生物物理所揭示EBV致癌蛋白组装与激活机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/28203.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！

生物物理所揭示EBV致癌蛋白组装与激活机制。

7月11日，
中国科学院生物物理
研究所高璞、高光侠、张立国合作团队，在《细胞》（*Cell*）上发表了题为*Assembly and activation of EBV latent membrane protein 1*的研究论文。该研究报道了EBV（Epstein-Barr Virus）关键致癌蛋白潜伏期膜蛋白1（LMP1）自组装和组成性激活的分子基础，发现了LMP1以全新且与此前猜测完全不同的机制进行寡聚自组装，并通过巧妙方式高效招募下游因子，从而激活和维持致病信号的活化。该研究发现的新机制和新界面有望助力LMP1靶向干预策略的开发工作。

EBV是一种人类疱疹病毒，也
是首个被报道的人类肿瘤病毒。虽然
EBV通常不产生严重症状，但EBV感染有几率导致多种淋巴癌和上皮细胞癌。

LMP1是EBV编码的关键致癌蛋白。1985年，Elliott Kieff课题组首次报道LMP1单一蛋白表达即能够诱发B细胞的永生化，后续研究相继发现LMP1通过模拟CD40信号参与B细胞和上皮细胞增殖和早期癌变。与CD40不同，LMP1信号的激活不依赖任何配体，且LMP1介导的信号强度强于CD40。除了介导细胞转化和永生化，LMP1还参与调控多种重要生命活动，包括免疫应答、细胞因子和趋化因子分泌、细胞凋亡、细胞迁移、细胞互作、肿瘤侵袭和转移等。鉴于LMP1与EBV致病的高度关联性，以及LMP1在EBV相关恶性肿瘤中的广泛表达和分布，LMP1被认为是EBV阳性肿瘤鉴别诊断和靶向治疗的理想靶点。尽管目前对LMP1介导的下游功能已有较多认识，但作为产生多样性功能的核心前提即LMP1如何实现配体不依赖的组装和激活仍是难题，也是LMP1靶向干预策略开发的阻碍。

该研究利用共聚焦显微镜进行细胞成像，发现LMP1在生理表达水平下会在膜上呈现出明显的聚集形态。进一步的超分辨成像表明，LMP1的聚集是宽度较为固定但长度不均一的细条状结构。这表明LMP1可在膜上组装成有序的聚集体，但其分子层面的细节尚不清楚。为回答这一问题，科研人员计划解析LMP1在不同组装状态下的精细结构。然而，这一目标具有挑战性，原因在于性质良好的LMP1蛋白较难大量制备，LMP1核心跨膜区仅~20
KDa且几乎无可识别的稳定水溶区。

经过大量尝试，该研究解决了LMP1难表达、难纯化的问题。生化分析提示LMP1在溶液存在不同聚集状态。为辅助结构解析，该研究进一步开展了系统性LMP1抗体筛选，获得了能够稳定结合LMP1跨膜区的鼠源单抗。研究通过抗体辅助策略解析了LMP1两种聚集态结构——轴对称二聚体

和纤维状高聚体。LMP1单体以全新的方式进行跨膜区折叠，进而通过反向平行叠合形成稳定的二聚体结构；LMP1二聚体是其进行更高级组装的基本单元，多个二聚体以并行的方式自组装形成纤维状高聚结构。这些高分辨率的结构信息符合活细胞成像所观测到的独特聚集形态，从而在不同分辨率尺度上揭示了LMP1的膜上聚集机制。

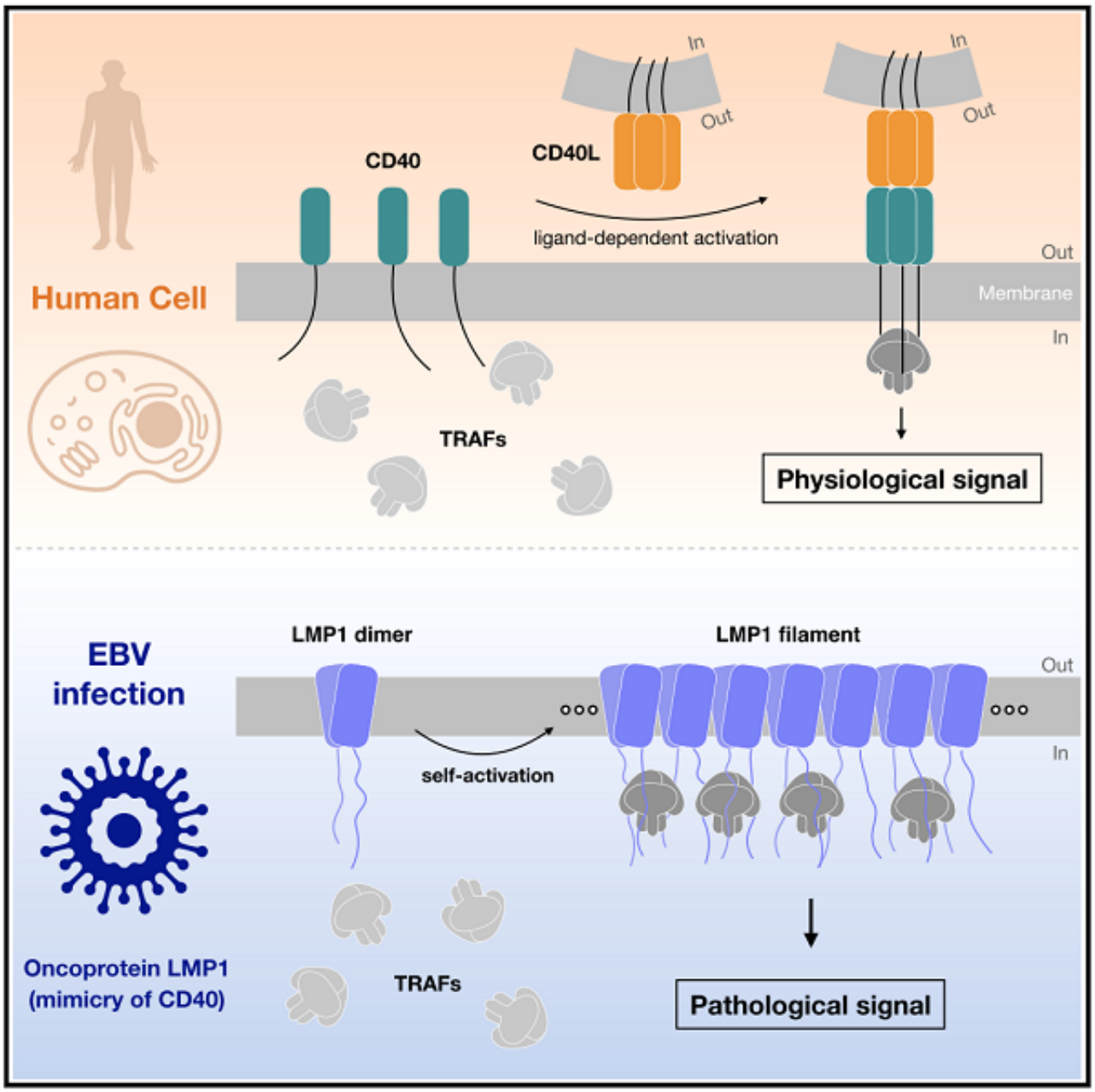
由于目前PDB数据库中尚无任何LMP1的同源结构，而LMP1多种状态的真实结构均与通过AlphaFold2/3等软件预测的结果不同。同时，这种差异体现在结构折叠的差异，并预测模型中的基本拓扑学走向亦是错误的。这提示在没有同源结构训练的情况下，对于预测结构的使用需格外谨慎。从另一个角度来说，该研究获得的LMP1多种聚集状态的真实结构，为后续预测训练提供了全新且独立的折叠方式及组装模式。

为进一步明确LMP1的功能形式，该工作对二聚体和寡聚体界面分别进行系统突变，发现其均会破坏LMP1在活细胞中的膜聚集形态，且均能阻断下游信号通路的活化。这证明了LMP1分子间互作的重要性，并明确了LMP1的寡聚纤维结构才是其真正的激活状态。超分辨成像结果表明，LMP1在膜上的自发形成的纤维状聚集包含几十至数百个LMP1二聚体单元。LMP1的这种聚集在很低蛋白水平下即可发生且随着LMP1含量增加，同时，多聚体的数量、强度和长度均显著增长。这是首次在较低表达水平下系统性观察到LMP1在膜上的超分辨动态聚集和组装。

作为LMP1的功能相关蛋白，宿主膜受体CD40的激活需依赖其配体介导的三聚体组装；LMP1和CD40共同的下游信号因子TRAF蛋白以三聚体形式发挥功能。因此，长期以来，普遍推测LMP1应是采用三聚体的方式来组装，这样才能更好地与下游因子进行衔接。然而，LMP1是以二聚体为单元进行并行方式的纤维自组装。那么，
LMP1是如何有效协调信号转导？分析发现，二聚体单元中的两个LMP1的C端，可以和邻近二聚体中一个LMP1的C端，在空间上呈现近似等边三角形的巧妙排列。由于C端延伸的水溶区负责招募下游因子，因而这种纤维自组装方式结构上等价于多个LMP1“ 三聚体 ”平行密集排列，从而能够比CD40更高效招募下游因子和进行信号转导。研究证实，如果将CD40 负责下游因子招募的C端水溶区连接到LMP1的跨膜区上，那么这种嵌合体蛋白的信号激活能力强于原始的CD40。同时，研究通过生化手段在体外重组LMP1与TRAF复合体，利用电镜直接观察到LMP1的纤维聚集可以同时招募多对TRAF三聚体。LMP1这种多位点且组成性的下游蛋白招募、激活方式，促进了信号转导强度，并有效维系了持续的增殖、癌变信号。

研究工作得到国家自然科学基金委员会、科学技术部、中国科学院以及北京市等的资助。相关实验得到生物物理所蛋白质科学研究平台的支持。

论文链接



CD40与LMP1的不同激活机制

研究团队单位：生物物理研究所

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