

蛋白激酶 A 锚定蛋白 95 的生物学功能

王洪振* 王晓光¹

(吉林师范大学生命科学学院, 四平 136000; ¹ 长春师范学院生命科学学院, 长春 130032)

摘要 蛋白激酶 A 锚定蛋白 95 (AKAP95), 具有在细胞核内锚定蛋白激酶 A (PAK) 的作用。最近的研究结果发现 AKAP95 参与细胞内许多重要的生命过程, 如参与细胞分裂染色体集缩的建立和集缩状态的保持, 参与基因表达调控、DNA 复制以及维持 mRNA 的稳定, 参与胚胎发育, 参与细胞凋亡以及参与细胞周期调控等。简要介绍了 PKA 和蛋白激酶 A 锚定蛋白 (AKAPs), 并综述了 AKAP95 的结构、细胞周期分布以及新近发现的 AKAP95 的重要生物学功能。

关键词 cAMP 信号通路; 蛋白激酶 A; 蛋白激酶 A 锚定蛋白 95

细胞信号转导已经成为最近十多年来生命科学研究的热点。在经典的 cAMP 信号通路中, 细胞外信号与相应受体结合, 调节腺苷酸环化酶活性, 通过第二信使 cAMP 水平的变化, 将细胞外信号转变为细胞内信号。在此通路中, 依赖于 cAMP 的蛋白激酶被称为蛋白激酶 A 或 A 激酶 (protein kinase A, PKA)。cAMP 信息主要由 PKA 传递。PKA 通过特异地与蛋白激酶 A 锚定蛋白 (A-kinase anchor proteins, AKAPs) 结合, 被锚定于它的作用底物或效应蛋白附近, 催化靶蛋白磷酸化从而传递细胞信号, 调节细胞反应, 引导并放大 cAMP 信号的生物学效应。

PKA 由两个相同的催化亚基 C 和两个相同的调节亚基 R 构成, 通常它以两个 C 亚基和两个 R 亚基形成四聚体方式存在, 这样的全酶是没有活性的。当每个 R 亚基与 2 个 cAMP 结合后, 引起整个蛋白质空间构象的改变, 2 个具有激酶活性的 C 亚基就作为单体解离出来。这样活化的催化亚基 C 可以使细胞内某些蛋白质的丝氨酸或苏氨酸残基磷酸化, 于是改变这些蛋白质的活性, 进一步影响到相关基因的表达。PKA 有 I 型和 II 型两种异构体, 二者的差别在于 R 亚基有所不同, I 型 PKA 全酶含有 R I 亚基, 主要存在于胞质中, 而 II 型 PKA 含有 R II 亚基, 与亚细胞结构和细胞器结合^[1]。这种分布的差异很大程度上是由于 R II 亚基比 R I 亚基具有更强的与 AKAPs 的相互作用, R II 亚基是在纳摩尔水平上与 AKAPs 相结合, 而 R I 亚基在微摩尔水平上与 AKAPs 相结合^[2,3]。

AKAPs 是 cAMP 细胞通路中一类十分重要的分子^[4]。大量证据表明, AKAPs 在 cAMP 信号通路中至少担当两种功能。一是把 PKA 全酶放在能够对 cAMP 水平变化作出快速反应的位置; 二是把 PKA 全酶放在特定的底物附近以利于 PKA 介导的磷酸化作

用发生。因此, AKAPs 使 PKA 全酶特异地锚定于细胞内靶位点, 从而精确地进行细胞信号转导, 保证了 cAMP 信号转导的特异性。AKAPs 是结构多样但功能上相关的调节蛋白家族, 已经从线虫、果蝇和人类等各种生物中分离得到很多 AKAPs 的基因^[5]。目前已知的 AKAPs 家族成员在氨基酸序列上不同, 但都具有与 PKA 相互作用的结合区和引导 AKAP-PKA 复合物锚定到亚细胞位点的靶向区。

AKAP 复合物不仅能控制 cAMP 信号, 还能控制其他信号^[6]。这些 AKAPs 能够同时结合具有相反作用的其他信号转导分子, 如磷酸酶和激酶, 从而形成高度有组织的大分子复合物, 并将这些信号转导分子靶定到特异的底物。通过对上游信号作出动态反应, 这些大分子复合物特异地调节靶分子的磷酸化水平, 因此这些大分子复合物可在细胞内特定位点汇集并传递来自各种通路的信号, 有利于 AKAPs 介导的信号转导的调控。目前已经报道发现多个以 AKAPs 为支架构成的大分子复合物, 在细胞的不同部位表达的 AKAPs 能够装配具有组织特异的大分子信号复合物^[7-9]。人们对 AKAPs 的认识不断深入, 不仅认为这类蛋白质是 PKA 的锚定蛋白, 还把它们看作是各个高度有组织的信号转导途径的汇集和整合平台^[10]。

AKAP95 最初作为一种 AKAP 而被发现, 它具有将 PKA 特异地锚定于细胞核内的作用。最近发现 AKAP95 不仅仅是一种 PKA 的锚定蛋白, 还参与细胞内许多重要的生命过程, 如参与细胞分裂染色体集缩的建立和集缩状态的保持; 参与基因表达、DNA 复

收稿日期: 2007-10-18 接受日期: 2007-12-28

吉林师范大学博士科研启动项目资助 (No. 2004010)

* 通讯作者。Tel: 0434-3292019, Fax: 0434-3295110, E-mail:

biostudent@sohu.com

制以及维持 mRNA 的稳定;参与胚胎发育;参与细胞凋亡以及参与细胞周期调控等。本文简要介绍 AKAP95 的结构和细胞周期分布并对新近发现的 AKAP95 的重要的生物学功能作以综述。

1 AKAP95的结构

1994 年, AKAP95 被首次报道是一种细胞核内 PKA 的锚定蛋白, 由于此蛋白质在 SDS-PAGE 上迁移到 95 kDa 位置, 因此被命名为 AKAP95^[11]。用 R II α 基因作探针, 采用相互作用克隆策略筛选大鼠嗅泡 cDNA 文库, 分离出编码 761 个氨基酸的大鼠 AKAP95 基因。实验表明此蛋白质含有 R II 亚基结合结构域和 DNA 结合结构域。序列缺失分析和肽段测序研究显示 AKAP95 的 R II 亚基结合结构域定位于氨基酸残基 642 和 659 之间且包含一个预测的两亲螺旋区; DNA 结合结构域定位于氨基酸残基 464 到 486 以及氨基酸残基 553 到 576 之间, 由两个 C_2H_2 型锌指组成。随后的研究发现, 大鼠 AKAP95 还具有二分型核定位信号 (bipartite nuclear localization signal, biNLS) 和核基质靶定位点 (the nuclear matrix targeting site, NMTS), 而且大鼠 AKAP95 的核基质靶定位点位于 N 端的氨基酸残基 110 到 140 之间, 这个区域在各个物种的 AKAP95 都是保守的^[12]。

1998 年, Eide 等^[13]报道编码人 AKAP95 的全长基因被克隆, 并且测序表明此基因含有 692 个氨基酸的开放阅读框, 与大鼠 AKAP95 的同源性达到 89%。利用体细胞杂交和 PCR 方法, 此基因被定位于人 19 号染色体 19p13.1-q12。肽竞争结合实验表明人

AKAP95 也含有 R II 亚基结合结构域。2004 年, 狗 AKAP95 基因也被分离和测序, 编码 698 个氨基酸。狗 AKAP95 比人的 AKAP95 长 6 个氨基酸, 与人 AKAP95 的一致性达到 81%。狗 AKAP95 也含有锌指和核定位序列 (NLS) 以及 R II 亚基结合区。狗的 R II 亚基结合区也是保守的, 但预测的两亲螺旋区的第五位氨基酸从天冬氨酸变为谷氨酸^[14]。

人们的研究还发现, 在 HeLa 细胞核内还存在另一个与 AKAP95 具有序列同源性的基因, 被定位于人 19 号染色体 19p13.11-p13.12^[15,16]。而且, 基因组序列分析显示此基因与 AKAP95 基因串联存在, 相互之间只差 250 个碱基对。因此, 此基因被命名为 AKAP95 相邻基因 (neighbor of AKAP95, 简称为 NAKAP95 或 HAP95)。NAKAP95 和 AKAP95 基因的外显子和内含子结构是保守的, 表明它们可能通过基因复制进化而来。从 NAKAP95 基因预测的蛋白质含有 646 个氨基酸残基, 而且与 AKAP95 具有 40% 的相似性, 二者都具有核定位信号和两个 C_2H_2 型锌指和高度保守的核基质靶定位点, 但在 NAKAP95 蛋白中不存在 AKAP95 的 C 末端的 R II 结合结构域。越来越多的报道表明, AKAP95 具有多个与其他蛋白质相互作用的结构域。目前已经鉴定的部分人 AKAP95 的结构域和功能域, 如核基质靶定位点 (NMTS), 二分型核定位信号 (biNLS), 锌指 ZF1 和 ZF2 等如图 1 所示。

2 AKAP95的细胞周期分布

间接免疫荧光研究表明大鼠 AKAP95 定位于间

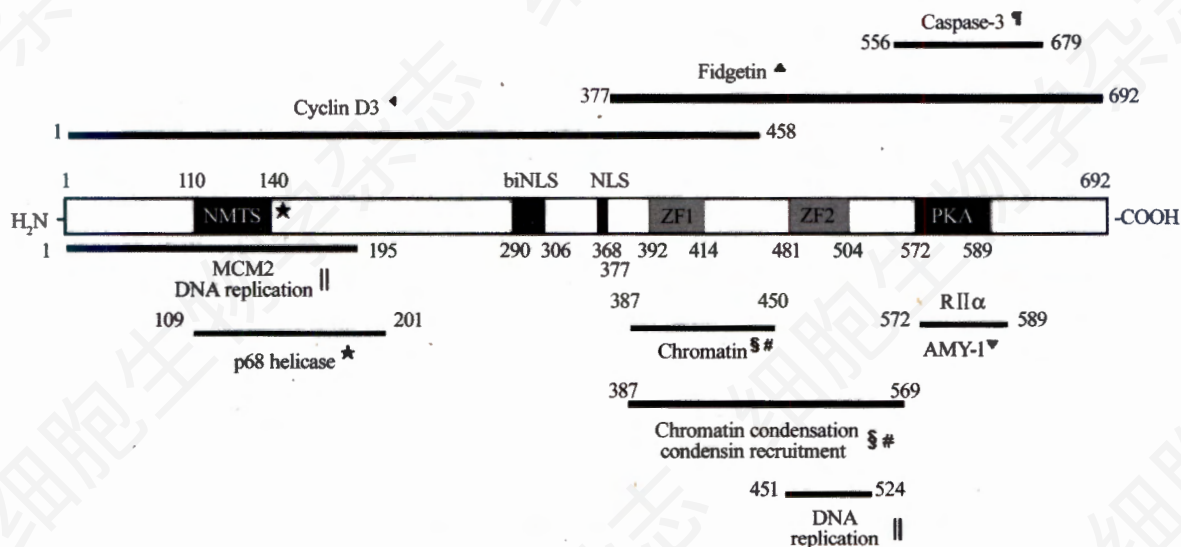


图1 人 AKAP95 的部分结构域和功能域

引自文献^[17], 略作修改。◀见文献^[14], ▼见文献^[18], ▲见文献^[19], ¶见文献^[20], 其余符号标记说明见文献^[17]。

期细胞核内,但不定位于核仁。而且,当间期细胞核受到 DNA 酶处理和高盐抽提后,大鼠 AKAP95 的荧光仍然保持,表明 AKAP95 与核基质紧密结合。在人、猴、小鼠和大鼠等所有目前研究过的哺乳动物组织和细胞中都观察到 AKAP95 在间期细胞核内相同的分布特点^[11,13]。

免疫印迹实验表明在间期和有丝分裂期的 HeLa 细胞裂解物中含有相似水平的 AKAP95,而免疫沉淀实验表明 AKAP95 在间期和有丝分裂期的细胞内分布存在差异^[21]。在间期,AKAP95 专一性地存在于细胞核内,主要与核基质结合,少部分与染色质结合。有丝分裂期 AKAP95 重新分布,主要与染色质结合,少数存在于可溶库中,而且在不含有 R II 亚基的有丝分裂提取物中 AKAP95 也能够与染色质的结合,表明在有丝分裂期的 AKAP95 重新分布不依赖于 R II 亚基。

在细胞周期中 AKAP95 与 R II 亚基的相互作用是动态变化的。在间期, R II 亚基通过与中心体特异的 AKAP450 结合,主要定位于中心体-高尔基体区域^[22]。进入有丝分裂期 AKAP95 的荧光从前中期到末期与染色体共定位,同时在细胞质有一些散在的标记。此时 R II 亚基的第 54 位苏氨酸被 CDK1 磷酸化,促进 R II 亚基从中心体-高尔基体区域解离,而与染色质结合的 AKAP95 相结合^[23]。因此在中期, AKAP95 与 R II 亚基荧光定位相重合,但在后期二者开始分离,到末期当 AKAP95 进入两个子细胞核时又完全分开。

以 AKAP95 的细胞周期分布为基础,人们提出一种分子开关机制来解释 PKA 在细胞周期的分布变化^[24]。这就是由 CDK1 引起的 PKA 磷酸化状态改变导致 PKA 从与一种 AKAP 结合转而与另外一种 AKAP 结合。具体就是在间期 PKA 的 R II 亚基的第 54 位苏氨酸未被 CDK1 磷酸化时它与 AKAP450 结合,定位于细胞质的中心体-高尔基体区域;在有丝分裂期, PKA 的 R II 亚基的第 54 位苏氨酸被 CDK1 磷酸化,这时它主要与集缩的染色体上的 AKAP95 相结合。

3 AKAP95 的生物学功能研究进展

随着研究的深入,发现 AKAP95 具有一系列非常重要和多样的功能,现简述如下。

3.1 AKAP95 作为细胞核内的 AKAP, 参与 PKA 的活性调节

如前所述, AKAPs 的重要作用之一是使 PKA 全酶特异地锚定于细胞内靶位点,保证了 cAMP 信号转导的特异性^[4]。在细胞内的不同部位存在种类多样

的 AKAPs,到目前为止已经有 30 多种 AKAPs 被鉴定,而且还不断有新的 AKAPs 被鉴定出来,例如我国学者周海梦教授和钟毅教授最近鉴定出 AKAP Yu 是一种对于果蝇嗅觉长时程记忆形成必需的突变^[25,26]。最初,人们在细胞质中发现两种 AKAPs,分别是 MAP-2 (microtubule-associated protein-2) 和 AKAP75,在细胞核内是否存在 AKAP 那时还不清楚^[27-29]。直到 AKAP95 被发现,证明在细胞核内也存在 AKAP。研究发现, AKAP95 含有 R II 亚基结合结构域和 DNA 结合结构域,它与 DNA 的结合没有位点特异性^[11], AKAP95 能够耐受严格的抽提条件而在核基质部分被检测到,也是一种核基质蛋白。AKAP95 的发现,为细胞核内 PKA 的作用和信号转导途径提供了新的研究切入点。

Furusawa 等^[30]利用酵母双杂交技术发现 AKAP95 是与 AMY-1 相互作用的蛋白质。AMY-1 是一种 c-Myc 结合蛋白,结合到 c-Myc 的 N 末端 Myc 盒 II (此区是 c-Myc 的转录激活区),并刺激 E-盒依赖的 c-Myc 转录活性。在 HeLa 细胞胞质中, AKAP95 的 572~589 氨基酸残基与 AMY-1 结合,由于 AKAP95 比 AKAP84 (一种线粒体特异的 AKAPs) 具有更强的与 AMY-1 的结合作用,能够将 AMY-1 转运到细胞核中。在体内和体外实验中, AMY-1 和 AKAP95 的 R II 结合区结合并与 R II 亚基一起构成一个三元复合物,这个复合物的形成阻止了 PKA 的催化亚基的结合,导致 PKA 活性的抑制。在此过程中, AMY-1 通过与 AKAP95 的结合调控 PKA 的活性。

磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) 是细胞内维持 cAMP 稳定起关键作用的蛋白水解酶,有很多等位形式存在。Asirvatham 等^[31]发现在 T 淋巴细胞活化过程中 AKAP95 与特异的 PDE4A 存在相互作用,局部反馈调控 cAMP 的浓度,从而调控 PKA 的活性。在 T 细胞中, cAMP 信号通路具有免疫抑制效应, AKAPs 与 PDE 和 PKA 的特异的相互作用是 T 细胞活化的一种关键调节因素。其研究结果表明通过 AKAP95 与特异的 PDE4A 相互作用能够调控 PKA 的活性。

3.2 参与细胞分裂染色体集缩和集缩状态的保持

真核生物有丝分裂过程中染色体的结构发生动态变化,由间期伸展的染色质进一步压缩成粗短棒状的染色体,这一过程称为有丝分裂染色体集缩 (mitotic chromosome condensation)。目前已发现两种五亚基蛋白质复合物,分别称为集缩素 I (condensin I) 和集缩素 II (condensin II),在此过程中起重要作用,

而且越来越多的证据表明 AKAP95 也参与这一过程。

如前所述,在有丝分裂开始时,AKAP95 大部分从核基质重新分布到染色质。体外和体内实验研究发现,在细胞核内注入 AKAP95 抗体免疫阻断 AKAP95 的正常作用能够抑制染色体集缩,表明 AKAP95 参与有丝分裂染色体集缩的建立过程^[21]。实验还表明 AKAP95 结合到染色质以及参与有丝分裂染色体集缩的建立过程中既不需要 PKA 的锚定也不需要 PKA 的活性。但在不含有 AKAP95 的有丝分裂细胞提取物中使已经处于集缩状态的染色体长时间孵育会诱导染色体发生超前解集缩 (premature chromosome decondensation, PCD),表明 AKAP95 参与有丝分裂染色体集缩状态的保持。而添加 AKAP95 的 C 末端 306 个氨基酸残基片段可以抑制 PCD 的发生,并且以浓度依赖的方式使发生 PCD 的染色质恢复集缩,更证明 AKAP95 对于保持染色体处于集缩状态是需要的。进一步的研究还发现与染色质结合的 AKAP95 参与 Eg7 (也被称为 hCAP-D2) 被募集到染色质的过程。Eg7 是爪蟾 pEg7 的人类同源物,是人集缩素 I 的一个亚基。Steen 等^[32]提出的模型认为,在间期 AKAP95 存在于核基质中,而 hCAP-D2/Eg7 局限于细胞质中。在有丝分裂开始时,AKAP95 从核基质释放而与染色质结合,然后在核膜崩解后,hCAP-D2/Eg7 被 AKAP95 募集到染色体,进一步参与有丝分裂染色体集缩。她们的实验结果表明 AKAP95 作为辅助集缩素 I 靶定到染色体的受体。随后,Eide 等^[33]鉴定了 AKAP95 分别负责与染色质结合和参与染色体集缩活性以及参与集缩素靶定的结构域,发现这三种结构域是不同的但又相互重叠,参见图 1。双杂交和 GST pull-down 实验还表明 AKAP95 与 hCAP-H 存在直接相互作用。

除了参与体细胞有丝分裂染色体集缩的过程,AKAP95 也参与配子和合子中的染色体集缩过程。研究表明,小鼠受精后,合子第一次有丝分裂父本和母本染色体的集缩对于 AKAP95 的需要是不同的。AKAP95 只存在并定位于雌原核中,AKAP95 募集 mCAP-D2 (mCAP-D2 是小鼠集缩素 I 的一个亚基) 结合到母本染色质,在母本染色体的集缩过程中起作用。而单雄发育胚胎的第一次有丝分裂染色体集缩不需要 AKAP95,而且 mCAP-D2 被募集到父本染色体也不依赖于 AKAP95。这样的研究结果提示在配子和合子中的染色体集缩与体细胞有丝分裂染色体集缩的过程存在着相关而不同的机制^[34]。小鼠受精时,小鼠父本和母本的染色体在拓扑结构上是分开的,

一直保持到四细胞阶段,与父本染色体相比,母本染色体集缩得更短而且更加螺旋化^[35,36]。而且,雌原核与雄原核对超前染色体集缩 (premature chromosome condensation, PCC) 的诱导反应是有差异的,母本染色体比父本染色体集缩得更快^[37]。这些观察表明小鼠母本与父本染色体在结构组织上存在很大的差异,而且两亲本染色体的动态变化存在不同的调控机制。研究还发现,当小鼠合子进入两细胞期时 AKAP95 能够被转录表达,从此以后的体细胞有丝分裂染色体集缩的过程就一直需要 AKAP95 的参与并发挥作用。这些研究表明 AKAP95 在小鼠配子和合子第一次有丝分裂父本和母本染色质集缩中的不同重要作用。

总之,不论在体细胞还是配子和合子的染色体集缩的过程中,AKAP95 都参与调控染色体的结构变化。但需要强调的是,AKAP95 参与有丝分裂染色体集缩的建立过程中,既不需要 PKA 的锚定也不需要 PKA 的活性,与 AKAP95 是一种细胞核内的 AKAP 的作用无关,这也是新发现的 AKAP95 的生物学功能之一。

3.3 参与基因表达、DNA 复制和维持 mRNA 的稳定

在参与基因表达方面,Akileswaran 等^[12]利用酵母双杂交筛选与 AKAP95 相互作用的蛋白质,发现在间期细胞中至少有三种核基质蛋白 (分别是 45、52 和 69 kDa) 与大鼠 AKAP95 相互作用,其中的 69 kDa 蛋白被鉴定为 p68 RNA 解旋酶 (helicase)。大鼠 AKAP95 的 N 端 109 到 201 氨基酸区段就足以结合 p68 RNA 解旋酶 C 段,既不依赖于 AKAP95 与 DNA 的结合结构域也不依赖于 AKAP95 的蛋白激酶 A 锚定结构域,而且这种相互作用是稳定的,经受得住去污剂的抽提。一直以来 RNA 解旋酶在细胞核内被认为是特异的转录复合物的成分,这项研究首次表明 p68 RNA 解旋酶是一种核基质蛋白,而且也揭示 AKAP95 的一种新的生物学功能,AKAP95 担当 p68 RNA 解旋酶为成分的复合物装配的支架,在调控染色质结构的变化从而改变基因表达方面起作用。

在参与 DNA 复制方面,Eide 等^[17]发现 AKAP95 与 MCM2 相互作用,而 MCM2 是六亚基 MCM2-7 DNA 解旋酶复制前复合物 (pre-replication complex) 的一个成分,参与 DNA 复制的调节。破坏 AKAP95 与 MCM2 相互作用,引起 HeLa 细胞核 G₁ 期 DNA 复制启动和体外复制的延伸期受阻。从细胞核内去除 AKAP95 部分地缺失 MCM2 并阻断复制,体外重组的 AKAP95 能够以剂量依赖的方式恢复细胞核内的

MCM2 的含量及 DNA 复制过程, 表明 AKAP95 通过与 MCM2 相互参与 DNA 复制。

在参与维持 mRNA 的稳定方面, 前人的研究成果已经知道乳酸脱氢酶 A mRNA 3' 非翻译区(3'-untranslated region, 3'-UTR) 内的 1 472 至 1 502 的 CSR (cAMP-stabilizing region) 对于维持此 mRNA 的稳定性至关重要, CSR 区结合四种被 PKA 磷酸化的 CSR 结合蛋白才表现这种活性^[21]。Jungmann 等^[38]发现在大鼠神经胶质瘤细胞中 AKAP95 是乳酸脱氢酶 A mRNA 的四种 CSR 结合蛋白之一, 首次证明 AKAP95 与 CSR 碱基序列直接相互作用, 表明处于磷酸化状态的 AKAP95 作为一种 RNA 锚定蛋白在调控乳酸脱氢酶 A mRNA 的稳定性方面具有重要作用。

3.4 AKAP95 参与胚胎发育

Yang 等^[22]利用酵母双杂交筛选技术鉴定出 AKAP95 是 fidgetin 的结合蛋白。进一步研究发现, 这两种蛋白质在核基质中共定位, 而且能够交互免疫沉淀, AKAP95 通过 C 末端部分与 fidgetin 相互结合。为了检测体内 fidgetin 与 AKAP95 的相互结合的作用, 研究者用基因陷阱 (gene trap) 技术产生了 AKAP95 突变小鼠。很多带有 Akap95 和 fidget 双突变的小鼠在胚胎发育过程中 AKAP95 和 fidgetin 在鳃弓重复表达, 表现为出生后由于腭裂而迅速死亡。他们的研究结果拓展了 fidget 小鼠遗传突变表型的范围, 也为 AKAP95 的体内功能提供了一个新的线索。作者提出, 对 AKAP95 与 fidgetin 相互作用的进一步研究也会为认识人腭裂的病理发生提供参考, 因此 AKAP95 在胚胎发育中也具有重要作用。

3.5 AKAP95 参与细胞凋亡

AKAP95 是活化的 caspase3 的载体蛋白, 以酶-底物样结合从细胞质转运 caspase-3 到细胞核。Caspase 介导的蛋白质降解是细胞凋亡过程的重要事件。Caspase-3 是一种 caspase 执行酶, 在发生细胞凋亡的细胞核的形态变化方面起重要作用。尽管许多 caspase-3 的底物被定位到细胞核中, 但在凋亡细胞中被活化的 caspase-3 是从细胞质被转运到细胞核中的。目前关于被活化的 caspase-3 从细胞质向细胞核转运的分子机制是不清楚的。Kamada 等^[20]鉴定 AKAP95 是 caspase-3 的结合蛋白, AKAP95 是凋亡细胞中被活化的 caspase-3 从细胞质转运到细胞核的载体。AKAP95 与活化的 caspase-3 的结合区存在于 AKAP95 的 C 末端区的氨基酸残基 556 至 679 之间。RNA 干涉去除 AKAP95 能够减弱发生凋亡细胞的细胞核的形态变化, 过表达核定位序列 (NLS) 发生

突变的 AKAP95 同样能够抑制发生凋亡细胞的细胞核的形态变化。研究还表明 AKAP95 与被活化的 caspase-3 的结合方式类似于酶-底物的相互作用。

3.6 AKAP95 参与细胞周期调控

细胞周期的进展由各种细胞周期蛋白/细胞周期蛋白依赖激酶 (cyclin/CDK) 复合物控制。细胞周期蛋白 D 和 E 控制哺乳动物细胞通过 G₁ 期的进展速率以及是否开始染色体 DNA 的复制。

Arsenijevic 等^[14]应用酵母杂交系统筛查狗甲状腺中与 cyclin D3 相互作用的蛋白质, 鉴定出了狗的 AKAP95, 而且确定这种 AKAP95 与三种细胞周期蛋白 D 都存在很强的相互作用。CDK4 能置换细胞周期蛋白 D3 与 AKAP95 之间的相互作用, 因此研究者认为 AKAP95 具有调节细胞周期蛋白 D3-CDK4 的活性的作用。在狗甲状腺细胞, 人成纤维细胞和 NIH-3T3 细胞, 均检测到内源 AKAP95 和细胞周期蛋白 D3 或细胞周期蛋白 D1 之间存在相互作用。Arsenijevic 等^[39]进一步报道 AKAP95 能够与细胞周期蛋白 E1 相互作用, 而且这种相互作用能够被细胞周期蛋白 E1 的结合蛋白 CDK2 所取代。AKAP95 能够介导细胞周期蛋白 D/E 与 PKA 的 R II 亚基之间的相互作用, 而且这种相互作用不被 cAMP 的信号刺激所影响。这样, 在细胞内就存在细胞周期蛋白-CDK 与细胞周期蛋白 D/E-AKAP95-PKA.R II 这两种复合物, 表明这些细胞周期蛋白具有不同的作用以及在细胞中这些相互作用对于细胞周期进展具有更广泛的重要意义。他们的研究首次表明三种细胞周期蛋白 D 和细胞周期蛋白 E1 都与 AKAP95 相互作用, 而且还表明 AKAP95 担当 PKA 的 R II 亚基与细胞周期蛋白 D3 和 E1 结合的连接受体。

另外, Li 等^[40]报道 HDAC3 是不依赖于转录的有丝分裂的重要调控因素。HDAC3 与 AKAP95 和 HA95 形成一个复合物, 靶定到有丝分裂染色体。在有丝分裂过程中, 组蛋白 H3 去乙酰化需要 AKAP95 和 HA95 与 HDAC3 形成复合物, 并提供乙酰化不足的组蛋白 H3 尾部作为 Aurora B 激酶的选择性底物。Aurora B 激酶磷酸化组蛋白第 10 位丝氨酸导致异染色质蛋白 HP1 从甲基化的组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸部位解离, 即 AKAP95-HDAC3-Aurora B 信号通路是 Aurora B-HP1 信号通路的上游。这种不依赖于转录的信号转导途径, 包括相互依赖的组蛋白的修饰和改变, 对于正常的有丝分裂进展是需要的。

总之, 在细胞周期调控方面, AKAP95 不仅与细胞周期蛋白 D/E 相互作用, 而且也参与通过组蛋白的

修饰和改变影响有丝分裂进展的过程,说明AKAP95对于细胞周期正常进行具有重要的作用。

4 小结与展望

综上所述,AKAP95在细胞周期的不同阶段具有多个与之相互作用的结合蛋白,AKAP95的生物学功能很大程度上决定于它的结合蛋白,这同时也提示AKAP95是信号转导途径的汇集和整合平台。最初AKAP95的功能是使PKA锚定在细胞核内,但2004年以来,AKAP95的功能研究获得很大的突破。相继发现AKAP95参与调控乳酸脱氢酶A mRNA的稳定,作为一种RNA锚定蛋白与乳酸脱氢酶A mRNA 3'-UTR内的CSR区存在相互作用;AKAP95参与细胞周期调控,与三种细胞周期蛋白D和细胞周期蛋白E1存在相互作用;AKAP95参与胚胎发育,是fidgetin的结合蛋白;AKAP95参与细胞凋亡,是活化的caspase-3的载体蛋白,以酶-底物样结合从细胞质转运caspase-3到细胞核。

目前关于AKAP95的生物学功能研究有几点特别值得注意。首先,与AKAP95相互作用的多个结合蛋白之间是否存在某种功能联系;其次,未来可能还会发现更多与AKAP95相互作用的蛋白质;还有就是AKAPs家族中的成员还会进一步增加,这些AKAPs可能也象AKAP95一样,具有多个结合蛋白质,参与多方面的作用,所有这些都有待于进行深入的研究和探索。

参考文献(References)

- [1] Scott JD. *Pharmacol Ther*, 1991, **50**: 123
- [2] Carr DW et al. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 13376
- [3] Burton KA et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 11067
- [4] Hirsch AH et al. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 2131
- [5] Colledge M et al. *Trends Cell Biol*, 1999, **9**: 216
- [6] 林燕华等. *生理学进展*, 2005, **36**: 241
- [7] Faux MC et al. *Cell*, 1996, **85**: 9
- [8] Nauert JB et al. *Curr Biol*, 1997, **7**: 52
- [9] Schillace RV et al. *Curr Biol*, 1999, **9**: 321
- [10] Langeberg LK et al. *J Cell Sci*, 2005, **118**: 3217
- [11] Coghlan VM et al. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 7658
- [12] Akileswaran L et al. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 17448
- [13] Eide T et al. *Exp Cell Res*, 1998, **238**: 305
- [14] Arsenijevic T et al. *Biochem J*, 2004, **378**: 673
- [15] Seki N et al. *J Hum Genet*, 2000, **45**: 31
- [16] Orstavik S et al. *Biol Cell*, 2000, **92**: 27
- [17] Eide T et al. *J Biol Chem*, 2003, **278**: 26750
- [18] Tian D et al. *J Biol Chem*, 1998, **273**: 28454
- [19] Yang Y et al. *J Biol Chem*, 2006, **281**: 22352
- [20] Kamada S et al. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**: 9469
- [21] Collas P et al. *J Cell Biol*, 1999, **147**: 1167
- [22] Witczak O et al. *EMBO J*, 1999, **18**: 1858
- [23] Landsverk HB et al. *J Cell Sci*, 2001, **114**: 3255
- [24] Carlson CR et al. *J Cell Sci*, 2001, **114**: 3243
- [25] Michel JJ et al. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 2002, **42**: 235
- [26] Lu Y et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**: 13792
- [27] Rubino HM et al. *Neuron*, 1989, **3**: 631
- [28] Obar RA et al. *Neuron*, 1989, **3**: 639
- [29] Luo Z et al. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 21804
- [30] Furusawa M et al. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 50885
- [31] Asirvatham AL et al. *J Immunol*, 2004, **173**: 4806
- [32] Steen RL et al. *J Cell Biol*, 2000, **149**: 531
- [33] Eide T et al. *EMBO Rep*, 2002, **3**: 426
- [34] Bomar J et al. *J Cell Sci*, 2002, **115**: 2931
- [35] Mayer W et al. *J Cell Biol*, 2000, **148**: 629
- [36] Donahue RP. *J Exp Zool*, 1972, **180**: 305
- [37] Ciemerych MA et al. *Mol Reprod Dev*, 1993, **34**: 73
- [38] Jungmann RA et al. *J Biol Chem*, 2005, **280**: 25170
- [39] Arsenijevic T et al. *Cell Cycle*, 2006, **5**: 1217
- [40] Li Y et al. *Genes Dev*, 2006, **20**: 2566

The Biological Function of A-kinase Anchor Protein 95

Hong-Zhen Wang*, Xiao-Guang Wang¹

(College of Life Science, Jilin Normal University, Siping 136000, China; ¹School of Life Sciences, Changchun Teachers College, Changchun 130032, China)

Abstract A-kinase anchor protein 95 (AKAP95) is one of A-kinase anchor proteins (AKAPs). It can anchor protein kinase A (PKA) in the nucleus. Recent results also find that AKAP95 is involved in many important life process. It is involved in establishment and maintenance of chromosome condensation, regulation of gene expression, DNA replication and maintenance of mRNA stability. It is also involved in embryo development, apoptosis and cell cycle regulation. After briefly introduced what is PKA and AKAPs, this paper also reviewed the structure of AKAP95 and its cell cycle distribution and its newly founded important biological function.

Key words cAMP signal pathway; protein kinase A; A-kinase anchor protein 95

Received: October 18, 2007 Accepted: December 28, 2007

This work was supported by the Jilin Normal University Research Initiation Foundation for Doctors (No.2004010)

*Corresponding author. Tel: 86-434-3292019, Fax: 86-434-3295110, E-mail: biostudent@sohu.com