

人TNF α 分子N末端、C末端结构的修饰与生物活性的关系

常金丽, 李新, 何晓龙, 吕群, 喻红, 蔡武城, 李昌本, 赵寿元

复旦大学遗传学研究所; 上海 200433

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要 通过对人肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α)—TNF α 分子的N末端第4、5、10位以及C末端第157位氨基酸的修饰,由TNF α 原型序列Ser(4)、Ser(5)、……Asp(10)改为Cys、Thr、……Arg,C末端157位Leu改为Phe,研究了TNF α 分子结构改变与其生物活性的关系。从TNF α 分子的一级结构和高级结构得知,分子的N末端可能参与对受体的识别,而C末端对稳定TNF α 分子的活性形式—三聚体起主要作用,因而将分子修饰部位选在N、C末端。采用PCR定位突变方法,构建了TNF α 衍生物10(TNF α derivative 10—TNF α D10)的表达载体,观察两个部位数个氨基酸改变后对整个TNF α 分子生物活性的影响。实验结果表明:N、C末端数个氨基酸的置换并未明显提高TNF α 的表达量,但却提高了其体外细胞毒功能,为原型TNF α 的1.0倍左右。原因可能系N末端第4位由丝氨酸改成半胱氨酸,使TNF α D10的表达产物呈多聚体状态。HPLC检测示表达产物为三聚体单一峰,在SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳还原条件下仍可见到三聚体的蛋白条带为以上推测提供了证据。此外,由于C末端第157位由原型TNF α 的亮氨酸改为苯丙氨酸,计算机模拟TNF α 空间结构图提示,苯环可能有空间阻碍作用,使表达的TNF α D10稳定性有所下降。

关键词 [肿瘤坏死因子衍生物](#) [PCR定位突变](#) [蛋白质构效关系](#)

分类号

Relationship Between the Structure-modified N-and C-Termini and the Biological Activity of TNF α Molecule

Chang Jinli,Li Xin,He Xiaolong,Lu Qun,Yu Hong,Cai Wucheng,Li Changben,Zhao Shouyuan

(Institute of Genetics,State Key laboratory of Genetic Engineering,Fudan University,Shanghai 200433)

Abstract

In order to elucidate the relationship between N-、C-termini of TNF α and it's biological activity, a TNF α derivative 10(TNF α D10) was prepared by changing amino acid at the N-terminus positions Ser(4)、Ser(5)、Asp(10) and C-terminus position Leu(157) to mutagenesi. The results showed that the expression level of this muitein has not altered but its cytotoxic activity increased. This might result from trimer formation of TNF α D10 by changing N-terminal Ser(4) residue to Cys. HPLC showed that the molecular weight of TNF α D10was 17kD,35kD,55kD respectively. In addition, we also found that the stability of TNF α D10 was less than that of TNF α when to be stored at-20 $^{\circ}$ C for two months.It might be caused by changing Leu(157)to Phe(157).

Key words [Tumor necrosis factor a derivative](#) [PCR site-directed mutagenesis](#) [Structure-function relationship in protein](#)

DOI:

通讯作者

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(1261KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献](#)

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

- ▶ [本刊中 包含 “肿瘤坏死因子衍生物” 的相关文章](#)
- ▶ [本文作者相关文章](#)

- [常金丽](#)
- [李新](#)
- [何晓龙](#)
- [吕群](#)
- [喻红](#)
- [蔡武城](#)
- [李昌本](#)
- [赵寿元](#)