

SUMO 化修饰与膜蛋白功能的调控

蔡蓉* 程金科

(上海交通大学医学院医学科学研究院, 生物化学与细胞生物学系, 细胞信号转导研究室, 上海 200025)

摘要 SUMO 化作为一种重要的蛋白质翻译后修饰方式, 其为人们熟知的功能是调控转录蛋白的细胞核内外定位与基因转录调节活性。近年来, 研究发现 SUMO/去 SUMO 化修饰的底物不仅限于核内与核周蛋白, 一些膜蛋白, 如钾离子通道、谷氨酸盐和海藻氨酸受体亚基、TGF- β 受体等, 均可作为 SUMO/去 SUMO 化修饰的底物。本文就 SUMO/去 SUMO 化修饰在膜蛋白功能调控这一新兴领域的最新进展作一介绍。

关键词 SUMO; 去 SUMO; 膜蛋白

引言

SUMO 是一种分子量约为 11kDa 的泛素类似蛋白, 在真核生物中广泛表达且进化保守。迄今为止在哺乳动物中已发现四种: SUMO-1、SUMO-2、SUMO-3 及 SUMO-4^[1, 2]。SUMO 化已成为人们所熟知的一种蛋白质翻译后修饰方式, 可对多种底物蛋白的活性、细胞内定位与功能进行调控。细胞内 SUMO 蛋白在合成后是以一种前体形式存在, 这种前体蛋白需要经过一个成熟过程, 即通过一种称为 SUMO 特异性蛋白酶(SUMO-specific proteases 或 Sentrin-specific proteases, 以下简称 SENPs)家族成员的水解反应^[3], 暴露其 C 端保守的甘氨酸残基的游离羧基, 才能接合到底物蛋白赖氨酸残基上的 ϵ -氨基上, 修饰其靶蛋白。SUMO 化与泛素修饰相类似, 是一系列级联酶促反应, 分别由 E1、E2 与 E3 完成活化、偶联和连接反应^[4]。SUMO 化修饰是动态和可逆的, 其去 SUMO 化是由 SENPs 来完成的(图 1)。

自 1995 年 SUMO 基因(SMT3)在酿酒酵母中被鉴定以来^[5], 已发现数百种能被 SUMO 化修饰的底物, 包括转录因子、染色质重塑相关蛋白、转录共激活/阻遏因子等^[6]。由于这些因子大多属于核蛋白和核周蛋白, 因此, SUMO 化修饰被认为是一种核内发生的事件^[4]。近年来, 有一些研究发现了一些胞浆和胞膜蛋白也能被 SUMO 化修饰, 包括代谢相关的酶类、细胞质骨架蛋白、内质网和质膜相关蛋白等等^[7]。本文将就近年来质膜蛋白的 SUMO 化修饰研究进展作一综述。

1 SUMO 化修饰与钾离子通道

十余年来的研究表明, K2P 钾离子通道跨膜蛋白

主要通过调控钾离子的基础渗漏水平, 来控制细胞的兴奋性。目前为止, 发现与 K2P 通道存在相互作用的蛋白包括: Vpu1、14-3-3、SUMO 等^[8]。其中, 在 2005 年, Rajan 等^[9]在 *Cell* 杂志上报道, K2P1 能发生 SUMO 化修饰。这种修饰可使 K2P1 的功能沉默, 而 K2P1 的去 SUMO 化又可使其通道开放, K⁺ 外流。K2P1 是细胞膜 K2P 蛋白超家族的成员之一, 是 K⁺ 通道的组分之一, 但在生理状态下极难检测到其具有活性。Rajan 等^[9]的研究发现, K2P1 蛋白内段 274 位的赖氨酸残基是 SUMO 化修饰的位点, 该位点的 SUMO 化修饰完全阻断了 K2P1 所介导的 K⁺ 外流。而该位点的突变, 或在细胞内过量表达 SUMO 特异性蛋白酶 1-SENPI, 均能导致此 pH 敏感性 K⁺ 通道的组成性激活。Wilson 等^[7]对该研究给予了很高评价, 他指出, 这一发现的重要意义主要体现在: 其一, 对于绝大多数底物, SUMO 化修饰仅占其总量的极少部分, 而 K2P1 的 SUMO 化是其主要形式, 这解释了为何在正常状态下很难检测到 K2P1 活性的原因; 其二, 这种膜镶嵌蛋白是如何与 SUMO 化的系统相互作用的? 但目前没有 SENPs 家族成员能定位于细胞膜的胞浆侧的报道, 这是否是为什么 K2P1 高度 SUMO 化的原因; 其三, 该蛋白的 SUMO/去 SUMO 使得 K2P1 呈现通道开放的“全或无”现象, 区别于其他底物如转录因子被 SUMO 化后所引发的加强或减弱转录的效应。然而, 在 2007 年, 法国人 Feliciangeli 等^[10]

收稿日期: 2010-07-05 接受日期: 2010-10-12

国家自然科学基金青年基金(No.30800636)和上海交通大学医学院
科学研究院青年教师科研能力提升计划重点资助项目

* 通讯作者。Tel: 021-64661525, Fax: 021-64661525, E-mail:
ccairong@sju.edu.cn

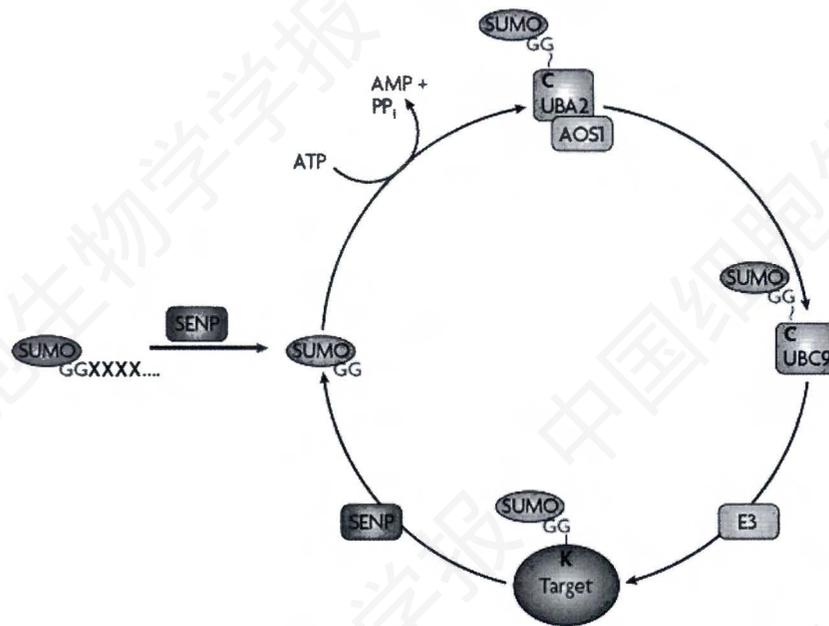


Fig.1 The mechanism of reversible sumoylation^[3]

在 *Cell* 杂志上提出了质疑, 其所在的研究小组无论是用体外还是体内的方法, 均未重复出静息状态下 K2P1 通道可被 SUMO 化修饰。他们的实验结果显示, K274 位突变为谷氨酸而非精氨酸, 方能提高 K2P1 介导的钾离子外流, 提示此种 K⁺ 外流增强的现象可能是氨基酸残基电荷差异所致, 而与 274 位赖氨酸残基的 SUMO 化修饰无关。

虽然 K2P1 是否受 SUMO 化修饰调控还存在争议, 但同为钾离子通道蛋白的 Kv 家族也发现了受 SUMO 化修饰调控的现象。Kv 是一类电压依赖性钾离子通道, 血管平滑肌细胞膜上已发现存在四种不同的亚型。此类钾离子通道蛋白介导的钾离子外流, 有助于诱导血管平滑肌细胞的复极化和静息膜电位的恢复^[11]。哈佛大学医学院的 Benson 等^[12]发现, Kv1.5 含有两个进化上保守的 SUMO 化模体(ψ -K-X-E/D), 其被 SUMO 化修饰的赖氨酸残基分别位于 K221 和 K536 位。过表达实验证实 Kv1.5 可被 SUMO-1 或 SUMO-2/3 进行 SUMO 化修饰。K221 和 K536 位点同时突变后, 或者同时共转染 SENP2 质粒, Kv1.5 的 SUMO 化状态被破坏, 诱发该离子通道电压依赖性的超极化, 导致离子通道的失活。这类电压门控钾离子通道通过调控细胞膜内外的钾离子跨膜流动, 参与了心脏与外周血管细胞静息膜电流的维持和细胞内的复极化过程。该类通道功能的缺失, 会导致多种心血管系统疾病的发生。

哺乳动物的 Kv 蛋白有 11 种家族成员, 其中 Kv2.1 通道的开关能够调控胰腺 β 细胞的兴奋性和胰岛素的分泌。最近 Dai 等^[13]发现, Kv2.1 被 SUMO 化修饰后可大大降低天然状态下, 由该通道介导的胰腺 β 细胞的钾离子内流, 降低胰腺 β 细胞的兴奋性, 从而减少胰岛素的分泌。另外, INS1 胰腺瘤细胞中也存在此种现象。而 SENP1 通过去 SUMO 化, 提高胰腺 β 细胞的兴奋性。此种 Kv2.1 通道蛋白动态的 SUMO/去 SUMO 化修饰, 可调节钾离子内流和细胞的兴奋性, 可能与糖尿病等代谢性疾病有关。

2 SUMO 化修饰与葡萄糖转运

葡萄糖在生物体物质与能量代谢中的重要性已被人们广泛认知。除小肠与肾脏近端肾小管外, 其它组织器官中葡萄糖的转运均以易化运输的形式进行, 由葡萄糖转运体(glucose transporters, GLUTs)家族蛋白负责运输。根据 GLUTs 蛋白分布的组织特异性, 可将其分为五类: GLUT1-5^[14]。早在 2000 年, Giorgino 和他的同事^[15]就通过酵母双杂交的方法, 用 GLUT1 和 GLUT4 C 末端的细胞膜胞内段作为诱饵蛋白, 筛选大鼠脂肪细胞 cDNA 文库, 发现 mUbc9 能与其发生直接结合。GLUTs 是一类结构上相关的跨膜糖蛋白, 负责顺葡萄糖浓度梯度跨细胞脂质双分子层进行葡萄糖转运。大鼠 GLUT4 受体蛋白 467-477 位的肽段, 以及 GLUT1 蛋白 451-461 的肽段, 介导了

两者与 mUbc9 的相互作用^[15]。在胰岛素敏感性骨骼肌细胞株 L3 中过量表达 mUbc9 可轻微下调 GLUT1 蛋白的表达量,但却通过增强蛋白稳定性,大大提高 GLUT4 蛋白的表达,促进了胰岛素调节的葡萄糖转运。GLUT1 和 4 可被 SUMO 化修饰的现象提示,一种新的 GLUTs 翻译后修饰方式,可对生理和病理状态下胰岛素介导的细胞葡萄糖摄取状况进行调节。

2002年,西班牙科学家Lalioi等^[16]同样用酵母双杂交筛选的方法,筛选到了 GLUT4 跨膜蛋白 C 端胞内段 464~509 的肽段,与一种被称为 Daxx 蛋白的 C 端结构域存在直接的相互作用,并且被胞内外结合实验所证实。Daxx 是一种能够与 Fas 受体和 T β RII 等蛋白发生结合作用的接头蛋白,介导了 JNK 等途径的活化。Daxx 蛋白能够被 SUMO 化修饰,并且其 SUMO 化修饰可能抑制了它与其它蛋白的相互作用。但是, SUMO 化的 Daxx 如何在胞质和核内 PML 核体之间穿梭,并与 SUMO 化的 GLUT4 发生相互作用的分子机制,以及两者相互作用参与了何种具体的生物学过程,还需要进行更为深入的研究。

3 SUMO化修饰与神经突触信号传递

近年来,蛋白质 SUMO 化修饰在调控神经元功能等方面的研究日渐兴起^[17],神经元内蛋白 SUMO 化修饰的障碍会导致多种神经系统疾病的发生。G 蛋白受体偶联、酶偶联受体等经典信号通路中,存在多种可被 SUMO 化修饰的核内外蛋白,如 GTP 酶活化蛋白(GTPase-activating proteins, GAPs)、蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP1B (protein tyrosine phosphatase 1B) 和转录因子 MEF2 等^[18-20],在神经元兴奋性调节与发育等过程中发挥了重要的作用。对于细胞膜蛋白,除了上述钾离子通道蛋白 Kv1.5、葡萄糖转运体 GLUT1 与 GLUT4 均表达于脑组织外,现也发现神经元特异性表达的膜受体蛋白也可通过 SUMO/ 去 SUMO 化受到功能性调控。

III类突触前代谢性谷氨酸盐受体(metabotropic glutamate receptors, mGluRs)属于G蛋白偶联受体,参与调控突触可塑性和神经元的发育,抑制突触前神经递质的释放^[21]。Tang 等^[21]通过酵母双杂交的方法,发现了一种 SUMO 特异性的 E3 连接酶 -Pias1,能够与诱饵蛋白 mGluR8a 发生直接的相互作用,并经 GST-pull down 实验所证实。既然 Pias1 是一种 SUMO 特异性的 E3 连接酶,是否 mGluR8a 在体内能够被 SUMO 化修饰? Tang 等^[21]的研究结果证实了

mGluR8a 能被 SUMO 化修饰,其修饰位点位于 C 末端的 K882,而 C 末端是 mGluR8a 蛋白与信号通路中多种蛋白组分发生相互作用的区域, K882 位 SUMO 蛋白的加入可能会在一定程度上破坏其与其它蛋白的相互作用,但其在生物学功能调控方面的重要性还有待于体内实验的进一步证实。

神经元细胞膜表面受体蛋白的数量决定了细胞间通讯的强度,而膜受体的内吞和胞内运输是调节神经元细胞与突触表面受体蛋白数量的重要途径之一。红藻氨酸盐受体(kainite receptors, KARs)属于谷氨酸盐门控离子通道型受体,在大脑组织中广泛存在,是神经网络活性的关键调控者^[22]。跨膜蛋白 GluR6 是红藻氨酸盐受体亚基之一,与 GluR5 和 GluR6 共同组成有功能的阳离子通道,属于突触后受体,受谷氨酸盐配体的活化,传递神经细胞的兴奋信号^[23]。2007年, *Nature* 杂志报道了英国科学家 Martin 等^[24]有关 GluR6 SUMO 修饰的结果。该研究小组发现,大鼠海马神经元突触中存在多种能够被 SUMO 化修饰的底物蛋白, GluR6 是其中之一。GluR6 的 SUMO 化与去 SUMO 化修饰可调控受体的内吞和突触传递功能^[24]。用谷氨酸盐刺激海马神经元细胞后, GluR6 的 SUMO 化程度明显提高, SENP1 可对其进行去 SUMO 化修饰,从而阻止该受体的内吞。电生理实验结果显示,由红藻酸盐受体所介导的海马神经元兴奋性突触后电流,在 GluR6 去 SUMO 化修饰后得以显著升高^[20]。同期的 *Nature* 杂志邀请 Coussen 等^[25]撰写了专题评论,认为该研究的科学意义在于,提供了 SUMO/ 去 SUMO 化这种蛋白质修饰方式调控突触功能的最新线索,但在为神经生物学领域研究突触功能开辟新道路的同时,仍然遗留了很多科学问题需要回答。第一, KARs 的 SUMO 化修饰是如何触发的? 第二, GluR6 发生 SUMO 化修饰的生理意义何在? 是否参与了突触可塑性的调控? 第三,由于 GluR6 同时可被泛素化修饰,其与 SUMO 化修饰的相互关系是怎么样的? 这都将是今后研究的方向。

4 SUMO化修饰与I型TGF- β 受体

Rik Derynck 研究小组^[26]报道了发现一种生长因子特异性的受体 -I 型 TGF- β 受体(T β RI)在给予 TGF- β 刺激后,发生 SUMO 化修饰,修饰的关键位点在 T β RI 胞内段的 K389。这种 SUMO 化修饰依赖于 T β RI 与 T β RII 的磷酸激酶活性,并且可激活下游信号分子 Smad 2/3,放大 TGF- β 所介导的基因转录激活和细

胞生长抑制效应^[27]。同时,其建立的小鼠乳腺癌转移模型证实,TβRI体内的SUMO化修饰促进了Ras恶性转化MEF细胞的肺转移。由于TβRI是一种跨膜蛋白,而参与SUMO化修饰的酶类主要存在于核内及核膜组分中,其如何被SUMO化修饰的生理过程与具体的生化机制,特别是何种E3参与了这一生化反应,是值得未来进一步探讨的问题^[27]。

5 总结

十余年来,诸多SUMO化底物蛋白的陆续发现,提示了这种翻译后修饰方式在生理和病理性过程中的普遍意义^[28]。然而,大多数底物蛋白通过SUMO/去SUMO化的动态修饰过程,发挥了何种生物学效应,远未阐述明了。随着核外SUMO化底物鉴定的日益增多,说明SUMO/去SUMO化修饰并非仅仅是细胞核内蛋白特有的生物学事件。膜蛋白,特别是生长因子受体与离子通道等蛋白SUMO化修饰,参与了细胞内多种信号通路的传递过程,具有重要的生物学意义,这也将是未来蛋白SUMO化领域的重要研究方向之一。

参考文献(References)

1. Melchior F. Sumo-Nonclassical ubiquitin. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000; 16: 591-626.
2. Guo D, Li M, Zhang Y, Yang P, Eckenrode S, Hopkins D, *et al*. A functional variant of SUMO4, a new IκBα modifier, is associated with type 1 diabetes. *Nature Genet* 2004; 36(8): 837-42.
3. Ruth GF, Melchior F. Concepts in sumoylation: a decade on. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(12): 947-56.
4. Hay RT. SUMO: A history of modification. *Mol Cell* 2005; 18(1): 1-18.
5. Meluh PB, Koshland D. Evidence that the MIF2 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes a centromere protein with homology to the mammalian centromere protein CENP-C. *Mol Biol Cell* 1995; 6(7): 793-807.
6. Lyst MJ, Stancheva I. A role for SUMO modification in transcriptional repression and activation. *Biochem Soc Trans* 2007; 35(Pt 6): 1389-92.
7. Wilson VG, German RA. Wrestling with SUMO in a new area. *Science's strike* 2005; 290: pe32.
8. Plant LD, Rajan S, Goldenstain SA. K2P channels and their protein partners. *Curr Opin Neurobiol* 2005; 15(3): 326-33.
9. Rajan S, Plant LD, Rabin ML, Butler MH, Goldstein S. Sumoylation silences the plasma membrane leak K⁺ channel K2P1. *Cell*, 2005; 121(1): 37-47.
10. Feliciangeli S, Bendahhou S, Sandoz G, Gounon P, Reichold M, Warth R, *et al*. Does sumoylation control K2P1/TWIK1 background K⁺ channels? *Cell* 2007; 130(3): 563-9.
11. Ko EA, Han J, Jun ID, Park WS. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells. *J Smooth Muscle Res* 2008; 44(2): 65-81.
12. Benson MD, Li QJ, Kieckhafer K, Dudek D, Whorton MR, Sunahara RK, *et al*. SUMO modification regulates inactivation of the voltage-gated potassium channel Kv1.5. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(104): 1805-10.
13. Dai XQ, Kolic J, Marchi P, Sipione S, Macdonald PE. SUMOylation regulates Kv2.1 and modulates pancreatic {beta}-cell excitability. *J Cell Sci* 2009; 122(Pt 6): 775-9.
14. Brown GK. Glucose transporters: Structure, function and consequences of deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2000; 23(3): 237-46.
15. Giorgino F, Robertis OD, Laviola L, Montrone C, Perrini S, McCowen KC, *et al*. The sentrin-conjugating enzyme mUbc 9 interacts with GLUT4 and GLUT1 glucose transporters and regulates transporter levels in skeletal muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(3): 1125-30.
16. Lalioti VS, Vergarajauregui S, Pulido D, Sandoval IV. The insulin sensitive glucose transporter, GLUT4, interacts physically with Daxx. *J Biol Chem* 2002; 277(22): 19783-91.
17. Martin S, Wilkinson KA, Nishimune A, Henley JM. Emerging extranuclear roles of protein sumoylation in neuronal function and dysfunction. *Nature Rev Neurosci* 2007; 8(12): 948-59.
18. Rodriguez-Munoz M, Bermudez D, Sanchez-Blazquez P, Garzon J. Sumoylated RGS-Rz proteins act as scaffolds for Mu-opioid receptors and G-protein complexes in mouse brain. *Neuropsychopharmacology* 2007; 32(4): 842-50.
19. Dadke S, Cotteret S, Yip SC, Jaffer ZM, Hai F, Ivanov A, *et al*. Regulation of protein tyrosine phosphatase 1B by sumoylation. *Nature Cell Biol* 2007; 9(1): 80-5.
20. Shalizi A, Bilimoria PM, Stegmuller J, Gaudilliere B, Yang Y, Shuai K, *et al*. PIASx is a MEF2 SUMO E3 ligase that promotes postsynaptic dendritic morphogenesis. *J Neurosci* 2007; 27(37): 10037-46.
21. Tang ZS, Far QE, Betz H, Scheschonka A. Pais1 interaction and sumoylation of metabotropic glutamate receptor 8. *J Biol Chem* 2005; 280(46): 38153-9.
22. Lerma J. Kainate receptor physiology. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6(1): 89-97.
23. Jaskolski F, Coussen F, Mulle C. Subcellular localization and trafficking of kainate receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26(1): 20-6.
24. Martin S, Nishimune A, Mellor JR, Henley JM. Sumoylation regulates kainate-receptor mediated synaptic transmission. *Nature* 2007; 447(7142): 321-7.
25. Coussen F, Choquet D. Neuroscience: Wrestling with SUMO. *Nature* 2007; 447(7142): 271-3.
26. Kang JS, Saunier EF, Akhurst RJ, Derynck R. The type I TGF-β receptor is covalently modified and regulated by sumoylation. *Nat Cell Biol* 2008; 10(6): 654-64.
27. Miyazono K, Kamiya Y, Miyazawa. SUMO amplifies TGF-β signalling. *Nat Cell Biol* 2008; 10(6): 635-7.
28. Meulmeester E, Melchior F. Cell biology: SUMO. *Nature* 2008; 452(7188): 709-11.

Sumoylation Regulates Membrane Protein Function

Rong Cai*, Jin-Ke Cheng

(Laboratory for Cell Signal Transduction, Institute of Medical Sciences, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract As a type of important protein post-translational modification, the well-known role of sumoylation is to mediate import/export and activation of transcription-related proteins. In recent years, it was reported that the substrates modified by sumoylation extend to several membrane proteins, such as potassium ion channel, glutamate and kainate receptor subunit, and TGF- β receptor, in addition to nuclear and perinuclear proteins. This review briefly introduces the advances about this newly emerging field of membrane protein function regulated by sumoylation.

Key words sumoylation; de-sumoylation; membrane protein

Received : July 5, 2010 Accepted : October 12, 2010

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30800636) and a Grant from Institute of Medical Sciences, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine

*Corresponding author. Tel: 86-21-64661525, Fax: 86-21-64661525, E-mail: ccairong@sjtu.edu.cn