

第 21 和第 22 种氨基酸

邱文元 邓文叶 蔡艳桥 杨瑞青[#]

(兰州大学化学系 应用有机化学国家重点实验室 兰州 730000 [#]兰州市妇幼保健院 兰州 730030)

摘 要 介绍了已经发现的第 21 和 22 种天然氨基酸——硒半胱氨酸和吡咯赖氨酸。它们是由基因密码子直接编码的非标准氨基酸,其三联体密码子分别为 UGA 和 UAG。这两种氨基酸与 20 种标准氨基酸编码方式不同,这引起了遗传密码子重新定义的变革。

关键词 氨基酸 硒半胱氨酸 吡咯赖氨酸 密码子 UAG 密码子 UGA

The 21st and 22nd Amino Acid

Qiu Wenyuan, Deng Wenyue, Cai Yanqiao, [#]Yan Ruiqing

(Department of Chemistry, State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

([#] Lanzhou Maternity and Child Health Hospital, Lanzhou 730030)

Abstract This article introduces the undiscovered two amino acids—the 21st amino acid and the 22nd amino acid, which are called selenocysteine and pyrrolysine, respectively. They are nonstandard amino acids and directly encoded by genetic codes. Their RNA nucleotide triplets are UGA and UAG, respectively. The encoding way of these two amino acids, which are different from those twenty standard amino acids, lead to the problem of codon redefinition.

Key words Amino acid, Selenocysteine, Pyrrolysine, UAG codon, UGA codon

氨基酸是组成蛋白质的基本单位,分子生物学中一些激动人心的发现就是在这个重要领域做出的。在过去的知识中,遗传密码是表示成 4 个字母(U,C,G,A)的核酸语言(RNA)和 20 个字母(20 种氨基酸)的蛋白质语言之间关系的小字典。三个碱基连在一起形成的三联体称为一个密码子,编码一个氨基酸(共有 $4^3=64$ 种密码子)^[1]。譬如: AUG 表示起始密码且编码蛋氨酸(或称甲硫氨酸);密码子 UAA、UGA 和 UAG 编码的是停止蛋白质合成的指令且称为终止密码。

1986 年,英国的 Chamber^[2]和德国的 Zinoni^[3]等发现了硒半胱氨酸(Selenocysteine)并将它命名为第 21 种天然氨基酸。2002 年 5 月,美国的 Srinivasan^[4]和 Hao^[5]等报道发现了第 22 种天然氨基酸——吡咯赖氨酸(Pyrrolysine)。研究表明:硒半胱氨酸是由原来称为终止密码子的(UGA)编码的;吡咯赖氨酸则是由终止密码子(UAG)编码的。现在终止密码(UAA, UGA, UAG)中的后两个密码子出现了新的解释,预示着人们需要改写教科书^[6]。

1 第 21 种氨基酸

邱文元 男, 47 岁, 教授, 主要从事分子生物学的理论研究工作。 E-mail: wyqiu@lzu.edu.cn

国家自然科学基金(20173023; 90203012)和高等学校博士点基金(20020730006)资助项目

2002-07-10 收稿, 2003-01-14 修回

第 21 种氨基酸即硒半胱氨酸, 是 Chambers 等^[2]在研究和鉴定一些动物(猫、牛和鼠等)谷胱甘肽过氧化酶(GSHPx)的作用及基因编码过程时发现, 并第一次揭示了这个氨基酸是由 UGA 编码的。

Zinoni 等^[3]进一步证实了硒半胱氨酸是由 UGA 编码的。实验发现, 甲酸脱氢酶(FDH_H)硒多肽链中存在一个 fdhF 基因。在编码这个含 715 个氨基酸的甲酸脱氢酶硒多肽链的可读框内, fdhF 基因的氨基酸位置 140 处对应一个终止密码子(UGA); 利用基因生物技术, 对这个编码从氨基酸残基 129~268 的硒多肽链片段的基因序列进行研究, 合成出硒化的截短多肽链或β-半乳糖苷酶(其终止密码子只有一个 UAA)。通过硒多肽链的基因序列和氨基酸序列的比较, 证实 UGA 改变了它的传统意义, 由终止密码子变成了有意义的编码子。

硒半胱氨酸的编码方式和机理现在已有相当的了解。在研究中发现, 大肠杆菌中存在一个 Sel 基因系列(Selc、SelA 和 SelB 等)。Selc 基因编码一个特殊的有 95 个核苷酸的 tRNA_{UCA}, 其接受臂上有 8 个配对的碱基, 在 D 臂的 D 环上有 5 个不同于大肠杆菌基因一致序列的核苷酸(G⁹, G¹², U¹⁵, C¹⁶, C²⁵)。这个特殊的 tRNA_{UCA} 携接 L-丝氨酸, 形成丝氨酸氨酰-tRNA_{UCA}; 在 SelA 和 SelB 的基因产物合成酶的催化下变成硒半胱氨酸。翻译时, 与 UGA 关连的 mRNA 上有一“特殊信号”使硒半胱氨酸掺入到多肽链中。

硒半胱氨酸含量较高的谷胱甘肽过氧化酶几乎存在于所有的细胞中。从物质的化学性质上可以知道 Se 比 S 更易氧化成+4 价而不易氧化成+6 价, 使其能保护膜组织和 DNA 不受过氧化物的损伤; 也可以通过 Cu/Zn 超氧歧化酶的过氧化缓解钝化的方式间接的保护细胞(特别是红细胞)不受超氧化自由基的损伤。

已发现在烷八叠球菌属微生物的古细菌和一些真核细菌, 以及包括哺乳动物在内的动物体内的硒半胱氨酸都是由密码子 UGA 直接编码。硒是原核和真核有机体中许多酶的基本组成元素。很多酶结构显示含有硒半胱氨酸残基, 分子结构(图 1)与半胱氨酸相比只是把-SH 换成了-SeH。自然界中硫/硒的含量相差很大, 在自然条件下有利于半胱氨酸的形成, 这可能是天然硒半胱氨酸含量少的原因之一。

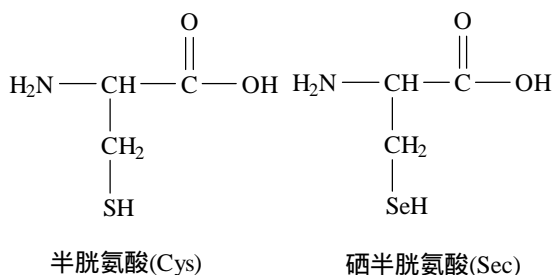


图 1 半胱氨酸和硒半胱氨酸的分子结构

Fig.1 Molecular structures for the cysteine and selenocysteine

2 第 22 种氨基酸

称为第 22 种氨基酸的吡咯赖氨酸是在烷八叠球菌属的微生物的一种酶中发现的。Krzycki 等^[4,5]发现古细菌和真核细菌的遗传密码编码了吡咯赖氨酸。

实验发现, 致甲烷胺转甲基酶(MtmB, DtmB, TtmB)的基因序列中包含一个密码子(UAG), 但它在编码这些甲胺转甲基酶的过程中并没有显示本应出现的终止翻译的作用。用化学和结构的方法对该酶进行分析发现, UAG 是对应于吡咯赖氨酸的有义密码子, 并且由它编码的吡咯赖氨酸残基正处于酶的活性中心位置。通过对电子云密度的观测显示, 该残基是由(4*R*, 5*R*)-4-取代-二氢吡咯-5-羧酸酯与赖氨酸用酰胺键结合得到的, 是一种赖氨酸的衍生物。

已经发现了吡咯赖氨酸的编码过程和机理。实验研究表明, 在甲胺转甲基酶基因附近有一个 *pyl* 基因系列(包括 *pylT* 和 *pylS* 基因等)。*pylT* 基因编码了一特殊的 tRNA_{CUA} : 反密码子臂上有 6 个碱基对而不是 5 个, 限制可变环上只有 3 个碱基而非 4 个, D 臂与接受臂之间碱基数由 2 个变为 1 个。*pylS* 基因编码产物是一种合成酶(LysRS), 能将赖氨酸结合到 tRNA_{CUA} 上形成赖氨酸氨酰- tRNA_{CUA} 。在 *pylT*、*pylB* 和 *pylC* 等酶产物作用下赖氨酸氨酰- tRNA_{CUA} 被修饰为吡咯赖氨酸氨酰- tRNA_{CUA} , 翻译时吡咯赖氨酸氨酰- tRNA_{CUA} 携带的吡咯赖氨酸被结合到蛋白质链上。

测定甲胺转甲基酶可以阐明吡咯赖氨酸的特性和结构。甲胺转甲基酶有两种结晶形态, 其区别在于二氢吡咯环截然不同的取向。环在一种取向中的位置相对于另一种旋转了约 90° , 这是因为取向与蛋白质的氢键作用相关(图 2)。进一步分析晶体结构可观测到吡咯赖氨酸的分子结构(图 3), 它的晶体形态呈现出具有一个深穴且呈负电性的桶状结构, 有利于甲胺阳离子的结合, UAG 编码的吡咯赖氨酸处于甲胺转甲基酶深穴的底端。

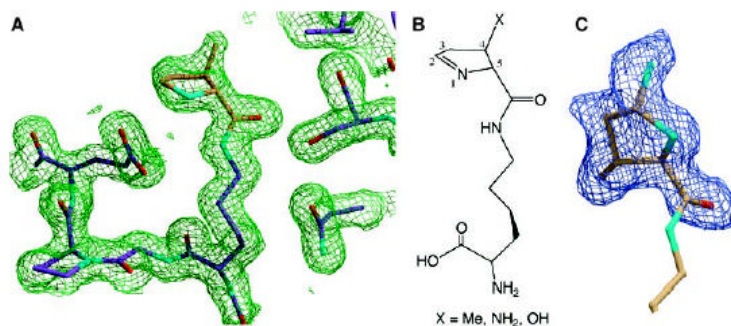


图 2 *L*-吡咯赖氨酸的两种结构取向(A、C)的球棒图

Fig.2 The Stick-diagrams of tow orientations (A and C) of *L*-pyrrolysine amino acid

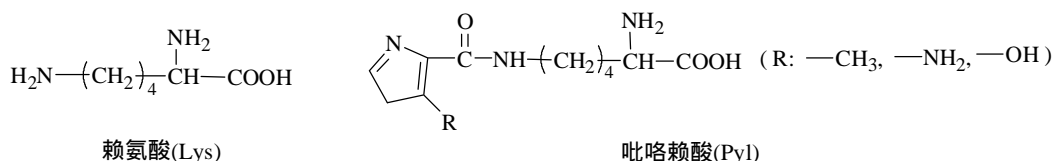


图 3 赖氨酸和吡咯赖氨酸的分子结构

Fig.3 Molecular structures for the lysine and pyrrolysine

吡咯赖氨酸对酶的催化有重要的作用。类可淋蛋白质(MtmC)与甲胺转甲基酶相连接后, 甲胺转甲基酶能协助甲胺的甲基转移到 MtmC 的类可淋辅助因子上去。吡咯赖氨酸处在甲胺转甲基酶(MtmB)的深穴底端, 当它的二氢吡咯环上亚胺氮被质子化后, 亚胺键电子云密度就会减小, 使 C-2 活化而容易发生亲核加成; 而 MtmB 的深穴处结合着一个甲胺阳离子, 这样甲胺阳离子

便加成到吡咯赖氨酸的 C-2 上。这个过程的关键就在：二氢吡咯环的取向与甲胺基团上的氢键对甲胺基团起着定位作用，使其甲基直接朝向 MtmC 的辅助因子，如此它们就可以很容易地发生相互作用，达到了催化转甲基反应的目的。二甲胺(DMA)、三甲胺(TMA)也存在类似的机理，它们中也存在 UAG 编码的吡咯赖氨酸。通过图 4 可以帮助理解上述问题：吡咯赖氨酸的二氢吡咯环上的氮与 Gln²⁵⁹ 羧基氢接合，使 C-2 活化后与甲胺加成。而 Gln²⁵⁹ 的羧脂去质子化成为氢键的接受区，Gln³³³ 的酰胺支链是甲胺基团的第二个氢键接受区。这两个氢键和二氢吡咯上其它的共价键一起定位着 C-2 上的甲胺基团，使甲基直接朝向甲胺与 MtmC 的辅助因子接合缝隙的表面。

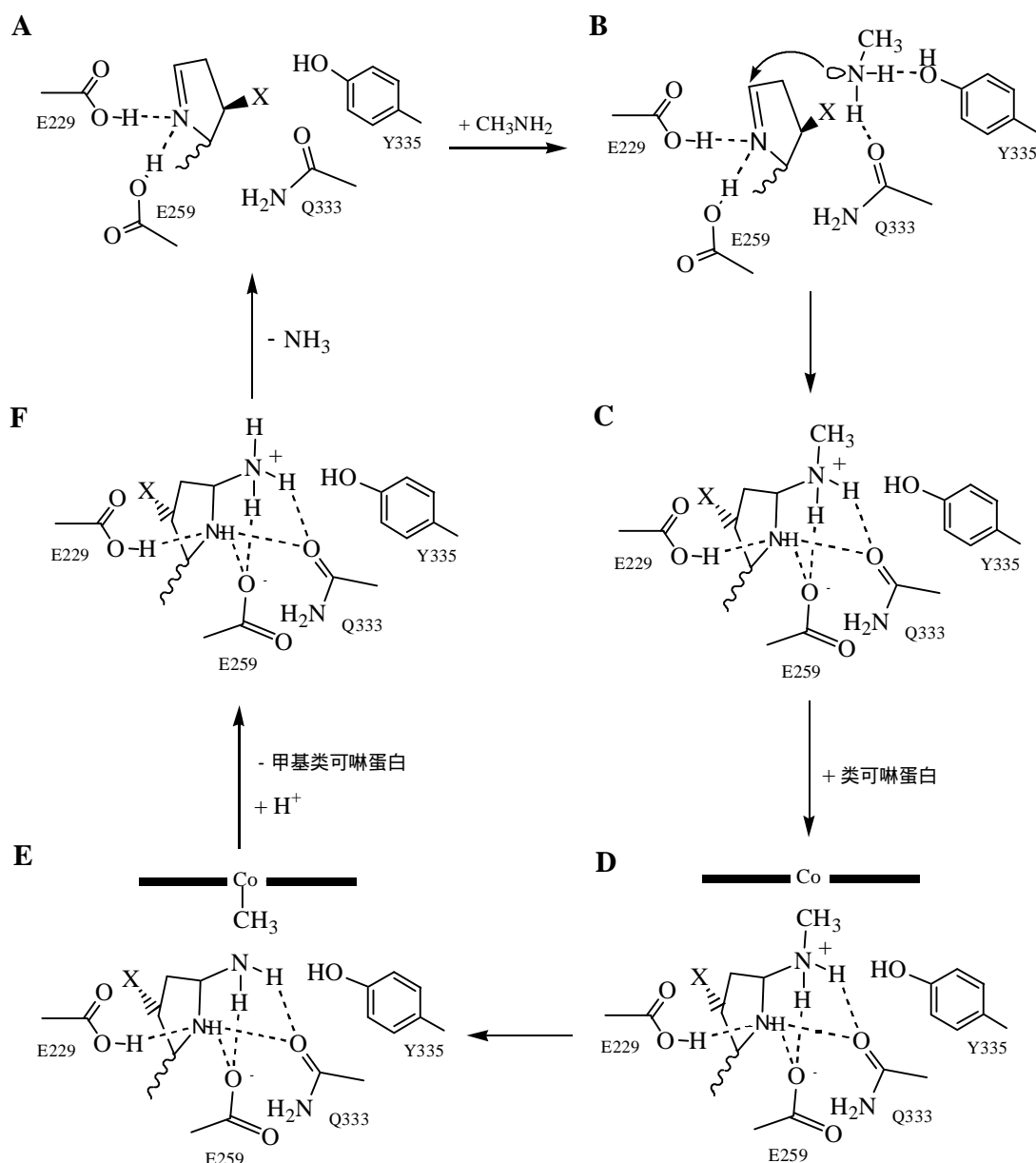


图 4 MtmB 酶中吡咯赖氨酸协助类可淋蛋白质 MtmC 甲基化的可能作用机理

Fig.4 A mechanism for how MtmB assists in the transfer of the methyl group of monomethylamine to the corrinoid cofactor of MtmC

甲胺转甲基酶的机理的实验研究, 进一步说明了终止密码子(UAG)编码了一新的氨基酸, 其性质有利于催化转甲基酶反应和转胺反应。吡咯赖氨酸是传统的终止密码子(UAG)在特殊的环境下直接编码出来的, 是有待进一步认识的第 22 种天然氨基酸。

综上所述, 自然选择导致了超出 20 种标准氨基酸的密码子的形成。密码子 UGA 编码了第 21 种氨基酸——硒半胱氨酸; 密码子 UAG 编码了第 22 种氨基酸——吡咯赖氨酸。这两种氨基酸编码的共同特点是: (1)由传统意义上的终止密码子编码, 预示着终止密码子将可能被重新定义; (2)由特定酶的作用下形成各自的氨酰—tRNA; (3)各自的氨酰—tRNA 都是在翻译的同时掺入到多肽链中的。

传统意义上的终止密码子有三个: UAA、UGA、UAG; 其简并度为 3。而现在 UGA 和 UAG 变成了编码子, 终止密码子(UAA)的简并度可能为 1, 这标志着遗传密码在生物进化过程中被重新定义。因此, 对遗传密码的认识面临着新的挑战 and 机遇, 对非标准氨基酸的研究将引起关注。人们期待着通过对遗传密码的编码方式进行控制, 以便制造出能满足生物进化和工业需求的氨基酸, 从而合成出新型蛋白质和酶。

参考文献

- [1] D R Hofstadter. Sci. Amer., 1982, 246(3): 18~29.
- [2] I Chambers, J Frampton, P Goldfarb et al. EMBO J., 1986, 5: 1221~1227.
- [3] F Zinoni, A Birkmann, T C Stadtman et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1986, 83: 4650~4654.
- [4] G Srinivasan, C M James, J A Krzycki. Science, 2002, 296: 1459~1462.
- [5] B Hao, W Gong, T K Ferguson et al. Science, 2002, 296: 1462~1466.
- [6] J F Atkins, R Gesteland. Science, 2002, 296: 1409~1410.