

蛋白磷酸酶 4 的组成与主要功能

黄秀清 宁丽峰 龙治涛 孙玲玲 桑建利*

(北京师范大学生命科学学院细胞增殖与调控教育部重点实验室, 北京 100875)

摘要 在蛋白质的可逆磷酸化过程中, 蛋白激酶和蛋白磷酸酶有着同等重要的作用。近年来, 人们逐渐把研究的重点转移到以往关注甚少的蛋白磷酸酶家族上。蛋白磷酸酶 4(PP4 或 PPX) 是蛋白磷酸酶 2A(PP2A) 家族的重要成员之一, 它与多个调节亚基形成多种复合体参与诸多重要的细胞进程, 如中心体的成熟、剪接体复合体的组装、多个细胞信号通路的调节以及 DNA 损伤修复的调节等多个事件。现对 PP4 的组成、活性调节及已知的生物学功能作简要介绍。

关键词 可逆磷酸化; 蛋白磷酸酶 4; 中心体成熟; 剪接体复合体组装; DNA 损伤修复

蛋白质的可逆磷酸化是许多生命活动的主要调控方式。概括起来说, 这种翻译后修饰可以改变信号通路中许多关键蛋白质的性质如酶活性、细胞内定位等, 从而影响细胞的增殖、分化和凋亡。过去对蛋白质可逆性磷酸化的研究主要集中在蛋白激酶的调控方面。现在认为蛋白磷酸酶和蛋白激酶一样受到严密调控, 同样起重要的作用。

蛋白磷酸酶 4(PP4) 是蛋白磷酸酶 2A(PP2A) 亚家族的重要成员之一。它是为数不多的定位于中心体上的蛋白磷酸酶之一, 在进化过程中高度保守。已有研究表明它独立于蛋白磷酸酶(PPP) 家族其他磷酸酶调控许多细胞功能, 如中心体的成熟、剪接体复合体的组装、多个细胞信号通路的调节等多个事件^[1]。本文就 PP4 的组成、活性调节及生物学功能作简要综述。

1 PP4 在磷酸酶家族中的地位

与蛋白激酶类似, 蛋白磷酸酶根据其催化亚基作用的氨基酸残基的种类不同分为丝/苏氨酸型蛋白磷酸酶, 酪氨酸型蛋白磷酸酶和双重底物特异型蛋白磷酸酶。最近还发现一类去磷酸化组氨酸残基的蛋白磷酸酶。丝/苏氨酸型蛋白磷酸酶由两个不相关的基因家族编码, 分为 PPP 家族和 Mg²⁺ 依赖的蛋白磷酸酶(PPM) 家族。PPM 家族的主要成员是 PP2C 和位于线粒体上的丙酮酸脱氢酶。在 PPP 家族中, 根据对抑制蛋白 1 和 2 的敏感性等性质的不同, 又分为 PP1 和 PP2 两个家族。根据磷酸酶活性对二价阳离子的需求情况以及它们对酶抑制剂的敏感性不同, PP2 家族进一步分为 PP2A 与 PP2B 亚家族。

PP2A 亚家族由一些生化和酶学性质相似, 氨基酸同源性高的蛋白质组成。PP4 是 PP2A 亚家族的重要成员之一, 该亚家族还包括了 PP2A 的两个亚型 PP2A α 和 PP2A β , PP4, PP6 以及这些磷酸酶在其他物种中的同源蛋白质, 如 Pph3、PPH4-1/2、Sit4、Ppg1、Pph21p/22p、PPV 等^[1~4]。

2 PP4 复合体的组成

PP4 以复合体形式存在。到目前为止, 已经从多种组织中纯化出多种 PP4 复合体。这些复合体中都包含了 35 kDa 的核心催化亚基 PP4/C, 并与不同的调节亚基相结合, 形成异源复合体。

2.1 催化亚基 PP4/C

在众多的磷酸酶中, PP4/C 与 PP2A/C 相似性最高, 其氨基酸序列同源性达 65%, 而与 PP1 和 PP2B 的同源性较低, 分别为 45% 和 34%^[4, 5]。到目前为止, 还未能表达出足够质量 PP4/C 用于结晶, 因此对于 PP4 的晶体结构了解还非常少。已有的研究表明 PP4/C 有一个位于[(54~56)-(81~85)-(112~116)]的磷酸酶保守区域 DXH-(~25)-GDXXD-(~25)-RGNHD/E。此外, 我们的研究结果表明: PP4 序列中 68~136 和 134~220 两个片段参与调节 PP4 在中心体正确定位。

PP4/C 在进化过程中高度保守。人与鼠 PP4/C 在氨基酸序列上的同源性为 100%^[6], 与兔 PP4/C 仅

收稿日期: 2006-03-31 接受日期: 2006-07-24

国家自然科学基金资助项目(No.30270663)

* 通讯作者。Tel: 010-58806226, Fax: 010-58807721, E-mail: sangjianli@263.net

一个氨基酸不同,即第75位的苏氨酸变成了精氨酸^[7]。此外,人源PP4/C与河豚、果蝇及线虫中两种PP4/C的同源蛋白的同源性分别达到99%、94%、74%及71%。同时还发现各个物种间PP4/C基因结构也十分相似^[6]。PP4/C的这种高度保守特性表明它在细胞生理过程中起到了关键的作用。

PP4/C分布广泛。在脑、肾、肺、卵巢、胰腺、胎盘、骨骼肌、肠、脑、平滑肌、心脏、卵巢、脾、甲状腺、肝和睾丸等组织中都能检测到PP4/C的分布,且在睾丸的表达量最大,这暗示了PP4/C在精子发育过程中起到重要作用^[7]。

PP4/C是定位于中心体的少数磷酸酶之一。在哺乳动物细胞中,PP4/C在胞质与核中都有分布。此外PP4/C在间期及有丝分裂的早中期,中期及后期都在中心体上有分布^[2]。虽然在不同物种中,PP4/C在中心体定位的时相有所不同,但这种定位在进化上具保守性。在线虫、果蝇KC细胞及胚胎细胞中都能检测到PP4/C在中心体上的分布^[8,9]。

2.2 PP4的调节亚基

虽然PP4/C与PP2A/C序列相似,但它并不与PP2A/C结构亚基PP2A/A亚基相结合。至今为止,已发现的PP4的调节亚基共有5种,分别为 $\alpha 4$ 、PPP4R1、PPP4R2、PPP4Rmeg及PPP4R3。

2.2.1 $\alpha 4$ $\alpha 4$ 是与酿酒酵母中Tap42p同源的哺乳动物蛋白质,分子量约为52 kDa。它是PP2A磷酸酶家族共有的结合蛋白,研究表明 $\alpha 4$ 可能通过中间区域的109个氨基酸与PP4/C、PP2A/C和PP6/C相结合,且这种结合会降低PP2A磷酸酶家族成员对p-NPP的反应活性,由此推测 $\alpha 4$ 很有可能负调磷酸酶活性。此外, $\alpha 4$ 与PP2A及其家族磷酸酶结合受到纳巴霉素抑制,表明 $\alpha 4$ 与PP2A家族磷酸酶相结合可能参与了哺乳动物TOR信号通路——mTOR^[10]。

2.2.2 PPP4R1 PPP4R1是最早被发现的PP4/C特异性的调节亚基,分子量约为105 kDa。PP4/C与PPP4R1以1:1的摩尔比形成了异源复合物^[11]。PPP4R1的序列中有13个与PP2A/A亚基中的“HEAT”重复序列相似的序列^[12]。在PP2A/A亚基中,HEAT序列的大量堆积,使PP2A/A形成C型结构,构造出与催化亚基及其他调节亚基的结合位点。与PP2A/A不同,PPP4R1中这些模体不相邻,比如第六和第七重复之间有一个约332个氨基酸的分隔序列^[11]。虽然PPP4R1的功能仍不清楚,但是与

PP2A/A这种结构上的相似,暗示它们可能具有相似的功能,即它可以与PP4/C形成复合体为其它亚基及相互作用蛋白提供结合位点。但已有研究表明PP4/C和PPP4R1所形成的复合体并不能介导PP4/C与PPP4R2的相互作用。

2.2.3 PPP4R2 PPP4R2是从兔骨骼肌和猪睾丸中纯化出的PP4高分子量复合体的重要组分之一,分子量为50.4 kDa^[13]。PPP4R2分布广泛,在骨骼肌、睾丸、心脏、肝、脾和视网膜中都有表达。PPP4R2自身形成二聚体,且与PP4/C以1:1的摩尔比形成四聚体的高分子量复合体。PPP4R2与PP4/C结合后,破坏了PP4/C与微囊藻素的结合位点并抑制了PP4/C对一些底物如酪蛋白的活性,使复合体呈现失活状态,但是它能够被一些碱性蛋白如鱼精蛋白所活化,使磷酸酶活性增高5~6倍。此外,PPP4R2与PP4/C的定位相似,它除了在核和胞质中分布外,还显著地定位于中心体上。以上所述提供了一种可能性,即PP4/C与PPP4R2形成复合体后,由PPP4R2携带PP4/C定位到中心体上,并且可以通过活化信号改变PP4/C的催化活性,从而对PP4/C的活性进行调节。

2.2.4 PPP4Rmeg 2001年Wada等^[14]从培养的肾小球细胞中克隆出一个新基因PPP4Rmeg。在氨基酸序列上,除PPP4R1中Ser18在PPP4Rmeg中被18个氨基酸(FGVDDYSSSED-VIIIPSA)取代以外,两者完全相同。通过RT-PCR的方法在肾小球细胞和A431细胞中同时鉴定出PPP4Rmeg和PPP4R1的表达。因此,PPP4Rmeg与PPP4R1可能是同一基因的不同剪接产物。研究表明PPP4Rmeg mRNA表达的增加能够促进肾小球细胞的增殖。由于PP4在中心体成熟、微管成核中起重要作用,因此PPP4Rmeg可能参与了调节了肾小球细胞的有丝分裂过程^[16]。

2.2.5 PPP4R3 最近,Gingras等^[16]通过蛋白质组学的方法又鉴定出两个新的PP4/C相互作用蛋白PPP4R3 α 和PPP4R3 β 。二者分别包含了820和764个氨基酸,在氨基酸水平有77%的同源性。PPP4R3在真核生物中很保守,果蝇falafel蛋白与酵母Psy2蛋白都是PPP4R3的同源基因。蛋白质二维及三维结构预测表明PPP4R3 N末端有一115个氨基酸残基的片段与在RanBP1中发现的Ran结合域有结构同源性,但没有直接的实验证据证明PPP4R3能与Ran相互作用^[17]。PPP4R3通过PPP4R2与PP4/C

相结合, 在进化过程中, 该蛋白质复合体参与了 DNA 损伤修复过程。

3 PP4 的活性调节

3.1 通过调节亚基进行调节

目前为止, 只发现了一种 PP4 的催化亚基, 但是已经有 4 种不同的调节亚基被鉴定出来。在磷酸酶家族中, 催化亚基与不同的调节亚基结合提供了多种调节可能性。一是调节亚基可以携带磷酸酶到不同的细胞组分, 从而决定了全酶特异性亚细胞定位。二是调节亚基决定全酶的活性及底物特异性。不同组成的全酶的活性以及对刺激信号的敏感性不同。比如 $\alpha 4$, PPP4R2 与 PP4/C 结合后会降低 PP4/C 的活性, 但 PPP4R2 与 PP4/C 形成的复合体在一些活化信号刺激时蛋白质发生构象改变从而改变 PP4/C 的活性^[10]。虽然目前各种调节亚基与 PP4/C 结合后的具体作用了解得并不清楚, 但是这些调节亚基与 PP4/C 的结合对 PP4 的调节作用是必然存在的。

3.2 PP4 的翻译后修饰

3.2.1 羧基末端甲基化 发生在羧基末端的可逆甲基化是 PP2A 家族磷酸酶 PP2A/C, PP4/C, PP6/C 所共有的一种修饰, 也目前为止 PP4/C 中唯一一个被实验所证明的蛋白质翻译后修饰。催化羧基末端甲基化作用的甲基转移酶与作用于 G 蛋白的甲基转移酶不同, 它的作用位点通常出现于羧基末端的亮氨酸上^[18]。PP4/C 的甲基化作用发生在参与羧基末端甲基化作用的保守区 DYFL 的 L307 上, 且该位点也是 PP2A 家族特异性抑制剂 OA 的作用点^[9]。有研究表明这种共价修饰调控催化亚基与调节亚基的相互作用^[20]。

3.2.2 磷酸化修饰 在磷酸酶家族中, 磷酸化修饰通常能改变催化亚基的活性。通过 PROSITE 对 PP4/C 序列进行分析, 推测出许多丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸磷酸化位点以及一些细胞内激酶的磷酸化模体。T50、T93、T121、T173、T255 为酪蛋白激酶 I 作用位点; S5、S19 为酪蛋白激酶 II 作用位点; S47、T121、T144 为钙调蛋白激酶 II 作用位点; S47、T109、T121、T144 为蛋白激酶 A 作用位点; S209、S298 为蛋白激酶 C 作用位点。此外, PP4 氨基酸序列中存在丝氨酸磷酸化位点 S47、S168、S209、S298, 苏氨酸磷酸化位点 T50、T173、T203、T204, 酪氨酸磷酸化位点

Y77、Y149、Y245、Y262^[20]。

3.2.3 其他修饰 O-糖基化作用发生于丝氨酸和苏氨酸上, 可以暂时阻断这些残基的磷酸化作用。在 PP4 序列中, S298、T50、T203、T204、T293 为潜在的 O-糖基化作用位点。豆蔻酰化可调节蛋白质和脂的相互作用。在 PP4 序列中, G113、G166、G267 为潜在的 N-豆蔻酰化位点。此外, 在 PP4 氨基酸序列中还预测出锰离子结合位点 D82、N114、H164、H238 及其他离子结合位点 D54、D82、H56。通过 λ 噬菌体磷酸酶的突变分析说明这些假定的金属结合位点对于丝/苏氨酸磷酸酶以及其他金属磷酸酯酶的催化活性是十分重要的^[20]。

4 PP4 的功能

4.1 PP4 参与了细胞内细胞器的组装

4.1.1 PP4 参与了中心体成熟过程 在多细胞生物中, 中心体由一对中心粒和中心体基质组成。有丝分裂前, 中心体招募 γ 微管蛋白等蛋白质到中心体周围物质, 从而增强了中心体的微管成核活性, 形成成熟的中心体^[21]。PP4 是在果蝇、线虫和哺乳动物等许多物种细胞中定位于中心体的少数磷酸酶之一, 研究表明它参与中心体功能的调节。P 元件插入导致 PP4 低水平表达的突变体胚胎出现半致死表型——中心体的复制仍可进行, 但星体微管组织混乱或完全无组织, 星体微管和纺锤体都不能与中心体相连, 自由中心体数量明显增多, 这表明 PP4 对微管最初在中心体上的生长及微管与中心体连接的维持上都起到重要的作用^[9]。用 RNAi 技术抑制 PP4 在线虫中的同源基因 PPH4-1 的表达, 发现线虫精子细胞的减数分裂过程受到严重干扰^[9]。相当数量的 PPH4-1 缺失的精子包含有异常数量的核及中心体, 或者二者兼而有之, 这表明 PPH4-1 可调控精子减数分裂中核的正确分裂; 母源 PPH4-1 的缺失可导致受精卵第一个细胞周期的延迟, 进一步实验证明 PPH4-1 与第一次纺锤体的形成时间有关。此外, 在线虫和果蝇中都发现 PP4 表达量下降导致某些重要的中心体蛋白, 如 γ 微管蛋白、Polo 样激酶^[8, 9]的错误定位, 这也表明了 PP4 在中心体成熟过程中的作用。

4.1.2 PP4 与 RNA 剪接体复合体的组装 脊柱肌萎缩(SMA)是一种常染色体隐性神经元退化疾病, 以脊髓前角运动神经元的渐行性损失为特征, 导致瘫痪和严重的肌萎缩。研究表明 SMN 复合体中蛋

白质的缺失或突变是引起 SMA 的重要原因。SMN 核心蛋白复合体包含 SMN 蛋白、Gemin2、Gemin3、Gemin4、Sm 蛋白以及一些未知蛋白质。该复合体参与了 snRNPs 及 snoRNPs 在胞质中的组装、核转运及在螺旋体中的成熟过程。此外,该复合体还参与了剪接体复合体的活化及组分的代谢过程。Carnegie 等^[22]的研究发现 PP4 与 SMN 复合体之间存在相互作用。在 HEK293 细胞中,Flag 标记的 PPP4R2 所纯化出的 Flag-R2-PP4/C 复合体中,通过质谱分析鉴定出 Gemin3 和 Gemin4。在 HeLa 细胞中共表达 PP4/C 及 PPP4R2 能够加速荧光标记的 Sm 蛋白由螺旋体转移到核里,再转移到前体 mRNA 剪接所在的染色体间颗粒的过程。这些研究表明 PP4/C 复合体加快了 snRNPs/snoRNPs 的胞质组装及其在核中的运动,促进其成熟定位。此外,PP4/C-R2 与荧光标记的 Sm 蛋白在螺旋体的共定位表明 PP4/C-R2 复合体可能参与调节了 SMN 复合体在剪接体复合体上的组装功能。

4.2 PP4 参与多个细胞信号通路的调控

4.2.1 PP4 与 c-Rel 相互作用, 激活 c-Rel/NF- κ B 活性 NF- κ B 和 Rel 家族是免疫、炎症反应以及凋亡过程中起重要作用的多效性转录因子。Hu 等^[7]用酵母双杂交系统寻找 c-Rel 相互作用的磷酸酶或激酶, 结果发现 PP4 与 c-Rel 特异性结合并激活 NF- κ B 介导的转录。体内体外实验表明, PP4 不仅与 c-Rel, 还能与 NF- κ B、p50 和 RelA 相互作用。EMSA 实验发现 PP4 过表达可使 c-Rel DNA 结合活性增加 4 倍, 而 PP4-RL (PP4 磷酸酶活性缺失突变体) 的过表达使 c-Rel 的 DNA 结合活性轻微降低, 进一步研究发现 PP4 在依赖于 NF- κ B 的转录活性激活中是必需的。

Yeh 等^[23]的研究使人们对 PP4 在顺式铂氨和 MEK/ERK 抑制剂诱导的 NF- κ B 活化过程中的作用有了进一步认识。研究表明 PP4 是顺式铂氨及 MEK/ERK 抑制剂所诱导的 NF- κ B 活化的关键点。顺式铂氨处理和 MEK/ERK 抑制剂通过 PP4 催化的 NF- κ B Thr435 去磷酸化介导, 而不是通过 NF- κ B 丝氨酸的磷酸化或 I κ -B 降解从而激活 NF- κ B^[24]。这些结果暗示一些肿瘤细胞对顺式铂氨抗性的增加可能与 PP4 的激活有关。

4.2.2 PP4 参与了 TNF- α 诱导的 JNK 激活 MAPKs 包括 ERK、JNK/SAPK 和 p38, 它们在应急反应、细胞增殖、凋亡和肿瘤发生等重要的细胞过程中起

关键作用。Zhou 等^[24]的研究证明 PP4 参与了 TNF- α 诱导的 JNK 激活。TNF- α 处理诱导 PP4 丝/苏氨酸残基时间依赖性地磷酸化, 进而特异性激活 JNK, 而非其他两种有丝分裂原激活蛋白激酶 ERK 和 p38。PP4-RL 阻断了 TNF- α 诱导的 JNK 激活, 进一步证实了 PP4 磷酸酶活性在 TNF- α 信号向 JNK 通路转导中的作用。但是并没有检测到 PP4 与 JNK 直接的相互作用, 这表明 PP4 可能通过一种间接的方式影响 JNK 通路。研究者推测 PP4 也许激活了 JNK 上游激酶进而激活 JNK。

HPK1(也称为 MAP4K1)是类 Ste20 蛋白激酶中 HPK1/GCk 亚族的成员之一^[25]。HPK1 在胚胎中广泛表达, 在成人中仅在造血组织表达。它在许多细胞信号通路中起作用, 例如 T 细胞受体和 B 细胞受体及 Fas 介导的凋亡和 NF- κ B 的激活中起作用^[26]。研究发现 PP4 和 HPK1 共转染导致 HPK1 激酶活性增强, 且在 HPK1 激酶活性增加的同时伴随着 HPK1 表达量的增加。进一步的研究显示 PP4 能抑制 HPK1 泛素化从而抑制 HPK1 降解。在 Jurkat 细胞中 PP4 能增强 T 细胞受体诱导的 HPK1 激活, 而 PP4-RL 会抑制这个激活过程。总而言之, PP4 是 HPK1 和 HPK1-JNK 信号通路的正调节物^[24]。

4.2.3 凋亡通路 转染了血红细胞 cDNA 文库的鼠胸腺癌细胞对一些凋亡刺激物的敏感度降低。Mourtada-Maarabouni 等^[27]对参与该凋亡通路的新蛋白质进行了筛选。编码 PP4 107~307 氨基酸的 cDNA 及 3' 非转录区被鉴定出来, 转染了该部分 cDNA 序列的 T 淋巴细胞能够使 PP4 的 mRNA 及蛋白质表达水平降低 50% 左右, 并且能够产生对地塞米松和紫外线诱导的凋亡的抗性。这表明 PP4 在细胞中是一个抗凋亡的角色, 但是对于 PP4 如何抑制凋亡仍不清楚。这个研究结果与果蝇和线虫中的一些研究结果并不吻合, 因为已有结果表明在果蝇和线虫中降低 PP4/C 的表达会降低存活率。

4.2.4 PP4 参与钠巴霉素靶信号通路的调控 钠巴霉素靶(TOR)信号通路参与了果蝇、酵母及哺乳动物细胞中营养相关的生长调节^[28]。在酿酒酵母中 PP2A 家族成员作为 TOR 下游信号因子转导 TOR 信号。TOR 直接磷酸化 Tap42, 活化的 Tap42 与 PP2A 家族成员形成复合体, 磷酸化核糖体 s6 激酶和真核起始因子 4E 结合蛋白 1, 促进蛋白质合成的起始。复合体在营养缺乏或钠巴霉素处理时受到破坏, 导致 TOR 信号转导途径的抑制, 蛋白质合成受抑, 细

胞生长停滞。小鼠体内 Tap42 的同源蛋白质是 B 细胞受体复合体的组成蛋白 $\alpha 4$ 。和 Tap42 一样, $\alpha 4$ 也和 PP2A 磷酸酶家族成员直接结合, 并且同样对纳巴霉素敏感。表明 $\alpha 4$ 与 PP2A 家族磷酸酶相结合可能参与哺乳动物中的 TOR 信号通路——mTOR。

4.2.5 PP4 参与调节胰岛素受体底物 4 介导的信号通路

胰岛素受体底物(IRS)在胰岛素受体、类胰岛素生长因子 1(IGF-1)受体、大量细胞因子和蛋白质受体的信号转导中起重要作用。目前已经鉴定出 4 种 IRS(IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4), 这些蛋白质在胰岛素或 IGF-1 刺激下激活 PI3 激酶及 PKB 信号通路^[29]。Kathie 等^[29]通过功能蛋白质组学方法鉴定出 PP4 的相互作用蛋白 IRS-4。进一步的研究表明 PP4 表达量的增加导致 IRS-4 的降解, 且这种降解作用在 TNF 的诱导下明显增强。而转染 PP4-RL 则没有此作用, 这也证明是 PP4 的磷酸酶活性调节 IRS-4 的表达。已有研究表明 TNF 抑制胰岛素介导的通路, 并对胰岛素抗性的产生有很大作用。这篇研究表明 TNF 很有可能通过诱导 IRS-4 的降解起作用。虽然大部分情况下, 都是 IRS 的磷酸化事件抑制 IRS 介导的信号通路, 但是 PP4 对 IRS-4 中一个或多个氨基酸的去磷酸化事件也可能抑制胰岛素或其他生长因子的信号通路。

4.3 PP4 参与其他细胞功能

4.3.1 PP4 与 DNA 损伤修复 Gingras 等^[16]鉴定出的 PP4 复合体 PP4cs 中包含催化亚基 PP4/C, 一个已知调节亚基 PPP4R2 以及新的调节亚基 PPP4R3。此复合体中任何一种蛋白质基因的剔除都可导致酵母细胞对顺式铂氨超敏感, 对果蝇和酵母细胞中的同源复合体的研究表明, 该复合体在 DNA 损伤反应中起关键作用且在 DNA 损伤修复中的作用是高度保守^[16,25]。此外, PPP4R3 可能通过与 Rad53(CHK2) 相互作用介导 PP4cs 复合体进入 DNA 损伤修复机制^[17]。

4.3.2 小鼠胚胎发育 2001 年 Hu 等^[6]人检测了小鼠胚胎不同发育阶段 PP4 mRNA 的表达量, 发现鼠的 PP4 转录物在鼠胚胎第 7、11、15 和 17 天显著表达, 第 7 天达到峰值。使用 ³⁵S 标记的鼠 PP4 RNA 作为探针进行原位杂交, 发现在鼠胚胎第 9.5 天时 PP4 主要分布在发育的脑、腮状弓、肠子、胎盘和卵黄中, 在鼠胚胎 12.5 天时开始在脑、神经管、发育中的脊髓、肝、前肢中定位表达, 第 15.5 天时, PP4 扩大到脑、膀胱、下颌、肝、肺、

神经管、椎管、颌下腺、肠子和肾中。这些结果表明鼠 PP4 mRNA 在发育的不同阶段受到调节, 说明 PP4 在胚胎发育过程中扮演了重要的角色。

4.3.3 PP4 参与染色质重建 染色质的共价修饰(包括了乙酰化和磷酸化)在调节染色体的转录及复制活性方面起重要作用。组蛋白脱乙酰化酶与转录抑制物形成复合体, 脱去组蛋白上的乙酰基团从而抑制转录。研究表明组蛋白脱乙酰化酶 3(HDAC3)能够与 PP4/C 及调节亚基 R1 结合。共表达 R1 和 PP4/C 或者高表达 PP4/C 都能特异性的去磷酸化 HDAC3 的 Ser424 残基, 而沉默 HeLa 细胞中 PP4/C 的表达使 HDAC 脱乙酰活性增加。这一研究表明, PP4/C-R1 是 HDAC3 活性的负调因子, 暗示 PP4 参与染色质重建过程调控^[30]。

4.3.4 PP4 参与线虫卵母细胞减数分裂中同源染色体交叉的维持 在线虫中, 沉默 PP4/C 的表达不仅会破坏中心体成熟, 而且会降低卵母细胞减数分裂过程中同源染色体重组而形成的交叉数量。野生型线虫细胞中, 6 个二价染色体都包含了同源染色体形成的交叉, 而在 PP4/C 表达沉默的细胞中, 65% 的细胞都不形成交叉。这些结果表明 PP4 对于维持卵母细胞染色体重组过程中的交叉形成有重要作用^[9]。

4.3.5 PP4 维持 DNA 复制过程中复制叉稳定 在酵母中, 射线及化学致变剂导致 DNA 损伤后, RAD 基因群就会起始 DNA 损伤修复进程。此外, 这些基因还参与维持受损复制叉的稳定。为了鉴定参与复制叉稳定过程中的蛋白质, 在酵母基因组范围内筛选对慢性低强度 UVB 辐射敏感但不致死的基因。WSS1 基因被分离鉴定出来, Psy2p 作为 WSS1 的相互作用蛋白而被鉴定出来。研究表明 Psy2p 可以与 Pph3p-R2 复合体结合, 这表明 Pph3 复合体及它在哺乳动物中的同源复合体 PP4-R2-R3 很有可能参与了 DNA 损伤反应中复制叉的稳定功能。

5 小结

已有研究表明 PP4 在细胞的多个进程中有非常重要的功能, 我们最近的研究结果表明在哺乳动物细胞中, PP4 除了定位于中心体上, 还可定位于染色体、中板、中体等重要的有丝分裂器上(结果未发表), 使用 RNAi 技术抑制 PP4 的表达, 发现 PP4 不仅参与了中心体相关功能的行使, 而且可能影响到中板上相关蛋白质功能, 导致胞质分裂异常^[31,32]。这

篇文章仅仅对其基本组成、结构与生物学功能进行了初步的探讨, 然而其功能的调控机制还有待深入研究。

参考文献 (References)

- [1] Cohen PT *et al.* *FEBS Lett*, 2005, **579**: 3278
 [2] Brewis ND *et al.* *EMBO J*, 1993, **12**: 987
 [3] Brewis ND *et al.* *Biochim Biophys Acta*, 1992, **1171**: 231
 [4] Cohen PT *et al.* *FEBS Lett*, 1990, **268**: 355
 [5] da Cruz e Silva OB *et al.* *FEBS Lett*, 1988, **242**: 106
 [6] Hu MC *et al.* *Gene*, 2001, **278**: 89
 [7] Hu MC *et al.* *J Biol Chem*, 1998, **273**: 33561
 [8] Sumiyoshi E *et al.* *J Cell Sci*, 2002, **115**: 1403
 [9] Helps NR *et al.* *J Cell Sci*, 1998, **111**: 1331
 [10] Nanahoshia M *et al.* *FEBS Lett*, 1999, **446**: 108
 [11] Kloeker S *et al.* *J Biol Chem*, 1999, **274**: 5339
 [12] Ruediger R *et al.* *Mol Cell Biol*, 1992, **12**: 4872
 [13] Hastie C J *et al.* *Biochem J*, 2000, **347**: 845
 [14] Wada T *et al.* *J Am Soc Nephrol*, 2001, **12**: 2601
 [15] Kraemer M *et al.* *Neuroreport*, 2001, **12**: 2001
 [16] Gingras AC *et al.* *Mol Cell Proteomics*, 2005, **4**: 1725
 [17] Wu HI *et al.* *Cancer Res*, 2004, **64**: 3940
 [18] Lee J *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 6043
 [19] Tolstykh T *et al.* *EMBO J*, 2000, **19**: 5682
 [20] Kloeker S *et al.* *Biochem J*, 1997, **327**: 481
 [21] Palazzo RE *et al.* *Curr Top Dev Biol*, 2000, **49**: 449
 [22] Carnegie GK *et al.* *J Cell Sci*, 2003, **116**: 1905
 [23] Yeh PY *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 26143
 [24] Zhou G *et al.* *J Biol Chem*, 2002, **277**: 6391
 [25] Ho Y *et al.* *Nature*, 2002, **415**: 180
 [26] Chen Y R *et al.* *Oncogene*, 1999, **18**: 7370
 [27] Mourtada-Maarabouni M *et al.* *Cell Death Differ*, 2003, **10**: 1016
 [28] Zhou G *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 49551
 [29] Mihindukulasuriya KA *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 46588
 [30] Zhang X *et al.* *Genes Dev*, 2005, **19**: 827
 [31] 黄秀清等。生物化学与生物物理进展, 2006, **33**: 1
 [32] Ning LF *et al.* *Chin Sci Bull*, 2006, **51**: 2335

The Composition and Main Function of Protein Phosphatase 4

Xiu-Qing Huang, Li-Feng Ning, Zhi-Tao Long, Ling-Ling Sun, Jian-Li Sang*

(The Key Laboratory for Cell Proliferation and Regulation Biology of Ministry of Education, College of Life Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract Protein kinase and phosphatase played equal role in reversible phosphorylation. Recently, focuses transferred from kinase to phosphatase which used to be neglected. Protein phosphatase 4 (PP4 also called protein phosphatase X) is an important member of protein phosphatase 2A family. It formed multiple complexes with different regulatory subunits and participated in many cellular progresses such as centrosome maturation, spicesome assembly, regulation of many pathways and regulation of DNA damage and repair. The paper focuses on the composition, activity regulation and known biological functions of PP4.

Key words reversible phosphorylation; protein phosphatase 4; centrosome maturation; spicesome assembly; DNA damage and repair

Received: March 31, 2006 Accepted: July 24, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30270663)

*Corresponding author. Tel: 86-10-58806226, Fax: 86-10-58807721, E-mail: sangjianli@263.net