

■ 生物医学研究技术丛书

蛋白质相互作用 及亚细胞定位原理 与技术



龚燕华 彭小忠 主编



中国协和医科大学出版社

蛋白质相互作用及亚细胞 定位原理与技术

龚燕华 彭小忠 主 编

参 编

晁腾飞	陈 涛	陈 阳	高 静	胡洁森
李 然	李玮琦	石 磊	王 林	王先平
吴旭东	许佳琳	颜兴起	阴 彬	岳继平
张 瑜	赵 理	郑 亘		

中国协和医科大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白质相互作用及亚细胞定位原理与技术 / 龚燕华, 彭小忠主编. —北京:
中国协和医科大学出版社, 2009. 9

(生物医学研究技术丛书)

ISBN 978 - 7 - 81136 - 191 - 9

I. 蛋… II. ①龚…②彭… III. 蛋白质 - 相互作用 - 研究 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 096266 号

蛋白质相互作用及亚细胞定位原理与技术

主 编: 龚燕华 彭小忠

责任编辑: 田 奇

出版发行: 中国协和医科大学出版社

(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65260378)

网 址: www.pumcp.com

经 销: 新华书店总店北京发行所

印 刷: 北京丽源印刷厂

开 本: 700 × 1000 毫米 1/16 开

印 张: 18

字 数: 280 千字

彩 页: 4

版 次: 2010 年 1 月第 1 版 2010 年 3 月第一次印刷

印 数: 1—2000

定 价: 68.00 元

ISBN 978 - 7 - 81136 - 191 - 9/R · 191

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

前 言

在生物学研究的实践过程中，人们逐渐认识到，绝大部分的代谢和调节通路是以蛋白质网络的形式发挥作用，就是说参与组成通路的蛋白质之间存在着广泛而频繁的相互作用。蛋白质与蛋白质相互作用在生物体内具有极其重要的意义，它是蛋白质发挥功能所必需的。各种信号可以在蛋白质相互作用形成的网络之间完成细胞内、外信号的整合和传递，使得细胞在整体水平上对胞内外的信号产生生物学效应。例如，激素和受体、抗原-抗体反应以及酶与抑制剂的作用等等。从某种意义上可以认为，蛋白质的功能就是通过一系列蛋白质-蛋白质相互作用体现出来的。因此，对蛋白质间相互作用的研究一直以来都是生物学研究的一个重要方面。

本书汇总了具有多年生物学实验室工作经验的研究人员在蛋白质相互作用研究方面的经验和心得体会，同时注重吸收借鉴了国际上相关领域最新的进展。

本书从蛋白质相互作用的基本理论开始，到各种经典的蛋白质相互作用的鉴定技术，再到生物信息学的应用，内容涵盖了当前国际上蛋白质相互作用研究领域的各个方面。书中每个章节的基本内容都包括：引言、原理、实验材料、详细步骤、结果分析（实例）、注意要点、疑难分析解答、参考文献。在编写过程中，编者力求做到深入浅出，让书稿对实验具有实际指导意义。作者希望本书的出版能对国内的研究人员在蛋白质功能研究方面做出有益的指导。

由于本书编写人员较多而且时间仓促，所以风格不能完全统一，肯定还有不少错漏之处，恳请大家批评指正！作者希望本书通过不断更新、修改后最终能够成为基础医学、生物学等相关领域研究人员的一本实用的“实验室宝典”！

作 者

2009 年 10 月北京

目 录

第一部分 蛋白质相互作用概论	(1)
第一章 蛋白质与蛋白质相互作用的结构基础	(3)
第二章 蛋白质相互作用的定量分析	(17)
第二部分 实验方法	(33)
第三章 酵母双杂交系统筛选和验证蛋白质相互作用	(35)
第四章 细菌双杂交技术	(56)
第五章 哺乳动物双杂交	(72)
第六章 噬菌体展示技术	(83)
第七章 GST 沉降实验	(100)
第八章 免疫共沉淀 (Co - IP) 实验	(117)
第九章 Far - Western blotting 实验	(132)
第十章 蛋白质化学交联	(146)
第十一章 串联亲和纯化	(163)
第十二章 双向凝胶电泳分析蛋白质复合物	(178)
第十三章 用于质谱分析的凝胶分离相互作用 蛋白质的样品准备	(201)
第十四章 激光共聚焦技术在蛋白质亚细胞定位 与蛋白质相互作用中的应用	(210)
第三部分 生物信息学在蛋白质相互作用研究中的应用	(235)
第十五章 利用计算生物学的方法进行全基因	

	组水平的蛋白质相互作用分析	(237)
第十六章	蛋白质相互作用生物信息学检索与 预测	(249)
第十七章	常用互联网蛋白相互作用数据库资 源的使用	(278)

第一部分

蛋白质相互作用概论

第一章 蛋白质与蛋白质相互作用的结构基础

一、引言

随着基因组学、蛋白质组学时代的到来以及对大分子的研究不断深入, 我们开始更深入地解释和揭示生命的奥秘。研究人员可以通过实验手段得到几种类型蛋白质与蛋白质相互作用的结构模式, 蛋白质晶体结构的研究表明蛋白质相互作用存在着很大的复杂性和多变性。与此相衬, 蛋白质结构解析的手段在某些方面已经不能满足要求, 现在研究的发展需要对成批量的蛋白质, 特别是对蛋白质复合体相互之间的作用模式进行结晶和结构的解析。以前, 蛋白质复合物的三维结构仅限于抗原抗体复合物的结构, 以及蛋白酶和抑制剂复合物的晶体结构, 对于在生物体内更复杂的信号分子传导途径中的蛋白质的相互作用以及它们的晶体结构则研究相对较少。随着近年来研究的深入, 对这方面开始有一些初步的研究。目前, 结构研究比较普遍的有两类蛋白质复合物, 一类是结构域-结构域复合物 (domain-domain), 即两个预先折叠好的结构域相互作用形成一个复合物; 另一类是结构域-蛋白质复合物 (domain-protein), 这类复合物中的一个组分在游离的状态下是线性分子。

人们关于蛋白质与蛋白质相互作用结构基础的了解, 一方面来自通过实验手段对这些复合物晶体结构进行解析, 明确其相互作用的结构基础; 另一方面则来自于理论上的计算和推测, 通过对多数蛋白质的疏水性、可接近的蛋白质表面大小、形状以及氨基酸残基特性等结构特点, 对蛋白质复合物组分的内部、表面和相互作用的界面这些结构特征进行分析总结, 推论相互作用蛋白质表面的一些规律性的特征, 并试图通过蛋白质的疏水性去推测它们相互作用的位点。

本章将从总体水平上对蛋白质-蛋白质相互作用的结构基础进行概括性的阐述, 从结构上对其相互作用的机制进行探讨。

二、蛋白质-蛋白质相互作用的界面

分析蛋白质相互作用的理论依据是单体蛋白质聚集成多体蛋白质时溶

剂可及表面积 (solvent accessible surface area Δ ASA), 这个值是基于 Lee 和 Richards 的算法而设定的 (Lee and Richards 1971)。各组溶剂可及表面积的总量 (ASA) 小于复合物的 ASA, 相互作用时表面残基的 Δ ASA 减少大约 1A。 Δ ASA 方法中蛋白质从极性到疏水的环境中疏水自由能与可及的 ASA 之间有相关性 (Chothia 1974), 所有组分的可及表面变得不能接近溶剂。蛋白质的 ASA 与蛋白质的分子量之间并不存在正相关, 相关系数仅有 0.38。蛋白质之间的非共价键的作用是许多生物过程的中心环节, 它不同于寡聚蛋白质的亚基之间形成的大分子复合物。对 75 种蛋白质复合物的晶体结构进行分析, 其中有 24 个是属于蛋白酶和抑制剂复合物, 19 个是抗原抗体复合物, 余下的 32 个复合体包括 9 个酶-抑制剂复合物和 11 个参与到信号通路上的复合物。在这 75 个复合物中的 52 个复合物有标准的界面面积 (指复合物中的组分包埋的识别位点总面积) (1600 ± 400) $\text{\AA}^2$, 而构象仅有较小变动。20 个复合体有比较大的界面面积 $2000 \sim 4600 \text{\AA}^2$, 且构象发生了较大变动。仅有 3 个蛋白质复合物界面面积比标准小, 分别是酵母细胞色素过氧化物酶 (peroxydase) 细胞色素 c 复合物 (2pcc)、Che A - Che Y 复合物 (1a0b) 和 cyclophilin - HIV 衣壳蛋白 (1ak4) 复合物, 提示这些复合物中蛋白质相互作用可能是一种短暂的作用 (Lo Conte et al., 1999)。

蛋白质的相互作用会使得蛋白质表面的分子在构象上发生一些改变, 从而使蛋白质形成相互作用的界面, 涉及的构象变化包括蛋白表面的铰链区以及多肽的某些片段的移动, 有时这些移动可达到 1.5A。此外, 还有蛋白质表面侧链间的旋转 (这些是针对那些 ASA 值在标准范围内的蛋白复合物) (Davies and Cohen 1996; Janin and Chothia 1990)。在这种情况下有三种类型的结构改变: 一是多肽链区从无序到有序的转变, 在单个蛋白质中这些多肽链是自由形式的, 而形成复合物后变得有序; 二是铰链区主链的大范围移动形成不同的构象; 三是多亚基的蛋白质在形成复合物过程中的亚基之间的位移。第一种结构改变类型以凝血酶和水蛭素的复合物 (thrombin - hirudin complex 4htc) 为例, 水蛭素抑制剂 N 端球状结构域结合到凝血酶的活性位点外侧, 它的 C 端尾巴在结合到第二个活性位点时其结构就变得更加规则 (Rydel et al. 1991)。第二种结构改变类型以大肠杆菌 EFtu - EFts 复合物 (1efu) 的 EFtu 的组分为例, 它的两个结构域发生 18° 旋转使得蛋白质结构平均移动达 10A (Kawashima et al. 1996)。第三种类型的结构改变是比较常见的类型。在很多情况下, 这三种结构改变类型是结合在一起发生的, 例如

CDK2 激酶和周期蛋白 A 形成复合物时不仅经历了结构域的移动和铰链区的移动,同时也发生了一个 α 螺旋的旋转并且它的一个轴变成了界面的一部分 (Jeffrey et al. 1995)。

下面分别对蛋白质相互作用界面的几个性质进行介绍:

1. 蛋白质相互作用界面的成环性

界面的成环性 (circularity) 可以作为估计蛋白相互作用界面的形状的一个粗略指标,它是以界面中最小平面穿过原子的主轴长度的比值来定义的。比值为 1 意味着界面约为环形。在同源二聚体中界面区的变化相对较小。而抗原-抗体或酶-底物抑制剂复合物的界面相对为环形,平均值为 0.71 ~ 0.75。

2. 相互作用界面的兼容性

在相互作用的蛋白质分子间存在电子密度和形状的兼容性问题。通常用 gap index (A) 来鉴定是否蛋白之间存在相互作用。Gap index 以分子之间的 gap (A) 和界面 ASA (A^2) 的比值来决定。通过对蛋白复合体的 gap index 统计,同源二聚体、酶-底物抑制剂以及稳固的异源复合物的界面兼容性最好,而抗原-抗体复合物和非必须的异源二聚体的界面则最不具备兼容性。

3. 相互作用界面的残基倾向性

相互作用界面中不同氨基酸的相对重要性提示界面的疏水性。这是通过比较相互作用界面的氨基酸残基和在蛋白复合物表面的氨基酸残基来确定的。界面的氨基酸残基倾向性是通过 ASA 上每个氨基酸 (AA_j) 对界面的贡献和这些氨基酸对整个表面的贡献的比较而计算得出的。倾向性大于 1 表示该残基在相互作用面存在的可能性大于在复合物表面。除了 Met, 疏水性残基在同源二聚体界面中存在的倾向性要大于异源复合物。通常认为蛋白质的相互作用是通过氨基酸的疏水作用完成的,然而亚基之间极性的相互作用也很普遍。在所有的复合体中,界面都存在一个内部的疏水区和外部的极性区。同源二聚体和异源复合物相比,异源复合物的相互作用界面的较同源二聚体的少。同源二聚体很少以单体的形式行使生物学功能,因此它的疏水区就会永久的包埋在蛋白复合物当中,但在异源复合物中,这些蛋白可以单独地行使其功能,所以它们的疏水区则相对较少,因为如果疏水区也多,则在能量上是不允许的。为了确定复合物中主要的极性作用,需要统计 ASA 中每 100A 的氢键的平均数 (Nhb)。界面的极性相互作用可以用 HBPLUS 程序来决定,通

常界面平均有 10 对氢键 (McDonald and Thornton 1994), 但是 Nbh 在不同的复合物中的数目有很大差别。在细胞色素 c 及细胞色素过氧化物酶 (2pcc) 中则只有 1 对氢键, 而在 Gt $\beta\gamma$ 和 phosducin (2trc) 则高达 34 对。Nbh 随着界面面积的增加而增加。氢键数目与蛋白晶体结构的分辨率有很大关系, 当分辨率在 2.4 Å 以下时相关系数达到 0.84, 界面面积每 170 Å² 中含有一个氢键。而分辨率较差的则相关性不明显, 这说明原子纵坐标方向已经存在的氢键被掩盖了。

4. 相互作用界面中的肽段和二级结构

相互作用界面中多肽的不连续片段在与小分子的相互作用以及肽键的形成中都起到重要作用。依据不同的作用原理在相互作用的界面存在不同数目的肽段, 通常在酶底物复合物的相互作用面存在 2~5 个肽段。酶抑制剂能模拟延伸的多肽链, 从而形成酶发挥作用所必需的构象。另外, 在这些相互作用界面中含有大约等量的螺旋折叠和转角的二级结构。在复合物界面形成中, 这些二级结构都会发生一定的调整。至于有多大程度的调整, 目前还没有详细的统计资料, 因为很少有这些复合物在形成前后通过晶体或者 NMR 来确定其结构差异的研究报道。

为了描述相互作用中识别位点的原子结构, 有必要区分三种类型的原子: 第一类是界面原子 (interface atoms) 如图 1-1 中 A, B, C, 这些原子都失去了接近溶剂表面的特性, 在不同复合物中的界面原子在范德华力半径和水分子的直径 (2.8 Å) 的范围内, 不过并不是所有的界面原子都能形成范德华力而存在于界面中。第二类原子称为接触原子 (contact atoms) 如图 1-1 中 B, C, 它们与原子之间的距离介于在范德华力半径包括 0.5 Å 以内的距离。虽然它们具有范德华力可以存在于界面, 但仍保持有一些能接近溶剂的特性。第三类原子是包埋在界面中的原子 (buried interface atoms) 如图 1-1 中 B, 这些原子可以接近自由的组分, 但是不能接近复合物的表面。后两类都属于界面原子的范畴。在界面中的原子数目和界面大小呈现出一个线性关系, 平均来讲, 每 9.2 Å² 的界面中就含有一个界面原子。接触原子以并不直接连接的方式比界面原子包埋更多的表面。虽然接触原子仅是界面原子的 1/2 左右, 但它们占了界面面积的 3/4, 余下的 1/4 属于周边的界面原子, 这些原子最接近另一组分的原子接近小于范德华力半径的范围包括水分子的直径。

5. 相互作用界面的化学特征

蛋白质表面的化学基团可以分成三类: 非极性基团 (包括脂肪族和芳

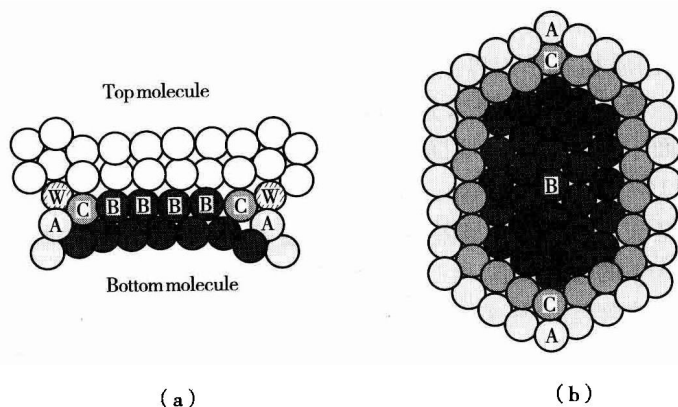


图 1-1 界面原子分类图

(a) 侧面观：在顶部分子存在的条件下所有的底部分子失去接近溶剂的特性而均成为界面原子。类型 B 被完全包埋，类型 A 和 C 保留部分的可接近溶剂的性质。类型 B 和 C 是接触原子；它们靠范德华力连接顶部分子，而类型 A 则不行。W 代表水分子。(b) 顶面观：类型 B 的 29 个原子被类型 C 的 22 个原子和类型 A 的另外 28 个原子所包围。所有 79 个原子均是界面原子，他们各自的数目约等于标准界面大小中的包埋原子 (B) 和接触原子 (B 和 C)。本图引自 (Lo Conte et al. 1999)。

香族的碳)、中性基团 (包括除了那些净电荷数为零非碳原子的所有基团) 和极性基团。在小的球状蛋白质溶剂可及表面，化学基团的平均组成是 57% 的非极性基团、24% 的中性极性基团和 19% 的极性基团 (Miller et al. 1987)。上述 75 个蛋白质-蛋白质相互作用的界面表面平均含 53% 的非极性基团，因此，非极性基团对两部分的贡献相似。总的来讲，形成界面的蛋白质较表面所含有疏水基团的数量没有明显的差别，中性基团的贡献似乎要高一些而极性基团似乎较少。极性表面包括中性和极性基团，中性基团对界面的贡献为 29%，极性侧链为 15%，正电荷表面微弱的超过负电荷表面，而有 18% 的可及表面的电荷正负电荷起到相似的作用。在某些蛋白质复合物中发现，蛋白质表面的相互作用界面在某些方面更依赖于负电荷基团，而不是正电荷基团。但是不同的蛋白质复合物这些极性基团的分布并不是很均一，它们之间有一些变化。多肽主链原子对大部分的蛋白质和蛋白质之间的界面的影响是 19%，侧链的贡献在 80% 左右，非极性基团占 0.4%，这就提示主链对界面的影响也不能忽视。特别是那些羧基氧基团对界面的贡献达 11%，远远大于其他类型的原子。此外，非蛋白基团也不容忽视，金属离子的作用对一些蛋白质复合物中的界面有一定的意义，只不

过它们包埋的表面一般较小。

6. 蛋白质相互作用界面中氨基酸的特性

在有些界面中氨基酸以芳香族氨基酸居多 (21% 比 8%), 而在另外一些界面中氨基酸, 以脂肪族的氨基酸, 如 Leu, Ile, Val, Met 居多 (17% 比 11%), 很少有 Asp, Glu, Lys, 但 Arg 却是在界面中贡献最大的一个氨基酸 (10%)。虽然在不同的复合物界面中氨基酸的组成不同, 但是 Arg 的较大贡献和 Lys 的被排除是比较普遍的。蛋白酶抑制剂界面中 Cys 的含量尤其多 (大多数形成二硫键), 抗原抗体复合物中 Cys 约占 1/6。此外; 极性氨基酸比如 Trp 在蛋白表面的保守性可以提示该位置较大可能是结合位点。相对而言, 提示程度稍弱的 (如 Phe 和 Met) 也有可能是结合位点, 它们在暴露的蛋白质表面没有明显的保守性。这些发现可能会使蛋白结合位点的预测和药物设计更加深入。

溶剂原子的定位相对蛋白质原子的定位来说不太准确, 因此对于分析界面中的水分子, 通常限定在晶体结构在 2.4 Å 以下的蛋白复合物。如果在界面中的水分子在范德华力半径范围内包括蛋白质的原子 1 Å 内, 最有可能在水分子的两侧形成氢键。界面水分子的数目 (N_{wat}) 平均来说 3 ~ 50 个。在每 100 Å 的界面中约有 1 个水分子。说明水介导的相互作用要比氢键的相互作用要普遍的多, 但是水分子的数目和界面的大小的相关性却比较小, 只有 0.5。不同晶体中水分子的定位在一定程度上说明蛋白质的可变性。不过, 有证据表明水分子被排出界面外, 溶剂分子分布在连接区的周边, 而其余的分子在界面的中心。

7. 蛋白质相互作用界面中的原子包装

蛋白质中的原子或者包埋在界面中的原子所占的体积可以通过围绕原子构建的 Voronoi 多面体来计算体积。在界面中的包装密度可以通过计算每个包埋在界面中的原子的 Voronoi 多面体体积来计算。把这个值归为一个总体积 V 。用残基的原子基团在蛋白质界面中所占有的平均体积来确定参数 V_0 。大于界面包装密度的均值 V/V_0 的值是低于蛋白内部的包装, 小于均值是比较高的包装密度。

在上述所有的 75 个蛋白质复合物中, 大部分复合物的 V/V_0 值是 1.01 ± 0.06 , 这表明蛋白质-蛋白质界面的和蛋白质内部的包装密度相似。然而, 这个体积的计算是基于 1/3 的界面原子, 而剩余的 2/3 的原子则没有提到。在比较小的界面中, 只有少数的原子被包埋, 例如, 细胞色素 c 氧化酶和细胞色素 c 的复合物 (2pcc) 仅有 14 个原子被包埋。

而 cyclophilin - HIV 衣壳复合物 (1ak4) 有最小的体积比 (0.95), 包埋有 38 个原子。这可能对于蛋白质的功能具有重要作用。另外两个复合物含有较高的体积比, 接近 1.07, 它们分别是 RNase A - 抑制剂 (1dfj) 和 Fab MOPC21 - 蛋白 G (1igc) 复合物。RNase 抑制剂形成马蹄形界面把酶紧紧的包裹起来 (Kobe and Deisenhofer 1995)。蛋白 G 结合到恒定结构域中形成标准大小的界面。通常来讲, 如果晶体结构的分辨率不高, 常常会对原子的位置产生影响, 从而产生不精确的体积比。晶体结构分辨率较低则体积比就较高, 这种偏差一般小于 2%。

8. 蛋白质相互作用界面的多样性

分析结果表明, 界面存在一定的多样性。以蛋白酶抑制剂复合物中的糜蛋白酶、卵内粘蛋白抑制剂 (1cho) (Fujinaga et al. 1987) 和抗原抗体复合物的 Fv D1.3、anti - idiotype Fv E5.2 免疫球蛋白片段 (1dvf) (Braden et al. 1996) 为例, 它们的界面接近 1600Å, 在表面有单一的 patch, 包埋原子被紧密包装, 体积比接近 1, 包括 10 个氢键和大约相同数目 (15 ~ 17 个) 的水分子。但是它们的界面在亲疏水性上却不同: 前者含有较高的非极性 (64%), 后者只有 42%。这可能是由于水分子形成的环包围了更多的疏水性界面。前者主要接触伸展的片段和多肽基团, 因此比侧链贡献了更多的氢键。

9. 小结

从总体上看, 关于蛋白质复合物结构的知识在以前的基础上又有了进一步的扩展, 复合物研究的对象已从前面的抗原 - 抗体复合物、酶 - 底物/抑制剂复合物扩展到其他的复合物类型, 有些是和信号通路相关的蛋白质复合物。复合物的界面大小也较以前的研究对象来讲变化较大, 有些界面大小比较小, 说明蛋白的相互作用是一种短暂的作用, 不需要很牢固地结合就能发挥作用。通过对蛋白质界面的大小、疏水性和构象改变等方面的综合描述, 一些界面指标变动将使得对蛋白质相互作用三维构象变化的阐述更趋于规律和合理。

三、蛋白质 - 蛋白质相互作用的结构实例

1. 蛋白激酶及磷酸化酶的晶体结构

细胞内约有 700 个蛋白质参与细胞中的信号传导过程, 其中蛋白质的磷酸化和蛋白激酶起着至关重要的作用。很多例子表明蛋白激酶的活化是由蛋白质相互作用后的磷酸化所引起的, 这种存在于多结构域蛋白

质中或多亚基蛋白质复合物中（通常还包括骨架蛋白）的相互作用遍布整个细胞内。PKA 的晶体结构在 C 端的疏水区（Phe - Ser - Glu - Phe）折叠成一个含有疏水性结构的口袋，这个疏水结构（hydrophobic motif, HM）（通式为 Phe - Xaa - Xaa - Phe - Ser/Thr - Tyr）在大多数的 AGC 激酶中结构保守，但 PDK1 是一个例外。PDK1 的 N 端为激酶区的突出端，在 ROCK I 和 II 中，HM 结合在激酶的 N 端突出区，这样可以形成另一个 ROCK 二聚体的提供表面。在 HM 形成分子间和分子内的残基都包含螺旋的二聚体的结构域（图 1-2）。

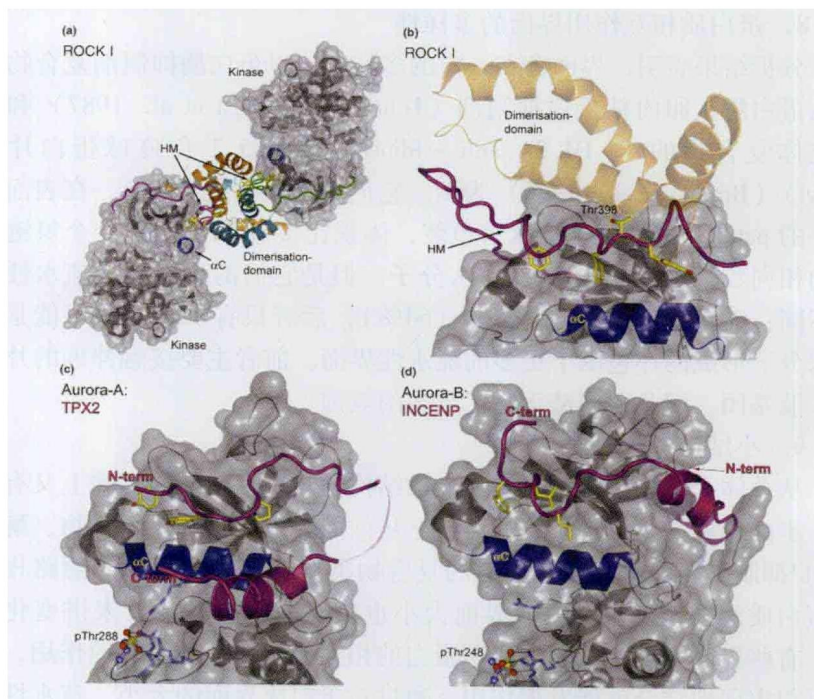


图 1-2 ROCK 和 Aurora 激酶结构示意图

图示 ROCK 和 Aurora 激酶。激酶结构域 N 端突出以灰色表示，在卡通图示上有半透明表面 α C - 螺旋中心以蓝色表示。HM 以紫色表示，和 HM 口袋作用的疏水残基以黄色表示。磷酸化残基以球形代表与活化的片段的磷酸化位点相互作用残基突出表示，氢键以黑色的点线表示。(a) ROCK I 二聚体结构。N 端保守的二聚体结构域（以橙色/天蓝色表示）与激酶 C 端 HM 序列（以紫色/绿色表示）存在分子内或分子间的紧密地相互作用（PDB code 2etr）。(b) HM 与 ROCK I 激酶结构域的作用。图中仅以单体形式显示半透明的二聚体的结构。以上特点也适合 ROCKII (Yamaguchi et al. 2006) (c) Aurora - A 和 TPX2 的相互作用 (Bayliss et al. 2003) PDB code 1ol5。(d) Aurora - B 和 INCENP 的相互作用 (Sessa et al. 2005), PDB code 2bfx。相互作用的多肽的方向是相反的，但与 HM 口袋的相互作用与 AGC 激酶是一致的。

Aurora 激酶在调节细胞分裂中起到重要作用。从进化上讲,它属于 AGC 激酶家族的分支,与 AGC 激酶有密切的联系。Aurora 激酶缺少 C 端 HM 序列,但它的非活性结构却存在一个空位的 HM 口袋。活化的激酶被活化的磷酸化片段所锚定并与激活蛋白比如 TPX2 和 INCENP 结合。它们的复合物的晶体结构表明多肽在 Aurora 中占有两个明显的位点,残基 7~21 和 HM 口袋相互作用,而残基 30~34 则包裹在 α C-螺旋外,这点与 PKA 的结构相似,这个区域被认为能够稳定磷酸化的活性片段。INCNEB 与 AuroraB 的晶体结构表明第 790~849 残基多肽包裹着围绕在激酶结构域 N 端的 IN-box,而残基 832~839 则与 HM 口袋相互作用并与激酶结构域相反面的铰链区相结合 (Gold et al., 2006)。

2. Wnt 信号途径中的相互作用蛋白质的晶体结构

Wnt 信号途径在胚胎发育、干细胞生长和肿瘤发生过程中起到重要的作用,Wnt 信号途径的启动会使得核内的 β -catenin、Tcf 和 BCL9 结合在一起从而转录激活 Wnt 靶基因。在下图 (图 1-3) 中 β -catenin 和 BCL9 形成一个 α 螺旋与反向平行的 β -catenin 结合,同时 β -catenin 的 Y142 发生磷酸化。文献认为 β -catenin 的 Y142 的磷酸化是 β -catenin 功能发生改变的重要原因,在 Y142 未被磷酸化时, β -catenin 与 α -catenin 相结合,它们的结合可以调节细胞粘连和细胞骨架的结合,促进细胞粘连;在 Y142 发生磷酸化时,BCL9 与 α -catenin 紧密结合,使得其功能发生改变,由细胞膜转移到核内激活 Wnt 靶基因。BCL9-HD2 结构域形成一个连续的 α 螺旋包裹在 β -catenin 上位于 armadillo 重复区的螺旋 2 和螺旋 3 形成的沟中。相互作用的界面有约 1450Å,在 armadillo 重复区的螺旋 1 和螺旋 2 几乎是连续的,只有在 I153 有一个节点。BCL9 的 N 端螺旋与 β -catenin 中的 3 个保守残基 (D162, D163, D164) 形成一个酸性突起 (acidic knob),BCL9 的残基 H358 与 D162 形成一个氢键,BCL9 的 R359 的侧链与 D164 形成盐桥,而 BCL9 的 S362 与 H358 形成氢键以稳定 H358 与 D162 的相互作用 (图 1-3)。

3. Dok1 参与的信号传导复合物的晶体结构

正如上面提到的,一个没有结构形式的多肽和已经折叠好的蛋白质之间的相互作用是常见的相互作用模式,即结构域-多肽相互作用。早期认为这种相互作用主要是通过组织相容性复合物 (MHC)-抗原复合物和一些病毒衣壳的包装形成的。最近几年,研究人员已经阐明了一