

文章编号: 1004-0374(2010)11-1161-06

## 蛋白质的类泛素化修饰

袁浩<sup>1,2</sup>, 朱军<sup>2\*</sup>

(1 中国科学院上海生命科学研究院 / 上海交通大学医学院, 健康科学研究所, 上海 200025; 2 上海交通大学医学院附属瑞金医院 / 中法生命科学和基因组研究中心, 上海 200025)

**摘要** SUMO (small ubiquitin-related modifier) 是一类重要的类泛素蛋白, 在生物进化过程中高度保守, 其三维结构及生化修饰过程与泛素类似, 但这两类蛋白质修饰的生物学意义却不尽相同。SUMO 化修饰作为一种重要的蛋白质翻译后修饰, 广泛参与细胞活动的各个方面, 且 SUMO 化修饰异常与许多人类重大疾病密切相关。

**关键词:** SUMO; SUMO 化修饰; 人类疾病

**中图分类号:** Q51

**文献标识码:** A

## Protein sumoylation

YUAN Hao<sup>1,2</sup>, ZHU Jun<sup>2\*</sup>

(1 Institute of Health Sciences, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences & Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2 French-Chinese Laboratory of Genomics and Life Science, Rui-Jin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract:** Small ubiquitin-related modifier (SUMO) is a member of a growing family of ubiquitin-like proteins (Ubls) and evolutionarily well conserved from yeast to human. Although the three-dimensional folds of SUMO and ubiquitin and the processes of protein ubiquitination and sumoylation are quite similar, the respective biological significance of these two modifications is distinct. SUMO modification is involved in diverse cellular processes and disorder of sumoylation is implicated in pathogenesis of human diseases.

**Key words:** SUMO; SUMO modification; human disease

蛋白质是生命活动的物质基础, 是生物体结构和功能的基本单位。蛋白质在生物体内行使功能受到多种因素的影响。其中, 蛋白质翻译后修饰 (post-translational protein modification) 在对蛋白质的折叠、细胞内定位、稳定性及正确行使功能等方面发挥着重要的作用。蛋白质翻译后修饰种类繁多, 主要包括磷酸化、甲基化、乙酰化、糖基化和泛素化等形式。

2004 年诺贝尔化学奖授予了三位发现泛素 (ubiquitin) 的科学家, 以表彰他们在蛋白质降解领域所作出的重大贡献。泛素是一种在真核生物中普遍存在的由 76 个氨基酸组成的小蛋白, 通过激活酶 (E1)、结合酶 (E2) 以及连接酶 (E3) 的催化作用, 泛素分子被共价连接到靶蛋白的赖氨酸残基上, 并被

26S 蛋白酶体识别, 介导蛋白质降解<sup>[1,2]</sup>。

近十几年来科学家们相继发现了一些类泛素蛋白, 其中 SUMO 是最受瞩目的一类。1995 年, Meluh 和 Koshland<sup>[3]</sup> 在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中发现一种新的蛋白质 Smt3, 这是有关 SUMO 的最早报道。在研究早期, SUMO 并没有统一的名称, 例如 hSmt3、UBL1、PIC1、sentrin 和 GMP1 等, 直到 1997 年, Frauke Melchior 实验室首次提出了 SUMO 这一名称<sup>[4]</sup>。

收稿日期: 2010-07-22

基金项目: 国家自然科学基金杰出青年基金 (30525006)

\*通讯作者: E-mail: jzhu1966@yahoo.com.cn

## 1 SUMO

SUMO 是一类在物种进化过程中高度保守的小蛋白。在低等真核生物(酵母、线虫和果蝇)中,只存在一种 *SUMO* 基因;在脊椎动物中,至少存在三种 *SUMO* 基因;在哺乳动物中,目前已发现四种 *SUMO* 基因,分别为 *SUMO-1*, *-2*, *-3* 和 *-4*<sup>[5-7]</sup>。人的 *SUMO-1* 与泛素的氨基酸序列只有 18% 的相似性,但是它们的三级结构却非常的相似。有意思的是,*SUMO-1* 氨基端(N 端)有一个 21 个氨基酸的延伸,在泛素中则不存在。此外,*SUMO* 蛋白表面的电荷分布与泛素也明显不同<sup>[8]</sup>。*SUMO-2* 与 *SUMO-3* 的氨基酸序列有 97% 的相似性,与 *SUMO-4* 有 87% 的相似性,而与 *SUMO-1* 只有 50% 的相似性<sup>[9]</sup>。*SUMO-1*、*-2* 和 *-3* 在大部分组织中表达,而 *SUMO-4* 主要在肾脏、淋巴结和脾脏中表达<sup>[7, 10]</sup>。在细胞内 *SUMO-1* 主要分布在细胞核核膜和有丝分裂的纺锤体上,而 *SUMO-2/3* 主要聚集在着丝粒和染色质中<sup>[11]</sup>。*SUMO-1* 主要是以与底物蛋白质结合的形式存在,而 *SUMO-2/3* 则主要是以游离的形式存在。当机体受到外界的刺激后,游离的 *SUMO-2/3* 便会结合到底物蛋白上;当刺激消除后,*SUMO-2/3* 又会从底物蛋白上解离下来<sup>[12, 13]</sup>,从而保证了机体能够对外界刺激作出快速应答。目前,*SUMO-4* 在体内是否具有生物学功能还存有争议<sup>[7, 14-16]</sup>。*SUMO-1* 和 *SUMO-2/3* 对底物的选择有一定的偏好性,例如 *RanGAP1* 主要被 *SUMO-1* 修饰,而 *Topoisomerase II* 主要被 *SUMO-2/3* 修饰,另外一些蛋白,如 *PML*,则可同时被 *SUMO-1* 和 *SUMO-2/3* 修饰。到目前为止,已经证实可以被 *SUMO* 化修饰的底物蛋白就超过了 200 种。由于 *SUMO* 所修饰的底物蛋白的多样性,*SUMO* 在细胞内具有多种生物学功能,例如维持基因组稳定性、介导蛋白质之间的相互作用、调节蛋白质在细胞内的定位、调控转录因子活性、参与信号转导以及 DNA 损伤修复等。

## 2 SUMO 化修饰过程和相关的酶

与泛素化类似,*SUMO* 对底物蛋白的修饰也是一个多步酶促反应(图 1, 表 1)。*SUMO* 前体在 *SUMO* 特异性蛋白酶(*sen*tr*in*/*SUMO*-specific protease, *SEN*P)作用下切除羧基端(C 端)数个氨基酸,从而暴露出双甘氨酸残基,成为成熟的 *SUMO*。首先,成熟 *SUMO* 的 C 末端甘氨酸通过硫脂键与 E1 激活酶(*SUMO*-activating enzyme)的半胱氨酸残基相连,此

激活过程需要 ATP 的参与。E1 激活酶是一种异源二聚体,在人类细胞中由 *SAE1* (在酵母中被称为 *Uba2*) 和 *SAE2* (*Aos1*) 两个亚基组成。然后,*SUMO* 被转移到 E2 结合酶(*SUMO*-conjugating enzyme)的半胱氨酸残基上。到目前为止,仅发现一种 E2 结合酶,即 *Ubc9*。*Ubc9* 可以直接识别底物,从而最终将 *SUMO* 通过异肽键偶联到底物蛋白的赖氨酸残基上。许多底物蛋白都含有 *SUMO* 结合保守序列(*SUMO* consensus motif)  $\psi$ KxE ( $\psi$  代表疏水性氨基酸;K 为赖氨酸;x 代表任意的氨基酸;E 为谷氨酸)<sup>[17]</sup>。值得注意的是,并不是所有的被 *SUMO* 化

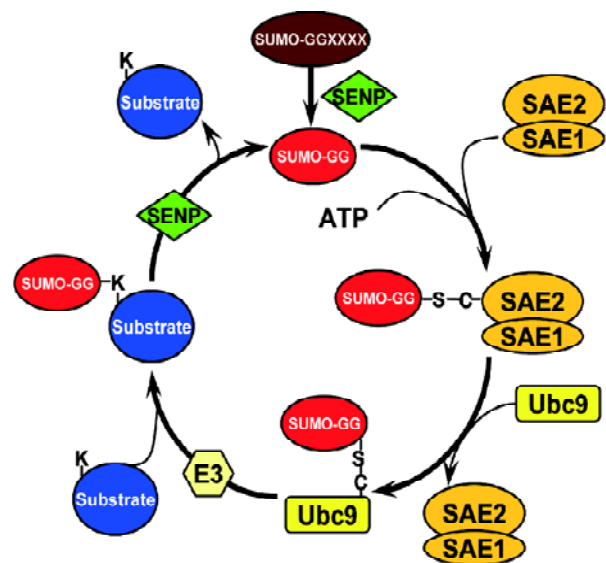


图 1 SUMO 化修饰过程示意图

表 1 SUMO 化修饰过程中相关的酶

	酵母	人
SUMO 激活酶 E1	Aos1-Uba2	SAE1-SAE2
SUMO 结合酶 E2	Ubc9	Ubc9
SUMO 连接酶 E3		PIAS1
		PIASx
		PIAS3
		PIASy
		RanBP2
		Pc2
		去 SUMO 化酶
	Uip2	SEN2
		SEN3
		SEN5
		SEN6
		SEN7

修饰的底物蛋白都含有 SUMO 结合保守序列, 如泛素结合酶 E2-25K 的 SUMO 化位点即发生在非典型的结合序列<sup>[18]</sup>。类似泛素分子成链, SUMO-2/3 自身的氨基端也具有 SUMO 结合保守序列, 能够形成多聚 SUMO 链。多聚 SUMO 链在对底物蛋白的细胞内定位及协同泛素化降解等方面发挥着重要作用<sup>[19]</sup>。在某些情况下, E3 连接酶(SUMO-ligating enzyme)可以增强 Ubc9 转移 SUMO 到底物蛋白的效率及特异性, 这可能是由于 E3 连接酶能够活化 Ubc9 或拉近 Ubc9 与底物蛋白的距离。E3 连接酶主要包括三类 PIAS(protein inhibitor of activated STAT)家族成员、RanBP2 和 Pc2。SUMO 化修饰是一个可逆的动态过程, 在去 SUMO 化酶的剪切作用下, SUMO 分子从底物蛋白上解离下来, 重新进入 SUMO 化循环。在酵母中存在两种去 SUMO 化酶, 即 Ulp (ubiquitin-like protein-specific proteases), 而在人类中则存在六种去 SUMO 化酶, 即被称为 SENP 的特异性蛋白酶。SENP1 和 SENP2 可以剪切三种形式的 SUMO, 而 SENP3/5/6 更偏好剪切 SUMO-2/3, SENP7 的剪切活性还有待进一步证实<sup>[20]</sup>。

### 3 SUMO 化修饰相关基因的模式生物体敲除模型

#### 3.1 SUMO 基因敲除

近年来, 有关 SUMO 通路中各成员生物学功能的研究相继被报道。Alkuraya 等<sup>[21]</sup>研究发现, 通过基因诱捕方法产生的 SUMO-1 缺失的纯合子小鼠胚胎出生后致死, 小部分 (8.7%) 杂合子小鼠出现唇裂表型, 提示 SUMO-1 在胚胎的正常发育过程中起着重要的作用; 而另一研究小组报道, 通过同源重组的方法产生的 SUMO-1 敲除的纯合子小鼠发育完全正常, 杂合子小鼠没有出现唇裂的表型, SUMO-1 的功能被 SUMO-2/3 代偿<sup>[22]</sup>。此外, 在斑马鱼中, 通过反义寡核苷酸技术单独敲低 SUMO-1、-2 或 -3, 胚胎发育正常; 同时敲低三个 SUMO, 胚胎发育早期致死, 说明在胚胎发育过程中 SUMO 之间功能相互冗余<sup>[23]</sup>。

#### 3.2 SUMO 结合酶 E2 基因敲除

Ubc9, 即目前已知的 SUMO 化修饰过程中的唯一的一个结合酶 E2, 其生物学功能在不同模式生物中被广泛研究。在 Ubc9 缺失的酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中, 细胞有丝分裂被阻滞在细胞周期的 G<sub>2</sub>/M 期, 导致大量细胞出芽异常<sup>[24]</sup>。

在裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 中, hus5 (Ubc9 同源基因) 的缺失导致了细胞对 DNA 合成抑制剂和辐射的敏感以及细胞有丝分裂缺陷等表型<sup>[25]</sup>。在果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 中, Ubc9 缺失阻断了 bicoid 蛋白 (调控果蝇前部体节发育的重要转录因子) 的进核, 进而影响了 bicoid 靶基因的正常表达, 最终导致果蝇前部体节发育异常<sup>[26]</sup>。在另一 Ubc9 突变的果蝇中, 减数分裂过程中纺锤体的形成受到了影响<sup>[27]</sup>。在线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 中, 沉默 Ubc9 的表达致使胚胎发育迟缓, 幼虫生殖孔外翻, 最终导致无法正常产卵以及生殖孔破裂<sup>[28]</sup>。在斑马鱼胚胎中, 敲低 Ubc9 的表达引起了细胞有丝分裂异常, 导致头、眼睛和咽弓发育缺陷<sup>[23, 29]</sup>。在鸡的 DT40 细胞系中, 条件性缺失 Ubc9 后致使细胞中出现多个细胞核, 最终促使细胞凋亡<sup>[30]</sup>。在小鼠中, Ubc9 缺失的纯合子胚胎早期致死, 内细胞团细胞凋亡, 染色体分离异常以及细胞核结构出现紊乱<sup>[31]</sup>。这提示我们 Ubc9 在维持细胞活性、胚胎发育以及正常生理活动中发挥着关键的作用。

#### 3.3 SUMO 连接酶 E3 基因敲除

虽然越来越多由 PIAS 所介导的 SUMO 化修饰的底物被报道, 但是 PIAS 家族成员敲除的小鼠表型并不严重。PIASy 敲除的纯合子小鼠发育正常, 底物蛋白的 SUMO 化修饰水平无明显变化, 仅 IFN 和 Wnt 信号通路受到轻微的影响<sup>[32, 33]</sup>。PIASx 缺失的雄鼠睾丸重量减轻, 精母细胞凋亡增多, 但是小鼠整体发育正常并且可以正常生育<sup>[34]</sup>。PIAS1 敲除的小鼠在围产期部分致死, 存活的小鼠发育矮小, 但是无组织缺陷, 并且可以正常生育。在细胞因子刺激作用下, 调节 JAK/STAT 和 NF- $\kappa$ B 信号通路的能力减弱<sup>[35]</sup>。单独敲除 PIAS 基因的小鼠发育基本正常, 提示 PIAS 家族蛋白成员之间可能存在功能冗余的现象。而当同时缺失 PIAS1 和 PIASy 时, 小鼠胚胎在 11.5 d 前死亡<sup>[36]</sup>。RanBP2 敲除的纯合子小鼠胚胎期致死, 杂合子小鼠中枢神经系统中 I 型己糖激酶 (hexokinase type I, HKI) 和 ATP 水平显著降低, 葡萄糖分解代谢不足并且体重增加速度缓慢<sup>[37]</sup>。另一研究小组通过表达不同剂量的 RanBP2 蛋白水平发现, 大约表达四分之一的蛋白水平就可以维持小鼠的正常发育, 并且底物蛋白的 SUMO 化修饰水平没有发生明显变化。在成体小鼠脾脏细胞中, 随着 RanBP2 蛋白水平的减少, 非整倍体细胞及异常染色体数目逐渐增多。低表达 RanBP2 的小鼠更易自

发或者由致癌物质诱导生成肿瘤<sup>[38]</sup>。

### 3.4 去SUMO化酶SENPs基因敲除

SUMO化修饰是一个可逆的动态过程，去SUMO化酶在此动态过程中起着重要的作用，其生物学功能的研究也越来越得到人们的重视。通过逆转录病毒随机插入方法产生的SENPs1突变的小鼠胎盘发育异常，胚胎在12.5~14.5 d死亡，底物蛋白的SUMO-1结合水平增强，而SUMO-2/3的结合水平则没有发生明显变化<sup>[39]</sup>。在另一SENPs1敲除的纯合子小鼠中，由于促红细胞生成素(Epo)缺乏而引起红系前体细胞凋亡增多，进而导致成熟红细胞数目减少，最终产生严重的胚胎期贫血，小鼠在妊娠中期死亡<sup>[40]</sup>。SENPs2敲除的纯合子小鼠由于心肌细胞增殖减少而导致心脏发育异常，胚胎在10 d左右死亡，杂合子小鼠发育正常并且可以正常生育<sup>[41]</sup>。SENPs1和SENPs2缺失导致了不同的表型，提示在胚胎发育过程中SENPs对底物的修饰具有选择性。

## 4 SUMO化修饰和人类疾病

### 4.1 SUMO化修饰和癌症

随着研究的深入，越来越多的结果表明，SUMO化修饰与许多人类重大疾病密切相关。通过基因芯片分析，发现在低存活率的肝癌患者中SUMO激活酶E1表达水平上调<sup>[42]</sup>；在人类的腺癌和卵巢癌细胞中检测到SUMO结合酶E2，即Ubc9，表达水平增高，并且过表达Ubc9促进了乳腺癌细胞的生长及肿瘤的发生<sup>[43,44]</sup>；在肺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠一直肠癌和脑癌细胞中SUMO连接酶E3(PIAS3)都存在不同程度的表达上调<sup>[45]</sup>；在前列腺癌和甲状腺癌中发现去SUMO化酶SENPs1表达水平升高<sup>[46,47]</sup>。此外，许多在肿瘤发生发展过程中起重要作用的蛋白，如p53、retinoblastoma protein (pRB)、p63、p73和murine double minute (Mdm2)等都可以被SUMO化修饰。由此可见，SUMO化修饰在癌症中扮演着重要的角色。

### 4.2 SUMO化修饰和神经退行性疾病

SUMO化修饰在许多神经退行性疾病中也起着重要的作用。引起亨廷顿氏症(Huntington's disease)的关键蛋白Huntingtin可以被SUMO化修饰，修饰后的蛋白变得更加稳定，积聚能力减弱，并且转录抑制的能力增强。在亨廷顿氏症的果蝇模型中，阻断Huntingtin的SUMO化修饰后，疾病表型有所缓解，提示Huntingtin的SUMO化修饰对其致病性至

关重要<sup>[48]</sup>。在脊髓小脑共济失调1型疾病(spino cerebellar ataxia type 1)发生过程中起重要作用的蛋白Ataxin-1也可以被SUMO化修饰，SUMO化修饰促进了该致病蛋白的积聚<sup>[49]</sup>。参与帕金森疾病(Parkinson's disease)发生的蛋白Tau和 $\alpha$ -synuclein更偏好被SUMO-1修饰<sup>[50]</sup>，另一致病蛋白DJ-1也可以被SUMO化修饰，阻断DJ-1的SUMO化修饰后致使其功能丧失。DJ-1突变体(L166P DJ-1)的异常SUMO化修饰导致了该蛋白的溶解性降低，细胞内分布发生改变，并且加速了该突变体蛋白的降解<sup>[51]</sup>。引起肌萎缩性脊髓侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis)的重要蛋白SOD1可以被SUMO-1修饰，修饰后蛋白稳定性和积聚能力增强<sup>[52]</sup>。在阿尔茨海默氏症(Alzheimer's disease)中扮演重要角色的淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)可以被SUMO-1和SUMO-2修饰，该蛋白的SUMO化修饰致使 $\beta$ -淀粉样(amyloid- $\beta$ , A $\beta$ )蛋白的积聚水平降低，而A $\beta$ 是引起阿尔茨海默氏症的关键因素<sup>[53]</sup>。

### 4.3 SUMO化修饰和心脏疾病

引起心肌病(cardiomyopathies)、肌肉营养不良(muscular dystrophies)和Hutchinson-Gilford早衰综合征(Hutchinson-Gilford progeria syndrome)的蛋白质Lamin A可以被SUMO化修饰，并且更偏好被SUMO-2修饰，SUMO化修饰对Lamin A在细胞内的正确分布起到重要作用。家族性扩张型心肌病(familial dilated cardiomyopathy)患者中Lamin A蛋白产生两种突变形式(E203G和E203K)，突变位点发生在SUMO结合保守序列。这两种突变体蛋白在细胞内分布异常并且SUMO化修饰水平减少，提示Lamin A的SUMO化修饰水平与家族性扩张型心肌病的发生密切相关<sup>[54]</sup>。

### 4.4 SUMO化修饰和白血病

白血病是造血系统的恶性疾病，居年轻人恶性疾病的首位，其发病机制至今仍不完全清楚。在急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)发病过程中起关键作用的融合蛋白PML-RAR $\alpha$ 可以被SUMO化修饰，该融合蛋白至少有三个SUMO结合位点，分别为第65位、第160位和第490位赖氨酸。第160位赖氨酸突变为精氨酸的PML-RAR $\alpha$ 转基因小鼠出现骨髓异常增生综合征，但不发生白血病，提示第160位赖氨酸的SUMO化修饰为PML-RAR $\alpha$ 融合蛋白引起白血病所必需<sup>[55]</sup>。在急性髓系细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)

中,10%左右的患者存在C/EBP $\alpha$ 基因突变。该基因突变导致一种短型的C/EBP $\alpha$ (p30)的蛋白水平升高,p30通过上调Ubc9,从而增强全长C/EBP $\alpha$ 的SUMO化修饰水平,进而抑制了全长C/EBP $\alpha$ 的转录活性。提示我们C/EBP $\alpha$ 的SUMO化修饰水平增强与急性髓系细胞白血病的发生紧密相关<sup>[56]</sup>。导致急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的重要融合蛋白TEL-AML1可以被SUMO化修饰,修饰后该致病蛋白在细胞内的定位发生改变<sup>[57]</sup>。由此可见,致病蛋白的SUMO化修饰在白血病的发生过程中起着重要的作用。

## 5 结语

近十几年来,蛋白质的SUMO化修饰研究越来越多地受到人们的关注。SUMO化修饰不仅在正常生理活动中发挥重要作用,而且修饰异常与许多人类重大疾病直接或间接相关。对SUMO化修饰的深入研究,不仅有助于进一步揭示生命的奥秘,更重要的是为理解人类相关疾病的发病机制提供新的线索,成为今后靶向治疗的一个新的靶标,为疾病的预防、诊断以及治疗提供新的策略。

### [参 考 文 献]

- [1] Bonifacino JS, Weissman AM. Ubiquitin and the control of protein fate in the secretory and endocytic pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1998, 14: 19-57
- [2] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 425-79
- [3] Meluh PB, Koshland D. Evidence that the *MIF2* gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes a centromere protein with homology to the mammalian centromere protein CENP-C. *Mol Biol Cell*, 1995, 6(7): 793-807
- [4] Mahajan R, Delphin C, Guan T, et al. A small ubiquitin-related polypeptide involved in targeting RanGAP1 to nuclear pore complex protein RanBP2. *Cell*, 1997, 88(1): 97-107
- [5] Mannen H, Tseng HM, Cho CL, et al. Cloning and expression of human homolog HSMT3 to yeast SMT3 suppressor of MIF2 mutations in a centromere protein gene. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 222(1): 178-80
- [6] Lapenta V, Chiurazzi P, van der Spek P, et al. *SMT3A*, a human homologue of the *S. cerevisiae SMT3* gene, maps to chromosome 21qter and defines a novel gene family. *Genomics*, 1997, 40(2): 362-6
- [7] Guo D, Li M, Zhang Y, et al. A functional variant of SUMO4, a new I $\kappa$ B $\alpha$  modifier, is associated with type 1 diabetes. *Nat Genet*, 2004, 36(8): 837-41
- [8] Bayer P, Arndt A, Metzger S, et al. Structure determination of the small ubiquitin-related modifier SUMO-1. *J Mol Biol*, 1998, 280(2): 275-86
- [9] Kim KI, Baek SH. Small ubiquitin-like modifiers in cellular malignancy and metastasis. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2009, 273: 265-311
- [10] Bohren KM, Nadkarni V, Song JH, et al. A M55V polymorphism in a novel *SUMO* gene (*SUMO-4*) differentially activates heat shock transcription factors and is associated with susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *J Biol Chem*, 2004, 279(26): 27233-8
- [11] Zhang XD, Goeres J, Zhang H, et al. SUMO-2/3 modification and binding regulate the association of CENP-E with kinetochores and progression through mitosis. *Mol Cell*, 2008, 29(6): 729-41
- [12] Matunis MJ, Coutavas E, Blobel G. A novel ubiquitin-like modification modulates the partitioning of the Ran-GTPase-activating protein RanGAP1 between the cytosol and the nuclear pore complex. *J Cell Biol*, 1996, 135(6 Pt 1): 1457-70
- [13] Saitoh H, Hinchev J. Functional heterogeneity of small ubiquitin-related protein modifiers SUMO-1 versus SUMO-2/3. *J Biol Chem*, 2000, 275(9): 6252-8
- [14] Guo D, Han J, Adam BL, et al. Proteomic analysis of SUMO4 substrates in HEK293 cells under serum starvation-induced stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(4): 1308-18
- [15] Owerbach D, McKay EM, Yeh ET, et al. A proline-90 residue unique to SUMO-4 prevents maturation and sumoylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 337(2): 517-20
- [16] Bohren KM, Gabbay KH, Owerbach D. Affinity chromatography of native SUMO proteins using His-tagged recombinant UBC9 bound to Co<sup>2+</sup>-charged talon resin. *Protein Expr Purif*, 2007, 54(2): 289-94
- [17] Rodriguez MS, Dargemont C, Hay RT. SUMO-1 conjugation *in vivo* requires both a consensus modification motif and nuclear targeting. *J Biol Chem*, 2001, 276(16): 12654-9
- [18] Pichler A, Knipscheer P, Oberhofer E, et al. SUMO modification of the ubiquitin-conjugating enzyme E2-25K. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12(3): 264-9
- [19] Ulrich HD. The fast-growing business of SUMO chains. *Mol Cell*, 2008, 32(3): 301-5
- [20] Yeh ET. SUMOylation and de-SUMOylation: wrestling with life's processes. *J Biol Chem*, 2009, 284(13): 8223-7
- [21] Alkuraya FS, Saadi I, Lund JJ, et al. SUMO1 haploinsufficiency leads to cleft lip and palate. *Science*, 2006, 313(5794): 1751
- [22] Zhang FP, Mikkonen L, Toppari J, et al. Sumo-1 function is dispensable in normal mouse development. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(17): 5381-90
- [23] Yuan H, Zhou J, Deng M, et al. Small ubiquitin-related modifier paralogs are indispensable but functionally redundant during early development of zebrafish. *Cell Res*, 2010, 20(2): 185-96
- [24] Seufert W, Futcher B, Jentsch S. Role of a ubiquitin-conjugating enzyme in degradation of S- and M-phase cyclins. *Nature*, 1995, 373(6509): 78-81
- [25] al-Khodairy F, Enoch T, Hagan IM, et al. The *Schizosaccharomyces pombe hus5* gene encodes a ubiquitin conjugating

- enzyme required for normal mitosis. *J Cell Sci*, 1995, 108 (Pt 2) : 475–86
- [26] Epps JL, Tanda S. The *Drosophila* *semushi* mutation blocks nuclear import of bicoid during embryogenesis. *Curr Biol*, 1998, 8 (23) : 1277–80
- [27] Apionishev S, Malhotra D, Raghavachari S, et al. The *Drosophila* Ubc9 homologue *lesswright* mediates the disjunction of homologues in meiosis I. *Genes Cells*, 2001, 6 (3) : 215–24
- [28] Jones D, Crowe E, Stevens TA, et al. Functional and phylogenetic analysis of the ubiquitylation system in *Caenorhabditis elegans*: ubiquitin-conjugating enzymes, ubiquitin-activating enzymes, and ubiquitin-like proteins. *Genome Biol*, 2002, 3 (1) : RESEARCH0002
- [29] Nowak M, Hammerschmidt M. Ubc9 regulates mitosis and cell survival during zebrafish development. *Mol Biol Cell*, 2006, 17 (12) : 5324–36
- [30] Hayashi T, Seki M, Maeda D, et al. Ubc9 is essential for viability of higher eukaryotic cells. *Exp Cell Res*, 2002, 280 (2) : 212–21
- [31] Nacerddine K, Lehembre F, Bhaumik M, et al. The SUMO pathway is essential for nuclear integrity and chromosome segregation in mice. *Dev Cell*, 2005, 9 (6) : 769–79
- [32] Roth W, Sustmann C, Kieslinger M, et al. PIASy-deficient mice display modest defects in IFN and Wnt signaling. *J Immunol*, 2004, 173 (10) : 6189–99
- [33] Wong KA, Kim R, Christofk H, et al. Protein inhibitor of activated STAT Y (PIASy) and a splice variant lacking exon 6 enhance sumoylation but are not essential for embryogenesis and adult life. *Mol Cell Biol*, 2004, 24 (12) : 5577–86
- [34] Santti H, Mikkonen L, Anand A, et al. Disruption of the murine *PIASx* gene results in reduced testis weight. *J Mol Endocrinol*, 2005, 34 (3) : 645–54
- [35] Liu B, Mink S, Wong KA, et al. PIAS1 selectively inhibits interferon-inducible genes and is important in innate immunity. *Nat Immunol*, 2004, 5 (9) : 891–8
- [36] Tahk S, Liu B, Chernishov V, et al. Control of specificity and magnitude of NF- $\kappa$ B and STAT1-mediated gene activation through PIASy and PIAS1 cooperation. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2007, 104 (28) : 11643–8
- [37] Aslanukov A, Bhowmick R, Guruju M, et al. RanBP2 modulates Cox11 and hexokinase I activities and haploinsufficiency of RanBP2 causes deficits in glucose metabolism. *PLoS Genet*, 2006, 2 (10) : e177
- [38] Dawlaty MM, Malureanu L, Jeganathan KB, et al. Resolution of sister centromeres requires RanBP2-mediated SUMOylation of topoisomerase II $\alpha$ . *Cell*, 2008, 133 (1) : 103–15
- [39] Yamaguchi T, Sharma P, Athanasiou M, et al. Mutation of SENP1/SuPr-2 reveals an essential role for desumoylation in mouse development. *Mol Cell Biol*, 2005, 25 (12) : 5171–82
- [40] Cheng J, Kang X, Zhang S, et al. SUMO-specific protease 1 is essential for stabilization of HIF1 $\alpha$  during hypoxia. *Cell*, 2007, 131 (3) : 584–95
- [41] Kang X, Qi Y, Zuo Y, et al. SUMO-specific protease 2 is essential for suppression of polycomb group protein-mediated gene silencing during embryonic development. *Mol Cell*, 2010, 38 (2) : 191–201
- [42] Lee JS, Thorgeirsson SS. Genome-scale profiling of gene expression in hepatocellular carcinoma: classification, survival prediction, and identification of therapeutic targets. *Gastroenterology*, 2004, 127 (5 Suppl 1) : S51–5
- [43] McDoniels-Silvers AL, Nimri CF, Stoner GD, et al. Differential gene expression in human lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res*, 2002, 8 (4) : 1127–38
- [44] Mo YY, Yu Y, Theodosiou E, et al. A role for Ubc9 in tumorigenesis. *Oncogene*, 2005, 24 (16) : 2677–83
- [45] Wang L, Banerjee S. Differential PIAS3 expression in human malignancy. *Oncol Rep*, 2004, 11 (6) : 1319–24
- [46] Cheng J, Bawa T, Lee P, et al. Role of desumoylation in the development of prostate cancer. *Neoplasia*, 2006, 8 (8) : 667–76
- [47] Jacques C, Baris O, Prunier-Mirebeau D, et al. Two-step differential expression analysis reveals a new set of genes involved in thyroid oncogenic tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90 (4) : 2314–20
- [48] Steffan JS, Agrawal N, Pallos J, et al. SUMO modification of Huntingtin and Huntington's disease pathology. *Science*, 2004, 304 (5667) : 100–4
- [49] Ryu J, Cho S, Park BC, et al. Oxidative stress-enhanced SUMOylation and aggregation of ataxin-1: implication of JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393 (2) : 280–5
- [50] Dorval V, Fraser PE. Small ubiquitin-like modifier (SUMO) modification of natively unfolded protein tau and  $\alpha$ -synuclein. *J Biol Chem*, 2006, 281 (15) : 9919–24
- [51] Shinbo Y, Niki T, Taira T, et al. Proper SUMO-1 conjugation is essential to DJ-1 to exert its full activities. *Cell Death Differ*, 2006, 13 (1) : 96–108
- [52] Fei E, Jia N, Yan M, et al. SUMO-1 modification increases human SOD1 stability and aggregation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 347 (2) : 406–12
- [53] Zhang YQ, Sarge KD. Sumoylation of amyloid precursor protein negatively regulates A $\beta$  aggregate levels. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 374 (4) : 673–8
- [54] Zhang YQ, Sarge KD. Sumoylation regulates lamin A function and is lost in lamin A mutants associated with familial cardiomyopathies. *J Cell Biol*, 2008, 182 (1) : 35–9
- [55] Zhu J, Zhou J, Peres L, et al. A sumoylation site in PML/RARA is essential for leukemic transformation. *Cancer Cell*, 2005, 7 (2) : 143–53
- [56] Geletu M, Balkhi MY, Peer Zada AA, et al. Target proteins of C/EBP $\alpha$ 30 in AML: C/EBP $\alpha$ 30 enhances sumoylation of C/EBP $\alpha$ 42 via up-regulation of Ubc9. *Blood*, 2007, 110 (9) : 3301–9
- [57] Chakrabarti SR, Sood R, Nandi S, et al. Posttranslational modification of TEL and TEL/AML1 by SUMO-1 and cell-cycle-dependent assembly into nuclear bodies. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2000, 97 (24) : 13281–5