

端锚聚合酶 (tankyrase) 研究进展

江红 罗瑛 郑晓飞 孙志贤*

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 端锚聚合酶 (tankyrase) 是一种位于端粒的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶, 它在端粒酶阳性细胞中过表达可使端粒长度增加, 从而影响染色体的稳定性, 与细胞的衰老、死亡和癌变密切相关; 同时它在细胞中的复杂分布模式和不同类型的存在, 使其可能在不同的亚细胞位点发挥不同的作用。

关键词 端锚聚合酶, 端粒, 细胞衰老

学科分类号 Q555.4

端粒长度是控制细胞衰老的“分子钟”, 端粒酶和若干端粒结合蛋白对端粒的长度具有调节作用。1998年底发现的一种新的端粒结合蛋白——tankyrase, 一方面能够通过调节端粒长度影响染色体的稳定性, 与细胞衰老、死亡和癌变密切相关; 另一方面, 它的结构特点和在细胞中分布的多样性使其可能在诸多领域发挥作用。本文仅就 tankyrase 结构特点与分类、细胞中的定位、功能研究的新进展作一概述。

1 Tankyrase 的结构与分类

端锚聚合酶 (TRF1-interacting, ankyrin related ADP-ribose polymerase, tankyrase)^[1], 是 Smith 等^[2]用端粒结合蛋白 TRF1 (telomeric repeat binding factor 1) 作诱饵, 从人胚胎肝 cDNA 文库筛选到的 1327 个氨基酸残基组成的蛋白质, 分子质量约为 142 ku。人 tankyrase 基因定位于第 8 号染色体^[3]; 在人体组织中有普遍表达; 在哺乳动物中高度保守^[4]。

在结构上, tankyrase 主要由 4 部分组成: 氨基端为 HPS (region containing homopolymeric runs of His, Pro, and Ser) 结构域; 中心区域含 24 个锚蛋白重复区; 之后有一个与 SAM (sterile alpha motif) 同源的区域; 羧基端与聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase, PARP] 催化结构域的 28% ~ 30% 氨基酸同源, 包括所有在 NAD⁺ 结合和催化反应中的重要氨基酸 (图 1)。

PARP 是真核细胞中针对环境中中和细胞内基因毒素引发 DNA 链断裂损伤的一个重要感受分子。Tankyrase 具有 PARP 酶活性, 这使得其羧基端的

结构在 tankyrase 酶的功能表达中具有十分突出的地位, 是最应该引起我们注意的结构。但同时, tankyrase 缺乏 PARP 的自我修饰结构域和 DNA 结合结构域, 这就提示 tankyrase 作为 PARP 家族的一个新成员, 在结构和功能上都具有其独特的特点。

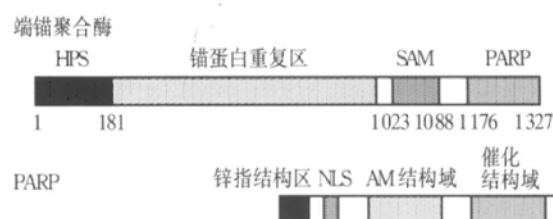


Fig. 1 Schematic representation of the structure of tankyrase and PARP^[2,5]

图 1 端锚聚合酶和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶的线性结构

在真核细胞中还存在着一种新的 tankyrase, 由 Lyons 等^[6]以 Grb14 (growth factor receptor-bound) 为诱饵从人肝 cDNA 文库筛选得到, 命名为 tankyrase 2, 有几个研究小组同时对它进行了研究^[7-9]。它是 130 ku 蛋白质, 由 1166 个氨基酸残基组成, 基因定位于 10q23.2, 在人类各组织中也有广泛表达。

在结构上, tankyrase 和 tankyrase-2 的最大差别在于后者缺乏 HPS 结构域, 其锚蛋白重复区和 SAM 区域也存在不同; 但它们的 PARP 区域同源性竟高达 93%, 并且 NAD⁺ 结合和催化反应的关键氨基酸残基完全保守; 它们都能与 TRF1 氨基

* 通讯联系人。

Tel: 010-66932212, E-mail: sunzx@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2001-12-04, 接受日期: 2001-12-25

端的酸性结构域结合^[2,7]. Tankyrase 2 的 Grb14 结合区域 (第 10~19 锚蛋白重复单位) 同 tankyrase 的 TRF1 结合区域 (第 9~18 锚蛋白重复单位) 相似性, 提示 tankyrase 的这个区域可能是同其他蛋白质相互作用的一个关键部位^[6].

2 在细胞中的分布

Smith 等^[2,4,10]的相继研究发现, tankyrase 在细胞中的定位有如下特点: a. 在细胞核中的定位依赖于 TRF1. 从 tankyrase 的序列可知, 它不含已知的核定位信号, 而羧基端含有核定位信号的 TRF1 能通过与 tankyrase 的结合, 调节 tankyrase 在端粒的定位. b. 在细胞中的定位具细胞周期依赖性, 分布模式复杂, 在细胞分裂期分布于端粒和中心体周围; 在细胞间期分布于胞浆、端粒、核膜和核孔复合体. c. 在胞浆中与高尔基复合体联系密切, 但只是与高尔基复合体相关的外周膜蛋白, 并不是高尔基复合体的整合蛋白^[8]. d. 在细胞周期中的蛋白质表达水平稳定. 用免疫印迹方法分析不同时期细胞抽提物中 tankyrase 的表达, 表明尽管 tankyrase 在细胞周期中的分布模式复杂, 但蛋白质的表达水平相对稳定.

与 tankyrase 相似, tankyrase-2 也分布于胞浆和核周围, 在有丝分裂期也定位于中心体周围基质中. 引人注意的是: 尽管 tankyrase-2 能同 TRF1 结合, 但在 TRF1 过表达的细胞, 它并不定位在胞核^[7].

总之, tankyrase 的一小部分在整个细胞周期中分布于端粒, 而大部分随细胞周期分布于其他亚细胞位点, 表明它可能是细胞的一种结构性蛋白质, 可在多个位点发挥作用.

3 Tankyrase 的生物学功能

目前虽然对 tankyrase 功能的研究还仅仅是开始, 其确切的分子表达调控机制尚需深入研究, 但现有的报道已经显示它具有多种重要的生物学功能.

3.1 通过对 TRF1 的糖基化修饰调节端粒长度

科学家们已获得的共识是: 端粒具有稳定染色体的功能, 端粒长度是细胞衰老、死亡和癌变的重要标志. 端粒酶可以催化端粒的延长, 而端粒结合蛋白却是通过调节端粒结构的状态间接影响端粒酶的作用, 并不是直接调节端粒酶活性. 新的研究进展表明: 端粒结合蛋白 TRF1、TRF2 和 TIN2

(TRF1-interacting nuclear protein 2) 在端粒上的结合可以强化端粒的有序结构, 使其处于一种“关闭”状态, 导致端粒酶无法接近端粒末端发挥作用, 体外实验也证明这 3 种蛋白质的过表达可使端粒的长度缩短, 但对端粒酶的活性无影响^[11~13].

Smith 的实验证明, 同样是端粒结合蛋白的 tankyrase 也可以调节体内 TRF1 在端粒的聚集. 在端粒酶阳性细胞, tankyrase 长期过表达可使端粒的长度进行性地延长, 缺失 PARP 区域的端锚聚合酶对 TRF1 的分布和端粒长度的动力学无影响^[14]. 同时, Finnon 等^[15]在另一方面的研究揭示端粒酶的活性变化与 tankyrase 的转录无关. 而 tankyrase 对 TRF1 的聚 ADP-核糖基化修饰作用会让 TRF1 从端粒上释放, 解除 TRF1 对端粒结构的束缚作用, 使端粒处于一种“开放”的结构状态, 易于端粒酶和其他因子接近端粒末端, 催化端粒的延长. 由此可见, 在端粒结合蛋白控制端粒结构“开放”和“关闭”之间的转换中, tankyrase 发挥着十分重要的作用.

如上所述, tankyrase 能够在端粒发挥作用, 但为何它的大部分蛋白质存在于胞浆, 而不是胞核中? 一种可能, tankyrase 在细胞中的分布是可控的, 如 TRF1 能够调节它在端粒上的分布; 也许, tankyrase 并非一直具有 PARP 活性, 即它的 PARP 活性是可调节的, 在端粒酶发挥作用时, 具 PARP 活性的 tankyrase 才有可能定位于端粒; 也许, tankyrase 是一种具有多种功能和多种存在形式的蛋白质, 它可在细胞周期中的不同亚细胞位点发挥不同的作用.

3.2 参与对 DNA 损伤修复和细胞凋亡的调控

PARP (EC 2.4.2.30) 是存在于多数真核细胞中高度保守的一类核酶, 通过 ADP-核糖的转移对自身和蛋白质受体进行翻译后修饰, 其核糖基化作用与染色质结构、DNA 复制、转录、损伤后修复及基因组完整性密切相关.

PARP 控制转录和 DNA 损伤后修复之间的转换, 它识别并结合在 DNA 损伤位点, 终止受损基因的转录, 启动 DNA 损伤后的修复; 同时 PARP 又是细胞凋亡和细胞坏死性死亡的转换点, DNA 损伤使 PARP 活性升高, 引起 NAD⁺ 水平和 ATP 水平降低, 导致细胞坏死性死亡, 干扰凋亡过程的进行或完成, 但真核细胞有使自己免受 PARP 介导的细胞死亡机制, 即在引发细胞凋亡后的 30 min, 细胞凋亡的执行人 caspase 可将 PARP 切

割, 通过抑制 PARP 活性阻止凋亡细胞进入坏死途径^[16]. 在细胞的自我调控过程中, PARP 是 DNA 损伤后修复、细胞凋亡和细胞坏死性死亡的转换点, 因此, 具 PARP 活性的 tankyrase 很可能参与这一转换作用. Tankyrase 2 过表达可使细胞因快速失去线粒体膜死亡, 肿瘤细胞和正常细胞对这一作用的敏感性无差异, 抑制其 PARP 活性能部分减弱致死性^[7], 表明 tankyrase 参与了上述 PARP 活性的调节.

3.3 参与机体对葡萄糖吸收的调节

Chi 等^[8]筛选到一种可与胰岛素敏感氨基肽酶 (insulin responsive amino peptidase, IRAP) 胞浆结构域六肽结合的 tankyrase 2, IRAP 和 GLUT4 共存于肌细胞和脂肪细胞的内吞小泡——GLUT4 小泡中. 在缺乏胰岛素的肌细胞中, 多数 GLUT4 小泡分布在高尔基内质网中和分散的胞浆位点, 而胰岛素可使胞内 GLUT4 迅速定位于细胞膜, 催化葡萄糖进入细胞^[16], 胰岛素通过对 GLUT4 小泡在胞内和细胞膜之间循环转运的影响, 调节机体对葡萄糖的吸收和利用. Tankyrase 2 与 IRAP 的结合使其能够将 GLUT4 小泡与细胞骨架或锚定蛋白相连, 为 GLUT4 小泡提供一个与信号分子或靶目标反应的支架.

3.4 信号转导中的作用

在 tankyrase 的 HPS 结构域中存在 MAPK 激酶作用的四肽 (PXSP) 位点^[6], Chi 等^[8]的实验显示, tankyrase 是 MAPK 级联反应的底物. MAPK 是 RAS 信号转导通路的介导分子, 催化多种核内的转录因子或胞浆蛋白. tankyrase 被 MAPK 磷酸化后, 对自身和外源表达 IRAP 的 PARP 活性增强, 但对其与外源 IRAP 的结合无影响, 它可能是这一细胞信号转导途径中的一个结点, 将 MAPK 的信号向下传递, 通过对其配体分子的聚 ADP 核糖化修饰引发一系列的级联反应, 在细胞信号传导中发挥作用.

3.5 在肿瘤发展过程中的作用

端粒酶对于细胞永生化和肿瘤发生至关重要, 是一个引人关注的肿瘤诊断和治疗靶目标, 其核心是 RNA 组分 (hTER) 和催化亚基 (hTERT). hTER 的表达可随肿瘤的发展被上调, hTERT 是调节酶活性的关键组分.

在多发性骨髓瘤和浆细胞性白血病中, tankyrase 的表达与 hTERT mRNA 密切相关^[17, 18]; 在活化的 T 淋巴细胞中, tankyrase、hTERT 和端粒

酶的表达均被显著上调. 这就揭示在肿瘤的发展过程中, tankyrase 表达水平增高可能是与肿瘤发展相伴随的一个事件.

3.6 参与调节进出细胞核的物质运输

RanGAP1 (Ran-GTPase activating protein) 和 Nup358 (nucleoporin of 358 ku) 是分布于核孔复合体胞浆纤维顶端的两个蛋白质, 其中 RanGAP1 可根据生理状态调节其在胞浆和胞核中的浓度. Tankyrase 定位于核孔可能是蛋白质或 RNA 通过核孔转运的进出位点, 它不仅在结构上作为核孔复合体胞浆纤维和细胞骨架的连接者, 通过 PARP 活性调节进出细胞核的运输; 而且它在核孔复合体的聚集是为借助与 TRF1 结合到达端粒做准备.

综上所述, 端锚聚合酶的结构和细胞内分布的特点, 揭示出它可能具有多种生物学功能. 既然 PARP 酶活性是它的功能基础, 它的上、下游分子针对这一活性是如何反应的? 它与其他端粒结合蛋白和端粒酶之间存在着怎样的相互作用和调控机制, 才能在不同的生理状态下精细地调节端粒的长度? 它的表达与否, 是否因此而成为细胞衰老和死亡的一个标志? 随着对它研究的深入进行, 新的发现将不断涌现, 使人们对它功能的了解更为精确, 同时它在细胞衰老、死亡和癌变中的生物学意义将更为明确.

参 考 文 献

- 1 郑晓飞, 吕 星. 端锚聚合酶 (Tankyrase) 和端粒. 生命的化学, 2000, 20 (6): 241~ 242
Zheng X F, Lu X. Chemistry of Life, 2000, 20 (6): 241~ 242
- 2 Smith S, Giriat L, Schmitt A, *et al.* Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at human telomere. Science, 1998, 282 (5393): 1484~ 1487
- 3 Hu L X, Smith S, de Lange T, *et al.* Chromosomal mapping of the tankyrase gene in human and mouse. Genomics, 1999, 57 (2): 320~ 321
- 4 Scherthan H, Jerratasch M, Li B B, *et al.* Mammalian meiotic telomeres: protein composition and redistribution in relation to nuclear pores. Mol Biol Cell, 2000, 11 (12): 4189~ 4203
- 5 Still I H, Vince P, Cowell J K. Identification of a novel gene (ADPRTL1) encoding a potential poly (ADP-ribosyl) transferase protein. Genomics, 1999, 62 (3): 533~ 536
- 6 Lyons R J, Deane R, Lynch D K, *et al.* Identification of a novel human tankyrase through its interaction with the adaptor protein Grb14. J Biol Chem, 2001, 276 (20): 17172~ 17180
- 7 Kaminker P G, Kim S H, Taylor R D, *et al.* TANK2, a new TRF1-associated PARP, causes rapid induction of cell death upon overexpression. J Biol Chem, 2001, 276 (38): 35891~ 35899
- 8 Chi N W, Lodish H F. Tankyrase is a Golgi-associated mitogen-activated protein kinase substrate that interacts with IRAP in GLUT4 vesicles. J Biol Chem, 2000, 275 (49): 38437~ 38444

- 9 Kuimov A N, Kuprash D V, Petrov V N, *et al.* Cloning and characterization of TNKL, a member of tankyrase gene family. *Genes Immun*, 2001, **2** (1): 52~ 55
- 10 Smith S, de Lange T. Cell cycle dependent localization of the telomeric PARP tankyrase, to nuclear pore complexes and centrosomes. *J Cell Sci*, 1999, **112** (21): 3649~ 3656
- 11 van Steensel B, de Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature*, 1997, **385** (6618): 740~ 743
- 12 Smogorzewska A, van Steensel B, Blanchi A, *et al.* Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (5): 1659~ 1668
- 13 Kim S H, Kaminker P, Campisi J. TIN2, a new regulator of the telomere length in human cells. *Nature Genetics*, 1999, **23** (4): 405~ 412
- 14 Smith S, de Lange T. Tankyrase promotes telomere elongation in human cell. *Curr Biol*, 2000, **10** (20): 1299~ 1302
- 15 Fannon P, Silver A R J, Bouffler S D. Upregulation of telomerase activity by X-irradiation in mouse leukaemia cells is independent of Tert, Terc, Tnks and Myc transcription. *Carcinogenesis*, 2000, **21** (4): 573~ 578
- 16 D'amours D, Desnoyers S, D'silva I, *et al.* Poly (ADP-ribosyl) ation reactions in the regulation of nuclear functions. *Biochem J*, 1999, **342** (pt2): 249~ 268
- 17 Emoto M, Klarlund J K, Waters S B, *et al.* A role of phospholipase D in Glut4 glucose transporter translocation. *J Biol Chem*, 2000, **275** (10): 7144~ 7151
- 18 Xu D, Zheng C, Bergenbrant S, *et al.* Telomerase activity in plasma cell dyscrasias. *British J Cancer*, 2001, **84** (5): 621~ 625

Progress on Tankyrase

JIANG Hong, LUO Ying, ZHENG Xiao-Fei, SUN Zhi-Xian*

(*Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*)

Abstract Tankyrase, a new telomeric poly (ADP-ribose) polymerase (PARP), acts as a positive regulator of telomere elongation. It can influence chromosomal stability and is closely related to cell senescence, death and carcinogenesis. Its complex pattern of subcellular localization and different subtypes enable it to play variant roles in different cellular sites.

Key words tankyrase, telomere, cell senescence

* Corresponding author. Tel: 86-10-66932212, E-mail: sunzx@nic.bmi.ac.cn

Received: December 4, 2001 Accepted: December 25, 2001