

Dynamin 在胞吞中的研究进展

柳 林¹ 李照玉¹ 纪 伟²

(1 华中科技大学生命科学与技术学院,分子生物物理教育部重点实验室 湖北 武汉 430074 ;

2 中国科学院生物物理研究所,生物大分子国家重点实验室 北京 100101)

摘要 dynamin 家族是一类鸟苷酸三磷酸酶,是细胞在进行内吞过程中特异的一种蛋白,它参与囊泡从细胞膜上出芽和剪切的过程。从低等生物酵母到所有高等生物都发现了 dynamin 或者其同源物存在。通过对不同物种的基因组序列分析和基因克隆,发现了三种典型 dynamin 蛋白和几类同源蛋白。它们在不同的器官或者不同的亚细胞结构上行使着不同的功能。通过对 dynamin 功能域的研究,发现 dynamin 的 PRD 结构域能与很多蛋白相互作用。本文主要总结了 dynamin 家族蛋白和与之相互作用的蛋白。

关键词 胞吞 dynamin

中图分类号:Q784 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)01-183-03

Research Progress of Dynamin in Endocytosis

LIU Lin¹, LI Zhao-yu¹, JI Wei²

(1 College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430074, PR China;

2 National Key Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, PR China)

ABSTRACT: Dynamins are large GTPases that participate in endocytosis, and are involved in the budding and scission of a wide range of vesicles and organelles. They are found in all of species from yeast to human being. Through whole genomic analysis and positive clone, three classic dynamin and several dynamin like proteins have been found. They play different roles in different organs or different organelles. When studying the domains of dynamin, we notice that there are many proteins can interact with dynamin with a special domain.

Key words: Endocytosis; Dynamin

Chinese Library Classification: Q784 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)01-183-03

胞吞(Endocytosis)是细胞生理代谢的一个极为重要的过程,也是细胞从环境中获取物质和回收膜组分的过程。外界环境的激素、生长因子、装载有营养或调节物质的转运蛋白都要通过胞吞过程才能进入细胞,而且如果没有内吞,细胞的胞吐(Exocytosis)也无法正常进行。细胞胞吐以囊泡的形式把神经突触细胞的神经递质以及内分泌细胞的神经肽类物质释放到细胞外的同时,也把囊泡的膜组分一并释放到细胞膜上。为了维持细胞的正常形态和足够的分泌囊泡,细胞中必然存在一种相应回收机制,将胞吐的囊泡膜成分和相关蛋白从细胞膜上回收回到细胞内;否则细胞膜就会因为囊泡的胞吐而不断扩大,并且也会抑制新囊泡的形成而无法进行下一轮的胞吐活动^[1]。

在囊泡发生胞吐后,在很短的时间(几十毫秒)内就会发生胞吞过程。目前,绝大部分胞吞的研究结果都来自于对神经细胞的研究。以胞吞过程发生的快慢,我们把胞吞分为两类:快速胞吞和慢速胞吞。快速胞吞一般认为是由 kiss and stay 和 kiss and run 的胞吐囊泡,经过在膜附近的去锚钉重新酸化,而从质膜上脱离回到细胞内。这个过程不依赖于 clathrin。但是我们实验室在胰腺β细胞的研究发现,clathrin 也可以通过提前聚集等过程来介导快速胞吞。慢速胞吞则是依赖 clathrin 的过程,

一般认为细胞膜上的受体蛋白通过 AP2 聚集,然后介导笼行蛋白结合在 AP2 的另一端,使细胞膜产生内陷,最终从质膜上脱离。

不论是快速还是慢速胞吞,囊泡从质膜上脱离的过程都需要 dynamin 的剪切作用。Dynamin 是一个 100kD 左右的 GTP 结合蛋白质,具有鸟苷三磷酸酶(GTPase)的活性^[2]。Dynamin 的重要作用最先在果蝇中观察到,dynamin 的温度敏感性突变可以使果蝇瘫痪^[3]。体外实验的和电镜的证据表明,当囊泡形成时,dynamin 在囊泡与质膜的颈区形成螺旋状聚集,并在 GTP 水解时发生构像变化,发生螺旋状的纵向拉伸,最终将囊泡的从颈区拉断^[4]。离体实验发现,纯化的 dynamin 可引起脂质小泡呈管状排列,管的直径与内吞小泡的颈部直径相似。但管状脂质小泡的形成并不依赖于它的鸟苷三磷酸酶活性,说明 dynamin 的这种作用并不是通过水解 GTP 实现,而是其本身特性。

1 dynamin 的结构域

Dynamin 具有 5 个结构域(图 1),从 N 端到 C 端分别为:GTPase 区(第 1-299 个氨基酸)、Middle 区(第 300-520 个氨基酸)、PH 区(第 521-622 个氨基酸)、GED 区(第 623-745 个氨基酸)、PRD 区(第 746-864 个氨基酸)。GTPase 区能结合并水解 GTP,提供剪切囊泡提供能量,Middle 区中的 coil-coiled 区域介导 dynamin 与 dynamin 之间的聚合,PH 区可与质膜结合,使

作者简介:柳林,男,博士研究生,研究方向:细胞生物和生物物理。电话: +86 010 64888436 ;

E-mail: jinliu@smail.hust.edu.cn

(收稿日期:2011-06-23 接受日期:2011-07-26)

dynamin 稳定锚定在膜周围 ,GED 区域除了激活 dynamin 的 GTP 酶活性之外 ,其中的 coil-coiled 区域也能接到 dynamin 之间的聚合 ,C 端的 PRD 区则介导 dynamin 与其他蛋白之间的相互作用^[5]。

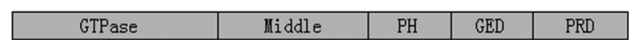


图 1 dynamin 的结构

Fig. 1 Dynamin structure

在神经细胞中 ,神经递质的释放也依赖于从神经末端质膜上回收突触囊泡。在胞吐发生后 ,突触囊泡的回收存在两种机制。在温和的刺激下 ,占多数的是 Clathrin 介导的胞吞(CME) ,它使质膜生成新的单个突触囊泡^[6-7]。当神经细胞在强刺激下的时候 ,胞吞则被刺激依赖的大内吞(ADBE)取代。ADBE 是一种快速促发 ,并且囊泡容量要比 CME 大很多^[8-9]。而这两种内吞形式 ,在分子水平上都依赖于 dynamin 1 的鸟苷酸水解酶活性 (GTPase)^[10-11] ;但是 ADBE 的促发则需要依赖于 dynamin 1 PRD 区域两个磷酸化位点(Ser-774 和 Ser-778)的去磷酸化和磷酸化的循环。当神经细胞感受到强刺激时 ,dynamin 1 的

Ser-774 和 Ser-778 位点被钙调磷酸酶去磷酸化 ,而触发 ADBE。而当刺激结束时 ,Ser-778 被 CDK5 激酶磷酸化^[12-13] ,然后 GSK3 磷酸化起附近的 Ser-774 位点^[14]。通过 dynamin 1 的磷酸化和去磷酸的循环 ,从而调节 dynamin 1 的 PRD 区域与其他蛋白结合或者解离。

2 dynamin 蛋白家族

Dynamin 蛋白家族都包含 dynamin 的主要功能区域 -GTPase 区域。Dynamin 家族蛋白与其他鸟苷酸水解酶不一样的 ,dynamin 蛋白中的 GTPase 活性是相互依赖的 ,而且 GTP 亲和能力较低 ,并且都能与质膜结合。目前在哺乳动物中主要发现了 3 种典型的 dynamin ,dynamin 1 特异性地分布在神经细胞中 ,dynamin 2 广泛存在于各种组织细胞 ,dynamin 3 主要分布在睾丸、胰岛和内脏器官 ,也见于神经元的细胞中^[15]。这 3 种亚型主要在 Middle 区和 PRD 区有些差异 ,另外目前还陆续发现一些 dynamin-like 蛋白 ,而在果蝇和线虫等较低等的生物中 ,也发现了 dynamin 同源蛋白。表 1 主要总结了真核生物的 dynamin 家族蛋白。

表 1 dynamin 超家族蛋白
Table. 1 Dynamin superfamily

Dynamin Superfamily	Name	Containing domains	Describe
Classical dynamins ^[4]	Dynamin 1	GTPase, Middle, PH, GED, PRD	Constriction of the lipid neck, fission of the lipids and regulation of the scission reaction in endocytosis
	Dynamin 2		
	Dynamin 3		
Dynamin related proteins	DLP ^[16]	GTPase, Middle, PH, GED	Localized to the outer mitochondrial membrane, mitochondrial division
	MX ^[17]	GTPase, Middle, GED	Protection against viral infection
	OPA1 ^[18]	GTPase, Middle, PH, GED	Found between the inner and outer mitochondrial, mitochondrial fusion
	Mitofusin 1 ^[19]	GTPase, Middle, TM, GED	Localized to the outer mitochondrial membrane, mitochondrial fission and fusion
	Atlastin ^[20]	GTPase, Middle, TM	Resistance against intracellular pathogens
GBP related proteins	GBP 1 ^[21-22]	GTPase, Middle, GED	Localized in cis-Golgi, function in neurodegenerative disorder

TM: transmembrane domain

3 dynamin 相互作用蛋白

Dynamin 蛋白的 C 末端的 PRD 区域能与许多其他蛋白相互作用。在 dynamin1 的 PRD 区域的 110 个氨基酸中就含有 36 个脯氨酸 ,就为 Src homology 3(SH3)区域提供位点。SH3 结构域是有 55-60 个氨基酸构成的球状区域 ,每个 SH3 结构域都含有一系列保守的氨基酸 ,形成一个口袋形式的结合域 ,而能与短的富含脯氨酸的肽段结合^[23]。根据这些蛋白有无 BAR 结构域 ,我们把这些相互作用蛋白分为两类 :有 BAR 区域蛋白和无 BAR 区域蛋白。

有 BAR 区域蛋白包括 amphiphysin, endophilin 和 syn-

dapin/pacsin。在这三个蛋白的 N 末端都含有 BAR 结构域 ,BAR 结构域能结合脂质双分子层 ,并感觉质膜的弯曲比率 ,从而使质膜变形 ,使脂质形成一个狭窄的管状结构。Amphiphysin 1 和 endophilin 1 在 BAR 结构域的前面包含一个 N 末端的两亲性螺旋 ,这个 BAR 结构域也称之为 N-BAR 结构域。而 syndapin/pacsin 由于在大的 BAR 结构域内包含着一个 FER/CIP4 的同源结构域 ,故 syndapin/pacsin 的 BAR 结构域也称之为 F-BAR 结构域^[24]。在突触囊泡中 ,Dynamin 的去磷酸化能刺激它与 syndapin/pacsin 的结合 ,并触发刺激依赖的大胞吞作用^[10]。

无 BAR 区域蛋白包括 actin、Grb2、Dap160、Synaptophysin 和 ProSAP 等。F-actin 通过 BAR 结构域与 dynamin 的 PRD 结

合,通过调节 actin 的聚集,同时短的 actin 纤丝也可以促进 dynamin 的聚合^[25]。Grb2 通过它的两个 SH3 区域和 dynamin 紧密结合并促使 dynamin 的聚集,暗示 SH3 区域和 dynamin 的 PRD 结构域的结合可以促进 GTP 的水解。Dap160 蛋白含有 4-5 个 SH3 结构域,它结合 dynamin 和其它富含脯氨酸的结构域,其作用似乎类似于一个支架蛋白帮组锚定内吞相关的蛋白分子到内吞位点^[26]。Synaptophysin 是一个 4 次跨膜蛋白,它的胞浆 C 末端可以和 dynamin 相互作用调节囊泡内吞的尺寸和内吞的持续性^[27]。ProSAP 是一个突触后密度支架蛋白,它能特异的和 dynamin2 的 PRD 区域作用,但是不通过 SH3 结构域^[28]。

参考文献(References)

- [1] Royle, S.J. and L. Lagnado. Endocytosis at the synaptic terminal [J]. *J Physiol*, 2003, 553(Pt 2): 345-355
- [2] Marsh, M. and H.T. McMahon. The structural era of endocytosis[J]. *Science*, 1999, 285(5425): 215-220
- [3] Grigliatti, T.A., L. Hall, R. Rosenbluth, et al. Temperature-sensitive mutations in *Drosophila melanogaster*. XIV. A selection of immobile adults[J]. *Mol Gen Genet*, 1973, 120(2): 107-114
- [4] Praefcke, G.J. and H.T. McMahon. The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules?[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(2): 133-147
- [5] Hinshaw, J.E. Dynamin and its role in membrane fission[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2000, 16: 483-519
- [6] Granseth, B., B. Odermatt, S.J. Royle, et al. Clathrin-mediated endocytosis is the dominant mechanism of vesicle retrieval at hippocampal synapses[J]. *Neuron*, 2006, 51(6): 773-786
- [7] Zhu, Y., J. Xu, and S.F. Heinemann. Two pathways of synaptic vesicle retrieval revealed by single-vesicle imaging [J]. *Neuron*, 2009, 61(3): 397-411
- [8] Clayton, E.L., G.J. Evans, and M.A. Cousin. Bulk synaptic vesicle endocytosis is rapidly triggered during strong stimulation[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(26): 6627-6632
- [9] Richards, D.A., C. Guatimosim, and W.J. Betz. Two endocytic recycling routes selectively fill two vesicle pools in frog motor nerve terminals[J]. *Neuron*, 2000, 27(3): 551-559
- [10] Clayton, E.L., V. Anggono, K.J. Smillie, et al. The phospho-dependent dynamin-syndapin interaction triggers activity-dependent bulk endocytosis of synaptic vesicles [J]. *J Neurosci*, 2009, 29 (24): 7706-7717
- [11] Newton, A.J., T. Kirchhausen, and V.N. Murthy. Inhibition of dynamin completely blocks compensatory synaptic vesicle endocytosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(47): 17955-17960
- [12] Tan, T.C., V.A. Valova, C.S. Malladi, et al. Cdk5 is essential for synaptic vesicle endocytosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(8): 701-710
- [13] Evans, G.J. and M.A. Cousin. Activity-dependent control of slow synaptic vesicle endocytosis by cyclin-dependent kinase 5 [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(2): 401-411
- [14] Clayton, E.L., N. Sue, K.J. Smillie, et al. Dynamin I phosphorylation by GSK3 controls activity-dependent bulk endocytosis of synaptic vesicles[J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(7): 845-851
- [15] Rasmussen, R.K., J. Rusak, G. Price, et al. Mixed-lineage kinase 2-SH3 domain binds dynamin and greatly enhances activation of GTPase by phospholipid[J]. *Biochem J*, 1998, 335 (Pt 1): 119-124
- [16] Labrousse, A.M., M.D. Zappaterra, D.A. Rube, et al. *C. elegans* dynamin-related protein DRP-1 controls severing of the mitochondrial outer membrane[J]. *Mol Cell*, 1999, 4(5): 815-826
- [17] Staeheli, P., O. Haller, W. Boll, et al. Mx protein: constitutive expression in 3T3 cells transformed with cloned Mx cDNA confers selective resistance to influenza virus[J]. *Cell*, 1986, 44(1): 147-158
- [18] Olichon, A., L.J. Emorine, E. Descoins, et al. The human dynamin-related protein OPA1 is anchored to the mitochondrial inner membrane facing the inter-membrane space [J]. *FEBS Lett*, 2002, 523 (1-3): 171-176
- [19] Hales, K.G. and M.T. Fuller. Developmentally regulated mitochondrial fusion mediated by a conserved, novel, predicted GTPase [J]. *Cell*, 1997, 90(1): 121-129
- [20] Anderson, S.L., J.M. Carton, J. Lou, et al. Interferon-induced guanylate binding protein-1 (GBP-1) mediates an antiviral effect against vesicular stomatitis virus and encephalomyocarditis virus[J]. *Virology*, 1999, 256(1): 8-14
- [21] Zhu, P.P., A. Patterson, B. Lavoie, et al. Cellular localization, oligomerization, and membrane association of the hereditary spastic paraplegia 3A (SPG3A) protein atlastin [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (49): 49063-49071
- [22] Uthaiha, R.C., G.J. Praefcke, J.C. Howard, et al. IIGP1, an interferon-gamma-inducible 47-kDa GTPase of the mouse, showing cooperative enzymatic activity and GTP-dependent multimerization[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(31): 29336-29343
- [23] Musacchio, A., M. Noble, R. Pauptit, et al. Crystal structure of a Src-homology 3 (SH3) domain[J]. *Nature*, 1992, 359(6398): 851-855
- [24] Anggono, V. and P.J. Robinson. Syndapin I and endophilin I bind overlapping proline-rich regions of dynamin I: role in synaptic vesicle endocytosis[J]. *J Neurochem*, 2007, 102(3): 931-943
- [25] Gu, C., S. Yaddanapudi, A. Weins, et al. Direct dynamin-actin interactions regulate the actin cytoskeleton [J]. *EMBO J*, 2010, 29(21): 3593-3606
- [26] Sengar, A.S., W. Wang, J. Bishay, et al. The EH and SH3 domain Eps proteins regulate endocytosis by linking to dynamin and Eps15[J]. *EMBO J*, 1999, 18(5): 1159-1171
- [27] Gonzalez-Jamett, A.M., X. Baez-Matus, M.A. Hevia, et al. The association of dynamin with synaptophysin regulates quantal size and duration of exocytotic events in chromaffin cells [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(32): 10683-10691
- [28] Okamoto, P.M., C. Gamby, D. Wells, et al. Dynamin isoform-specific interaction with the shank/ProSAP scaffolding proteins of the postsynaptic density and actin cytoskeleton[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(51): 48458-48465