

# PCSK9 蛋白在动脉粥样硬化中的作用

- 报告人：黄雷
- 小组：G10
- 成员：丛丽丽、黄雷、金红、姜霁珊

# PCSK9蛋白来源

- PCSK9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) /NARC-1(neural apoptosis regulated convertase)
- 蛋白质中包含一个肽酶S8结构域，属于肽酶S8家族。  
它是哺乳动物蛋白前体转化酶家族中的第九个成员，该蛋白家族与枯草杆菌蛋白同源。
- 前七个成员：PC1/PC3、PC2、furin，PC4、PACE4、PC5/PC6、PC7/LPS 是碱性氨基酸特异性转化酶。  
后两个成员：SKI-1/S1P、NARC-1/PCSK9在非碱性氨基酸残基处具有切割酶活性。

# 组织表达谱

在肝脏、胰脏、神经瘤、结肠癌等细胞系中稳定表达。

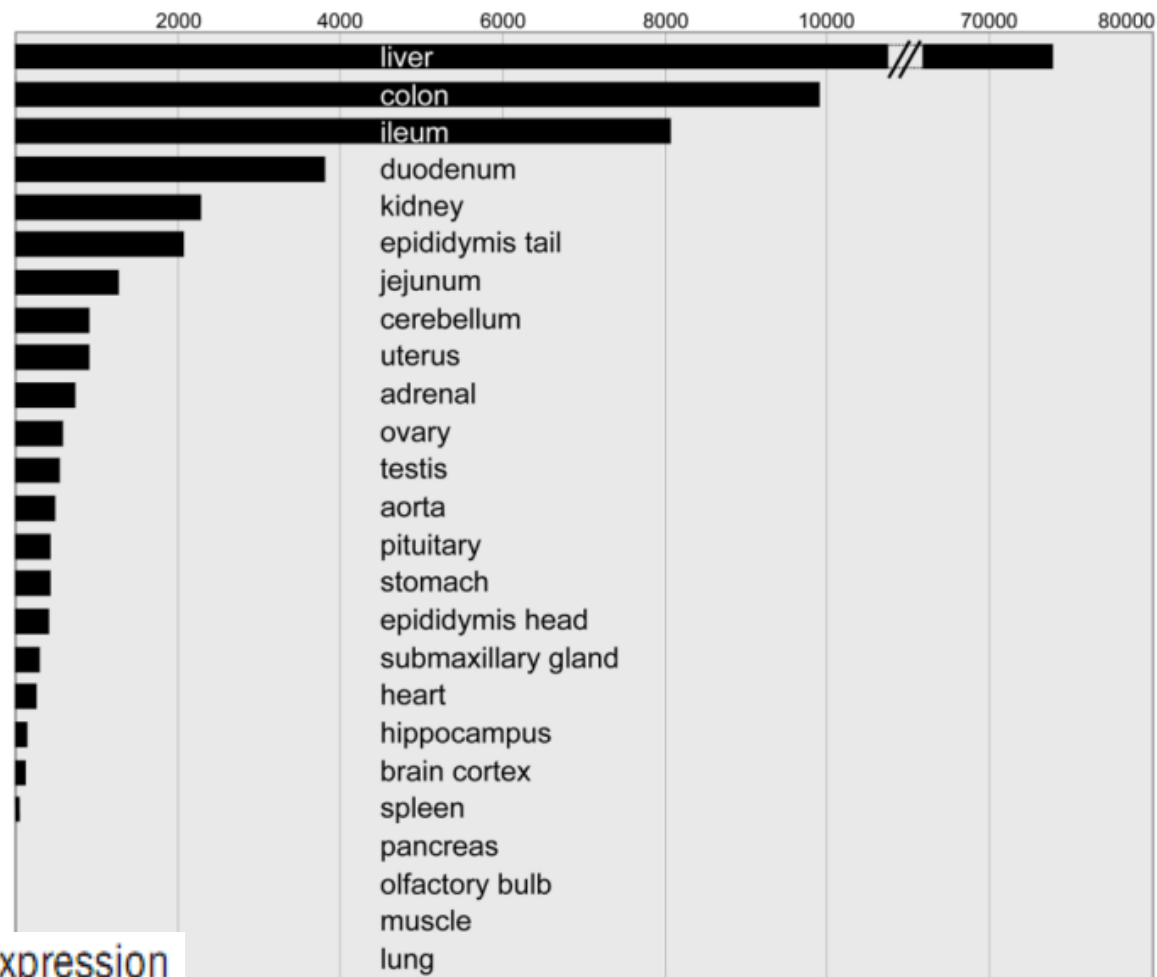


Fig. 1. QPCR analysis of PCSK9 expression in mouse tissues normalized to S16 mRNA level.

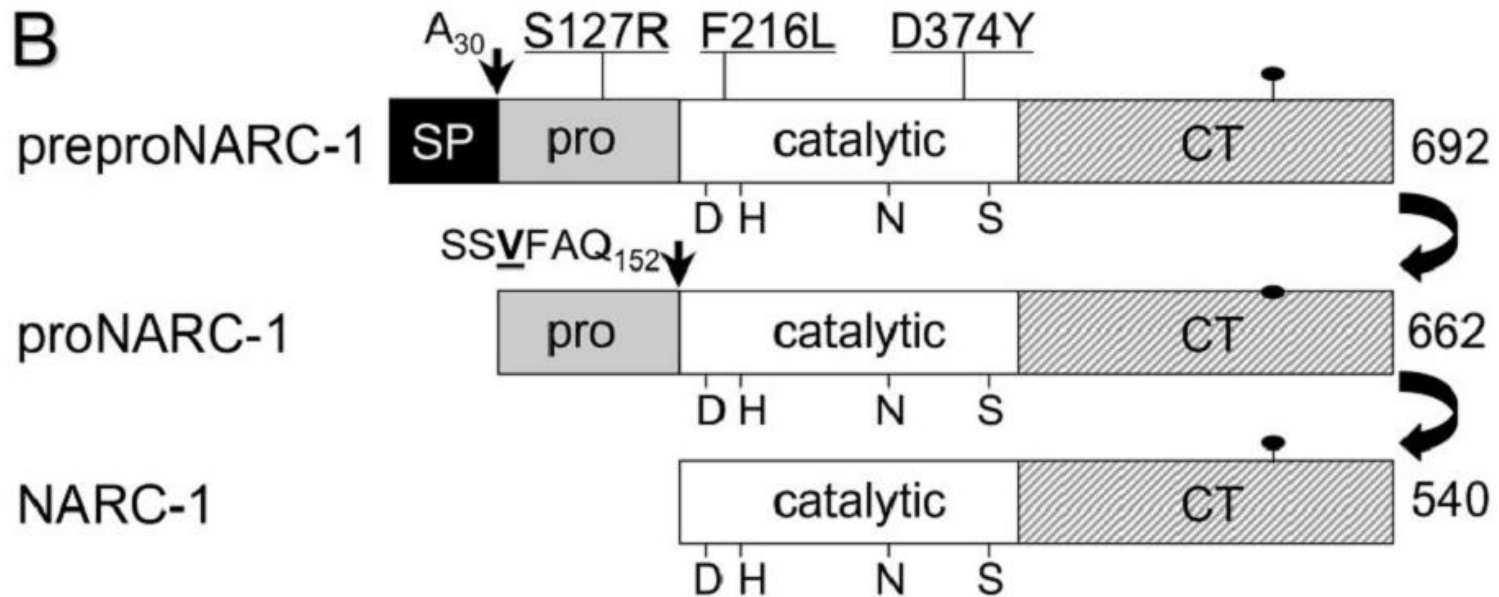
# 动脉粥样硬化疾病中的主效单基因

PCSK9蛋白结合于细胞表面的LDLR介导其降解，从而对肝脏LDLR进行翻译后调控，与LDLR的EGF-A结构域相结合。

PCSK9缺陷会导致高胆固醇血症常染色体显性3型疾病（HCHOLA3）

# 蛋白质特征

PCSK9蛋白前体由信号肽、前肽、催化域和C端结构域组成，



THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY , 2004

## NARC-1/PCSK9 and Its Natural Mutants

ZYMOGEN CLEAVAGE AND EFFECTS ON THE LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL) RECEPTOR AND LDL CHOLESTEROL\*

# 蛋白质加工过程

前肽通过蛋白酶的自催化作用从N末端裂解下来并与催化域相结合，与成熟蛋白共同经由通过高尔基体分泌到细胞外，前肽的结合封闭了PCSK9的催化活性，但是与蛋白的分泌密切相关，C端结构域包含LDLR的结合位点。PCSK9蛋白是单体蛋白，蛋白前肽能够形成多聚体，可能会增强与LDLR的结合能力。

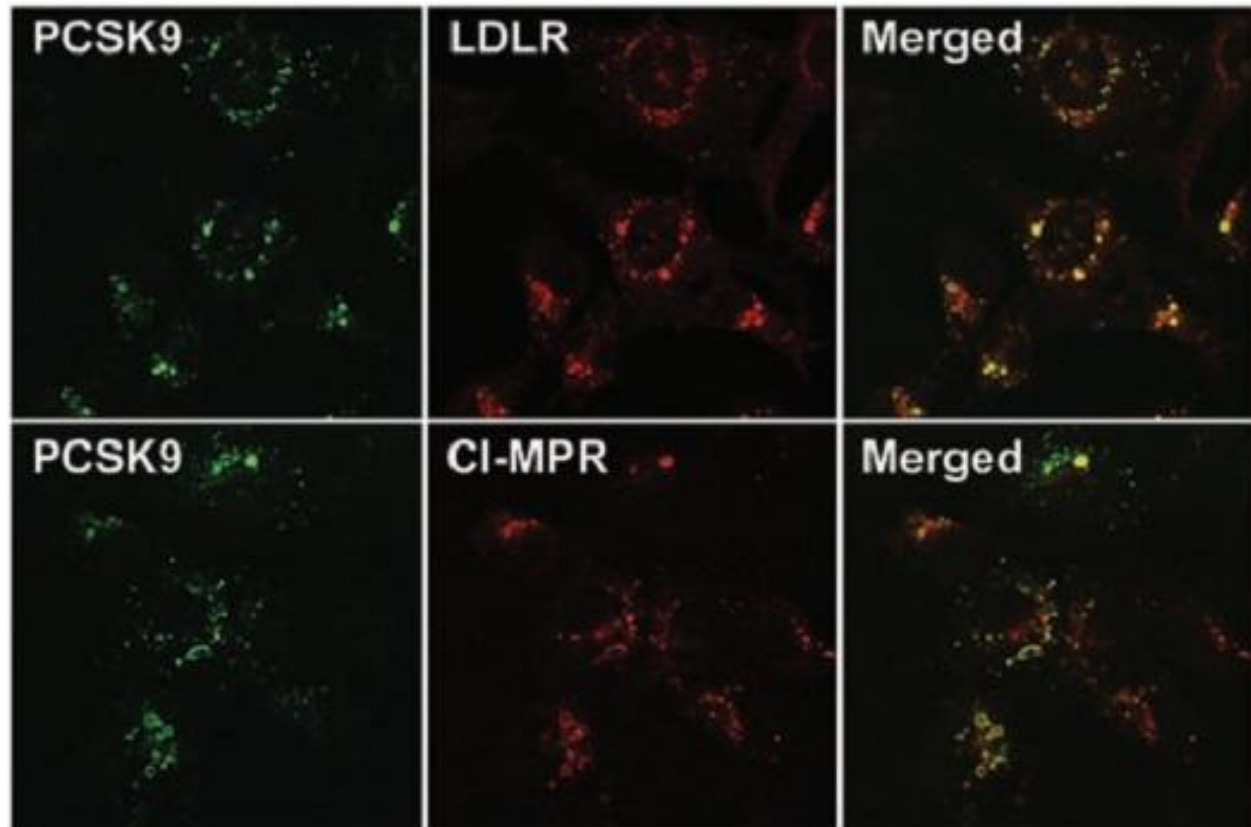
# 蛋白质亚细胞定位

**PCSK9**是分泌性蛋白，亚细胞定位于细胞质、内质网、高尔基体、溶酶体、内涵体和细胞表面。

# 蛋白质亚细胞定位

PCSK9蛋白在LDLR缺失的情况下，主要定位于内质网，而在LDLR存在的时，与LDLR共同定位于细胞表面、内涵体和溶酶体。

细胞经氯喹处理，  
PCSK9（绿色）、  
LDLR（红色）主要  
定位于溶酶体中  
CI-MRP为晚期溶  
酶体Marker



Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice

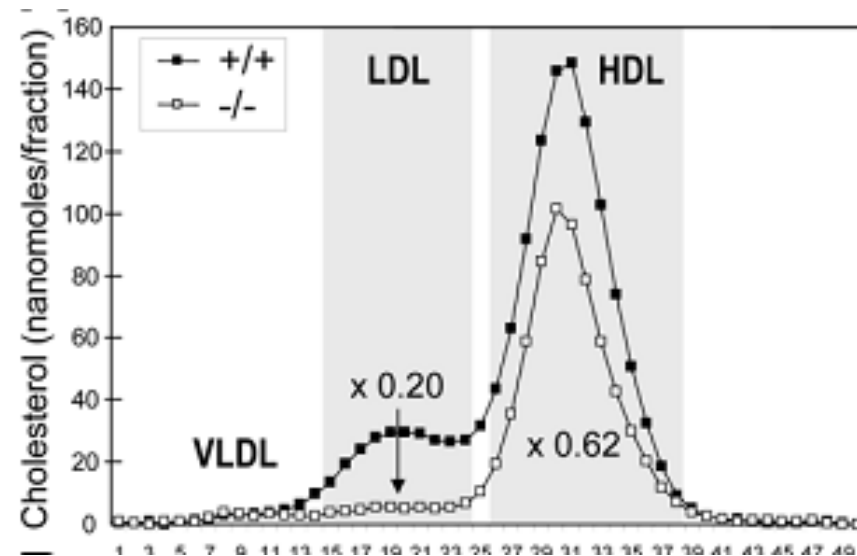
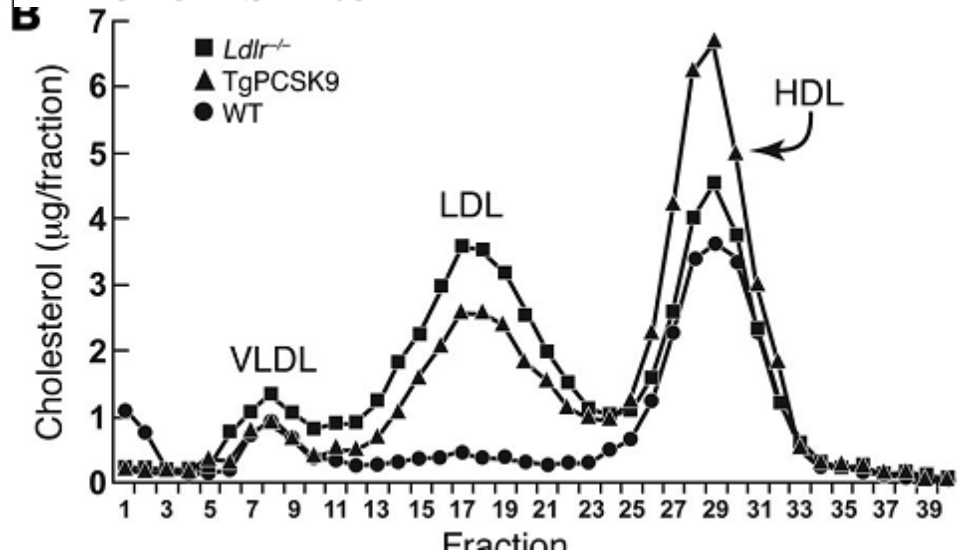


# PCSK9对血浆胆固醇代谢平衡具有极其重要的作用

- 与LDLR 家族成员：LDLR、VLDLR、LRP1/APOER、LRP8/APOER2结合，促进它们在胞内酸性细胞器中的降解。

## NARC-1/PCSK9 and Its Natural Mutants

ZYMOGEN CLEAVAGE AND EFFECTS ON THE LOW DENSITY LIPOPROTEIN (LDL) RECEPTOR AND LDL CHOLESTEROL\*



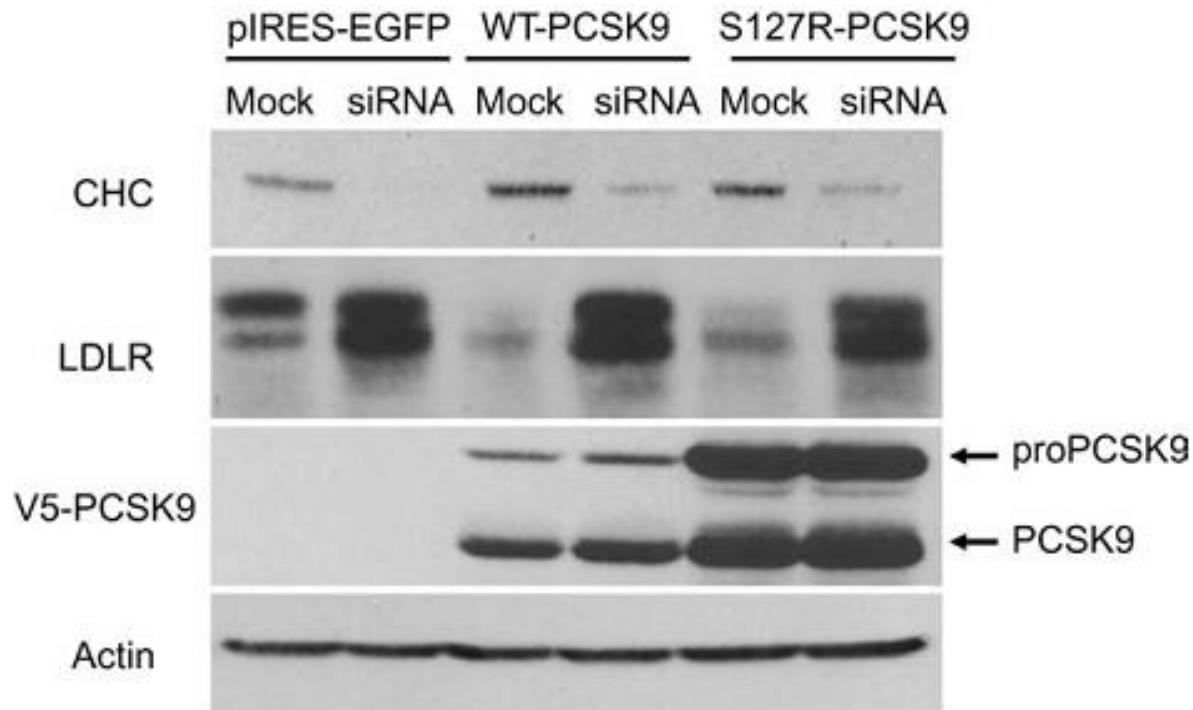
Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice

# 介导LDLR降解过程

- 阻止LDLR由内涵体至细胞表面的循环或促使LDLR进入溶酶体降解。
- 使LDLR泛素化导致其降解。
- 通过切断自噬体/溶酶体途径来抑制APOB的细胞内降解过程，且这一过程不依赖于LDLR。

# 网格蛋白参与PCSK9介导的LDLR降解

- 网格蛋白重链干扰后对LDLR降解的影响



*Traffic* 2007; **8**: 718–732

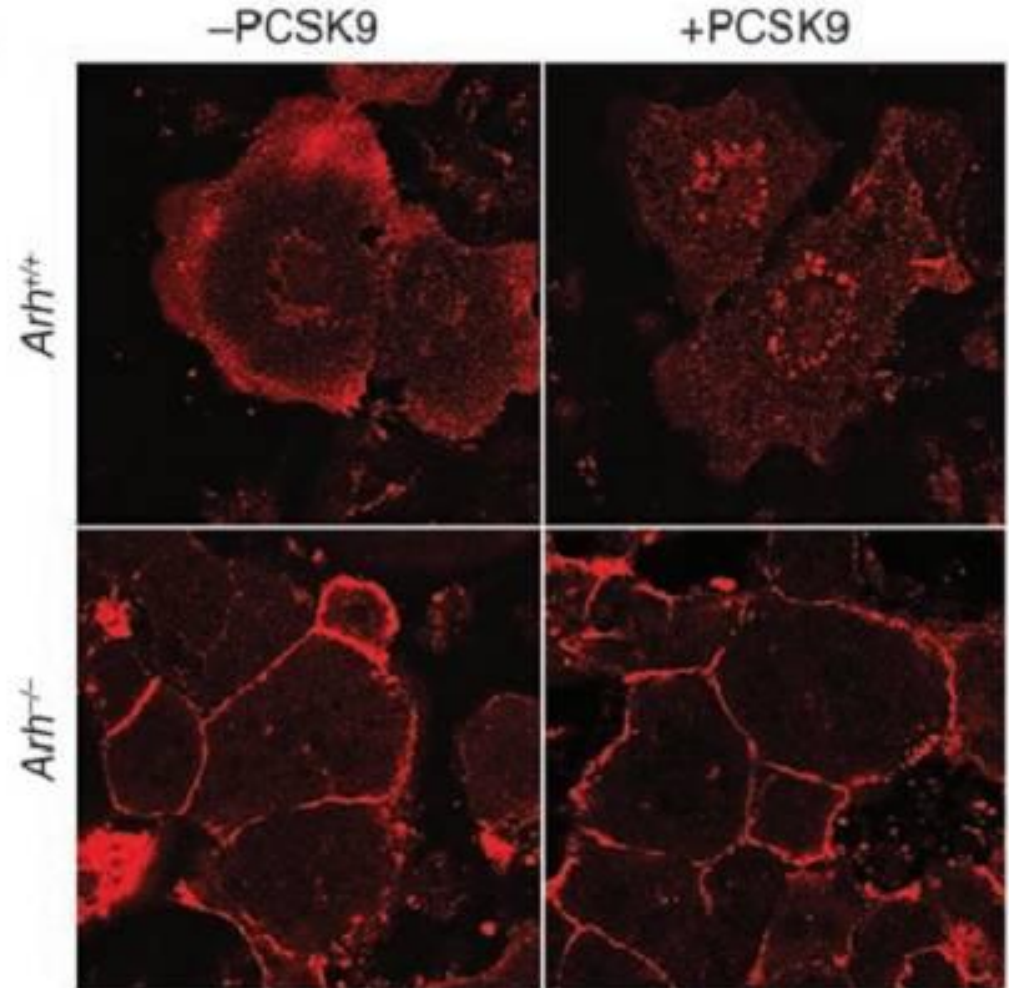
**The Cellular Trafficking of the Secretory Proprotein Convertase PCSK9 and Its Dependence on the LDLR**

- 非蛋白水解机制下通过网格蛋白LDLRAP1/ARH介导途径促进肝脏LDLR的降解。

ARH表达，

不添加PCSK9，  
LDLR主要定位于细胞表面，添加后则进入溶酶体降解。

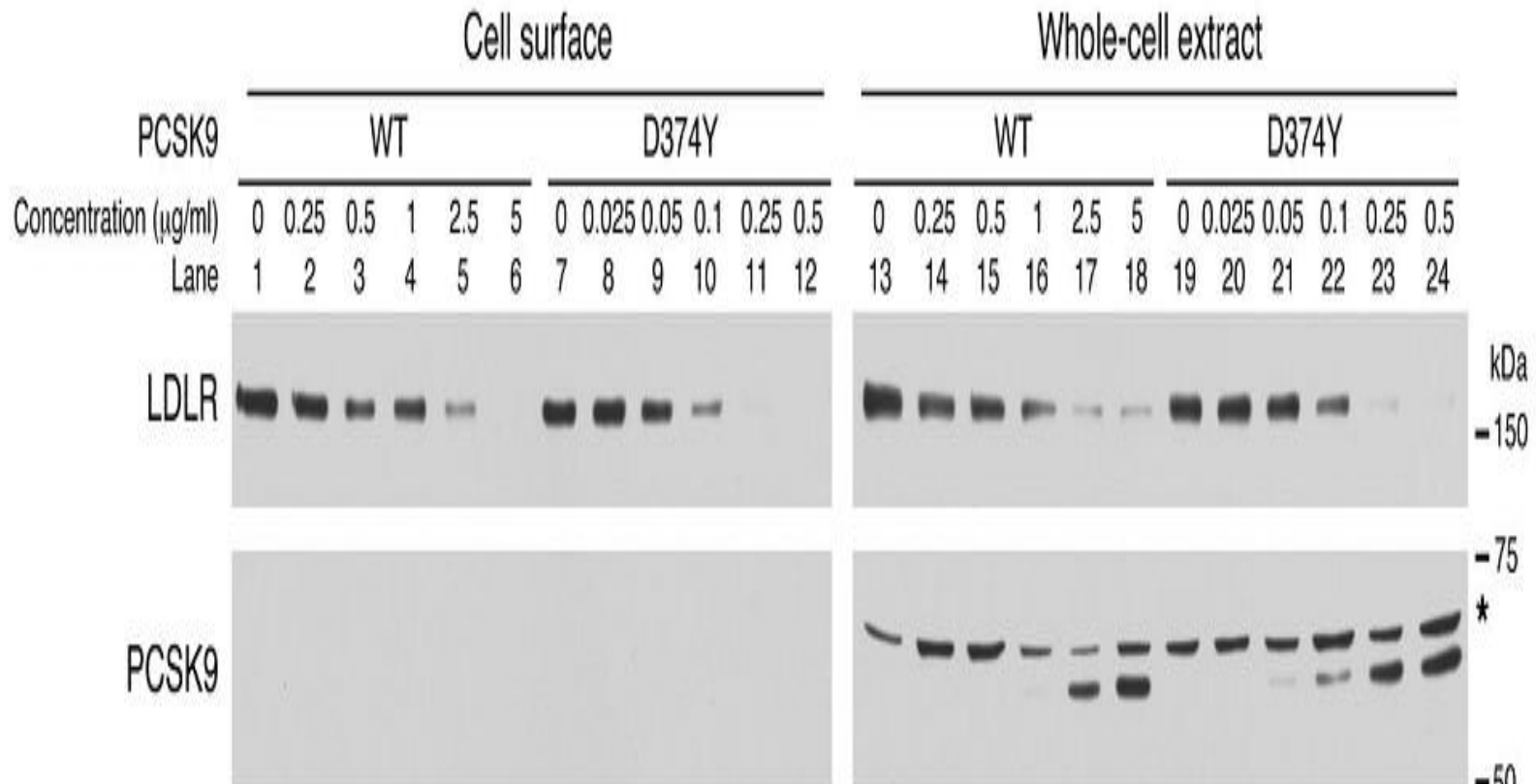
ARH不表达，  
PCSK9添加与否，LDLR都定位于细胞膜。



Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice

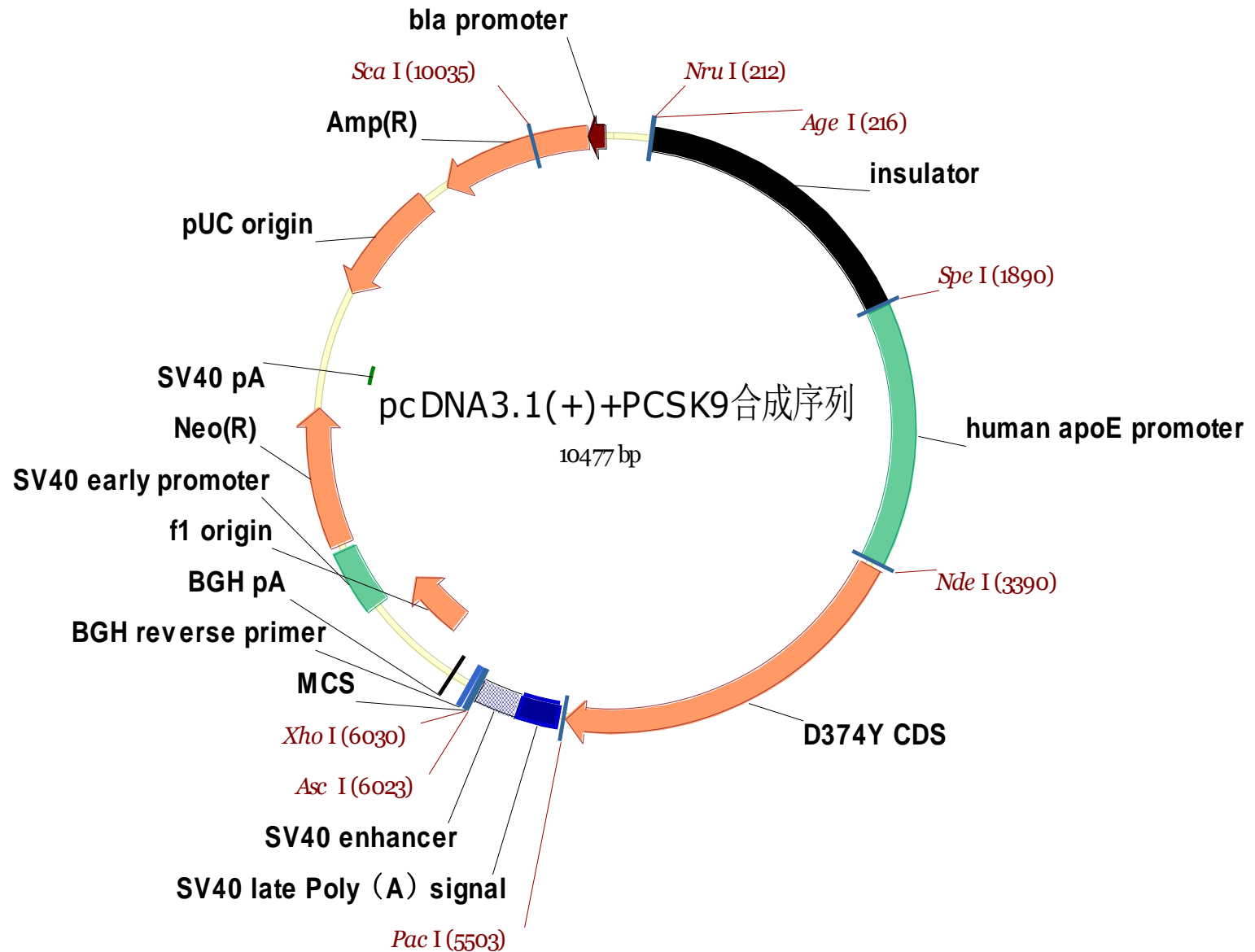
# D374Y突变体

- D347Y突变体大大增强PCSK9介导的LDLR的降解效率提高十倍



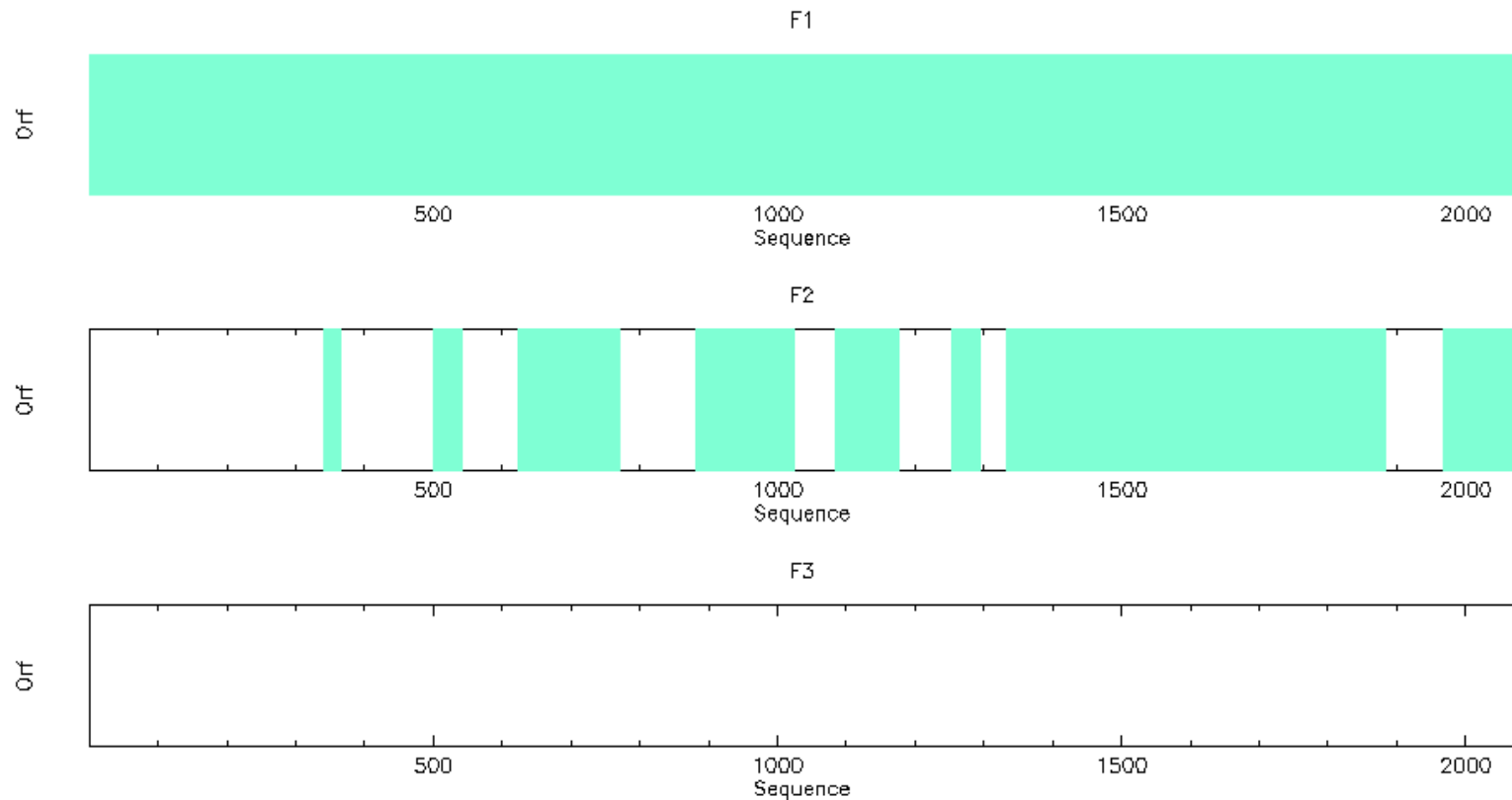
Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice

# PCSK9 D374Y 过表达载体图



# 猪PCSK9 DNA 序列及mRNA序列分析

PCSK9 DNA序列长度为为19344bp，通过Jemboss软件分析其编码区序列最大阅读框为2070bp。



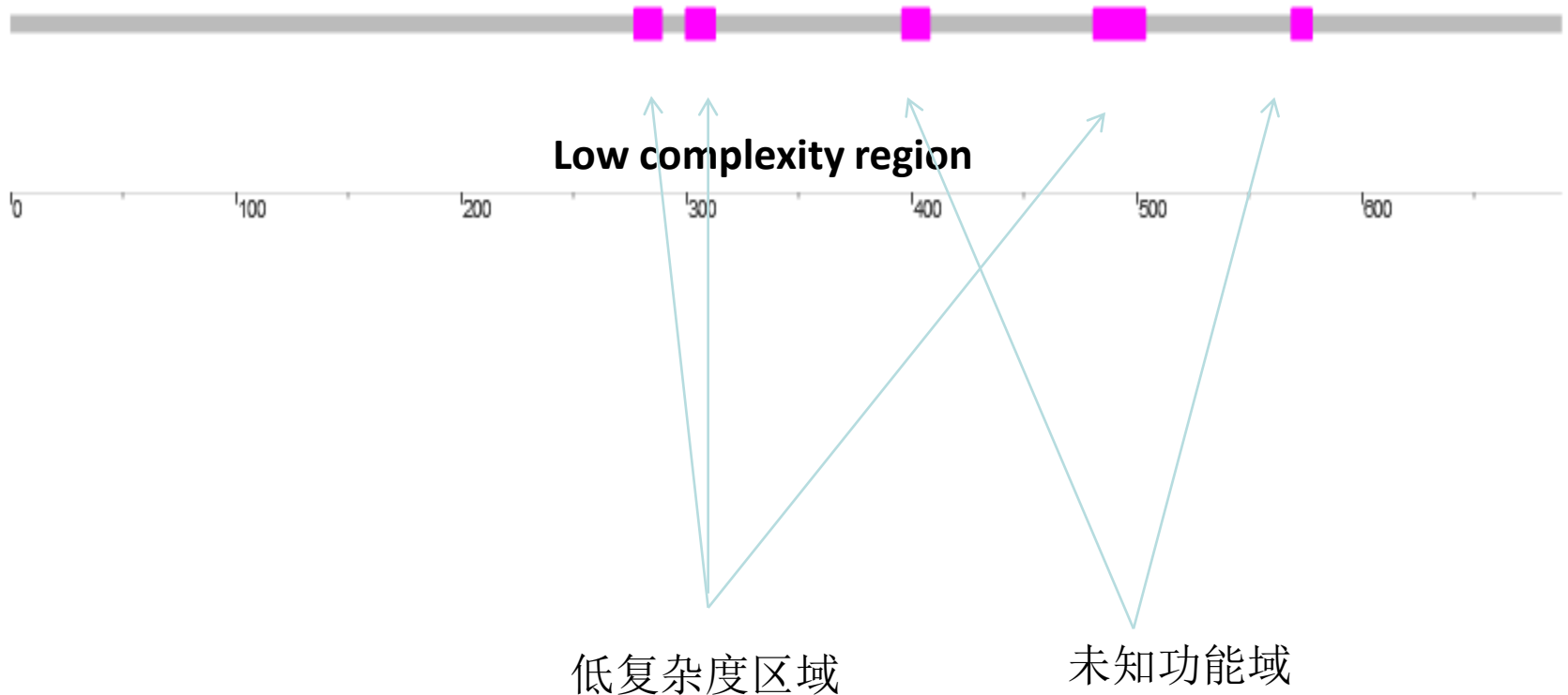
通过Jemboss软件，对编码蛋白序列进行预测，蛋白序列如下，689个AA

```
MGAGSSGQFWPPLLLLLLLLLGPAGARAQEDDGDYEELVLGFRSEEDILADTAQHAATA
TFHRCAKDAWRLPGIYMVVLKEGTHRSQAERTARHLQAQAARRGYLTKILHVFHDLLPGL
LVKMSSDLLELALKLPHVQYIEEDSFVFAQSIPWNLERILPARRQVDERRTPNGLVEVYL
LDISIQSGHREIEGRVTVIDFENVPEEDGIRFHRQANKCDSHGTHLAGVVSGRDAGVAKG
ASLRSLRVLNCQGKGI VSSITLIGLEFIWKSQLAQPSGRLVVLLPLVGGYSRALNAACQRL
AGIGAVLVAAAGNFRDDACL YSPASSPEVITVGAINAQDQPVTILGVLGTFNGRCVDLFAF
GDDIIGASSDCSTCFISQSGISQAAAHVAGIVTMMMLTAEPELTLAELRQRLIRFSKDV I
NEAWFPEDQRGLIPNLVATLPPSSHGAGGQLFCRIVWSAHS GPTRTATAEAHCAAPEELL
GCSSFSGSGRRRGERIEVRGSRRVCLAYNAFGGEGVYAVARCCLLPRAN|SIHMAPPAGA
GVQTRARCHQQSHVLI GCSSHWEVEDSGPRRRPVPRPQGQPDQCVGHEKASVHASCCHAP
GLECKVREHGIPGPAEKVI VDC EEGWILITSCGARPGASHTLGAYAMDNTCVVRGQDV RAG
GRISEETATAMAICRRRRPSGEEASQESQ
```

对其酶切位点分析，常见的酶切位点有：BamHI, XmaI, SmaI, NcoI



通过SMART 软件对蛋白进行结构域进行预测，包括3个低复杂度区域（Low complexity region）和2个未知功能域。



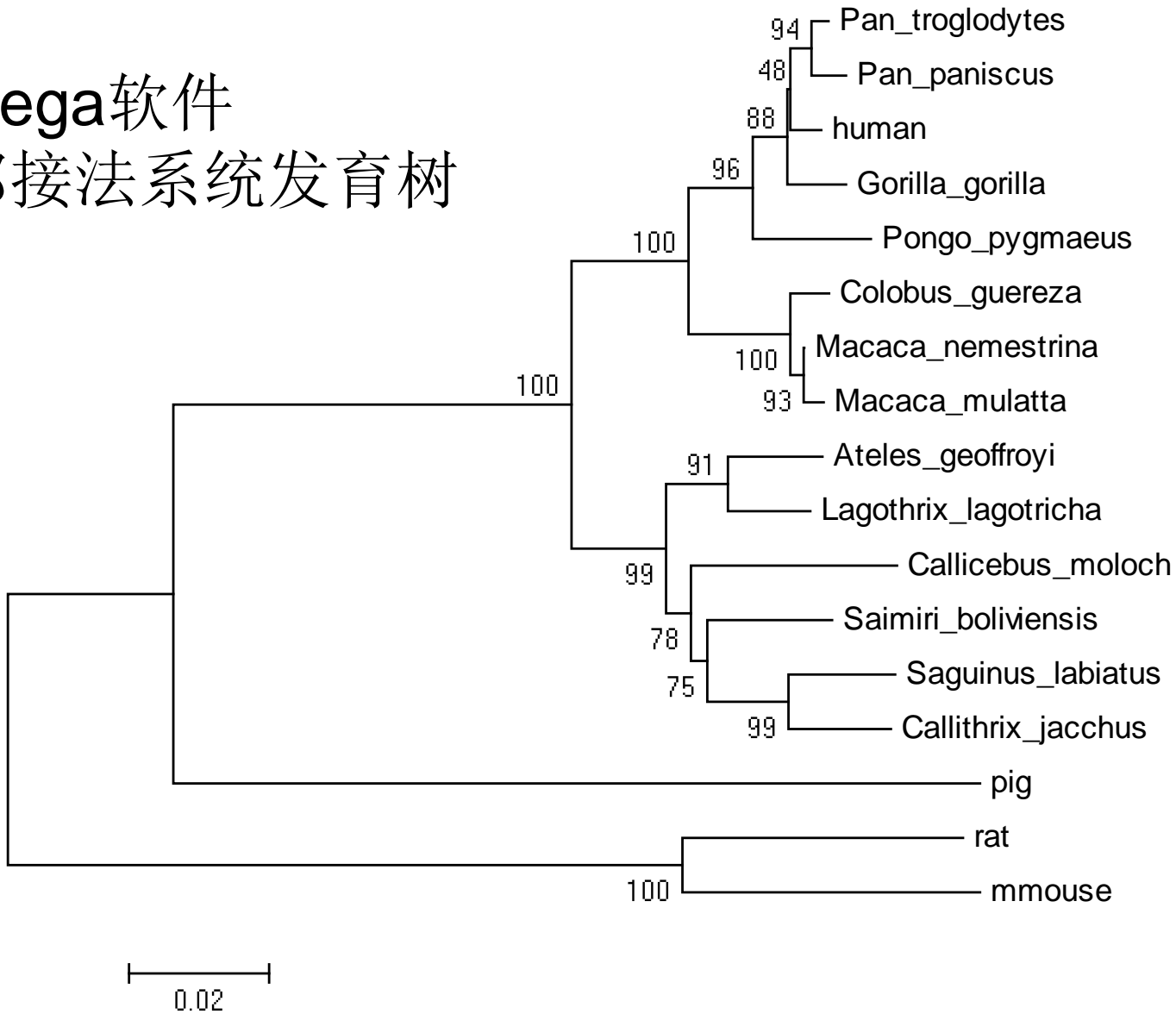
# PCSK9蛋白序列比对

uniprot数据库中17条pcsk9蛋白序列，其中猪的为预测序列

Identical positions	425
Identity	60.284%
Similar positions	125

<b>Entry</b>	<b>Entry name</b>	<b>Organism</b>	<b>Length</b>
<a href="#">Q80W65</a>	PCSK9_MOUSE	<i>Mus musculus</i> (Mouse)	694
<a href="#">Q8NBP7</a>	PCSK9_HUMAN	<i>Homo sapiens</i> (Human)	692
<a href="#">P59996</a>	PCSK9_RAT	<i>Rattus norvegicus</i> (Rat)	691
<a href="#">A8T6A1</a>	PCSK9_ATEGE	<i>Ateles geoffroyi</i> (Black-handed spider monkey) (Geoffroy's spider monkey)	690
<a href="#">A8T688</a>	PCSK9_CALJA	<i>Callithrix jacchus</i> (White-tufted-ear marmoset)	690
<a href="#">A8T677</a>	PCSK9_CALMO	<i>Callicebus moloch</i> (Dusky titi monkey)	684
<a href="#">A8T672</a>	PCSK9_COLGU	<i>Colobus guereza</i> (Mantled guereza) (Eastern black-and-white colobus monkey)	692
<a href="#">A8T650</a>	PCSK9_GORGO	<i>Gorilla gorilla gorilla</i> (Lowland gorilla)	690
<a href="#">A8T6A6</a>	PCSK9_LAGLA	<i>Lagothrix lagotricha</i> (Brown woolly monkey) (Humboldt's woolly monkey)	690
<a href="#">A8T666</a>	PCSK9_MACMU	<i>Macaca mulatta</i> (Rhesus macaque)	692
<a href="#">A8T662</a>	PCSK9_MACNE	<i>Macaca nemestrina</i> (Pig-tailed macaque)	692
<a href="#">A8T655</a>	PCSK9_PANPA	<i>Pan paniscus</i> (Pygmy chimpanzee) (Bonobo)	692
<a href="#">A8T644</a>	PCSK9_PANTR	<i>Pan troglodytes</i> (Chimpanzee)	692
<a href="#">A8T658</a>	PCSK9_PONPY	<i>Pongo pygmaeus</i> (Bornean orangutan)	690
<a href="#">A8T682</a>	PCSK9_SAGLB	<i>Saguinus labiatus</i> (Red-chested mustached tamarin)	686
<a href="#">A8T695</a>	PCSK9_SAIBB	<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i> (Bolivian squirrel monkey)	691
<a href="#">I3LGB2</a>	I3LGB2_PIG	<i>Sus scrofa</i> (Pig)	698

# mega软件 邻接法系统发育树



*Thanks!*