

微型述评

F-box 蛋白家族的功能研究进展*

吴 静 彭小忠 袁建刚** 强伯勤

(中国医学科学院基础医学研究所 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)
(中国协和医科大学基础医学院)

摘要 F-box 蛋白是一类含有 F-box 基序 (motif), 在泛素介导的蛋白质水解过程中具有底物识别特性的蛋白质家族. 这类蛋白质在细胞时相转换、信号传导、发育等多种生理过程中都具有重要功能.

关键词 F-box 蛋白, 结构, 功能, 底物识别特异性

学科分类号 Q51

在研究蛋白质降解途径的过程中, 发现了一大类 E3 酶 (泛素-连接酶), 称作 SCF 复合体, 它们能使底物蛋白通过磷酸化的方式被蛋白酶体 (proteasome) 降解. SCF 由 Skp1、一种 Cullin (Cdc53)、Rbx1/Roc1/Hrt1 和 F-box 蛋白家族中的某个成员组成. 其中, F-box 蛋白家族的一个共同特征是含有 F-box 基序 (motif). 这种基序由大约 50 个氨基酸组成, 是介导与其他蛋白质发生相互作用的位点. 由于这种基序首先在 Cyclin F 中发现, 故将其命名为 F-box^[1].

1 F-box 蛋白的结构特征

F-box 基序通常位于蛋白质 N 端, 与蛋白质 C 端的其他基序结合起来发挥作用. 人类最常见的 2 种 F-box 基序是 Leu 丰富的重复单元 (LRRs) 和 WD (Trp Asp) 重复单元. F-box 蛋白缺少严格的一致序列, 一般要通过特定算法去检测 F-box 蛋白. 目前最好的 2 个搜索算法可以在 Prosite 和 Pfam 数据库中找到.

大多数 F-box 蛋白的高级结构目前尚不清楚. F-box 蛋白 Grr1 的结构模型显示, Grr1 通过其 LRR 结构域的阳离子表面与磷酸化的底物结合. 对 Skp1-Skp2 (一种调节哺乳动物细胞 G1/S 转换的 F-box 蛋白) 复合体的晶体结构研究表明, Skp2 的 F-box 由 3 个 α 螺旋组成, 其后面约 70 个氨基酸的 “linker” 构成 3 个非规范的 LRR 结构域, 和另外 7 个 LRR 结构域相邻接. 每个 LRR 都是由一个 β 片层和一个 α 螺旋组成, 共同堆积成弯曲的结构, 直接与 F-box 相连. 整个复合体像一把镰刀,

Skp1 构成刀柄, Skp2 像弯曲的刀片^[2].

2 F-box 蛋白参与的生理过程

F-box 基序介导蛋白质-蛋白质之间的相互作用. 通常, F-box 蛋白通过自身的 F-box 基序与 Skp1 结合, 连接到 SCF 复合体上. SCF 复合体促进底物和泛素结合酶 (E2) 之间的相互作用, E2 将泛素共价转移到底物上. 泛素化的底物随后经过 26 S 蛋白酶体的作用被降解^[3].

2.1 F-box 蛋白在细胞周期时相转换中的作用

第一条由 SCF 参与的信号通路是在分析酵母 G1→S 期转换时发现的. 在酵母中, 起始 DNA 复制需要 Cdk 激酶活力, 只有破坏掉 Cdk 抑制剂 Sic1 才能获得有活性的 Cdk. 在 G1 末期, 发生磷酸化的 Sic1 在 Cdc34 (E2) 和 SCF (E3) 复合体的参与下被泛素蛋白水解系统降解, 从而启动 DNA 复制, 促进由 G1 期向 S 期的转换. 参与这个过程的 SCF 复合体包括 Skp1、Cdc53 和一种 F-box 蛋白——Cdc4.

在爪蟾和人中, 细胞周期由 G2 期转到 M 期时, Cyclin B1 的分布由胞质转到胞核, 而 Cyclin B1 和相应的 cdc2 激酶都没有核定位信号, Cyclin F 有 2 个核定位信号, 它与 Cyclin B1 之间的相互作用可能对于介导 Cyclin B1 的入核起重要作用.

* 国家重点基础研究发展规划项目 (973) (G19988051000) 和国家自然科学基金 (39830070) 资助.

** 通讯联系人.

Tel: 010-65296411, E-mail: yuanjg@mailbj@95777.com

收稿日期: 2001-12-21, 接受日期: 2002-01-31

2.2 F-box 蛋白在细胞信号传导中的作用

2.2.1 LIN-12/Notch 通路: SCF 复合体负调控 LIN-12/Notch 信号通路. 典型例子是线虫的 SEL-10 蛋白 (一种属于 Cdc4 家族的 F-box 蛋白) 特异地与 Notch 的胞内区结合, 通过抑制胞内区释放或促进泛素-蛋白酶体介导的胞内区的降解, 来封闭 Notch 信号通路.

2.2.2 Hedgehog 通路: 该通路通过控制 wingless (wg) 基因和 decapentaplegic (dpp) 基因的表达来调控果蝇肢体发育. 当细胞暴露于 Hedgehog (Hh) 信号之下时, 细胞产生全长形式的 Ci 蛋白 (Hh 通路下游的一个转录因子). 在没有 Hh 信号的情况下, Ci 蛋白被磷酸化, 磷酸化的 Ci 成为 SCF^{Slimb}复合体的靶蛋白, 通过泛素介导的蛋白水解作用截去 C 端, 这种剪短形式的 Ci 可入核抑制 wg、dpp 和 hh 基因的转录.

2.2.3 Wnt/Wg 通路: F-box 蛋白 Slimb/ β -Trep 抑制 Wnt/Wg 信号通路. 在没有 Wnt 配体的情况下, 激酶 GSK-3 β 催化 β -catenin 发生磷酸化, 磷酸化的 β -catenin 被 SCF ^{β -Trep} E3 连接酶复合体识别和泛素化, 最终被蛋白酶体水解. 在 Wnt 配体存在的情况下, 配体与 frizzled 家族受体之间的相互作用传递了抑制激酶 GSK-3 β 活性的信号, 减少了 β -catenin 的磷酸化, 从而消除了 β -Trep 与 β -catenin 的结合, 使泛素介导的蛋白质水解减少, 造成 β -catenin 的积累. 在积累的基础上, β -catenin 结合并活化 Tcf/LEF 家族转录因子^[4], 从而激活靶基因转录.

2.2.4 NF κ B 通路: 转录因子 NF κ B 通过与胞质锚定蛋白 I κ B α 结合而滞留在胞质中, 阻止了 NF κ B 与 DNA 的结合. 外界信号激活 MEKK1, 其又激活 I κ B 激酶 α/β 复合体, 该复合体催化 I κ B α 发生磷酸化, 磷酸化的 I κ B α 在 β -Trep 的参与下经过泛素介导的蛋白质水解过程被降解. 没有了 I κ B α 的胞质滞留作用, NF κ B 游离出来并入核, 诱导靶基因表达. 所以 F-box 蛋白 β -Trep 促进 NF κ B 的转录激活作用.

2.3 F-box 蛋白在其他生理过程中的功能

首先, 在酵母中, Ctf13 蛋白包含一个变异的 F-box 基序, 不能被 Prosite 或 Pfam 的算法所识别, 但已证明其对于结合 Skp1 是必需的. Ctf13 是 CBF3 动粒复合体中的一个成分, 该复合体能将微管结合于浓缩的有丝分裂期染色体上.

第二, Elongin A 作为 Elongin (S III) 复合体中的一个转录活性亚单位, 是一种 F-box 蛋白, 它

能促进由 RNA 聚合酶 II 进行的转录延伸.

还有, 在线虫中, FOG-2 是一种 F-box 蛋白. RNA 结合蛋白 GLD1 能与 FOG-2 形成复合体, 该复合体对于雌雄同体的线虫的精子发生是必需的.

3 磷酸化修饰与 F-box 蛋白的底物识别功能

磷酸化是细胞迅速传递信号的一种主要机制. SCF 复合体通常识别特定表位发生磷酸化修饰的底物. 最新研究表明 F-box 也可识别未被磷酸化修饰的蛋白质. Matsuzawa (2001 年) 发现了一条新的 β -catenin 降解通路, 涉及 Siah 蛋白和 Ebi 蛋白. Siah 是果蝇 Sina (seven in absentia) 蛋白在人中的同源蛋白, Ebi 是一种具有 WD 重复单元的 F-box 蛋白, 它与 β -catenin 的结合不依赖磷酸化修饰作用^[4].

4 F-box 蛋白细胞内水平的调节

F-box 蛋白是通过几种机制在不同的水平上被调节的.

4.1 泛素-蛋白酶体介导的降解作用的调节

酵母的 3 种 F-box 蛋白 Cdc4, Grr1 和 Met30 是内在不稳定的蛋白, 它们通过一种自催化机制受泛素-蛋白酶体介导的降解作用的调节. 哺乳动物的 Skp2 也是通过泛素-蛋白酶体通路被降解的, 但它的胞内水平在很大程度上还受到转录调节.

4.2 环境因素的调节

在酵母中, SCF (Met30p) 复合体活力受 F-box 蛋白 Met30p 丰度调节, 而 Met30p 丰度受可利用的 L-Met 的调节, 即直接受环境因素调节.

另外, Grr1 和 Skp1 的相互作用受葡萄糖水平调节. 当葡萄糖水平高时, Grr1 和 Skp1 的相互作用显著增强.

4.3 负反馈调节

β -catenin 的高表达能诱导 F-box 蛋白 β -Trep 的表达^[5]. 由于 β -catenin 是 SCF ^{β -Trep} 的一种底物, 所以由 β -catenin 促进 β -Trep 的表达能反过来促进 β -catenin 自身的降解, 表明这是一种控制 β -catenin 通路的负反馈环.

5 前景展望

目前, 大多数 F-box 蛋白的功能还不清楚. 考虑到这个家族蛋白质结构的多样性, 它们很可能参与了多种多样的细胞活动. 决定这些蛋白质的功能将是未来研究的一个重要领域.

现在有一个问题摆在人们面前, 即 F-box 基序

是否只特异地结合 Skp1 或 Skp1 样蛋白 (比如 Elongin C). 目前还没有 F-box 结合其他类型蛋白质的例子.

目前研究认为, F-box 蛋白是控制 SCF 复合体底物选择的关键的决定性因素, 被定位为细胞信号传导, 转录调节和细胞周期等许多生理活动的关键调节蛋白. 很可能目前发现的这些功能仅是冰山的一角, 对 F-box 蛋白功能的认识将随着研究的深入而不断扩展.

参 考 文 献

- 1 Bai C, Sen P, Hofmann K, *et al.* SKP1 connects cell cycle regulators to the ubiquitin proteolysis machinery through a novel motif, the F-box. *Cell*, 1996, **86** (2): 263~ 274
- 2 Schulman B A, Carrano A C, Jeffrey P D, *et al.* Insight into SCF ubiquitin ligases from the structure of the Skp1-Skp2 complex. *Nature*, 2000, **408** (6810): 381~ 386
- 3 Herskho A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, **67**: 425~ 479
- 4 Matsuzawa S I, Reed J C, Sial-1, SIP, and Ebi Collaborate in a Novel Pathway for β -Catenin Degradation Linked to p53 Responses. *Mol Cell*, 2001, **7** (5): 915~ 926
- 5 Spiegelman V S, Slaga T J, Pagano M, *et al.* Wnt/ β -catenin signaling induces the expression and activity of beta Trecp ubiquitin ligase receptor. *Mol Cell*, 2000, **5** (5): 877~ 882

1 Bai C, Sen P, Hofmann K, *et al.* SKP1 connects cell cycle

Progress in Functional Characterization of F-box Protein Family^{*}

WU Jing, PENG Xiao-Zhong, YUAN Jian-Gang^{**}, QIANG Bo-Qin

(Institute of Basic Medical Science, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College,

National Laboratory of Medical Molecular Biology, Beijing 100005, China)

Abstract F-box protein is an expanding family of eukaryotic protein characterized by an F-box motif which has specificity of substrate recognition in the ubiquitin-mediated proteolysis. These proteins have been shown to be critical for many physiological process, such as cell cycle transition, signal transduction, development, and so on.

Key words F-box protein, structure, function, specificity of substrate recognition

^{*} This work was supported by grants from the Special Funds for Major State Basic Research of China (G19988051000) and The National Natural Science Foundation of China (39830070).

^{**} Corresponding author. Tel: 86-10-65296411, E-mail: yuanjg-mailbj@95777.com

Received: December 21, 2001 Accepted: January 31, 2002