

囊泡转运中的 Rab 小 G 蛋白与马达分子

唐 蓓*

(重庆师范大学生命科学学院, 重庆 400047)

摘要 Rab 是小分子 GTP 结合蛋白 Ras 超家族中最大的亚家族, 在囊泡运输的不同阶段发挥着调节作用。在与 GTP 结合后, Rab 可募集特异的效应蛋白到膜上。近来发现, 许多 Rab 可募集与微管和肌动蛋白相关的马达分子到靶膜, 从而调节相应囊泡的转运。Rab 所具有分子开关特性, 使其可在空间和时间上对囊泡转运进行调控。

关键词 Rab; 肌球蛋白; 驱动蛋白; 动力蛋白

Rab 是 Ras 超家族中最大的一个家族, 定位在细胞器中, 在细胞器识别机制中 Rab 是重要的识别元件, 也是了解得最清楚的细胞器标志分子之一。Rab 调节着大部分胞内转运事件, 在囊泡的定向运输中发挥了重要作用。人们对 Rab 调节囊泡运输的分子机制一直不太清楚, 直到最近才认识到这与马达分子 (motor) 关系密切。

在真核细胞中, 新合成的蛋白质必须被运输到适当的细胞器或经适当的细胞器到达适当的细胞分区, 才能完成其特定功能。关于蛋白质的分选和定向运送的分子基础是当今生物学研究中的热点问题, 对 Rab 的研究将有助于了解细胞内囊泡定向运输的分子动力学机制。目前国内有关 Rab 的文献较少, 本文将就囊泡转运中, Rab 及其马达分子的相互作用进行综述。

1 Rab 与胞内转运

Rab (在酵母和植物中又叫 Ypt) 是一种单体形式的 GTP 结合蛋白, 约由 200 个氨基酸组成^[1]。研究表明 Rab 存在于所有的真核细胞中, 在进化上比较保守, 调节着胞内基本的运输过程。目前有 60 种已知的人 Rab 基因, 而 Rab 蛋白家族则更复杂, 因为有证据显示 Rab 基因可进行选择性拼接, 形成功能特异的异构体 (isoform)。虽然 Rab 本身是可溶的, 但通过与类异戊二烯 (isoprenoid) 的共价结合, Rab 可锚定到胞内细胞器和囊泡的膜上并与其结合^[2]。

作为分子开关, Rab 通过在 GTP 形式和 GDP 形式之间进行转换而发挥作用。在 Rab 鸟苷酸交换因子 (GDP/GTP exchange factor, GEF) 的作用下, Rab 可由 GDP 结合转换为 GTP 结合的活性形式, 定位到特定细

胞器的膜上, 进而募集效应蛋白, 在囊泡运输的不同阶段发挥其调节作用。通过 GTPase 激活蛋白 (GTPase-activating protein, GAP) 的作用, Rab 又可由 GTP 转换为 GDP 形式, 在 GDP 解离抑制因子 (GDP dissociation inhibitor, GDI) 的介导下与效应蛋白分离, 停留在胞质溶胶中, 没有活性。有两种蛋白质可与 Rab 的 GDP 形式结合, 一种是 Rab 护送蛋白 (Rab escort protein, REP), 它可释放类异戊二烯化的 Rab 到供体膜上; 另一种是 GDI, 它可从受体膜上重新找回 Rab, 并维持其 GDP 结合的无活性稳定复合体形式^[3]。

典型的囊泡运输过程一般可划分为四步, (1) 囊泡形成: 货物分子 (cargo) 先被浓缩在一个供体膜内腔中 (donor compartment), 然后被包进一个萌芽的囊泡, 囊泡随即从供体膜上脱落。Rab1、Rab2、Rab5 和 Rab9 等多种蛋白质参与了这一过程。(2) 囊泡转运: 囊泡通过细胞质中的细胞骨架如微管 (microtubule) 和肌动蛋白 (actin) 进行迁移。与这一过程有关的 Rab 包括 Sec4、Rab5、Rab6 和 Rab27 等。(3) 囊泡锚定: 即囊泡锚定在受体膜 (acceptor compartment) 上。Ypt1、Ypt7、Sec4、Rab1 和 Rab5 等多种蛋白质参与了这一过程。(4) 囊泡融合: 囊泡与受体膜融合, 货物被释放进受体膜内腔中或释放到细胞外区域。在整个运输过程中, 不同的 Rab 可在同一过程中发挥作用, 如 Ypt1 和 Rab1 均可调节从内质网到高尔基的转运; 同一 Rab 也可在多个连续步骤中发挥其功能, 如 Rab5 调节从质膜到内体转运过程中的前 3 个步骤。

收稿日期: 2007-11-29 接受日期: 2008-05-05

重庆师范大学科研基金资助项目 (No. 04LB007)

*通讯作者。Tel: 023-65362773, E-mail: xiaobt26@yahoo.com.cn

2 马达分子

马达分子是分布于细胞内部或细胞表面的一类蛋白质, 可利用化学能进行机械做功。在生物体内参与了胞质运输、DNA 复制、细胞分裂、肌肉收缩等一系列重要生命活动。马达分子包括线性推进和旋转式两大类。其中线性马达分子是将化学能转化为机械能, 并沿着一条线性轨道运动的生物分子, 主要包括肌球蛋白(myosin)、驱动蛋白(kinesin)、动力蛋白(dyneins)、DNA解旋酶(DNA helicase)和RNA聚合酶(RNA polymerase)等。旋转式马达分子的工作, 则类似于定子和转子之间的旋转运动。

有两种细胞骨架成分支持马达分子调节的胞内转运。一种是肌动蛋白纤维, 另一种是微管。在动物细胞中, 肌动蛋白纤维提供低速短距离的转运, 微管则提供高速长距离的转运。肌球蛋白家族成员驱动的转运, 以肌动蛋白(actin)为线性轨道, 其运动过程与ATP水解相偶联。驱动蛋白和动力蛋白驱动的转运, 都以微管蛋白为轨道。

结构上, 肌球蛋白由头、颈和可变的尾部构成, 其尾部与特定货物的结合有关^[4]。驱动蛋白则由一条重链(kinesin heavy chain, KHC)和一条轻链(kinesin light chain, KLC)构成, KHC又由球状头部(启动区)、茎和球状尾部3个亚区组成(subdomains)。驱动蛋白家族成员中的大部分都朝微管的正端转运货物^[5]。动力蛋白是一个大的多聚复合体, 由2条重链、2条动力蛋白中链(dynein intermediate chains, DICs)、4条中轻链(light intermediate chains, LICs)和若干条轻链构成^[6]。通过中链, 动力蛋白可与活化因子——动力蛋白激活蛋白(dynactin)相互作用, 动力蛋白激活蛋白也是一复合体, 由p150^{glued}、p50^{dynamitin}等多个亚基

组成, 可将动力蛋白连接到货物分子。动力蛋白中仅有动力蛋白1和动力蛋白2两种异构型调节囊泡转运, 可驱动货物分子朝微管的负端移动。

3 Rab调控马达分子

人们对Rab调节囊泡运输的分子机制一直不太清楚, 直到最近才认识到这与马达分子关系密切。越来越多的证据表明Rab可募集马达分子到细胞器, 再由马达分子驱动相应细胞器的转运(表1)^[7-20]。

3.1 同种Rab可作用于不同的马达分子

Wu等^[21]发现发生了MYO A (肌球蛋白 a 的基因)和RAB27A基因突变的鼠, 其黑素体都发生同样严重的缺损, 因而这两种鼠具有相似的体色^[22,23]。这说明MYO A和RAB27A基因都同黑素体的转运有关。进一步的研究发现Rab27a可通过其效应蛋白melanophilin将肌球蛋白 a 募集到黑素体从而调控其转运, 在这一过程中效应蛋白melanophilin作为肌球蛋白 a 的受体而发挥作用。近来的研究又发现, 在视网膜上皮细胞中, Rab27a可通过另一效应蛋白MyRIP, 将肌球蛋白 a 募集到黑素体, 通过形成Rab27a-MyRIP-肌球蛋白 a 复合体, 来调控黑素体的转运^[24,25]。可见在不同的细胞中通过不同的效应蛋白, Rab27a可募集不同的肌球蛋白到同一细胞器。

3.2 不同的Rab可作用于同种马达分子

S.cerevisiae Myo2p是一种酵母中的肌球蛋白, 酵母中的两种Rab蛋白sec4p和Ypt11可分别将Myo2p锚定到分泌型颗粒和线粒体, 从而调节相应细胞器的转运。可见不同的Rab也可募集同种肌球蛋白到不同的细胞器。

3.3 Rab间的协作

表1 Rab小G蛋白及其相关的马达分子

Rab分子	马达分子	效应分子	细胞器	参考文献
Rab4	KIF3B		内体	[7]
	LIC		内体	[8]
Rab5	DIC		内体	[9]
	KIF16B	PI3K	内体	[10]
Rab6	p50 ^{dynamitin}	BicD1/2	高尔基体	[11]
	p150 ^{glued}		高尔基体	[12]
	RB6K/MKLP2		高尔基体	[13]
Rab7	Dynein/dynactin	RILP	内体, 溶酶体	[14]
Rab8	Myosin	Optineurin	高尔基体	[15]
Rab11	Myosin b	FIP-2	再循环颗粒	[16]
Sec4p	Myo2		分泌型颗粒	[17]
Ypt11p	Myo2		线粒体	[18]
Rab27a	Myosin a	Melanophilin/slac2	黑素体	[19]
	Myosin a	MyRIP	黑素体	[20]

最近的研究表明, Rab间可通过调控不同的马达分子来分工协作共同完成对同一细胞器的转运。同样是对黑素体的转运, Rab7通过调控动力蛋白利用微管来转运前期和中期的黑素体, 而后期的成熟黑素体由于缺乏Rab7, 则由Rab27a募集肌球蛋白 α 利用肌动蛋白来进行转运^[26]。

同时Rab介导的以微管和肌动蛋白为基础的转运也是相互协作的。如在皮肤黑素细胞中, 依赖微管的双向转运系统, 黑素体被转运到细胞外周, 在那里则由肌动蛋白系统确保黑素体被捕获、停留以便被转运到角化细胞中^[27]。另一方面, 这两种不同的系统又相互竞争, 在非洲蟾蜍属(*Xenopus*)中, 肌球蛋白 α 可通过抵消动力蛋白的作用来调节黑素体的扩散与传播^[28]。可见Rab完美地协调了这两种不同的系统, 但在这一过程中对于Rab所发挥的直接作用还需进一步研究。

3.4 激酶的影响

研究发现, 激酶参与了马达分子调节的转运。脂肪细胞中在胰岛素敏感的葡糖转运异构体4 (insulin-responsive glucose transporter, GLUT4)从核外区转移到质膜区的胞吐过程中, Rab4发挥了重要的调节作用。胰岛素的刺激, 先活化Rab4, 使其与KIF3B (驱动蛋白-2家族成员)结合, 然后KIF3B又进一步与微管结合并驱动GLUT4沿微管移动。而这两种结合过程均依赖于PI3K和PKC λ 的活化, 即KIF3B的磷酸化和其与微管的结合密切相关, KIF3B可能是这些激酶的靶分子^[7]。近年来, 通过RNA干扰(RNAi)实验, 人们进一步发现超过200多种激酶与胞吞和胞吐过程有关^[29], 但这些激酶是如何影响与马达分子有关的转运的还不清楚。

此外, KIF16B (驱动蛋白家族成员)也能通过它的C端PhoX同源区与携带有PI(3)P的囊泡相连接。在HeLa细胞中Rab5可产生1个含PI(3)P的局部区域, 供KIF16B结合, 通过这种方式将KIF16B募集到早期内体, 从而驱动内体朝微管正端转运^[10]。但是, 也有研究表明Rab5和PI3激酶的活化也调节了早期内体沿微管负端转运^[30], 那么, 这种相反活性究竟是怎样被相同的Rab5和可能也是相同的PI3激酶调控的呢? 这有待进一步研究。

4 Rab调控马达分子的机制

4.1 马达分子作为Rab的效应分子

研究表明, Rab可直接募集特异马达分子到靶膜,

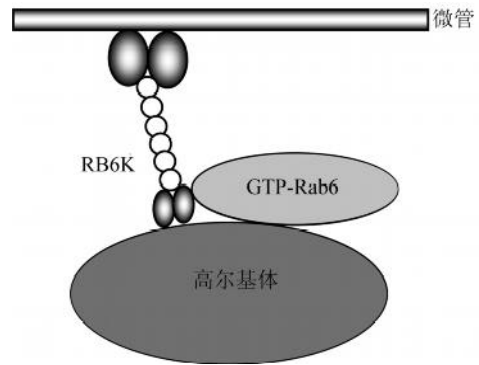


图1 Rab6直接募集马达分子驱动高尔基体转运^[13]

从而调节细胞器或囊泡的运输。第一个关于Rab直接结合到马达分子上的报道与Rab驱动蛋白6(Rabkinesin-6, RB6K)的鉴定有关^[31], 这是一种驱动蛋白样蛋白。研究发现, GTP-Rab6可与RB6K结合, 并将其募集到高尔基体, 再由RB6K驱动高尔基朝微管的正端分布。在这一过程中, RB6K作为Rab6的效应分子而发挥作用(图1)。随后, 人们又相继发现了Rab6的另外两种效应蛋白BicD1和BicD2, 这是两种动力蛋白激活蛋白结合蛋白(dynactin-binding protein), 可将Rab6连接至动力蛋白/动力蛋白激活蛋白复合体的亚基p50^{dynamitin}上^[32]。这说明, 活化的Rab6既可与驱动蛋白也可与动力蛋白作用, 进而调节高尔基的正端和负端运输。但是, 这两种驱动方向相反的马达分子若同时活化将不能转运高尔基囊泡, 它们的活化是如何被调控的还有待进一步探索。

另外, Rab8的活性形式(GTP-Rab8)也可与其效应分子肌球蛋白结合, 并将肌球蛋白募集到高尔基体, 以驱动高尔基囊泡沿肌动蛋白纤维移动。

4.2 马达分子作为Rab效应分子的配体

Rab除了可直接募集特异马达分子到靶膜外, 也可通过其效应分子间接募集特异马达分子到细胞器。研究表明, Rab7可通过它的效应分子Rab7相关的溶酶体蛋白(Rab7-interacting lysosomal protein, RILP)将动力蛋白/动力蛋白激活蛋白马达分子募集到晚期内体和溶酶体, 从而使这些细胞器在微管负末端积聚^[14]。关于Rab7对这一过程的调控, 最新的研究结果有了进一步的阐明。首先Rab7募集它的两个效应分子RILP和氧固醇结合蛋白相关蛋白1L (oxysterol-binding protein-related protein 1L, ORP1L)形成三元复合体, 然后RILP与动力蛋白激活蛋白的亚基p150^{glued}结合, 并募集马达分子动力蛋白, 最后Rab7-RILP由ORP1L转移给血影蛋白, 在与血影蛋白相互作用后, 与RILP结

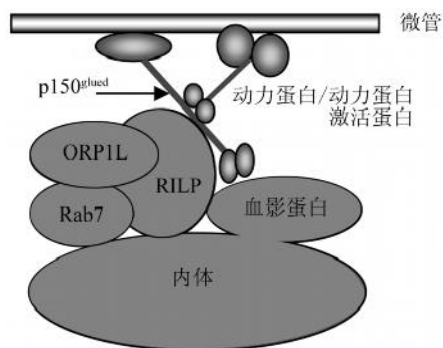


图2 Rab7间接募集马达分子驱动内体转运^[33]

合的动力蛋白被活化,从而驱动晚期内体转运到微管负末端。Rab7就是通过这种阶梯式的装配过程,活化动力蛋白调节晚期内体的转运^[33](图2)。

此外, Rab11a通过其效应分子Rab11家族相关蛋白2(Rab11 family interacting protein-2, FIP-2)也可间接募集肌球蛋白b到内体(endosomes)从而驱动内体沿微管移动^[34,35]。

5 小结与展望

证据表明, Rab可直接或间接的募集与微管和肌动蛋白相关的特异马达分子到靶膜,从而调节细胞器或囊泡的运输。马达分子或直接作为Rab的效应蛋白,或作为其效应分子的配体,通过Rab的介导,马达分子被募集到相应的细胞器从而驱动其沿细胞骨架移动。由于Rab是GTP依赖的分子开关,任何一种Rab在时间和空间上表现活化和非活化,可以调节马达分子与相应细胞器之间在时空上是黏附或脱离。

近来发现Rab功能的丧失与一些遗传疾病以及肿瘤的发生、转移有着密切关系^[36,37],这是与其调节囊泡运输的功能相一致的。由于囊泡运输发生了障碍,使蛋白质不能抵达目的地,从而导致了疾病的发生。因此通过药理学的和遗传学的方法来调控Rab的功能,可能将是一种新的疾病治疗方法。

通过Rab与马达分子在囊泡转运中相互关系的阐明,使人们对囊泡运输的分子机制有了更进一步的

认识,但其中仍然存在许多不明之处,如Rab是如何募集马达分子的?一种Rab是怎样协调不同的马达分子的?同种马达分子又是如何被多种Rab识别的?Rab间是如何实现分工协作的?对于Rab和马达分子介导的转运,激酶发挥了怎样的作用等,都有待进一步探讨。

参考文献(References)

- [1] Segev N. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13: 500
- [2] Pereira-Leal JB et al. *FEBS Lett*, 2001, 498: 197
- [3] Zerial Met al. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2: 107
- [4] Berg JSet al. *Mol Biol Cell*, 2001, 12: 780
- [5] Lawrence CJ et al. *J Cell Biol*, 2004, 167: 19
- [6] Vallee RB et al. *J Neurobiol*, 2004, 58: 189
- [7] Imamura Tet al. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 4892
- [8] Bielli A et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281: 1141
- [9] Huang J et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 13084
- [10] Hoepfner S et al. *Cell*, 2005, 121: 437
- [11] Short B et al. *Curr Biol*, 2002, 12: 1792
- [12] Matanis Tet al. *Nat Cell Biol*, 2002, 4: 986
- [13] Echard A et al. *Science*, 1998, 279: 580
- [14] Jordens I et al. *Curr Biol*, 2001, 11: 1680
- [15] Sahlender DA et al. *J Cell Biol*, 2005, 169: 285
- [16] Lapierre LA et al. *Mol Biol Cell*, 2001, 12: 1843
- [17] Pruyne DW et al. *J Cell Biol*, 1998, 143: 1931
- [18] Itoh Tet al. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 7744
- [19] Fukuda Met al. *J Biol Chem*, 2002, 277: 12432
- [20] Desnos Cet al. *J Cell Biol*, 2003, 163: 559
- [21] Wu X et al. *J Cell Sci*, 2001, 114: 1091
- [22] Wilson SM et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 7933
- [23] Strom Met al. *J Biol Chem*, 2002, 277: 25423
- [24] Gibbs D et al. *J Cell Sci*, 2004, 117: 6473
- [25] Klomp AE et al. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2007, 64: 474
- [26] Barral DC et al. *Pigment Cell Res*, 2004, 17: 111
- [27] Gross SP et al. *J Cell Biol*, 2002, 156: 855
- [28] Jordens I et al. *Pigment Cell Res*, 2006, 19: 412
- [29] Pelkmans L et al. *Nature*, 2005, 436: 78
- [30] Nielsen E et al. *Nat Cell Biol*, 1999, 1: 376
- [31] Fontijn RD et al. *Mol Cell Biol*, 2001, 21: 2944
- [32] Fuchs E et al. *Methods Enzymol*, 2005, 403: 607
- [33] Johansson Met al. *J Cell Biol*, 2007, 176: 459
- [34] Lapierre LA et al. *Methods Enzymol*, 2005, 403: 715
- [35] Hales CM et al. *J Biol Chem*, 2002, 277: 50415
- [36] Barbieri MA et al. *J Cell Biol*, 2000, 151: 539
- [37] Lanzetti L et al. *Nature*, 2000, 408: 374

Rab Small GTPases and Motor Proteins in Vesicular Transport

Bei Tang *

(Department of Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract Rab are the largest subfamily of Ras superfamily of small GTP-binding protein, they function as regulators in different vesicular transport processes. When bound with GTP, the Rab can recruit specific sets of effector proteins onto membranes. Recently, a number of Rab were identified that regulate the transport of corresponding vesicle by recruiting microtubule- or actin-based motor proteins to their target membranes. The molecular switch property of Rabs may enable them to control vesicular transport in both spatial and timed manners.

Key words Rab; myosin; kinesin; dynein

Received: November 29, 2007 Accepted: May 5, 2008

This work was supported by the Chongqing Normal University (No.04LB007)

*Corresponding author. Tel: 86-23-65362773, E-mail: xiaobt26@yahoo.com.cn