

Dyson等人在研究果蝇时发现了一条E2F1/ $\beta$ -catenin信号通路。他们发现果蝇的 $\beta$ -catenin和TCF同系物可以共同抑制E2F1诱导的细胞凋亡作用。使用Saos2骨癌细胞系(Saos2 osteocarcinoma cell line)研究发现,是E2F1而不是其它的E2F激活物可以抑制 $\beta$ -catenin组成性激活突变体(constitutively active  $\beta$ -catenin mutant)的转录活性。此外,外源性表达(exogenous expression)E2F1分子可以从RNA水平和蛋白质水平抑制cMYC的表达。有趣的是,E2F1还能上调可促进 $\beta$ -catenin降解的分子的表达,例如AXIN1/2分子与SIAH1分子。

抑癌基因Rb产物能抑制E2F分子作用,妨碍细胞周期的进行。不过在很多人患癌症时Rb基因都是失活的,但是在结肠癌患者中,Rb基因的拷贝数反而会增多,这表明在结肠癌患者中Rb基因因为抑制了E2F1分子的活性,从而增强了 $\beta$ -catenin分子的活性。实际上,去除Rb蛋白可以阻断 $\beta$ -catenin介导的转录活性,从而可以抑制

结肠癌细胞的增殖,但这种情况可以在试验中被外源性表达的 $\beta$ -catenin组成性激活突变体给逆转。

让人感兴趣的是,CDK8分子在体外可以与磷酸化的E2F1分子作用形成CDK8/E2F1复合体,该复合体进而与cMYC启动子结合。CDK8分子也能妨碍E2F1分子对 $\beta$ -catenin及其激酶活性促转录作用的抑制作用。

结合这两篇论文我们发现,CDK8分子与E2F1分子在调节 $\beta$ -catenin介导的基因转录作用中具有截然相反的作用。因此我们发现了结肠癌中一条新的作用机制,即CDK8分子水平的升高可以影响E2F1分子介导的下调 $\beta$ -catenin分子的作用机制。所以,可以设计出一种新的针对CDK8分子的药物,进而可以促进E2F1分子的活性,下调 $\beta$ -catenin分子的表达,抑制原癌基因激活。这极有可能成为一种新的治疗结肠癌的药物。

原文检索: <http://www.signaling-gateway.org/update/featured/>

筱玥/编译

## 小词典

$\beta$ -catenin:

$\beta$ -连锁蛋白。它是一种多功能的蛋白质,广泛存在于细胞膜、细胞质及细胞核内。在细胞连接处,细胞膜上的 $\beta$ -catenin与钙粘素相互作用,参与形成粘带,而游离的 $\beta$ -catenin可进入细胞核,调节基因表达。 $\beta$ -catenin在调节细胞粘附和信号转导方面起着关键性作用,并且在细胞的形成、增殖和分化中扮演着重要角色。在很多肿瘤中, $\beta$ -catenin的过表达是肿瘤转移的标志。

## 翻译后修饰:

## 使用抗体区分蛋白质不同的多泛素化修饰

使用能区分出泛素是与63位赖氨酸(Lys-63-linked)相连还是与第48位赖氨酸相连(Lys-48-linked)的抗体进行研究发现,对靶蛋白进行不同的多泛素化修饰可能是体内存在的一种限制信号通路过度作用的机制。

泛

素化是通过将泛素与蛋白质连接进而调节体内不同的生化过程,63位赖氨酸的多泛素化通常都与信号通路有关,而48位赖氨酸的多泛素化通

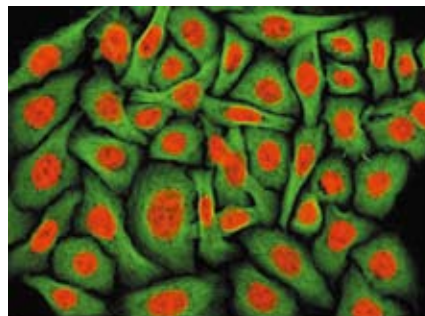
常都与蛋白降解有关。不过由于试验技术的限制,一直没能区分出蛋白质63位赖氨酸泛素化后和48位赖氨酸泛素化后之间的细微区别。使用由Newton等人研制的能区分不同泛素化作用的抗体,现在我

们就能很容易地区分出不同位点地泛素化作用了。使用这些抗体进行相关研究后发现，对靶蛋白进行不同的多泛素化修饰（polyubiquitin editing）可能是体内存在的一种限制信号通路过度作用的机制。

以前，研究者都只能依靠质谱分析技术或突变技术来研究63位赖氨酸泛素化和48位赖氨酸泛素化之间的细微区别。不过这两种试验方法也有其局限性。首先质谱技术需要昂贵的仪器设备，而突变技术又不一定能真实地反应体内实际的泛素化修饰状况，并且这两种试验方法都不能检测在不同时间泛素化过程所发生的变化。所以，Newton等人研制出了能区分与63位赖氨酸（Lys-63-linked）相连还是与48位赖氨酸相连的不同泛素化作用的抗体，经过试验验证，这两种抗体的特异性相当高，能用于免疫沉淀（immunoprecipitation）和western blotting。

这两种抗体能给我们提供更多关于泛素化的信息。例如借助间接免疫荧光显微镜（indirect immunofluorescence microscopy），研究者使用HeLa细胞研究发现48位赖氨酸多泛素化修饰的蛋白质定位在细胞核与胞质，在核仁中比较少，与标记的蛋白酶体相连。然而63位赖氨酸多泛素化修饰的蛋白质定位在胞质中的细胞器（cytoplasmic speckles），不与标记的蛋白酶体相连。这些发现也支持了是48位赖氨酸多泛素化修饰后蛋白会降解而不是63位赖氨酸多泛素化修饰导致蛋白降解的观点。

为了进一步研究这些抗体的实用价值，研究者又用该抗体对激酶受体（kinase adaptor）RIP1进行了研究，RIP1对核因子 $\kappa$ B（nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B）的激活具有非常重要的作用。细胞先使用肿瘤坏死因子（tumour-necrosis factor TNF）孵育，然后RIP1就可以与TNF受体1（TNF receptor-1, TNFR1）结合发挥作用了。试验发现RIP1第63位赖氨酸多泛



图片说明：HeLa细胞

素化就与NF- $\kappa$ B信号通路下调有关。使用上述抗体，Newton等人发现，细胞经TNF孵育5分钟后，RIP1蛋白第63位赖氨酸就被彻底多泛素化了，不过经TNF孵育10分钟后RIP1蛋白第63位赖氨酸多泛素化反而变少，第48位赖氨酸多泛素化却增多了。因为蛋白质第48位赖氨酸多泛素化是与蛋白降解有关的，所以RIP1蛋白经泛素化修饰后被降解，也就下调了NF- $\kappa$ B信号通路。研究人员使用同样的方法研究了参与免疫反应的IRAK1信号通路，也发现同样的现象，即先是蛋白第63位赖氨酸被泛素化，继而蛋白第48位赖氨酸被泛素化。

综上所述，蛋白质泛素化修饰可能是体内一种下调信号通路的机制。研究者们进一步指出，这种能区分蛋白质不同泛素化作用的抗体所起的作用，就像当年能区分不同氨基酸磷酸化的抗体在研究细胞信号通路调节途径中，蛋白质翻译后磷酸化修饰所起的作用一样。

原文检索：<http://www.signaling-gateway.org/update/updates/200810/nrm2508.html>

 YORK/编译

## 小词典

### HeLa细胞株：

它是由正常子宫颈细胞被一种人类乳头状瘤病毒（Human Papillomavirus 18 或HPV18）感染后发生癌变的细胞即人宫颈癌细胞，而且和正常子宫颈细胞有许多不同。

目前已经证实HeLa细胞株难以控制。此细胞株有时会污染同一实验室的其它细胞培养环境，进而影响生物研究。由于研究人员很少检查已确立的细胞株的本质和纯度，因此污染的程度不明。据说有相当数目的人造细胞株其实就是HeLa细胞株，也就是说原来的细胞株被一群受到HeLa细胞株污染的快速增殖细胞淹没了。