

DEPDC超家族蛋白的结构与功能

雷恒萍 肖蓉*

(辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116081)

摘要 DEP(Dishevelled, Egg-laying defective protein 10 and Pleckstrin)结构域由约90个保守的氨基酸残基组成, 最早在DVL(Dishevelled)、EGL-10(Egg-laying defective protein 10)和PLEK(Pleckstrin)三个蛋白中被发现。越来越多的证据表明, DEPDC(DEP domain-containing)超家族蛋白在生物学中扮演着多种重要的角色, 特别是与生物体内信号转导及癌症等相关。该文浅析了DEPDC超家族蛋白的结构与功能, 以期今后进一步揭开DEP结构域的结构与功能奠定基础。

关键词 DEP结构域; 癌症; 信号转导

Structure and Function of DEPDC Superfamily Proteins

LEI Hengping, XIAO Rong*

(School of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, China)

Abstract DEP (Dishevelled, Egg-laying defective protein 10 and Pleckstrin) domain consists of about 90 conserved amino acid residues and is first identified in three proteins including DVL (Dishevelled), EGL-10 (Egg-laying defective protein 10) and PLEK (Pleckstrin). Increasing evidences have shown that DEPDC (DEP domain-containing) superfamily proteins play various roles in biology, especially in signal transduction and cancer. In this paper, the structure and function of DEPDC superfamily proteins are analyzed in order to lay a foundation for further elucidating the structure and function of the DEP domain.

Keywords DEP domain; cancer; signal transduction

1 DEP结构域的特征

DEP(Dishevelled, Egg-laying defective protein 10 and Pleckstrin)结构域由约90个保守的氨基酸残基组成^[1], 最早在DVL(Dishevelled)、EGL-10(Egg-laying defective protein 10)和PLEK(Pleckstrin) 3个蛋白中被发现^[2]。在高等真核生物中, DVL也被称为Dsh, 最早在黑腹果蝇中被发现; 而EGL-10和PLEK分别于秀丽隐杆线虫和哺乳动物细胞中被发现。目前, 研究表明DEP结构域存在于大约10个具有明确结构特征的人类蛋白家族中^[2], 因而本文把这一类蛋白归类为DEPDC(DEP domain-containing)超家族蛋白。在已被报道空间结构的DEPDC超家族蛋白, 如cAMP直接激活的交换蛋白(exchange protein directly activated by

cAMP, EPAC)、PLEK和DVL中, DEP结构域有3个共同特征。一是, DEP结构域呈球形, 具有典型的 α/β 折叠, 由一个保守的 α 螺旋核心组成^[2]。相对于保守的 α 螺旋, β 折叠具有显著差异。主要差异分别是 β -发夹相对于 β 折叠的位置, 以及 β 折叠本身的组成。二是, 所有DEP结构域存在2个长环。其中, 一个长环连接 α 1螺旋和 β 1折叠, 另一个长环连接第二个 β 折叠的最后2条链。三是, DEP结构域的核心由3个 α 螺旋形成, 且连接 α 1和 α 2螺旋的是 β -发夹, α 3螺旋之后有2个反平行 β 折叠^[3]。在DEP结构域的折叠过程中, 人磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸-依赖的Rac交换器1[phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate (PIP3)-dependent Rac exchanger 1, PREX1]^[4]和DVL2^[5-6]的DEP结构域可以发生交换。在人PREX1的第一个DEP(DEP1)结构域中, 第435和480位的氨基酸残基可发生交换。因此, DEP1结构域的N-和C-端结构在溶液中具有高度的动

收稿日期: 2023-09-29

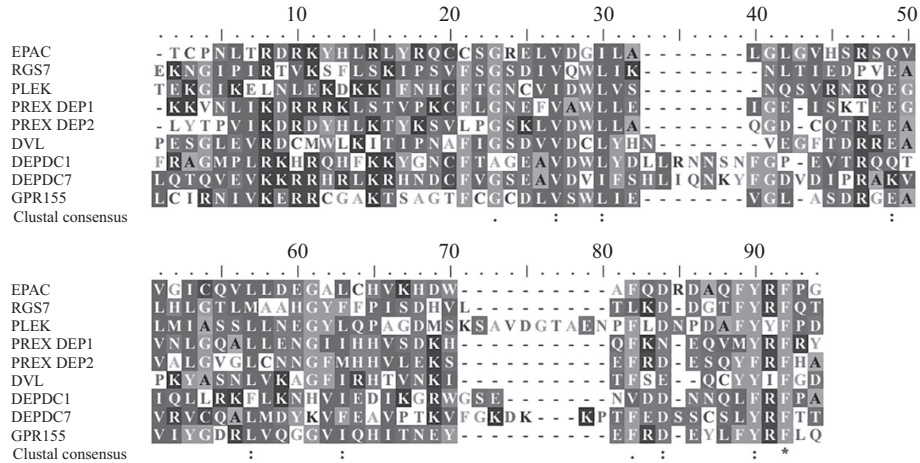
接受日期: 2024-01-22

*通信作者。Tel: 0411-85827068, E-mail: xiaorong_innu@126.com

Received: September 29, 2023

Accepted: January 22, 2024

*Corresponding author. Tel: +86-411-85827068, E-mail: xiaorong_innu@126.com



“*”表示相同的氨基酸残基;“:”表示高度相似的氨基酸残基;“.”表示相似度较低的氨基酸残基。

“*” indicates the same amino acid residues; “:” represents highly similar amino acid residues; “.” represents lowly similar amino acid residues.

图1 EPAC(序列号: AAC83381.1)、RGS7(AAM12645.1)、PLEK(NP_002655.2)、PREX(NP_065871.3)、DVL(AAB47447.1)、DEPDC1(AAH03511.1)、DEPDC7(AAH30970.1)和GPR155(AAH35037.1)中DEP结构域序列比对结果

Fig. 1 Sequence alignment results of DEP domain in EPAC (serial number: AAC83381.1), RGS7 (AAM12645.1), PLEK (NP_002655.2), PREX (NP_065871.3), DVL (AAB47447.1), DEPDC1 (AAH03511.1), DEPDC7(AAH30970.1) and GPR155 (AAH35037.1)

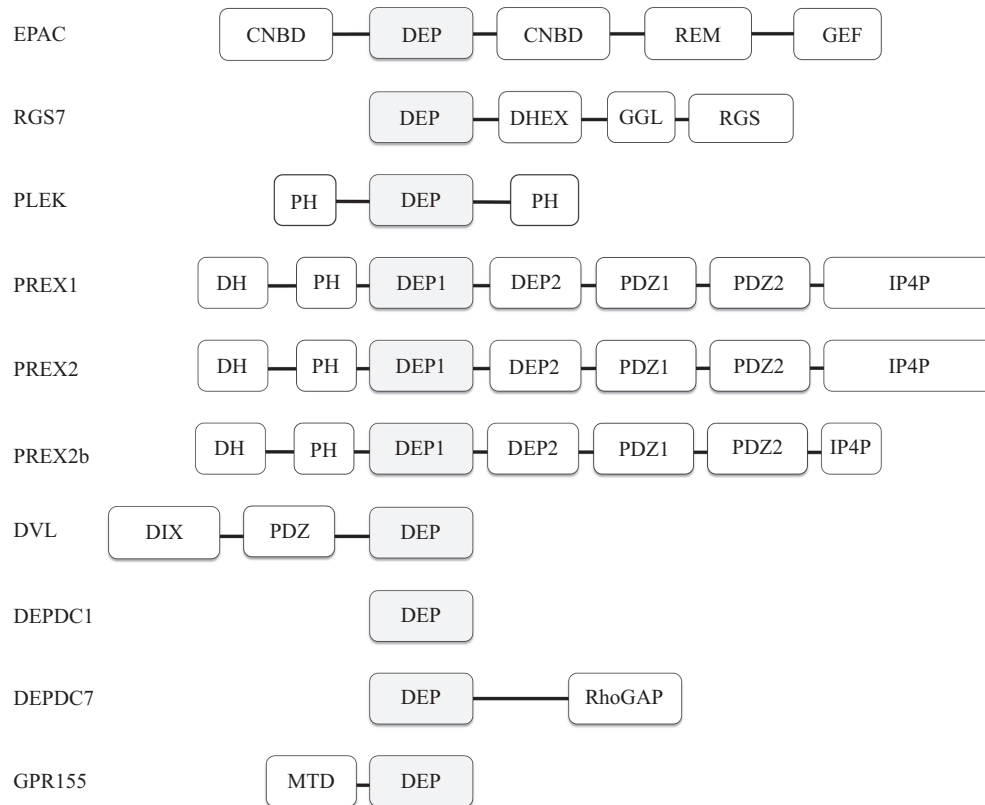
态性^[4]。在人DVL2中, DEP结构域可发生类似的、涉及 β 1- β 2发夹的结构域交换^[6]。此外, PREX1和DVL2的DEP结构域还可以促使二者分别形成聚集体。例如, PREX1的DEP1结构域在溶液中不仅有单体形式, 还有二聚体和四聚体形式。在DVL2的DEP结构域中, 含有Leu445的暴露环通过延伸使DEP结构域中N-端的 α 螺旋与第二个DVL2 DEP结构域N-端的 β 折叠发生交换来改变构象, 从而形成连接2个DEP结构域的 β 折叠。在该 β 折叠中, 一些氨基酸残基, 包括疏水性三联体Met443、Leu445、Ile447, 因具有疏水性侧链, 可以介导2个二聚体形成四聚体。尤其是Ile447, 其侧链对DEP结构域的四聚化界面起着关键的疏水作用^[5]。据报道, DEP结构域因包含带有不同正负电荷的氨基酸残基, 从而影响其质膜结合能力。在功能上, DEP结构域主要通过向质膜招募蛋白质从而在空间和时间上对多种信号转导事件进行控制。DEP结构域还可以与膜上的其他组分(包括磷脂和膜受体)发生相互作用, 并且它们的结合过程受到严格的调节。此外, DEP结构域还可以与正调控蛋白和负调控蛋白结合, 从而调控Wnt非经典信号通路^[7]。在某些情况下, DEP结构域还需要1个额外的折叠或基序来与质膜的锚着点发生相互作用^[2]。尽管DEP结构域核心区的结构相似, 但在不同种类的蛋白中, DEP结构域之间的微小差异能够导致它们的调控差异以及它们在空间和时间范畴上协调不同信号事件^[2](图1)。

2 DEPDC超家族蛋白的类型及功能

许多参与信号转导的蛋白质都含有与DEP高度同源的结构域(图2), 如EPAC、酵母G蛋白信号调控因子(regulatory of G protein signaling, RGS)蛋白家族的Sst2和哺乳动物RGS蛋白家族R7亚家族成员(RGS6、RGS7、RGS9和RGS11)^[1]。另外, PLEK、PREX、DVL、DEPDC1(DEP domain containing 1)^[8-9]、DEPDC5(DEP domain containing 5)^[10]、DEPDC7(DEP domain containing 7)^[11-12]和GPR155^[2]也含有DEP结构域, 因此本文将上述蛋白归为DEPDC超家族蛋白。

2.1 EPAC

EPAC, 又被称为cAMP-鸟嘌呤交换因子(cAMP-guanine exchange factor, cAMP-GEF)^[17], 由C-端的催化区和N-端的调控区组成(图2)。C-端催化区包含Ras交换模体(Ras exchange motif, REM)和酶促鸟嘌呤交换因子(guanine exchange factor, GEF)结构域, 能够结合^[18]并激活^[19]Rap1, 但不激活Ras、Ral或R-ras^[18]。其中, REM起稳定GEF结构域的作用^[18]。而EPAC N-端的调控区包含DEP结构域和可与cAMP结合环核苷酸结合结构域(cyclic nucleotide binding domain, CNBD)^[18]。其中, DEP结构域有助于变构的EPAC在质膜上的易位^[2]; 与cAMP结合的CNBD类似于蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)调控亚基中的cAMP结合结构域^[18]。在EPAC中, 其DEP结构域含有由17个



DHEX: DEP螺旋延伸; GGL: G γ 样; PH: pleckstrin同源; DH: Dbl同源; PDZ: 突触后密度蛋白95/果蝇光盘大肿瘤抑制剂/闭锁小带蛋白1; IP4P: 肌醇多磷酸4-磷酸酶; DIX: 散乱蛋白和轴蛋白; RhoGAP: Rho蛋白GTP酶活化蛋白; MTD: 膜转运结构域。

DHEX: DEP helical extension; GGL: G γ -like; PH: pleckstrin homology; DH: Dbl homology; PDZ: post synaptic density-95/drosophila disc large tumor suppressor gene/zonula occludens-1 protein; IP4P: inositol polyphosphate 4-phosphatase; DIX: Dishevelled and Axin; RhoGAP: Rho GTPase-activating protein; MTD: membrane transport domain.

图2 人DEPDC超家族蛋白的结构(根据参考文献[2,11,13-16]修改)

Fig.2 Structures of human DEPDC superfamily proteins (modified from the references [2,11,13-16])

氨基酸残基构成,且能够与质膜磷脂酸(phosphatidic acid, PA)结合的模体^[20]。同时,位于EPAC DEP结构域中的第82^[20-21]和108^[22-23]位的氨基酸残基分别为Arg和Ser,均可以与质膜PA相互作用。此外,G蛋白偶联受体激酶2能够催化EPAC1 DEP结构域中Ser108的磷酸化,从而抑制EPAC1向质膜易位^[22]。当处于自由状态下时,EPAC会保持自我抑制的状态,即其调控亚基封闭其催化亚基。当EPAC与配体如cAMP结合后,EPAC调控亚基构象改变,并离开催化亚基,通过暴露催化亚基GEF结构域,从而允许Rap GTPase与GEF结构域结合,并通过使与G蛋白结合的GDP交换为GTP来激活Rap^[22]。

EPAC含有两种异构体(EPAC1和EPAC2)。EPAC2也被称为Rap鸟嘌呤核苷酸交换因子4(Rap guanine nucleotide exchange factor 4, RAPGEF4),通常在所有神经元的轴突和树突中表达,且其转录水平在人正常脑以及胶质瘤组织中一致^[22]。此外,EPAC2

的激活和过度分泌均可触发神经元凋亡,其作用是通过调节与B淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)发生相互作用的蛋白——Bcl-2互作成员蛋白(Bcl-2 interacting member protein, BIM)来实现的^[18,24]。与临床高级别胶质瘤相比,EPAC2在低级别胶质瘤中的分泌水平较高。由于脑内神经元主要表达EPAC2而非EPAC1,因此EPAC2比EPAC1更有可能参与调控胶质瘤的发病进程^[18]。

2.2 RGS

在哺乳动物中,RGS家族蛋白同样含有DEP结构域,且由20个典型的成员组成^[25]。RGS7是RGS家族R7亚家族的成员之一^[26],含有4个结构域(DEP、DHEX、GGL和RGS结构域)(图2)^[13]。在RGS7中,DEP结构域含有可以直接与M3型毒蕈碱乙酰胆碱受体(muscarinic acetylcholine receptor type 3, M3R)第三个细胞内环(the third intracellular loop, i3 loop)结合的位点^[27]。但是该结合位点的氨基酸序列、

结合后的DEP结构域与M3R i3环的构象变化尚未有研究报道。R7家族RGS结合蛋白(R7 family RGS binding protein, R7BP)能够阻止RGS7中DEP结构域与M3R的i3环结合。此外, RGS9-2是RGS家族R7亚家族的另一个成员。有研究报道^[27], 多巴胺D2受体能够通过RGS9-2的DEP结构域来促进RGS9-2的膜定位, 但却不需要依赖D2受体的第三环或者C-端。对于不同的受体亚型来说, 与DEP结构域相互作用的结构元件是不同的^[27]。虽然DEP结构域在多种信号转导蛋白中普遍存在, 但是DHEX结构域是RGS家族R7亚家族成员所特有的^[26]。DEP/DHEX结构域能够介导Gβ5(type 5 G-protein β subunit)与R7亚家族蛋白间的相互作用^[13]。NARAYANAN等^[28]认为Gβ5与GGL结构域间的相互作用具有永久性, 而Gβ5与DEP结构域间的相互作用具有动态性。R7亚家族蛋白成员依赖DEP/DHEX结构域模块与质膜锚定蛋白R7BP和RGS9-1结合蛋白形成复合物。同时, RGS7靶向细胞内结构也需要依赖DEP/DHEX结构域模块^[13]。

通常, RGS可与有活性的Gα蛋白结合, 以促进RGS的GTPase活性, 并通过加速G蛋白信号转导的终止, 从而控制信号转导的持续时间。现已证实, RGS的这种作用在时间和空间范畴上调控G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR)家族的信号转导过程。因此, 由RGS介导的信号转导调控的缺失与人类疾病的联系极为密切^[25]。如果增加Gα蛋白GTPase的活性, RGS将加快G蛋白信号转导反应的终止, 从而提高GPCR启动信号转导的时间保真度。这一功能在对光感受器的研究中得到了证实。在视紫红质引发的视觉级联反应中, RGS的缺失降低了视觉信号的时间分辨率, 阻止了光感受器对移动物体的检测^[25,29]。G蛋白信号调节蛋白10(regulatory of G protein signaling 10, RGS10)是GTPase活化蛋白(GTPase activating proteins, GAPs)家族的成员, 能够以异源三聚体G蛋白为靶点, 抑制G蛋白偶联受体(包括化学引诱剂受体等)的活性。RGS10突变后, 受影响的个体表现出系统性异常^[30]。通过对几个RGS家族成员的研究, MASUHO等^[25]发现, 该家族成员在识别Gα时具有相当大的选择性^[25]。不过, 目前对于RGS对Gα偏好的全面认识却仍然缺乏^[25]。在酵母RGS家族成员中, Sst2含有RGS与DEP结构域。当Sst2处于非磷酸化状态时, 其DEP结构域与GPCR结合, 使得

Sst2的释放和回收得以在受体脱敏和内化时实现^[31]。同时, 这也表明Sst2的DEP结构域与GPCR的结合受到磷酸化的调节^[31]。另外, Sst2的DEP结构域能够介导GPCR的锚定, 以确保Sst2的RGS结构域位于其底物附近, 并即刻发挥作用^[31]。

2.3 PLEK

PLEK是血小板中蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)的主要底物之一, 同样也是含有DEP结构域的蛋白质^[2]。PLEK1(Pleckstrin-1)和PLEK2(Pleckstrin-2)是PLEK家族的主要成员。二者都包含2个可以与蛋白质或脂质发生相互作用的PH结构域和1个DEP结构域^[2,14]。其中, 2个PH结构域分别位于PLEK1和PLEK2的氨基和羧基末端, 并分别被称为氨基末端PH(N-terminal PH, N-PH)和羧基末端PH(carboxyl-terminal PH, C-PH)结构域。DEP结构域位于N-PH和C-PH结构域的中间(图2)。此外, PLEK1的DEP结构域和N-PH结构域之间还有3个可以被PKC磷酸化的位点(分别是Ser113、Thr114和Ser117)^[14]。另外, 磷脂酰肌醇-3-激酶可催化位于PLEK2 N-PH结构域中的磷酸化位点, 即可与PLEK2的N-PH结构域相互作用^[32-33], 但却和DEP结构域无关。在PLEK中, 带负电荷的DEP结构域不直接介导蛋白质的膜锚定, 但是它能够与带正电荷的N-PH结构域发生分子内的相互作用。PLEK经PKC磷酸化修饰后, 才能缓解这种相互作用, 从而促进PLEK的活化和膜定位^[3,33]。这一发现表明, PLEK中DEP结构域参与调控PLEK的自抑制过程, 并在分子内结构域相互作用中发挥作用。与EPAC和DVL中DEP结构域不同的是, PLEK的DEP结构域在连接β4和β5的环中还额外存在短螺旋α4, 其氨基酸序列为MSKSAV, 且α4螺旋仅存在于PLEK的DEP结构域中, 而EPAC和DVL的DEP结构域却没有这个螺旋。该螺旋被认为对增加蛋白质的流动性和促进蛋白质-蛋白质的相互作用非常重要^[3]。与其他蛋白的DEP结构域序列相比, PLEK中连接β4和β5的环非常长, 包含20个氨基酸残基。除PLEK外, RGS中DEP结构域也存在较长的环, 长约16个氨基酸残基, 且也具有适合采用螺旋构象的疏水残基模式。这表明α4螺旋也可能存在于RGS的DEP结构域中。同时, 这也暗示着PLEK和RGS是同一DEP亚家族成员^[3]。

氨基酸序列分析结果表明, 人PLEK2与PLEK1蛋白序列具有同源性和39%的一致性^[14]。由于PLEK1仅在单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞和粒细

胞中表达,因此PLEK1可能在炎症反应中发挥作用。与PLEK1不同,PLEK2在多种恶性肿瘤(如骨髓增殖性肿瘤^[34]、黑色素瘤^[35]以及肺癌^[36]等)中的转录和表达水平异常^[14],因此可作为一种潜在的、用于诊断和预后预测的生物标志物,也是将来癌症治疗的靶点之一^[14]。近年来,有证据表明PLEK2在除细胞扩散外的其他细胞活动(如红细胞生成)中还发挥着非常重要的作用。PLEK2是一种STAT5依赖性的脂质结合蛋白,位于促血小板生成素下游,是无效红细胞生成的重要调控点,对 β -地中海贫血小鼠的红细胞生成至关重要,可减少红细胞凋亡并促进红细胞去核^[37]。

2.4 PREX

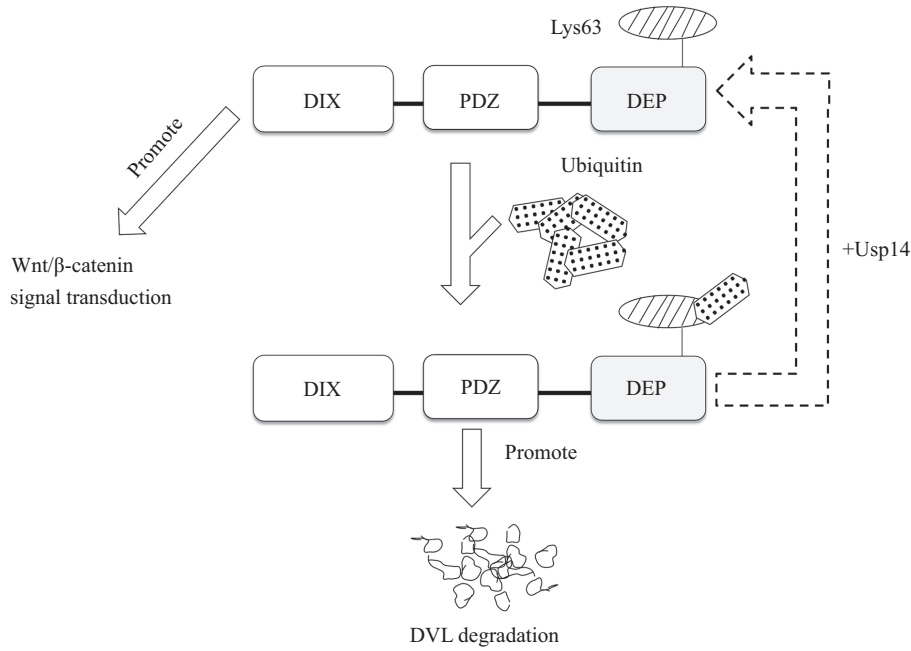
PREX为由磷脂酰肌醇3,4,5-三磷酸和G蛋白偶联受体的G $\beta\gamma$ 亚基协同激活的Rac鸟嘌呤核苷酸交换因子(Rac guanine nucleotide exchange factors, RacGEFs),成员包括PREX1、PREX2(又称PREX2a)和PREX2的C-端剪接异构体PREX2b^[15,38]。PREX1和PREX2具有相似的氨基酸序列、结构域和催化功能。如图2所示,这些结构域分别是DH、PH、DEP、PDZ和IP4P结构域。PREX1和PREX2的DEP结构域具有雷帕霉素靶蛋白结合位点,提示DEP结构域可与雷帕霉素靶蛋白结合。在PREX1中,DEP1结构域含有由PKA修饰的磷酸化位点,即Ser436^[4]。RAVALA等^[4]提出,DEP1结构域经PKA磷酸化修饰后,能够降低PREX1对带负电荷的膜的亲和力,从而促使DEP1结构域与DH/PH结构域结合并抑制DH/PH结构域。同时,磷酸化后的PREX1蛋白的GEF活性被抑制^[4]。由于DEP和PDZ结构域都为蛋白质相互作用结构域,因而,在PREX1中,DEP2/PDZ1可与IP4P结构域的羧基末端相互作用,从而结合和激活G $\beta\gamma$ ^[39]。不过,迄今为止,PREX2中DEP结构域的结构和功能鲜有文献报道。在多种癌症(如乳腺癌、前列腺癌和黑色素瘤^[38]等)中,PREX1主要表现为过表达,而PREX2则主要表现为突变。二者均具有促进细胞迁移的作用。此外,还有研究报道硫代乙酰胺诱导的肝硬化并发症是通过激活TLR4(toll like receptor 4)/CXCL9[chemokine (C-X-C motif) ligand 9]/PREX2通路引起的,可以通过早期给予植物乳杆菌来预防^[40]。

2.5 DVL

DVL主要由DIX、PDZ和DEP 3个结构域组成,

且DEP结构域位于该蛋白质的羧基末端(图2)。在人DVLs中,DEP结构域由3条 α 螺旋、1条 β 发夹“臂”和2条短 β 折叠组成^[16,41],并可促使DVL形成二聚体^[7,42]。此外,GANNER等^[43]报道了小鼠DVL1还含有3个D-box(destruction box),分别位于N-端或C-端,以及DEP结构域中。3个D-box均含有RxxL共有基序,并且DEP结构域内的D-box与1个Lys相邻。APC/C(anaphase-promoting complex/cyclosome)识别DEP结构域中的D-box,并介导DVL的降解,表明DEP结构域中保守的D-box和相邻的Lys是DVL降解的关键因素^[43]。此外,DVL中DEP结构域因具有泛素化修饰位点Lys63而可被泛素化修饰。泛素化特异性蛋白酶14(ubiquitin-specific protease 14, Usp14)可通过去除DEP结构域Lys63的多泛素化修饰(图3)来改变DVL的构象,并暴露其位于DEP结构域中的磷酸化位点,从而促进Wnt/ β -catenin信号转导^[44]。Dapper1是在非洲爪蟾中被鉴定为可与DVL/Dsh发生相互作用的蛋白。Dapper1可与DVL2的DEP和PDZ结构域直接结合,从而强化DVL2的泛素化,并使DVL2靶向自噬体^[42]。

据报道,DEP结构域可与多种正调控蛋白[如腺瘤性结肠息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)、PKC、Ephrin B1等],以及负调控蛋白(如Prickle等)结合,从而调节Wnt非经典信号通路^[7]。在人DVLs中,DEP结构域可与DAAM1(dishevelled associated activator of morphogenesis 1)发生相互作用,从而激活Wnt非经典信号通路。一旦Wnt非经典信号通路被激活,细胞的肌动蛋白和细胞骨架结构将发生改变^[7]。然而,当该信号通路被抑制后,DVL3将被降解,并且平面细胞极性(planar cell polarity, PCP)会被调节^[7]。当环境中没有Wnt时,DVL通过DEP结构域与Fz结合。在Wnt存在的情况下,DEP结构域二聚化,并依赖DIX结构域导致DVL-DVL均质聚合反应的发生,最终促进信号体组装和定向信号转导。同时,DEP结构域也可以与PDZ结构域相互作用以激活Rho/ROCK通路,或直接与Rac相互作用以激活JNK,从而在Wnt/PCP途径中发挥作用^[7,42]。在PCP转导过程中,细胞质膜招募DVL主要依赖于其DEP结构域直接与带负电的磷脂之间的静电作用^[16]。DEP结构域上存在的碱性残基有助于人DVL在PCP转导时的膜定位。这些保守残基的突变不仅破坏了DVL的质膜定位,而且在趋同延伸中强烈抑制了Rho/Rac的激活^[7]。此外,RIP激酶4(RIP kinase 4, RIPK4)能



在DVL中, DEP结构域含有与泛素结合的位点(如Lys63)。Lys63与泛素结合后能够促进DVL的降解, 而去泛素酶Usp14能够去除DVL上的多泛素化修饰, 并使DVL暴露磷酸化位点, 从而促进Wnt/β-catenin信号转导。椭圆形为Lys63, 六边形为泛素。

In the DVL, the DEP domain contains sites (such as Lys63) that bind to ubiquitin. After Lys63 binding to ubiquitin, DVL degrades, while the deubiquitinating enzyme Usp14 can remove polyubiquitination modifications on DVL and expose phosphorylation sites of DVL, thereby promoting Wnt/β-catenin signal transduction. Oval indicates Lys63 and hexagon indicates ubiquitin.

图3 DVL泛素化和去泛素化机制图

Fig.3 Mechanism diagram of DVL ubiquitination and deubiquitination

能与DVL2结合, 从而介导PDZ和DEP结构域的磷酸化。PDZ和DEP结构域发生磷酸化修饰后可以促进DVL2组装成大型信号复合物, 从而在最大程度上稳定β-catenin并转录Wnt通路上需要应答的靶基因^[7]。上述结果表明, DEP结构域对于功能信号体的组装和Wnt信号转导到细胞核至关重要。这意味着DVLs是Wnt信号通路的指挥者和中心^[16,41]。DEP结构域在激活Wnt信号通路时负责将DVL靶向质膜。具体机制为, 在DEP结构域中, 由多个碱性氨基酸组成的延伸链与质膜中酸性、带负电荷的脂质发生相互作用^[16]。当DVL处于正常状态下时, DEP结构域表现为正电荷, 质膜表现为负电荷。在低pH条件下或中和质膜表面的电荷后, 由于DEP结构域带正电荷, 因而DVL被排斥在质膜外^[16](图4)。由于DEP结构域是质膜上Fz招募所需的充分必要条件, 所以DEP结构域在质膜靶向中发挥着非常重要的作用。但是, 目前尚未确定DEP结构域与Fz的结合位点^[16]。在DVL1 DEP结构域中, Lys434、Asp445和Asp448产生的强电偶极子对于蛋白质-蛋白质相互作用至关重要^[45]。

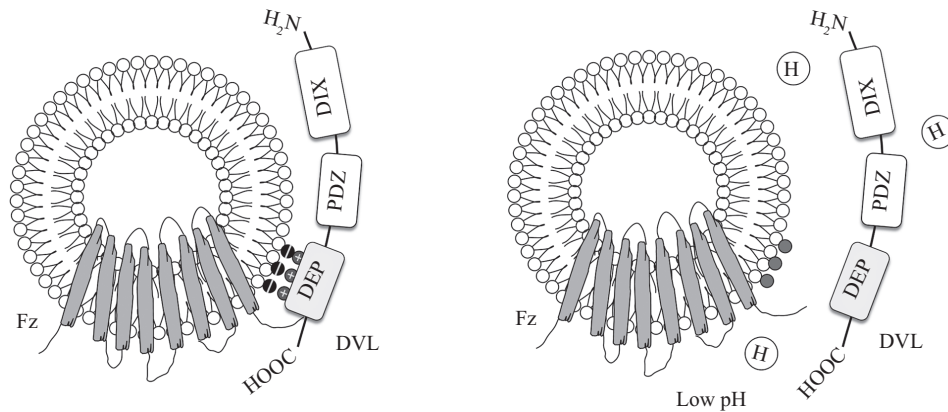
2.6 DEPDC

DEPDC成员有DEPDC1^[8-9]、DEPDC5^[10]和

DEPDC7^[11-12]。人DEPDC1由811个氨基酸组成, 其中, DEP结构域位于第1—100位的氨基酸^[9]。DEPDC7包含2个结构域: DEP和RhoGAP结构域, 其中, DEP结构域位于第24—154位的氨基酸^[11](图2)。在前列腺癌^[46]、三阴性乳腺癌^[47]、肝癌细胞系(SMMC-7721、Huh-7和HepG2)和上皮性卵巢癌细胞系(OVCAR3和SKOV3)中, DEPDC1、DEPDC1B和DEPDC7的mRNA和蛋白水平异常^[11-12,48]。此外, 研究表明DEPDC1可能通过PCDH10-DEPDC1-caspase信号通路抑制子宫内膜癌细胞凋亡^[49]。在鼻咽癌细胞系CNE-1和HNE-1细胞中, DEPDC1能够促进细胞周期进程和细胞运动^[50]。目前, 关于DEPDC成员的结构和功能之间的相互关系仍然需要深入探索。

2.7 GPR155

正常的GPR155基因一共含有19个外显子, 其蛋白C-端含有DEP结构域(图2)^[51]。GPR155是一种与G蛋白偶联相关的整合性膜蛋白受体, 在亨廷顿舞蹈症患者的尾状核以及在自闭症谱系障碍患者的淋巴样干细胞中显著失调, 表明其在上述两种疾病中具有特定的作用。在人体内, GPR155高度保守, 其mRNA在纹状体中优先表达。在亨廷顿舞蹈症疾



在正常状态下,质膜通过暴露的负电荷与DEP结构域表面的正电荷结合从而招募DVL以激活Wnt信号通路。若环境pH较低,或质膜表面的负电荷被正电荷中和,质膜与带正电荷的DEP结构域则会相互排斥从而导致DVL被排斥在质膜外。

Under normal conditions, plasma membrane recruits DVL by binding to positive charges on the surface of DEP domain through its exposed negative charges to activate Wnt signal pathway. When the environmental pH is low, or the negative charges on the plasma membrane surface are neutralized by positive charges, the plasma membrane and the DEP domain with positive charges repel each other, resulting in the exclusion of DVL outside the plasma membrane.

图4 DEP结构域介导质膜招募DVL (根据参考文献[16]修改)

Fig. 4 The DEP domain mediates plasma membrane to recruit DVL (modified from the reference [16])

病动物模型和患者的纹状体中, *GPR155*的mRNA水平下调^[51]。研究发现,受*GPR155*影响的神经元在死亡前的一段时间内功能失调可导致*GPR155* mRNA水平下调^[52]。在肝癌及胃癌中, *GPR155* mRNA的水平下调,并可作为肝癌预后以及胃癌血行转移的指标^[53-54]。遗憾的是,目前尚未有研究关注*GPR155*的结构和功能的相互关系。

3 总结与展望

越来越多的证据表明,DEPDC超家族蛋白在生物学中扮演着非常重要的角色,特别是与生物体内信号转导以及肿瘤的发生发展进程等活动密切相关^[2,7,29]。目前,与DEPDC超家族蛋白(EPAC、RGS、PLEK、PREX、DVL、DEPDC和*GPR155*)相关的研究多数与哺乳动物如小鼠^[22,37]和人^[55]相关。尽管本文综述了DEPDC超家族蛋白的种类、结构,并浅析了这些蛋白的生物学功能,但是DEPDC超家族蛋白在其他低等生物中是否存在(已在仿刺参cDNA文库中找到了编码DEP结构域的序列),具体生物学功能又是什么还暂不明确。相信随着科学技术的不断进步,DEPDC超家族蛋白的功能和作用机制将会逐渐被揭示,并且DEP结构域的功能也会进一步被明确。除此之外,鉴于DEPDC超家族蛋白在细胞内信号转导以及肿瘤的发生发展进程中发挥重要作用,因此,DEPDC超家族蛋白有望在临床中成为肿瘤标志物以

及预后指标,且有可能是癌症治疗的潜在靶点之一。

参考文献 (References)

- [1] CHEN S, HAMM H E. DEP domains: more than just membrane anchors [J]. *Dev Cell*, 2006, 11(4): 436-8.
- [2] CONSONNI S V, MAURICE M M, BOS J. DEP domains: structurally similar but functionally different [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(5): 357-62.
- [3] CIVERA C, SIMON B, STIER G, et al. Structure and dynamics of the human pleckstrin DEP domain: distinct molecular features of a novel DEP domain subfamily [J]. *Proteins*, 2005, 58(2): 354-66.
- [4] RAVALA S K, HOPKINS J B, PLESCIA C B, et al. The first DEP domain of the RhoGEF P-Rex1 autoinhibits activity and contributes to membrane binding [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(36): 12635-47.
- [5] GAMMONS M V, RUTHERFORD T J, STEINHART Z, et al. Essential role of the Dishevelled DEP domain in a Wnt-dependent human-cell-based complementation assay [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(20): 3892-902.
- [6] GAMMONS M V, RENKO M, JOHNSON C M, et al. Wnt signalosome assembly by DEP domain swapping of Dishevelled [J]. *Mol Cell*, 2016, 64(1): 92-104.
- [7] SHARMA M, CASTRO-PIEDRAS I, SIMMONS G E J R, et al. Dishevelled: a masterful conductor of complex Wnt signals [J]. *Cell Signal*, 2018, 47: 52-64.
- [8] GONG Z, CHU H, CHEN J, et al. DEPDC1 upregulation promotes cell proliferation and predicts poor prognosis in patients with gastric cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2021, 30(3): 299-307.
- [9] HARADA Y, KANEHIRA M, FUJISAWA Y, et al. Cell-permeable peptide DEPDC1-ZNF224 interferes with transcriptional repression and oncogenicity in bladder cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14): 5829-39.

- [10] ZHU S, TANG Z, ZOU M, et al. Correlation of DEPDC5 rs1012068 and rs5998152 polymorphisms with risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Oncol*, 2023, 2023: 5957481.
- [11] D'ANDREA E L, FERRAVANTE A, SCUDIERO I, et al. The Dishevelled, EGL-10 and pleckstrin (DEP) domain-containing protein DEPDC7 binds to CARMA2 and CARMA3 proteins, and regulates NF- κ B activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e116062.
- [12] LIAO Z, WANG X, LIN D, et al. Construction and identification of the RNAi recombinant lentiviral vector targeting human *DEPDC7* gene [J]. *Interdiscip Sci*, 2017, 9(3): 350-6.
- [13] LIAPIS E, SANDIFORD S, WANG Q, et al. Subcellular localization of regulator of G protein signaling RGS7 complex in neurons and transfected cells [J]. *J Neurochem*, 2012, 122(3): 568-81.
- [14] WANG G, ZHOU Q, XU Y, et al. Emerging roles of pleckstrin-2 beyond cell spreading [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 768238.
- [15] WELCH H C. Regulation and function of P-Rex family Rac-GEFs [J]. *Small GTPases*, 2015, 6(2): 49-70.
- [16] SIMONS M, GAULT W J, GOTTHARDT D, et al. Electrochemical cues regulate assembly of the Frizzled/Dishevelled complex at the plasma membrane during planar epithelial polarization [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(3): 286-94.
- [17] SCHMIDT M, DEKKER F J, MAARSINGH H. Exchange protein directly activated by cAMP (epac): a multidomain cAMP mediator in the regulation of diverse biological functions [J]. *Pharmacol Rev*, 2013, 65(2): 670-709.
- [18] RICHARD S A. EPAC2: a new and promising protein for glioma pathogenesis and therapy [J]. *Oncol Rev*, 2020, 14(1): 446.
- [19] WANG Z, DILLON T J, POKALA V, et al. Rap1-mediated activation of extracellular signal-regulated kinases by cyclic AMP is dependent on the mode of Rap1 activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(6): 2130-45.
- [20] PONSIOEN B, GLOERICH M, RITSMA L, et al. Direct spatial control of Epac1 by cyclic AMP [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(10): 2521-31.
- [21] CONSONNI S V, GLOERICH M, SPANJAARD E, et al. cAMP regulates DEP domain-mediated binding of the guanine nucleotide exchange factor Epac1 to phosphatidic acid at the plasma membrane [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(10): 3814-9.
- [22] ROBICHAUX W G 3RD, CHENG X. Intracellular cAMP sensor EPAC: physiology, pathophysiology, and therapeutics development [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(2): 919-1053.
- [23] SINGHMAR P, HUO X, EIJKELKAMP N, et al. Critical role for Epac1 in inflammatory pain controlled by GRK2-mediated phosphorylation of Epac1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(11): 3036-41.
- [24] SUZUKI S, YOKOYAMA U, ABE T, et al. Differential roles of Epac in regulating cell death in neuronal and myocardial cells [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(31): 24248-59.
- [25] MASUHO I, BALAJI S, MUNTEAN B S, et al. A global map of G protein signaling regulation by RGS proteins [J]. *Cell*, 2020, 183(2): 503-21.
- [26] ANDERSON G R, POSOKHOVA E, MARTEMYANOV K A. The R7 RGS protein family: multi-subunit regulators of neuronal G protein signaling [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2009, 54(1/2/3): 33-46.
- [27] SANDIFORD S L, SLEPAK V Z. The G β ₅-RGS7 complex selectively inhibits muscarinic M3 receptor signaling via the interaction between the third intracellular loop of the receptor and the DEP domain of RGS7 [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(10): 2282-9.
- [28] NARAYANAN V, SANDIFORD S L, WANG Q, et al. Intramolecular interaction between the DEP domain of RGS7 and the G β ₅ subunit [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(23): 6859-70.
- [29] CHEN C K, BURNS M E, HE W, et al. Slowed recovery of rod photoresponse in mice lacking the GTPase accelerating protein RGS9-1 [J]. *Nature*, 2000, 403: 557-60.
- [30] CHINN I K, XIE Z, CHAN E C, et al. Short stature and combined immunodeficiency associated with mutations in RGS10 [J]. *Sci Signal*, 2021, 14(693): eabc1940.
- [31] BALLON D R, FLANARY P L, GLADUE D P, et al. DEP-domain-mediated regulation of GPCR signaling responses [J]. *Cell*, 2006, 126(6): 1079-93.
- [32] BACH T L, KERR W T, WANG Y, et al. PI3K regulates pleckstrin-2 in T-cell cytoskeletal reorganization [J]. *Blood*, 2007, 109(3): 1147-55.
- [33] MA A D, BRASS L F, ABRAMS C S. Pleckstrin associates with plasma membranes and induces the formation of membrane projections: requirements for phosphorylation and the NH₂-terminal PH domain [J]. *J Cell Biol*, 1997, 136(5): 1071-9.
- [34] ZHAO B, MEI Y, CAO L, et al. Loss of pleckstrin-2 reverts lethality and vascular occlusions in JAK2^{V617F}-positive myeloproliferative neoplasms [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(1): 125-40.
- [35] LUO Y, ROBINSON S, FUJITA J, et al. Transcriptome profiling of whole blood cells identifies PLEK2 and C1QB in human melanoma [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20971.
- [36] WU D M, DENG S H, ZHOU J, et al. PLEK2 mediates metastasis and vascular invasion via the ubiquitin-dependent degradation of SHIP2 in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(9): 2563-75.
- [37] FEOLA M, ZAMPERONE A, MOSKOP D, et al. Pleckstrin-2 is essential for erythropoiesis in β -thalassemic mice, reducing apoptosis and enhancing enucleation [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 517.
- [38] SRIJAKOTRE N, MAN J, OOMS L M, et al. P-Rex1 and P-Rex2 RacGEFs and cancer [J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(4): 963-77.
- [39] URANO D, NAKATA A, MIZUNO N, et al. Domain-domain interaction of P-Rex1 is essential for the activation and inhibition by G protein $\beta\gamma$ subunits and PKA [J]. *Cell Signal*, 2008, 20(8): 1545-54.
- [40] ELSHAER A M, EL-KHARASHI O A, HAMAM G G, et al. Involvement of TLR4/CXCL9/PREX-2 pathway in the development of hepatocellular carcinoma (HCC) and the promising role of early administration of lactobacillus plantarum in Wistar rats [J]. *Tissue Cell*, 2019, 60: 38-47.
- [41] GAO C, CHEN Y G. Dishevelled: the hub of Wnt signaling [J]. *Cell Signal*, 2010, 22(5): 717-27.
- [42] SHI Q, CHEN Y G. Regulation of Dishevelled protein activity and stability by post-translational modifications and autophagy [J]. *Trends Biochem Sci*, 2021, 46(12): 1003-16.
- [43] GANNER A, LIENKAMP S, SCHÄFER T, et al. Regulation of ciliary polarity by the APC/C [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(42): 17799-804.

- [44] JUNG H, KIM B G, HAN W H, et al. Deubiquitination of Dishevelled by Usp14 is required for Wnt signaling [J]. *Oncogenesis*, 2013, 2(8): e64.
- [45] WONG H C, MAO J, NGUYEN J T, et al. Structural basis of the recognition of the dishevelled DEP domain in the Wnt signaling pathway [J]. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(12): 1178-84.
- [46] HUANG L, CHEN K, CAI Z P, et al. DEPDC1 promotes cell proliferation and tumor growth via activation of E2F signaling in prostate cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(3): 707-12.
- [47] ZHANG L, DU Y, XU S, et al. DEPDC1, negatively regulated by miR-26b, facilitates cell proliferation via the up-regulation of FOXM1 expression in TNBC [J]. *Cancer Lett*, 2019, 442: 242-51.
- [48] GUO W, LI H, LIU H, et al. DEPDC1 drives hepatocellular carcinoma cell proliferation, invasion and angiogenesis by regulating the CCL20/CCR6 signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(3): 1075-89.
- [49] YANG Y, JIANG Y, JIANG M, et al. Protocadherin 10 inhibits cell proliferation and induces apoptosis via regulation of DEP domain containing 1 in endometrial endometrioid carcinoma [J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 100(2): 344-52.
- [50] FENG X, ZHANG C, ZHU L, et al. DEPDC1 is required for cell cycle progression and motility in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38): 63605-19.
- [51] TRIFONOV S, HOUTANI T, SHIMIZU J, et al. GPR155: gene organization, multiple mRNA splice variants and expression in mouse central nervous system [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398(1): 19-25.
- [52] HODGES A, STRAND A D, ARAGAKI A K, et al. Regional and cellular gene expression changes in human Huntington's disease brain [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(6): 965-77.
- [53] UMEDA S, KANDA M, SUGIMOTO H, et al. Downregulation of *GPR155* as a prognostic factor after curative resection of hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 610.
- [54] SHIMIZU D, KANDA M, TANAKA H, et al. *GPR155* serves as a predictive biomarker for hematogenous metastasis in patients with gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42089.
- [55] WU Y, YIN H, ZHANG X, et al. Role of DEP domain-containing protein 1B (DEPDC1B) in epithelial ovarian cancer [J]. *J Cancer*, 2023, 14(5): 784-92.