

文章编号: 1000-1336(2007)04-0323-04

## 四氢嘧啶类物质的生物合成与转运途径及其生物学功能

姜蔚宇 陈荣忠<sup>1</sup>( 厦门大学生命科学院 厦门 361005; <sup>1</sup>国家海洋局第三海洋研究所海洋生物遗传资源重点实验室 厦门 361005 )

**摘要:** 四氢嘧啶类物质是目前发现的在细菌界分布最广泛的相容性溶质,它不仅是一种重要的渗透压调节剂而且也对遭受热变性、干燥、冷冻等不良环境胁迫的嗜盐菌和非嗜盐菌具有很好的保护作用。该文简述四氢嘧啶类物质在生物体内的积累途径及生物学功能方面的研究进展,并对其在农业和生物医学的应用前景进行展望。

**关键词:** 相容性溶质; 四氢嘧啶; 羟基四氢嘧啶; 转运系统

**中图分类号:** Q526.1

大部分微生物在长期的进化过程中,都形成了在胞质内积累相容性溶质来对抗外界不断变化的渗透压的机制。四氢嘧啶类物质作为在细菌界分布最广泛的一类相容性溶质,无论是对嗜盐菌或是非嗜盐菌都具有极好的渗透压保护功能。目前已在生物体内发现的四氢嘧啶类物质包括四氢嘧啶(1,4,5,6-四氢-2-甲基-4-嘧啶羧酸 ectoine)和羟基四氢嘧啶(1,4,5,6-四氢-2-甲基-5-羟基-4-嘧啶羧酸,  $\beta$ -hydroxyectoine) (图1)。Galinski等于1985年第一次在极端嗜盐外硫红螺菌属(Ectothiorhodospira)的光合紫细菌Halochloris中发现四氢嘧啶具有渗透调节功能。起初认为它是相当特殊的相容性溶质,但是核磁共振波谱法和高效液相色谱法出现后,越来越多的实验证明四氢嘧啶类物质不仅是大多数中度嗜盐菌和耐盐菌主要的相容性溶质<sup>[1,2]</sup>,而且在产生放线菌素的微小链霉菌(*Streptomyces parvulus*)这样的非嗜盐菌中也可以检测到它们的存在。目前还没有在蓝细菌、古菌和真核生物中发现能够自

身合成四氢嘧啶类物质的生物。四氢嘧啶类物质自从被发现以来,就因其在相容性溶质中的重要性而成为这个领域的研究热点。

## 1. 四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶在生物体内的积累

四氢嘧啶类物质可以通过体内合成与体外转运两种途径在胞内积累,以达到调节胞内外渗透平衡的目的。

**1.1 四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶的体内合成** 在喜盐海球菌、伸长盐单胞菌、巴氏链霉菌(*Streptomyces pasteurii*)、达坂喜盐芽孢杆菌D-8<sup>T</sup>(*Halobacillus dabanensis*)等菌中,存在一条以天冬氨酸为前体的合成途径,该途径已经在分子水平上得到了比较详细的研究<sup>[3,4]</sup>。它由L-天冬氨酸- $\beta$ -半醛(ASA)开始合成,经过2,4-二氨基丁酸转氨酶(EctB)、2,4-二氨基丁酸乙酰转移酶(EctA)和四氢嘧啶合成酶(EctC)的催化,产物分别为L-2,4-二氨基丁酸(DABA)、N-乙酰-L-2,4-二氨基丁酸(ADABA)和四氢嘧啶3种产物。通过对这几种酶的功能和活性分析发现:2,4-二氨基丁酸转氨酶利用L-谷氨酸提供的氨基将ASA转化为DABA,最适温度和pH值分别为25 和8.6,并需要吡哆醛( $V_6$ )和 $K^+$ 保持其活性和稳定性。2,4-二氨基丁酸乙酰转移酶催化DABA和乙酰辅酶A生成ADABA,此酶分子量为45 kD,最佳活性是在20 , pH 8.2, NaCl浓度0.4 mol/L的条件下。四氢嘧啶合成酶催化N-乙酰-L-2,4-二氨基丁酸环化形成四氢嘧啶,分子量19 kD,酶活性的最适条件为15 , pH 8.5~9.0, NaCl浓度0.5 mol/L。此外,在亚麻类短杆菌(*Brevibacterium linens*)和微小链霉菌中还有一条以谷氨酸为前体的合成途径,但是具体步骤目前还不清楚。

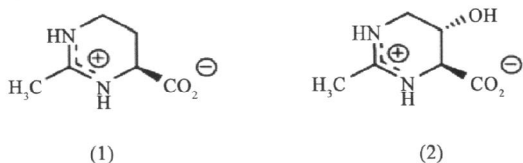


图1 四氢嘧啶类相容性溶质的化学结构式  
四氢嘧啶; 羟基四氢嘧啶。

收稿日期:2007-05-10

大洋专项(DY105 - 04 - 02 - 06)

作者简介:姜蔚宇(1981-),女,硕士生,E-mail:jiangweiyu0508@yahoo.com.cn;陈荣忠(1956-),男,副研究员,学士 E-mail:hysscrz@sina.com

羟基四氢嘧啶的合成途径, 已经于近年在金黄色链霉菌(*Streptomyces chrysomallus*)<sup>[5]</sup>和*Chromobacter sallexigens*<sup>[6]</sup>中被发现, 即四氢嘧啶在羟化酶(EctD)作用下, 芳香环上的一个氢原子被羟基取代。EctD含有314个氨基酸残基, 分子量36.5 kD, 属于依赖于Fe(Ⅱ)-酮戊二酸的氧化酶家族。

**1.2 四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶的体外转运** 当外界含有丰富的四氢嘧啶类物质时, 根据微生物能量消耗的最低原则, 微生物会优先选择从环境中直接吸收利用它们。目前发现的四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶转运系统主要有以下几类:

(1) 大肠杆菌(*E. coli*)转运系统<sup>[7]</sup>: 大肠杆菌细胞膜上与四氢嘧啶转运有关的通道蛋白是ProP和ProU。ProP是一个低亲和属于次级转运系统的转运蛋白, 它所含有中心亲水的环状延伸结构和末端的羧基延长部分, 使其与次级转运家族的其他蛋白质有着很大的不同, 其中的羧基结构参与了 $\alpha$ 螺旋的卷曲螺旋结构的形成; 这对ProP的转运活性非常重要。ProU则是高亲和属于ABC转运家族依赖于结合蛋白的转运系统。这两种蛋白质均由渗透压冲击诱导, 负责四氢嘧啶、甜菜碱和脯氨酸的穿膜转运; 但ProP和ProU其功能并不一样。Cosquer等<sup>[8]</sup>的研究表明, 当渗透调节物质浓度低于200 nmol/L, ProU缺陷株不能在高渗环境中生存, 而ProP缺陷株则能在高渗环境中生存, 说明ProU对于自然状态下(低浓度的渗透保护剂)生存的大肠杆菌, 吸收利用渗透保护物质是至关重要的。

当外界渗透压突然提高时, 环境中存在的四氢嘧啶首先通过外膜上膜孔蛋白OmpC扩散进入周质空间, 再由细胞膜上的ProU、ProP运输系统进入*E. coli*胞内积累。

(2) 枯草芽孢杆菌转运系统<sup>[7]</sup>: 在枯草芽孢杆菌中, 5个与相容性溶质有关的通道蛋白中只有OpuC可以协助四氢嘧啶的跨膜转运(图2)。OpuC属于ABC转运家族, 是一个多组分的ATP依赖性转运系统, 由ATPase、整合细胞质膜蛋白、细胞外的底物结合蛋白和一个整合在细胞膜内的蛋白质构成。除了四氢嘧啶, OpuC还能转运其他多种相容性溶质。

(3) 谷氨酸棒状杆菌转运系统<sup>[7]</sup>: 谷氨酸棒状杆菌主要有BetP、ProP、EctP三种相容性溶质转运系统。其中BetP是一个高亲和性的通道蛋白, 专一性的转运甜菜碱; ProP是中等亲和性的系统, 参与脯氨酸和四氢嘧啶转运, 对脯氨酸( $K_m=48 \mu\text{mol/L}$ )的亲合力大于四氢嘧啶( $K_m=132 \mu\text{mol/L}$ ); EctP可以同时协助以上三种相容性溶质的跨膜转运, 但对它们的亲和性都很低( $K_{\text{ectoine}}=63 \mu\text{mol/L} > K_{\text{betaine}}=333 \mu\text{mol/L} > K_{\text{proline}}=1200 \mu\text{mol/L}$ )。EctP(图3)属于SSS次级转运家族的BCCT亚族, 是谷氨酸棒状杆菌的组成型蛋白质, 含有615个氨基酸残基, 12个跨膜肽段, N末端25个氨基酸的较短疏水序列不带电荷, C末端108个氨基酸的亲水序列带强负电荷, 两末端均处于细胞质侧。EctP是一个双功能蛋白质, C末端12个氨基酸左右的肽段可以感知环境中的渗透压变化, N末端则负责控制四氢嘧啶转运活动的开始而达到调节渗透压平衡的目的。与BetP可以立即对外界渗透压的变化作出反应不同, EctP大约需要10秒的时间才能够开始进行四氢嘧啶类物质的跨膜转运。喜盐海球菌中也发现了存在同样属于BCCT家族的四氢嘧啶转运蛋白EctM。

(4) 伸长盐单胞菌转运系统: 在伸长盐单胞菌中发现了不同于以往的TeaABC系统<sup>[9]</sup>, 它也是伸长盐单胞菌中唯一的受渗透压调节的运送四氢嘧啶/羟基

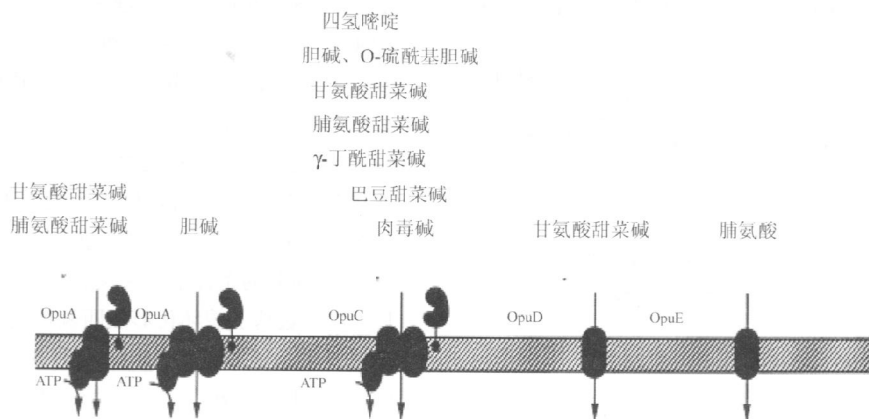
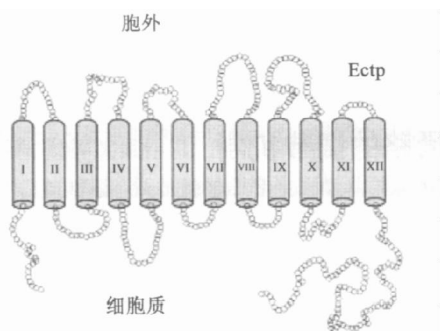


图2 枯草芽孢杆菌的相容性溶质通道蛋白<sup>[7]</sup>

图3 谷氨酸棒状杆菌中EctP的拓扑结构<sup>[7]</sup>

四氢嘧啶的通道。这个转运系统由3个独立的ATP胞质转运蛋白构成,包括位于外周胞质的底物结合蛋白TeaA和一大一小两个跨膜蛋白质TeaC和TeaB。TeaABC是一个对四氢嘧啶亲和力较高( $K_m=21.7\text{ mmol/L}$ )的转运系统,主要功能是回收通过细胞膜渗透到环境中的四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶。

Tetsch等<sup>[10]</sup>对TeaA进行的组成和结构的分析显示:TeaA由341氨基酸残基构成,分子量35,665 kD,整体来说是一个亲水蛋白质,但是N末端的1~25和90~110的肽段处分别有两个疏水区域,N末端的25个残基含有60%的疏水氨基酸,是感知四氢嘧啶分泌到周质空间中的信号序列。TeaA中的酸性氨基酸含量大大高于碱性氨基酸(分别是19.3%和7.9%)因此其在盐溶液很不稳定。由于不含有任何半胱氨酸,TeaA不会通过二硫键形成多聚体,是一个单体蛋白质。

(5) 苜蓿中华根瘤菌转运系统<sup>[11]</sup>:苜蓿中华根瘤菌中有一个专一性的协助四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶跨膜运输的特殊转运系统EhuABCD。此系统属于ABC家族,包括ATP酶EhuA;外周胞质结合蛋白EhuB和渗透酶EhuC、EhuD。编码这些蛋白质的基因转录方向一致,在染色体上顺次排列,与下游负责编码分解四氢嘧啶有关蛋白质的基因簇eutABCDE构成一个操纵子。EhuABCD转运子虽然属于相容性溶质的转运系统,但在结构上却与氨基酸转运系统更为相像,除了四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶,高渗透压和其他相容性溶质都不能诱导它的表达。其中的EhuB是四氢嘧啶的高亲和性配体结合蛋白( $K_{\text{ectoine}}=0.5\pm 0.2\text{ mmol/L}$ ),也可以与羟基四氢嘧啶结合。除了这个主要的四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶转运系统,Jebbar等<sup>[11]</sup>根据ehuA突变实验的结果推断,在此菌株中还存在至少一条其他的低亲和性的四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶转运系统。

## 2. 四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶的生物学功能

除了作为渗透压保护剂和能量物质存在外,四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶还具有诱导某些渗透压基因的表达,以及在热击、脱水、冷冻、辐射和氧自由基等逆境下非特异性的保护生物大分子活力的特性。

2.1 渗透压基因诱导剂 在苜蓿中华根瘤菌这样的菌株中,四氢嘧啶并不是真正的渗透压保护剂,而是在被分解利用的同时诱导此菌株一系列与渗透压有关基因的表达,从而使其合成自身的相容性溶质海藻糖和谷氨酸盐等<sup>[11]</sup>。

2.2 抗逆保护作用 在逆境下四氢嘧啶/羟基四氢嘧啶对于酶、DNA、细胞膜等生物大分子有着很强的保护作用。实验证明,四氢嘧啶类相容性溶质对一些性质较不稳定的酶,如乳酸脱氢酶、磷酸果糖激酶,有着非常显著的保护作用;与常见的相容性溶质海藻糖、脯氨酸、甜菜碱、甘油以及糖类相比,羟基四氢嘧啶对经过高温和冻融处理的乳酸脱氢酶表现出最强的保护作用,而四氢嘧啶则是经过冷冻胁迫的磷酸果糖激酶最有效的稳定剂。

Schnoor等<sup>[12]</sup>的研究结果则证实了四氢嘧啶对DNA的保护作用,及其应用于PCR技术的巨大潜力。四氢嘧啶不但可以减轻DNA双链的熔解温度对其碱基组成的依赖从而降低PCR反应温度,在高温条件下稳定聚合酶的活性,还能与DNA结合而导致DNA结构变得不能被限制性内切酶切割,因此大大提高了扩增效率。这对于GC含量丰富的模板双链DNA效果更为明显,故特别适用于扩增临床和刑事侦破中痕量的或难度较大的DNA片段。

2.3 分子伴侣的作用 四氢嘧啶可以发挥如同伴侣蛋白一样的作用,识别错误折叠的蛋白质并且抑制蛋白质聚合体的形成。在以蛋白质的错误折叠为主要病理学特征的马查多-约瑟病中,四氢嘧啶可以大大减少细胞质中由于蛋白质的错误折叠而形成带有多聚谷氨酸盐长链的有毒性的包含体的形成;即使形成的包含体也被转移到细胞核内而将其隔离,使细胞不受有毒包含体的危害,从而减轻了细胞凋亡性死亡的现象<sup>[13]</sup>。

2.4 防辐射与保湿作用 四氢嘧啶的防辐射与保湿功能主要体现其作为化妆品中的防晒剂和保湿剂,防止皮肤干燥、衰老等。如德国墨克公司最近推出一套新兴化妆品,介绍四氢嘧啶及羟基四氢嘧啶对胰岛细胞的免疫作用,能产生热激蛋白,保护膜完整性,减少皮肤因紫外线照射形成的晒斑。

## 3. 展望

四氢嘧啶类相容性溶质的抗逆作用和分子伴侣的

文章编号: 1000-1336(2007)04-0326-03

## 寡糖对 JAK-STAT 信号转导通路的调节机制

和晓朵 迟延青<sup>1</sup> 姬胜利( 山东大学药学院生化与生物技术药物研究所 济南 250012; <sup>1</sup>山东省立医院药剂科 济南 250021 )

摘要: 寡糖类化合物对细胞因子的 JAK-STAT 信号转导途径具有免疫抑制作用。进一步研究寡糖类化合物对 JAK-STAT 信号转导途径的影响, 对研究和开发寡糖类免疫调节药物具有重要意义。

关键词: 寡糖; 细胞因子; JAK-STAT

中图分类号: Q53

寡糖(oligosaccharide)又称寡聚糖或低聚糖, 一般是由 2 至 10 个单糖缩合而成的聚合物。自然界存在的单糖及其衍生物有 200 多种, 但在人和动物细胞中, 组成寡糖链的单糖主要为五碳糖或六碳糖:  $\beta$ -D-葡萄糖、 $\beta$ -D-半乳糖、 $\alpha$ -D-甘露糖、 $\alpha$ -L-岩藻糖、 $\alpha$ -L-鼠李糖、D-木糖、 $\beta$ -D-N-乙酰-葡糖胺、 $\alpha$ -D-葡糖醛酸、

$\alpha$ -L-艾杜糖醛酸、 $\beta$ -D-葡糖胺、 $\beta$ -D-N-乙酰半乳糖胺和唾液酸等。寡糖在体内通常与肽、蛋白质以及脂类以共价键形成糖肽、糖蛋白和糖脂等缀合物的形式, 存在于细胞表面或细胞外间隙中。寡糖是生物体内重要的信息物质, 细胞表面的寡糖在细胞之间的通讯、识别和相互作用、胚胎发生、细胞代谢、信号传递、细胞运动和黏附, 以及病原与宿主细胞的相互作用方面起着重要作用, 这些生物学功能的发挥主要是通过受体蛋白之间的相互作用来实现的, 这些受体蛋白主要包括选凝素(selectin)、生长因子、细胞因子和黏附蛋白等。

近年来研究发现, 寡糖能与选凝素(E-/L-和P-选

收稿日期: 2007-03-26

作者简介: 和小朵(1982-) 女 硕士生 汉族 E-mail: hxd@mail.sdu.edu.cn; 迟延青(1963-) 女 副主任药师 E-mail: yanqingchi@yahoo.com; 姬胜利(1963-) 男 博士 教授 博士生导师 联系作者 E-mail: shenglijiji@sdu.edu.cn

特性, 使其在农业和生物医学领域有着广阔的应用前景。温度、干旱、盐胁迫等逆境一直是农业生产中很棘手的问题。四氢嘧啶类物质出色的抗逆效果为人们解决此类难题开辟了新的思路, Mamta 等<sup>[14]</sup>就成功地把四氢嘧啶合成基因克隆到烟草细胞的叶绿体中, 获得了耐盐和耐热性都有显著提高并且可以稳定遗传的转基因烟草。而四氢嘧啶的分子伴侣功能, 使其在治疗(与形成蛋白质包含体有关的)疾病方面成为极有潜力的药物。Kanapathipillai 等<sup>[15]</sup>曾在体外实验中证明, 四氢嘧啶与羟基四氢嘧啶可以通过干扰疏水作用和 $\pi$ - $\pi$ 键的相互作用, 来阻止或严重影响阿尔兹海默氏症发病机制中起着重要作用的 Ab42 聚合体的形成, 从而大大降低其对人类成神经瘤的毒性。尽管这些研究目前还停留在实验室水平上, 若要推广至临床和田间试验阶段仍然有很多问题需要解决, 但是随着更多系统深入的研究的不断开展, 四氢嘧啶类物质一定可以在这两个领域发挥越来越多, 越来越好的作用。

## 参 考 文 献

- [1] Ventosa A et al. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62(2): 504-544
- [2] Schiraldi C et al. *Res Microbiol* 2006, 157(7): 693-699
- [3] García-Estévez R et al. *Sys Appl Microbiol* 2006, 29(8): 626-633
- [4] Ono H et al. *J Bacteriol*, 1999, 181(1): 91-99
- [5] Prabhu J et al. *Appl Environ Microbiol* 2004, 70(5): 3130-3132
- [6] García-Estévez R et al. *J Bacteriol* 2006, 188(11): 3774-3784
- [7] Wood J M et al. *Comparative Biochem Physiol Part A* 2001, 130: 437-460
- [8] Cosouer A et al. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(8): 3304-3311.
- [9] Grammann K et al. *J Bacteriol* 2002, 184(11): 3078-3085
- [10] Tetsch L et al. *FEMS Microbiol Lett* 2002, 211: 213-218
- [11] Jebbar M et al. *J Bacteriol* 2005, 187: 1293-1304
- [12] Schnoor M et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2004, 322(3): 867-872
- [13] Furusho K et al. *Neurobiol Dis* 2005, 20: 170-178
- [14] Mamta R et al. *Plant Science* 2006, 170(2): 291-306
- [15] Kanapathipillai M et al. *FEBS Letters* 2005, 579: 4775-4780