

SUMO 化修饰与早幼粒白血病蛋白核体形成 *

李倩 潘聪 雷鸣**

(陕西省农业分子生物学重点实验室, 西北农林科技大学生命科学院, 杨凌 712100)

摘要 早幼粒白血病蛋白核体(promyelocytic leukaemia nuclear bodies, PML NBs)是哺乳动物细胞中普遍存在的一种亚核结构, 广泛参与如转录调节、基因组稳定性维持、抗病毒、细胞凋亡、肿瘤抑制等一系列的生物学事件. SUMO(small ubiquitin modifier)修饰是蛋白质翻译后修饰领域中的研究热点, SUMO 修饰对 PML 核体的形成与降解都发挥着重要作用. 近年来研究发现, 人的 E3 泛素连接酶 RNF4(RING finger protein 4), 可促进依赖 SUMO-2/3 修饰的 PML 核体的泛素化连接, 并且 ATO(三氧化二砷)可加速其对 PML 核体的降解. 荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)技术可完全应用于活细胞内 PML 核体和 SUMO 蛋白之间在时间和空间上的精确互作. 因此, 更深入地研究 PML 核体形成和降解的机理以及在这个过程中重要蛋白质之间的相互作用具有重要而深远的意义.

关键词 早幼粒白血病蛋白(PML)核体, SUMO 修饰, E3 泛素连接酶(RNF4), 荧光共振能量转移

学科分类号 Q2, Q6, Q7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00017

1991 年, De Thé 等首先发现染色体 t(15, 17) 易位导致早幼粒白血病蛋白(PML)基因和 RAR α (维甲酸受体 α)基因的融合从而引发白血病^[1], 随后对 PML 核体(promyelocytic leukaemia nuclear bodies, PML NBs)结构和功能的研究发现, 其在广泛的生物学活动中发挥重要作用, 为更深入地研究其细胞学功能提供了重要依据. 虽然目前对于定位在 PML 核体上的蛋白质已有大量研究, 但对于 PML 核体如何形成、降解及该过程发生的精确亚细胞位置还不清楚. 本文主要报告 SUMO(small ubiquitin modifier)修饰在 PML 核体形成及降解中的研究进展.

1 PML 核体简介

PML 基因 N 端包含保守的 TRIM 或者 RBCC 结构, 由一个环指结构(RING finger domain)、一个或两个 B-Box 结构和一个卷曲螺旋结构域(coiled-coil domain)^[2-3]组成, PML 蛋白的结构对于 PML 核体的形成非常重要, 虽然 C 端由于可变剪切可产生至少 11 个蛋白异构体, 但已证明多达 6 种 PML 异构体(I ~ VI)均能形成 PML 核体^[4].

PML 核体又称 Kremer 小体、核域 -10(ND-10)

和 PML 致瘤域(PODs)^[1], 是染色质之间的点状核斑结构, 广泛存在于大多数哺乳动物细胞与组织中, 根据细胞类型、细胞周期阶段的不同, 平均每个细胞核质中约有 1~30 个核体, 直径为 0.2~10 μm ^[5-6]. 作为蛋白质性质的结构, PML 核体是和核质紧密联系在一起, 电子显微镜下可观察到它包含一个环指状的蛋白质结构域并且中心没有检测到有核苷酸^[5-6]. 本实验室用电子显微镜和免疫荧光方法观察到 PML 核体在细胞中的分布(图 1).

PML 核体是一种动态的结构, 不管是在正常情况下还是在细胞胁迫下均在数量、大小和位置上发生巨大的变化^[5-9], 活细胞成像分析显示, 虽然大多数期间的 PML 核体呈稳定状态, 大约 12% 的 PML 核体表现出依赖 ATP 的变化^[9-11]. 并且 PML 蛋白定位或者离开 PML 核体都会直接影响 PML 核体的结构.

* 陕西省“13115”重大科技项目(2008ZDKG-068), 科技部创新基金(08C26226102378)和教育部新世纪优秀人才(NCET-08-0467)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 029-87080160, E-mail: leiming70@hotmail.com

收稿日期: 2010-01-11, 接受日期: 2010-05-26

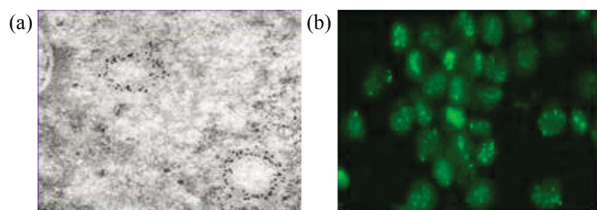


图1 CHO细胞中的PML核体

Fig. 1 PML nuclear bodies in CHO cells

(a) 电镜观察 CHO 细胞中 PML 核体(透射电镜 JEM-1230). (b) 荧光显微镜观察稳定表达 PML 的 CHO 细胞中 PML 核体. CHO 细胞中转染 pcDNA3-flag-PML III, 通过 G418 筛选, 免疫荧光检测得到的稳定表达的细胞株, 一抗为羊抗鼠单克隆抗体, 二抗为 goat anti-mouse Alex fluo488. (多功能显微镜 BX51+DP70, 1000×)(出自本实验室)

在细胞周期中, PML 核体不仅在数量上而且在生化组成上发生巨大变化^[12]. 早期的研究表明, G0 期细胞中几乎没有 PML 核体, 当细胞进入 G1 并移入 S 和 G2 期, PML 核体数量增加^[13]. 在 S 期早期, PML 核体依然和染色质紧密联结, 因为染色质的修饰失去它们的结构整合性, 进而分解形成小体. G2 期的数量相当于 G1 期的大约 2 倍^[14]. 分裂期随着染色质的固缩, PML 核体数量减少, 形成更大的聚集体 MAPPs(PML 蛋白有丝分裂积累物)并和中期染色体分离, 然而有一部分仍然呈联合状态, 此时的 MAPPs 成为子细胞核 PML 蛋白的来源^[15]. 除了 M 期, SUMO 蛋白和 SP100 蛋白都是 PML 核体的组分, Daxx 蛋白在 S 期的晚期由于定位在异染色质上和 PML 核体分离, G2 期的 Daxx 蛋白数量少于 G1 期^[6].

2 SUMO 化修饰与 PML 核体形成的关系

目前已经证实长期或暂时定位在 PML 核体中的蛋白质超过 50 个, 如 sp100、Daxx、SUMO 等^[7-8], 这些蛋白质直接或间接地参与 PML 核体重要生物学功能的发挥. 对于 PML 核体, 直至今日我们仍不清楚在细胞核中它的形成过程以及其发生的具体位置, 但目前的研究结果表明 SUMO 修饰在 PML 核体的形成中具有重要的作用^[6, 16-17].

SUMO 化修饰是指 SUMO 蛋白共价结合于靶蛋白的赖氨酸残基上, 这个过程类似但又不同于泛素化, 而且与泛素介导蛋白质的降解不同^[18]. SUMO 化修饰是一种重要的蛋白质翻译后修饰, 在蛋白质定位、染色质结构的维持、转录调节、

DNA 损伤修复、核质运输、信号转导等方面发挥作用^[19-22]. 已知人类的 SUMO 基因有 4 个: SUMO-2、3、4 之间有 83% 以上的同源性, 但它们和 SUMO-1 的同源性低于 48%^[23]. SUMO 化修饰靶蛋白的过程是: a. 成熟. SUMO 前体蛋白在蛋白酶的作用下成熟, 暴露出 C 端 Gly. b. 激活. ATP 水解提供能量使 SUMO 的 C 端 Gly 与 E1-激活酶(SAE-1, SAE-2)的一个 Cys 残基通过硫酯键相连接. c. 缀合. 激活的 SUMO 经 E1 传递到 E2-结合酶(Ubc9), 与 E2 活性位点的 Cys93 残基借助硫酯键相连接. d. 连接. SUMO 的 Gly 残基与靶蛋白 Lys 残基的 ϵ 2 氨基通过异肽键结合. Rodriguez 等^[24]证明, SUMO 的靶蛋白含有共有序列“ Ψ KXE”及核定位信号(nuclear localization signal, NLS), 其中 Ψ 为疏水性氨基酸残基, K 为 Lys, X 为任意氨基酸, E 为 Glu. e. 通过异肽键酶的作用, SUMO 与靶蛋白分离, 回到初始状态, 称为去 SUMO 化(desumoylation). 去 SUMO 化则由 SUMO 化的特异性蛋白酶(SENPs)催化, 它们定位于不同的亚细胞区^[19-20].

研究发现, PML 蛋白上 3 个位点(65、160、490)分别突变后不被 SUMO 化修饰, Zhong 等^[17]发现, 向 PML-/-细胞中转染不能被 SUMO 修饰的 PML 突变体, 不能形成核体, 说明这 3 个位点都是 PML 核体形成及其完整性维持必需的. 特别是 PML 的 K160 位与 SUMO-2/3 共价结合时, 对相关蛋白募集到核体是很关键的. 体外实验已经证明, SUMO 二类家族都可以修饰 PML 蛋白, 而且这种修饰以不同于 SUMO-1 作用的机理对 PML 核体的形成造成影响^[25-29]. 表现在修饰位点上: PML 蛋白的 490 位点主要被 SUMO-1 修饰, 160 位点主要被 SUMO-2/3 修饰并且形成多 SUMO 链修饰(图 2).

Pandolfi 等的研究发现^[30-31]: SUMO 化修饰过程中的某些组分也影响 PML 核体的形成, 体外培养的细胞中缺失 Ubc9 可导致 PML 核体结构和功能的严重缺陷, 并且 PML 蛋白不能被 SUMO 化修饰, 引发 PML 核体裂解; 过量表达的 SuPr1(一种 SUMO 蛋白酶)使 PML 核体形成为数很少的较大聚集体, 并且使定位在 PML 核体的蛋白质(如 Daxx 蛋白和 CBP 蛋白)发生重新分布, 如 Daxx 蛋白和 CBP 蛋白. 这些酶的改变又为 SUMO 化修饰在 PML 核体形成中扮演重要角色提供了有力证据.

Shen 等^[32-33]发现 PML 上存在一个叫做 SUMO 蛋白结合序列(sumo interaction motif, SIM)的结构,

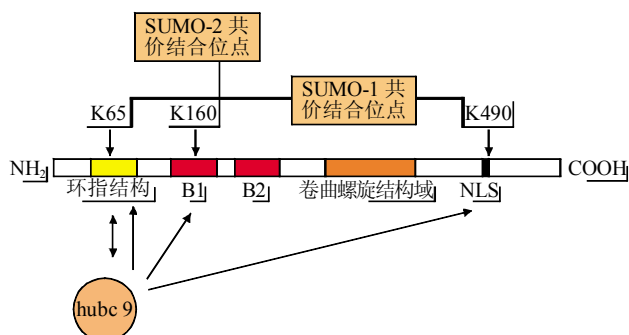


图2 PML 的 SUMO 化修饰

Fig. 2 SUMOylation of PML

SUMO-1 共价结合 K65 和 K490 位点, SUMO-2 共价结合 160 位点, Ubc9 非共价结合 K65、K160、K490 位点.

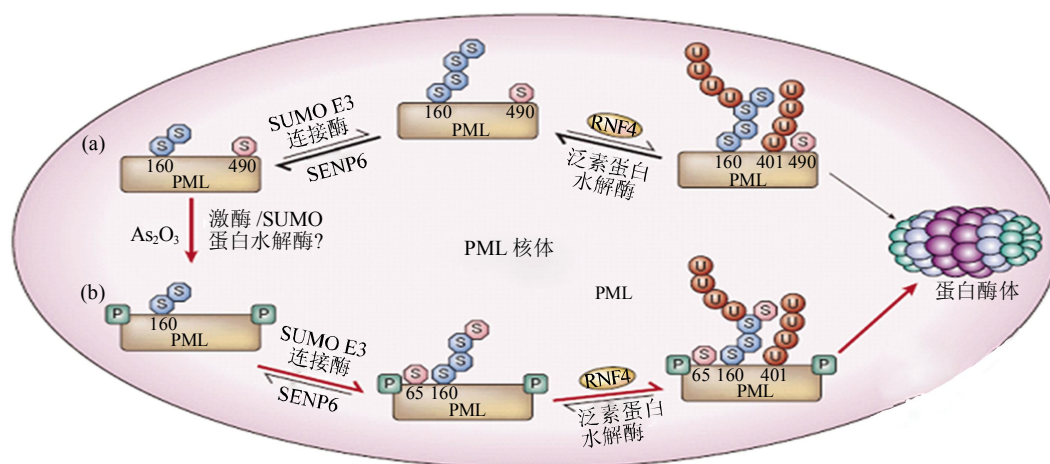
该结构和它的 SUMO 化位点不同, 使 PML 蛋白能够与 SUMO 化修饰的蛋白质包括它自身发生非共价结合, PML 蛋白中的 SIM 也能够与发生 SUMO 化修饰的 PML 结合, 多个 PML 蛋白通过 SUMO 形成大的复合结构, 而其他能被 SUMO 化修饰的蛋白质或具有 SIM 的蛋白质也能定位到这个复合物中^[34-35], 因此 PML 的形成依赖于被 SUMO 修饰的 SUMO 蛋白和 PML 的多个 SIM 的非共价相互作用^[36]. 但最近有研究者向 PML^{-/-}细胞中转染不含 SIM 的 GFP-PML VI 时, 也形成了 PML 核体^[4], 因此推断 SIM 也许在 PML 核体形成中发挥重要作用. 对于 SIM 是否是 PML 核体形成的必需结构, 目前还没有达成共识, 需要更确凿的实验论证.

3 人 E3 泛素连接酶 RNF4 及三氧化二砷诱导对 PML 核体的降解作用

早期的研究发现三氧化二砷(ATO)本身可能治疗急性早幼粒细胞白血病(APL)^[37], 后来 De Thé 教授等又证明砷特异性地降解 PML-RAR α 融合蛋白, 十余年的研究结果使 ATO 降解 PML 核体的机理日渐明了.

在 PML 核体降解过程中, 人 E3 泛素连接酶(RING finger protein 4, RNF4)的参与和 SUMO 修饰是不可或缺的重要过程. 其中, 小核指环状蛋白 RNF4 是一个人的 E3 泛素连接酶, 它和酵母中依赖 SUMO 的泛素连接酶同源, 包含一个 C 端的环状指和一个对许多肿瘤抑制蛋白和 E3 泛素连接酶特异的基序. 最近的研究发现, RNF4 是第一个能够特异结合多 SUMO 链的蛋白质^[38]. 作为 RNF4 忠实的目标, PML 是第一个发现的被泛素降解但要依赖 SUMO 化修饰的蛋白质^[39].

当没有砷诱导时, PML160 位点形成多链 SUMO-2/3, RNF4 结合多 SUMO 链后, 形成多泛素链, 之后 PML 核体被蛋白酶降解, 401 位点可直接发生多泛素修饰^[39], 而 SUMO-1 修饰 65 位其自身不能被泛素修饰, 只可间接促进 160 位点的多 SUMO 链形成和直接稳定 RNF4 的结合^[40-41]. 当有砷诱导时, ATO 引起 SUMO-2/3 链的大量增加, PML 核体降解过程被加速, 而 PML 160 位点突变、RNF4 的缺失或者蛋白酶抑制引起混合的、多泛素化的、多 SUMO 链的积累, 导致砷不能诱导 PML 的降解和核内 SUMO 修饰的 PML 的积累^[40, 42](图 3).

图3 砷诱导的 PML 降解途径^[40]Fig. 3 Asenic induced PML degradation pathway^[40]

P: Phosphorylation; S: SUMO-1; SS: SUMO-2/3; U: Ubiquitin.

Percherancier 等^[43]用生物发光共振能量转移 (BRET)方法发现, PML 的 SIM/SBD(SUMO binding domain)在 ATO-RNF4 诱导的 PML 核体降解途径中必不可少, 而 ATO 的增强不是必需的, 并且在核体中 SUMO 修饰和依赖 SIM 的 PML 聚集作用足够引起 RNF4 介导 PML 核体降解. 最近, 我们用活细胞荧光共振能量转移(FRET)实验证明 ATO-RNF4 通过多聚 SUMO-2 修饰介导 PML 核体降解(结果未发表).

4 荧光共振能量转移 (FRET) 技术在研究 PML 核体分子动态变化中的应用

近年来, 随着水母中绿色荧光蛋白及珊瑚和海葵中红荧光蛋白的克隆并在各种异源细胞中的表达, 绿色荧光蛋白(GFP)作为一种新型的探针分子, 利用其研究活细胞内蛋白质空间分布和相互作用成为可能^[44-45]. 比如有研究者利用光漂白后荧光恢复技术 (fluorescence recovery after photobleaching, FRAP), 观察发现, 大多数情况下 GFP-PML 和 GFP-SP100 蛋白在 PML 核体是稳定的, 当 PML 蛋白从核质移动到 PML 核体外, PML 核体也随之发生变化^[46].

GFP-FRET 结合图形显微技术和计算机处理技术, 为活体细胞内蛋白质动力学研究提供了一种可视化的分析方法^[47]. GFP-FRET 图像显微术结合荧光寿命显微图像, 已被广泛应用于基因转染、表达病毒感染致病机理研究、蛋白质定位和蛋白质动力学研究、蛋白质定量分析、蛋白质运输荧光共振能量转移、光漂白荧光关联谱学、细胞分类选择和细胞系分析等^[48].

已有研究者运用 FRET 技术研究了 PML 核体和 SUMO 蛋白之间在时间和空间上的精确互作, 并比较 SUMO-1 和 SUMO-2/3 对 PML 核体修饰的差异. 因此, 此项研究可完全应用于为全面揭示 SUMO 蛋白对 PML 核体的修饰作用, 进而发现其对 PML 核体形成及降解的影响提供重要的研究方法.

5 展 望

目前, 虽然定位于 PML 核体上蛋白质研究得较多并且在鉴别及功能研究方面有较大的发展, 但是还存在一系列因素制约了 PML 核体机理的研究: a. 还未能用生物化学的方法提纯 PML 核体; b. 存在许多 PML 蛋白异构体; c. 现在还不清楚哪些

成分在同一时间保持不变; d. 鉴定出来的成分到底是核质还是核体的 PML 伙伴. 近年来, 随着分子影像技术的发展和绿荧光蛋白的广泛应用, 荧光共振能量转移作为唯一能在生理条件下反映活细胞体内蛋白质相互作用的方法, 为开展和 PML 核体的形态建成、功能有关的研究, 特别是 SUMO 家族对 PML 核体的修饰作用的研究奠定了基础.

参 考 文 献

- [1] Melnick A, Licht J D. Deconstructing a disease: RARα, its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*, 1999, **93**(10): 3167-3215
- [2] Reineke E L, Kao H Y. Targeting promyelocytic leukemia protein: a means to regulating PML nuclear bodies. *Int J Biol Sci*, 2009, **5**(4): 366-376
- [3] Damme E V, Laukens K, Dang T H, *et al.* A manually curated network of the PML nuclear body interactome reveals an important role for PML-NBs in SUMOylation dynamics. *Int J Biol Sci*, 2010, **6**(1): 51-67
- [4] Brand P, Lenser T, Peter Hemmerich. Assembly dynamics of PML nuclear bodies in living cells. *PMC Biophysics*, 2010, **3**: 3
- [5] Delleire G, Bazett-Jones D P. PML nuclear bodies: dynamic sensors of DNA damage and cellular stress. *Bioessays*, 2004, **26**(9): 963-977
- [6] Bernardi R, Pandolfi P P. Structure, dynamics and functions of promyelocytic leukaemia nuclear bodies. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(10): 1006-1016
- [7] Blom N, Sicheritz-Pontén T, Gupta R, *et al.* Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics*, 2004, (4): 1633-1649
- [8] Reineke E L, Kao H Y. PML: An emerging tumor suppressor and a target with therapeutic potential. *Cancer Ther*, 2009, **7**(A): 219-226
- [9] Muratani M, Gerlich D, Janicki S M, *et al.* Metabolic-energy-dependent movement of PML bodies within the mammalian cell nucleus. *Nature Cell Biol*, 2002, **4**(2): 106-110
- [10] Eski C H, Delleire G, Bazett-Jones D P. Chromatin contributes to structural integrity of promyelocytic leukemia bodies through a SUMO-1 independent mechanism. *Biol Chem*, 2004, **279** (10): 9577-9585
- [11] Eski C H, Delleire G, Mymryk J, *et al.* Size, position and dynamic behavior of PML nuclear bodies following cell stress as a paradigm for supramolecular trafficking and assembly. *Cell Sci*, 2003, **116**(pt21): 4455-4466
- [12] Nichol J N, Petrucci L A, Miller W H. Expanding PML's functional repertoire through post-translational mechanisms. *Frontiers in Bioscience*, 2009, **14**: 2293-2306
- [13] Kurki S, Latonen L, Laiho M. Cellular stress and DNA damage invoke temporally distinct Mdm2, P53, and PML complexes and damage-specific nuclear relocalization. *Cell Sci*, 2003, **116**(pt19): 3917-3925
- [14] Delleire G, Ching R W, Dehghani H, *et al.* The number of PML

- nuclear bodies increases in early S phase by a fission mechanism. *Cell Sci*, 2006, **119**(pt6): 1026–1033
- [15] Dellaire G, Eski C H, Dehghani H, *et al*. Mitotic accumulations of PML protein contribute to the re-establishment of PML nuclear bodies in G1. *Cell Sci*, 2006, **119**(pt6): 1034–1042
- [16] Dellaire G, Farrall R, Bickmore W A. The nuclear protein database (NPD): sub-nuclear localization and functional annotation of the nuclear proteome. *Nucl Acids Res*, 2003, **31**(1): 328–330
- [17] Zhong S, Muller S, Ronchetti S, *et al*. Role of SUMO-1 modified PML in nuclear body formation. *Blood*, 2000, **95**(9): 2748–2752
- [18] Rodriguez M S, Dargemont C, Hay R T. SUMO-1 conjugation *in vivo* requires both a consensus modification motif and nuclear targeting. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 12654–12659
- [19] Hay R T. SUMO: a history of modification. *Mol Cell*, 2005, **18**(1): 1–12
- [20] Cheng J, Bawa T, Leey P, *et al*. Role of desumoylation in the development of prostate cancer. *Neoplasia*, 2006, **8**(8): 667–676
- [21] Morris J R, Boutell C, Keppler M, *et al*. The SUMO modification pathway is involved in the BRCA1 response to genotoxic stress. *Nature*, 2009, **462**: 886–892
- [22] Dasso M. Emerging roles of the SUMO pathway in mitosis. *Cell Division*, 2008, **3**: 5
- [23] Gill G. SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms?. *Genes Dev*, 2004, **18**: 2046–2059
- [24] Rodriguez M S, Dargemont C, Hay R T. SUMO-1 conjugation *in vivo* requires both a consensus modification motif and nuclear targeting. *Biol Chem*, 2001, **276**(16): 12654–12659
- [25] Fu C H, Ahmed K, Ding H S, *et al*. Stabilization of PML nuclear localization by conjugation and oligomerization of SUMO-3. *Oncogene*, 2005, **24**(35): 5401–5413
- [26] Tatham M H, Jaffray E, Vaughan O A, *et al*. Polymeric chains of SUMO-2 and SUMO-3 are conjugated to protein substrates by SAE1/SAE2 and Ubc9. *Biol Chem*, 2001, **276**(38): 35368–35364
- [27] Martin S F, Hattersley N, Samuel I D W, *et al*. A fluorescence-resonance-energy-transfer-based protease activity assay and its use to monitor paralog-specific small ubiquitin-like modifier processing. *Anal Biochem*, 2007, **363**(1): 38–45
- [28] Bossis G, Chmielarska K, Gartner U. A fluorescence resonance energy transfer-based assay to study SUMO modification in solution. *Methods Enzymol*, 2005, **398**: 20–32
- [29] Mukhopadhyay D, Ayaydin F, Kolli N, *et al*. SUSP1 antagonizes formation of highly SUMO2/3-conjugated species. *J Cell Biol*, 2006, **174**(7): 939–949
- [30] Nacerddine K, Lehembre F, Bhaumik M, *et al*. The SUMO pathway is essential for nuclear integrity and chromosome segregation in mice. *Dev Cell*, 2005, **9**(6): 769–779
- [31] Best J L, Ganiatsas S, Agarwal S, *et al*. SUMO-1 protease-1 regulates gene transcription through PML. *Mol Cell*, 2002, **10**(4): 843–855
- [32] Hecker C M, Rabiller M, Haglund K, *et al*. Specification of SUMO1- and SUMO2- interacting motifs. *Biol Chem*, 2006, **281**(23): 16117–16127
- [33] Song J, Durrin L K, Wilkinson T A, *et al*. Identification of a SUMO-binding motif that recognizes SUMO-modified proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(40): 14373–14378
- [34] Shen T H, Lin H K, Scaglioni P P, *et al*. The mechanisms of PML-nuclear body formation. *Mol Cell*, 2006, **24**(3): 331–339
- [35] Takahashi H, Hatakeyama S, Saitoh H, *et al*. Noncovalent SUMO-1 binding activity of thymine DNA glycosylase (TDG) is required for its SUMO-1 modification and colocalization with the promyelocytic leukemia protein. *Biol Chem*, 2005, **280**(7): 5611–5621
- [36] Matunis M J, Zhang X D, Ellis N A. SUMO: the glue that binds. *Dev Cell*, 2006, **11**(5): 596–597
- [37] Zhu J, Chen Z, Lallemand-Breitenbach V, *et al*. How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. *Nature Rev Cancer*, 2002, **2**(9): 705–713
- [38] Tatham M H, Geoffroy M C, Shen L, *et al*. RNF4 is a poly-SUMO-specific E3 ubiquitin ligase required for arsenic-induced PML degradation. *Nat Cell Bio*, 2008, **10**(5): 538–547
- [39] Petrie K, Zelent A. Marked for death. *Nature Cell Bio*, 2008, **10**(5): 507–509
- [40] Lallemand-Breitenbach V, Jeanne M, Benhenda S, *et al*. Arsenic degrades PML or PML-RAR α through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway. *Nat Cell Bio*, 2008, **10**(5): 547–556
- [41] Hakli M, Karvonen U, Jänne O A, *et al*. SUMO-1 promotes association of SNURF (RNF4) with PML nuclear bodies. *Exp Cell Res*, 2005, **304**(1): 224–233
- [42] Weisshaar S R, Keusekotten K, Krause A, *et al*. Arsenic trioxide stimulates SUMO-2/3 modification leading to RNF4-dependent proteolytic targeting of PML. *FEBS Lett*, 2008, **582**(21–22): 3174–3178
- [43] Percherancier Y, Germain-Desprez D, Galisson F, *et al*. Role of SUMO in RNF4-mediated PML degradation: PML sumoylation and phospho-switch control of its SUMO Binding Domain dissected in living cells. *Biol Chem*, 2009, **284**(24): 16595–16608
- [44] Kaganman I. FRETing for a more detailed interactome. *Nat Methods*, 2007, **4**(2): 112–113
- [45] Voss T C, Demarco I A, Day R N. Quantitative imaging of protein interactions in the cell nucleus. *Biotechniques*, 2005, **38**(3): 413–424
- [46] Wiesmeijer K, Molenaar C, Bekeir I M L A, *et al*. Mobile foci of Sp100 do not contain PML: PML bodies are immobile but PML and Sp100 proteins are not. *Struct Biol*, 2002, **140**(1–3): 180–188
- [47] Jares-Erijman E A, Jovin T M. Imaging molecular interactions in living cells by FRET microscopy. *Curr Opin Chem Biol*, 2006, **10**(5): 409–416
- [48] Wallrabe H, Periasamy A. Imaging protein molecules using FRET and FLIM microscopy. *Curr Opin Biotechnol*, 2005, **16**(1): 19–27

SUMOylation and PML NBs Formation*

LI Qian¹⁾, PAN Cong¹⁾, LEI Ming^{1,2)**}

¹⁾ Life Sciences College of Northwest N&F University, Yangling 712100, China;

²⁾ Key Laboratory for Molecule Biology of Agriculture, Yangling 712100, China)

Abstract PML NBs (promyelocytic leukaemia nuclear bodies) is subnuclear structure in mammalian cells, which widely takes part in kinds of biological events such as transcriptional regulation, genome stability, response to viral infection, apoptosis and tumor suppression. As protein post-translational modification, SUMO located in nucleus plays important roles in PML NBs formation and degradation. Recent research suggests that the human E3 ubiquitin ligase-RNF4 (RING finger protein 4), mediates PML NBs degradation depending on SUMO-2/3 modification of PML, ATO(arsenic trioxide) could facilitate in this process. FRET(fluorescence resonance energy transfer)technology could be used in studying the protein-protein interaction of PML NBs and SUMO protein in living cells. Thus, it is far-reaching and significant to research deeply in the mechanism of the formation and degradation of PML NBs and the interaction between the important proteins during this pathway.

Key words PML NBs, SUMOylation, RNF4, FRET

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00017

*This work was supported by grants from "13115" Technology Key Programme of Shaanxi(2008ZDKG-068), MOST Innovation Fund Programme (08C26226102378) and MOE New Century Excellent Intelligent Programme(NCET-08-0467).

**Corresponding author.

Tel: 86-29-87080160, E-mail: leiming70@hotmail.com

Received: January 11, 2010 Accepted: May 26, 2010