

哺乳动物氨基酰-tRNA 合成酶复合物中三个辅助因子在分子信号网络中的重要作用*

贺然 王恩多**

(中国科学院上海生命科学研究院, 生物化学和细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要 氨基酰-tRNA 合成酶是一类古老而保守的蛋白质, 它们催化蛋白质生物合成的第一步反应。哺乳动物细胞内存在一个由 8 种氨基酰-tRNA 合成酶和 3 种辅助因子组成的氨基酰-tRNA 合成酶复合物。近年来, 陆续发现该复合物中的 3 个辅助因子 p43、p38 和 p18 在复合物外的多种生命活动中扮演着重要角色: 辅助因子 p43 是细胞因子内皮单核细胞激活肽 II 的前体, 参与了血管生成和细胞凋亡等许多生命过程; 辅助因子 p38 在肺部发育中至关重要, 同时它在神经细胞中的不正确积累可能与帕金森病有关。更有趣的是, 辅助因子 p38 和 p18 可以在时空上高度有序地通过不同的通路参与细胞对 DNA 损伤的修复。这些研究增加了对于氨基酰-tRNA 合成酶和细胞内大分子信号网络之间关系的认识, 并将促进对该领域的研究与发展。

关键词 哺乳动物, 氨基酰-tRNA 合成酶, 辅助因子, DNA 损伤修复, 信号网络

学科分类号 Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00595

氨基酰-tRNA 合成酶家族(aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS)是一类古老而保守的蛋白质, 参与生物体中的遗传解码过程。它们催化氨基酸与其对应的 tRNA 之间的酯化反应, 生成氨基酰-tRNA 参与蛋白质的生物合成, 其反应的专一性确保了蛋白质生物合成的精确性^[1~3]。

在哺乳动物细胞中, 8 种 aaRS 和 3 种辅助因子共同构成了一个巨大的 aaRS 复合物。8 种 aaRS 分别是: 甲硫氨酰-tRNA 合成酶(MRS), 精氨酰-tRNA 合成酶(RRS), 亮氨酰-tRNA 合成酶(LRS), 异亮氨酰-tRNA 合成酶(IRS), 天门冬氨酰-tRNA 合成酶(DRS), 谷氨酰氨酰-tRNA 合成酶(QRS), 赖氨酰-tRNA 合成酶(KRS)以及双功能的谷氨酰/脯氨酰-tRNA 合成酶(EPRS)。3 个辅助因子根据分子质量大小分别命名为 p43、p38 和 p18^[4,5]。这 3 个辅助因子在复合物的结构体系中起着重要的作用。免疫电镜实验结果显示, 3 个辅助因子位于这个复合物的中心, 酵母双杂交实验、基因敲除实验和 RNA 干扰实验结果显示, 辅助因子 p38 是 aaRS 复合物的骨架蛋白质, 它的缺失将导致复合物的完全解体, 而另外 2 个辅助因子 p43 和 p18, 在整个复合物的结构体系中也扮演着重要的角色^[6~9]。令人感到更加有趣的是, 除了在复合物中的作用外,

这 3 个辅助因子在血管生成、炎症反应、器官发育、DNA 损伤修复等多个重要生命过程的分子信号转导中都有着重要的作用, 下文将逐一介绍 aaRS 复合物中的这 3 个辅助因子在细胞内分子信号网络中的关键作用。

1 辅助因子 p43 在血管生成等活动中的细胞因子功能

在 aaRS 复合物的 3 个辅助因子中, p43 最为古老, 在进化上 p43 的后半部分段与最古老的生物之一——超嗜热菌(*Aquifex aeolicus*)中的 RNA 结合蛋白 Trbp111 高度同源^[10]。p43 在酵母中的同源蛋白 Arc1p 可结合 2 种 aaRS 并提高它们的催化活力^[11]。在 20 世纪 90 年代, 就有多家实验室发现, 在哺乳动物细胞中, p43 是一种重要的细胞因子内皮单核细胞激活肽 II (endothelial monocyte-activating polypeptide II, EMAP II)的前体^[12]。当细

* 国家自然科学基金资助项目(30570380, 30670463)。

** 通讯联系人。

Tel: 021-54921241, Fax: 021-54921011, E-mail: edwang@sibs.ac.cn

收稿日期: 2008-10-24, 接受日期: 2008-12-09

胞凋亡时, p43 可以被蛋白酶剪切释放 EMAP II. EMAP II 是一种血管生成拮抗因子, 也可以引发早期炎症反应^[12]. 而 p43 本身也是一种具有多种活

性的信号分子, 它可以在不同的环境下, 从不同的哺乳动物细胞中分泌, 影响细胞凋亡、血管生成、细胞分化等过程, 并可促进伤口修复^[13-16](图 1).

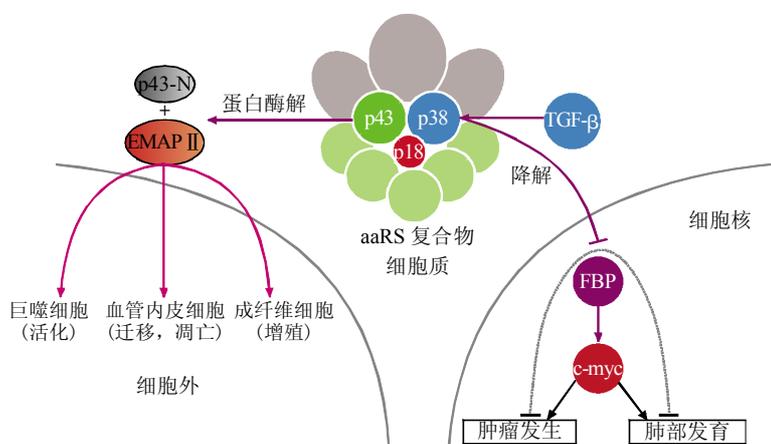


Fig. 1 The molecular mechanism of p43 and p38 in cell signaling^[13-17]

图 1 p43 和 p38 参与细胞信号转导的机制^[13-17]

2 辅助因子 p38 在肺部发育等生命活动中的重要作用

在辅助因子 p43 的细胞学功能被发现的几年之后, 通过基因敲除实验, 研究者们发现了另一个辅助因子 p38 在肺部发育过程中的功能: 纯合体 p38^{-/-}小鼠在出生后, 由于肺泡的完全不发育导致小鼠因为没有呼吸能力而死亡^[17]. 对涉及此现象的细胞信号通路的进一步研究发现, p38 在发育过程中受到 TGF-β(转化生长因子 β)的调控而高表达, 高表达的 p38 可以和癌基因 c-myc 的转录激活因子 FBP(远上游顺式原件结合蛋白)相结合, 使 FBP 经泛素化途径降解从而下调 c-myc 基因的表达, 最终控制细胞的生长. 如图 1 所示, 辅助因子 p38 成为了 TGF-β 信号通路中一个重要的信号传递中间体, 调控着肺部发育过程中 c-myc 的表达水平并由此影响整个肺部发育过程. 由于 p38 可以抑制癌基因 c-myc 的表达, 它被认为是一个新的抑癌基因, 有望成为治疗癌症的新型药靶, 相关研究正在进行当中.

除此以外, p38 还是帕金森病过程中一种重要的 E3 泛素化连接酶——Parkin 的底物, Parkin 基因的突变或缺失将导致 p38 在中脑和后脑中的错误积累, 以致发生脑细胞的错误凋亡^[18]. 因此, p38 的正常表达和降解在脑细胞中可能是至关重要的, 它的不正确积累可能和神经退行性疾病有关.

3 辅助因子 p18 和 p38 在 DNA 损伤修复中的重要作用和时空配合

在 aaRS 复合物的 3 个辅助因子中, 辅助因子 p18 的非经典功能是最晚被发现的. 2005 年, 基因敲除实验发现, 纯合体 p18^{-/-}小鼠在胚胎期的前 8 天就已经全部死亡, 而杂合体 p18^{+/-}小鼠虽然可以出生, 但是发生肿瘤的概率要远大于正常小鼠, 这些现象说明 p18 基因非常重要, 而且基因组中的两个拷贝缺一不可^[19]. 对于 p18 缺陷小鼠的信号通路的分析表明, p18 参与了 DNA 损伤修复中重要的 ATM/ATR-p53 通路, 如图 2 所示, 在 DNA 损伤或者其他细胞压力的刺激下, p18 在 15 min 内从 aaRS 复合物中解离下来并进入细胞核内, 与丝氨酸激酶 ATM/ATR 结合并激活它们, ATM/ATR 随后磷酸化并激活 p53, 被激活的 p53 负责启动对损伤 DNA 的修复或在必要的情况下启动细胞凋亡程序^[19, 21](图 2). 因此, 辅助因子 p18 在 DNA 损伤修复过程具有重要作用, 它的正常表达和动员保证了细胞对一些紧急情况的迅速应答. 而 p18 缺陷的个体由于 DNA 损伤修复的缺陷, 各种肿瘤的发病率明显提高. 因此, p18 被认为是一个新的抑癌基因^[19]. 近期, 对 p18 的结构研究和点突变分析确定了在 p18 蛋白上与 ATM 相互作用的两个具体位点, 这将为以 p18 为药靶的肿瘤治疗提供更加明确的靶向位点^[20].

最近一项新的研究发现，aaRS复合物的另一个辅助因子p38也参与了p53对细胞压力的应答反应，这一作用与前文所述的p18的作用有一定的类似^[21]。与p18参与DNA损伤修复的作用机制不同的是，细胞通过JNK通路磷酸化p38，磷酸化的p38直接结合p53，抑制MDM2介导p53的降解，保证了p53开始执行功能^[21](图2)。最有趣的是p38和p18被动员入核的时间顺序：实验发现，在紫外线刺激后5 min内，p38被磷酸化并入核结合p53，而p18的动员则相对迟一些，在紫外线刺激15 min后，p18才被招募进细胞核并开始发挥作用^[21]。这一时空上高度有序而紧密偶联的现象显然是细胞程序中的精心安排。对这一现象更详细地解释还有待于科学家们的进一步努力。

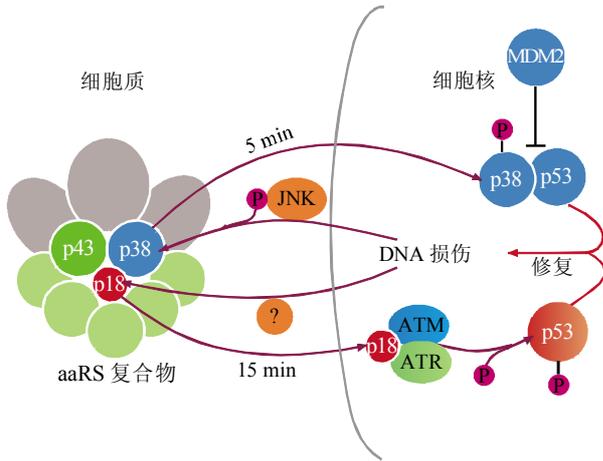


Fig. 2 The cooperation and mechanism of p18 and p38 in DNA damage repair^[19, 21]

图2 p18和p38协同参与DNA损伤修复的分子机制^[19, 21]

4 aaRS复合物作为其成员的“大本营”参与细胞内分子信号网络

在哺乳动物细胞中，为了在有限数量的基因基础上实现复杂的细胞活动，很多蛋白质都有多种功能，一个蛋白质往往参与多种不同的细胞通路和过程。各种蛋白质复合体也进化出来以更好地协调和统一复杂的生命活动，氨基酰-tRNA合成酶就是一个很好的例子^[4]。在这个巨大的复合物中，居于重要地位的3个辅助因子不仅组装起了整个复合物，还参与了细胞的其他很多生命活动。除了它们以外，aaRS复合物中很多古老的aaRS随着进化也获得了一些新功能。如图3所示，QRS可能与细胞凋亡通路中的激酶ASK1相互作用，MRS可以促进细胞核内rRNA的合成，KRS可以被释放到细胞外成为一个炎症反应因子，并可在HIV感染中包被到病毒中，EPRS可参与基因特异性的翻译沉默等等^[22~26]，基因功能的多样性在这些保守的持家基因上表现得非常清晰。而aaRS复合物则成为了细胞中这些成员们的“大本营”。在执行传统的催化反应时，它们协同作战，保障翻译的高效有序^[27]。而当某个特定的通路需要其中某些成员时，复合物又及时地将这些成员释放出来执行非经典的新功能^[28]。细胞中的很多复合体都有可能通过这样的方式更好地整合协调复杂的生命活动，如本文所述的3个辅助因子p43、p38和p18，就是在这种不断的切换当中完成了多种多样的任务。

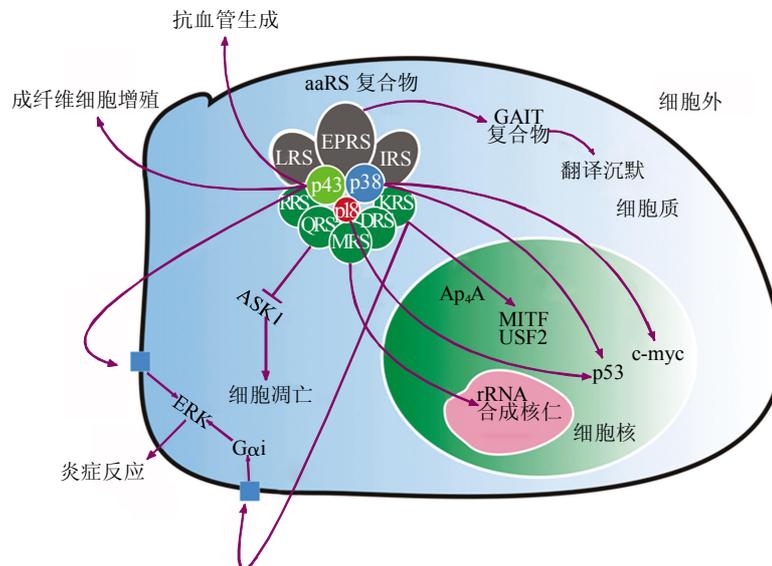


Fig. 3 Signaling network mediated by members of mammalian aaRS complex^[28]

图3 哺乳动物aaRS复合物成员介导的信号通路^[28]

5 小结与展望

很显然, aaRS 复合物中的 3 个辅助因子在各自参与的生命活动中都非常重要, 而它们之间的协同则更令人感到有趣, 尤其是 p18 和 p38, 在短暂的 15 min 以内, 秩序井然地先后投入到细胞对于紧急情况的处理当中, 这也体现了生命体活动的高度复杂和有序^[19]. 对于这种协同性, 以及对于整个 aaRS 复合物在这一协同过程中作用的研究, 将可以使更清楚地看到 aaRS 复合物以及其中的 3 个重要的辅助因子, 在巨大的生命分子网络中所处的位置和所扮演的角色.

生命科学研究的最终目的之一是为了人类的健康而服务, 本文讨论的 3 个 aaRS 复合物中的辅助因子都参与了和人体健康紧密相关的一些信号通路中, 它们在基因治疗和药物设计上的意义值得关注^[29]. p43 的治疗价值更多地体现在其剪切形成的细胞外因子 EMAP II 上, 纯化的 EMAP II 可直接用于病变的组织以产生疗效. 作为 EMAP II 的前体, p43 可在其工业化生产中作为中间体起到重要作用. 作为新的抑癌基因, 另外 2 个辅助因子 p18 和 p38 在癌症治疗中的前景引人注目, 它们具有成为癌症治疗优良靶标的很多先天条件: a. 它们的分子质量较小, 结构已得到解析, p18 与下游蛋白的作用位点都已明确, 这为设计特异性的药物提供了很好的条件^[19]. b. 它们在细胞信号转导中的作用相对专一且有效, 以它们为靶位点的治疗会更有针对性, 副作用也会相对较低. c. 它们所依托的 aaRS 复合物中的许多 aaRS 本身就是优良的药靶. 甚至有改变复合物的微结构达到选择性释放 p18 和 p38 的可能性. 现阶段, 国际上一些研究组已经开始探讨 p18 和 p38 在肿瘤治疗中的作用, 可能的途径有以下两条: a. 通过基因治疗, 使 p18 和 p38 在病变组织或个体中的表达水平恢复正常, 达到抑制肿瘤的目的. b. 开发特异性的药物, 通过化学修饰 p18 和 p38 上的关键残基激活它们在信号通路中的活性, 并通过它们激活下游的 p53 蛋白以达到抑制肿瘤的效果. 随着关于 aaRS 复合物这 3 个辅助因子的理论研究和药物开发的深入, 它们有可能成为人类更好地治疗疾病, 保障健康的有力武器.

参 考 文 献

- Schimmel P. Aminoacyl-tRNA synthetases: general scheme of structure-function relationships in the polypeptides and recognition of transfer RNAs. *Annu Rev Biochem*, 1987, **56**: 125~158
- Ibba M, Söll D. Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annu Rev Biochem*, 2000, **69**: 617~650
- Eriani G, Delarue M, Poch O, *et al.* Partition of tRNA synthetases into two classes based on mutually exclusive sets of sequence motifs. *Nature*, 1990, **347** (6289): 203~206
- Lee S W, Cho B H, Park S G, *et al.* Aminoacyl-tRNA synthetase complexes: beyond translation. *J Cell Sci*, 2004, **117**(17): 3725~3734
- Park S G, Ewalt K L, Kim S. Functional expansion of aminoacyl-tRNA synthetases and their interacting factors: new perspectives on housekeepers. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30**(10): 569~574
- Wolfe C L, Warrington J A, Treadwell L, *et al.* A three-dimensional working model of the multienzyme complex of aminoacyl-tRNA synthetases based on electron microscopic placements of tRNA and proteins. *J Biol Chem*, 2005, **280**(46): 38870~38878
- Quevillon S, Robinson J S, Berthonneau E, *et al.* Macromolecular assemblage of aminoacyl-tRNA synthetases: identification of protein-protein interactions and characterization of a core protein. *J Mol Biol*, 1999, **285**(1): 183~195
- Kim J Y, Kang Y S, Lee J W, *et al.* p38 is essential for the assembly and stability of macromolecular tRNA synthetase complex: implications for its physiological significance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(12): 7912~7916
- Han J M, Lee M J, Park S G, *et al.* Hierarchical network between the components of the multi-tRNA synthetase complex: implications for complex formation. *J Biol Chem*, 2006, **281**(50): 38663~38667
- Cahuzac B, Berthonneau E, Birlirikakis N, *et al.* A recurrent RNA-binding domain is appended to eukaryotic aminoacyl-tRNA synthetases. *EMBO J*, 2000, **19**(3): 445~452
- Karanasios E, Simader H, Panayotou G, *et al.* Molecular determinants of the yeast Arc1p-aminoacyl-tRNA synthetase complex assembly. *J Mol Biol*, 2007, **374**(4): 1077~1090
- Berger A C, Tang G, Alexander H R, *et al.* Endothelial monocyte-activating polypeptide II, a tumor-derived cytokine that plays an important role in inflammation, apoptosis, and angiogenesis. *J Immunother*, 2000, **23**(5): 519~527
- Park S G, Shin H, Shin Y K, *et al.* The novel cytokine p43 stimulates dermal fibroblast proliferation and wound repair. *Am J Pathol*, 2005, **166**(2): 387~398
- Park S G, Kang Y S, Ahn Y H, *et al.* Dose-dependent biphasic activity of tRNA synthetase-associating factor, p43, in angiogenesis. *J Biol Chem*, 2002, **277**(47): 45243~45248
- Shalak V, Guigou L, Kaminska M, *et al.* Characterization of p43 (ARF), a derivative of the p43 component of multiaminoacyl-tRNA synthetase complex released during apoptosis. *J Biol Chem*, 2007, **282**(15): 10935~10943
- Kim E, Kim S H, Kim S, *et al.* AIMP1/p43 protein induces the maturation of bone marrow-derived dendritic cells with T helper type 1-polarizing ability. *J Immunol*, 2008, **180**(5): 2894~2902
- Kim M J, Park B J, Kang Y S, *et al.* Downregulation of fuse-binding protein and c-myc by tRNA synthetase cofactor, p38, is required for lung differentiation. *Nat Genet*, 2003, **34**(3): 330~336

1 Schimmel P. Aminoacyl-tRNA synthetases: general scheme of structure-function relationships in the polypeptides and recognition

- 18 Corti O, Hampe C, Koutnikova H, *et al.* The p38 subunit of the aminoacyl-tRNA synthetase complex is a Parkin substrate: linking protein biosynthesis and neurodegeneration. *Hum Mol Genet*, 2003, **12**(12): 1427~1437
- 19 Park B J, Kang J W, Lee S W, *et al.* The haploinsufficient tumor suppressor p18 upregulates p53 *via* interactions with ATM/ATR. *Cell*, 2005, **120**(2): 209~221
- 20 Kim K J, Park M C, Choi S J, *et al.* Determination of three-dimensional structure and residues of the novel tumor suppressor AIMP3/p18 required for the interaction with ATM. *J Biol Chem*, 2008, **283**(20): 14032~14040
- 21 Han J M, Park B J, Park S G, *et al.* AIMP2/p38, the scaffold for the multi-tRNA synthetase complex, responds to genotoxic stresses *via* p53. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(32): 11206~11211
- 22 Ko Y G, Kim E Y, Kim T, *et al.* Glutamine-dependent antiapoptotic interaction of human glutaminyl-tRNA synthetase with apoptosis signal-regulating kinase 1. *J Biol Chem*, 2001, **276**(8): 6030~6036
- 23 Ko Y G, Kang Y S, Kim E K, *et al.* Nucleolar localization of human methionyl-tRNA synthetase and its role in ribosomal RNA synthesis. *J Cell Biol*, 2000, **149**(3): 567~574
- 24 Park S G, Kim H J, Min Y H, *et al.* Human lysyl-tRNA synthetase is secreted to trigger pro-inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(18): 6356~6361
- 25 Halwani R, Cen S, Javanbakht H, *et al.* Cellular distribution of lysyl-tRNA synthetase and its interaction with Gag during human immunodeficiency virus type 1 assembly. *J Virol*, 2004, **78** (14): 7553~7564
- 26 Sampath P, Mazumder B, Seshadri V, *et al.* Noncanonical function of glutamyl-prolyl-tRNA synthetase: gene-specific silencing of translation. *Cell*, 2004, **119**(2): 195~208
- 27 Kyriacou S V, Deutscher M P. An important role for the multienzyme aminoacyl tRNA synthetase complex in mammalian translation and cell growth. *Mol Cell*, 2008, **29**(4): 419~427
- 28 Park S G, Schimmel P, Kim S. Aminoacyl tRNA synthetases and their connections to disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105** (32): 11043~11049
- 29 Lee S W, Kim G, Kim S. Aminoacyl-tRNA synthetase-interacting multi-functional protein 1/p43: an emerging therapeutic protein working at systems level. *Exp Opin Drug Discovery*, 2008, **3**(8): 945~957

The Important Role of Three Auxiliary Factors of Mammalian Aminoacyl-tRNA Synthetase Complex in The Cellular Signaling Network*

HE Ran, WANG En-Duo**

(State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Aminoacyl-tRNA synthetase catalyzing the first reaction of protein biosynthesis. In mammalian cells, eight aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs) and three auxiliary protein factors form a macromolecular aminoacyl-tRNA synthetases complex (aaRS complex). The three nonsynthetase protein factors, namely, p43, p38, and p18 were found to be involved in many other important life activities besides their roles in the complex. The auxiliary factor p43 was the precursor of endothelial monocyte activating polypeptide II (EMAP II), which involved in angiogenesis and apoptosis. The auxiliary factor p38 was crucial for the development of lung, and its abnormal accumulation in neuron would be related to the Parkinson's disease. The auxiliary factor p38 and p18 could promote the repair of DNA damage via different pathways in a highly organized way. All these breakthroughs enhance our understanding about the interaction between the aaRS complex and the macromolecular signaling network and promote the studies on this field.

Key words mammalian, aminoacyl-tRNA synthetase, auxiliary factor, DNA damage repair, signaling network

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00595

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30570380, 30670463).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-54921241, Fax: 86-21-54921011, E-mail: edwang@sibs.ac.cn

Received: October 24, 2008 Accepted: December 9, 2008