性淀粉样蛋白在细胞中的累积<sup>[52-54]</sup>。另外,研究还发现,直接下调线粒体基因编码蛋白表达水平所诱发的线粒体未折叠蛋白反应(mitochondrial unfolded protein response, mtUPR),能够通过上调Hsp60/70等分子伴侣的表达来提升线粒体蛋白质量控制水平,进而达到延缓衰老的目的。类似的实验结果在线虫、小鼠以及培养的细胞(人源)中均有发现<sup>[54]</sup>。此外,一些参与蛋白质量控制的自噬相关蛋白,如Sirt1、Sirt3、Beclin1、Atg5、Bcn、HDAC6以及PINK1等的缺失也能引发一系列衰老相关的神经退行性疾病<sup>[55]</sup>。

### 4 展望

迄今为止,蛋白质的质量控制研究已经取得了长足的发展。一系列质量控制机制的发现也使得一些疾病如克-雅二氏病和阿尔兹海默症等的发生机制得以解析。然而,在蛋白质量控制体系中,蛋白水平、细胞器水平以及细胞水平的蛋白清除进行相互转换的内在联系尚不清楚;甚至在最初始的蛋白水平,我们的研究仍只能通过体外合成同位素标记的蛋白亚基来研究蛋白的水解,高级结构的蛋白是否需要先解聚或去组装成线性蛋白来进行下一步的水解反应仍不得而知。此外,在质量控制研究的蛋白更新方面,对照与疾病模型间蛋白更新速度的差异是体现在一些氧化损伤蛋白的选择性更新还是体现在蛋白总体的合成和降解速度的提升,也仍未有合理的解释。对于这些机制的研究和解释,将为疾病的发生和发展提供更加坚实的理论基础。

### 参考文献 (References)

- 1 Kirkwood TB, Holliday R, Rosenberger RF. Stability of the cellular translation process. *Int Rev Cytol* 1984; 92: 93-132.
- 2 Tavernarakis N, Driscoll M. Caloric restriction and lifespan: A role for protein turnover? *Mech Ageing Dev* 2002; 123(2/3): 215-29.
- 3 Schubert U, Anton LC, Gibbs J, Norbury CC, Yewdell JW, Benink JR. Rapid degradation of a large fraction of newly synthe-

- sized proteins by proteasomes. *Nature* 2000; 404(6779): 770-4.
- 4 Liberek K, Lewandowska A, Zietkiewicz S. Chaperones in control of protein disaggregation. *EMBO J* 2008; 27(2): 328-35.
- 5 Lansbury PT, Lashuel HA. A century-old debate on protein aggregation and neurodegeneration enters the clinic. *Nature* 2006; 443(7113): 774-9.
- 6 Ashford TP, Porter KR. Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. *J Cell Biol* 1962; 12: 198-202.
- 7 Dobson CM. Protein folding and misfolding. *Nature* 2003; 426(6968): 884-90.
- 8 Bagola K, Sommer T. Protein quality control: on IPODs and other JUNQ. *Curr Biol* 2008; 18(21): R1019-21.
- 9 Chen B, Retzlaff M, Roos T, Frydman J. Cellular strategies of protein quality control. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3(8): a004374.
- 10 Bukau B, Weissman J, Horwich A. Molecular chaperones and protein quality control. *Cell* 2006; 125(3): 443-51.
- 11 MacGurn JA, Hsu PC, Emr SD. Ubiquitin and membrane protein turnover: from cradle to grave. *Annu Rev Biochem* 2012; 81: 231-59.
- 12 Martinez-Vicente M, Sovak G, Cuervo AM. Protein degradation and aging. *Exp Gerontol* 2005; 40(8/9): 622-33.
- 13 Morselli E, Maiuri MC, Markaki M, Megalou E, Pasparaki A, Palikaras K, *et al.* Caloric restriction and resveratrol promote longevity through the Sirtuin-1-dependent induction of autophagy. *Cell Death Dis* 2010; 1: e10.
- 14 Whitworth AJ, Pallanck LJ. The PINK1/Parkin pathway: A mitochondrial quality control system? *J Bioenerg Biomembr* 2009; 41(6): 499-503.
- 15 Jin SM, Youle RJ. PINK1- and Parkin-mediated mitophagy at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 4): 795-9.
- 16 Vincow ES, Merrihew G, Thomas RE, Shulman NJ, Beyer RP, MacCoss MJ, *et al.* The PINK1-Parkin pathway promotes both mitophagy and selective respiratory chain turnover *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(16): 6400-5.
- 17 Mortiboys H, Thomas KJ, Koopman WJ, Klaffke S, Abou-Sleiman P, Olpin S, *et al.* Mitochondrial function and morphology are impaired in parkin-mutant fibroblasts. *Ann Neurol* 2008; 64(5): 555-65.
- 18 Morais VA, Verstreken P, Roethig A, Smet J, Snellinx A, Vanbrabant M, *et al.* Parkinson's disease mutations in PINK1 result in decreased Complex I activity and deficient synaptic function. *EMBO Mol Med* 2009; 1(2): 99-111.
- 19 Acin-Perez R, Fernandez-Silva P, Peleato ML, Perez-Martos A, Enriquez JA. Respiratory active mitochondrial supercomplexes. *Mol Cell* 2008; 32(4): 529-39.
- 20 Moreno-Lastres D, Fontanesi F, Garcia-Consuegra I, Martin MA, Arenas J, Barrientos A, *et al.* Mitochondrial complex I plays an essential role in human respirasome assembly. *Cell Metab* 2012; 15(3): 324-35.
- 21 Koppen M, Langer T. Protein degradation within mitochondria: Versatile activities of AAA proteases and other peptidases. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2007; 42(3): 221-42.
- 22 Venkatesh S, Lee J, Singh K, Lee I, Suzuki CK. Multitasking in the mitochondrion by the ATP-dependent Lon protease. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823(1): 56-66.
- 23 Dieteren CE, Koopman WJ, Swarts HG, Peters JG, Maczuga P, van Gemst JJ, *et al.* Subunit-specific incorporation efficiency and kinetics in mitochondrial complex I homeostasis. *J Biol Chem* 2012; 287(50): 41851-60.
- 24 Booth CR, Meyer AS, Cong Y, Topf M, Sali A, Ludtke SJ, *et al.* Mechanism of lid closure in the eukaryotic chaperonin TRiC/CCT. *Nat Struct Mol Biol* 2008; 15(7): 746-53.
- 25 Albanese V, Yam AY, Baughman J, Parnot C, Frydman J. Systems analyses reveal two chaperone networks with distinct functions in eukaryotic cells. *Cell* 2006; 124(1): 75-88.
- 26 Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: Molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Therapeutics* 1998; 80(2): 183-201.
- 27 Steel GJ, Fullerton DM, Tyson JR, Stirling CJ. Coordinated activation of Hsp70 chaperones. *Science* 2004; 303(5654): 98-101.
- 28 Rampelt H, Mayer MP, Bukau B. Nucleotide exchange factors for Hsp70 chaperones. *Methods Mol Biol* 2011; 787: 83-91.
- 29 Buchberger A, Bukau B, Sommer T. Protein quality control in the cytosol and the endoplasmic reticulum: Brothers in arms. *Mol Cell* 2010; 40(2): 238-52.
- 30 Taipale M, Jarosz DF, Lindquist S. HSP90 at the hub of protein homeostasis: Emerging mechanistic insights. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(7): 515-28.
- 31 Zimmermann R, Eyrich S, Ahmad M, Helms V. Protein translocation across the ER membrane. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1808(3): 912-24.
- 32 Aniento F, Roche E, Cuervo AM, Knecht E. Uptake and degradation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by rat liver lysosomes. *J Biol Chem* 1993; 268(14): 10463-70.
- 33 Kiffin R, Christian C, Knecht E, Cuervo AM. Activation of chaperone-mediated autophagy during oxidative stress. *Mol Biol Cell* 2004; 15(11): 4829-40.
- 34 Finn PF, Dice JF. Ketone bodies stimulate chaperone-mediated autophagy. *J Biol Chem* 2005; 280(27): 25864-70.
- 35 Gamerding M, Hajieva P, Kaya AM, Wolfrum U, Hartl FU, Behl C. Protein quality control during aging involves recruitment of the macroautophagy pathway by BAG3. *EMBO J* 2009; 28(7): 889-901.
- 36 Taylor JP, Tanaka F, Robitschek J, Sandoval CM, Taye A, Markovic-Plese S, *et al.* Aggresomes protect cells by enhancing the degradation of toxic polyglutamine-containing protein. *Hum Mol Genet* 2003; 12(7): 749-57.
- 37 Wei Y, Weng D, Li F, Zou X, Young DO, Ji J, *et al.* Involvement of JNK regulation in oxidative stress-mediated murine liver injury by microcystin-LR. *Apoptosis* 2008; 13(8): 1031-42.
- 38 Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria. *Annual Rev Biochem* 2007; 76: 723-49.
- 39 Sato T, Mihara K. Topogenesis of mammalian Oxa1, a component of the mitochondrial inner membrane protein export machinery. *J Biol Chem* 2009; 284(22): 14819-27.
- 40 Baker MJ, Tatsuta T, Langer T. Quality control of mitochondrial proteostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; doi: 10.1101/cshperspect.a007559.
- 41 Nouws J, Nijtmans LG, Smeitink JA, Vogel RO. Assembly factors as a new class of disease genes for mitochondrial complex I deficiency: Cause, pathology and treatment options. *Brain* 2012; 135(Pt 1): 12-22.
- 42 Livnat-Levanon N, Glickman MH. Ubiquitin-proteasome system and mitochondria- reciprocity. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1809(2): 80-7.

- 43 Wagner I, Arlt H, van Dyck L, Langer T, Neupert W. Molecular chaperones cooperate with PIM1 protease in the degradation of misfolded proteins in mitochondria. *EMBO J* 1994; 13(21): 5135-45.
- 44 Ondrovicova G, Liu T, Singh K, Tian B, Li H, Gakh O, *et al.* Cleavage site selection within a folded substrate by the ATP-dependent Lon protease. *J Biol Chem* 2005; 280 (26): 25103-10.
- 45 McClellan AJ, Scott MD, Frydman J. Folding and quality control of the VHL tumor suppressor proceed through distinct chaperone pathways. *Cell* 2005; 121(5): 739-48.
- 46 Kaganovich D, Kopito R, Frydman J. Misfolded proteins partition between two distinct quality control compartments. *Nature* 2008; 454 (7208): 1088-95.
- 47 Tanimoto K, Makino Y, Pereira T, Poellinger L. Mechanism of regulation of the hypoxia-inducible factor-1 alpha by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *EMBO J* 2000; 19(16): 4298-309.
- 48 Bagatell R, Whitesell L. Altered Hsp90 function in cancer: A unique therapeutic opportunity. *Mol Cancer Ther* 2004; 3(8): 1021-30.
- 49 Whitesell L, Lindquist SL. HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(10): 761-72.
- 50 Demontis F, Perrimon N. FOXO/4E-BP signaling in *Drosophila* muscles regulates organism-wide proteostasis during aging. *Cell* 2010; 143(5): 813-25.
- 51 McClellan AJ, Tam S, Kaganovich D, Frydman J. Protein quality control: Chaperones culling corrupt conformations. *Nat Cell Biol* 2005; 7(8): 736-41.
- 52 Cohen E, Bieschke J, Perciavalle RM, Kelly JW, Dillin A. Opposing activities protect against age-onset proteotoxicity. *Science* 2006; 313(5793): 1604-10.
- 53 Chiang WC, Ching TT, Lee HC, Mousigian C, Hsu AL. HSF-1 regulators DDL-1/2 link insulin-like signaling to heat-shock responses and modulation of longevity. *Cell* 2012; 148(1/2): 322-34.
- 54 Houtkooper RH, Mouchiroud L, Ryu D, Moullan N, Katsyuba E, Knott G, *et al.* Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature* 2013; 497(7450): 451-7.
- 55 Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell* 2011; 146(5): 682-95.