

蛋白质巯基亚硝基化

——一种典型氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰*

陈 畅^{1)**} 黄 波¹⁾ 韩佩韦¹⁾ 段绍瑾²⁾

(¹⁾中国科学院生物物理研究所, 北京 100101; ²⁾中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

摘要 综述了蛋白质巯基亚硝基化修饰的特点、检测方法、功能研究、相关疾病和发展态势。蛋白质巯基亚硝基化(S-nitrosation)是指一氧化氮(nitric oxide, NO)及其衍生物修饰蛋白质半胱氨酸(cysteine, Cys)巯基-SH生成-SNO, 其是一种典型的氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰, 也是一氧化氮发挥其广泛信号转导作用的新的的重要途径。

关键词 蛋白质巯基亚硝基化, 一氧化氮, 蛋白质翻译后修饰, 氧化还原, 信号转导

学科分类号 Q5

两种进化上高度保守的蛋白质翻译后修饰广泛影响细胞诸多方面的生理活动: 一种是磷酸化修饰, 一种是氧化还原修饰。两种修饰都是可逆的, 有许多相同的靶蛋白, 并且都与人类疾病密切相关。磷酸化参与细胞信号转导的机理研究已经比较成熟^[1], 而氧化还原修饰参与细胞信号转导的机制还所知甚少, 主要问题是氧化还原修饰的特异性很难确定。1992年 Stamler 等^[2]研究发现, 蛋白质巯基被一氧化氮(NO)或其衍生物修饰可以发挥一氧化氮的生物活性并且比一氧化氮更稳定。Vedia 等^[3]同年发现一氧化氮可以作用于甘油醛-3-磷酸脱氢酶的半胱氨酸巯基-SH并影响其酶活性。1994年, Stamler^[4]首先提出了蛋白质巯基亚硝基化修饰的概念, 即: 一氧化氮作用蛋白质半胱氨酸巯基-SH生成-SNO, 并指出一氧化氮通过蛋白质巯基亚硝基化修饰进行氧化还原信号转导调控。后续的研究不断证实蛋白质的巯基亚硝基化修饰影响其在细胞内的活性和功能, 例如: NF-kappa B p50 亚基巯基亚硝基化影响其与 DNA 结合^[5]; 蛋白质巯基亚硝基化修饰能活化钙离子通道^[6]; N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) 蛋白质巯基亚硝基化影响相关信号通路^[7]; 蛋白质巯基亚硝基化调控 Caspase 酶活^[8]; 用 Fas 处理细胞, Caspase-3 发生去亚硝基化后活化, 诱导细胞凋亡^[9]。2001 年召开了第一次题为“Regulation of protein function by nitric oxide (nitrosylation and nitrosative stress)” (Juan March Foundation Workshop) 的讨论会。鉴于一氧化氮对蛋白质修饰的靶点是氧化还原敏感的半

胱氨酸, 这种修饰属于氧及谷胱甘肽相关的翻译后修饰, 另一方面, 细胞中蛋白质巯基亚硝基化修饰属于活性氮引起的应激(nitrosative stress)与氧化应激都属于氧化还原调控范畴, 因而蛋白质巯基亚硝基化修饰被确定是一种典型氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰^[10]。从此, 蛋白质氧化还原修饰研究打开了一扇新的窗口。

1 蛋白质巯基亚硝基化反应和特点

蛋白质巯基亚硝基化包括两种: 一种是蛋白质巯基被 NO 直接亚硝基化作用, 另一种是由低分子量巯基亚硝基化化合物(RSNO, 如: S-nitrosocysteine)向蛋白质的转亚硝基化作用, 目前这两种反应机理还不十分清楚。转亚硝基化反应被认为是首先生成一种中间产物, 再进一步反应完成转亚硝基化^[11]。而直接亚硝基化可能的反应为^[12]:



蛋白质巯基亚硝基化产物比较稳定, 但对强光和还原性物质(如细胞内 GSH, 抗坏血酸盐等)比较敏感, 对金属离子(尤其是 Cu^+ , Fe^{2+})极其敏感^[12]。

蛋白质亚硝基化修饰是一种可逆性的特异的修饰, 包括亚硝基化和去亚硝基化。作用位点多发生在蛋白质疏水区半胱氨酸上, 能够被亚硝基化作用

*国家自然科学基金资助项目(30270352, 39770202)。

** 通讯联系人。Tel: 010-64888406, Fax: 010-64871293,

E-mail: changchen@moon.ibp.ac.cn

收稿日期: 2006-01-23, 接受日期: 2006-03-02

的一般只有一个或者几个关键的巯基, 分单亚硝基化修饰和多亚硝基化修饰. 空间构象对亚硝基化修饰的特异性起关键作用, Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , 以及 O_2^- 等通过对蛋白质构象调控促进亚硝基化修饰. 与一氧化氮合酶共定位的蛋白质容易被亚硝基化. 虽然许多酶参与调控蛋白质巯基亚硝基化反应, 如超氧化物歧化酶、GSNO 还原酶 (S-nitrosoglutathione reductase, GSNOR)、硫氧还蛋白还原酶等分别促进亚硝基化、转亚硝基化和去亚硝基化, 但目前还没有发现特异的典型酶催化的蛋白质巯基亚硝基化反应^[13].

蛋白质亚硝基化修饰与蛋白质磷酸化修饰相比, 二者都是可逆的蛋白质翻译后修饰, 有许多共同的靶点, 包括酶、离子通道、表面受体、转录因子、G 蛋白、激酶等^[14], 如图 1 所示. 但是, 相对

于磷酸化修饰, 蛋白质巯基亚硝基化修饰在细胞生命活动中的作用和机理亟待深入研究. 类比磷酸化一级序列上的共有序列 (consensus motif), 蛋白质巯基亚硝基化修饰是否也存在共同的一级序列呢? 目前研究提出, 蛋白质巯基亚硝基化的共同一级序列 (motif) 包括一个碱性的疏水残基以及一个酸性氨基酸残基, 同时中间的 Cys 处于疏水环境中: (H,K,R)CX(D,E), 其中 X 是任意氨基酸. 这个基元是用 eMOTIF 来分析得到的 (<http://motif.stanford.edu/emotif/emotif-scan.html>), 而且哺乳动物中包含这个序列的 680 多种蛋白质很多都已经被证明是亚硝基化的底物^[13,15,16]. 但是不断增加的数据结果, 尤其是蛋白质组学研究结果表明: 蛋白质巯基亚硝基化的底物并不都符合上述一级序列, 蛋白质巯基亚硝基化的特异性主要决定于蛋白质空间环境的影响^[17].

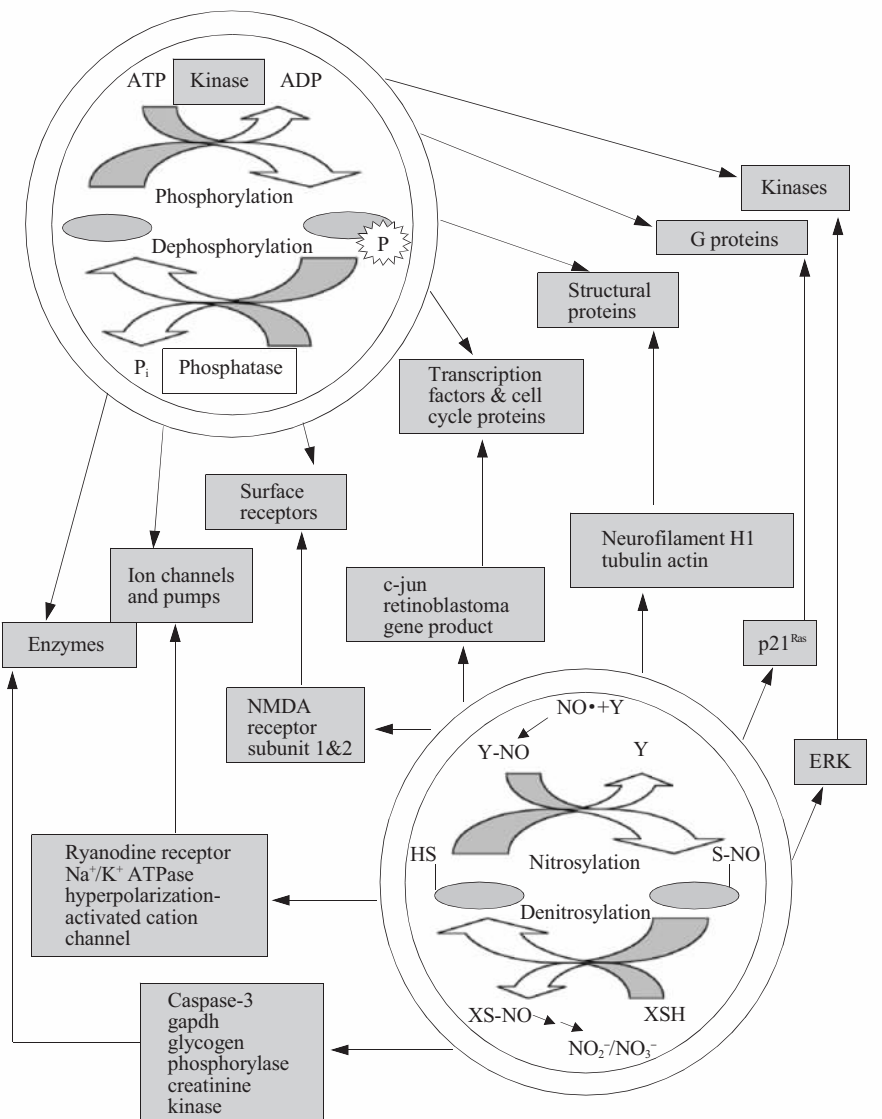


Fig. 1 S-nitrosation: head to head comparison with O-phosphorylation^[14]

图 1 蛋白质巯基亚硝基化与蛋白质磷酸化修饰的比较^[14]

2 蛋白质巯基亚硝基化检测方法

直接检测—SNO 基团: 紫外分光光度计法在 340 nm 直接测—SNO 基团特定光吸收, 方法简单, 但干扰物质多^[18].

通过检测释放的 NO 检测—SNO: 利用光解方法或利用碘化物 / 铜等还原剂方法将—SNO 转化为 NO, 通过化学发光方法间接检测蛋白质巯基亚硝基化产物^[19~21].

通过检测亚硝酸盐检测—SNO (Saville-Griess 方法): 用氯化汞通过异裂反应将—SNO 转化为 NO⁺, 其与水反应生成亚硝酸盐. 比较氯化汞处理前后体系亚硝酸盐的含量变化即是亚硝基化巯基的含量^[22].

免疫组织化学方法: 用特异性识别 S-NO moiety 的抗体, 检测生物组织切片或者玻璃板培养的细胞中蛋白质巯基亚硝基化整体水平的变化^[23].

目前, 应用比较广泛的是生物素转化方法 (Biotin-Switch method)^[24]. 基本原理如图 2 所示:

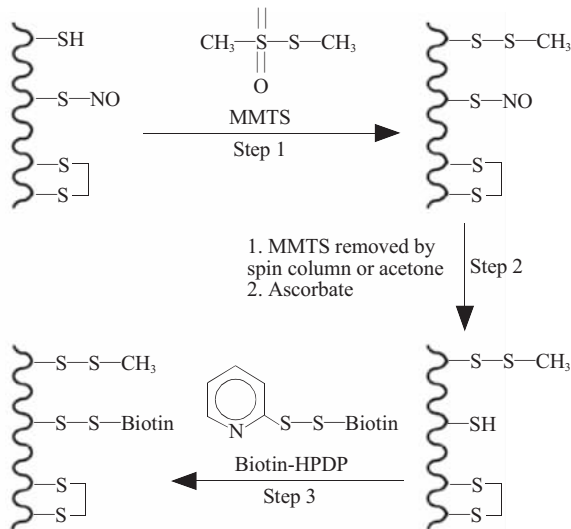


Fig. 2 Detection of S-nitrosated proteins by Biotin-Switch method^[24]

图 2 生物素转化法检测巯基亚硝基化蛋白^[24]

首先将样品中的蛋白质巯基用 MMTS (methylmethanethiolsulfonate) 封闭, 然后除去多余的封闭剂, 再用抗坏血酸盐选择性还原—SNO 为自由巯基, 加入 Biotin-HPDP (N-[6-(biotinamido) hexyl]-3'-(2'-pyridyldithio) propionamide) 标记, 通过蛋白质印迹用 streptavidin-HRP 免疫标记, 采用化学发光法检测. 我们课题组最近研究结果表明: 在生

物素转化方法中抗坏血酸盐会带来假阳性, 单纯由于加入抗坏血酸引起的信号增强不能作为蛋白质巯基亚硝基化存在的充分条件. 任何一个蛋白质当其亚硝基化比例低于 1% 时, 不能用生物素转化法判断是否有亚硝基化发生^[25]. 以生物素转化方法为基础, 结合双向电泳 - 质谱或高压液相 - 质谱进行蛋白质组学的靶点筛选和 SNO 位点的研究^[17,26]. 蛋白质组学方法产生的大量数据, 对回答蛋白质巯基亚硝基化反应的特异性等机制问题提供了统计学基础, 而蛋白质组学方法的合理应用和改进是亚硝基化靶点精确筛选的前提和保证.

3 蛋白质巯基亚硝基化修饰与蛋白质功能研究

蛋白质巯基亚硝基化修饰可通过影响蛋白质活性, 蛋白质表达, 亚细胞定位, 分子间相互作用 (蛋白质 - 蛋白质相互作用, 蛋白质 - 核酸相互作用) 对蛋白质功能进行调控. 巯基亚硝基化修饰的靶蛋白有酶、受体、离子通道、转录因子等多种蛋白质. 下面就蛋白质亚硝基化对蛋白质功能调控和对蛋白质 - 蛋白质相互作用调控举例介绍.

3.1 蛋白质巯基亚硝基化修饰对单蛋白功能的调控

NSF: N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF) 是调控细胞囊泡运输和膜融合的重要成分. 一氧化氮通过亚硝基化修饰 NSF 蛋白的关键半胱氨酸巯基, 抑制可溶性 NSF 相连的蛋白质受体复合体的拆分, 抑制 Weibel-Palade bodies 的细胞外分泌, 从而抑制血管炎症. 该结果揭示了蛋白质巯基亚硝基化修饰在调控细胞膜运输的重要作用^[27].

MMP: 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 参与神经退行性疾病和中风. 脑缺血过程中, MMP-9 与 nNOS 共定位发生亚硝基化, MMP-9 亚硝基化后进一步氧化为稳定的磺酸和次磺酸, 从而被激活并引起细胞凋亡. 这个工作首次报道了稳定的蛋白质翻译后修饰导致细胞外蛋白质水解产生病理活性^[28].

Parkin: Parkin 是一种 E3 泛素化连接酶, 参与细胞的泛素化, 在帕金森病中对多巴胺神经元存活具有重要作用. 研究发现: Parkin 在体外和体内均能被亚硝基化, 连接酶活性被抑制, 导致 Parkin 底物泛素化异常, 从而影响蛋白质降解过程. 可见, 重要功能蛋白质的巯基亚硝基化修饰可能是某些疾病的重要分子机制^[29].

3.2 蛋白质巯基亚硝基化修饰对蛋白质 - 蛋白质相互作用的调控

GAPDH-Siah1: 甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶蛋白 (GAPDH)巯基亚硝基化引发与 E3 连接酶 Siah1 的相互作用, 共同入核, 造成泛素化介导的核靶蛋白的降解, 导致细胞凋亡. 该工作揭示了蛋白质巯基亚硝基化在细胞凋亡中的核心作用^[30].

COX-iNOS: 环氧酶 -2 (COX-2)和可诱导型一氧化氮合酶(iNOS)是两种主要炎症介导因子. 炎症

过程中 iNOS 特异地与 COX-2 结合并使其亚硝基化, 增强 COX-2 的催化活性. 选择性地阻断二者的结合能抑制 NO 介导 COX-2 的激活. 该工作首次揭示了两种炎症因子通过蛋白质巯基亚硝基化修饰的协同作用^[31].

p53-HDM2: HDM2 是 p53 的负调控因子. 一氧化氮供体抑制 Hdm2 与 p53 结合. 深入研究发现, HDM2 Cys77 被亚硝基化, 抑制了这种结合, 激活 p53 与 DNA 结合活性和转录活性, 同时降低 p53

Table 1 S-nitrosated protein targets with functional effect

表 1 蛋白质巯基亚硝基化靶点

蛋白质名称	效应	文献 (Pubmed 检索号)
75 ku subunit of complex I	Inhibition	16371007
Arabidopsis methionine adenosyltransferases	Inhibition	16365035
Argininosuccinate synthetase (AS)	Inhibition	15192091
Caco-2 cells argininosuccinate synthetase	Inhibition	16380201
Caspase-3	Inhibition	11551979
Cimex lectularius (bedbug) nitrophorin	Unkown	15637157
Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH)	Inhibition	12370443
Endothelial isoform of nitric-oxide synthase (eNOS)	Inhibition	15774480, 14983058
Estrogen receptor (ER)	Inhibition	15699347
Glucokinase (GK)	Regulation, localization	12707306
Glutathione S-transferase	Activation	16386761,16195232, 11996880
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	Activation, translocation	15951807
Glypican-1	Autocleavage	12732622
H4IIE-C3 rat hepatoma cells mitochondrial aldehyde dehydrogenase (ALDH2)	Inhibition	16246123
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B (hnRNP A/B)	Inhibition	14722087
HIF-1alpha	Activation	12914934, 12560087
Hsp90	Inhibition	15937123
Inducible nitric oxide synthase	Inhibition	15779890
Inhibitory kappaB kinase (IKK)	Inhibition	15184672, 15187230
Insulin receptor substrate 1	Inhibition	15793233
Iron regulatory protein 2 (IRP2)	Reduce stability	14673166
Matrix metalloproteinases (MMPs)	Activation	12183632
Mitochondrial cytochrome-c oxidase	Inhibition	15561762
Mouse L-type Ca ²⁺ channel alpha1 subunit	Inhibition	16397145, 11278396
N-ethylmaleimide sensitive factor (NSF)	Inhibits exocytosis	15944123, 15738422, 14567907, 14567907
NF-kappa B	Inhibition	11327828
Ornithine decarboxylase	Inhibition	11461922
p21Ras	Activation	14979728, 12740440
Parkin	Inhibition	15252205, 15105460
Procaspase-9	Inhibition	14701803, 11912135, 11551979
Protein kinase B/Akt	Inhibition	15793233, 15632167
Protein tyrosine phosphatase	Inhibition	16337972, 15684422
Rat cyclooxygenase-2	Activation	16339820
Ryanodine receptor 1 (RyR1)	Activation	11562475
Thioredoxin	Activation	15289372, 15277664, 12801522
Yin Yang 1 (YY1)	Inhibition	16143308
Zn(II)-free dimethylargininase-1 (DDAH-1)	Inhibition	12441345

通过 HDM2 泛素化和降解程度, 细胞凋亡^[32]。

表 1 是 2000 年后文献报道的功能受到影响的蛋白质巯基亚硝基化靶点, 相关文献可以通过表 1 中 PUBMED ID 号查到. 2000 年以前蛋白质巯基亚硝基化靶点见 Stamler 的总结 (<http://www.cell.com/cgi/content/full/106/6/675/DC1>).

4 蛋白质巯基亚硝基化修饰与疾病

研究结果表明: 蛋白质巯基亚硝基化产物在多种疾病中表现出异常升高和降低. 关节炎、支气管炎、糖尿病、多种硬化症、惊厥、脓血症、肺结核、血胆固醇过多、中风等疾病中蛋白质巯基亚硝基化产物较正常水平明显增多. 而在哮喘、新生儿血氧不足、肺气肿等疾病中蛋白质巯基亚硝基化产物较正常水平明显降低^[33]. 哮喘患者的呼吸道中内源气管扩张剂 S-nitrosoglutathione (GSNO) 被清除, 提示这种巯基亚硝基化产物具有保护作用. 将小鼠中调控 GSNO 代谢的 GSNO 还原酶基因敲除, 同样用变态反应刺激, 呼吸道蛋白质巯基亚硝基化产物比野生型明显增高, 哮喘症状减弱, 证实了蛋白质巯基亚硝基化产物在哮喘中的重要作用^[34]。

最新研究结果发现蛋白质巯基亚硝基化修饰与 II 型糖尿病关系密切. 一氧化氮供体 GSNO 处理肌细胞, 胰岛素受体 β 亚基 (insulin receptor beta subunit, IR β)、蛋白激酶 PKB/Akt 均发生巯基亚硝基化, 酶活性降低. 胰岛素受体底物 (IRS-1) 也快速发生亚硝基化, 并且在长期 GSNO 处理情况下它的表达水平会降低. 在两种不同的胰岛素抵抗模型 diet-induced obesity 和 ob/ob diabetic mice 中, 诱导型一氧化氮合酶 iNOS 表达增高, 肌细胞中 IR β , IRS-1, Akt 亚硝基化水平均提高. 而抑制 iNOS 表达, 这些蛋白质的亚硝基化被抑制, 胰岛素的利用在两种模型中都得到提高. 因此胰岛素信号转导中重要蛋白质的巯基亚硝基化修饰是 iNOS 诱导的胰岛素抵抗的一个新分子机制^[35]。

蛋白质巯基亚硝基化修饰在植物中也广泛存在^[36]. GSNO 还原酶基因敲除的拟南芥蛋白质巯基亚硝基化水平增高, 并且发现这些蛋白质巯基亚硝基化产物在植物抗菌中起核心作用^[37]. 蛋白质巯基亚硝基化水平的调控可能是相关疾病治疗的新途径. 亚硝基化蛋白对铜十分敏感, 铜在蛋白质亚硝基化水平调控方面可能有重要作用^[33]。

5 重要问题和展望

随着对蛋白质巯基亚硝基化研究的不断深入, 这种氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰, 在细胞信号转导调控中的作用日益受到人们的关注. 正像磷酸化修饰研究的发展一样, 蛋白质巯基亚硝基化修饰可能成为下一个“磷酸化修饰”. 目前, 本领域在以下方面还有待深入研究.

a. 关于蛋白质亚硝基化修饰本身, 亚硝基化、去亚硝基化的分子反应机理、特异性、催化机制、调控机制等基本问题还不清楚.

b. 作为氧化还原依赖的亚硝基化修饰的一种, 蛋白质亚硝基化修饰对细胞氧化还原环境的依赖、与其他氧化还原修饰在反应机理和功能方面的关系, 是深入研究蛋白质亚硝基化修饰生物功能的重要问题.

c. 纵观已有的研究结果, 不难发现, 许多蛋白质巯基亚硝基化修饰发生在同一细胞过程, 如: 脂多糖 / γ 干扰素诱导的 RAW264 细胞凋亡模型中, COX 亚硝基化, GAPDH 亚硝基化等. 这些结果提示, 蛋白质亚硝基化对细胞生命活动的调控是一个作用网络, 需要从蛋白质组学角度对蛋白质亚硝基化修饰网络进行系统研究, 以反映蛋白质巯基亚硝基化修饰对细胞功能调控的全貌.

d. 蛋白质巯基亚硝基化与其他蛋白质翻译后修饰的相互调控是值得关注的重点领域.

e. 许多疾病与氧化还原密切相关, 如: 动脉硬化、神经退行性疾病、糖尿病、呼吸系统疾病等. 蛋白质巯基亚硝基化的作用和机制研究将为揭示这些疾病的机理和防治提供新的思路, 有待深入研究.

虽然对于这种氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰的研究还处在初始阶段, 蛋白质巯基亚硝基化修饰参与细胞功能调控的重要性却已十分明确和突出, 并正发展为热点研究领域. 揭示蛋白质巯基亚硝基化修饰多方面的作用机制和功能实质, 需要多学科交叉与融合以及灵敏、特异、定量的方法和技术. 通过这一新的视窗, 人们将对一氧化氮的生物学调控机制有更加全面深刻的认识, 并不断推进对氧化还原依赖的蛋白质翻译后修饰的深入研究, 丰富对细胞信号转导机制的认识, 从而为人类健康寻找新思路.

说明 关于蛋白质巯基亚硝基化的英文, 文献中 S-nitrosation 及 nitrosylation 两者都有使用, 现在倾向蛋白质巯基亚硝基化的英文使用 S-nitrosation, 而 nitrosylation 指一氧化氮与蛋白质中金属离子的结合. S-nitrosylation 是不正确的用法.

参 考 文 献

- Graves J D, Krebs E G. Protein phosphorylation and signal transduction. *Pharmacol Ther*, 1999, **82** (2~3): 111~121
- Stamler J S, Simon D I, Osborne J A, *et al.* S-nitrosylation of proteins with nitric oxide: synthesis and characterization of biologically active compounds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (1): 444~448
- Vedia L, McDonald B, Reep B, *et al.* Nitric oxide-induced S-nitrosylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase inhibits enzymatic activity and increases endogenous ADP-ribosylation. *J Biol Chem*, 1992, **267** (35): 24929~24932
- Stamler J S. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*, 1994, **78** (6): 931~936
- DelaTorre A, Schroeder R A, Kuo P C. Alteration of NF-kappa B p50 DNA binding kinetics by S-nitrosylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **238** (3): 703~706
- Xu L, Eu J P, Meissner G, *et al.* Activation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) by poly-S-nitrosylation. *Science*, 1998, **279** (5348): 234~237
- Choi Y B, Tenneti L, Le D A, *et al.* Molecular basis of NMDA receptor-coupled ion channel modulation by S-nitrosylation. *Nat Neurosci*, 2000, **3** (1): 15~21
- Mannick J B, Schonhoff C, Papeta N, *et al.* S-Nitrosylation of mitochondrial caspases. *J Cell Biol*, 2001, **154** (6): 1111~1116
- Mannick J B, Hausladen A, Liu L, *et al.* Fas-induced caspase denitrosylation. *Science*, 1999, **284** (5414): 651~654
- Stamler J S, Lamas S, Fang F C. Nitrosylation: The prototypic redox-based signaling mechanism. *Cell*, 2001, **106** (6): 675~683
- Perissinotti L L, Turjanski A G, Estrin D A, *et al.* Transnitrosation of nitrosothiols: characterization of an elusive intermediate. *J AM CHEM SOC*, 2005, **127** (2): 486~487
- Hogg N. The biochemistry and physiology of S-nitrosothiols. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2002, **42**: 585~600
- Hess D T, Matsumoto A, Stamler J S, *et al.* Protein S-nitrosylation: purview and parameters. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, **6** (5): 150~166
- Lane P, Hao G, Gross S S. S-nitrosylation is emerging as a specific and fundamental posttranslational protein modification: head-to-head comparison with O-phosphorylation. *Sci STKE*, 2001, **86**
- Gow A J, Stamler J S. Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. *Nature*, 1998, **391** (6663): 169~173
- Stamler J S, Toone E J, Lipton S A, *et al.* (S)NO signals: translocation, regulation, and a consensus motif. *Neuron*, 1997, **18** (5): 691~696
- Hao G, Derakhahan B, Shi L, *et al.* SNOSID, a proteomic method for identification of cysteine S-nitrosylation sites in complex protein mixtures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103** (4): 1012~1017
- Zhukova L, Zhukov I, Bal W. Redox modifications of the C-terminal cysteine residue cause structural changes in S100A1 and S100B proteins. *Biochem Biophys Acta*, 2004, **1742** (1~3): 191~201
- Stamler J S, Jaraki O, Osborne J, *et al.* Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (16): 7674~7677
- Marley R, Feelisch M, Holt S, *et al.* Achemiluminescence-based assay for S-nitrosoalbumin and other plasma S-nitrosothiols. *Free Radic Res*, 2000, **32** (1): 1~9
- Samouilov A, Zweier J L. Development of chemiluminescence-based methods for specific quantitation of nitrosylated thiols. *Anal Biochem*, 1998, **258** (2): 322~330
- Hoffmann J, Haendeler J, Zeiher A M, *et al.* TNFalpha and oxLDL reduce protein S-nitrosylation in endothelial cells. *J Biol Chem*, 2001, **276** (44): 41383~41387
- Gow A J, Chen Q, Hess D T, *et al.* Basal and stimulated protein S-nitrosylation in multiple cell types and tissues. *J Biol Chem*, 2002, **277** (12): 9637~9640
- Jaffrey S R, Erdjument-Bromage H, Ferris C D, *et al.* Protein S-nitrosylation: a physiological signal for neuronal nitric oxide. *Nat Cell Biol*, 2001, **3** (2): 193~197
- Huang B, Chen C. An ascorbate-dependent artifact that interferes with the interpretation of the biotin switch assay. *Free Radical Biology and Medicine*, In Press, corrected Proof. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.03.006. Available at the website: <http://dx.doi.org>
- Kuncewicz T, Sheta E A, Goldknopf I L, *et al.* Proteomic analysis of S-nitrosylated proteins in mesangial cells. *Mol Cell Proteomics*, 2003, **2** (3): 156~163
- Matsushita K, Morrell C N, Cambien B, *et al.* Nitric oxide regulates exocytosis by S-nitrosylation of N-ethylmaleimide-sensitive factor. *Cell*, 2003, **115** (2): 139~150
- Gu Z, Kaul M, Yan B, *et al.* S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science*, 2002, **297** (5584): 1186~1190
- Chung K K, Thomas B, Li X, *et al.* S-nitrosylation of parkin regulates ubiquitination and compromises parkin's protective function. *Science*, 2004, **304** (5675): 1328~1331
- Hara M R, Agrawal N, Kim S F, *et al.* S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. *Nat Cell Biol*, 2005, **7** (7): 665~674
- Kim S F, Huri D A, Snyder S H. Inducible nitric oxide synthase binds, S-nitrosylates, and activates cyclooxygenase-2. *Science*, 2005, **310** (5756): 1966~1970
- Schonhoff C M, Daou M C, Jones S N, *et al.* Nitric oxide-mediated inhibition of Hdm2-p53 binding. *Biochemistry*, 2002, **41** (46): 13570~13574

- 33 Foster M W, McMahon T J, Stamler J S. S-nitrosylation in health and disease. *Trends Mol Med*, 2003, **9** (4): 160~168
- 34 Que L G, Liu L, Yan Y, *et al.* Protection from experimental asthma by an endogenous bronchodilator. *Science*, 2005, **308** (5728): 1618~1621
- 35 Carvalho-Filho M A, Ueno M, Hirabara S M, *et al.* S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt: a novel mechanism of insulin resistance. *Diabetes*. 2005, **54** (4): 959~967
- 36 Lindermayr C, Saalbach G, Durner J. Proteomic identification of S-nitrosylated proteins in Arabidopsis. *Plant Physiol*, 2005, **137**(3): 921~930
- 37 Feechan A, Kwon E, Yun B W, *et al.* A central role for S-nitrosothiols in plant disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (22): 8054~8059

S-nitrosation: The Prototypic Redox-based Post-translational Modification of Proteins*

CHEN Chang^{1)**}, HUANG Bo¹⁾, HAN Pei-Wei¹⁾, DUAN Shao-Jin²⁾

¹⁾*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;*

²⁾*Guang'anmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100053, China)*

Abstract S-nitrosation, which involves the formation of an S-nitroso function group on a protein cysteine residue, is a prototypic redox-based post-translational modification of proteins, and thereby conveys a large part of the ubiquitous influence of nitric oxide on cellular signal transduction. A purview of this modification was given mainly concerning the characteristics, the detection methods, the functional effects, the relevant diseases and the perspectives.

Key words S-nitrosation, nitric oxide, post-translational modification of proteins, redox, signal transduction

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30270352, 39770202).

**Corresponding author. Tel: 86-10-64888406, Fax: 86-10-64871293, E-mail: changchen@moon.ibp.ac.cn

Received: January 23, 2006 Accepted: March 2, 2006