

JIP3 蛋白结构及生理功能研究

段 珊

(济宁医学院生物科学学院, 山东 日照 276826)



段珊, 女, 汉族, 1983 年 1 月出生于湖北省。2011 年 12 月毕业于山东大学医学院生物化学与分子生物学专业, 获理学博士学位。主要从事神经系统疾病的分子生物学机制方面的工作, 研究神经营养因子受体在神经元胞内的转运机制。2013 年 8 月到济宁医学院生物科学学院医学生物学教研室工作, 主要讲授《细胞生物学》、《动物生物学》以及《留学生细胞生物学》课程。目前已发表 SCI 文章 2 篇, 分别发表在“*The Journal of Neuroscience*”和“*Neuroendocrinology Letters*”上, 累计影响因子为 7.9。

摘 要 JNK 相互作用蛋白 3(JIP3)蛋白最初被认为是一种调节丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号通路的支架蛋白, 近年来陆续被发现在神经元的胞内运输、神经元轴突的发育以及大脑发育过程中起到重要作用。通过对国内外文献的研究与分析, 本文对 JIP3 蛋白分子结构及其生理功能等方面进行较全面的综述, 为进一步深入的功能研究和应用提供有价值的参考。

关键词 JIP3; 分子结构; 生理功能

中图分类号: Q189 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2014)12-385-04

Research progress in molecular structure and physiological functions of JIP3

DUAN Shan

(College of Life Sciences, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: As a scaffold protein that function to regulate MAPK signaling in mammals, JIP3 was recently found to play important roles in intracellular transport, axon elongation and brain development. This article reviews the molecular structure and physiological function of JIP3 protein to provide a valuable reference for the further function research and application.

Key words: JIP3; Molecular structure; Physiological function

JNK 相互作用蛋白 3(JIP3)蛋白作为 JIP 家族的一名成员, 最初被认为是 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路中的支架蛋白能够与各级 JNK 级联分子相互作用并调节 JNK 信号通路的激活^[1-3]。近年来, 随着研究的深入, 陆续发现 JIP3 蛋白具有在胞浆运输中衔接运载物和驱动蛋白的作用^[4-9]、介导酪氨酸激酶 B (tyrosine kinase receptor, TrkB)受体顺轴突转运的作用^[10]以及调节神经元轴突生长^[11]的作用。

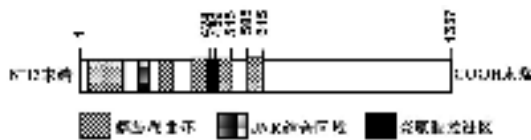
1 JIP3 蛋白分子结构研究进展

1.1 分子克隆和序列分析

在研究与 JNK 信号通路蛋白的相互作用蛋白时, 利用 JNK1 作为诱饵进行酵母双杂交实验, 发现了 2 个能够与 JNK1 相互作用而不与细胞外信号调节激酶 2 相互作用的克隆。通过测序发现这 2 个克隆的重叠区域对应于一段互补 DNA(cDNA)序列, 并将其命名为 JNK 相互作用蛋白 3 简称 JIP3^[1]。从小鼠心脏 cDNA 文库和小鼠大脑 cDNA 文库中分离出的最大的 JIP3cDNA 克隆分别为 JIP3a(5442bp)和 JIP3b(5512bp)。序列分析表明这 2 个 cDNA 克隆本质上基本相同, 但是

JIP3b 有 2 处长度分别为 18 和 27 个碱基的插入因此比 JIP3a 长。此外, JIP3a 的第 376 位的苯丙氨酸在 JIP3b 中被亮氨酸所代替。JIP3a 和 JIP3b 可能是同一个基因的转录子在不同的剪切过程中形成的^[1]。具体结构示意图见图 1。

序列分析表明在 JIP3 蛋白的氨基末端有 JNK 结合区域、几个螺旋卷曲环状的预测功能区域以及一个亮氨酸拉链结构的功能区域,而这几个功能区也陆续被发现作为与其它蛋白的结合区域而发挥作用,具体见图 1。



不同的方式分别代表 JIP3 蛋白中的功能结构域:螺旋卷曲区域、JNK 结合区以及亮氨酸拉链区

图 1 JIP3 蛋白结构示意图

1.2 JIP3 蛋白的表达

通过检测:JIP3 信使 RNA 在鼠脑中表达最高,在心脏和其他组织中表达较低,且在鼠脑中广泛表达^[1,12-13]。而在神经元细胞中,JIP3 蛋白主要分布在核周区域和神经突起的末梢和生长锥中^[10]。

1.3 JIP3 蛋白在周围神经中的运输

在外周神经系统中,坐骨神经结扎实验表明:JIP3 蛋白既能够进行顺向转运也能够进行逆向转运^[10]。而在机体受到损伤时,JIP3 蛋白更倾向于和负责逆向运输动力蛋白激活蛋白(dynactin)结合,导致逆向运输的净增长^[14]。这种运输方式会影响到其运载物的运输方向及后续生理功能。

2 JIP3 蛋白生理功能研究进展

2.1 促进 JNK 信号通路的激活

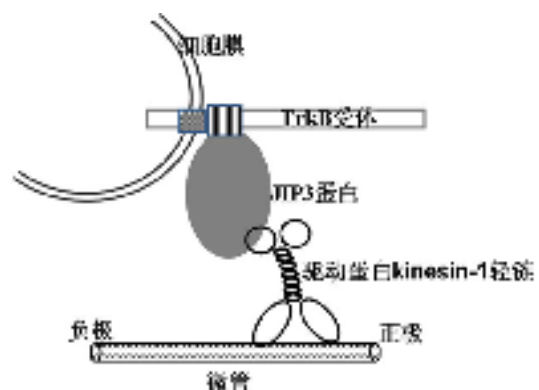
JIP3 蛋白与 MAPK 信号通路各级都发生相互作用,其中包括 JNK、MAPK 激酶(MKK7)以及 MAPK 激酶(MLK3)^[1]。而 JIP3 蛋白本身分子量较大,那么可以认为 JIP3 蛋白作为一种大的支架蛋白,既能与各级激酶结合且提供一个场所来促进 JNK 信号通路的激活。免疫共沉淀试验表明:JIP3 能够与 JIP 家族其他成员如 JIP1/JIP2 形成寡聚体来发挥作用,且 JIP3 的 N 端的环状区即是结合部位^[1,3]。

2.2 作为衔接蛋白连接驱动蛋白以及其运载物

目前已知:在神经元这种高度极化的细胞中进行的物质转运根据其运输方向可以分为顺向转运(由微管负极端向正极端的转运)和逆向转运(由微管正极端向负极端的转运),其中顺向转运是由驱动蛋白 kinesin-1 介导的^[15-18]。驱动蛋白 kinesin-1 由 2 条重链 2 条轻链组成;头部具有 ATP 结合部位和微管结合部位,另一端是驱动蛋白重链和轻链组成的扇形尾端^[15]。多项研究证实:JIP3 蛋白通过其亮氨酸拉链区与驱动蛋白 kinesin-1 的轻链的 TPR 区域直接结合^[1,10],又通过其它结合区域与一些跨膜分子等结合^[1,9-10],这种结合作用导致了 JIP3 蛋白及其运载的蛋白可以通过驱动蛋白 kinesin-1 进行顺向转运。在线虫和果蝇中对 JIP3 蛋白的同源异构体 syd 和 UNC-16 进行基因敲除后,发现其囊泡顺向转运的量减少^[5,19-20],同样也证实 JIP3 蛋白可以作为衔接蛋白衔接驱动蛋白及其运载物。

2.3 特异性介导 TrkB 受体顺轴突转运并能增强其配体脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的信号转导效应

研究表明:JIP3 蛋白能够与神经营养因子受体 TrkB 结合并介导其依赖于驱动蛋白 kinesin-1 的顺轴突转运(见图 2)^[10],在体外培养的神经元中增强 JIP3 蛋白的表达能够显著提高 TrkB 受体的顺轴突转运量进而增强其配体 BDNF 的信号转导效应;反之亦然:干扰掉 JIP3 蛋白的表达后,TrkB 受体的顺轴突转运量随之显著减少,活细胞工作站中观察到神经元中顺轴突转运的 TrkB 受体减少



JIP3 蛋白作为链接蛋白一端与驱动蛋白 kinesin-1 的轻链结合;另一端与 TrkB 受体的近膜区结合,介导其特异性的顺轴突转运

图 2 JIP3 蛋白特异性介导 TrkB 受体顺轴突转运

而静止的 TrkB 受体增多,其配体 BDNF 的信号转导效应减少或消失^[10]。有意思的是:增加或减少 JIP3 蛋白的表达量对于树突中的顺向转运没有影响。

2.4 介导激活的 JNK 以及溶酶体的逆向运输

众所周知,高度极性的神经元中的长轴突转运包括顺向转运和逆向转运。而逆向转运的顺利进行需要动力蛋白(dynein)和其运载物之间的精确识别和配对。最近研究发现:JIP3 蛋白可以作为衔接蛋白介导激活的 JNK 以及溶酶体的逆向运输^[14]。将斑马鱼的 JIP3 基因敲除后,发现其轴突末梢严重肿胀,其中主要是大量激活的 JNK 以及溶酶体。其机制主要是由于 JIP3 基因敲除后,激活的 JNK 以及溶酶体的逆向运输的频率明显降低而顺向运输频率不变,这样这些运载物就被源源不断地运向轴突末梢而不能被运送回胞体最终造成了轴突末梢的高度肿胀。在加入缺乏 JNK 结合区域的 JIP3 蛋白后,磷酸化的 JNK 仍然堆积在轴突末梢不能正常输送回胞体,说明 JNK 与 JIP3 蛋白的相互作用一旦被破坏,磷酸化的 JNK 的逆向转运就不能顺利进行^[14]。研究表明:JIP3 蛋白对于激活的 JNK 以及溶酶体的逆向运输是必不可少的,同样说明 JIP3 蛋白事实上作为一种衔接蛋白介导这些运载物和 dynein 之间的连接。

2.5 调节神经元轴突生长作用

神经元的高度极性是大脑中神经环路的精确传导的基本要素。研究人员发现:JIP3 蛋白在轴突发育的关键时期在轴突末梢高度表达^[11]。在体外培养的海马和皮层神经元中提高或者降低 JIP3 蛋白的表达能够相应增强或者减弱神经元轴突的生长,这表明 JIP3 蛋白可以促进神经元轴突的生长^[11]。研究还发现:JIP3 蛋白被驱动蛋白 kinesin 成功地运输到轴突末梢是附近 JNK 磷酸化完成的前提条件,而轴突末梢激活的 JNK 通过调节肌动蛋白解聚因子(cofilin)的活性以及调节微丝的运动来促进轴突末梢的延长。简而言之,JIP3 蛋白通过与驱动蛋白 kinesin-1 的轻链结合被运输到轴突末端,进而增强 JNK 信号通路及 cofilin 的活性以及调节微丝的运动,从而促进轴突的生长^[11]。

2.6 在大脑发育过程中的作用

JIP3 基因敲除的小鼠生下不久就因为不能呼吸而死亡,显微解剖分析发现其连接左右大脑半球的端脑联合形成缺陷^[21-22];说明 JIP3 蛋白的正常表达对于大脑端脑联合的形成是必不可少的,其机

制可能与 JIP3 蛋白对于 MLK 信号通路其作用有关^[21]。已往研究表明:神经特异性的混合性谱系激酶(MLK)通过在大脑发育过程中激活 JNK 信号通路调节神经元骨架活动从而促进端脑联合的形成的。而 JIP3 蛋白由于其激活 JNK 作用也成为大脑发育中端脑联合形成的必要条件。而缺乏 JIP3 蛋白表达造成的端脑联合缺陷,在体内表达的同家族成员 JIP1 后可以被部分纠正,也说明了 JIP3 蛋白家族在大脑发育中的关键作用^[22]。

3 结语

本文对 JIP3 蛋白的分子结构及生理功能 2 个方面的研究进展进行了综述。分子结构上主要介绍了其序列、结构域以及在体内的表达和分布;生理功能方面主要阐述了其作为支架蛋白促进 JNK 信号通路的激活、作为衔接蛋白连接驱动蛋白以及其运载物、特异性介导 TrkB 受体顺轴突转运并能增强其配体 BDNF 的信号转导效应、介导激活的 JNK 以及溶酶体的逆向运输、调节神经元轴突生长作用以及在大脑发育过程中的作用。作为一个近年来研究的热点蛋白,JIP3 蛋白的功能尚未完全明确,值得进行下一步的深入研究;由于其在神经系统中起到的重要作用,也许不久的将来 JIP3 蛋白会出现在神经系统疾病的分子生物学治疗当中。

参考文献:

- [1] Kelkar N, Gupta S, Dickens M, et al. Interaction of a mitogen-activated protein kinase signaling module with the neuronal protein JIP3[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(3):1030-1043.
- [2] Takino T, Nakada M, Miyamori H, et al. JSAP1/JIP3 cooperates with focal adhesion kinase to regulate c-Jun N-terminal kinase and cell migration[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45):37772-37781.
- [3] Whitmarsh A J. The JIP family of MAPK scaffold proteins[J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34(Pt 5):828-832.
- [4] Fu M M, Holzbaur E L. Integrated regulation of motor-driven organelle transport by scaffolding proteins[J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24(10):564-574.
- [5] Zheng Q, Nonet M L. UNC-16/JIP3/sunday driver: a new cop on the organelle highway[J]. *Genetics*, 2013, 194(1):35-37.
- [6] Hammond J W, Griffin K, Jih G T, et al. Co-operative versus independent transport of different cargoes by Kinesin-1[J]. *Traffic*, 2008, 9(5):725-741.
- [7] Verhey K J, Meyer D, Deehan R, et al. Cargo of kinesin identified as JIP scaffolding proteins and associated signaling mol-

- ecules[J]. *J Cell Biol*, 2001, 152(5):959-970.
- [8] Arimoto M, Koushika S P, Choudhary B C, et al. The *Caenorhabditis elegans* JIP3 protein UNC-16 functions as an adaptor to link kinesin-1 with cytoplasmic dynein[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(6):2216-2224.
- [9] Koushika S P. "JIP"ing along the axon: the complex roles of JIPs in axonal transport[J]. *Bioessays*, 2008, 30(1):10-14.
- [10] Huang S H, Duan S, Sun T, et al. JIP3 mediates TrkB axonal anterograde transport and enhances BDNF signaling by directly bridging TrkB with kinesin-1[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(29):10602-10614.
- [11] Sun T, Yu N, Zhai L K, et al. c-Jun NH2-terminal kinase (JNK)-interacting protein-3 (JIP3) regulates neuronal axon elongation in a kinesin-and JNK-dependent manner[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(20):14531-14543.
- [12] Akechi M, Ito M, Uemura K, et al. Expression of JNK cascade scaffold protein JSAP1 in the mouse nervous system[J]. *Neurosci Res*, 2001, 39(4):391-400.
- [13] Miura E, Fukaya M, Sato T, et al. Expression and distribution of JNK/SAPK-associated scaffold protein JSAP1 in developing and adult mouse brain[J]. *J Neurochem*, 2006, 97(5):1431-1446.
- [14] Drerup C M, Nechiporuk A V. JNK-interacting protein 3 mediates the retrograde transport of activated c-Jun N-terminal kinase and lysosomes[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(2):e1003303.
- [15] Abe N, Almenar-Queralt A, Lillo C, et al. Sunday driver interacts with two distinct classes of axonal organelles[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(50):34628-34639.
- [16] Guzik B W, Goldstein L S. Microtubule-dependent transport in neurons: steps towards an understanding of regulation, function and dysfunction[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16(4):443-450.
- [17] Verhey K J, Hammond J W. Traffic control: regulation of kinesin motors[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(11):765-777.
- [18] Butowt R, von Bartheld C S. Conventional kinesin-I motors participate in the anterograde axonal transport of neurotrophins in the visual system[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85(12):2546-2556.
- [19] Cavalli V, Kujala P, Klumperman J, et al. Sunday Driver links axonal transport to damage signaling[J]. *J Cell Biol*, 2005, 168(5):775-787.
- [20] Edwards S L, Yu S C, Hoover C M, et al. An Organelle Gage-keeper Function for *Caenorhabditis elegans* UNC-16 (JIP3) at the Axon Initial Segment[J]. *Genetics*, 2013, 194(1):143-161.
- [21] Kelkar N, Delmotte M H, Weston C R, et al. Morphogenesis of the telencephalic commissure requires scaffold protein JNK-interacting protein 3 (JIP3) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(17):9843-9848.
- [22] Ha H Y, Cho I H, Lee K W, et al. The axon guidance defect of the telencephalic commissures of the JSAP1-deficient brain was partially rescued by the transgenic expression of JIP1 [J]. *Dev Biol*, 2005, 277(1):184-199.

(收稿日期 2014-10-15)

(上接第 384 页)焓变、熵变及吉布斯自由能变等热力学数据,对这些热力学数据进行分析,研究结果表明小牛胸腺 DNA 分子上有两类位点可以与 CaFL 的 FL^{2-} 离子相结合。量热学实验以及光谱实验均表明在低浓度范围内药物主要以氢键和静电相互作用力与 DNA 分子相结合;而在高浓度范围内则主要以疏水相互作用力与 DNA 分子相结合。

参考文献:

- [1] Yin Z, Wang Y, Whittell L R, et al. DNA replication is the target for the antibacterial effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs[J]. *Chem Biol*, 2014, 21(4):481-487.
- [2] Zhao P, Xu L C, Huang J W, et al. DNA binding and photocleavage properties of a novel cationic porphyrin anthraquinone hybrid[J]. *Biophys Chem*, 2008, 134(1/2):72-83.
- [3] 张碧程,胡林,刘艳辉,等. 喹诺酮类药物与 DNA 分子相互作用的紫外光谱研究[J]. *山东大学学报(理学版)*, 2011, 46(7):11-16.
- [4] 上官国强,曲晓刚. 有机锗萘酰胺和有机锗萘酚倍半氧化物与 DNA 的相互作用[J]. *济宁医学院学报*, 2013, 36(6):157-161.
- [5] Shahabadi N, Maghsudi M, Mahdavi M, et al. Interaction of calf thymus DNA with the antiviral drug Lamivudine[J]. *DNA Cell Biol*, 2012, 31(1):122-127.
- [6] Canotilho J, Esteves de Castro R A, Helena M, et al. Infrared study of the acidic and basic forms of betaxolol[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2006, 64(2):279-286.
- [7] Kunwar A, Simon E, Singh U, et al. Interaction of a Curcumin Analogue Dimethoxycurcumin with DNA[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2011, 77(4):281-287.
- [8] Talaulikar V, Arulkumaran S. Folic acid in pregnancy[J]. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*, 2013, 23:286-288.
- [9] Miller J W, Folic Acid. *Encyclopedia of human nutrition* [M]. 3rd Edition. Elsevier, 2013, 262-269.
- [10] Hosseini M B, Khamnian Z, Dastgiri S, et al. Folic acid and birth defects: a case study (Iran) [J]. *J Pregnancy*, 2011, 2011:1-3.

(收稿日期 2014-10-15)