
上海药物所等解析人源松弛素胰岛素样肽受体4复合物三维结构

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/21790.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！

上海药物所等解析人源松弛素胰岛素样肽受体4复合物三维结构

人源松弛素/胰岛素样肽受体4 (Relaxin family peptide receptor 4, RXFP4) 为A类G蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR)，2003年首见于人类基因组数据库，2005年被证实为胰岛素样肽5 (Insulin-like peptide 5, INSL5) 的内源性受体。INSL5属于松弛素/胰岛素超家族。1999年，Conklin等在研究该超家族保守的B链半胱氨酸基序 (Motif) 时，通过检索人类表达序列标签 (Expressed sequence tags, EST) 数据库发现，二者均高表达于结直肠组织。INSL5/RXFP4还参与调控能量代谢、食欲调节和肠道蠕动等生理功能。目前，尚未解析RXFP4与内源性配体或活性小分子配体的复合物三维结构。

1月30日，复旦大学基础医学院讲席教授王明伟联合中国科学院上海药物研究所研究员柳红/杨德华领衔的团队，在《自然-通讯》 (*Nature Communications*) 上，在线发表了题为 *Ligand recognition mechanism of the human relaxin family peptide receptor 4 (RXFP4)*

的研究论文。该研究首次报道了RXFP4分别结合内源性配体INSL5、小分子RXFP4/RXFP3双激动剂Compound 4及小分子RXFP4选择性激动剂DC591053与G_i蛋白形成复合物的高分辨率冷冻电镜结构，阐明了INSL5独特的受体识别模式，揭示了Compound 4拟肽作用的关键位点和DC591053受体亚型选择性的分子机制。

合作团队利用大肠杆菌表达、高密度发酵和专有蛋白纯化技术批量生产INSL5，为结构解析奠定了坚实的物质基础。通过对柳红课题组已构建的四氢异喹啉类优势骨架化合物库进行药理活性筛选，以及基于四氢异喹啉母核开展多轮结构优化，研究发现了非肽类RXFP4选择性激动剂DC591053 ($pEC_{50} = 7.24 \pm 0.12$)。王明伟课题组和杨德华课题组在NanoBiT系连技术的助推下获得了分别与上述三种不同配体结合、颗粒均一和性状稳定的RXFP4 - G_i蛋白复合物，并通过300 kV冷冻电镜所拍摄的清晰图像和后续单颗粒三维重构，解析了分辨率各自为3.19埃、3.03埃和2.75埃的INSL5 - RXFP4 - G_i、Compound 4 - RXFP4 - G_i及DC591053 - RXFP4 - G_i三个复合物的分子结构 (图1)。

研究显示，RXFP4识别INSL5的方式不同于已报道的A类GPCR：INSL5 B链羧基末端的 α -螺旋深入受体跨膜域 (Transmembrane domain, TMD)，而A链则覆盖正构位点从而维持配体的完整性和结构稳定性。特别是B链羧基末端的R23^B与RXFP4上的E100^{2.63}

（右上标数字为Ballesteros – Weinstein编号，用于确定TMD氨基酸的相对位置）形成盐桥，而W24^B除了与T121^{3.32}、Q205^{5.39}和R208^{5.42}等残基形成众多极性作用网络外，亦可与W97^{2.60}及H299^{7.43}发生与受体激活密切关联的堆叠效应（图2）。人为突变E100^{2.63}、T121^{3.32}和R208^{5.42}导致INSL5完全失活，破坏W97^{2.60}、Q205^{5.39}和H299^{7.43}等残基也不同程度地影响了RXFP4的活化。

非选择性激动剂Compound

4能深入RXFP4的结合口袋，其胍基模拟I

NSL5的B链R23^B与RXFP4上的E100^{2.63}

形成盐桥，而吡啶母核则模拟W24B的吡啶环与周围残基形成广泛的相互作用；该小分子配体对RXFP4的激活能力在发生W97^{2.60}、E100^{2.63}、T121^{3.32}与H299^{7.43}等残基的突变后显著降低（图3a-b）。然而，选择性激动剂DC591053则展现了与Compound 4迥异的结合方式，其吗啉环占据RXFP4独特的配体结合口袋（图3c-d），在3.29、3.33、5.39、5.42和7.39等位点上（Ballesteros – Weinstein编号）与RXFP3的氨基酸差异明显，与亚型选择性相关（图3e）。上述成果得到了功能性实验数据的支持：置换RXFP3和RXFP4上述同源位点的氨基酸，Compound 4对RXFP4突变体L1183.29S+V1223.33S的作用没有显著变化，但DC591053的效价却降低20.9倍；较之Compound 4，DC591053激活Q205^{5.39}H和R208^{5.42}K等RXFP4突变体的能力也受到更大影响。

该工作有助于探索RXFP4的生理功能和开发高效的选择性RXFP4小分子激动剂，并有望提升科学家对胰岛素超家族成员多元识别相关受体的认知。研究工作得到国家自然科学基金委员会、科技部、国家卫生与健康委员会、中科院和上海市科学技术委员会等的支持。临港实验室、澳大利亚墨尔本大学等的科研人员参与研究。

[论文链接](#)

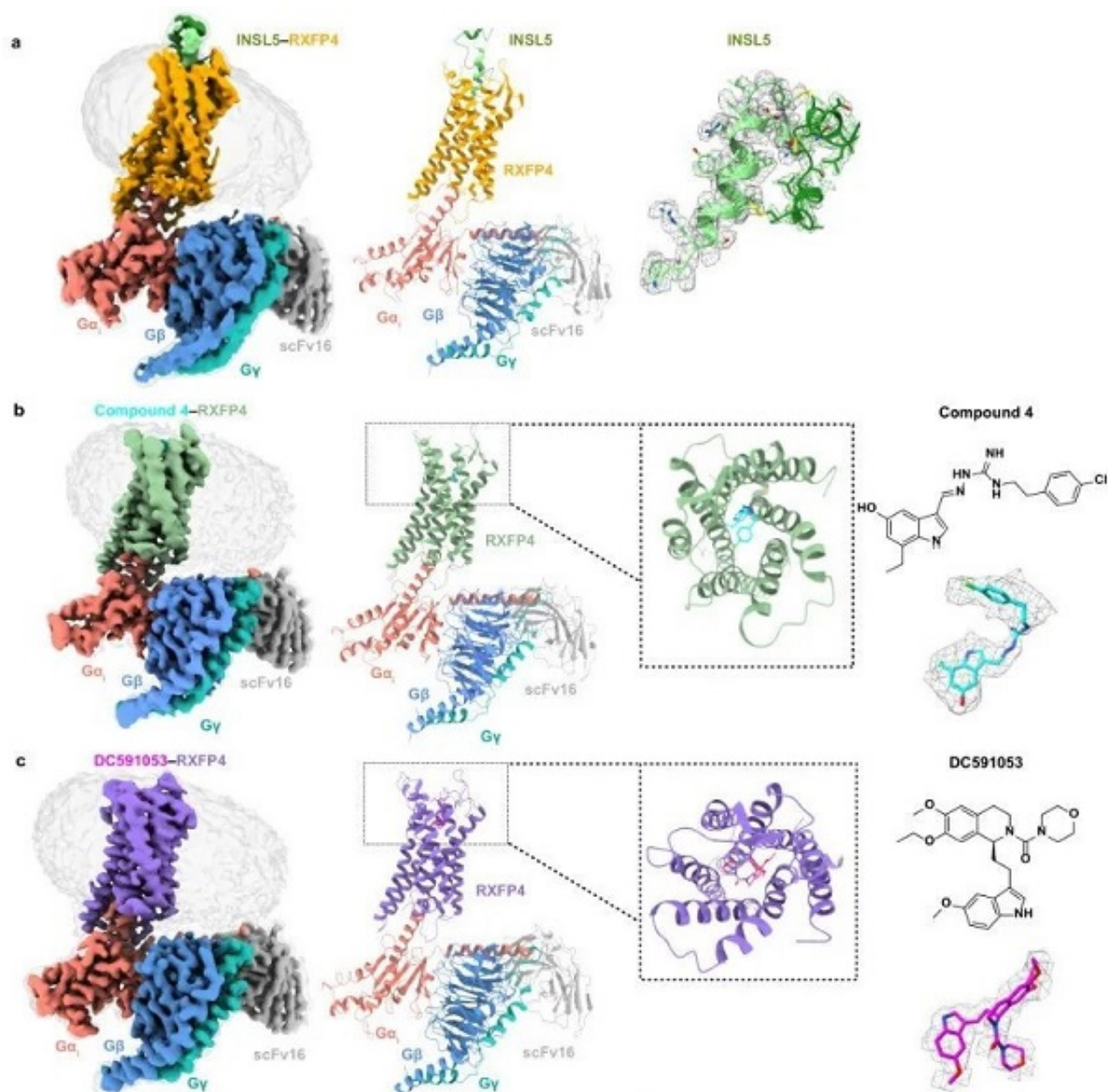


图1.RXFP4 – G_i分别结合INSL5、Compound 4和DC591053的冷冻电镜结构。a、 INSL5 – RXFP4 – G_i复合物结构；b、 Compound 4 – RXFP4 – G_i复合物结构及Compound 4的化学结构；c、 DC591053 – RXFP4 – G_i复合物结构及DC591053的化学结构。

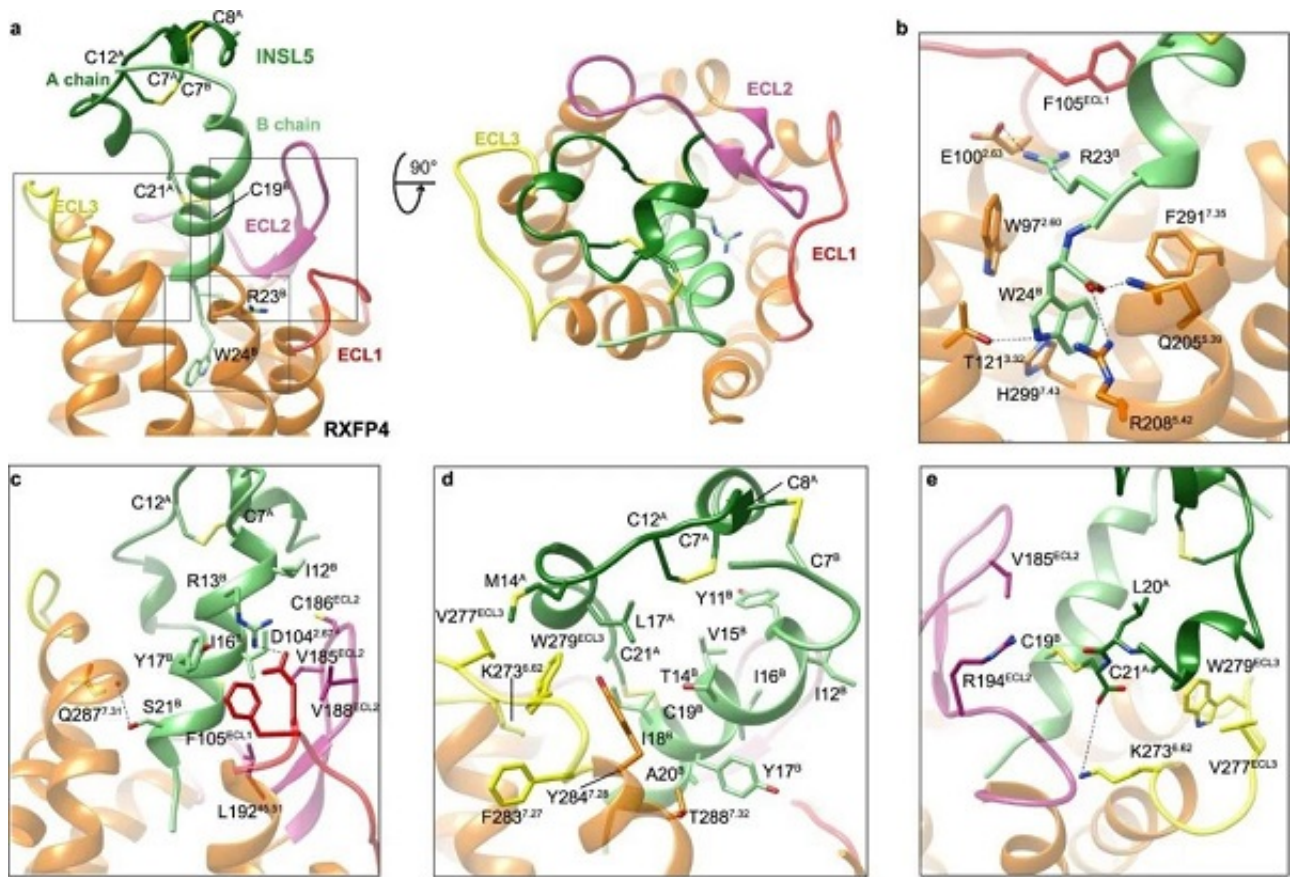


图2.RXFP4识别INSL5的结构基础。a、INSL5与RXFP4结合的整体示意图；b、INSL5的B链羧基末端R23^B和W24^B深入RXFP4的正构位点并形成多个极性相互作用；c-e、RXFP4胞外环参与INSL5的识别。

图3.小分子激动剂的拟肽作用及和DC591053选择性激活RXFP4的分子机制。a、Compound 4的结合口袋截面图；b、Compound 4与RXFP4的相互作用；c、DC591053特异性激活RXFP4；d、DC591053结合口袋截面图；e、小分子激动剂与受体相互作用模式示意。

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](https://www.iikx.com)转发