

• 综 述 •

# 蛋白质动态平衡网络维稳机制的研究进展

高明阳<sup>1,2</sup>, 吴玉湖<sup>1,2</sup>, 杨宣叶<sup>1,2</sup>, 王进千<sup>1,2</sup>, 胡欣妍<sup>1,2</sup>, 周建华<sup>1,2,3\*</sup>

1 西北民族大学生物医学研究中心 生物工程与技术国家民委重点实验室, 甘肃 兰州 730030

2 西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730010

3 中国农业科学院兰州兽医研究所, 甘肃 兰州 730046

高明阳, 吴玉湖, 杨宣叶, 王进千, 胡欣妍, 周建华. 蛋白质动态平衡网络维稳机制的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(2): 434-445.

GAO Mingyang, WU Yuhu, YANG Xuanye, WANG Jinqian, HU Xinyan, ZHOU Jianhua. Advances of proteostasis network and its stability maintenance mechanism[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(2): 434-445.

**摘 要:** 蛋白质是构成生命体的基础, 其在体内有多种存在形式, 而这些形式之间如何维持动态平衡对细胞发挥正常功能来说至关重要。诸多因素会影响蛋白质稳态, 包括一些内外源性的刺激、翻译过程中出现的问题以及一些调控因子的作用等。当错误折叠的蛋白在细胞中不断积累时, 会导致蛋白质稳态失衡并无法发挥正常功能进而引发相关疾病。同时在错误发生后, 机体的许多“监控”就会感知这些异常, 并通过多种途径来帮助蛋白质维持稳态。本文旨在综述蛋白质动态平衡网络之间错综复杂的关系, 以及各种因素在其中发挥的主要作用, 并为一些由蛋白合成异常导致疾病的研究等提供新的思路。

**关键词:** 蛋白质; 稳态; 失衡; 动态平衡; 疾病

资助项目: 国家自然科学基金(32360874); 甘肃省自然科学基金(23JRRA715); 西北民族大学引进人才科研项目(xbmuyjrc202225)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32360874), the Natural Science Foundation of Gansu Province (23JRRA715), and the Northwest University for Nationalities Introduced Talent Research Project (xbmuyjrc202225).

\*Corresponding author. E-mail: zhoujianhuazjh@163.com

Received: 2023-07-31; Accepted: 2023-11-16; Published online: 2023-12-05

# Advances of proteostasis network and its stability maintenance mechanism

GAO Mingyang<sup>1,2</sup>, WU Yuhu<sup>1,2</sup>, YANG Xuanye<sup>1,2</sup>, WANG Jinqian<sup>1,2</sup>, HU Xinyan<sup>1,2</sup>, ZHOU Jianhua<sup>1,2,3\*</sup>

1 Key Laboratory of Biotechnology and Bioengineering of State Ethnic Affairs Commission, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu, China

2 College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730010, Gansu, China

3 Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, Gansu, China

**Abstract:** Protein is fundamental to life, as it generates protein variants. The maintenance of a dynamic equilibrium in these protein variants, known as protein homeostasis, is crucial for cellular function. Various factors, both endogenous and exogenous, can disrupt protein homeostasis during protein synthesis. These factors include translational error, and biological functions mediated by regulatory factors, and more. When cell accumulate proteins with folding errors, it impairs protein homeostasis, leading to the development of related diseases. In response to protein folding errors, multiple monitoring mechanisms are activated to mediate pathways that sustain the dynamic equilibrium. This review highlights the complex relationships within the proteostasis network, which are influenced by a variety of factors. These insights potentially provide new directions for studying diseases caused by protein synthesis errors.

**Keywords:** protein; homeostasis; unbalance; dynamic equilibrium; disease

蛋白质平衡网络(proteostasis network, PN) 又称蛋白质稳态,它是依赖于分子伴侣、蛋白质降解系统、内质网应激及其调节因子等调控的广泛网络。PN 主要包括 3 个模块,即蛋白质合成、折叠和降解。这 3 个模块彼此紧密相连,所有组件共同工作以维持蛋白稳态。正常活性的蛋白通常具有正确的高级空间构象,并且生物学活性对正常生命体非常重要。一旦蛋白高级构象改变并引发蛋白之间相互结合聚集,一定程度上会导致一些疾病,如神经退行性疾病。然而,蛋白质聚集态并非一种异常生理现象,而是随着生物体不断进化以亚稳态的形式存在于细胞中<sup>[1]</sup>。随着研究的深入,发现处于亚稳态的聚集蛋白仍能够在维持生命体正常功能活动中发挥正向作用<sup>[1-2]</sup>。由此可知:借助多种监

控调节机制,蛋白合成以一种动态平衡的方式来应对不同干扰因素的影响,进而确保生物体生理机能的稳定。因此,系统性明晰蛋白质动态平衡网络运行机制及其应对外界干扰因素能够为生物化学、免疫学以及临床医学等领域提供新思路和新见解。

早期对蛋白质合成中多肽链正确折叠机制的研究主要着眼于折叠自由能等热力学领域。即过去 Anfinsen 从大量变性-复性试验的结果中得出结论,蛋白质会自发地进行折叠,因为蛋白质折叠成具有生物活性的天然态在折叠自由能图谱中能量最低<sup>[3]</sup>。但是亚稳态蛋白质组的存在却与上述结论相反。因此便开始从不同角度来探索是否有其他因素影响蛋白质折叠,进而造成蛋白质在体内存在形式的不同。研究

结果表明,蛋白质折叠以及最终存在状态不仅与热力学有关,还在一定程度上受到多肽折叠动力学调控,且随着相关研究的不断深入,发现动力学调控机制起着主导作用。然而,蛋白质稳态等概念的提出开启了蛋白质合成研究的新思路,即折叠热力学与折叠动力学共同担负着维持这个动态平衡网络的使命。

随着新的技术的应用,发现无论是与 PN 相关的热力学还是动力学调控机制,都并非单独发挥作用,而是相互协调来维持蛋白质稳态。稳态的平衡才是生命体正常发生发展的关键因素。在这里所提到的因素中,如分子伴侣、共翻译折叠、未折叠蛋白反应、核糖体相关质量控制以及综合应激反应等意义重大,并且也有相关的研究阐述了这些机制及其相关调控因子在维持蛋白质稳态中的重要作用<sup>[4-6]</sup>。面对复杂多变的因素,今后研究应更多关注:当蛋白质稳态失衡时引发相关疾病的分子机制以及如何选择针对性治疗策略。除了现阶段较难攻克的神经退行性相关疾病之外,科研人员还发现它是肿瘤发生发展的关键因素。聚焦于蛋白质稳态调控的信号通路,绘制了肿瘤发展过程中关键蛋白稳态变化和酶学调控的动态图谱,并发现抗肿瘤新靶点和候选药物<sup>[7]</sup>。因此本文旨在阐述近些年在研究维持蛋白质稳态的机制以及失衡相关机制方面的研究成果,希望为未来蛋白合成研究、蛋白相关通路研究、神经退行性相关疾病的治疗以及肿瘤的治疗提供一些思路和见解。

## 1 影响蛋白质稳态的因素

### 1.1 蛋白质合成

#### 1.1.1 核糖体相关质量控制

蛋白质在细胞内合成的过程中有一定概率会出现基因表达错误或者受到外界蛋白合成阻

断机制的干扰。核糖体在翻译的过程中停滞或碰撞会增加翻译异常的概率。这时就会触发核糖体相关质量控制(ribosome-associated quality control, RQC)来降解异常多肽,进而控制蛋白质质量。具体来讲就是当遇到类似于停滞序列等异常因素时,核糖体就会出现停滞甚至碰撞的情况。接下来锌指蛋白 598 (zinc finger protein 598, ZNF598)或 E3 泛素连接酶 Hel2 识别碰撞核糖体后招募 Pelota/Dom34-Hbs1 复合物将核糖体进行分解。最终核糖体小亚基回收进入下一个循环,异常新生多肽链与 mRNA 被降解<sup>[8-9]</sup>(图 1)。一旦这些异常的聚集物逃避了机体的“监控”机制,这些异常的多肽就会使细胞无法发挥其正常的生物学功能,并且还可能产生神经毒性引发神经性疾病,例如帕金森以及阿尔茨海默病等。RQC 能够甄别在多肽合成中异常中止而产生的残缺多肽链,并介导多肽链的降解。这种多肽合成的控制机制普遍存在于各种生物体内。例如,人类细胞中的 tRNA 结合蛋白 NEMF、酵母的 Rqc2 和原核生物的 RqcH 都是一类可以使 RQC 感知核糖体大亚基中异常多肽链的同源蛋白物。RQC 介导异常多肽链降解的经典过程可归纳为:(1) NEMF 维持 LTN1/Listerin E3 连接酶与阻塞异常多肽链的核糖体的结合,为泛素化做准备;(2) 与此同时, NEMF 及同源蛋白通过 C-末端介导异常多肽链的泛素化修饰。此外,在真核生物体中还可以将阻塞在核糖体内部异常多肽链中的赖氨酸位点有效地暴露给 LTN1 来进行泛素化修饰。这种蛋白质翻译保护机制及时地清除异常多肽,对于机体维持蛋白质稳态及减少相关疾病的发生至关重要。因此,系统地了解不同生物体执行 RQC 的过程有助于相关领域研究者深入理解生物体在长期进化中形成的蛋白质翻译保护机制,更有助于临床研究人员在研究蛋白合成性临床疾病的过程中

寻找有效解决问题的思路 and 办法。

### 1.1.2 综合应激反应

所有生物体都具有感知及对不断变化的环境作出反应的能力, 擅长识别营养供给的改变, 并通过重新编码基因表达来满足代谢需求<sup>[10]</sup>。在不同的细胞反应中, 综合应激反应(integrated stress response, ISR)响应稳态失衡和疾病条件, 可能是最重要的适应性途径之一<sup>[11]</sup>。ISR 可以由多种因素引发, 但其核心就是转录起始因子 eIF2 $\alpha$  的磷酸化, 也就是对翻译过程会产生巨大的影响(图 2)。核糖体停滞或者碰撞同样也会引

起 ISR 的发生, 进而产生一系列的调控, 维持机体稳态。已有研究表明 ISR 与 RQC 在生物体内是如何协调并发挥相应的作用, 即当翻译过程中核糖体发生低频的碰撞时, RQC 优先被激活降解异常多肽, 而当发生高频碰撞时, RQC 无法处理这种情况, 就会激活 ISR 进行调节, 整体维持平衡<sup>[12]</sup>。综上所述, 二者各自的调控作用以及相互之间的协调对机体蛋白质维持动态平衡至关重要, 未来需要科研人员更进一步地对这两种机制进行深入探究, 可能会为一些相关疾病的治疗提供新的思路。



图 1 RQC 维持稳态的作用过程 ZNF598: 锌指蛋白 598; HeI2: E3 泛素连接酶 HeI2

Figure 1 The processes that RQC functions to maintain homeostasis. ZNF598: Zinc finger protein 598; HeI2: E3 ubiquitin ligase HeI2.

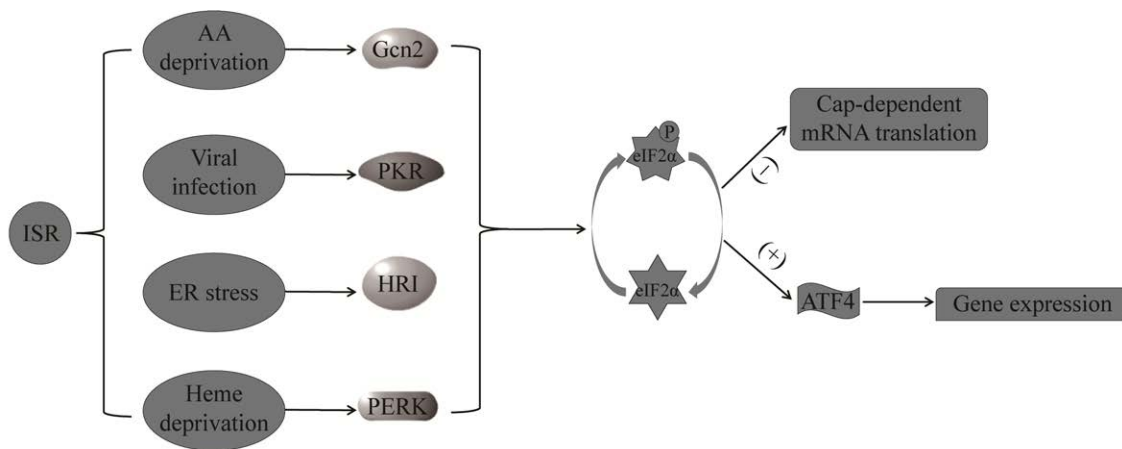


图 2 ISR 维持稳态的作用过程 ISR: 综合应激反应; ER: 内质网; Gcn2: 一般性调控阻遏蛋白激酶 2; PKR: 蛋白激酶 R; HRI: 血红素调节抑制剂; PERK: 蛋白激酶 R 样内质网激酶; eIF2 $\alpha$ : 真核翻译起始因子 2 $\alpha$ ; ATF4: 激活转录因子 4

Figure 2 The processes that ISR functions to maintain homeostasis. ISR: Integrated stress response; ER: Endoplasmic reticulum; Gcn2: General control nonderepressible 2; PKR: Protein kinase R; HRI: Heme-regulated inhibitor; PERK: Proteinkinase R-like ER kinase; eIF2 $\alpha$ : Eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$ ; ATF4: Activating transcription factor 4.

## 1.2 蛋白质折叠

### 1.2.1 蛋白质易聚集区与聚集监控基序

由于蛋白质聚集态比天然松散态在折叠热力学方面更加稳定,因此新生多肽具有聚集成团的特性。但是蛋白质聚集和多种疾病相关,那么其普遍存在及其形成的机制就有待探究。目前,蛋白质易聚集区(aggregation-prone region, APR)形成的蛋白分子间 $\beta$ 折叠可以解释多数蛋白聚集的原因。APR区域由5-15个疏水氨基酸组成,具有高 $\beta$ 折叠倾向,进而驱动蛋白质聚集<sup>[13]</sup>。当APR序列的两端含有某种带电氨基酸时,蛋白质聚集倾向性减弱。这种可以减弱含APR蛋白质聚集的氨基酸基序被称为蛋白质聚集监控基序(aggregation gatekeeper, GK)。GKs会减慢蛋白质聚集的速度,它的存在会充分降低聚集速率,使平衡转向天然折叠状态。同时GKs促进了分子伴侣对APR的识别,例如,Hsp70系统可以通过允许多肽链折叠或引导它们降解来减慢聚集过程。GKs减缓蛋白质聚集来维持蛋白质稳态就是一种折叠动力学机制,并且在维持蛋白质正常生物学功能中发挥重要作用。

### 1.2.2 翻译过程中的相关调控机制

蛋白翻译过程对于蛋白质稳态至关重要。与新生多肽翻译后折叠动力学发挥的效力相比,新生多肽链在核糖体中合成延伸过程中的共翻译折叠在维持蛋白质稳态中发挥着关键作用。新生多肽链形成正确空间构象过程中产生共翻译折叠,主要是与核糖体在mRNA链上的移动速率以及多肽链与核糖体表面电荷互作相关<sup>[14-15]</sup>。因此,新生多肽的共翻译折叠也被视为调控蛋白质动态平衡网络的重要机制(图3)。共翻译折叠可以有效防止错误折叠和蛋白聚集来稳定蛋白质稳态,确保拥有天然构象的蛋白质发挥正常的生物学功能。那么,何种因素能够影响新生多肽的共翻译折叠?最直接的影响因素就是核糖体合成多肽链的速率。最直接的例证就是大肠杆菌工程菌表达外源基因。若外源基因表达形式为包涵体的情况下,通常会通过降低大肠杆菌培养环境的温度来降低核糖体对外源基因的表达速率,提高共翻译折叠的效力。此外,新生多肽链在核糖体P位点延伸过程中会由于自身氨基酸基序电荷性质与核糖体表面所带电荷互作,这对蛋白质共翻译折叠也

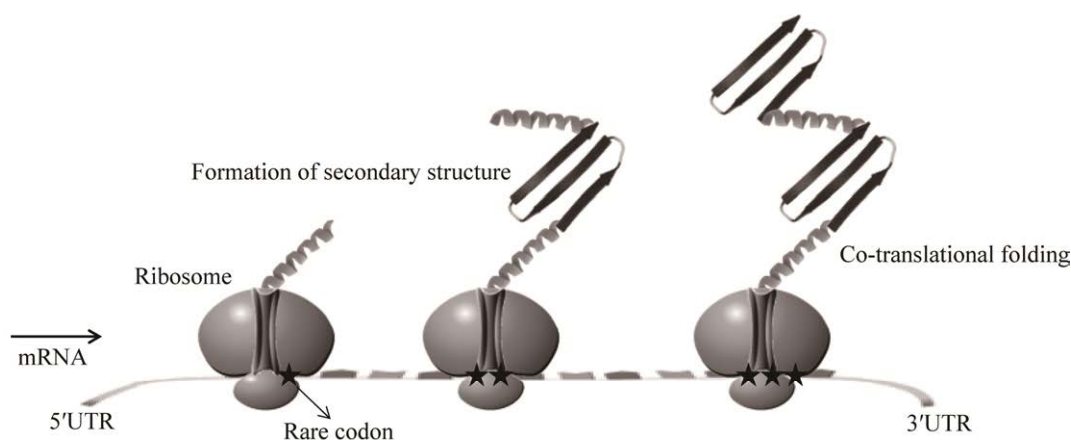


图3 共翻译折叠协助蛋白质正确折叠

Figure 3 Cotranslational folding helps proteins fold correctly.

是一个不容忽视的因素<sup>[16]</sup>。除了核糖体自身的一些特性,不同基因转录 mRNA 性质的多样性同样影响着蛋白质共翻译折叠。本团队发现同义密码子使用模式对 mRNA 稳定性的影响在共翻译折叠过程中发挥重要作用<sup>[17-19]</sup>。

### 1.2.3 同义密码子使用模式对蛋白折叠的影响

除了能够影响 mRNA 稳定性和核糖体翻译速率外,同义密码子作为核苷酸与氨基酸的桥梁纽带,同样携带蛋白质空间构象的遗传信息<sup>[20]</sup>。本团队在研究同义密码子使用模式对于不同病毒遗传特征的研究中发现,同义密码子使用偏嗜性与蛋白二级结构具有很明显的相关性<sup>[21-24]</sup>。不难发现,同义密码子使用模式对蛋白表达潜移默化的影响是基于宿主细胞不同种类 tRNA 丰度以及核糖体翻译速率变化来实现的。这也恰恰说明同义密码子使用模式参与了新生多肽的共翻译折叠的相关活动。此外,同义密码子在介导核糖体翻译速率改变过程中会发生一种类似核糖体碰撞的生物学现象。核糖体在翻译过程中如果发生相互碰撞,则可以引发新生多肽链合成中止甚至翻译终止<sup>[25]</sup>。而在 mRNA 中,非优势同义密码子的散在分布有助于蛋白产物的正确折叠。例如,虽然通过优化同义密码子来提高外源基因在大肠杆菌工程菌中的表达水平,但是缺少劣势密码子的外源基因明显表现出蛋白产物生物功能活性的衰弱。生物体在面对蛋白折叠异常状况能够及时通过一些转录调控或者翻译后调控机制来尽量维持蛋白质稳态<sup>[25-27]</sup>。因为正如上文所述,APR 区域有优势密码子富集,导致在翻译的过程中,核糖体翻译速率提高能够增加核糖体之间发生碰撞的几率,最终促进蛋白分子间折叠的形成。这些生物学现象能够反映同义密码子使用模式介导 mRNA 在蛋白质稳态中发挥重要作用<sup>[28]</sup>。

### 1.2.4 分子伴侣对蛋白质稳态的影响

众所周知,分子伴侣是一类监督新生多肽正确折叠的保守蛋白质(例如,脯氨酸-脯氨酰异构酶 Hsp90 家族和 Hsp70 与伴侣家族蛋白成员)。那么在蛋白质稳态中发挥重要作用的是 Hsp70 和伴侣蛋白家族成员,其一方面可以封闭疏水序列,防止错误折叠,另一方面将末端错误的蛋白质引向适当的降解途径,通过这两种方式来维持蛋白质稳态<sup>[29]</sup>。以分子伴侣 Dnak 为例。当新生多肽链合成之后,Dnak 只能使部分多肽链自发形成天然构象;而另一部分新生多肽可以在 Dnak 的引导下进入伴侣素 GroEL 中借助能量供给来推动蛋白质天然构象的形成<sup>[30]</sup>。同时在上文中所提到的 GKs 会促进分子伴侣的识别作用,进而实现自身功能。不仅如此,分子伴侣通过平衡蛋白质折叠、质量控制和翻译材料周转实现维持蛋白质稳态<sup>[31]</sup>(图 4)。

分子伴侣是维持蛋白质平衡网络的重要环节。虽然不同分子伴侣发挥的功能不尽相同,但是主要作用机制通过自身疏水区活性结构域特异性识别折叠异常蛋白质,以确保其正确折叠,从而发挥生物学功能。与上文提到的多肽序列中 GKs 限制 APR 介导蛋白之间聚集的作用原理不同,分子伴侣能够屏蔽蛋白质自身的疏水区来防止蛋白质之间的聚集。实际上,这种作用方式也是动力学划分的一种形式,其主要在天然折叠和聚集状态之间保持了较大的折叠自由能壁垒。此外,一个重要的生物学活性是,分子伴侣与靶蛋白互作可降低局部蛋白浓度,进而减少新生蛋白质正确折叠之前遇到其他新生蛋白质的机会,从而减少聚集。分子伴侣介导异常折叠新生多肽重新线性化,这有利于新生多肽自发正确折叠的进行,降低蛋白质之间自发聚集的概率<sup>[32]</sup>。在分子伴侣介导新生多肽空间构象形成的过程中,相关生物学效应



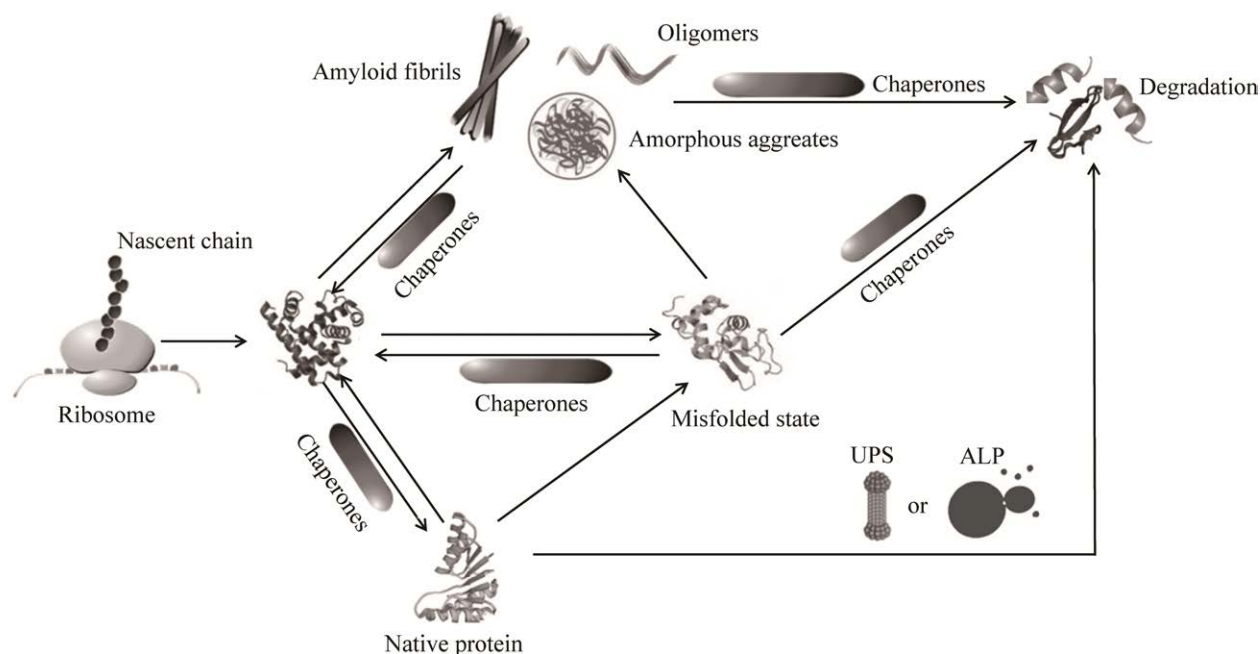


图 4 分子伴侣在蛋白质平衡网络中发挥的重要作用 UPS: 泛素-蛋白酶体系统; ALP: 自噬-溶酶体系统

Figure 4 Molecular chaperones play an important role in protein balancing networks. UPS: Ubiquitin-proteasome system; ALP: Autophagy-lysosomal pathway.

也促进了蛋白质亚稳态的形成。可以说, 分子伴侣是折叠催化剂, 因为它们并不是最终折叠的一部分, 因而不会影响蛋白质折叠热力学。通过与 APR 结合, 伴侣蛋白不仅可以组织聚合从而增加折叠产量, 而且在某些情况下可能会通过破坏未折叠和部分错误折叠构象的基态稳定性来增加折叠速率。因此, 通过结合 APR 和控制疏水表面, 伴侣蛋白不仅是天然折叠和淀粉样聚集之间的动力学分隔者, 而且通过平滑天然折叠区域, 从而提高蛋白质折叠产量和产率。综上所述, 几类伴侣蛋白在其侧面有正电荷的残基时, 特别优先考虑疏水段。而且最近一些研究发现, 由于这种结合偏好, 伴侣蛋白可以识别由于把关不力而最有可能聚集的 APR<sup>[33]</sup>。这表明 GK 与分子伴侣之间存在协同进化, 甚至通过带正电荷的 GK 和分子伴侣的

协同作用, 使 APR 保护不足的蛋白质也达到适当的细胞浓度。

除了上述明确的分子伴侣调控作用, 还有研究表明密码子使用会影响蛋白质动态平衡网络中分子伴侣的功能, 而分子伴侣又是蛋白质稳态的核心调控物质, 因此密码子使用会通过影响分子伴侣进而影响蛋白正确折叠, 最终可能导致疾病的发生。分子伴侣在促进新生多肽形成正确空间构象过程中发挥不可忽视的作用。有学者指出, 同义密码子使用模式影响新生多肽链折叠的生物遗传学效应一定程度上强于分子伴侣对多肽折叠的纠正能力<sup>[34]</sup>。在分子伴侣的参与下, 同义密码子介导核糖体翻译速率能够在指导高分子量且结构复杂的新生多肽链有效形成天然构象, 而这也能够为临床治疗开辟一些治疗新思路。

### 1.3 蛋白质降解

内质网是负责细胞蛋白翻译后修饰和折叠的场所。新生多肽在内质网中翻译后修饰和折叠过程中,由于内、外源因素干扰,新生多肽运输受到阻碍、折叠出现异常将使未折叠和错误折叠蛋白在内质网中累积,最终引起内质网应激效应。通过内质网应激,内质网维持稳态,确保正确折叠蛋白继续进行翻译后修饰。但是,折叠异常或错误的蛋白质会通过内质网相关蛋白降解(endoplasmic reticulum associated protein degradation, ERAD)进行蛋白酶体降解,这就是未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)<sup>[35-37]</sup>。目前研究表明,内质网至少包含3种指导蛋白正确折叠的机制:(1) HSP70 分子伴侣 BiP/GRP78/Kar2p 和 Lhs1p/GRP170/ORP150;(2) HSP90 分子伴侣 GRP94;(3) 凝集素分子伴侣钙联接蛋白、钙网蛋白和钙镁蛋白。上述3种保护机制均与未折叠蛋白反应相关,能够引发特定的细胞内信号通路,以保护内质网应激。未折叠蛋白反应是一种保守系统信号发生途径,是内质网的检测器。当内质网受到内外源性因素影响而使得错误折叠和未折叠的蛋白质在内质网中累积过多时,UPR 会帮助缓解内质网的压力,使蛋白质的生物合成减少,内质网的降解功能增强,从而降低内质网负担,继而保持内质网稳态,维持细胞内稳态<sup>[38-39]</sup>。内质网应激主要由蛋白肌醇需求酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1)、蛋白激酶 R 样内质网激酶[protein kinase R (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase, PERK]和激活转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6)识别,启动保护反应。例如,IRE1 主要通过介导 mRNA 降解来影响内质网中蛋白质合成水平。除了内质网应

激最终可以通过自噬-溶酶体途径对蛋白质进行降解,上文所提到的核糖体质量控制,即会招募 E3 泛素连接酶对蛋白质进行降解。分子伴侣部分最终也将蛋白质归于这两种途径进行降解,进而维持蛋白稳态。但是这些蛋白质降解大多数均与目标蛋白在合成或者折叠过程中出现异常密切相关,这也是蛋白质合成、折叠域降解不可割裂研究的原因。

### 1.4 其他因素

同义密码子使用模式在影响 mRNA 稳定性上发挥着重要作用<sup>[40]</sup>。mRNA 的稳定性关乎待合成多肽链共翻译折叠机制的正确进行。目前核糖体翻译 mRNA 过程中容易出现3种影响 mRNA 稳定性的生物现象,即无义降解(nonsense mediated decay, NMD)、翻译阻滞降解(no-go decay, NGD)及通读降解(nonstop decay, NSD)。其中, NMD 是由于 mRNA 的开放阅读框(open reading frame, ORF)同义密码子由于核苷酸突变从有义密码子转变为提前终止密码子(premature termination codon, PTC),核糖体翻译并识别 PTC 后会招募 eRF1-eRF3-GTP 复合物来水解肽酰-tRNA 之间的化学键,从而终止翻译并降解 mRNA; NGD 主要的成因是同义密码子使用模式造成 mRNA 局部编码区形成折叠能很高的二级结构,严重阻滞核糖体对其解旋翻译,而无法继续翻译的核糖体将最终招募核酸内切酶降解 mRNA; 通读降解的主要成因就是终止密码子突变成有义密码子,核糖体无法翻译识别正确的翻译终止位点,继续对 3'非编码区进行翻译编码,错误的翻译将招募核酸内切酶降解 mRNA。因此,当翻译过程中出现影响 mRNA 稳定性的因素时,就会通过上述3种途径对错误翻译或折叠的 mRNA 进行降解,进而维持蛋白稳态。



## 2 蛋白质稳态与疾病

蛋白质稳态失衡可能导致大量蛋白质以聚集态的形式存在。研究表明,蛋白质聚集并非毫无活性可言,而是在漫长的遗传进化中以蛋白质亚稳态的形式存在于细胞中。生命的本质最重要的组成部分就是蛋白质生活学活性的展示。一旦蛋白质稳态异常,会导致过量无活性或者活性异常蛋白质在细胞中堆积,导致细胞活性异常造成疾病发生(例如神经退行性疾病等)<sup>[41-42]</sup>。许多与年龄有关的疾病的标志是蛋白质平衡网络的失衡导致的聚集体的增加。例如衰老可以改变翻译动力学,通过导致核糖体停滞加剧使蛋白质稳态失衡,提高诸如阿尔茨海默病和帕金森病等的风险。在正常细胞中,由分子伴侣和蛋白水解机制及其调节因子组成的复杂蛋白平衡网络运行确保维持蛋白质平衡。而蛋白质平衡网络失衡将导致蛋白质组完整性下降。由此产生的错误折叠和聚集蛋白质的积累尤其影响有丝分裂后细胞类型,如神经元、毒性蛋白聚集物以神经元外和/或神经元内包裹体的形式积累,确实是神经退行性疾病的病理标志<sup>[43]</sup>。除了引起上述年龄相关疾病外,蛋白质稳态失衡还与 II 型糖尿病和一些系统性淀粉样变性相关疾病有关<sup>[44]</sup>。

除了上述的疾病以外,蛋白质稳态失衡和线粒体功能障碍与衰老及其相关疾病发生相关。蛋白质稳态、线粒体功能和细胞衰老之间关系的建立为今后深入研究衰老及相关疾病提供了新思路 and 方向<sup>[45]</sup>。这也给疾病领域研究人员一些启发:特定疾病的发生可能是在两个或多个系统之间相互协调或者拮抗中发生发展的,从而扩大药物研发过程中潜在靶点的范围。不仅如此,蛋白质稳态甚至直接与神经元直接相关,研究人员表明,稳态失衡导致阿尔茨海默

病(Alzheimer's disease, AD)并影响神经回路功能导致睡眠障碍。例如 tau 蛋白病症破坏了调节睡眠-觉醒周期的神经元,并在行为上表现出慢波和快速眼动睡眠模式受损。而随后的睡眠不足和昼夜节律紊乱会通过损伤蛋白酶体、自噬、未折叠蛋白反应和淋巴清除,进而增加  $\beta$ -淀粉样蛋白和 tau 蛋白的传播<sup>[46]</sup>。因此,针对 tau 蛋白的药物设计就给相关疾病的临床治疗提供了新靶点。由此可见蛋白质在体内的动态平衡是生命体健康发生发展的基础,对其中的一些精细调控的机制研究对人类健康意义重大。

## 3 总结与展望

本文主要总结了近年来与蛋白质稳态相关的一些调控机制,以及一些机制之间如何相互协调来维护这种动态平衡。当前对于蛋白质稳态的相关研究主要集中在当机体受到内外源性刺激时,有哪些调控机制将失衡归于平衡。但是这些机制中还有很多的相关调控因子以及各机制之间如何协调发挥作用的相关研究还不清楚,并且当出现刺激时,哪个“监督保护”机制优先发挥作用,且如果一个机制出现障碍时是否其他机制会尽快补缺来维持平衡的相关研究也较少。本团队一直以来从事同义密码子使用模式对翻译、mRNA 稳定性、蛋白质二级结构以及多肽合成等的影响的研究。试验过程中发现对生命活动至关重要的蛋白质在形成的过程中受到不利因素影响会造成蛋白质稳态失衡,从而导致生物学功能的丧失。因此机体有一系列的“监督保护”措施,来维持蛋白质动态平衡。鉴于此,本文结合先前的研究基础,综述了蛋白质动态平衡的维稳机制,为蛋白质相关疾病如神经退行性疾病的治疗以及蛋白表达等相关研究提供思路,并为相关试验和临床治疗提供参考。

## REFERENCES

- [1] HIPPE MS, KASTURI P, HARTL FU. The proteostasis network and its decline in ageing[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20(7): 421-435.
- [2] FILBECK S, CERULLO F, PFEFFER S, JOAZEIRO CAP. Ribosome-associated quality-control mechanisms from bacteria to humans[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(8): 1451-1466.
- [3] ANFINSEN CB. Principles that govern the folding of protein chains[J]. *Science*, 1973, 181(4096): 223-230.
- [4] DISHMAN AF, VOLKMAN BF. Unfolding the mysteries of protein metamorphosis[J]. *ACS Chemical Biology*, 2018, 13(6): 1438-1446.
- [5] HOUBEN B, ROUSSEAU F, SCHYMKOWITZ J. Protein structure and aggregation: a marriage of necessity ruled by aggregation gatekeepers[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2022, 47(3): 194-205.
- [6] SUN-WANG JL, IVANOVA S, ZORZANO A. The dialogue between the ubiquitin-proteasome system and autophagy: implications in ageing[J]. *Ageing Research Reviews*, 2020, 64: 101203.
- [7] MERCIER R, la POINTE P. The role of cellular proteostasis in antitumor immunity[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2022, 298(5): 101930.
- [8] JOAZEIRO CAP. Mechanisms and functions of ribosome-associated protein quality control[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20(6): 368-383.
- [9] GAMERDINGER M. Protein quality control at the ribosome: focus on RAC, NAC and RQC[J]. *Essays in Biochemistry*, 2016, 60(2): 203-212.
- [10] MASSON GR. Towards a model of GCN2 activation[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2019, 47(5): 1481-1488.
- [11] AUGUSTO L, AMIN PH, WEK RC, SULLIVAN IR WJ. Regulation of arginine transport by GCN2 eIF2 kinase is important for replication of the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*[J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(6): e1007746.
- [12] YAN LL, ZAHER HS. Ribosome quality control antagonizes the activation of the integrated stress response on colliding ribosomes[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(3): 614-628.e4.
- [13] de BAETS G, SCHYMKOWITZ J, ROUSSEAU F. Predicting aggregation-prone sequences in proteins[J]. *Essays in Biochemistry*, 2014, 56: 41-52.
- [14] WU QS, MEDINA SG, KUSHAWAH G, DeVORE ML, CASTELLANO LA, HAND JM, WRIGHT M, BAZZINI AA. Translation affects mRNA stability in a codon-dependent manner in human cells[J]. *eLife*, 2019, 8: e45396.
- [15] WAUDBY CA, BURRIDGE C, CABRITA LD, CHRISTODOULOU J. Thermodynamics of co-translational folding and ribosome-nascent chain interactions[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2022, 74: 102357.
- [16] VU QV, JIANG Y, LI MS, O'BRIEN EP. The driving force for co-translational protein folding is weaker in the ribosome vestibule due to greater water ordering[J]. *Chemical Science*, 2021, 12(35): 11851-11857.
- [17] MAUGER DM, CABRAL BJ, PRESNYAK V, SU SV, REID DW, GOODMAN B, LINK K, KHATWANI N, REYNDERS J, MOORE MJ, McFADYEN IJ. mRNA structure regulates protein expression through changes in functional half-life[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(48): 24075-24083.
- [18] LYU XL, YANG Q, ZHAO FZ, LIU Y. Codon usage and protein length-dependent feedback from translation elongation regulates translation initiation and elongation speed[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(16): 9404-9423.
- [19] 李易聪, 蒲飞洋, 王慧慧, 程燕, 李倬, 马忠仁, 周建华. 同义密码子使用偏嗜性对 mRNA 半衰期及翻译调控的影响[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(3): 882-892.
- LI YC, PU FY, WANG HH, CHENG Y, LI Z, MA ZR, ZHOU JH. Effects of synonymous codon usage bias on mRNA half-life and translational regulation[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(3): 882-892 (in Chinese).
- [20] LYU XL, LIU Y. Nonoptimal codon usage is critical for protein structure and function of the master general amino acid control regulator CPC-1[J]. *mBio*, 2020, 11(5): e02605-e02620.
- [21] GAO MY, YANG XY, WU YH, WANG JQ, HU XY, MA ZR, ZHOU JH. Analysis for codon usage bias in membrane anchor of nonstructural protein 5A from BVDV[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2023, 63(10): 1106-1114.
- [22] GE ZY, LI XR, CAO XA, WANG R, HU W, GEN L,

- HAN SY, SHANG YJ, LIU YS, ZHOU JH. Viral adaption of staphylococcal phage: a genome-based analysis of the selective preference based on codon usage bias[J]. *Genomics*, 2020, 112(6): 4657-4665.
- [23] MA XX, WANG YN, CAO XA, LI XR, LIU YS, ZHOU JH, CAI XP. The effects of codon usage on the formation of secondary structures of nucleocapsid protein of peste des petits ruminants virus[J]. *Genes & Genomics*, 2018, 40(9): 905-912.
- [24] ZHOU JH, YOU YN, CHEN HT, ZHANG J, MA LN, DING YZ, PEJSACK Z, LIU YS. The effects of the synonymous codon usage and tRNA abundance on protein folding of the 3C protease of foot-and-mouth disease virus[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2013, 16: 270-274.
- [25] STEIN KC, MORALES-POLANCO F, van der LIENDEN J, RAINBOLT TK, FRYDMAN J. Ageing exacerbates ribosome pausing to disrupt cotranslational proteostasis[J]. *Nature*, 2022, 601(7894): 637-642.
- [26] CHANEY JL, STEELE A, CARMICHAEL R, RODRIGUEZ A, SPECHT AT, NGO K, LI J, EMRICH S, CLARK PL. Widespread position-specific conservation of synonymous rare codons within coding sequences[J]. *PLoS Computational Biology*, 2017, 13(5): e1005531.
- [27] ZHAO FZ, ZHOU ZP, DANG YK, NA H, ADAM C, LIPZEN A, NG V, GRIGORIEV IV, LIU Y. Genome-wide role of codon usage on transcription and identification of potential regulators[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(6): e2022590118.
- [28] 蒲飞洋, 李易聪, 王慧慧, 冯茜莉, 李倬, 马忠仁, 周建华. 同义密码子使用模式对蛋白产物表达及构象形成的影响[J]. *中国生物工程杂志*, 2022, 42(3): 91-98.
- PU FY, LI YC, WANG HH, FENG XL, LI Z, MA ZR, ZHOU JH. Effects of synonymous codon usage patterns on protein product expression and conformation formation[J]. *China Biotechnology*, 2022, 42(3): 91-98 (in Chinese).
- [29] KIM YE, HIPPE MS, BRACHER A, HAYER-HARTL M, ULRICH HARTL F. Molecular chaperone functions in protein folding and proteostasis[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2013, 82: 323-355.
- [30] HAYER-HARTL M, BRACHER A, HARTL FU. The GroEL-GroES chaperonin machine: a nano-cage for protein folding[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2016, 41(1): 62-76.
- [31] FREILICH R, ARHAR T, ABRAMS JL, GESTWICKI JE. Protein-protein interactions in the molecular chaperone network[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2018, 51(4): 940-949.
- [32] BIN KWON S, RYU K, SON A, JEONG H, LIM KH, KIM KH, SEONG BL, CHOI SI. Conversion of a soluble protein into a potent chaperone *in vivo*[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 2735.
- [33] HOUBEN B, MICHIELS E, RAMAKERS M, KONSTANTOULEA K, LOUROS N, VERNIERS J, van der KANT R, de VLEESCHOUWER M, CHICÓRIA N, VANPOUCKE T, GALLARDO R, SCHYMKOWITZ J, ROUSSEAU F. Autonomous aggregation suppression by acidic residues explains why chaperones favour basic residues[J]. *The EMBO Journal*, 2020, 39(11): e102864.
- [34] WALSH IM, BOWMAN MA, SOTO SANTARRIAGA IF, RODRIGUEZ A, CLARK PL. Synonymous codon substitutions perturb cotranslational protein folding *in vivo* and impair cell fitness[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(7): 3528-3534.
- [35] SO JS. Roles of endoplasmic reticulum stress in immune responses[J]. *Molecules and Cells*, 2018, 41(8): 705-716.
- [36] di CONZA G, HO PC. ER stress responses: an emerging modulator for innate immunity[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 695.
- [37] GHEMRAWI R, KHAIR M. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in neurodegenerative diseases[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6127.
- [38] HETZ C, ZHANG KZ, KAUFMAN RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(8): 421-438.
- [39] HETZ C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, 13(2): 89-102.
- [40] BAE H, COLLIER J. Codon optimality-mediated mRNA degradation: linking translational elongation to mRNA stability[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(8): 1467-1476.
- [41] VECCHI G, SORMANNI P, MANNINI B, VANDELLI A, TARTAGLIA GG, DOBSON CM, HARTL FU,

- VENDRUSCOLO M. Proteome-wide observation of the phenomenon of life on the edge of solubility[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(2): 1015-1020.
- [42] CIRYAM P, ANTALEK M, CID F, TARTAGLIA GG, DOBSON CM, GUETTSCHEK AK, EGGERS B, VORGERD M, MARCUS K, KLEY RA, MORIMOTO RI, VENDRUSCOLO M, WEIHL CC. A metastable subproteome underlies inclusion formation in muscle proteinopathies[J]. *Acta Neuropathologica Communications*, 2019, 7: 197.
- [43] LUALDI M, ALBERIO T, FASANO M. Proteostasis and proteotoxicity in the network medicine era[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6405.
- [44] CHITI F, DOBSON CM. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2017, 86: 27-68.
- [45] LI YJ, XUE YH, XU XJ, WANG GP, LIU YQ, WU H, LI WH, WANG YY, CHEN ZH, ZHANG WL, ZHU YS, JI W, XU T, LIU L, CHEN Q. A mitochondrial FUNDC1/HSC70 interaction organizes the proteostatic stress response at the risk of cell morbidity[J]. *The EMBO Journal*, 2019, 38(3): e98786.
- [46] MORRONE CD, RAGHURAMAN R, YU WH. Proteostasis failure exacerbates neuronal circuit dysfunction and sleep impairments in Alzheimer's disease[J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2023, 18(1): 27.

(本文责编 陈宏宇)