



蛋白质的盘曲折叠与生命体的生死存亡: 2014年拉斯克基础医学研究奖解读

王超, 何红秋, 张华堂*

重庆市科学技术研究院生物医药与器械研究中心, 重庆 401123

* 联系人, E-mail: zht@cast.gov.cn

在一年一度的盛大的颁奖仪式上, 拉斯克(Lasker)基金会将其 2014 年度的基础医学研究奖颁发给日本京都大学的森和俊(Kazutoshi Mori)和美国加州大学旧金山分校的 Peter Walter, 以表彰他们在未折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR)研究中的突出贡献。

解读世界顶级的科学大奖, 不是一件很容易的事情, 解读蛋白折叠研究及其所以获得拉斯克基础医学研究奖, 则可能更是难上加难的事儿——因为蛋白质折叠研究的历史之长、人数之众、问题之多、玄妙之深, 如何把握解读的角度、深度和广度, 以阐释其中的根本问题、科学原理、哲学思辨与人文的光辉, 引发对科学研究与人才培养等各方面的思考, 也是盘曲折叠的麻团。本文将从以下几个方面加以解读。

1 蛋白质折叠是生命体生死攸关的根本问题

蛋白质是根据遗传密码按照中心法则转录翻译的产物, 但不是生命信息流的终点。一条新生的多肽链还必须根据尚待彻底破解的“折叠密码”进行正确恰当的盘曲折叠, 才能行使其“生命的最终执行者”的功能。这些都已是写在教科书里的普世不争的公理, 因此现在可能很少有人再去追问蛋白质为什么要折叠, 而更多的是对如何折叠、折叠成什么样子、不折叠与错误折叠可能造成的后果与机理进行探讨。

恩格斯有一句著名的哲学论断, 即“生命是蛋白体的存在形式”。在科学上, 我们可以确切地说, 蛋白质的存在形式在于折叠, 具有未折叠、恰当折叠与错误折叠 3 种形态。如果将两句话合在一起, 我们似乎可以说, 生命在于折叠, 在于蛋白质折叠的 3 种形态。

就一个分子而言, 折叠是生死攸关的。如果一条多肽链由于编码、转录、翻译过程中的错误而不能正确折叠, 将会被彻底降解; 同样, 错误折叠的蛋白质堆积过多, 可能会导致一个细胞、乃至整个机体丧失正常的功能与调节, 导致各类疾患, 乃至细胞凋亡与机体死亡。

因此, 模拟“To be or not to be…”的句式, 我们可以说,



张华堂 博士 英籍华人科学家, 医学学士、免疫学硕士、牛津大学博士, 从事艾滋病、乙型肝炎和肿瘤等重大疾病的免疫学基础和医学转化研究 30 年。原中科院“百人计划”引进国外杰出人才, 特聘研究员、中科院知识创新工程学术带头人、博士生导师。现任重庆市科学技术研究院

生物医药首席科学家、副总工程师、生物医药与器械研究中心主任, 该中心目前具有药物研发与评价、生物医药、纳米医药、基因组学、健康信息研究与服务等 5 大平台, 从事生物医药、人口健康与医疗器械研究成果的开发、转化与技术服务。《科学通报》编委。

折叠与不折叠, 是关乎生死的大问题, 是生命体在分子、细胞、组织器官、整个机体、乃至物种进化的所有层面, 时时刻刻、分分秒秒都必须面对的抉择。因此, 蛋白质折叠已成为后基因组时代生命科学研究的根本问题和终极问题。这不仅说明了蛋白质折叠研究本身所具有的极端重要性, 未来的应用也都将以这一根本机理为基础。

2 蛋白质错误合成与错误折叠的生理效应——错误的信息也是信息, 而且是至关重要的信息

关于蛋白质的学习与研究, 可能普遍存着一个误区、一种误解, 即蛋白质的错误合成与错误折叠只能产生无益的、有毒有害的垃圾。鉴于未折叠与误折叠的蛋白质可能引起的病理效应已广有评述, 本文的解读将从其极为重要的生理意义说起。

从质的角度, 在合成多肽链的整个流程中, 由于错误编码、错误译码以及提前中断等各种原因, 均可产生各类各式的蛋白质残品、次品, 也包含了由于这种质的错误而导致的错误折叠。此类品质与造型缺陷的蛋白残品, 通常可称为“DRiPs (defective ribosomal products)”, 经蛋白酶小

体(proteasome)处理后,形成快速降解的多肽(rapidly degraded polypeptides, RDPs)与抗原表位(antigen epitopes),最终被“MHC I类分子”运送到细胞表面,以供免疫细胞识别,这是细胞预警与免疫应答的起始点.与此抗原特异性的细胞免疫应答相对应,先天固有的非特异性免疫识别与应答同样也从UPR开始.

因此,机体的免疫反应很大程度上依赖于错误合成与错误折叠的蛋白的存在.没有这些携带“错误信息”的DRiPs与UPR,机体就可能失去了免疫识别的前提基础,难以感知与辨认侵入细胞的病原体与自身滋长的癌变细胞、启动恰当的免疫应答,因而难以抵御各种各样的感染与传染病、清除癌细胞.其后果自然也是生死攸关的.

从量的角度,错误合成与错误折叠的多少或其在新生蛋白总量中的比例,目前尚不确定.但是,未折叠与错误折叠蛋白的出现,特别是没有序列错误的新生蛋白质,相当于尚待正确造型与包装的正品,如果合成生产增多,在内质网内以未折叠或错误折叠的形式出现,也具有极其重要的生理意义——专职产生抗体的B淋巴细胞向富含内质网的浆细胞的转变,是一个典型的例证.

在接受抗原刺激后,活化的B细胞旋即在短时间内产生大量的新生抗体.限于细胞内内质网对分泌蛋白进行折叠的能力,部分新生抗体则会以未折叠或错误折叠的形式出现,蛋白生产线上的“造型与包装”能力告急.接下来,便是B细胞通过本次获奖的UPR体系,促使内质网增多、增大,并产生大量的、新的“伴侣分子”,由此B细胞转而成为内质网丰富的浆细胞,从而大批量生产抗体.因此,UPR是调节内质网、Golgi体、线粒体等细胞器大小、多少与功能的重要因素——Peter Walter实验室的兴趣就在于细胞器的生成与调节,是其实验室的科学研究方向与获奖研究的起点.

这其中的科学原理与哲学思辨,其实与我们日常生活息息相关.恰如各种生产线上的流量控制与质量控制、生活垃圾的处理与利用、道路拥堵与交通建设以及人口问题与家居工程等等,都有相同的道理——首先是问题要反映出来,以便抓住早期的征兆,予以治理.UPR则是通过对未折叠与误折叠的蛋白质的检测与监控,实现生理功能的重大调节.

3 本次获奖的理由:不是蛋白质为什么要折叠、怎样折叠,而是未折叠与错误折叠后的感知、信息传递与反馈控制

蛋白质为什么必须折叠与怎样折叠,一般都涉及稳态、最低能态或热力学原理等常识与理论,围绕蛋白质分子本身的态势予以解释,难以阐释蛋白质分子何以能够非常智能、非常智慧地折叠出特定的结构域、功能域,涉及各种基因在近程与远程的恰当分布与活性部位的形成与配置.

目前的理论与研究均表明,蛋白质分子在折叠过程中,并不是简单的独舞或“裸奔、裸舞”,而是由多种“伴侣分子”参与,宛如一台集合了舞台、灯光、服装、道具等为一体的大型舞蹈与合奏曲.不过,这一部分,已在2011年颁发给德国马普研究所(Max Planck Institutes)的Franz-Ulrich Harti和耶鲁大学医学院的Arthur Horwich,以表彰他们在破解“舞台设计”与“伴舞研究”中的突出贡献.

按照这样的比拟,本次获奖的理由可以说是蛋白质分子的盘曲折叠走了样——主角的舞蹈出了问题之后怎么办:怎样发现、怎样告知导演与控制室、怎样调集更多的伴舞?是怎样才能接下去演好这台集体舞的问题,否则就是彻底“演砸”了,细胞则要启动凋亡程序,下台收场了.

所以,本次获奖的理由集中在对未折叠与错误折叠的感知、传递、调控反应与结局,是蛋白质生产线上的流量控制、质量检测与质量控制问题,是从监控错误到反馈调节的信息流与反应机制.

4 获奖研究的科学问题、亮点以及今后的疑难问题

两位获奖者最初都起始于同样一个明确的科学问题,都是针对内质网与细胞核是怎样进行信息交流与通讯而展开的,涉及往返于二者之间的信号通路和环路.总结起来,本次获奖研究具有以下3大亮点:

(i) 在内质网的腔隙面,发现并验证了能够与未折叠和误折叠蛋白结合的感受分子,与细胞膜表面的受体具有异曲同工之妙;

(ii) 在内质网的胞浆面,发现并验证了激酶磷酸化过程,特别是激酶活化后,在胞浆内原位具有剪接、拼接RNA的功能——这一点可能是获奖研究中的最大亮点.在此之前的研究认为,所有的RNA剪接仅能在细胞核内进行,因此是前所未有的重大发现;

(iii) 研究并确定了UPR从内质网通向核内、再从核内返回到内质网的各个节点.

至此,我们可以融合该领域的相关结果,贯通3条完整的信号传导途径与环路(也称UPR总体通路的3个分支,整体环路的细节与各个节点已如前文所述),验证了内质网与胞核之间存在的全程双向的信号转导体系,包括从腔隙面开始的感受分子(受体)、跨膜域、胞浆面的激酶磷酸化、信号转入核、核内转录调控以及转录调控后再回到胞浆与内质网的各个环节,为UPR绘制出一幅精美的信号传导图.

知也无涯.Nat Med对2位获奖人进行了专访,非常公正地分别向2人提出了基本相同的问题.专访中,Walter与Mori分别提及人类有3和10个感受分子(sensors),因此,在内质网腔隙面到底有多少个“UPR受体”令人遐想——这本身可能不止是多一个少一个、多几个少几个的问题,这些感受分子位于整个UPR的最前端,可能隐含着诸多的新问题.

同时, 前述提及物种的进化与生死存亡, 也直接涉及 UPR 受体多少的问题——尽管 UPR 体系从酵母到人类高度保守, 但从酵母的 1 个到人类的 3 或 10 个, 显然值得探讨和比较。

而在 UPR 的终端, 内质网内的“误叠蛋白”到底是在内质网内原地降解还是要外运到胞浆在蛋白酶小体内降解, 还有待进一步的深入解析。同时, 过多的未降解的误叠蛋白到底如何启动凋亡程序, 尚有缺失的环节——特别是细胞在进一步增大内质网蛋白折叠能力与启动凋亡之间, 在时间与路径上形成了一个岔路口, 而这个岔路口上诱发凋亡的临界点、扳机点究竟在哪里, 细胞如何在这一生死攸关的岔路口进行选择、做出抉择, 仍待明确的回答。

而且, 内质网内的小环境与胞浆中的大环境差异颇大, 各自环境内的蛋白折叠与降解机理或有较大差异。同时, UPR 也只是内质网应激(ER stress, ERS)的一部分, 诱导内质网应激的试剂首先可能诱导氧化应激等反应。因此, 各自环境的贡献与各种应激间的相互作用等疑难问题(虽已超出获奖的内容), 也是今后需要拓展、进一步廓清的研究内容。不过, 毫无刁难挑剔之嫌的是, 两位获奖者也一致都认为, 该领域的实验体系目前仍主要是少数细胞模型与体外水平的研究, 多种细胞类型与体内研究的竞赛已经开始了。

5 新生的科学家、科学的内质网与人才培养

值得一提的是, Michael S. Brown 在给 2 位获奖者的颁奖辞中, 把新生科学家的培养与新生蛋白质的折叠进行了直接对等的比喻: “Like proteins, newborn scientists need chaperones to help them fold into the tough structure they will need for survival in the harsh external world.”

Brown 认为, “新生的科学家由他们的基因赋予了具有更高级功能的潜力”。同时 Brown 也直言不讳地对目前“科学的内质网、科学工厂与科学生产线(the endoplasmic reticulum of science, scientific factories, scientific assembly lines)”所面临的问题进行了尖锐的批评。

两位获奖者在感言中对全部研究工作中的师承, 所在大学与实验室的环境、氛围、体制与方向的回顾, 以及 *Nat Med*, *J Clin Invest*, *Lancet* 等的评述, 结合我们各自作为科技工作者更为直接的亲身经历, Brown 的比拟一定会引发我们的共鸣与深思。

6 终极问题里的终极问题

回到蛋白质折叠研究本身, 我们知道, 基因组上的“第一套遗传密码”现已相对比较清楚。如果说, 在此后基因组时代, 蛋白质折叠已成为生命科学研究的终极问题, 那么, 决定新生多肽链盘曲折叠的“折叠密码”, 则是终极问题中的终极问题。

按照 1972 年诺贝尔奖获得者 Anfinsen 提出的“自我组

装”假说, 一级结构决定高级的空间结构, 蛋白质折叠所要求的所有信息都隐含在一级结构内, 生命与蛋白质的存在形式都要遵从这“第二套遗传密码”。然而, 我们也知道, 许多氨基酸序列类似的蛋白质可以折叠出不同的结构, 反之, 一些氨基酸序列不同的蛋白质可以折叠出类似的结构。由此, 1987 年 Ellis 又提出了“辅助性组装”学说, 继而分子伴侣、分析内伴侣、折叠酶以及各种折叠模式不断涌现。

不过, 我们对蛋白质折叠机理的研究与认知仍不完整, 甚至有诸多谬误。从“序列决定自我组装”的第二套编码开始, 无论是否存在规定与指导更高级的辅助组装的“第三套编码”, 以至折叠过程中复杂、多样的动态变化, 都是一维信息到三维信息与四维信息的序动与流变。不过, 这一整套不同层级的“折叠密码”与“易经”般“终极密码”是否存在及其确切内容与原理, 都要留给蛋白质折叠专业研究的高级“黑客”了。

7 结语与展望

计划中的“科学、艺术与人文的光辉”一节, 限于篇幅, 不再展开。不过, *Nat Med*, *J Clin Invest*, *Lancet* 和 *Cell* 的专访与述评, 特别是 Lakser 基金会官方网站中的各个专题, 具有丰富的内容。评委会主席 Joseph L. Goldstein 从 2001 年开始, 连续写了 14 篇有关科学与艺术的文章, 在 *Nat Med* 形成了一个“The Art of Science”合集, 包括 2010 年那篇著名的“如何获得拉斯克奖”的趣谈妙论, 都可供有兴趣的读者细细品读。

犹如“诺奖”一样, 是否以获得“拉奖”为目标而设定我国医学、生命科学与个人的研究策略与方向, 已是广有热议的话题。但是, 《科学通报》有理由为“拉奖”而感到骄傲与自豪——我国科学家有关青蒿素的研究, 早期即发表于《中国科学》与《科学通报》上, 华人华裔科学家也已有许多人获得拉奖。因此, 《科学通报》对拉斯克奖进行密切的跟踪与深入的解读, 也是历史促成的渊源。

以人工合成胰岛素为标志, 我国科学家不仅在蛋白质研究中树立了伟大的丰碑, 而且以邹承鲁、王志珍为代表的蛋白质折叠理论与近年来我国科学家对蛋白质结构的解析与功能研究, 都以强劲的势头, 在国际国内的前沿领域中形成了突出的亮点。我们可以期待拉斯克奖对我国的蛋白质研究具有进一步的拉动效应。

由于国内外普遍认为, 拉斯克基础医学研究奖是“诺奖”的风向标, 而蛋白质折叠研究已在 2011 与 2014 年度连连获得拉斯克基础医学研究奖, 能否最终获得“诺奖”, 相关学科也可能多了一份期待。根据以上的分析, 一个多肽链是如何经过复杂的盘曲折叠、最终形成具有特定空间结构的蛋白质的问题, 仍是生命科学研究中最为高深玄妙与艰难的问题, 生命体是否具有一套“折叠密码”与“终极密码”, 必将是今后“拉奖”和“诺奖”的热点。

参考文献

- 1 No authors listed. Lasker Foundation. <http://www.laskerfoundation.org/index.htm>
- 2 Dolan B P, Bennink J R, Yewdell J W. Translating DRiPs: Progress in understanding viral and cellular sources of MHC class I peptide ligands. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68: 1481–1489
- 3 Smith J A. A new paradigm: Innate immune sensing of viruses via the unfolded protein response. *Front Microbiol*, 2014, 5: 222e
- 4 Koenig P A, Hidde L, Ploegh H L. Protein quality control in the endoplasmic reticulum. *F1000Prime Rep*, 2014, 6: 49e
- 5 Claiborn K. A mystery unfolds: Franz-Ulrich Hartl and Arthur L. Horwich win the 2011 Albert Lasker Basic Medical Research Award, 2011, 121: 3774–3777
- 6 Rothman J E, Schekman R. Molecular mechanism of protein folding in the cell. *Cell*, 2011, 146: 851–854
- 7 No authors listed. Lasker award winner Kazutoshi Mori. *Nat Med*, 2014, 20: 1115–1117
- 8 No authors listed. Lasker award winner Peter Walter. *Nat Med*, 2014, 20: 1112–1114
- 9 Chaudhari N, Talwar P, Parimisetty A. A molecular web: Endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 213e
- 10 Hotamisligil G S. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 2010, 140: 900–917
- 11 No authors listed. In the News: Coverage of the 2014 Lasker Awards. <http://www.laskerfoundation.org/media/news.htm>
- 12 Walter P. Walking along the serendipitous path of discovery. *Mol Biol Cell*, 2010, 21: 15–17
- 13 Goldstein J L. Nature Medicine essays: The Art of Science. <http://www.laskerfoundation.org/awards/artofscience.htm>