

类泛素化修饰 Neddylaton 的功能 和调控机制研究进展*

何 珊^{1, 2)} 张令强^{2)**} 贺福初²⁾

¹⁾北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124;

²⁾军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 100850)

摘要 NEDD8 (neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8) 分子是一类结构上与泛素相似的分子, 参与蛋白质翻译后修饰, 这一过程被称为 Neddylaton. Neddylaton 的发生机制与泛素化相似, 需要 E1、E2、E3 介导的一系列酶促反应. Neddylaton 修饰在 Cullin-Roc 类泛素连接酶的活性调控中具有至关重要的作用, 与泛素化研究相比, 在真核细胞内仅发现了很少的能被 Neddylaton 修饰的底物, Neddylaton 的生理功能也有待深入研究.

关键词 蛋白质翻译后修饰, Neddylaton, NEDD8, Cullin
学科分类号 Q7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00077

泛素(ubiquitin)是一种由 76 个氨基酸组成的多肽, 可共价结合并修饰细胞内多种蛋白质, 大部分多泛素化蛋白能被 26 S 蛋白酶体识别而降解, 这种蛋白质翻译后修饰已经成为当今细胞分子生物学研究的热点, 2004 年的诺贝尔化学奖颁发给三位生物学家, 他们发现了泛素介导的蛋白质降解途径. 随着越来越多的泛素蛋白被报道, 各种类泛素的修饰蛋白也被不断发现, 如 SUMO (small ubiquitin-related modifier)、NEDD8 (neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8)、Atg8 (autophagy gene 8) 和 Atg12 等. 依赖泛素及类泛素蛋白的翻译后修饰已经被证实参与几乎所有细胞内的调控过程, 如细胞周期、信号传导、免疫识别、细胞凋亡、细胞增殖与分化、蛋白质转运、器官起源、炎症、抗原呈递、内质网调控、DNA 修复以及应激反应等等^[1~3]. 本文将重点介绍 NEDD8 以及它介导的 Neddylaton 过程.

他蛋白质结合的高分子质量聚合体或 NEDD8 多聚体. 免疫细胞化学实验表明, NEDD8 在细胞核中高度表达, 在细胞质中表达相对较弱. 相对地, 泛素在细胞核和细胞质中表达基本一致. NEDD8 是由 81 个氨基酸编码的蛋白质, 它和泛素具有 60% 的一致性和 80% 的相似性, 在酵母和植物中其同源基因被称为 Rub1, 它可以产生并且连接到少量的细胞内蛋白质上^[4]. NEDD8 和 Rub1 的晶体结构已经被解析出来, 总体结构与泛素相似, 主要的区别仅在两者表面区域具有不同的静电势能面, 所以与其他发现的类泛素分子相比, NEDD8 的结构与泛素是最为接近的^[5], 大多数真核生物(植物、动物、真菌)中 NEDD8 高度保守, 因此 NEDD8 在真核细胞中具有十分重要的功能^[6~9]. NEDD8 特异性地与底物蛋白相结合的修饰过程被称为 Neddylaton. Neddylaton 异常可以导致人类的神经退行性疾病^[10, 11]和癌症^[12, 13].

1 NEDD8

NEDD8 最初的报道是在小鼠胚胎的脑组织中高度富集的新的 mRNA^[4], RNA 印迹实验表明 NEDD8 在发育过程中表达下调. 在成人组织中 NEDD8 在心脏和骨骼肌中特异表达. 特异性抗体实验分析检测到 NEDD8 可表达为 6 ku 单体和与其

* 国家自然科学基金资助项目(30830029)和重大科学研究计划课题(2007CB914601, 2009CB918402)部分资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-66931216, E-mail: zhanglq@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2009-02-13, 接受日期: 2009-05-14

2 Neddylaton 的过程以及相关的酶

在真核细胞中, 已经鉴定出许多功能与泛素相似的蛋白质分子, 其中 NEDD8 与泛素高度同源, 在类似泛素化的反应过程中, 它通过共价修饰与底物结合, 在这一过程中涉及一系列酶的级联反应, 但是参与的酶与泛素化过程并不完全相同, 如图 1^[14]. 与泛素化相似, NEDD8 可以通过其 C 端第 76 位的甘氨酸与底物的赖氨酸共价结合. NEDD8 的前体分子在其 76 位的甘氨酸后存在一个或多个残基需要通过 C 端的水解酶去除, 这一反应需要通过 UCH-L3 催化, 这与泛素是相同的^[15, 16]. 最近发现 NEDP1(即 DEN1 或 SENP8)可以起到与 UCH-L3 相同的作用^[17, 18]. 成熟的 NEDD8 分子可以通过其 C 端的甘氨酸与 UBA3 半胱氨酸活性位点形成一个高能硫酯键, UBA3 是 NEDD8 活化酶(E1) (APPBP1 和 UBA3 组成的异源二聚体)的催化亚单位且具有 ATP 依赖性. 而后, 活化的 NEDD8 被转移到 UBC12 的半胱氨酸活性位点并形成硫酯键, 最后, NEDD8 与底物的赖氨酸残基形成异肽键, 如图 2^[19]. 底物的去 Neddylaton 是由去 Neddylaton 酶介导的, 去 Neddylaton 后 NEDD8 分子重新进入循环. 去 NEDD8 可由 COP9 信号体 (COP9 signalosome, CSN)催化完成. 作为细胞内蛋白酶, CSN 参与 Cullins 为基础的泛素连接酶 E3 的调节, Cullins 通常作为 SCF 泛素连接酶 E3 的骨

架成分. CSN 可与 CUL1 和 RBX1/ROC1/HRT1 相互作用, 并通过 CSN5 中 JAMM 结构域的金属蛋白酶活性将 NEDD8/RUB1 从 CUL1 上解离, 并参与泛素链的解聚, 因此, CSN 是以 Cullins 为基础的泛素连接酶 E3 的重要调节因子^[20].

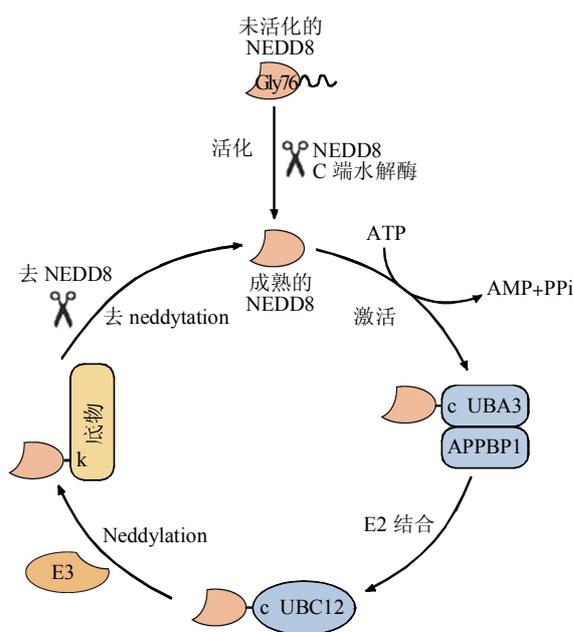


Fig. 1 The pathway of neddylaton^[14]

图 1 Neddylaton 的通路^[14]

Neddylaton 的主要通路包括 NEDD8 前体活化的过程, 通过 E1 (UBA3-APPBP1)激活, 与 E2(UBC12)结合, 通过 E3 连接到底物上的 Neddylaton 过程以及相反的去 Neddylaton 过程.

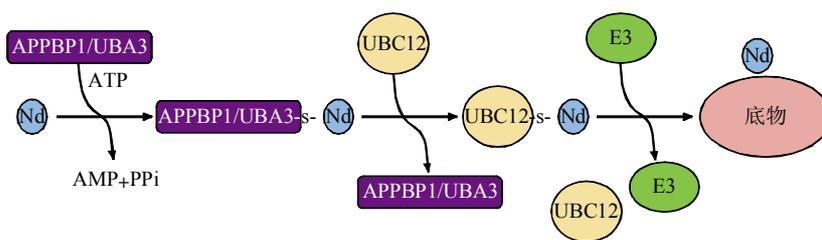


Fig. 2 NEDD8-Modification

图 2 NEDD8 修饰的生化反应过程

2.1 NEDD8 活化酶(E1)

与泛素分子类似, 成熟的 NEDD8 分子需要经过活化才能修饰底物, 这个过程是由 NEDD8 活化酶完成的. NEDD8 活化酶(E1) 是由 APPBP1 和 UBA3 形成的异源二聚体, APPBP1 和 UBA3 分别构成泛素活化酶的氨基和羧基端. APPBP1-UBA3 首先在 ATP 和 Mg^{2+} 作用下, 催化 NEDD8 羧基端 Gly76 的腺苷酰化. 然后催化半胱氨酸(UBA3 上

Cys216)和 NEDD8 C 端之间形成硫酯中间物. 催化二者的 N 端及 C 端分别与泛素活化酶的相应结构高度相似, 活化消耗 ATP^[21]. 遗传研究发现, 在不同的物种中, APPBP1 和 UBA3 具有相同的生物学功能. 用 RNA 干扰技术封闭秀丽隐杆线虫中的 APPBP1 和 UBA3 的表达, 以及小鼠中 UBA3 基因的定点删除, 均导致胚胎致命性死亡. 表达温度敏感性基因 APPBP1 的仓鼠细胞, 在非适宜的温度

下, 表现为 DNA 合成和有丝分裂偶联的丧失. 表达温度敏感性基因 UBA3 的秀丽隐杆线虫的胚胎, 在非适宜的温度下, 表现为胞质分裂的多种缺陷.

2.2 NEDD8 结合酶(E2)

通过转酯反应, 活化的 NEDD8 分子从 NEDD8 活化酶 UBA3 亚单位转移到 NEDD8 结合酶(E2) UBC12 上, 形成 NEDD8-UBC12 硫酯中间体. UBC12 是目前已知唯一一个参与 Neddylaton 修饰过程的 E2^[22]. 它是主要的核蛋白之一, 它既可定位到核孔复合物(nuclear pore complex, NPC)的胞浆侧, 又可定位于 NPC 的核质侧.

2.3 NEDD8 连接酶(E3)

实验表明, 绝大多数 NEDD8 定位到靶分子的过程需要连接酶(E3)的参与. 现已发现 NEDD8 连接酶(即 Rbx1, Dcn1, Mdm2, SCF^{FBXO11}, c-Cbl)均可与 UBC12 作用, 促进体内外的 Neddylaton 过程. 与泛素化过程已知的大量的 E3 相比, 已知的 Neddylaton E3 数目有限.

2.4 去 Neddylaton 及前体加工酶

如前所述, NEDD8 分子是以前体形式合成的, 其伸展的 C 端需要进一步加工以暴露第 76 位甘氨酸基团与底物相结合, 此功能是由前体加工酶完成的. UCH-L3 是 NEDD8 和泛素共同的前体加工酶. NEDD8 的特异性前体加工酶 NEDP1 是一种双功能酶, 除加工 NEDD8 前体外, 它还可以将 NEDD8 分子从底物上解离出来(即去 Neddylaton), 重新进入 Neddylaton 循环^[17, 18]. 去 Neddylaton 酶研究比较清楚的是 CSN5(又称作 JAB1), CSN5 是 COP9 复合体的第五亚基, 它能使 Cullin 分子发生去 Neddylaton. 实验表明, 在许多组织中, CSN 能促进 Cullin 的活性, 进一步说明在 Neddylaton 和去 Neddylaton 循环过程中 Cullin 是必不可少的^[23]. CSN 最初是通过遗传学方法在拟南芥植物细胞中发现的, 它是光形态发生过程中的抑制因子. CSN 参与真核细胞多种生命过程及细胞发育过程. 目前发现, CSN 在泛素/26 S 蛋白酶体系统中具有多种作用, 除了将 NEDD8/Rub1 从 Cullin 中解离的活性外, 还具有去泛素化活性和蛋白激酶活性.

3 能被 Neddylaton 修饰的底物

最早被鉴定能被 Neddylaton 修饰的底物是 Cullin 家族成员, 包括酿酒酵母中的 Cdc53(即 CUL1 的同源分子)^[24]和人类细胞中的 CUL4A^[25].

Cullin 的功能是作为支架蛋白聚集蛋白质泛素化修饰必需的多个亚基, 其 N 端通过与接头蛋白和底物受体结合募集底物分子, C 端则与含有 RING 结构域的 Rbx1/Roc1 或 Rbx2/Roc2 相互作用募集 E2 形成复合体形式的 E3, 从而催化底物分子的泛素化. Cullin 介导形成的泛素连接酶是最大的泛素 E3 亚家族. 现在已知, 几乎所有 Cullin 家族的成员(包括酿酒酵母中的 Cdc53、CUL3 和 RTT101^[26], 稷酒酵母中的 PCU1、PCU3 和 PCU4^[27], 哺乳动物中的 CUL1、CUL2、CUL3、CUL4A、CUL4B、CUL5)都能被 Neddylaton 修饰, 修饰位点位于 Cullin 的 C 端保守的赖氨酸残基^[28, 29]. 一个例外是分裂后期促进复合物(APC)与 Cullin 相对应的亚单位 APC2, 不能被 Neddylaton 修饰^[30]. Neddylaton 已被证实是调控 Cullin-Rbx1 泛素连接酶活性的重要机制. 在这一修饰过程中, Rbx1 被认为是 Neddylaton 的 E3^[31].

Cullin 不是唯一一类能被 NEDD8 修饰的分子. 有趣的是, 许多能被 Neddylaton 修饰的分子, 或者是泛素 E3 的底物或者是 E3 的组成部分. 例如, 抑癌基因 p53 上的赖氨酸不仅能被 RING 结构的蛋白 Mdm2 泛素化修饰, 也能被 Mdm2 Neddylaton 修饰^[32, 33]. 许多核糖体蛋白既能被 Neddylaton 修饰, 也能被泛素化修饰^[34]. BCA3^[35]和 APP 胞内结构^[36]是确认能被 Neddylaton 修饰但不参与泛素化通路的分子. 表 1 总结了目前发现的 Neddylaton 底物及修饰的生物学效应.

有研究者通过蛋白质组学的方法大规模地筛选与 NEDD8 相关的分子, 并得到了一系列可能参与 Neddylaton 修饰过程的蛋白质, 包括: a. Cullins; b. 与 Cullin-Roc 类泛素连接酶相关的蛋白质, 包括含 F-box、BTB 结构域、WD40 重复的蛋白质; c. 与 Neddylaton 通路有关的酶和调控因子: Nub1, p120^{CAND1} 等; d. 与泛素-蛋白酶体通路相关的分子: 蛋白酶体 19 S 调节颗粒的 Rpt6 亚基、泛素连接酶 BRE1A、EDD1、HUWE1 等^[35]. 这些数据为进一步深入研究类泛素修饰过程 Neddylaton 提供了重要的研究线索. 蛋白质组学国家重点实验室近期的研究揭示了一类新的 HECT 类 E3 活性调控机制, 发现 Nedd4 家族成员 Smurf1 的 WW 结构域连接区可结合 CKIP-1 蛋白, 并被其显著激活, 进而负调控骨形成. 这是首次发现 WW 连接区具有重要的生物学调控功能, 由于 Nedd4 家族所有成员均含有 1~3 个 WW 连接区,

Table 1 Proteins reported to be neddylated
表 1 已经通过实验证明能被 Neddylation 修饰的蛋白质

Neddylation 底物	Neddylation 位点	Neddylation 连接酶	Deneddylation 酶	Neddylation 的生物学效应	参考文献
Cullins 和其相关蛋白 Parc 和 Cul7(内源)	C 端保守的 Lys	Rbx1, Dcn1	COP9 signalosome (CSN)(内源)	促进构象改变, 抑制 Cullin 与它的抑制因子 CAND1 的相互作用, 激活泛素 E3 的活性	[28, 29, 31, 37]
p53(内源)	Lys370, Lys372, Lys373	Mdm2 和 SCF ^{FBXO11}	NEDP1(内源或体外过表达)	抑制 p53 的转录因子活性	[33]
p73(内源)		Mdm2	NEDP1(内源或体外过表达)	抑制 p73 的转录因子活性	[32]
Mdm2(内源)		Mdm2			[33]
pVHL(内源)	Lys159			抑制 pVHL 与 CUL2 复合体相互作用	[38, 39]
BCA3(内源)	多个 Lys		NEDP1(内源)	促进 BCA3 与 SIRT1 的相互作用, 抑制 NF- κ B 的转录活性	[35]
EGFR(内源)	多个 Lys	C-cbl		激活 EGFR 的泛素化, 下调 EGFR 蛋白水平	[40]
AICD(体外过表达)	多个 Lys			抑制 AICD 与转录因子 Fe65 的相互作用, 以及复合物的转录活性	[36]
L11 和其他核糖体蛋白(体外过表达)			NEDP1(内源, 外源, 体外过表达)	增强核糖体蛋白的稳定性	[34]

这一机制很可能在其他 Nedd4 家族成员也适用, 从而具有重要的科学意义, 这一研究结果已发表于 2008 年 8 月的 Nature Cell Biology 杂志^[41]. 为进一步寻找 Nedd4 家族 E3 的 WW 结构域及其连接区所介导的新底物和 / 或新调控分子, 蛋白质组学国家重点实验室通过酵母双杂交技术, 以 Nedd4 家族所有 9 个成员的 WW 结构域及其连接区为诱饵在成人肝脏文库中筛选相互作用蛋白, 在得到的近 100 个相互作用蛋白中, 我们筛到了 NEDD8 这个分子, 推测 Nedd4 家族成员可能也参与了 Neddylation 修饰过程.

4 Neddylation 的生物学功能

已发现能被 NEDD8 修饰的蛋白质比被泛素修饰的蛋白质数目少得多, 其原因之一可能与仅发现了一种 E2 结合酶有关. 虽然 Neddylation 修饰与泛素化过程相似, 但是与泛素化不同, Neddylation 修饰的蛋白质不像泛素化的蛋白质那样能被蛋白酶体降解影响底物蛋白的稳定性, 而是仅作为一种活化信号. Neddylation 修饰的功能主要体现调节蛋白质之间的相互作用、调节转录因子的活性以及拮抗泛素化等.

4.1 调节蛋白质之间的相互作用

第一类被证实能被 NEDD8 修饰的底物蛋白是 Cullin 家族的分子. Cullin 是 SCF 复合体或 SCF 类 E3 的重要组成分子, 通过对底物的泛素化过程从而影响多种细胞的生物学效应如细胞周期调控、转录、信号转导、DNA 修复等. Cullin 抑制因子 CAND1 优先结合未被 Neddylation 修饰的 Cullin 分子, Neddylation 则可以促使 CAND1 与 Cullin 的解离, 从而激活 Cullin-Roc 泛素 E3 的活性. 同样地, pVHL Neddylation 阻止了其 CUL2 复合体的相互作用, 从而激活 CUL2 依赖性的功能. 换句话说, Neddylation 可以与其他翻译后修饰过程竞争. p53 和 EGFR 的 Neddylation 和泛素化修饰是靶向相同的赖氨酸残基, EGFR 过度被 Neddylation 修饰可以抑制其泛素化修饰过程.

4.2 调节转录因子活性

研究发现, NEDD8 具有修饰和负调节 Mdm2 和 p53 活性的作用. 实验显示, Mdm2 能够和 NEDD8 结合, 而且 Mdm2 的存在, 会明显增加结合了 NEDD8 的 p53 的含量. 对内源性的 p53 和 Mdm2 的检测表明, 二者都能够发生 Neddylation, 不过, 似乎只有一小部分 p53 结合 NEDD8. 如果

用 RNAi 来消除 Mdm2, p53 Neddylaton 的稳定程度就会降低, 从反面证明了 Mdm2 对 p53 和 NEDD8 结合的介导作用. 同时, 研究者利用温度敏感系统证实, 不能 Neddylaton 的 p53 比普通的 p53 有较高的转录活性. 过去的研究已经揭示, DNA 损伤会导致 p53 磷酸化, 进而抑制 Mdm2 和 p53 的结合而阻断 p53 的泛素化, 稳定 p53 而启动 DNA 修复等机制. 与之不同的是, Neddylaton 并不能被 DNA 损伤导致的 p53 磷酸化阻断^[33]. 同时研究还发现 pVHL 的 Neddylaton 可以影响 pVHL 类泛素 E3 复合体的活性. BCA3 的 Neddylaton 可抑制 NF- κ B 的转录因子活性.

5 总结和展望

综上所述, NEDD8 参与的生化反应过程是一系列独特的活化酶级联反应过程, 最终使 NEDD8 与底物蛋白结合, 完成蛋白质的修饰, 从而调节细胞活动. 虽然 NEDD8 研究在近 10 年取得了很大的进展, 但是还有许多问题有待阐明. 如 Neddylaton 的 E2 酶只发现了一种 UBC12, 而泛素化有多种 E2 酶, Neddylaton 是否还有其他的 E2? NEDD8 与泛素高度同源, 已知的 NEDD8 的 E3 酶只有几个, 并且目前发现的 E3 只对部分底物蛋白是必需的, 已知的能被 NEDD8 修饰的蛋白质也比被泛素修饰的蛋白质少得多, 因此我们有理由相信还有更多的 Neddylaton 修饰相关的 E3 连接酶有待发现. 此外, NEDD8 参与的 Neddylaton 的过程关键位点是赖氨酸残基, 该残基同时也可以发生乙酰化、甲基化和泛素化, 因此进一步探讨这些翻译后修饰的动态平衡与交互关系也将有助于更多地了解和阐明 NEDD8 的生物学功能.

参 考 文 献

- Glickman M H, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*, 2002, **82**(2): 373~428
- Haglund K, Dikic I. Ubiquitylation and cell signaling. *EMBO J*, 2005, **24**(19): 3353~3359
- Weissman A M. Themes and variations on ubiquitylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, **2**(6): 169~178
- Kumar S, Tomooka Y, Noda M. Identification of a set of genes with developmentally down-regulated expression in the mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **185**(3): 1155~1161
- Kamitani T, Kito K, Fukuda-Kamitani T, *et al.* Targeting of NEDD8 and its conjugates for proteasomal degradation by NUB1. *J Biol Chem*, 2001, **276**(3): 46655~46666
- Rao-Naik C, Delacruz W, Laplaza J M, *et al.* The rub family of ubiquitin-like proteins. Crystal structure of *Arabidopsis* rub1 and expression of multiple rubs in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 1998, **273**(52): 34976~34982
- Burroughs A M, Balaji S, Iyer L M, *et al.* Small but versatile: the extraordinary functional and structural diversity of the β -grasp fold. *Biol Direct*, 2007, **2**(3): 18
- Kumar S, Yoshida Y, Noda M. Cloning of a cDNA which encodes a novel ubiquitin-like protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **195**(3): 393~399
- Carrabino S, Carminati E, Talarico D, *et al.* Expression pattern of the *JAB1/CSN5* gene during murine embryogenesis: colocalization with NEDD8. *Gene Expr Patterns*, 2004, **4**(4): 423~431
- Dil Kuazi A, Kito K, Abe Y, *et al.* NEDD8 protein is involved in ubiquitinated inclusion bodies. *J Pathol*, 2003, **199**(2): 259~266
- Mori F, Nishie M, Piao Y S, *et al.* Accumulation of NEDD8 in neuronal and glial inclusions of neurodegenerative disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2005, **31**(4): 53~61
- Chairatvit K, Ngamkitdechakul C. Control of cell proliferation via elevated NEDD8 conjugation in oral squamous cell carcinoma. *Mol Cell Biochem*, 2007, **306**(1): 163~169
- Salon C, Brambilla E, Brambilla C, *et al.* Altered pattern of Cul-1 protein expression and Neddylaton in human lung tumours: relationships with CAN D1 and cyclin E protein levels. *J Pathol*, 2007, **213**(2): 303~310
- Gwenaël R. Function and regulation of protein neddylaton. *EMBO Reap*, 2008, **9**(1): 1~8
- Linghu B, Callis J, Goebel M G. Rub1 processing by Yuh1p is required for wild-type levels of Rub1p conjugation to Cdc53p. *Eukaryot Cell*, 2002, **1**(12): 491~494
- Wada H, Kito K, Caskey L S, *et al.* Cleavage of the C-terminus of NEDD8 by UC H-L3. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **251**(13): 688~692
- Wu K. DEN1 is a dual function protease capable of processing the C terminus of Nedd8 and deconjugating hyper-Neddylated CUL1. *J Biol Chem*, 2003, **278**(19): 28882~28891
- Mendoza H M, Shen L N, Botting C, *et al.* NEDP1, a highly conserved cysteine protease that deNEDDylates cullins. *J Biol Chem*, 2003, **278**(15): 25637~25643
- Huang D T, Walden H, Duda D, *et al.* Ubiquitin-like protein activation. *Oncogene*, 2004a, **23**(3): 1958~1971
- Huang D T, Hunt H W, Zhuang M, *et al.* Basis for a ubiquitin-like protein thioester switch toggling E1-E2 affinity. *Nature*, 2007, **445**(3): 394~398
- Lee I, Schindelin H. Structural insights into E1-catalyzed ubiquitin activation and transfer to conjugating enzymes. *Cell*, 2008, **134**(26): 268~278
- Huang D T, Zhuang M, Ayrault O, *et al.* Identification of conjugation specificity determinants unmasks vestigial preference for ubiquitin within the NEDD8 E2. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(10): 280~287
- Schwechheimer C. The COP9 signalosome (CSN): an evolutionary conserved proteolysis regulator in eukaryotic development. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1695**(13): 45~54

- 24 Lammer D, Mathias N, Laplaza J M, *et al.* Modification of yeast Cdc53p by the ubiquitin-related protein rub1p affects function of the SCF^{Cks1} complex. *Genes Dev*, 1998, **12**(1): 914~926
- 25 Osaka F, Kawasaki H, Aida N, *et al.* A new NEDD8-ligating system for cullin-4A. *Genes Dev*, 1998, **12**(10): 2263~2268
- 26 Laplaza J M, Bostick M, Scholes D T, *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* ubiquitin-like protein Rub1 conjugates to cullin proteins Rtt101 and Cul3 *in vivo*. *Biochem J*, 2004, **377**(18): 459~467
- 27 Osaka F. Covalent modifier NEDD8 is essential for SCF ubiquitinligase in fission yeast. *EMBO J*, 2000, **19**(34): 3475~3484
- 28 Hori T, Osaka F, Chiba T, *et al.* Covalent modification of all members of human cullin family proteins by NEDD8. *Oncogene*, 1999, **18**(48): 6829~6834
- 29 Jones J, Wu K, Yang Y, *et al.* A targeted proteomic analysis of the ubiquitin-like modifier nedd8 and associated proteins. *J Proteome Res*, 2008, **7**(6): 1274~1287
- 30 Zheng N. Structure of the Cul1-Rbx1-Skp1-F boxSkp2 SCF ubiquitin ligase complex. *Nature*, 2002a, **416** (6882): 703~709
- 31 Ohta T, Michel J J, Schottelius A J, *et al.* ROC1, a homolog of APC11, represents a family of cullin partners with an associated ubiquitin ligase activity. *Mol Cell*, 1999, **3**(3): 535~541
- 32 Watson I R, Blanch A, Lin D C, *et al.* Mdm2-mediated NEDD8 modification of TA p73 regulates its transactivation function. *J Biol Chem*, 2006, **281**(34): 34096~34103
- 33 Xirodimas D P, Saville M K, Bourdon J C, *et al.* Mdm2-mediated NEDD8 conjugation of p53 inhibits its transcriptional activity. *Cell*, 2004, **11**(8): 83~97
- 34 Xirodimas D P, Sundqvist A, Nakamura A, *et al.* Ribosomal proteins are targets for the NEDD8 pathway. *EMBO Rep*, 2008, **9** (34): 280~286
- 35 Gao F, Cheng J, Shi T, *et al.* Neddylation of a breast cancer-associated protein recruits a class III histone deacetylase that represses NFκB-dependent transcription. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(8): 1171~1177
- 36 Lee M R, Lee D, Shin S K, *et al.* Inhibition of AP intracellular domain (AICD) transcriptional activity *via* covalent conjugation with Nedd8. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **366**(9): 976~981
- 37 Jeffrey J, Kenneth W, Yingying Y. A targeted proteomic analysis of the ubiquitin-like modifier Nedd8 and associated proteins. *J Proteome Research*, 2008, **7** (3): 1274~1287
- 38 Oved S. Conjugation to Nedd8 instigates ubiquitylation and down-regulation of activated receptor tyrosine kinases. *J Biol Chem*, 2006, **281**(21): 21640~21651
- 39 Russell R C, Ohh M. NEDD8 acts as a ‘molecular switch’ defining the functional selectivity of VHL. *EMBO Rep*, 2008, **9**(10): 486~491
- 40 Stickle N H, Chung J, Klco J M, *et al.* pVHL modification by NEDD8 is required for fibronectin matrix assembly and suppression of tumor development. *Mol Cell Biol*, 2004, **24** (8): 3251~3261
- 41 Lu K, Yin X, Weng T, *et al.* Targeting WW domains linker of HECT-type ubiquitin ligase Smurf1 for activation by CKIP-1. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(8):994~1002

Progress in Function and Regulation of Protein Neddylation*

HE Shan^{1,2)}, ZHANG Ling-Qiang^{2)**}, HE Fu-Chu²⁾

⁽¹⁾ College of Life Science of Bio-engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124;

⁽²⁾ State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850)

Abstract NEDD8 is a member of the ubiquitin-like proteins. The overall structure of NEDD8 is quite similar to ubiquitin. Covalent conjugation of NEDD8 to proteins at the post-translational level is called Neddylation. Neddylation occurs similarly to ubiquitination and need enzyme cascades involving E1, E2 and E3. Neddylation has been demonstrated to be essential to maintain the ubiquitin ligase activity of Cullin-Roc based E3 ligases. Compared with the ubiquitination which was widely studied in the past two decades, few substrates were identified for Neddylation and the physiological functions of Neddylation need further investigations. The current progress of function and regulation of protein Neddylation will be reviewed.

Key words protein translational modification, Neddylation, NEDD8, Cullin

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00077

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(30830029) and The Part of The Major Research Plan from the Ministry of Science and Technology of China(2007CB914601, 2009CB918402).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-66931216, E-mail: zhanglq@nic.bmi.ac.cn

Received: February 13, 2009 Accepted: May 14, 2009