

pro-Met的N-糖基化修饰对c-Met功能的影响

段春燕, 陈绍坤, 张春燕, 冯春红, 刘友平, 夏先明, 余文静, 代荣阳, 李洪

■背景资料

c-Met是一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体, 是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的天然受体。HGF与c-Met的Tyr-1234/1235具有催化活性的结构域结合, 并使其发生磷酸化, 从而引起c-Met活化。当c-Met激活后, 会引起下游多条信号通路活化, 如PI3K/Akt和MEK/ERK等, 通过这些信号通路, HGF/c-Met通路调控着细胞的增殖、分化和迁移。多种肿瘤的发生、发展都与HGF/c-Met信号通路异常活化有关。

段春燕, 陈绍坤, 张春燕, 刘友平, 余文静, 代荣阳, 李洪, 泸州医学院生物化学与分子生物学教研室 四川省泸州市 646000

冯春红, 夏先明, 代荣阳, 泸州医学院附属医院肝胆外科 四川省泸州市 646000

段春燕, 主要从事肝脏疾病的研究。

教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No. NCET-11-1058

四川省科技厅青年基金资助项目, No. 2013JQ0045

四川省科技厅支撑计划基金资助项目, No. 2009SZ0117

作者贡献分布: 段春燕与李洪对此文所作贡献均等; 此课题由段春燕与李洪设计; 研究过程由段春燕、陈绍坤、张春燕、冯春红、刘友平、夏先明、余文静及代荣阳操作完成; 数据分析由代荣阳完成; 本文写作由段春燕完成。

通讯作者: 李洪, 教授, 646000, 四川省泸州市忠山路, 泸州医学院生物化学与分子生物学教研室。lihong7188@163.com

电话: 0830-3160673

收稿日期: 2014-01-07 修回日期: 2014-04-28

接受日期: 2014-05-12 在线出版日期: 2014-07-18

Effect of N-linked glycosylation modification of pro-Met on function of c-Met

Chun-Yan Duan, Shao-Kun Chen, Chun-Yan Zhang, Chun-Hong Feng, You-Ping Liu, Xian-Ming Xia, Wen-Jing Yu, Rong-Yang Dai, Hong Li

Chun-Yan Duan, Shao-Kun Chen, Chun-Yan Zhang, You-Ping Liu, Wen-Jing Yu, Rong-Yang Dai, Hong Li, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Chun-Hong Feng, Xian-Ming Xia, Rong-Yang Dai, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: New Century Talent Supporting Project by Education Ministry, No. NCET-11-1058; Science Foundation for Young Scholars of Sichuan Province, No. 2013JQ0045; Project Supported by the Science Plan of Sichuan Province, No. 2009SZ0117

Correspondence to: Hong Li, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Luzhou Medical College, Zhongshan Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. lihong7188@163.com

Received: 2014-01-07 Revised: 2014-04-28

Accepted: 2014-05-12 Published online: 2014-07-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of N-linked glycosylation modification of pro-Met on the function of c-Met in human hepatocellular carcinoma (HCC) cell line MHCC-97H and human cholangiocarcinoma cell line RBE.

METHODS: Tunicamycin (Tun), an inhibitor of N-glycosylation, MG132, a proteasome inhibitor, cycloheximide (CHX), a protein synthesis inhibitor, and PF-2341066, a c-Met inhibitor, were used in this study. The effect of N-linked glycosylation modification of pro-Met on c-Met function in MHCC-97H and RBE cells were determined by Western blot, immunofluorescence and confocal microscopy.

RESULTS: We found that both phosphatidylinositol 3 kinase/Akt (PI3K/Akt) and mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (MEK/ERK) were downstream to c-Met. Furthermore, c-Met was an N-linked glycosylated protein. N-glycosylation modification of p145Met was from pro-Met, but not due to the further modification of pro-Met. Importantly, blocking the N-glycosylation of pro-Met targeted pro-Met to the cytoplasm and initiated its phosphorylation independent of hepatocyte growth factor (HGF) engagement. Nonglycosylated pro-Met, which was phosphorylated, only in part activated c-Met downstream signals.

CONCLUSION: N-glycosylation is required for c-Met function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: c-Met; pro-Met; N-glycosylation; Phosphorylation

Duan CY, Chen SK, Zhang CY, Feng CH, Liu YP, Xia XM, Yu WJ, Dai RY, Li H. Effect of N-linked glycosylation modification of pro-Met on function of c-Met. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(20): 2826-2838 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i20.2826>

摘要

目的: 探讨人肝癌细胞(MHCC-97H)和人胆管癌细胞(human bile duct carcinoma cell, RBE)中酪氨酸激酶受体c-Met前体(pro-Met)的N-糖基化修饰对c-Met功能的影响。

方法: 分别用N-糖基化抑制剂衣霉素、蛋白

■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

酶体抑制剂MG132、蛋白合成抑制剂放线菌酮及c-Met抑制剂PF-2341066处理MHCC-97H细胞和RBE细胞,采用Western blot、免疫荧光及激光共聚焦显微镜等方法分析pro-Met的N-糖基化修饰对c-Met功能的影响。

结果: MHCC-97H细胞和RBE细胞中磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase/Akt, PI3K/Akt)以及有丝分裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MEK/ERK)是c-Met下游信号通路。c-Met是一种N-糖基化修饰的蛋白分子。c-Met的N-糖基化修饰源于pro-Met的N-糖基化。非糖基化pro-Met虽然能够发生磷酸化修饰,但不能有效激活c-Met下游信号通路。c-Met的成熟和膜定位需要其糖基化修饰。

结论: c-Met的N-糖基化修饰是维持其功能所必需的。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: c-Met; pro-Met; N-糖基化; 磷酸化

核心提示: 该实验发现c-Met具有N-糖基化修饰而非O-糖基化修饰。c-Met的糖基化源于pro-Met的N-糖基化修饰,抑制pro-Met的N-糖基化修饰导致pro-Met的磷酸化修饰。此外,由于未糖基化的pro-Met不能定位于细胞膜,因而磷酸化的pro-Met不能有效激活c-Met下游的信号途径。c-Met的N-糖基化修饰是维持其功能所必需的。

段春燕, 陈绍坤, 张春燕, 冯春红, 刘友平, 夏先明, 余文静, 代荣阳, 李洪. pro-Met的N-糖基化修饰对c-Met功能的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(20): 2826-2838 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i20.2826>

0 引言

c-Met是一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体,是肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)的天然受体。酪氨酸1234和1235(Tyr-1234/1235)位点的磷酸化调控决定了c-Met的活性,除了HGF外, Tyr-1349/1356的磷酸化还受到多种因素的调控^[1-3]。HGF与c-Met的Tyr-1234/1235具有催化活性的结构域结合,并使其发生磷酸化,从而引起c-Met活化。当c-Met激活后,会引起下游多条信号通路活化,如磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/Akt以及有丝分裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(mitogen-activated

protein kinase/extracellular signal-regulated kinase, MEK/ERK)等^[4-6],通过这些信号通路, HGF/c-Met通路调控着细胞的增殖、分化和迁移。多种肿瘤的发生、发展都与HGF/c-Met信号通路异常活化有关。c-Met的表达受到转录及翻译后水平的调控,并在细胞外基质信号转导中发挥着作用。研究发现^[7-10],当HGF与受体c-Met未结合时,活性异常的c-Met与其过度表达有直接的关系。c-Met前体(pre-Met)经过翻译后加工修饰,包括糖基化、二硫键的形成及蛋白酶的裂解形成成熟的c-Met。c-Met的合成首先是在内质网上对单链前体进行糖基化,形成pro-Met,后者再经过二硫键的形成、翻译后的糖基化修饰、蛋白酶裂解等加工修饰,形成一种具有两个亚基的异二聚体形式c-Met(p190Metαβ)。p190Metαβ包括两个亚基: α亚基(p50Met)和β亚基(p145Met),他们之间由二硫键连接。α亚基在细胞外,而β亚基则是跨膜部分并且包含了酪氨酸激酶的催化结构域^[11-16]。

c-Met的糖基化修饰与其功能之间的关系还不十分清楚,本实验采用Western blot、免疫荧光等方法对人肝癌细胞和人胆管癌细胞中pro-Met的N-糖基化修饰对c-Met功能的影响进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料 N-糖基化抑制剂衣霉素(tunicamycin, Tun)、N-糖苷酶、O-糖苷酶、蛋白酶抑制剂MG132及蛋白合成抑制剂放线菌酮(cycloheximide, CHX)均购自Sigma公司; c-Met抑制剂PF-2341066购自Selleck公司; 抗c-Met、GRP78及β-actin一抗购自Santa Cruz公司; 抗p-Akt (Ser-473)、p-ERK(Thr-202/Tyr204)、p-Met (Tyr-1234/1235/1349)、Akt及ERK一抗购自Cell Signaling公司; 二抗购自Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理: 分别将人肝癌细胞系(MHCC-97H)及人胆管癌细胞系(RBE)以10%胎牛血清DMEM培养基培养,置于CO₂培养箱中(5%CO₂、95%空气、37℃),视情况换液。培养细胞分别用Tun(2.5 μg/mL)、PF-2341066(100 nmol/L)、MG132(20 μmol/L)及CHX(10 μmol/L)处理,并按在对应时间点收集细胞。

1.2.2 Western blot检测: 提取各组细胞蛋白质, SDS-PAGE电泳分离。利用半干式电转移仪将凝胶中的蛋白转移至PVDF膜, 120 min。转膜结束后将PVDF膜加入5%牛血清白蛋白进行封

■ 研发前沿

糖基化修饰是大多数蛋白质成熟加工一个重要环节。糖蛋白的N-糖基化修饰在其折叠、细胞内转运、分泌及功能方面都起到重要作用。本研究c-Met的糖基化修饰对其功能的影响。

■相关报道

c-Met是一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体,是肝细胞生长因子的天然受体。酪氨酸1234和1235位点的磷酸化调控决定了c-Met的活性,除了HGF外,Tyr-1349/1356的磷酸化还受到多种因素的调控。

闭,室温1 h。封闭结束后,将印迹有目的蛋白的PVDF膜与其抗体稀释液置于4℃孵育过夜。用1×TBST洗膜3次(5 min/次),印迹有目的蛋白的PVDF膜与二抗稀释液室温振摇孵育1 h。用1×TBST洗膜3次(5 min/次)。最后将化学发光剂浸透PVDF膜,并置于凝胶成像系统,放射自显影5 min,即得到目的蛋白的免疫印迹图谱。

1.2.3 免疫荧光定位及激光共聚焦显微镜检测:当细胞生长密度为60%时,多聚甲醛固定细胞,p-Met及Met一抗4℃孵育过夜,CY3标记的荧光二抗室温1 h孵育,进行免疫荧光及激光共聚焦显微镜检测。

统计学处理 免疫印迹图谱用Quantity One分析软件,对获得的印迹条带进行灰度测定,用每个目的蛋白条带的灰度扫描值对比相应的内参条带的灰度值,即得到目的蛋白灰度的标化值。数据资料用mean±SD表示,采用SPSS16.0软件进行作图和统计分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 c-Met的表达及其下游信号通路分析 首先检测MHCC-97H和RBE细胞中磷酸化和非磷酸化c-Met表达情况。如图1A显示,MHCC-97H和RBE细胞中磷酸化和非磷酸化c-Met表达均较强。有研究表明PI3K/Akt和MEK/ERK是两条典型的c-Met下游信号通路^[1,3]。为了明确MHCC-97H和RBE细胞中Akt和ERK的磷酸化是否对c-Met的活化存在依赖性,采用c-Met抑制剂PF-2341066(PF, 100 nmol/L)分别处理MHCC-97H和RBE细胞。Western blot图谱显示,c-Met抑制剂PF-2341066能明显地降低有效激活c-Met下游信号通路p-Akt和p-ERK的表达(图1B)。结果证实MHCC-97H和RBE细胞中PI3K/Akt和MEK/ERK是c-Met下游信号通路。

2.2 c-Met的N-糖基化修饰分析 细胞经过N-糖苷酶处理后,发现pro-Met和p145Met的分子量和他们在SDS凝胶上的迁移率发生了变化(图2)。然而,经过O-糖苷酶处理后,pro-Met和p145Met均没有出现迁移率的改变(图2)。结果表明c-Met是一种进行N-糖基化修饰而非O-糖基化修饰的蛋白分子。

2.3 Pro-Met的N-糖基化与c-Met的N-糖基化修饰的关系 经用N-糖基化抑制剂Tun(2.5 μg/mL)分别作用MHCC-97H及RBE细胞,显示Tun作用3 h后pro-Met分子量逐渐发生改变(图3A),但Tun作

用后并没有降低p145Met的分子量(图3A),提示c-Met的糖基化发生在pro-Met上,p145Met糖基化来自pro-Met,其自身并没有发生进一步的糖基化。更换无糖培养基对细胞分别进行培养24和36 h后收集细胞,Western blot分析显示,pro-Met的分子量出现改变,而p145Met分子量没有变化(图3B),进一步说明c-Met的糖基化源于pro-Met的糖基化修饰。我们进一步用蛋白质合成抑制剂CHX(10 μmol/L)、Tun(2.5 μg/mL)和CHX+Tun分别处理细胞24 h,结果证实,pro-Met的合成导致了c-Met的翻译后N-糖基化修饰(图3C)。此外,Tun处理后细胞pro-Met糖基化修饰受到抑制,p145Met表达水平也呈时间依赖性显著减低(图3A, B)。图3A、C显示葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78, GRP78)表达量增加,表明Tun处理MHCC-97H和RBE细胞能够诱发内质网应激。

既然Tun可通过抑制N-糖基化修饰诱导内质网应激,那么Tun则可以通过与内质网应激相关联的降解来促进p145Met的降解。实验同时也证实了蛋白酶抑制剂MG132(20 μmol/L)抑制了Tun诱导的p145Met的降解(图3D)。

2.4 糖基化修饰对pro-Met磷酸化和功能的影响 从图4A可以看到,抗c-Met磷酸化抗体不能检测到pro-Met,表明在MHCC-97H和RBE细胞中pro-Met没有被磷酸化修饰。但是,Tun诱导的非糖基化pro-Met则可被磷酸化修饰。另外,非糖基化pro-Met的磷酸化修饰可以被c-Met抑制剂PF-2341066所抑制(图4B)。为了研究非糖基化pro-Met的功能,我们分析了其N-糖基化修饰对c-Met下游信号通路的抑制作用。如图4C所示,经过Tun处理后的MHCC-97H和RBE细胞中Akt及ERK磷酸化水平降低。更为重要的是,c-Met抑制剂PF-2341066不仅能抑制非糖基化pro-Met的磷酸化,而且还能进一步降低经Tun处理后MHCC-97H和RBE细胞中Akt和ERK的磷酸化水平。这些结果表明非糖基化pro-Met能够部分激活c-Met下游信号通路。

2.5 糖基化修饰对c-Met膜定位的影响 实验通过免疫荧光和激光共聚焦显微镜观察了在Tun处理MHCC-97H细胞后c-Met的细胞定位情况。如图5A、B所示,用二甲亚砜对MHCC-97H细胞24 h处理后,磷酸化及非磷酸化c-Met在细胞膜上定位;而在Tun处理MHCC-97H细胞24 h后,磷酸化和非磷酸化pro-Met则富集在胞浆中。因此,c-Met的膜转移定位需要其糖基化修饰。

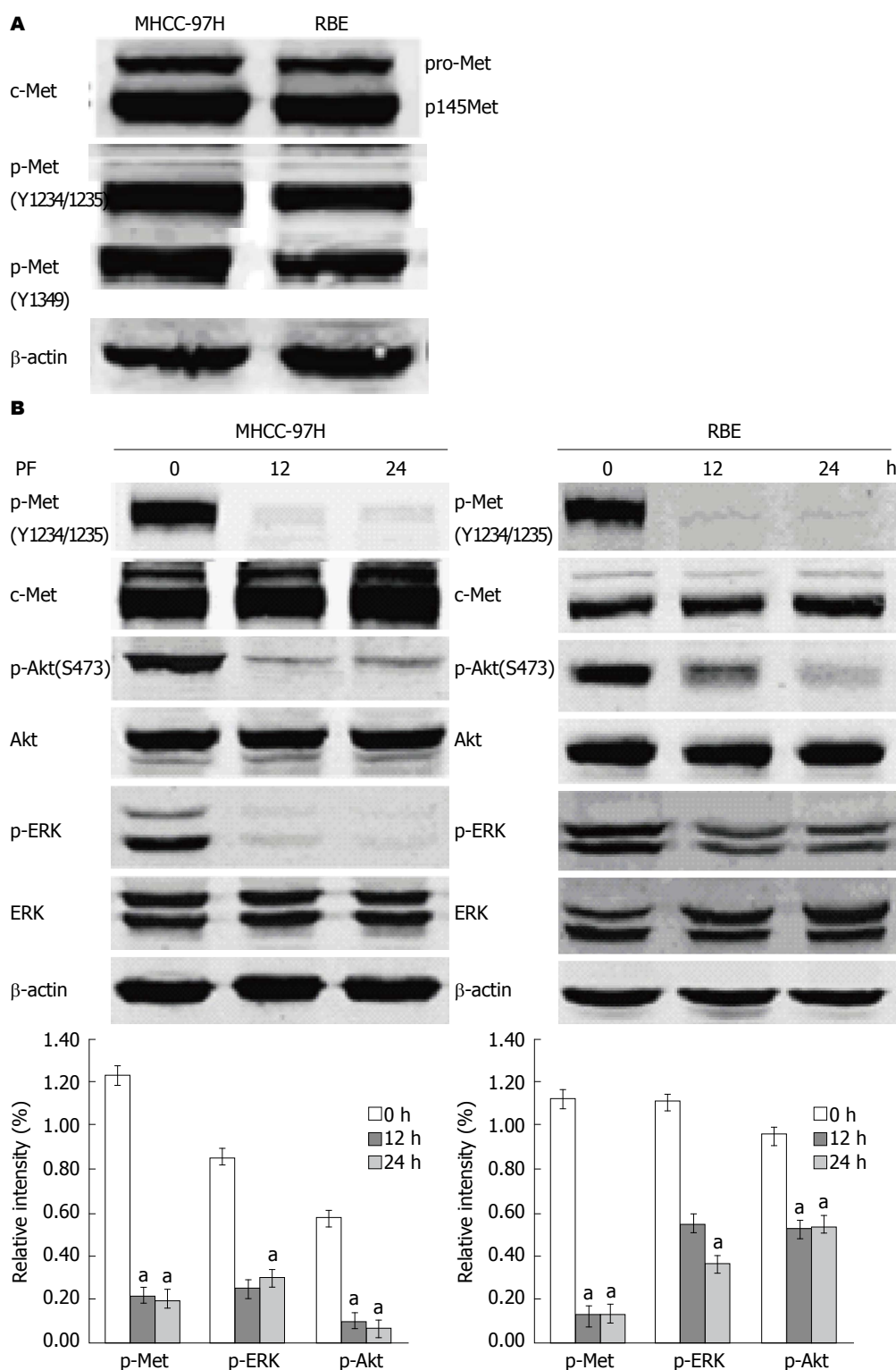


图1 c-Met的表达及其下游通路的Western blot分析。A: MHCC-97H和RBE细胞中c-Met磷酸化蛋白的表达; B: 使用PF-2341066后, 细胞内磷酸化蛋白的表达。p-Met: 磷酸化Met; ERK: 细胞外信号调节激酶; p-ERK: 磷酸化细胞外信号调节激酶; Akt: 蛋白激酶B; p-Akt: 磷酸化蛋白激酶B。* $P < 0.05$ vs 对照组。

3 讨论

糖基化修饰是大多数蛋白质成熟加工一个重要环节。糖蛋白的N-糖基化修饰在其折叠、细胞内转运、分泌及功能方面都起到重要作用^[17-21]。本实验研究了c-Met的糖基化修饰对其功能的影响。

鉴于pro-Met和p145Met都是N-糖基化修饰的蛋白质, 实验分析了糖基化的pro-Met是否需要进一步糖基化生成p145Met。结果显示, c-Met的糖基化发生在pro-Met上, 糖基化的p145Met来自pro-Met, 而p145Met没有发生进一步的糖基化。因此

■应用要点

本研究对于阐明 HGF/c-Met 信号通路在肿瘤发生、发展中确切机制及其分子靶向治疗方面具有重要的理论价值。

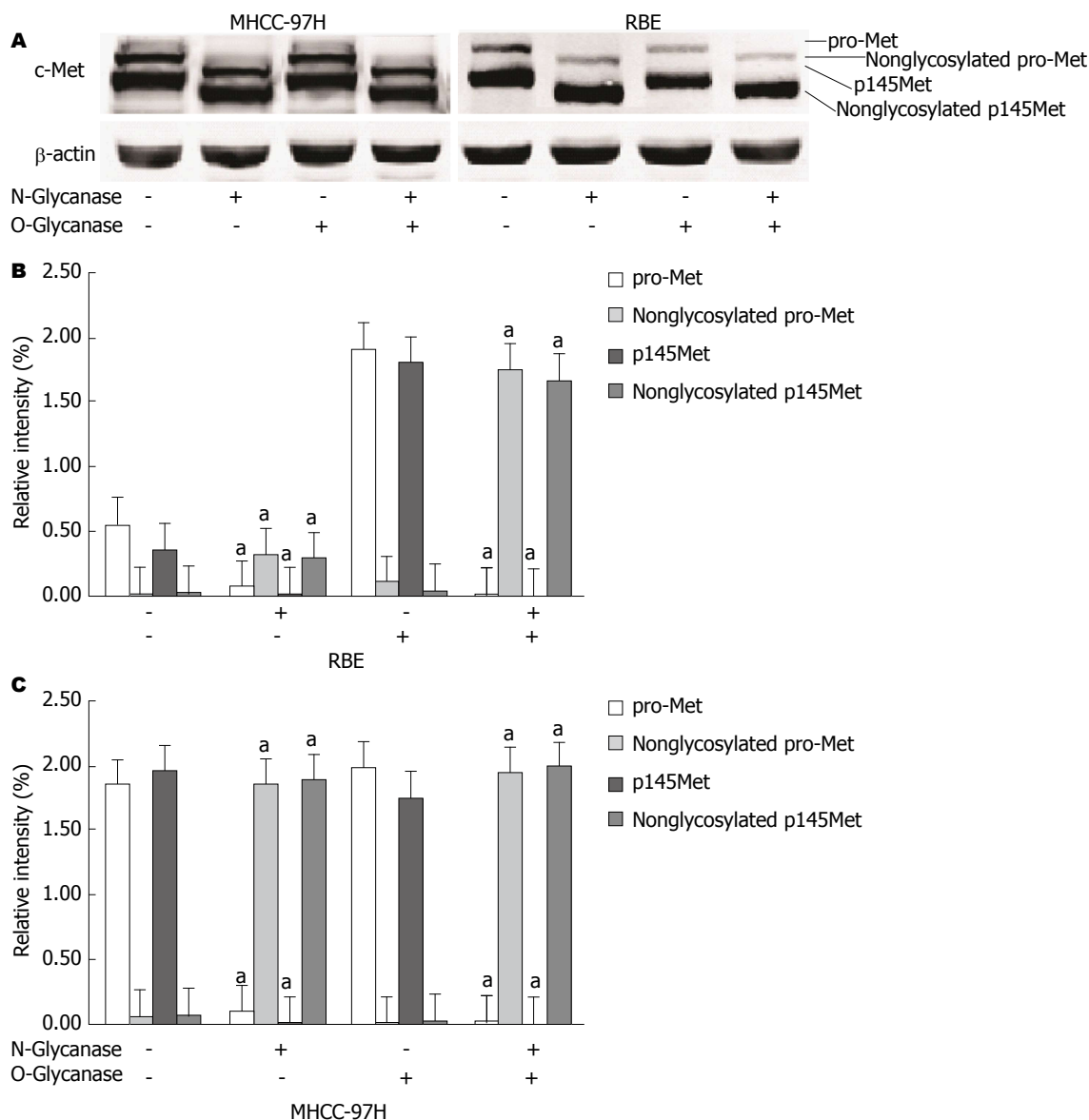
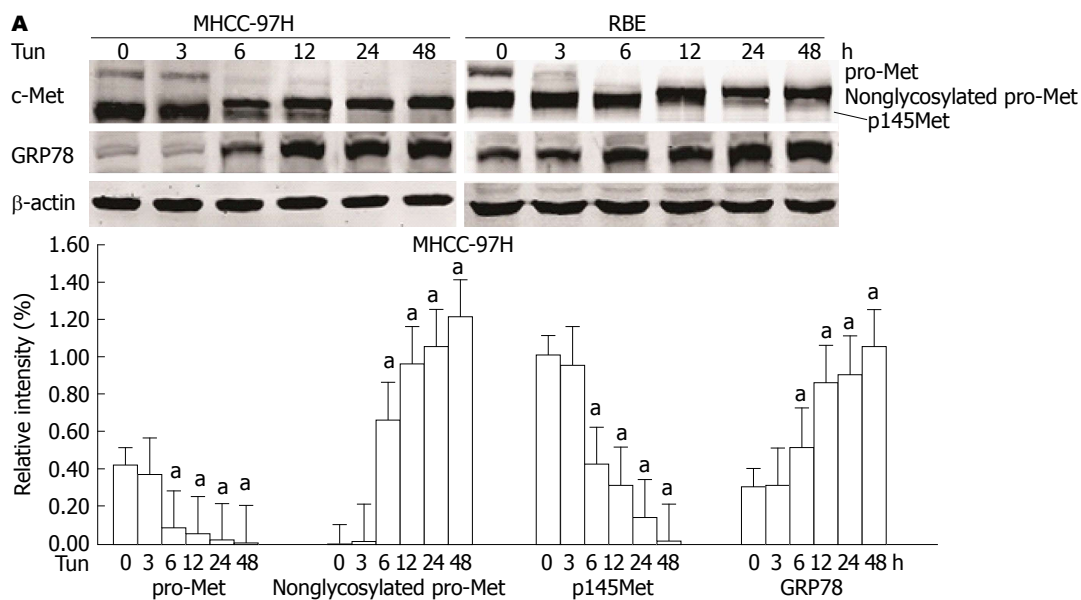
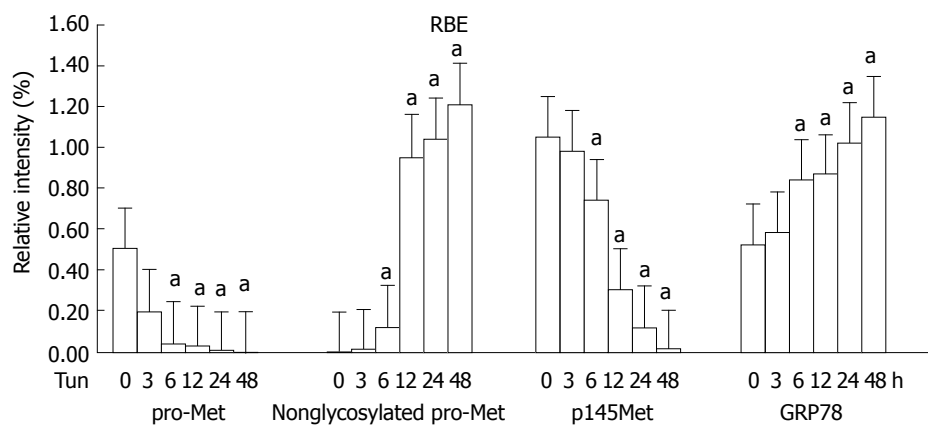


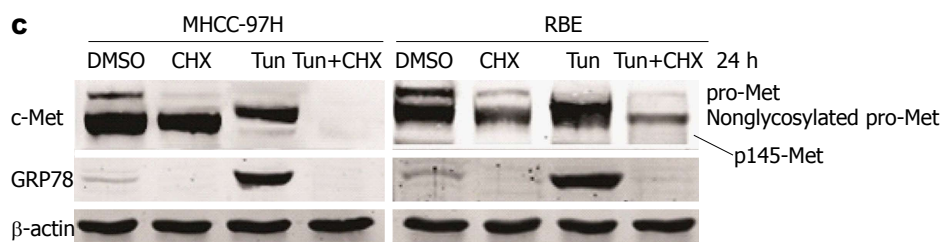
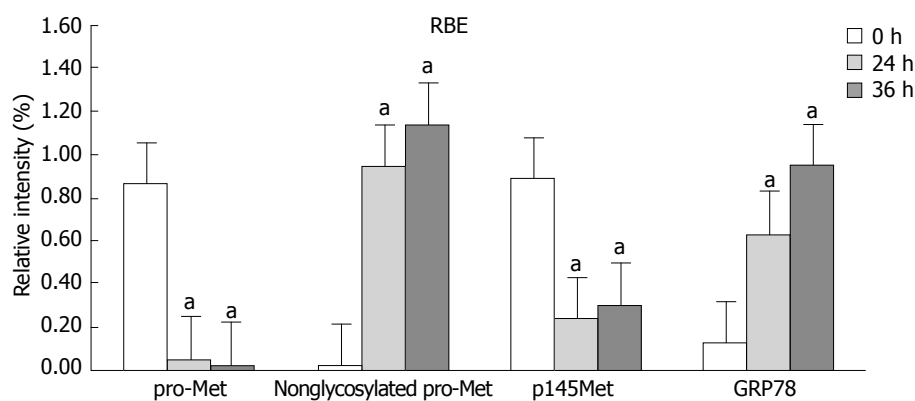
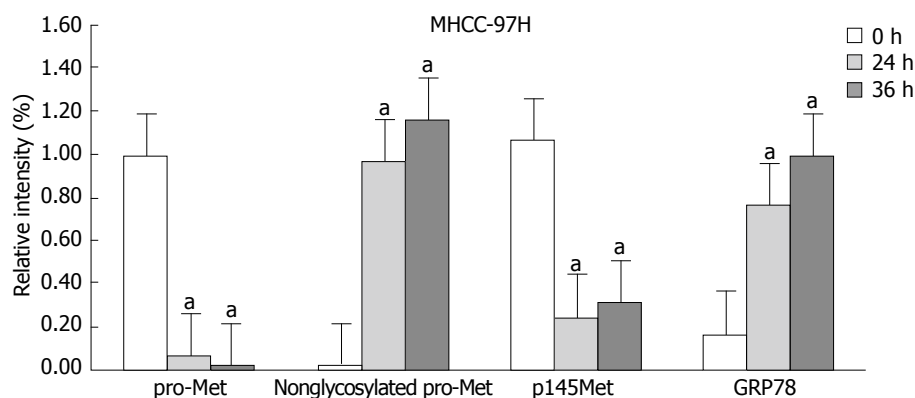
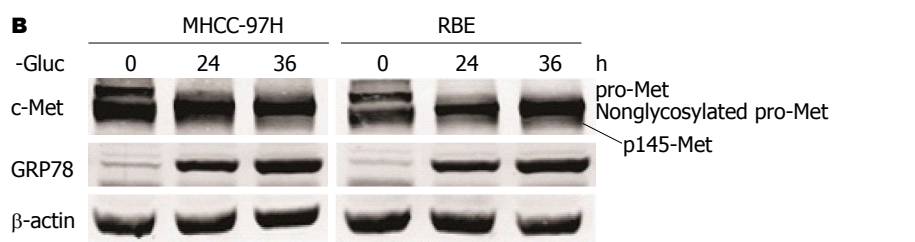
图2 c-Met的N-糖基化修饰。A: Western blot结果; B: RBE中相对表达量; C: MHCC-97H的相对表达量。Nonglycosylated pro-Met: 非糖基化前Met; Nonglycosylated p145-Met: 非糖基化; N-Glycanase: N-聚糖酶; O-Glycanase: O-聚糖酶。* $P < 0.05$ vs 对照组。





■名词解释

成熟的c-Met:
c-Met前体(pre-Met)经过翻译后加工修饰,包括糖基化、二硫键的形成及蛋白酶的裂解形成成熟的c-Met。



■同行评价

本研究内容丰富、结果详实,初步揭示了pro-Met的N-糖基化修饰在肿瘤细胞HGF/c-Met信号通路中对c-Met功能的影响,从而对c-Met下游PI3K/Akt和MEK/ERK两条信号通路影响,导致肿瘤细胞增殖、分化和迁移等生物学行为的改变。研究对于阐明HGF/c-Met信号通路在肿瘤发生、发展中确切机制及其分子靶向治疗方面具有重要的理论研究价值。

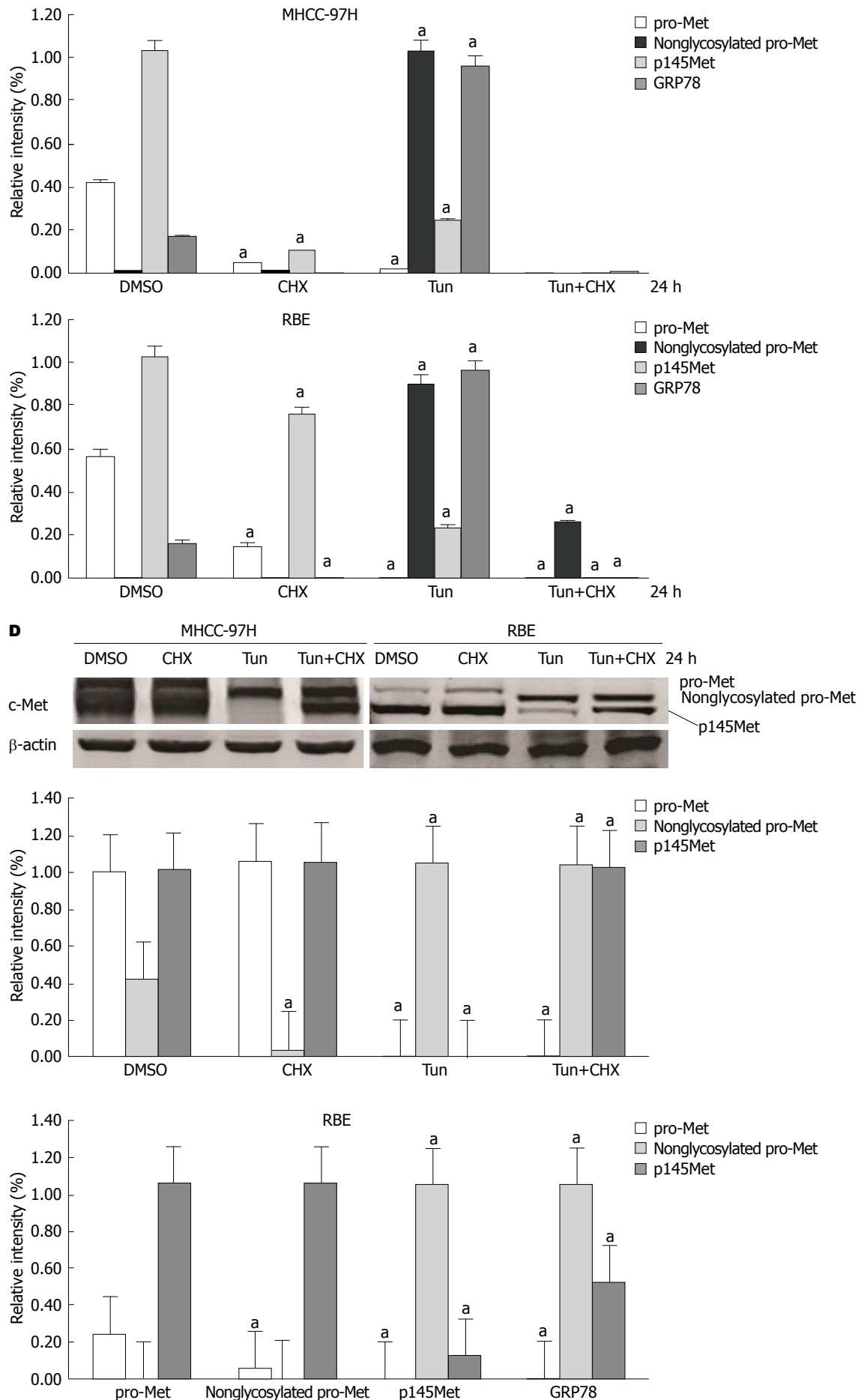
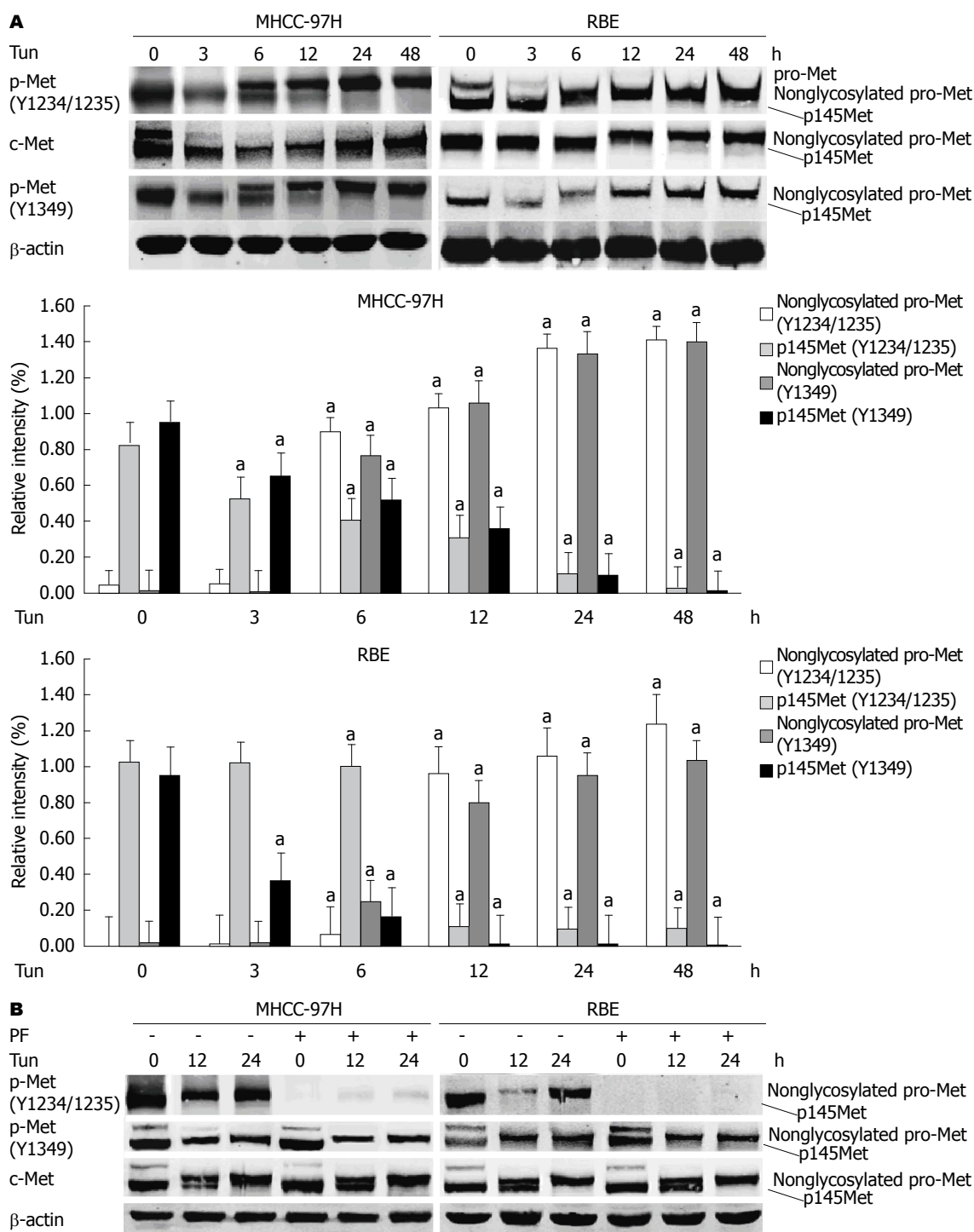
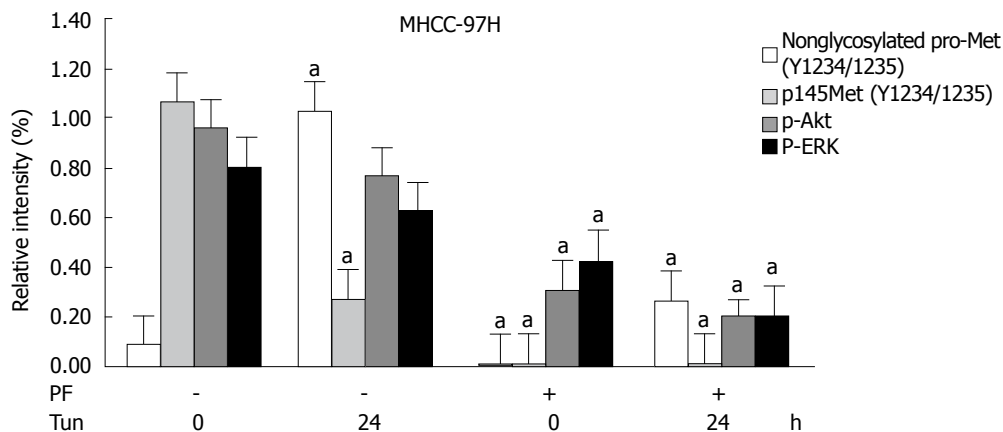
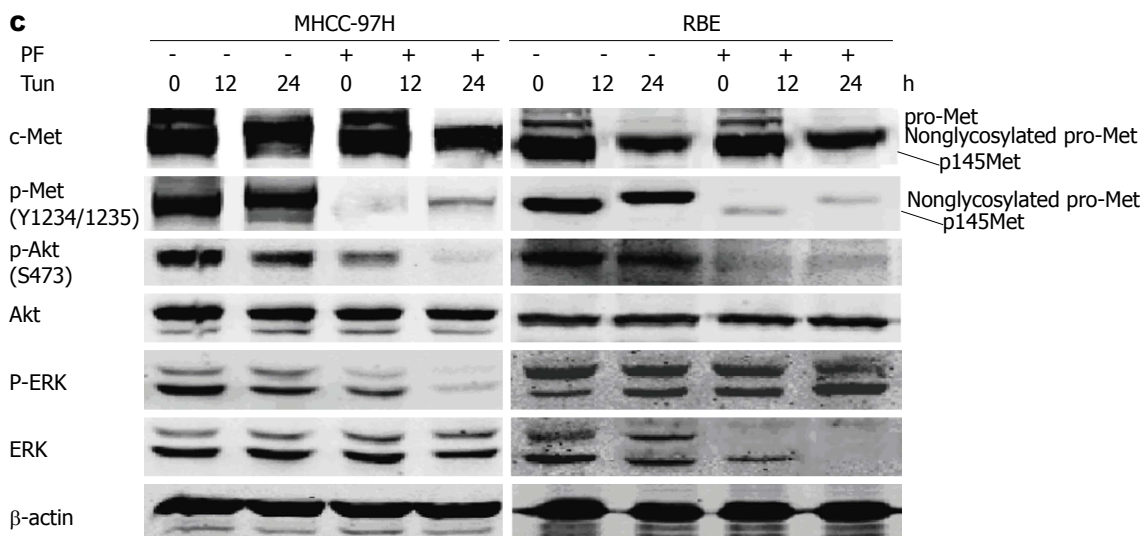
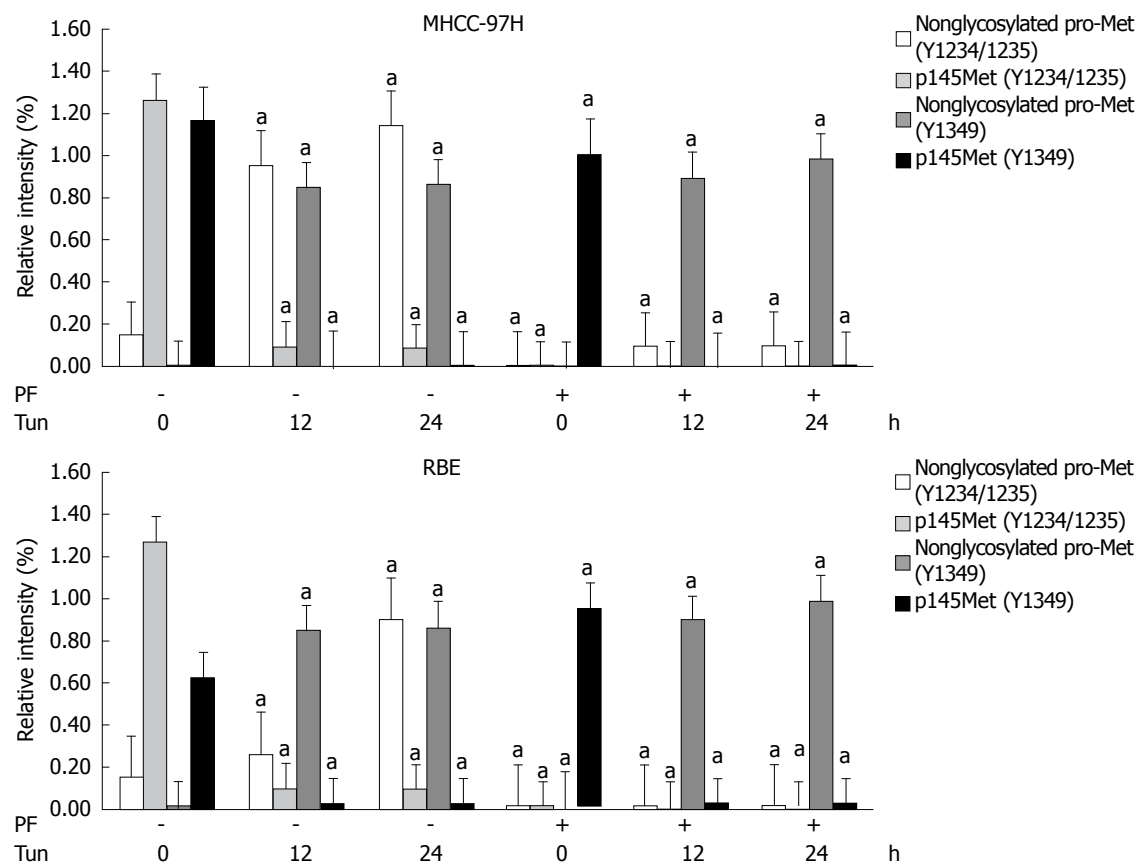


图 3 c-Met的N-糖基化修饰来源于pro-Met的N-糖基化修饰. A: 衣霉素抑制pro-Met的糖基化; B: 糖缺乏可抑制pro-Met的糖基化; C: 环乙酰亚胺可抑制非糖基化pro-Met的表达; D: MG132可抑制衣霉素诱导的p145Met的降解. GRP78: 葡萄糖调节蛋白; Nonglycosylated pro-Met: 非糖基化前Met; DMSO: 二甲亚砜; Tun: 衣霉素; CHX: 蛋白合成抑制剂放线菌酮; MG: 蛋白酶体抑制剂. $^aP<0.05$ vs 对照组.





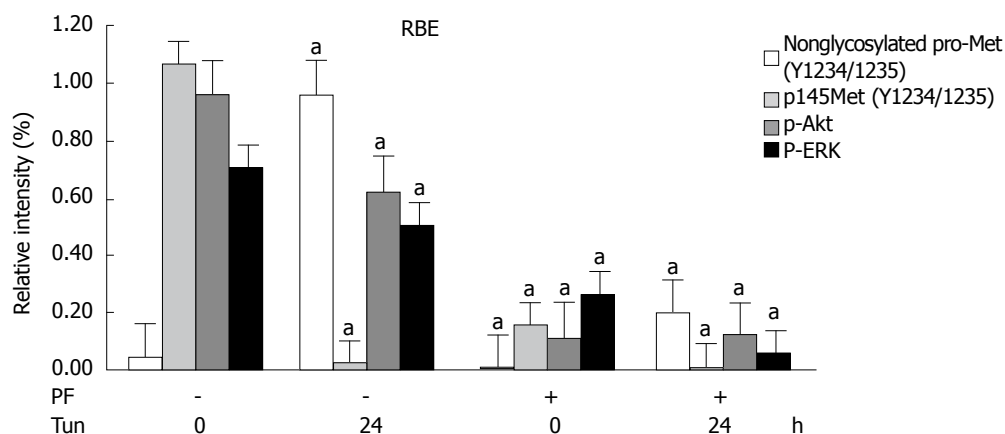
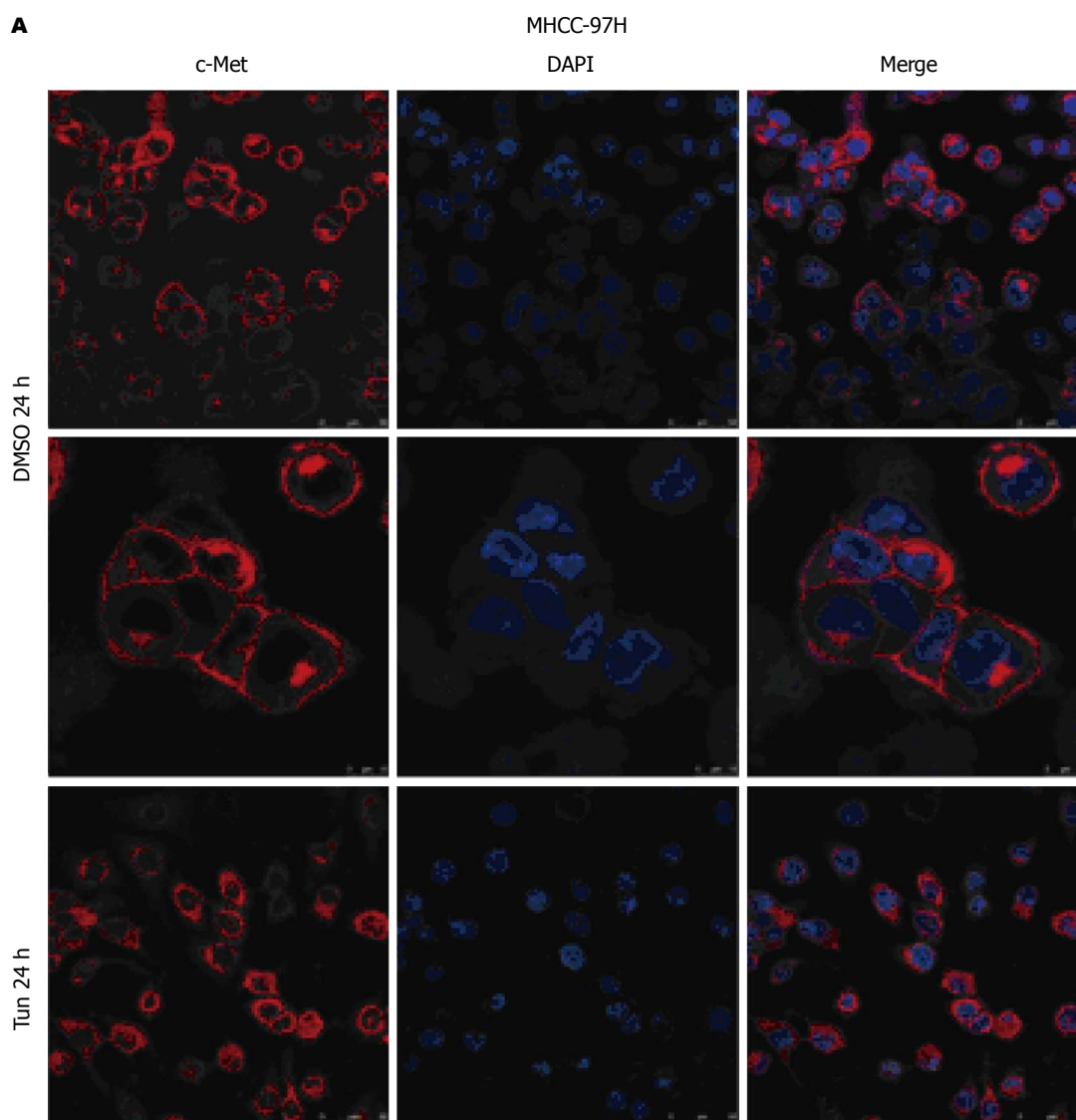


图 4 抑制糖基化修饰诱导pro-Met的磷酸化. A: 衣霉素启动了pro-Met的磷酸化; B: PF-2341066抑制了衣霉素诱导的pro-Met磷酸化; C: PF-2341066阻碍非糖基化pro-Met的活性及抑制Akt、ERK的磷酸化. Nonglycosylated pro-Met: 非糖基化前Met; pro-Met: Met前体; Tun: 衣霉素; PF: c-Met抑制剂PF-2341066; ERK: 细胞外信号调节激酶; p-ERK: 磷酸化细胞外信号调节激酶; Akt: 蛋白激酶B; p-Akt: 磷酸化蛋白激酶B. $^*P < 0.05$ vs 对照组.



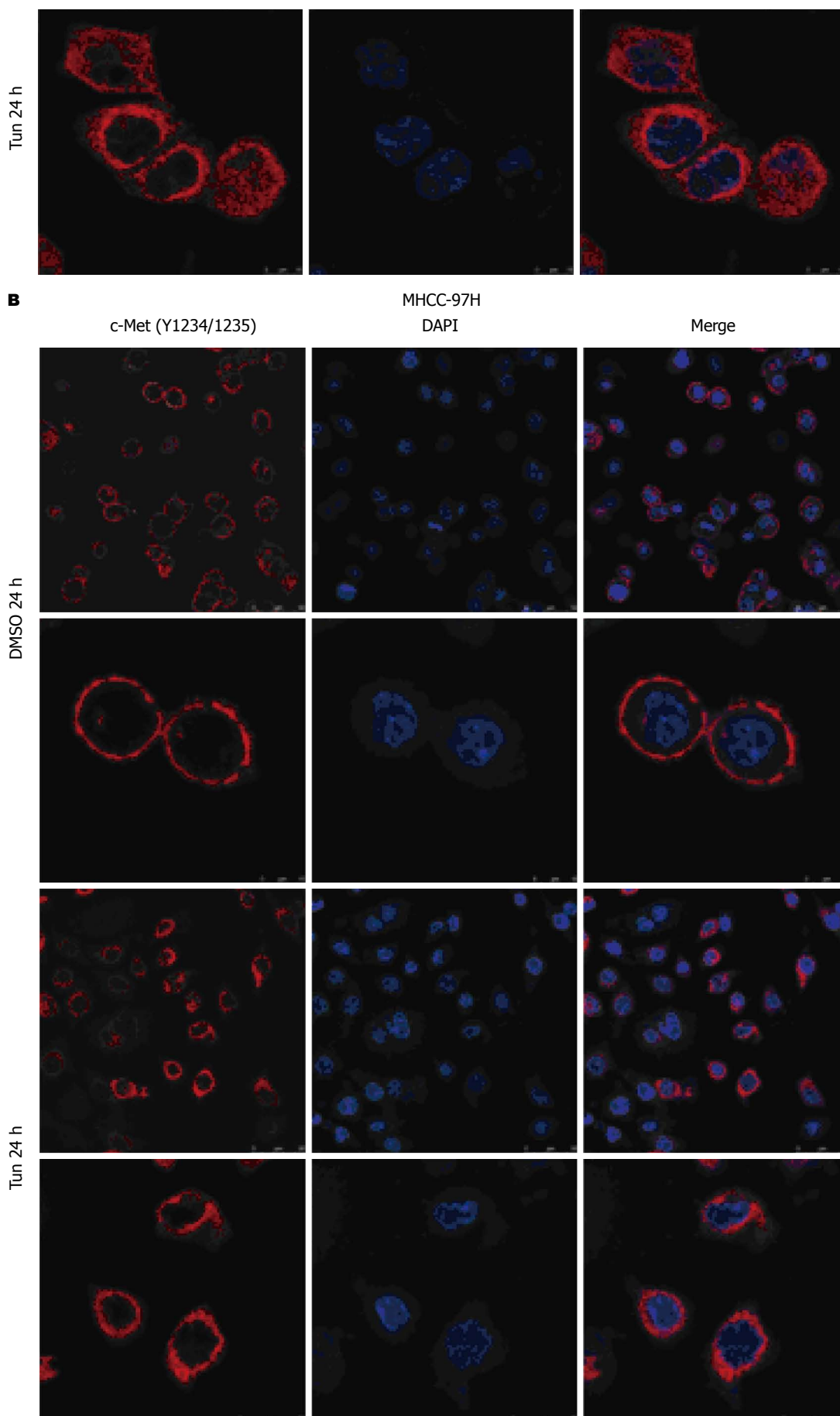


图 5 c-Met的膜定位需要其糖基化修饰. A: c-Met在MHCC-97H细胞中的定位; B: 磷酸化c-Met在MHCC-97H细胞中的定位 注: DMSO: 二甲亚砜; Tun: 衣霉素; DAPI: 苯基吡啶染料; Merge: 荧光染料.

生理条件下在内质网上c-Met的mRNA直接翻译成N-糖基化的pro-Met, pro-Met由链内二硫键连接、折叠成具有稳定结构的c-Met蛋白分子^[1,22-24]。

在没有HGF作用和基因突变的情况下, MHCC-97H和RBE细胞中磷酸化c-Met表达异常增加^[25-27]。本实验发现, 在MHCC-97H和RBE细胞中糖基化的pro-Met不能磷酸化。鉴于在没有HGF作用时, 非糖基化pro-Met在Tyr-1234/1235/1349发生磷酸化, 那么很有必要进一步探讨非糖基化pro-Met的功能。既然MHCC-97H和RBE细胞中PI3K/Akt和MEK/ERK两条信号通路对c-Met的活性具有依赖性, 故通过非糖基化pro-Met对PI3K/Akt和MEK/ERK信号通路的影响则可研究分析出非糖基化pro-Met的功能。在Tun处理的MHCC-97H和RBE细胞中发现, 使用c-Met抑制剂PF-2341066后非糖基化pro-Met的磷酸化被抑制同时Akt和ERK的磷酸化也受到抑制。结果表明MHCC-97H和RBE细胞中非糖基化pro-Met在一定程度上维持着c-Met下游信号通路的活性, 如PI3K/Akt和MEK/ERK信号通路等。

那么, 为什么是非糖基化的pro-Met被磷酸化而不是糖基化pro-Met呢? 生理条件下, 在细胞内质网上c-Met的mRNA翻译为N-糖基化pro-Met, 几分钟内N-糖基化的pro-Met进行折叠并形成了链内的二硫键, 进而细胞内蛋白酶裂解pro-Met启动了c-Met的膜定位。在形成成熟的c-Met的过程中pro-Met是定位在细胞内质网上, 由此可见内质网上的pro-Met不能进行磷酸化修饰。然而, 去除pro-Met的N-糖基化修饰能抑制其后续c-Met的成熟过程。据研究发现, 未折叠的蛋白质将被运输到细胞液并随后被泛素系统所降解^[28-30]。这与我们实验相一致, 非糖基化pro-Met被运输到了细胞液中。因此, 可以推测非糖基化pro-Met在细胞液中的定位导致了其磷酸化修饰。鉴于c-Met在细胞膜上的定位对于下游信号通路活性的重要作用, 我们推测非糖基化pro-Met不能有效的引起c-Met下游信号通路的激活是由于非糖基化pro-Met位于细胞液中。

总之, 该实验发现c-Met具有N-糖基化修饰而非O-糖基化修饰。c-Met的糖基化源于pro-Met的N-糖基化修饰, 抑制pro-Met的N-糖基化修饰导致pro-Met的磷酸化修饰。此外, 由于未糖基化的pro-Met不能定位于细胞膜, 因而磷酸化的pro-Met不能有效激活c-Met下游的信号途径。c-Met的N-糖基化修饰是维持其功能必需的。

4 参考文献

- 1 Dai R, Li J, Fu J, Chen Y, Yu L, Zhao X, Qian Y, Zhang H, Chen H, Ren Y, Su B, Luo T, Zhu J, Wang H. Disturbance of Ca²⁺ homeostasis converts pro-Met into non-canonical tyrosine kinase p190MetNC in response to endoplasmic reticulum stress in MHCC97 cells. *J Biol Chem* 2012; 287: 14586-14597 [PMID: 22418436 DOI: 10.1074/jbc.M111.333435]
- 2 Ferracini R, Longati P, Naldini L, Vigna E, Comoglio PM. Identification of the major autophosphorylation site of the Met/hepatocyte growth factor receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem* 1991; 266: 19558-19564 [PMID: 1655790]
- 3 Crider SE, Holbrook RJ, Franz KJ. Coordination of platinum therapeutic agents to met-rich motifs of human copper transport protein1. *Metallomics* 2010; 2: 74-83 [PMID: 21072377 DOI: 10.1039/b916899k]
- 4 陆海英, 刘克剑, 张悦. 中药抗纤灵方含药血清对TGF- β 1刺激的HK-2细胞c-Met及其下游MAPK信号分子的调控作用. *中国病理生理杂志* 2010; 26: 154-157
- 5 Dai RY, Chen Y, Fu J, Dong LW, Ren YB, Yang GZ, Qian YW, Cao J, Tang SH, Yang SL, Wang HY. p28GANK inhibits endoplasmic reticulum stress-induced cell death via enhancement of the endoplasmic reticulum adaptive capacity. *Cell Res* 2009; 19: 1243-1257 [PMID: 19736567 DOI: 10.1038/cr.2009.104]
- 6 叶平, 杨波, 吴晓玲. P38 MAPK信号通路主要功能、常见研究方法及对肝纤维化的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3353-3358
- 7 Pant S, Saleh M, Bendell J, Infante JR, Jones S, Kurkjian CD, Moore KM, Kazakin J, Abbadessa G, Wang Y, Chen Y, Schwartz B, Camacho LH. A Phase I Dose Escalation Study of Oral c-MET Inhibitor Tivantinib (ARQ 197) in Combination with Gemcitabine in Patients with Solid Tumors. *Ann Oncol* 2014 Apr 15. [Epub ahead of print] [PMID: 24737778]
- 8 Li H, Hu H, Wang R, Pan Y, Wang L, Li Y, Zhang Y, Ye T, Zhang Y, Li B, Shen L, Sun Y, Chen H. Primary concomitant EGFR T790M mutation predicted worse prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Onco Targets Ther* 2014; 7: 513-524 [PMID: 24729716 DOI: 10.2147/OTT.S60122]
- 9 Leung KK, Hause RJ Jr, Barkinge JL, Ciaccio MF, Chuu CP, Jones RB. Enhanced prediction of SH2 domain binding potentials using a fluorescence polarization-derived c-Met, c-Kit, ErbB, and androgen receptor interactome. *Mol Cell Proteomics* 2014 Apr 12. [Epub ahead of print] [PMID: 24728074]
- 10 Zhang W, Ai J, Shi D, Peng X, Ji Y, Liu J, Geng M, Li Y. Discovery of novel c-Met inhibitors bearing a 3-carboxyl piperidin-2-one scaffold. *Molecules* 2014; 19: 2655-2673 [PMID: 24566328 DOI: 10.3390/molecules19022655]
- 11 You H, Ding W, Dang H, Jiang Y, Rountree CB. c-Met represents a potential therapeutic target for personalized treatment in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 879-889 [PMID: 21618573 DOI: 10.1002/hep.24450]
- 12 侯雷, 赵明明, 孙宝明, 田艳涛. C-Met蛋白在结直肠癌中的表达及其与肿瘤血管生成的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 734-738
- 13 Pandit VU, Arbuj SS, Mulik UP, Kale BB. Novel

- functionality of organic 6,13-Pentacenequinone as a photocatalyst for hydrogen production under solar light. *Environ Sci Technol* 2014; 48: 4178-4183 [PMID: 24597841 DOI: 10.1021/es405150p]
- 14 Kwon Y, Smith BD, Zhou Y, Kaufman MD, Godwin AK. Effective inhibition of c-MET-mediated signaling, growth and migration of ovarian cancer cells is influenced by the ovarian tissue microenvironment. *Oncogene* 2013 Dec 23. [Epub ahead of print] [PMID: 24362531 DOI: 10.1038/onc.2013.539]
 - 15 Salvi A, Conde I, Abeni E, Arici B, Grossi I, Specchia C, Portolani N, Barlati S, De Petro G. Effects of miR-193a and sorafenib on hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2013; 12: 162 [PMID: 24330766 DOI: 10.1186/1476-4598-12-162]
 - 16 Giordano S, Di Renzo MF, Narsimhan RP, Cooper CS, Rosa C, Comoglio PM. Biosynthesis of the protein encoded by the c-met proto-oncogene. *Oncogene* 1989; 4: 1383-1388 [PMID: 2554238]
 - 17 Ambasta RK, Ai X, Emerson CP. Quail Sulfl function requires asparagine-linked glycosylation. *J Biol Chem* 2007; 282: 34492-34499 [PMID: 17855356]
 - 18 Branza-Nichita N, Lazar C, Dwek RA, Zitzmann N. Role of N-glycan trimming in the folding and secretion of the pestivirus protein E(rns). *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319: 655-662 [PMID: 15178456]
 - 19 Voolstra O, Huber A. Post-Translational Modifications of TRP Channels. *Cells* 2014; 3: 258-287 [PMID: 24717323 DOI: 10.3390/cells3020258]
 - 20 Eichler J, Arbiv A, Cohen-Rosenzweig C, Kaminski L, Kandiba L, Konrad Z. N-glycosylation in *Haloferax volcanii*: adjusting the sweetness. *Front Microbiol* 2013; 4: 403 [PMID: 24399998 DOI: 10.3389/fmicb.2013.00403]
 - 21 Srivastava A, Somvanshi P, Mishra BN. Reconstruction and visualization of carbohydrate, N-glycosylation pathways in *Pichia pastoris* CBS7435 using computational and system biology approaches. *Syst Synth Biol* 2013; 7: 7-22 [PMID: 24432138 DOI: 10.1007/s11693-012-9102-2]
 - 22 Pisarenko OI, Bepalova ZhD, Lankin VZ, Timoshin AA, Serebriakova LI, Shul'zhenko VS, Pelogeikina IuA, Studneva IM, Tskitishvili OV, Az'muko AA, Sidorova MV, Pal'keeva ME, Konovalova GG, Chazov EI. [Antioxidant properties of apelin-12 and its structural analogue in experimental ischemia and reperfusion]. *Kardiologiia* 2013; 53: 61-67 [PMID: 23952997]
 - 23 Yang MC, Chen NC, Chen CJ, Wu CY, Mao SJ. Evidence for beta-lactoglobulin involvement in vitamin D transport in vivo--role of the gamma-turn (Leu-Pro-Met) of beta-lactoglobulin in vitamin D binding. *FEBS J* 2009; 276: 2251-2265 [PMID: 19298386 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.06953.x]
 - 24 Pina AS, Roque AC. Studies on the molecular recognition between bioactive peptides and angiotensin-converting enzyme. *J Mol Recognit* 2009; 22: 162-168 [PMID: 18816584 DOI: 10.1002/jmr.905]
 - 25 Usatyuk PV, Fu P, Mohan V, Epshtein Y, Jacobson JR, Gomez-Cambronero J, Wary KK, Bindokas V, Dudek SM, Salgia R, Garcia JG, Natarajan V. Role of c-Met/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3k)/Akt signaling in hepatocyte growth factor (HGF)-mediated lamellipodia formation, reactive oxygen species (ROS) generation, and motility of lung endothelial cells. *J Biol Chem* 2014; 289: 13476-13491 [PMID: 24634221]
 - 26 Koivumäki T, Gürbüz G, Poutanen M, Heinonen M. A novel LC-MS application to investigate oxidation of peptides isolated from β -lactoglobulin. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 6799-6805 [PMID: 22591547 DOI: 10.1021/jf300360c]
 - 27 Kawada I, Hasina R, Arif Q, Mueller J, Smithberger E, Husain AN, Vokes EE, Salgia R. Dramatic antitumor effects of the dual MET/RON small-molecule inhibitor LY2801653 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2014; 74: 884-895 [PMID: 24305878 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3583]
 - 28 Eisele F, Wolf DH. Degradation of misfolded protein in the cytoplasm is mediated by the ubiquitin ligase Ubr1. *FEBS Lett* 2008; 582: 4143-4146 [PMID: 19041308 DOI: 10.1016/j.febslet.2008.11.015]
 - 29 Heck JW, Cheung SK, Hampton RY. Cytoplasmic protein quality control degradation mediated by parallel actions of the E3 ubiquitin ligases Ubr1 and San1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 1106-1111 [PMID: 20080635 DOI: 10.1073/pnas.0910591107]
 - 30 Guerriero CJ, Weiberth KF, Brodsky JL. Hsp70 targets a cytoplasmic quality control substrate to the San1p ubiquitin ligase. *J Biol Chem* 2013; 288: 18506-18520 [PMID: 23653356 DOI: 10.1074/jbc.M113.475905]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

