研究揭示缩胆囊素受体识别配体和G蛋白选择性的分子机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/15900.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

9月23号，中国科学院上海药物研究所研究员蒋轶/徐华强团队、赵强团队、吴蓓丽团队、王明伟/杨德华团队和上海科技大学研究员赵素文团队在*Nature Chemical Biology*上，背靠背在线发表了题为*Ligand recognition and G protein-coupling promiscuity of cholecystokinin A receptor*和*Structures of the human cholecystokinin receptors bound to agonists and antagonists*的两项研究成果，解析了2种小分子拮抗剂（Devazepide、Lintitript）和激动剂NN9056与A型人源缩胆囊素受体（Cholecystokinin receptor，CCK_AR）结合的3个晶体结构，以及多肽激素CCK-8的CCK_AR分别与3种不同G蛋白（G_s、G_i、G_q）偶联复合物和多肽Gastrin-17分别与B型缩胆囊素受体（CCKBR）和两种G蛋白（G_i、G_q）形成复合物的5个冷冻电镜结构。两项研究揭示了多种多肽和小分子配体特异性识别缩胆囊素受体亚型的结构基础，阐明了配体选择性和受体活化的分子机制，破解了CCK_AR选择性偶联不同G蛋白的奥秘，从而为靶向该类受体的药物研发提供了重要信息。

缩胆囊素（Cholecystokinin, CCK）是胃肠激素之一。CCK和胃泌素（Gastrin）是酪氨酰磺酸化多肽家族成员，具有保守的羧基末端八肽序列。两者在胃肠道和中枢神经系统中含量丰富，通过与缩胆囊素受体结合发挥激素调节和神经递质的作用。缩胆囊素受体包括A和B两个亚型（CCK_AR和CCK_BR），属于A类G蛋白偶联受体（GPCR）。CCK_AR特异性识别磺酸化的CCK，而CCK_BR对磺酸化和非磺酸化的CCK和Gastrin均有较强亲和力。这两类CCK受体参与调控的生理功能包括饱腹感、胰酶分泌和胆囊收缩，并与焦虑、记忆和药物成瘾等相关，因而是肥胖症、2型糖尿病和焦虑症等疾病的潜在治疗靶标。高选择

性CCK_A
R非肽类拮抗剂（如Devazepide和Lintitript）被开发用来治疗胃肠功能紊乱、神经性疼痛和胰腺癌等疾病，而其激动剂NN9056对肥胖症具有一定疗效。但由于低药效和生物利用度等问题，大多数靶向CCKR的候选药物终止于临床研究。因此，开展CCKR的结构与功能研究将深化对其配体识别机制的认识，助力相关新药的创制。 GPCR被配体激活后主要通过偶联细胞内的G蛋白进行信号转导。根据α亚基的不同，G蛋白可分为$G_{i/o}$、G_s、G_q
/11和G12/13d等四亚家族。虽然目前已报道了不同GPCR与其下游G蛋白结合的大量复合物结构，但受体如何精确识别这四种G蛋白尚不清
楚。由于CCK_A
R能够偶联这四种不同的G蛋白，因而成为研究GPCR与G蛋白选择性结合机制的模式受体。
第一项研究中，科研人员解析了磺酸化
CCK-8激活的CCK_AR与G_q、G_s和G_i蛋白偶联的复合物冷冻电镜结构，分辨率分别为2.9 埃、3.1 埃和3.2 埃（图1a）。结合结构分析和功能验证，该工作展示了内源多肽激素—磺酸化CCK-8（以下简称CCK-8）的结合模式：CCK-8的氨基末端由受体的三个胞外环（ECL）紧紧包裹，其羧基末端插入受体的正构口袋。科研人员还鉴定了识别CCK-8的关键氨基酸残基和磺酸化基团发挥CCK-8活性的关键位点：位于CCK_A
R上ECL2区域的R197与CCK-8第二位酪氨酸修饰的磺酸基通过盐键结合进而决定磺酸化多肽的高亲和力（图1b）。
此外，该研究也对CCK_AR选择性偶联G_q、G_s和G_i
的分子机理进行了阐述，并提出ICL3参与CCK_AR与G_q
偶联的新机制。科研人员发现，偶联三种不同G蛋白的受体呈现相似的激活构象，然而受体与不同G蛋白结合界面的面积显示G_q > G_s >
G_i的趋势。与之一致，CCK_AR与其主要下游信号蛋白G_q
偶联时产生的最大的激活效应（Emax）显著
高于G_s和G_i。上述结果支持G_q是CCK_A

$_q$、G_s和G_i蛋白α亚基α5螺旋的末端弯钩（Wavy
hook）是CCK_A
R对G蛋白选择性的参与者（图1c）。在CCK_AR与G_q
的复合物中，科研人员还发现CCK_A
R胞内环ICL3的I296与Gαq亚基的一个疏水结合口袋结合，这是首次在GPCR结构中观测到ICL3与Gα亚基的相互作用方式（图1d）。相反，由于Gαs和Gαi与Gαq在该疏水口袋残基组成的差异，CCK_AR的相应ICL3区域与G_s和G_i不存在该疏水作用，说明ICL3决定了G蛋白之选择性。
第二项研究中，科研人员解析了CCK_A
R与小分子拮抗剂Devazepide、Lintitript和激动剂NN9056结合的三个晶体结构，以及结合多肽Gastrin的CCK_BR分别与G_i和G_{qo}偶联的两个复合物冷冻电镜结构（图2a-
e）。该工作揭
示出多肽和小分子拮抗剂识别
CCKR的分子机制，发现ECL2是CCK_AR和CCK_B
R选择性识
别多肽配体的决定因
素。ECL2上的H207与多肽中D2形成的氢
键决定了CCK_B
R对CCK-8、CCK-8ns和Gastrin-17的高亲和力（图2f），而ECL2上的R197与多肽中Y7的磺酸基形成的盐键决定了CCK-8对CCCK$_A$

R的高选择性（图2g）。同时，科研人员还
发现N333$^{6.55}$和R336$^{6.58}$在CCK_A
R识别Devazepide和Lintitript过程中发挥了关键作用，为后继选择性靶向药物的开发奠定了基础。
此外，科研人员通过比对CCK_A
R结合拮抗剂Devazepide的结构、CCK_A
R结合激动剂NN9056的结构以及CCK_A
R同时结合激动剂CCK-8ns和G_q
蛋白的结构，结合分子动力学模拟实验，
阐释了CCK_A
R
逐步
激活的过
程。相对于拮抗剂
，激动剂在结合口袋中结合更深（图
2h），随后引起PIF和$F_{xx}CW_x$
P保守基序的变化（图2i和2j），进而导致受体胞内部分发生TM6和TM5向外以及TM7向内移动的激活态构象变化，从而揭示了CCK_AR逐步激活的分子机制。 研究工作得到国家重点研发计划、国家卫健委科技重大专项、国家自然科学基金委、中国科学院先导项目和上海市科技重大专项等的资助。 论文链接：1、2

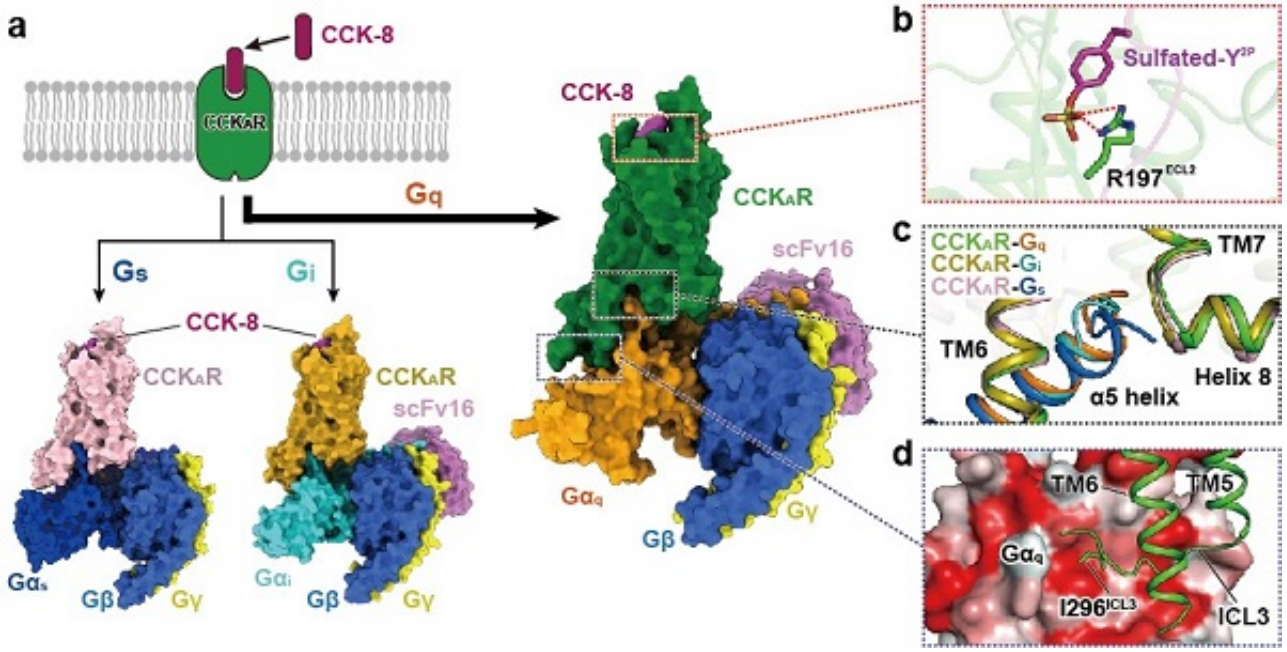


图1.内源多肽CCK-8活化的CCK_AR与和不同G蛋白偶联的冷冻电镜结构

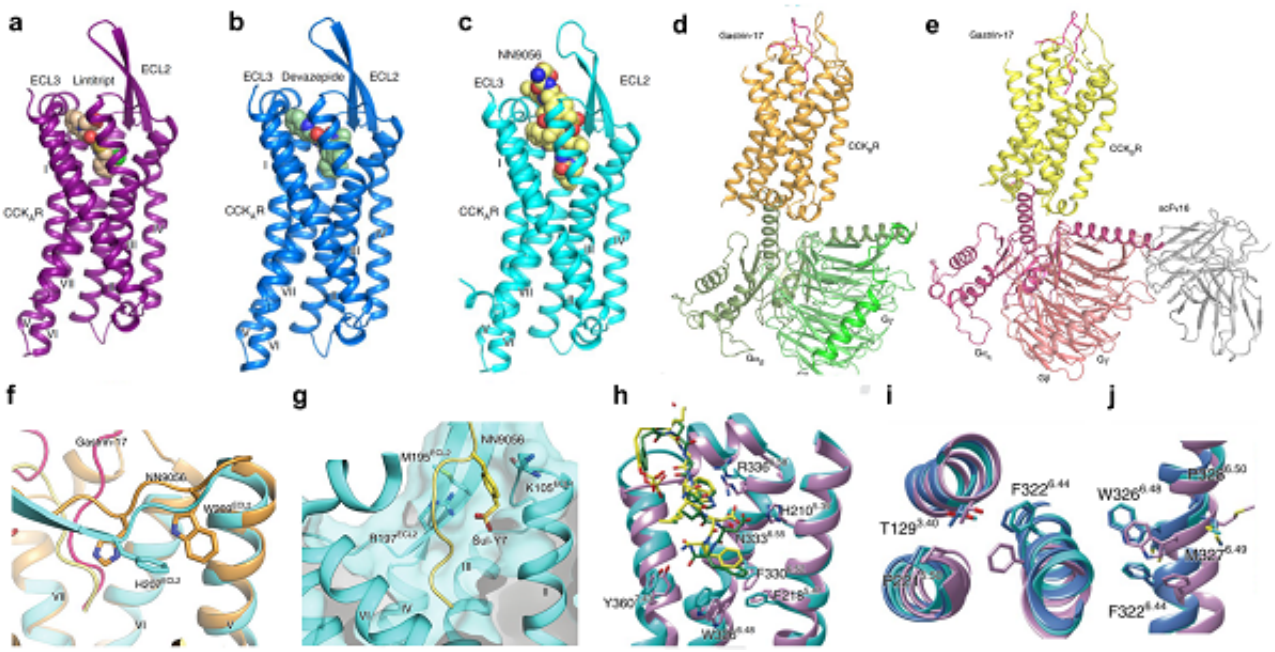


图2.CCKR分别与小分子拮抗剂和多肽激动剂结合的三维结构
研究团队单位：上海药物研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发