

早幼粒细胞白血病蛋白核体的结构形成及功能研究进展

于伟 综述 张向阳 审校
(济宁医学院基础医学院, 济宁 272067)



于伟,女,汉族,山东泗水人,1981年9月出生。2015年7月毕业于北京协和医学院生物化学与分子生物学专业,获得理学博士学位。2015年9月到济宁医学院工作。主要研究领域包括造血干细胞红系分化及机制研究,红系分化发育相关转录因子功能机制研究。读博期间参与多项课题研究。曾在 *Blood* 上发表文章 1 篇(IF 为 9.775),累积影响因子 25 分。

摘要 早幼粒细胞白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 蛋白是肿瘤抑制子,它最早发现于急性早幼粒细胞白血病的一个亚型。该病的特征为 15 号染色体上的 PML 基因与 17 号染色体上的维甲酸受体 α (RAR α) 基因发生易位,表达 PML-RAR α 融合蛋白。PML 蛋白是一种核体 (nuclear bodys),是与核基质结合的、动态的、亚核多蛋白复合物,可以通过募集和释放不同种蛋白,介导这些蛋白的翻译后修饰,并由此参与调控多种细胞功能。本文就 PML 核体的结构、形成及功能作一概述。

关键词 早幼粒细胞白血病蛋白;核体;结构;形成;功能

中图分类号:R733.7 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2016)12-381-07

Research advances on structure formation and function of promyelocytic leukemia (PML) protein

YU Wei, ZHANG Xiangyang

(Academy of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: The promyelocytic leukemia (PML) gene is a gene known to be a tumor suppressor. It was initially discovered in acute promyelocytic leukemia (APL) in which at (15;17) chromosomal translocation fused it to the retinoic acid receptor alpha (RAR α). PML nuclear bodies are matrix-associated dynamic structures that favour the sequestration and release of proteins, mediate their post-translational modifications and implicate in the regulation of diverse cellular functions. Here we summarize the structure, formation and cellular function of PML-NB.

Keywords: Promyelocytic leukemia; Nuclear body; Structure; Formation; Function

急性早幼粒细胞白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 基因是肿瘤抑制子。最初发现于急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 的一个亚型。在 APL 中,位于 15 号染色体上的 PML 基因与位于 17 号染色体上的维甲酸受体 RAR α 融合,并表达相应的融合蛋白 PML-RAR α ,

该融合蛋白抑制造血祖细胞的分化,导致白血病的发生。As₂O₃ 治疗 PML 的作用原理即在于其可破坏融合蛋白 PML-RAR α ^[1]。在正常的组织细胞中,PML 基因在核内是与核基质结合的,主要定位于染色质间区的点状核结构内,因 PML 基因是其形成所必需,故简称为 PML 核体 (PML-NBs)。免

疫染色可见其在核内以不连续的斑点状分布,直径为 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{m}$,细胞质中也有少量 PML 核体的存在^[2]。PML 核体存在于多种组织细胞中,对于整个细胞的自我更新、分化、凋亡及衰老起着关键作用^[3-5]。这与 PML 核体可以募集多种蛋白相关,这些蛋白中有许多组成性存在的蛋白,更多的是短暂存在。PML 核体通过其内的多种蛋白参与多种细胞功能的调控,例如生长抑制、诱导细胞凋亡、复制衰老、炎症反应、血管再生、非折叠蛋白反应和维持基因组稳定性等,这些功能与肿瘤抑制紧密相关。研究发现在多种肿瘤发生过程中 PML 基因表达呈现功能下调^[6],在恶性血液病及多种实体瘤中,PML 基因对于维持癌症干细胞(cancer stem cell, CSC)的功能是必需的^[7]。本文就近年来有关 PML 核体的结构、形成及蛋白功能研究进展作一综述。

1 PML 蛋白结构及异构体

PML 基因位于 15 号染色体,全长 53KB,含有 9 个外显子,因不同的选择性剪接可产生至少 7 种 PML 蛋白亚型,其中 6 种是细胞核型一种是胞质型。所有 PML 蛋白亚型都具有相同的富含半胱氨酸的 N 末端,即 1 个环指结构域(ring finger domain)、2 个锌指样 B 盒(B-box)和 1 个卷曲螺旋结构域(coiled-coil domain)构成的 RBCC 结构。此结构是 TRIM 家族共有的保守结构域,为 PML 核体形成所必需,对于 PML 功能的发挥起着关键作用。N 端区域介导了 PML 自身同源寡聚化,然而,不同的选择性剪接主要发生在 C 端,故不同 PML 蛋白亚型的 C 末端不尽相同,决定着与其相互作用的蛋白因子的不同,使得不同亚型的功能各异。基于 C 末端序列及长短的不同,PML 异构体可以分为 7 种,分别命名为 PML I-VII。不同异构体分子量差异较大,其中 PML I 蛋白含有 882 个氨基酸,而 PML VII 仅含有 435 个氨基酸^[8]。此外,在细胞内分布上,PML I-VI 含核定位信号,主要定位于细胞核,仅有 PML I 同时含有核输出信号(nuclear export signal, NES),可定位于胞浆;而 PML VIIb 缺少核定位信号,定位于胞浆。PML I-V 含有小泛素化修饰蛋白(small ubiquitin related modifier 1, SUMO-1)相关作用位点(SUMO interacting motif, SIM),疏水性 SIM 中心在以蛋白激酶 2 为底物的特异丝氨酸附近^[9]。PML 及其异构体在不同细胞株中、不同疾病中的表达情况不同,功能亦不同。近年来的许多

研究从不同角度探讨了 PML 各异构体的特异功能及它们维持细胞动态平衡的多方面功能^[10]。

2 PML 的翻译后修饰

在多种肿瘤组织中,PML 的表达在蛋白水平上是下调的。然而,正常样本与肿瘤组织 PML 在转录水平上的表达是相当的,这就提示 PML 蛋白存在丰富的翻译后修饰。这些修饰包括:磷酸化、乙酰化、SUMO 化及泛素化^[11],并存在翻译后修饰交叉现象,这对于调控 PML 蛋白表达及功能发挥更加复杂化^[12]。

2.1 PML 的磷酸化

PML 蛋白可以发生磷酸化的区域包括富含脯氨酸的 N 末端区域、RBCC 区、泛素化区域、核定位序列及 C 末端的 SIM 区^[13]。PML 的磷酸化是控制 PML 蛋白丰度和 PML 核体大小的主要调节机制,也是细胞应对不同应急条件下的反应。例如在表皮生长因子 EGF 的处理下,下游有丝分裂活化蛋白激酶 ERK 可使 PML 富含脯氨酸的 N 末端区域多个残基磷酸化从而诱导 PML 的 SUMO 化修饰;同源结构域相互作用蛋白激酶 2 也可使 PML 该区域多个残基磷酸化,并在蛋白水平上上调 PML 及诱导 PML 的 SUMO 化修饰以促凋亡。当细胞 DNA 损伤后,PML 蛋白核体会增多,并且 PML 蛋白多个位点会发生磷酸化修饰。研究表明,DNA 损伤修复的关键激酶 ATM 在 DNA 双链断裂后可动态调控 PML 核体的磷酸化。当细胞受到伽马辐射时,细胞周期检验点激酶 Chk2 可磷酸化 PML 的 RBCC 结构域。此外,磷酸化的 PML 还可以调节 PML 蛋白的稳定性及与其它蛋白的相互作用。脯氨酰异构酶 Pin1 可通过磷酸化 PML 的 NLS 区域残基促使 PML 降解^[14]。在生长因子、IGF-1、EGF 或者低氧诱导条件下,ERK2 或者 CDK1/2 可使 PML 磷酸化并促使其与 Pin-1 的相互作用^[15],以促进由 Pin-1 介导的蛋白异构化。类似的还有,BMK1 可通过磷酸化 PML 干扰其与 Mdm2 的相互作用以抑制 P53 的活性^[16]。

2.2 PML 的 SUMO 化

SUMO 化修饰是 PML 最重要的翻译后修饰。SUMO 家族共 3 个成员:SUMO1, SUMO2 和 SUMO3, PML 可与它们直接结合并催化 3 个赖氨酸残基的 SUMO 化。PML 的 SUMO 化是 PML 核体形成所必需的,对于维持 PML 核体结构、完整性、募集

核体组成因子及核体功能发挥是必不可少的,不能被 SUMO 化的 PML 无法募集 PML 核体的组成蛋白^[17]。有研究证实,敲除 SUMO1 的小鼠胚胎成纤维细胞 PML 的 SUMO 修饰水平降低,同时 PML 核体数量减少;SUMO3 可以同时调控 PML 在核内的定位及核体的形成^[18]。有研究发现在植物中 PML 同源蛋白的 SUMO 化对于核体的形成也是必需的^[19]。可见 PML 的 SUMO 化修饰对于核体形成是必需的,然而这种共价结合的模式是如何起始,何种机制决定的仍然未知。

此外,SUMO 修饰也是细胞受到内外刺激下 PML 得以维持自身稳定性的关键调节因子。 As_2O_3 可以介导 PML 降解,其具体的分子机制是 As_2O_3 直接结合在 PML 的 RBCC 结构域改变 PML 的构象的同时促进 SUMO2 与 PML 的相互作用以降解 PML 核体^[20]。阿霉素诱导的 DNA 损伤会增加 PML 的 SUMO 化修饰以稳定 PML 核体^[21]。相比之下,部分病毒感染或者热激可降低 PML 的 SUMO 化修饰^[22]。

SUMO 修饰还可以通过埋藏或解离 PML 核体中的转录因子直接或间接地调控转录。例如 IL-6 可改变 PML 的 SUMO 化修饰,从而将 STAT3 从 PML 核体中解离出来,以此降低 STAT3 依赖的转录活性,在细胞凋亡过程中可以发挥重要作用^[23]。外源表达 SUMO1 可以增强 PML 的 SUMO 化,影响了 Daxx 与 PML 核体的定位,从而保护成纤维细胞免受 Fas 诱导的细胞凋亡^[24]。

PML 的 SUMO 化同时影响许多定位到 PML 核体的蛋白被 SUMO 化。例如 PML 核体成分中的 Daxx 蛋白,通过 SIM 基序,Daxx 与 SUMO 化的 PML 相互作用,这种相互作用直接将自身 SUMO 化^[25]。PML 核体中的 MMS21 可 SUMO 化端粒结合蛋白 TRF1 和 TRF2,SUMO 化的 ALT-PML NB 复合物在端粒延长中发挥重要作用^[26]。Chalkiadaki 等^[27]发现核孤儿受体 LRH-1 通过 SUMO 化与脱 SUMO 化控制其与 PML 核体的结合来影响生理功能。上述研究均表明 SUMO 化对于 PML 核体及其功能发挥具有重要作用。

2.3 PML 的泛素化修饰

最近的研究发现,仅泛素化修饰的 PML 与其自身降解相关。泛素化可由 RNF4, UHRF1, UBE3A/E6AP, KLHL20 等若干分子介导。RNF4 可在 K401 位泛素化 PML^[28],并通过蛋白酶体降解

途径促使了由 As_2O_3 诱导的 PML 的解体^[29]。另有研究发现,病毒蛋白 ICPO 和 STUBL 也可泛素化 PML 以促进泛素介导的蛋白降解。然而,泛素是否可以与 K401 以外的位点结合,并在由 PML 核体介导的信号转导中发挥作用到目前为止仍不清楚^[30]。

此外,PML 还有乙酰化修饰。Hayakawa 等^[31]发现被 P300 乙酰化的 PML 可促进 PML 的 SUMO 化并在 TSA 诱导的细胞凋亡中发挥作用。但 PML 的表达并不受去乙酰化状态的影响^[32]。到目前为止,还未发现有 PML 的甲基化修饰,但在 PML 核体中存在若干蛋白精氨酸甲基转移酶并可调节 PML 核体的动态^[33]。因此,PML 的翻译后修饰对于在分子机制水平上探讨其功能是必不可少的。

3 PML 核体的形成

PML 核体最早发现于 1960 年。在大多数细胞或组织中,PML 蛋白以直径 0.1 ~ 1.0 μ m 的不连续的斑点状方式分布于细胞核内,是一种与核基质相连的亚核的、动态的多蛋白复合物,属于一种被称为 NBs 或 POD(PML oncogenic domain, POD) 亚核区域的成分^[34]。PML 核体形态、大小和数量随细胞种类、细胞周期、应力状态及营养状况发生动态变化,一般 1 个核内有 5 ~ 30 个核体。对于 PML 核体的形成,目前存在有两个模型。其一基于被鉴定出的 C 端 SUMO 结合区 SIM,该结合区使 PML 能与其它 SUMO 化的蛋白相互作用。有丝分裂期,PML 去 SUMO 化,PML 核体解体,PML 会通过自身的 RBCC 基序二聚化或多聚化,分裂间期,PML 被 SUMO 化修饰,便可利用 SIM 与附近其它 SUMO 化的 PML 结合,同时通过蛋白-蛋白相互作用区域或是 SUMO 结合区募集其他蛋白如 Daxx、Sp100 于核体中。然而与该模型相矛盾的是,无 SIM 区的 PML VI,缺失 SIM 的突变体及缺失 3 个 SUMO 化位点的突变体仍然可以形成 PML 核体。于是有研究者提出了另一模型,ROS 诱导 PML 的氧化应激,促使 PML 单体之间以共价键相连,随后,极化的 SIM-SUMO 募集 SUMO 化的蛋白如 Daxx 形成 PML 核体^[35]。已有研究发现 PML 可以直接或间接地与 160 多种蛋白相互作用^[36]。这些蛋白包括 SP100、Daxx、SUMO-1、CBP 和 p53 等,因此 PML 核体涉及多种功能:造血分化、DNA 损伤修复、抗病毒、凋亡及肿瘤抑制等。

4 PML 的生物学功能

PML 蛋白具有多种生物学功能,这些生物学功能是通过募集和调节核体相关蛋白的功能而实现的。因此,许多研究者致力于寻找与 PML 相互作用的蛋白,以期更好地了解 PML 核体的功能。目前已有许多蛋白被发现可以长久或暂时定位到 PML 核体上,因此,PML 涉及多种生物学功能。

4.1 参与调节细胞凋亡

PML 是肿瘤抑制子在不同刺激诱导的细胞凋亡中起着关键作用^[37]。Mu 等^[38]在细胞中过表达 PML,发现 PML 可抑制细胞增殖,使细胞周期阻滞,诱导细胞衰老和凋亡。相反地,敲除 PML 的细胞会促进细胞增殖,抵御 UV 照射和细胞因子诱导的凋亡。这是由于 PML 可以借助核内不同的剪接变体传递生长抑制信号来影响生长抑制和细胞程序性死亡。早有研究发现 PML 对于 Fas、TNF- α 、神经酰胺、干扰素等诱导的细胞凋亡是必需的。此外,在大鼠胚胎成纤维细胞中过表达 PML 可诱导不依赖于 caspase 的细胞凋亡,提示 PML 蛋白参与了多种凋亡途径。PML 还可以与 RelA/p65 相互作用以抑制 NF- κ B 以影响凋亡。PML 在凋亡中是通过与不同蛋白及细胞器相互作用完成的^[39]。

4.2 参与调节血管生成

PML 可以招募 PP2a 到核体中,去磷酸化 Akt。此外,PML 募集 Rheb 到核体,抑制 mTOR。而 Akt-mTOR 途径可控制 HIF-1 α 的蛋白合成,PML 通过下调此途径来抑制血管生成,并参与低氧反应^[40]。Chen 等^[41]发现缺失 PML 的人与鼠肿瘤会导致促血管生成因子 HIF-1 α 和 VEGF 的过表达。

4.3 参与调节细胞迁移、细胞黏附和增殖

PML 通过下调 integrin β 1 的表达抑制 MDA-MB-231 细胞迁移^[42]。另有研究发现 PML 对于由抗氧化物质 SFN 介导的内皮细胞的迁移是必不可少的。来源于 PML^{-/-}和 PML^{+/+}的胚胎成纤维细胞细胞形态不同,来源于前者的细胞黏附力低,迁移慢,但增殖快。上述研究表明 PML 与细胞迁移、黏附和增殖相关^[43]。

4.4 参与 DNA 的损伤修复

PML 核体与核基质相互作用提示 PML 可能会在 DNA 修复过程中起作用。研究发现 DNA 修复相关的因子可穿梭于 PML 核体。在损伤细胞中,PML 核体与受损伤的 DNA 共定位^[44],敲除 PML

的细胞不能激活 P53 以修复 DNA 损伤。DNA 双链断裂后,Chk2 能磷酸化 PML。PML 还可以结合与 DNA 合成和重组相关的蛋白 NBS1, Mre11, Rad51 和 Rad52 以修复 DNA 损伤或维持端粒延长机制^[45]。简言之,PML 核体对于 DNA 损伤有极高的敏感性,但 PML 对于 DNA 损伤修复是暂时性的还是修复的产物还不清楚。

4.5 参与造血细胞的分化

维甲酸(retinoic acid, RA)能够诱导正常小鼠骨髓造血祖细胞的分化,形成红系、髓系克隆,而 PML 敲除鼠的骨髓造血祖细胞在 RA 诱导下不能形成克隆,提示 PML 可能参与 RA 诱导的造血祖细胞分化。研究还发现,PML 敲除鼠外周血中的成熟粒细胞显著减少,可见 PML 敲除鼠髓系细胞的终末分化能力遭到破坏,提示 PML 参与髓系细胞终末成熟。深入研究发现,PML 可以与红系特异的转录因子 GATA1 相互作用,增强自身的转录活性,促进造血干细胞向红系分化^[46]。

此外,PML 基因启动子区含有干扰素(α/β)刺激反应元件及 γ 的结合位点,5' -UTR 区含有能被 TNF- α 激活的位点^[47]。因此,PML 蛋白具有由干扰素介导的抗病毒活性;早有研究发现 PML 核体与端粒延长替代机制(ALT)相关,深入研究发现端粒结合蛋白 TRF1 的磷酸化^[48]及 HDAC9^[49]也参与了 PML 核体对于 ALT 的调控。另有许多研究发现 PML 核体与氧化应激相关,有学者提出 PML 核体是氧化应激与代谢的交通枢纽^[50]。PML 核体多种生物学功能的发挥,与 PML 结合的多种蛋白及表观遗传修饰相关。最新研究发现,长链非编码 RNA 也可调控 PML^[51],为 PML 功能机制研究提供了新的思路。

5 结语

PML 核体作为一种特殊的核内结构,可募集多种蛋白,从而借助转录调控、翻译后修饰等机制参与多种细胞功能。因此,进一步研究 PML 调控机制有助于完善白血病、肿瘤等相关调控网络,为阐明疾病的发生机制提供线索。

参考文献:

- [1] Nisole S, Maroui MA, Mascle XH, et al. Differential roles of PML isoforms [J]. *Frontiers in Oncology*, 2013, 3. DOI:10.3389/fonc.2013.00125.

- [2] Jin G, Wang YJ, Lin HK. Emerging cellular functions of cytoplasmic PML [J]. *Frontiers in Oncology*, 2013, 3 (3):147.
- [3] Massimiliano Mazza PGP. Is PML a tumor suppressor [J]. *Frontiers in Oncology*, 2013, 3(3):174.
- [4] Guo L, Giasson BI, Glavis-Bloom A, et al. A cellular system that degrades misfolded proteins and protects against neurodegeneration [J]. *Mol Cell*, 2014, 55 (1): 15-30. DOI:10.1016/j.molcel.2014.04.030.
- [5] Gamell C, Jan Paul P, Haupt Y, et al. PML tumour suppression and beyond; therapeutic implications [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588 (16): 2653-2662. DOI:10.1016/j.febslet.2014.02.007.
- [6] Chen RH, Lee YR, Yuan WC. The role of PML ubiquitination in human malignancies [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19:81. DOI:10.1186/1423-0127-19-81.
- [7] Zhou W, Bao S. PML-mediated signaling and its role in cancer stem cells [J]. *Oncogene*, 2014, 33 (12): 1475-1484. DOI:10.1038/onc.2013.111.
- [8] Wolynec K, Chan AL, Haupt S, et al. Restoring PML tumor suppression to combat cancer [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11 (20): 3705-3706. DOI:10.4161/cc.22043.
- [9] Chang CC, Naik MT, Huang YS, et al. Structural and functional roles of Daxx SIM phosphorylation in SUMO paralog-selective binding and apoptosis modulation [J]. *Mol Cell*, 2011, 42(1):62-74. DOI:10.1016/j.molcel.2011.02.022.
- [10] Sahin U, de Thé H, Lallemand-Breitenbach V. PML nuclear bodies: assembly and oxidative stress-sensitive sumoylation [J]. *Nucleus*, 2014, 5 (6): 499-507. DOI:10.4161/19491034.2014.970104.
- [11] Cheng X, Kao HY. Post-translational modifications of PML; consequences and implications [J]. *Front Oncol*, 2012, 2:210. DOI:10.3389/fonc.2012.00210.
- [12] Guan D, Lim JH, Peng L, et al. Deacetylation of the tumor suppressor protein PML regulates hydrogen peroxide-induced cell death [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1340. DOI:10.1038/cddis.2014.185.
- [13] Lallemand-Breitenbach V, Jeanne M, Benhenda S, et al. Arsenic degrades PML or PML-RARalpha through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10 (5): 547-555. DOI:10.1038/ncb1717.
- [14] Lim JH, Liu Y, Reineke E, et al. Mitogen-activated protein kinase extracellular signal-regulated kinase 2 phosphorylates and promotes Pin1 protein-dependent promyelocytic leukemia protein turnover [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (52): 44403-44411. DOI:10.1074/jbc.M111.289512.
- [15] Reineke EL, Liu Y, Kao HY. Promyelocytic leukemia protein controls cell migration in response to hydrogen peroxide and insulin-like growth factor-1 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (13): 9485-9492. DOI:10.1074/jbc.M109.063362.
- [16] Yuan WC, Lee YR, Huang SF, et al. A Cullin3-KLHL20 Ubiquitin ligase-dependent pathway targets PML to potentiate HIF-1 signaling and prostate cancer progression [J]. *Cancer Cell*, 2011, 20 (2): 214-228. DOI:10.1016/j.ccr.2011.07.008.
- [17] Gao C, Cheng X, Lam M, et al. Signal-dependent regulation of transcription by histone deacetylase 7 involves recruitment to promyelocytic leukemia protein nuclear bodies [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19 (7): 3020-3027. DOI:10.1091/mbc.E07-11-1203.
- [18] Evdokimov E, Sharma P, Lockett SJ, et al. Loss of SUMO1 in mice affects RanGAP1 localization and formation of PML nuclear bodies, but is not lethal as it can be compensated by SUMO2 or SUMO3 [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121 (Pt 24): 4106-4113. DOI:10.1242/jcs.038570.
- [20] Zhang XW, Yan XJ, Zhou ZR, et al. Arsenic trioxide controls the fate of the PML-RARalpha oncoprotein by directly binding PML [J]. *Science*, 2010, 328 (5975): 240-243. DOI:10.1126/science.1183424.
- [21] Gresko E, Ritterhoff S, Sevilla-Perez J, et al. PML tumor suppressor is regulated by HIPK2-mediated phosphorylation in response to DNA damage [J]. *Oncogene*, 2009, 28(5):698-708. DOI:10.1038/onc.2008.420.
- [22] Nefkens I, Negorev DG, Ishov AM, et al. Heat shock and Cd²⁺ exposure regulate PML and Daxx release from ND10 by independent mechanisms that modify the induction of heat-shock proteins 70 and 25 differently [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116 (Pt 3): 513-524. DOI:10.1242/jcs.00253.
- [23] Ohbayashi N, Kawakami S, Muromoto R, et al. The IL-6 family of cytokines modulates STAT3 activation by desumoylation of PML through SENP1 induction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 371 (4): 823-828. DOI:10.1016/j.bbrc.2008.04.179.
- [24] Meinecke I, Cinski A, Baier A, et al. Modification of nuclear PML protein by SUMO-1 regulates Fas-induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104 (12): 5073-5078. DOI:10.1073/pnas.0608773104.

- [25] Lin DY, Huang YS, Jeng JC, et al. Role of SUMO-interacting motif in Daxx SUMO modification, subnuclear localization, and repression of sumoylated transcription factors[J]. *Mol Cell*, 2006, 24 (3): 341-354. DOI: 10.1016/j.molcel.2006.10.019.
- [26] Potts PR, Yu H. The SMC5/6 complex maintains telomere length in ALT cancer cells through SUMOylation of telomere-binding proteins [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(7): 581-590. DOI:10.1038/nsmb1259.
- [27] Chalkiadaki A, Talianidis I. SUMO-dependent compartmentalization in promyelocytic leukemia protein nuclear bodies prevents the access of LRH-1 to chromatin [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25 (12): 5095-5105. DOI: 10.1128/MCB.25.12.5095-5105.2005.
- [28] Guan D, Factor D, Liu Y, et al. The epigenetic regulator UHRF1 promotes ubiquitination-mediated degradation of the tumor-suppressor protein promyelocytic leukemia protein [J]. *Oncogene*, 2013, 32 (33): 3819-3828. DOI: 10.1038/onc.2012.406.
- [29] Weisshaar SR, Keusekotten K, Krause A, et al. Arsenic trioxide stimulates SUMO-2/3 modification leading to RNF4-dependent proteolytic targeting of PML [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582 (21-22): 3174-3178. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.08.008.
- [30] Cheng X, Kao HY. Post-translational modifications of PML: consequences and implications [J]. *Front Oncol*, 2012, 2: 210. DOI: 10.3389/fonc.2012.00210.
- [31] Hayakawa F, Abe A, Kitabayashi I, et al. Acetylation of PML is involved in histone deacetylase inhibitor-mediated apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (36): 24420-24425. DOI: 10.1074/jbc.M802217200.
- [32] Miki T, Xu Z, Chen-Goodspeed M, et al. PML regulates PER2 nuclear localization and circadian function [J]. *EMBO J*, 2012, 31 (6): 1427-1439. DOI: 10.1038/emboj.2012.1.
- [33] Neault M, Mallette FA, Vogel G, et al. Ablation of PRMT6 reveals a role as a negative transcriptional regulator of the p53 tumor suppressor [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (19): 9513-9521. DOI: 10.1093/nar/gks764.
- [34] Bernardi R, Pandolfi PP. Structure, dynamics and functions of promyelocytic leukaemia nuclear bodies [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8 (12): 1006-1016. DOI: 10.1038/nrm2277.
- [35] Sahin U, Ferhi O, Jeanne M, et al. Oxidative stress-induced assembly of PML nuclear bodies controls sumoylation of partner proteins [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204 (6): 931-945. DOI: 10.1083/jcb.201305148.
- [36] Van Damme E, Laukens K, Dang TH, et al. A manually curated network of the PML nuclear body interactome reveals an important role for PML-NBs in SUMOylation dynamics [J]. *Int J Biol Sci*, 2010, 6 (1): 51-67. DOI: 10.7150/ijbs.6.51.
- [37] Wu WS, Xu ZX, Hittelman WN, et al. Promyelocytic leukemia protein sensitizes tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis by inhibiting the NF-kappaB survival pathway [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (14): 12294-12304. DOI: 10.1074/jbc.M211849200.
- [38] Salomoni P, Dvorkina M, Michod D. Role of the promyelocytic leukaemia protein in cell death regulation [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e247. DOI: 10.1038/cddis.2011.122.
- [39] Imani-Saber Z, Ghafouri-Fard S. Promyelocytic leukemia gene functions and roles in tumorigenesis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15 (19): 8021-8028. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.19.8019.
- [40] Bernardi R, Guernah I, Jin D, et al. PML inhibits HIF-1alpha translation and neoangiogenesis through repression of mTOR [J]. *Nature*, 2006, 442 (7104): 779-785. DOI: 10.1038/nature05029.
- [41] Chen RH, Lee YR, Yuan WC. The role of PML ubiquitination in human malignancies [J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 81. DOI: 10.1186/1423-0127-19-81.
- [42] Reineke EL, Liu Y, Kao HY. Promyelocytic leukemia protein controls cell migration in response to hydrogen peroxide and insulin-like growth factor-1 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (13): 9485-9492. DOI: 10.1074/jbc.M109.063362.
- [43] Tang MK, Liang YJ, Chan JYH, et al. Promyelocytic Leukemia (PML) protein plays important roles in regulating cell adhesion, morphology, proliferation and migration [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (3): e59477. DOI: 10.1371/journal.pone.0059477.
- [44] Dellaire G, Ching RW, Ahmed K, et al. Promyelocytic leukemia nuclear bodies behave as DNA damage sensors whose response to DNA double-strand breaks is regulated by NBS1 and the kinases ATM, Chk2, and ATR [J]. *J Cell Biol*, 2006, 175 (1): 55-66. DOI: 10.1083/jcb.200604009.
- [45] Flynn RL, Cox KE, Jeitany M, et al. Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors [J]. *Science*, 2015, 347 (6219): 273-277. DOI: 10.1126/science.1257216.

587 bp。序列比对并构建系统发育进化树,确定菌株 2-r-9 与 *W. Anomalous* ATCC 16763 亲缘关系比较近,将菌株 2-r-9 命名为 *W. anomalous 2-r-9*;确定菌株 6-y-r 与 *S. Cerevisiae* ATCC 18824 亲缘关系比较近,将菌株 6-y-r 命名为 *S. cerevisiae 6-y-r*。菌株 *W. anomalous 2-r-9* 在高酸度条件下仍保持良好的菌体长势,酸耐受性优于菌株 *S. cerevisiae 6-y-r*。高温条件下,菌株 *S. cerevisiae 6-y-r* 的长势优于菌株 *W. anomalous 2-r-9*,在 42 °C 高温下仍可生长。菌株 *S. cerevisiae 6-y-r* 的酒精耐受性优于菌株 *W. anomalous 2-r-9*,菌株 *S. cerevisiae 6-y-r* 在 10% 的酒精度下仍可正常生长,而菌株 *W. anomalous 2-r-9* 在 8% 的酒精度下即受到较强抑制。因此,这 2 株酒用酵母品质良好,具有相当的利用潜力,这为后续的应用性研究奠定了基础。

参考文献:

- [1] 王国良,宋俊梅,曲静然. 生香酵母及其应用[J]. 食品工业,2004(3):16-17.
- [2] 关阳,王国良,王金枝,等. 产酯酵母的应用研究现状[J]. 酿酒科技,2013(1):101-103.
- [3] 王卫国,张仟伟,赵永亮,等. 酿酒酵母的选育及其应用研究进展[J]. 河南工业大学学报自然科学版,2015,36(6):104-112.
- [4] Pires EJ,Teixeira JA,Brányik T,et al. Yeast:the soul of beer's aroma-a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast[J]. Appl Microbiol Biot, 2014, 98 (5) : 1937-1949. DOI: 10. 1007/s00253-013-5470-0.
- [5] Shi S Z,Cheng D Y, Ma F M, et al. Technological optimization of ethanol fermentation on energy beet with tolerance high temperature yeast strain [J]. Adv Mater Res,2012(433-440):1245-1252. DOI:10.4028/www.scientific.net/amr.433-440.1245.
- [6] 罗惠波,王毅,王大地,等. 小曲中产香霉菌的优选及培养条件优化[J]. 食品与机械,2014,30(2):32-34.
- [7] 尤亮,丁东栋,崔志峰. 乙醇耐受性酿酒酵母菌株选育的研究进展[J]. 工业微生物,2016(3):51-55.
- [8] 陆振群. 产酯类酵母菌的选育[D]. 芜湖:安徽工程大学生物与化学工程学院,2012.
- [9] Maheswaran S,Sumanasinghe V A, Samaraweera P. A comparative phylogenetic analysis of *Exacum* spp. of Sri Lanka with *Osbeckia octandra* (L.) DC [J]. Trop Agric Res,2014,25(4):402-411. DOI:10.4038/tar.v25i4.8056.
- [10] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. Mol Biol Evol, 1987, 4 (4) : 406-425. DOI: 10. 1016/j. ympev. 2008. 01. 019.
- [11] 袁超. 芝麻香型白酒生产关键微生物的功能分析[D]. 济南:山东轻工业学院食品与生物工程学院,2011.
- [12] 王洪芹,白祝清. 芝麻香型白酒生产工艺总结[J]. 酿酒科技,2000(2):81-82.

(收稿日期 2016-10-23)

(上接第 386 页)

- [46] Wu J,Zhou LQ, Yu W, et al. PML4 facilitates erythroid differentiation by enhancing the transcriptional activity of GATA-1 [J]. Blood, 2014, 123 (2) : 261-270. DOI: 10. 1182/blood-2013-02-483289.
- [47] Hsu KS, Guan BJ, Cheng X, et al. Translational control of PML contributes to TNF α -induced apoptosis of MCF7 breast cancer cells and decreased angiogenesis in HUVECs [J]. Cell Death Differ, 2016, 23 (3) : 469-483. DOI:10.1038/cdd.2015.114.
- [48] Ho A, Wilson FR, Peragine SL, et al. TRF1 phosphorylation on T271 modulates telomerase-dependent telomere length maintenance as well as the formation of ALT-associated PML bodies [J]. Sci Rep, 2016, 6 : 36913. DOI: 10. 1038/srep36913.
- [49] Jamiruddin MR, Kaitsuka T, Hakim F, et al. HDAC9 regulates the alternative lengthening of telomere (ALT) pathway via the formation of ALT-associated PML bodies [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 481 (1-2) : 25-30. DOI:10.1016/j.bbrc.2016.11.026.
- [50] Tessier S, Martin-Martin N, de Thé H, et al. PML, a protein at the cross road of oxidative stress and metabolism [J]. Antioxid Redox Signal, 2016. DOI:10.1089/ars.2016.6898.
- [51] Chen ZH, Wang WT, Huang W, et al. The lncRNA HO-TAIRM1 regulates the degradation of PML-RARA oncoprotein and myeloid cell differentiation by enhancing the autophagy pathway [J]. Cell Death and Differentiation, 2016. DOI:10.1038/cdd.2016.111.

(收稿日期 2016-11-04)