



泛素化的功能及其意义

王翔, 魏潇凡, 张宏权*

北京大学医学部基础医学院分子细胞生物学与肿瘤生物学实验室, 北京 100191

* 联系人, E-mail: hongquan.zhang@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2015-04-06; 接受日期: 2015-05-21; 网络版发表日期: 2015-11-02

国家自然科学基金(批准号: 81230051, 81472734)资助

doi: 10.1360/N052015-00065

摘要 泛素化被定义为将泛素分子共价结合到靶蛋白上, 是蛋白质组中最普遍的翻译后修饰之一。然而, 泛素化不仅参与蛋白质数量的调节, 不同的泛素化链长度(单泛素化、多泛素化以及多聚泛素化)及多种多样的泛素化链类型(连接通过 Met1, Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys48 和 Lys63), 泛素化还在蛋白质活性、蛋白-蛋白相互作用以及蛋白质亚细胞定位中发挥极为重要的调控功能。由于泛素化的多样性与多价性, 泛素化广泛参与各种生理过程, 包括细胞增殖、凋亡、自噬、内吞、DNA 损伤修复以及免疫应答。另外, 泛素化失调在疾病中也发挥重要作用, 如癌症、神经退行性病变、肌肉营养不良、免疫疾病以及代谢综合征。而尤其对于肿瘤以及神经退行性病变, 针对泛素化通路的调控已被认为是肿瘤及神经退行性病变的一种有前景的治疗策略。

关键词

泛素化
细胞生物学功能
癌症
神经退行性病变

为维持自身稳态(homeostasis), 细胞必须能够及时回应内部及外部环境的迅速变化, 而针对特定蛋白质的翻译后修饰(post-translational modification, PTM)正是一种极其敏感、迅速并且可逆的调节方式^[1]。小分子修饰如磷酸化、甲基化及乙酰化修饰的机制与功能在细胞生物学的各个方面都已得到广泛而深入的研究。而泛素化(ubiquitination), 作为一类作用方式更加复杂且作用结果更加多样的蛋白质修饰, 在细胞生命周期各个方面扮演着同样重要的角色。通过对蛋白质稳定性、定位、活性以及相互作用的调控, 泛素化广泛参与了诸如转录调节、DNA 损伤修复、细胞周期、细胞凋亡、囊泡运输等生理过程^[2-7]。

与磷酸化、甲基化以及乙酰化修饰所添加的单一

基团不同, 泛素(ubiquitin, Ub)是一种由 76 个氨基酸组成的小分子蛋白质, 广泛存在于所有真核细胞中, 且序列高度保守, 从酵母到人仅相差 3 个氨基酸^[8]。泛素化是指泛素在一系列酶的催化作用下共价结合到靶蛋白的过程。泛素化过程通常需要 3 种泛素化酶的协同作用: E1 泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme)、E2 泛素偶联酶(ubiquitin-conjugating enzymes)和 E3 泛素连接酶(ubiquitin-ligase enzymes)。首先, E1 利用 ATP 提供的能量在泛素 C 端赖氨酸(Lys)残基上的羧基基团与自身的半胱氨酸(Cys)残基上的巯基基团间形成高能硫酯键, 从而活化泛素分子。然后, 激活的泛素通过硫酯键再被接合到 E2 的 Cys 残基上。最终, 激活的泛素或者通过 E2 直接连到

引用格式: 王翔, 魏潇凡, 张宏权. 泛素化的功能及其意义. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1074-1082

Wang X, Wei X F, Zhang H Q. Role of protein ubiquitination and its functional importance. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1074-1082, doi: 10.1360/N052015-00065

蛋白底物上, 或是在 E3 作用下通过泛素的羧基末端与靶蛋白 Lys 残基的 ϵ -氨基之间形成氨基异肽键而将泛素转移到靶蛋白上. 如果靶蛋白结合单个泛素分子, 则称为单泛素化; 如果靶蛋白的多个 Lys 残基同时被单个泛素分子标记称为多泛素化; 而靶蛋白的单个 Lys 残基被多个泛素分子标记则称为多聚泛素化. 在这一系列酶促级联反应当中, E3 在靶蛋白的特异性识别以及泛素化系统活性的调控中起着最重要的作用.

据估计人基因组编码 2 种 E1s、大约 40 种 E2s 和超过 600 种 E3s^[9], 根据 E3 的结构特点可将其分为含 RING(really interesting new gene)结构域的 E3s, 和含 HECT(homologous to E6-AP carboxyl terminus)结构域的 E3s 以及含 U-box 结构域的 E3s. 其中, 含 RING 和 U-box 结构域的 E3, 在功能与结构都高度相似, 均作为脚手架蛋白将具有催化活性的 E2 与靶蛋白连接起来从而促进泛素化反应. 而具有 HECT 结构域的 E3s 本身就具有催化活性, 能将泛素从 E2 转移到自身半胱氨酸上再直接连接到底物蛋白. 因此, 对于前两类 E3s, E2 与 E3 共同决定泛素化链的长度与种类, 而具有 HECT 结构域的 E3s 则自身起着决定性的影响^[10].

泛素分子全长包含 7 个赖氨酸位点(K6, K11, K27, K29, K33, K48 和 K63)和 1 个位于 C 端的甘氨酸(Gly)位点以及位于 N 端的甲硫氨酸(Met1)位点. 根据现有研究, 无论在细胞内环境还是胞外反应体系, 泛素自身的每个赖氨酸位点以及 N 端的甲硫氨酸(Met1)位点都可以发生泛素化从而延伸泛素链^[11,12]. 其中对 K48 和 K63 位多聚泛素化的研究最广泛, 而其他类型的泛素化链研究较少且被认为是非典型泛素化. 但是随着对泛素化链的装配、识别以及水解的深入研究, 非典型泛素化的功能与意义也逐渐得到了重视.

由于泛素化修饰对底物的巨大影响, 因此与其他 PTM 如磷酸化、乙酰化相似, 泛素化也是一个被严格调控的可逆过程, 尤其是去泛素化酶使泛素化修饰具有良好的平衡性. 研究表明, 细胞内广泛存在许多去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs), 主要分为以泛素羧基末端水解酶家族和泛素特异性加工酶家族为主的 5 种类型^[13]. 去泛素化酶对泛素化过程不仅起着抑制作用, 而且可以通过分解泛素化抑制因子、再循环泛素分子、校对泛素化进程等方式

促进泛素化过程^[14], 从而与泛素化系统共同组成一个覆盖几乎所有细胞功能的复杂网络.

本文将通过介绍泛素化在细胞周期、受体内化、DNA 损伤修复及细胞凋亡中所扮演的角色来阐述泛素化作为细胞最复杂且最重要的 PTM 之一, 如何发挥其多层面的调节功能参与各个生理过程以维持细胞稳态, 以及泛素化异常又如何参与并涉及临床重大疾病如癌症与神经退行性疾病的病理过程, 从而为细胞生物学基础研究与临床重大疾病提供新的见解与思路.

1 泛素化修饰与细胞生物学功能调控

1.1 泛素化修饰与细胞周期调控

对所有真核细胞而言, 将蛋白质标记上泛素对正确的细胞分裂至关重要. 在超过 600 种 E3 连接酶中, SCF(skp1-cullin1-F-box)与 APC/C(anaphasepromoting complex/cyclosome)E3 连接酶对细胞周期调控最重要, 它们具有相似的结构, 都含有 cullin(在 SCF 中)或 cullin 相关(在 APC/C 中)脚手架作为 RING 结构域结合 E2 以及底物从而催化泛素化反应^[15,16].

SCF 与 APC/C 可通过促进细胞周期蛋白(Cyclins), Aurora, Polo-like 激酶, Cdc25 磷酸酶及细胞周期蛋白依赖性激酶(Cyclin-dependent kinase, CDK)抑制因子的降解而完成不可逆的细胞周期转换^[15,17], 而细胞则通过一系列调控机制影响 SCF 与 APC/C 从而调控细胞周期的进程. 尽管 SCF 与 APC/C 的结构与功能高度相似, 它们的调控方式却迥然不同. 对于 SCF 而言, 底物通常都需要被磷酸化修饰才能被 SCF 识别, 如果底物的磷酸化位点发生突变就会导致不受限的细胞分裂. 而大部分 APC/C 的底物都不需要依赖磷酸化被 APC/C 识别, 反而是细胞通过磷酸化或其他机制调控 APC/C 本身的活性而调节细胞周期转换. 因此, SCF, APC/C 和细胞形成了一种双向调控关系: E3s 调控细胞周期, 但是与此同时, 细胞周期调控泛素化. 而近年来的研究又进一步发现非典型泛素化修饰, 新的底物与 E3s 以及不同的细胞周期相关 E3s 的相互调控在细胞周期调控中的不容忽视的作用, 尤其引人注目的便是 K11 泛素化修饰^[18].

在酵母细胞周期调控蛋白的蛋白酶体降解实验证明其泛素化修饰依赖于 K48 多聚泛素链, 并且在

酵母中 K48 也是泛素分子中唯一对细胞周期不可或缺的赖氨酸。进一步研究又发现酵母中 SCF 与 APC/C 通过对底物催化 K48 多聚泛素化修饰而促进其降解^[19-21]。有趣的是,在更高等的真核细胞中,研究者发现 APC/C 能够催化底物发生另一种泛素化修饰, K11 多聚泛素化修饰,而不是 K48^[22]。

事实上研究者早在之前的生化实验中就发现了 K11 多聚泛素化修饰,但其功能却无法彻底阐明^[11,23]。由于将细胞蛋白酶体抑制后, K11 多聚泛素化会增加,研究者认为其可介导蛋白降解。通过使用泛素链特异性抗体,研究发现,当细胞激活 APC/C 时, K11 多聚泛素化链水平急剧增加^[24];与之相反抑制 K11 多聚泛素化后可导致 APC/C 底物稳定性增加,从而发生细胞周期阻滞^[25]。因此,在更高等的真核细胞中, K11 多聚泛素化,通过介导关键细胞周期调控蛋白的蛋白酶体降解,对正确的细胞分裂而言不可或缺。

1.2 泛素化修饰与受体内化

配体诱导的跨膜受体的激活可启动一系列胞内信号通路而调控关键的细胞生物学过程,如细胞增殖、分化、迁移与存活。因此受体通路的时空调控对细胞正确的生物学功能极为重要。其中一类调控机制便是对受体的泛素化修饰,通过促进受体内化并靶向溶酶体降解,从而确保受体通路的及时终止^[7]。研究发现,对货物蛋白进行的单泛素化修饰(monoubiquitination)已经足够将其靶向溶酶体^[26],但从酵母菌的空泡分选研究中提示 K63 泛素链修饰可进一步增加此过程的效率^[27],也许是因为 K63 泛素链采取了一种开放性的构型而增加了自身与泛素作用结构域(ubiquitin-interacting domains)的亲和力。一项近期的质谱研究提示超过 50%表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)连接的泛素是以 K63 泛素链形式存在的^[28]。而几个过表达 K63 突变泛素的实验清晰地表明神经生长因子受体 TrkA 和 MHC I (major histocompatibility complex I)的内化运输也依赖于 K63 泛素链修饰^[29,30]。由于受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)在细胞生物学功能中的核心作用,对 RTK 的泛素化修饰研究也最为充分,尤其对于 EGFR,早已成为泛素化研究领域的热点分子。

当配体诱导 EGFR 激活后,EGFR 很快发生泛素

化,起作用的 E3 连接酶主要是 Cbl(Cas-Br-M ecotropic retroviral transforming sequence)RING-类型 E3 泛素连接酶^[31],Cbl 可直接被招募到激活的 EGFR 胞内段的磷酸酪氨酸残基(Tyr1045-P)处,也可间接被接头蛋白 GRB2(growth factor receptor-bound protein 2)募集到胞膜处促进激活的 EGFR 泛素化^[32]。EGFR 被泛素化修饰的方式主要是单泛素化修饰及 K63 多聚泛素化修饰,并且配体的浓度与泛素化的程度可影响 EGFR 内化的路径。例如,当 EGF 处于低浓度时,EGFR 的泛素化程度难以被检测到,此时 EGFR 主要进行由网格蛋白(Clatrin)介导的内化。而当 EGF 处于高浓度时,大量 EGFR 处于泛素化状态,此时 EGFR 主要发生的 Clathrin 非依赖但脂质筏依赖的内化^[33]。内化方式的不同也决定了 EGFR 的命运与信号通路的持续时间,当 EGFR 进行由网格蛋白介导的内化时,EGFR 并不进入溶酶体反而被重循环到胞膜上,从而延长并增强了 EGFR 信号通路,反之进行网格蛋白非依赖的 EGFR 更容易被运送到溶酶体执行降解^[34]。然而,有些研究表明,即便 EGF 处于低浓度,EGFR 的泛素化也可被检测并能促进 EGFR 进入网格蛋白小窝^[35]。尽管泛素化对 EGFR 的具体调控机制与作用未彻底阐明,但几乎所有的实验数据都表明泛素化可影响 EGFR 的内化程度,内化路径而调控 EGFR 的命运,从而改变整条 EGFR 信号通路。

1.3 泛素化修饰与 DNA 损伤修复

面对频繁的外部的(如紫外辐射与化学致癌剂)和内部的(如活性氧)各种损伤因子,基因组不可避免会出现损伤,因此及时的 DNA 损伤修复对保持基因组完整性是必需的^[36]。为此真核生物主要发展出了 5 条 DNA 修复通路,这包括核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、碱基切除修复(base excision repair, BER)、错配修复(mismatch repair, MMR)、同源重组(homologous recombination, HR)以及非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)修复。近年来的研究又提示存在着一条 DNA 复制压力通路的修复机制,被称为跨损伤 DNA 合成(translesion DNA synthesis, TLS)^[37]。现有研究发现相当一部分 DNA 修复蛋白存在着极为动态的泛素化修饰,并与上述 DNA 修复通路功能状态紧密相关,尤其引人注意的是 DNA 修复蛋白的单泛素化修饰存在与否对同源重组途径及跨损伤修复途径产生的巨

大影响^[38].

当 DNA 发生交联时, 一系列蛋白质协作通过 HR 及 TLS 通路修复 DNA 以维持基因组稳定性. 如果基因发生突变破坏了此类蛋白质的正常功能就会导致一种被称作范科尼贫血(Fanconi anemia, FA)的临床综合征, 病人染色体不稳定性增加并更容易罹患白血病与鳞状细胞癌^[39].

有趣的是, 其中一种 FA 蛋白, 范可尼贫血互补群 D2(Fanconi anemia complementation group D2, FANCD2), 在处于各种 DNA 损伤条件下时可特异性地在第 561 位赖氨酸上被单泛素化修饰. 单泛素化修饰的 FANCD2 被募集到染色体相关核灶处, 并与乳腺癌抑制蛋白及卵巢癌抑制蛋白 BRCA1(breast cancer 1)和 BRCA2 以及其他 DNA 修复蛋白相互作用^[40]. 将 FANCD2 上第 561 位赖氨酸突变为精氨酸可破坏 FANCD2 的单泛素化修饰, 从而破坏 FANCD2 与其他一系列 DNA 修复蛋白的相互作用进而导致 DNA 修复失败, 并且研究者已在许多 FA 病人来源的细胞中发现此现象. 更有意思的是, FA 病人中存在各种互不相同但都能破坏 FANCD2 单泛素化修饰的突变, 这提示有许多 FA 蛋白协作于一条公共通路来调控 FANCD2 的单泛素化修饰^[41].

1.4 泛素化修饰与细胞凋亡

对凋亡的正确时空调控对多细胞生物的生存至关重要. 过强的凋亡可促进神经退行性疾病, 贫血症与移植物排斥的发生; 而减弱的凋亡则可以导致自身免疫性疾病与癌症. 而越来越多的研究发现对凋亡蛋白的泛素化修饰在细胞死亡信号通路中起着不容忽视的巨大作用. 例如, E3 连接酶 MDM2(murine double minute 2)可泛素化 p53, 从而促进其降解^[42]; 众所周知, p53 强大的肿瘤抑制功能来源于其在各种细胞应激条件下可作为转录因子调控一系列负责细胞周期阻滞与凋亡的靶基因^[43], 而在小鼠 (*Mus musculus*) 基因敲除试验中 MDM2 对 p53 的调控作用体现得淋漓尽致. 小鼠单独敲除 MDM2 具有胚胎致死性, 但同时敲除 p53 则可避免此效应. 这种现象提示 p53 为 MDM2 的主要靶蛋白, 而且当 MDM2 被敲除后 p53 水平会得到明显提高. 另外, p53 敲除小鼠与 p53 及 MDM2 双敲小鼠容易患相同类型肿瘤, 并具有十分类似的生存曲线, 进一步证明了 MDM2-p53 之间的调控关系及其对细胞生存与肿瘤形成的巨

大影响^[44].

凋亡抑制因子 IAP(inhibitor of apoptosis)可影响半胱天冬酶(Caspase)与 SMAC(second mitochondrial activator of caspases)的稳定性^[45,46]. 通过对凋亡不同途径不同底物的泛素化修饰, IAP 不仅可抑制线粒体途径的凋亡通路, 还可抑制外源性途径凋亡通路. XIAP(X chromosome-linked IAP)可直接与半胱天冬酶 3, 7, 9 相互作用而抑制其酶活性, 并且将其泛素化而促进其降解. 而在 TNFR1 信号通路中 IAP1(C-IAP; 也被称为 BIRC3)和 C-IAP2(也被称为 BIRC2)则可负向调控半胱天冬酶 8^[47]. SMAC 可结合到 XIAP 上而阻止其对半胱天冬酶的抑制, 但 C-IAP1 可介导 SMAC 的泛素化与降解从而间接抑制凋亡通路^[46,48].

2 泛素化修饰与疾病发病机理

由于泛素化修饰在细胞功能的各方面都扮演着如此重要的角色, 因此泛素化失调可产生一系列不良后果, 例如, 信号通路的异常激活或失活、蛋白质复合体形成异常、错误折叠蛋白累积或者蛋白质定位错误, 而这都有可能参与疾病发展^[49,50]. 由于蛋白酶体抑制剂在多发性骨髓瘤临床应用的成功^[51,52], 许多研究已将靶向泛素化通路作为一种有前景的治疗策略, 接下来本文将以癌症与神经退行性疾病为重点, 阐述泛素化异常如何参与与疾病发生发展而为其临床应用提供新策略.

2.1 泛素化修饰与肿瘤

肿瘤发展是一个多步骤多阶段的递进过程包括促进肿瘤进展基因的激活如原癌基因(proto-oncogenes)和抗凋亡基因(anti-apoptotic genes)以及抗肿瘤因素的失活如抑癌基因(tumor suppressor genes)和促凋亡基因(pro-apoptotic genes)^[53]. 通过调控不同底物的稳定性与活性, 泛素化影响了一系列肿瘤相关通路, 甚至对于某一 E3 连接酶, 由于底物的不同而使其同时具有癌基因与抑癌基因的功能. 尽管这使治疗干预更加复杂, 但由于 E3 连接酶是泛素系统中最具底物特异性的组分, 它们依然是十分吸引人的药物靶点.

(1) 泛素化修饰与蛋白稳定性调控. Ub 连接酶通过调控癌蛋白与抑癌蛋白的稳定性而在许多方面参与与肿瘤发生发展. 最著名的例子莫过于泛素化

并降解抑癌蛋白 p53 的连接酶 MDM2^[54], 与通过控制周期蛋白依赖性激酶(Cyclin-dependent kinase)复合体与细胞周期抑制因子 p27 稳定性而调控细胞周期的 SCF 和 APC/C 连接酶复合体^[55]. 参与细胞周期与检验点调控的 E3 连接酶对基因稳定性极为关键, 而且此类连接酶的突变也并不局限于某一类型的肿瘤而是常见于各种类型并且与临床不良预后紧密相关. 例如, 前文中提到的 E3 连接酶中的 Cbl 家族成员通过介导激活的受体酪氨酸激酶的溶酶体分选与降解而参与肿瘤发生发展^[56], 其中 E3 连接酶 c-Cbl 的突变与异常表达在骨髓异常增生综合征肿瘤中最为常见, 并且其突变也不断被发现于原发性结直肠癌及骨髓瘤中.

另一个有趣的例子来自于逢希伯-林道肿瘤抑制基因(von Hippel-Lindau tumor suppressor, pVHL), pVHL 的名字源于一种遗传性肿瘤综合征, 患有此病的病人易患各种高度血管化的肿瘤如肾细胞癌、胰腺癌以及中枢神经系统肿瘤^[57,58]. 而 pVHL 恰好是 VCB-Cul2-VHL Ub 连接酶复合体中负责底物识别的关键组分. 在缺氧条件下, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)可诱导血管内皮生长因子和葡萄糖转运体 1 的表达, 而在正常情况下, HIF-1 α 可被 pVHL 识别并泛素化从而被蛋白酶体降解^[59], 当 VHL 基因发生突变时, HIF-1 α 难以被降解而稳定性异常增高, 从而促进肿瘤的快速血管化而加快肿瘤生长.

(2) 泛素化修饰与蛋白活性调控. 泛素化修饰也可以通过影响癌蛋白与抑癌蛋白的活性而参与肿瘤的发生发展. 最好的例子莫过于小三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶 Kirsten 鼠肉瘤病毒癌基因(Kirsten rat sarcoma viral oncogene, K-RAS), 在缺乏受体刺激的情况下, 对其单泛素化修饰即可激活 K-RAS. 在以往的研究中, 研究者发现 RAS 被 Rabex-5 连接酶泛素化修饰可以调控其体内的定位^[60], 而被 β -TrCP 连接酶泛素化则介导其蛋白酶体降解^[61], 然而近期研究却发现泛素本身可以影响 K-RAS 对 GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating proteins, GAPs)的反应从而增加 GTP-RAS 的量, 进而增加下游通路的激活^[62,63]. 另一方面, 研究者又发现 RAS 的泛素化可以增强其与磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)的相互作用, 从而强化 PI3K-蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号

通路. 而这正是 RAS 突变体 RAS G12V 致癌能力的机制之一.

2.2 泛素化修饰与神经退行性疾病

神经退行性疾病如帕金森或阿尔兹海默氏病又或者多聚谷氨酰胺重复疾病如亨廷顿氏病都以蛋白质聚集体的毒性累积为特征, 从而破坏细胞稳态与神经元功能而致病. 而尽管不同疾病中蛋白质聚集体的组分与定位都不尽相同, 它们都对抗泛素抗体有免疫活性, 并且越来越多的研究证明, 泛素依赖的蛋白酶体降解系统(Ub-proteasome system, UPS)的异常与蛋白质聚集体的形成紧密相关从而参与神经退行性病变^[64,65].

(1) 泛素化修饰与帕金森氏病. 帕金森氏病(Parkinson's disease)以进行性的黑质多巴胺神经元丧失为特征, 从而导致肌肉颤抖, 震颤与运动迟缓. 路易氏小体(Lewy bodies), 主要由 α -突触核蛋白(α -synuclein)组成的蛋白质聚集体, 正是帕金森氏病的诊断特征, 而大多数的路易氏小体中的 α -突触核蛋白都处于单泛素化或双泛素化修饰的状态下^[66]. 在培养的多巴胺能细胞中, 泛素化似乎能增加蛋白质聚集程度与 α -突触核蛋白的神经毒性^[67]. 但是有趣的是, 泛素化的效果具有位点特异性, 不同赖氨酸位点的泛素化可以显著增强或者抑制原纤维的形成^[68].

(2) 泛素化修饰与阿尔兹海默氏病. 阿尔兹海默氏病(Alzheimer's disease)是老年人中最常见的神经退行性疾病, 患有此病的病人会出现进展性的记忆丧失与认知障碍, 并最终发展为痴呆. 神经元胞外的 β -淀粉样蛋白斑和胞内的神经原纤维缠结是阿尔兹海默氏病病人的病理特征之一, 而二者正是由高度磷酸化与泛素化的 tau 蛋白组成的蛋白质聚集体. 从阿尔兹海默氏病病人的脑组织标本与 tau 蛋白病变的小鼠模型的研究中发现, UPS 效率的降低以及受到抑制的自噬-溶酶体通路与 tau 在突触末端的异常累积明显正相关^[69,70].

3 结论与展望

尽管许多泛素化修饰的原则得到了阐明, 但泛素化修饰的生化机制与生理功能远未得到充分理解, 例如, 泛素化本身如何被调控以及泛素化与其他

PTM 如磷酸化、乙酰化之间的相互关系. 本文简要介绍了泛素化的一些细胞生物学功能和泛素化异常参与的两种重要疾病——癌症与神经退行性疾病, 尽管由于篇幅所限, 许多泛素化参与的生物学过程与疾病未能详细阐述, 但本文对了解泛素化的功能与意义的基本轮廓有所裨益.

未来的研究会进一步聚焦于泛素化修饰作为一个动态网络, 如何参与生理学进程又怎样影响生物学功能. 例如, 不同的 E2s 与 E3s 之间的联系, 不同的泛素化修饰种类(单泛素化、多泛素化以及多聚泛

素化)以及不同的多聚泛素化链(连接通过 Met1, Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys48 和 Lys63)仍需进一步研究^[71]. 与此同时, 对于泛素化修饰的进一步理解也必将推动一系列相关疾病的研究与治疗, 近期, 线性泛素化通路(linear ubiquitination pathway)与炎症、肿瘤与自身免疫性疾病的相互关系取得了巨大突破, 并有望为上述疾病的治疗提供新思路^[72]. 因此, 随着对泛素化修饰的深入研究与治疗技术的不断发展, 对泛素化通路进行操作将成为一种富有前景的高度特异性的治疗方法.

参考文献

- Schwartz D C, Hochstrasser M. A superfamily of protein tags: ubiquitin, SUMO and related modifiers. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28: 321–328
- Herrmann J, Lerman L O, Lerman A. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in protein regulation. *Circ Res*, 2007, 100: 1276–1291
- Muratani M, Tansey W P. How the ubiquitin-proteasome system controls transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4: 192–201
- Shaid S, Brandts C H, Serve H, et al. Ubiquitination and selective autophagy. *Cell Death Differ*, 2013, 20: 21–30
- Ulrich H D, Walden H. Ubiquitin signalling in DNA replication and repair. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 479–489
- Vucic D, Dixit V M, Wertz I E. Ubiquitylation in apoptosis: a post-translational modification at the edge of life and death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12: 439–452
- Haglund K, Dikic I. The role of ubiquitylation in receptor endocytosis and endosomal sorting. *J Cell Sci*, 2012, 125: 265–275
- Goldstein G, Scheid M, Hammerling U, et al. Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, 72: 11–15
- Deshaies R J, Joazeiro C A. Ring domain E3 ubiquitin ligases. *Annu Rev Biochem*, 2009, 78: 399–434
- Liu F, Walters K J. Multitasking with ubiquitin through multivalent interactions. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35: 352–360
- Xu P, Duong D M, Seyfried N T, et al. Quantitative proteomics reveals the function of unconventional ubiquitin chains in proteasomal degradation. *Cell*, 2009, 137: 133–145
- Rieser E, Cordier S M, Walczak H. Linear ubiquitination: a newly discovered regulator of cell signalling. *Trends Biochem Sci*, 2013, 38: 94–102
- Nijman S M, Luna-Vargas M P, Velds A, et al. A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes. *Cell*, 2005, 123: 773–786
- Sowa M E, Bennett E J, Gygi S P, et al. Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape. *Cell*, 2009, 138: 389–403
- Petroski M D, Deshaies R J. Function and regulation of cullin-ring ubiquitin ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 9–20
- Schreiber A, Stengel F, Zhang Z, et al. Structural basis for the subunit assembly of the anaphase-promoting complex. *Nature*, 2011, 470: 227–232
- Sullivan M, Morgan D O. Finishing mitosis, one step at a time. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 894–903
- Mocciaro A, Rape M. Emerging regulatory mechanisms in ubiquitin-dependent cell cycle control. *J Cell Sci*, 2012, 125: 255–263
- Chau V, Tobias J W, Bachmair A, et al. A multiubiquitin chain is confined to specific lysine in a targeted short-lived protein. *Science*, 1989, 243: 1576–1583
- Glotzer M, Murray A W, Kirschner M W. Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway. *Nature*, 1991, 349: 132–138
- Thrower J S, Hoffman L, Rechsteiner M, et al. Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal. *EMBO J*, 2000, 19: 94–102
- Jin L, Williamson A, Banerjee S, et al. Mechanism of ubiquitin-chain formation by the human anaphase-promoting complex. *Cell*, 2008, 133: 653–665
- Baboshina O V, Haas A L. Novel multiubiquitin chain linkages catalyzed by the conjugating enzymes E2EPF and RAD6 are recognized by 26S proteasome subunit 5. *J Biol Chem*, 1996, 271: 2823–2831
- Matsumoto M L, Wickliffe K E, Dong K C, et al. K11-linked polyubiquitination in cell cycle control revealed by a K11 linkage-specific antibody. *Mol Cell*, 2010, 39: 477–484

- 25 Williamson A, Wickliffe K E, Mellone B G, et al. Identification of a physiological E2 module for the human anaphase-promoting complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 18213–18218
- 26 Reggiori F, Pelham H R. Sorting of proteins into multivesicular bodies: ubiquitin-dependent and -independent targeting. *EMBO J*, 2001, 20: 5176–5186
- 27 Galan J M, Haguenaer-Tsapis R. Ubiquitin lys63 is involved in ubiquitination of a yeast plasma membrane protein. *EMBO J*, 1997, 16: 5847–5854
- 28 Huang F, Kirkpatrick D, Jiang X, et al. Differential regulation of EGF receptor internalization and degradation by multiubiquitination within the kinase domain. *Mol Cell*, 2006, 21: 737–748
- 29 Geetha T, Jiang J, Wooten M W. Lysine 63 polyubiquitination of the nerve growth factor receptor TrkA directs internalization and signaling. *Mol Cell*, 2005, 20: 301–312
- 30 Duncan L M, Piper S, Dodd R B, et al. Lysine-63-linked ubiquitination is required for endolysosomal degradation of class I molecules. *EMBO J*, 2006, 25: 1635–1645
- 31 Joazeiro C A, Wing S S, Huang H, et al. The tyrosine kinase negative regulator c-Cbl as a RING-type, E2-dependent ubiquitin-protein ligase. *Science*, 1999, 286: 309–312
- 32 de Melker A A, van der Horst G, Calafat J, et al. c-Cbl ubiquitinates the EGF receptor at the plasma membrane and remains receptor associated throughout the endocytic route. *J Cell Sci*, 2001, 114: 2167–2178
- 33 Sigismund S, Woelk T, Puri C, et al. Clathrin-independent endocytosis of ubiquitinated cargos. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 2760–2765
- 34 Sigismund S, Argenzio E, Tosoni D, et al. Clathrin-mediated internalization is essential for sustained EGFR signaling but dispensable for degradation. *Dev Cell*, 2008, 15: 209–219
- 35 Kazazic M, Bertelsen V, Pedersen K W, et al. Epsin 1 is involved in recruitment of ubiquitinated EGF receptors into clathrin-coated pits. *Traffic*, 2009, 10: 235–245
- 36 Sancar A, Lindsey-Boltz L A, Unsal-Kacmaz K, et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73: 39–85
- 37 Hoeijmakers J H. Genome maintenance mechanisms are critical for preventing cancer as well as other aging-associated diseases. *Mech Ageing Dev*, 2007, 128: 460–462
- 38 Huang T T, D'Andrea A D. Regulation of DNA repair by ubiquitylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 323–334
- 39 D'Andrea A D. The fanconi road to cancer. *Genes Dev*, 2003, 17: 1933–1936
- 40 Wang X, Andreassen P R, D'Andrea A D. Functional interaction of monoubiquitinated FANCD2 and BRCA2/FANCD1 in chromatin. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 5850–5862
- 41 Garcia-Higuera I, Taniguchi T, Ganesan S, et al. Interaction of the Fanconi anemia proteins and BRCA1 in a common pathway. *Mol Cell*, 2001, 7: 249–262
- 42 Haupt Y, Maya R, Kazaz A, et al. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*, 1997, 387: 296–299
- 43 Zilfou J T, Lowe S W. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1: a001883
- 44 Jain A K, Barton M C. Making sense of ubiquitin ligases that regulate p53. *Cancer Biol Ther*, 2014, 10: 665–672
- 45 Broemer M, Tenev T, Rigbolt K T, et al. Systematic *in vivo* RNAi analysis identifies IAPs as NEDD8-E3 ligases. *Mol Cell*, 2010, 40: 810–822
- 46 Hu S, Yang X. Cellular inhibitor of apoptosis 1 and 2 are ubiquitin ligases for the apoptosis inducer Smac/DIABLO. *J Biol Chem*, 2003, 278: 10055–10060
- 47 Salvesen G S, Duckett C S. IAP proteins: blocking the road to death's door. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3: 401–410
- 48 Du C, Fang M, Li Y, et al. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*, 2000, 102: 33–42
- 49 Schwartz A L, Ciechanover A. Targeting proteins for destruction by the ubiquitin system: implications for human pathobiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2009, 49: 73–96
- 50 Hoeller D, Dikic I. Targeting the ubiquitin system in cancer therapy. *Nature*, 2009, 458: 438–444
- 51 Richardson P G, Barlogie B, Berenson J, et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med*, 2003, 348: 2609–2617
- 52 Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, et al. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res*, 2001, 61: 3071–3076

- 53 Vogelstein B, Kinzler K W. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med*, 2004, 10: 789–799
- 54 Wade M, Li Y C, Wahl G M. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13: 83–96
- 55 Frescas D, Pagano M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta-TrCP: tipping the scales of cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 438–449
- 56 Schmidt M H, Dikic I. The Cbl interactome and its functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 907–918
- 57 Gnarr J R, Tory K, Weng Y, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. *Nat Genet*, 1994, 7: 85–90
- 58 Kanno H, Kondo K, Ito S, et al. Somatic mutations of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in sporadic central nervous system hemangioblastomas. *Cancer Res*, 1994, 54: 4845–4847
- 59 Maxwell P H, Wiesener M S, Chang G W, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*, 1999, 399: 271–275
- 60 Xu L, Lubkov V, Taylor L J, et al. Feedback regulation of Ras signaling by Rabex-5-mediated ubiquitination. *Curr Biol*, 2010, 20: 1372–1377
- 61 Kim S E, Yoon J Y, Jeong W J, et al. H-Ras is degraded by Wnt/beta-catenin signaling via beta-TrCP-mediated polyubiquitylation. *J Cell Sci*, 2009, 122: 842–848
- 62 Baker R, Lewis S M, Sasaki A T, et al. Site-specific monoubiquitination activates Ras by impeding GTPase-activating protein function. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 46–52
- 63 Sasaki A T, Carracedo A, Locasale J W, et al. Ubiquitination of K-Ras enhances activation and facilitates binding to select downstream effectors. *Sci Signal*, 2011, 4: ra13
- 64 Bennett E J, Bence N F, Jayakumar R, et al. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Mol Cell*, 2005, 17: 351–365
- 65 Lam Y A, Pickart C M, Alban A, et al. Inhibition of the ubiquitin-proteasome system in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 9902–9906
- 66 Tofaris G K, Razaq A, Ghetti B, et al. Ubiquitination of alpha-synuclein in lewy bodies is a pathological event not associated with impairment of proteasome function. *J Biol Chem*, 2003, 278: 44405–44411
- 67 Lee J T, Wheeler T C, Li L, et al. Ubiquitination of alpha-synuclein by Siah-1 promotes alpha-synuclein aggregation and apoptotic cell death. *Hum Mol Genet*, 2008, 17: 906–917
- 68 Meier F, Abeywardana T, Dhall A, et al. Semisynthetic, site-specific ubiquitin modification of alpha-synuclein reveals differential effects on aggregation. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 5468–5471
- 69 Tai H C, Serrano-Pozo A, Hashimoto T, et al. The synaptic accumulation of hyperphosphorylated tau oligomers in Alzheimer disease is associated with dysfunction of the ubiquitin-proteasome system. *Am J Pathol*, 2012, 181: 1426–1435
- 70 Wang Y, Martinez-Vicente M, Kruger U, et al. Tau fragmentation, aggregation and clearance: the dual role of lysosomal processing. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 4153–4170
- 71 Grabbe C, Husnjak K, Dikic I. The spatial and temporal organization of ubiquitin networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12: 295–307
- 72 Walczak H, Iwai K, Dikic I. Generation and physiological roles of linear ubiquitin chains. *BMC Biol*, 2012, 10: 23

Role of Protein Ubiquitination and its Functional Importance

WANG Xiang, WEI XiaoFan & ZHANG HongQuan

Laboratory of Molecular Cell Biology and Tumor Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Ubiquitination, defined as the covalent attachment of ubiquitin to the target proteins, is one of the most important post-translational modifications (PTMs) of proteome. However, ubiquitination not only involves in the regulation of protein abundance, but also plays a role in the regulation of protein activity, interaction and subcellular localization. Ubiquitination is variable in length (monoubiquitination, multiubiquitination and polyubiquitination) and is different in ubiquitin chain types (linked *via* Met1, Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys48 and Lys63). Due to its diversity and multivalency, ubiquitination orchestrates numerous aspects of cell biology including cell proliferation, apoptosis, autophagy, endocytic trafficking, DNA damage repair and immunity response. Thus, dysregulation of ubiquitination has been associated with a wide spectrum of diseases including cancer, neurodegenerative disorders, muscle dystrophies, immune pathologies and metabolic syndromes. Therefore, targeting ubiquitination pathway has been demonstrated a promising therapeutic strategy in important diseases especially cancer and neurodegenerative disorders.

ubiquitination, cellular functions, cancer, neurodegenerative disorders

doi: 10.1360/N052015-00065