

STIM、Orai 及其介导的钙池操纵钙内流^{*}

刘金豆 郑思思 王友军[†]

(北京师范大学抗性基因资源与分子发育北京市重点实验室, 北京师范大学生命科学院, 100875, 北京)

摘要 STIM-Orai 介导的钙池操纵钙内流(SOCE)是一种重要的钙信号产生机制. SOCE 参与调控机体的基因表达、细胞增殖、器官发育、免疫反应等各类生理活动, 并与多种疾病发生密切相关. 本文综述了 SOCE 概念提出, 利用 RNAi 及高通量筛选技术发现 2 种介导 SOCE 的蛋白的进程, 并从结构和功能方面介绍了 STIM、Orai 蛋白家族的最新研究进展, 为进一步探索 STIM、Orai 的功能及其相互作用机制提供一些思路.

关键词 钙池操纵钙内流; STIM; Orai

中图分类号 Q257

DOI: 10.16360/j.cnki.jbnuns.2016.06.018

0 引言

钙离子作为一种重要的第二信使, 它可以调控细胞内许多重要的功能, 如基因转录、蛋白质修饰、分化、迁移, 以及细胞增殖与凋亡等^[1]. 多细胞生命是从一个受精卵开始的, 而卵母细胞的受精过程则是由钙信号触发的; 动物通过感觉、神经、肌肉和内分泌系统应对外界环境变化并维持生物体内环境稳定, 而钙离子是上述细胞之间的信息传递过程中必不可少的一个成员; 维持生物体各种机能所必需的肌肉收缩活动也是由钙离子所介导的^[2-3]; 因而可以说, 钙离子调控的信号贯穿着生物体生命历程的始终.

为了能通过这么一种简单的二价金属离子来介导或调控各种细胞重要功能, 细胞需要在不同的时间和空间尺度上对胞质钙离子浓度的变化进行精细的调控^[4]. 这个调控是通过各式各样的, 可以增加或降低胞浆钙离子水平的分子机器之间不同的时空组合来实现的. 简单说来, 当细胞处于静息状态时, 胞浆中钙离子浓度约为 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 内质网中钙离子浓度约为 $0.5 \sim 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 细胞外的钙浓度约为 $1 \sim 2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 1, 见插 4). 这一钙稳态主要是由细胞质膜钙泵(plasma membrane Ca^{2+} -ATPase, PMCA)、 Na^{+} - Ca^{2+} 交换器(Na^{+} - Ca^{2+} exchanger, NCX)、肌浆网-内质网上钙泵(sarco-endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, SERCA)及钙漏通道、线粒体钙离子转运蛋白(mitochondrial calcium uniporter, MCU)等共同维持的. 当细胞受到刺激时, 胞质局部或整体的钙离子水

平会升高. 这一钙离子水平的变化, 即钙信号^[2]. 胞浆钙信号的产生途径主要有 2 种: 一种是钙释放; 另外一种则是细胞外钙离子的内流^[2-3]. 前者通过激活内质网上的 IP_3R (1, 4, 5-tris-phosphate receptor) 或 RYR (ryanodine receptor), 引发内质网钙池中钙离子向胞质的释放, 进而使得胞浆内的钙离子水平增加. 而后者则是钙离子通过质膜上的各种被激活的钙离子通道从细胞外向胞质内流动, 从而增加胞浆内钙离子的水平. 质膜上的钙离子通道有很多种, 如电压依赖性的钙通道, TRP(transient receptor potential)通道, SOC 钙离子通道(store operated calcium channels)等. 在钙离子与各种钙结合蛋白结合, 介导或调控各种下游生理过程中, 各种钙离子缓冲和清除机制即开始发挥作用: 大部分的钙离子与细胞内的钙螯合蛋白结合, 同时伴随细胞膜、内质网上钙泵以及线粒体 MCU 钙转运蛋白等将钙离子从胞浆中转运到细胞外、内质网或线粒体内. 随着被螯合的钙离子逐渐解离, 上述这些钙离子清除机制会逐渐将胞浆钙离子水平恢复到静息状态^[4].

发生在内质网膜-质膜连接处的钙池操纵的钙内流(store operated calcium entry, SOCE)是广泛存在于众多细胞内的一种钙信号产生机制^[5]. 经典的 SOCE 是由位于内质网膜上的钙离子感受器蛋白 STIM1(stromal interaction molecule 1)和质膜上 Orai1 钙离子通道共同介导的^[6] (图 1). 由图 1 显示, 各种生理刺激可通过细胞膜(PM)上受体酪氨酸激酶(RTK)或 G 蛋白偶联受体(GPCR)等介导产生第二

^{*} 国家自然科学基金资助项目(31471279)

[†] 通信作者, e-mail: wyoujun@bnu.edu.cn

收稿日期: 2016-10-25

信使 IP_3 , 后者结合并激活内质网膜(ER)上的 IP_3 受体(IP_3R), 引发内质网内钙离子向胞浆的释放, 使得胞浆的钙水平产生一个持续时间较短瞬时 $[Ca^{2+}]$ 增加, 而内质网(ER)内的 $[Ca^{2+}]$ 降低. 由钙释放引起胞浆钙信号会激活一系列下游的钙依赖性反应, 如通过激活蛋白激酶 C(PKC)介导的 NF- κ B 通路引发下游的基因表达. 而 ER 内 $[Ca^{2+}]$ 降低后, 与 STIM1 结合的钙离子从 STIM1-EF 手型上解离, 引发 STIM1 蛋白一系列构象和定位上的变化. 最终 STIM1 在 ER-PM 连接处富集形成斑块状的 puncta 结构, 结合并激活细胞膜上的 Orai 钙离子通道, 引发一种幅度较小但持续时间较长的钙内流, 即 SOCE. SOCE 产生的钙信号一方面可以经由钙调蛋白(CaM)和钙调磷酸酶(CN)介导的 NFAT 通路调控基因表达. 另一方面, 经 SOCE 途径内流的钙离子可以被 ER 上的 SERCA 钙泵泵回内质网内, 恢复内质网内的钙水平, 从而维持细胞的钙稳态.

简单地讲, 各种生理刺激或药物刺激所引起的内质网钙池内钙水平下降, 均会被内质网膜上的 STIM1 所感知并使其激活. 之后 STIM1 转位到内质网上距离质膜较近部位, 结合并通过物理性相互作用激活细胞膜上的 Orai1 钙离子通道, 引发持续性的钙内流, 该钙电流被称为钙释放激活的钙电流(calcium release activated calcium current, I_{CRAC}). 而这一从内质网钙库清空到钙内流产生的过程即为 SOCE. SOCE 所介导的钙信号能通过调控 NFAT、CREB 等的功能, 调节很多关键基因的表达水平, 进而影响细胞增殖分化^[7-8], 特别是免疫细胞的功能^[9-10]. 众多的研究表明 STIM、Orai 的各种同源蛋白, 各种亚型及它们介导的 SOCE 与众多疾病, 如人体自免疫疾病、心脏肥大及心律不齐^[11]、动脉粥样硬化^[12]、肌肉疼痛、各种癌症等密切相关^[8-9, 13-17]. 因此阐明 STIM-Orai 介导的 SOCE 的机制及其生理作用具有很重要的科学意义和医学价值.

本文将简述一下 SOCE 概念的由来, 并对介导 SOCE 的 STIM 蛋白和 Orai1 钙通道的相关研究进展做一简要介绍. 因篇幅的限制, 本文将着重讲述 STIM1 和 STIM2 激活的最新研究进展, 如想获得更详尽的关于 SOCE 的 STIM 蛋白、Orai 钙通道以及两者之间偶联的分子机制的信息, 请参看综述性文献^[1, 5-6, 17-18].

1 SOCE 概念的提出

根据在腮腺腺泡细胞中 IP_3 介导的钙信号的相关研究, Putney^[19]于 1986 年提出了内质网钙水平降低

可以引发细胞外钙内流的假说, 并称之为容量性钙内流(capacitative Ca^{2+} entry, CCE). 之后该假说得到了许多实验证据上的支持, 比如多种刺激, 特别是毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)可以跳过 IP_3 激活其受体的步骤, 直接抑制内质网上的 SERCA 钙泵而导致内质网钙库的被动清空, 从而引发钙内流^[20]. 当然这些清空钙库的刺激同时也会引起胞浆内钙水平的增加, 而胞浆的钙水平增加本身就可以激活很多钙通道, 比如 RYR 等. 所以上述钙内流也可能是由于钙释放本身引起的(calcium release activated calcium influx, CRAC). 因而支持 SOCE 假说的决定性证据是来自电生理的数据: Penner 实验室利用全细胞膜片钳的技术, 在肥大细胞的胞浆内加入高浓度的钙螯合剂 EGTA 或 BAPTA, 从而将胞浆的钙水平钳制在极低的水平, 阻断了内质网钙泵从胞浆向内质网内泵钙的过程, 最终引起内质网钙库的被动清空. 这种不增加胞浆钙信号, 只降低内质网内钙水平的操作同样可以引发钙内流, 即 I_{CRAC} ^[21]. Penner 实验室这一奠基性的工作还鉴定了 SOCE 钙内流的生物物理学特性. 此后, SOCE 假说得到了广泛的认可和深入的研究, 在多数非兴奋性细胞内都发现了 SOCE 现象. SOCE 相关的生理及病理功能, 相关工具药物的应用都取得了一定的进展^[5]. 但之后十几年间, 由于一直未能发现介导 SOCE 的相关蛋白, 对 SOCE 产生的分子机制的研究一直进展有限.

2 介导 SOCE 蛋白质机器的发现

内质网钙库清空的信息是怎么引起质膜上的钙内流的? 直到 RNAi 基因敲减和高通量筛选 2 种新技术的出现, 这一困扰 SOCE 领域 20 多年的关键问题才得到了解决.

2.1 内质网钙感受器 STIM 蛋白的发现 STIM 蛋白最初被认为是一种基质互作分子^[22]. 2005 年, Roos 等^[23]结合 RNAi 基因敲减和高通量筛选技术, 在果蝇 S2 细胞中研究 170 个候选基因对 TG 引发的 SOCE 的影响. 结果发现 STIM1 敲减后, 能够显著抑制 TG 引发的 SOCE 并显著降低 I_{CRAC} . 同样的, STIM1 的敲减显著地抑制了 Jurkat T 细胞中 CRAC 通道的活性、抑制了 HEK293 和 SH-SY5Y 细胞中的 SOCE. 因此该研究证明, STIM 是一种十分保守的蛋白, 在介导 SOCE 中发挥了必要的作用. 同年 Meyer 实验室运用同样的手段在 HeLa 细胞中对 2304 种编码信号蛋白的候选基因进行筛选, 也发现 STIM1 和 STIM2 敲减后细胞的 SOCE 变小^[24]. 他们进一步的结果发现 STIM1 是个内质网膜上的单次跨膜蛋白, 内质网腔的

EF-hand 结构域能够结合钙离子. 该结构域的 D76A 突变或内质网的钙浓度降低均可使其不再结合钙离子, STIM1 蛋白进而被激活, 转位到内质网膜上比较靠近细胞膜的位置并形成斑块状的“puncta”结构. 因而该研究表明, 在 SOCE 产生过程中, STIM1 以内质网钙库的钙感受器的角色起作用^[24].

2.2 质膜 Orai 钙离子通道的发现 STIM 作为 SOCE 的钙感受器被发现后, 越来越多的研究开始结合 RNAi 基因敲减和高通量筛选技术来寻找编码 CRAC 钙离子通道的基因. Feske 等^[25-28]利用全基因组 RNAi 技术寻找果蝇中影响 SOCE 及 NFAT 入核的基因. 同时他们对缺失 SOCE 及相应的 NFAT 依赖性的基因表达受到抑制的重症联合免疫缺陷 (SCID) 患者采用改良的连锁分析方法和定位克隆, 将突变的基因锁定在 12 号染色体的约 74 个基因当中. 之后从上述 2 种方法得到的基因的交集中找到一个果蝇中的基因——*olf186-F*, 并将之命名为 *Orai1*. 由人类基因组中的 3 个 *olf186-F* 的同源基因: 即 12 号染色体上的 *FLJ14466*、7 号染色体上的 *C7orf19* 和 16 号染色体上的 *MGC13024* 表达的蛋白分别命名为 *Orai1*、*Orai2* 和 *Orai3*. *Orai1* 广泛表达于多种细胞中, 是一个定位于细胞膜的 4 次跨膜蛋白, 且其 N 端和 C 端都位于胞浆一侧. RNAi 技术敲减果蝇 *Orai* (*dOrai*) 后, SOCE 显著减小, 而在 SCID 病人中也发现其 *Orai1* 有一个位点发生突变. 在 SCID 患者的 T 细胞和成纤维细胞中表达野生型的 *Orai1* 能够使 SOCE 和 CRAC 电流恢复, 因此研究认为 *Orai1* 是 CRAC 通道主要的部件或调控蛋白之一. 几乎同时, Kinet 实验室利用全基因组 RNAi 敲减和高通量测序技术结合电生理学方法, 在果蝇 S2 细胞中发现敲减 *olf186-F* 基因 (即 *Orai1*, 该文章中被称为 CRAC modulators 1, CRACM1) 的表达可以抑制 SOCE 和 I_{CRAC} ^[29]. 稍后, Cahalan 实验室运用上述技术也得到了相同的结果^[30].

Vig 等^[31]后续研究通过免疫共沉淀实验 (co-immunoprecipitation, co-IP) 发现 *Orai1* 是以多聚体的形式起作用的. 另外, 针对 *Orai1* 第一个跨膜区的 106 位的谷氨酸的点突变研究发现 *Orai1-E106Q/A* 突变体使 CRAC 通道失活, 而 *Orai1-E106D* 突变体则使 CRAC 通道的离子选择性减弱; 同时 *Orai1* 其他部位的突变如 *E180D*、*E190Q* 或 *D110/112A* 也会影响 CRAC 通道的离子选择性^[31-33]. 而 *Orai1-V102C/A* 突变的离子选择性稍有降低, 可以通透钠离子, 并能自发的持续激活, 引发持续性的钠和钙内流^[34]. 这些研究结果均表明 *Orai1* 通过形成多聚体, 至少构成了

CRAC 通道的具有 Ca^{2+} 选择性的通道部分. 而 Long 实验室解析出了果蝇 *Orai1* 结构, 证明 6 个 *Orai1* 亚基可以形成一个离子通道. 他们进一步将持续激活的果蝇 *Orai1-V174A* (对应于人 *Orai1-V102A*) 突变蛋白重构到脂质体内, 发现该蛋白自身就足以介导跨脂质体膜的离子流动^[35]. 这证明 *Orai1* 无需其他蛋白的参与, 其本身即足以构成 CRAC 通道.

2.3 SOCE 由 STIM 和 Orai 共同介导 *Orai1* 蛋白被发现后, 来自于几个实验室的后续研究表明, 在内质网钙库清空后, 共表达 STIM1 和 *Orai1* 的细胞能产生非常巨大的 SOCE, 相应的钙电流 I_{CRAC} 也是内源性 I_{CRAC} 的 50~100 倍. 更重要的是 2 种电流的生物物理学特性一致^[30, 36-38]. 而 FRET 和免疫共沉淀实验的结果也表明, STIM 与 *Orai1* 之间具有相互作用^[39]. 之后众多的实验结果表明, 切掉内质网感受钙库钙水平部分的 STIM1 的胞浆片段, 也可以直接与 *Orai1* 结合并激活 I_{CRAC} (具体见综述 [1]). 这些结果暗示 STIM1 与 *Orai1* 共同介导 SOCE, 其中 STIM1 是内质网钙感受器, 而 *Orai1* 为质膜上的钙离子通道. 而来自 Hogan 实验室的体外重组实验的结果则最终证明, 无需其他组件, STIM1 和 *Orai1* 即足以介导 SOCE: 该实验室发现, 分离纯化的 STIM1 胞浆片段可以直接在体外激活定位于酿酒酵母分泌囊泡上的野生型 *Orai1* 钙离子通道, 引发囊泡内的钙外流; 而 *E106Q* 或 *R91W* 等可以引起 *Orai1* 通道失活的突变则可以使上述现象消失^[40]. 该实验室进一步证明分离纯化的 STIM1 胞浆片段能直接在体外激活被分离纯化后重构到人工脂质体上的野生型 *Orai1*^[41].

3 介导 SOCE 的蛋白质机器的当前研究进展

3.1 STIM 蛋白

3.1.1 STIM 蛋白主要结构域及相应功能 STIM 为主要位于内质网上的 I 型单次跨膜蛋白, 具有 STIM1 和 STIM2 这 2 种亚型. 这 2 种 STIM 蛋白的氨基酸序列高度相似, 并含有多个功能类似的结构域 (图 2-a, 见插 4): 两者的内质网区域都含有一段信号肽 (正确定位后被切除)、N-末端以及 EF-hand 和 SAM (Sterile α Motif) 结构域; 两者的跨膜区的氨基酸一级结构也高度相似; 而两者胞浆片段均包含多个螺旋卷曲结构域 (coiled-coil1~3, CC1~3) (其中 CC2~3 为 STIM 上激活 *Orai1* 的最小片段, 被称为 SOAR (the STIM1 *Orai1* activating region) 或 CAD (CRAC activation domain), 而 CC1 则通过结合或释放 SOAR/CAD 来实现 STIM1 在静息和激活状态之间

的转换),介导钙依赖性失活的 ID (inactivation domain) 区、富含丝氨酸和脯氨酸的 S/P 结构域 (Serine/Proline rich domain), 以及 C 末端赖氨酸富集的 K 区 (Lysine (K) rich domain)^[1]。

STIM 的 EF-SAM 区为其结合钙离子的结构域, 内含一对 EF 手型结构和一个 SAM 结构域。EF 手型中的 cEF 手型结构域 (Ca²⁺-binding EF hand) 是可以结合钙离子的经典 EF 手型结构, 而 hEF 手型结构域则丧失了结合钙离子的能力 (hidden EF hand)。EF-SAM 区的 SAM 结构域则由 5 个短小的 α 螺旋结构组成。SAM 区通过疏水作用与 EF 手型区互作, 辅助后者中的 cEF 手型进行钙离子的结合与解离^[42]。在静息状态下, 即钙库浓度在 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时, c-EF 手型结构域和钙离子结合, 2 个 EF 手型和 SAM 区紧密结合, 处于非常紧密和稳定的状态。这时 STIM 蛋白的整个 ER 片段以单体的形式存在, STIM 蛋白处于非激活状态。而当钙库中钙离子浓度下降后, 钙离子从 c-EF 手型上解离, 从而使整个 EF-SAM 结构变为较松散的热不稳定结构, 此时两者的疏水基团暴露, 从而驱使 STIM 蛋白的内质网部分形成二聚体^[42] (图 2-b, 见插 4)。STIM 这一内质网内的变化会经由内质网膜传递到胞浆, 使 STIM 的胞浆部分的二聚体进一步发生构象变化。STIM 蛋白进而寡聚化激活, 并在内质网上形成斑块状的 puncta 结构^[43]。

STIM 的跨膜 TM 区 (transmembrane domain) 的作用主要是将内质网内钙库清空的信号以构象变化的方式传导到 STIM 蛋白的胞质部分。我们与周育斌实验室合作, 通过对 TM 区氨基酸进行系统的色氨酸突变后检测其对 STIM1 功能的影响, 结果表明 STIM1 TM 区的 C227W 突变可以使 STIM1 在静息情况下处于持续激活状态^[44]。这一结果暗示 STIM1-C227W 在 TM 区的构象可能在很大程度上代表了 STIM1 激活时在 TM 区的构象。利用该突变体作为工具, 通过一系列的体外生化实验的证据并结合计算机建模分析, 我们的结果暗示, STIM1 的 TM 区静息时可能以交叉状的二聚体形式存在^[44]。对 TM 二聚体 2 个单体在胞浆一侧分别标记上不同的荧光蛋白, 通过体外和在体的 FRET 测量, 结果表明, 内质网内钙水平降低使得 TM 区的胞浆一侧距离变小, 因而 STIM1 蛋白在激活过程中, 其 TM 区二聚体可能发生了旋转重排, 使得 STIM1 胞浆侧的二聚体中的 CC1 结构域更加靠近^[44]。这将会引发 STIM1 胞浆区域的一系列结构上的变化, 从卷曲的结构变成较为伸展的构象, 进而使得 STIM1 蛋白完全转变为激活状态的构象, 结合并打开 Orai1 钙离子通道^[1, 45]。

STIM 的胞浆区含有多个螺旋卷曲 (CC1~3) 的结构域, 其主要功能是参与 STIM1 的构象变化以及 Orai 通道的激活。整个 CC 区在 STIM1 寡聚化并形成 puncta 结构时是必需的^[46]。其中: CC2-CC3 区被重新命名为 SOAR 或 CAD 区, 是 STIM 上结合并激活 Orai 的结构域; 而 CC1 的作用像是 SOAR/CAD 的一个开关, 决定 SOAR/CAD 是否能结合并激活 Orai 钙离子通道^[1, 44]。在静息时 SOAR/CAD 区被锚定在 ER 膜附近, 远离质膜上的 Orai 钙离子通道, 从而没有 SOCE 的产生。CC1 中的 L258/261 以及 SOAR 中 L416/V419/L423 等是使 STIM1 在静息时处于上述自抑制状态的关键氨基酸^[44]。除此之外, CC1 区的 L251S^[47]、R304W^[48]、Y316A^[49]、4EA (318 EEELE³²² \rightarrow 318 AAALA³²²) 突变^[50], 或改变 316-326 段氨基酸双极性 (亲水亲油性) 特征后^[51], 均可使 STIM1 自发的持续激活。

CAD (STIM1 (342~448)) 或 SOAR (STIM1 (345~442)) 为 STIM1 胞浆区结合并激活 Orai1 的最小片段^[52-53]。人源 SOAR 的晶体结构表明, SOAR 以二聚体的形式存在, 每个单体是由 4 段 α 螺旋 (S α 1~S α 4) 形成一个“R”型结构。一个单体 S α 1 的 N 端 (包括第 347~354 个氨基酸) 和另一个单体上 S α 4 上 C 端 (包括第 429~436 个氨基酸) 之间通过疏水作用或者氢键作用, 使 2 个单体“R”型结构反交叉, 形成一个“V”型结构^[54] (图 2-c, 见插 4)。当上述维系 SOAR 二聚体的关键氨基酸位点被突变掉后, STIM1 激活 Orai1 的能力丧失。这一结果暗示 SOAR 必须以二聚体的形式发挥作用。

位于 SOAR/CAD 的 C 端一侧有一段参与钙依赖性抑制 (CDI, calcium dependent inactivation) 的 ID (inhibitory domain, ⁴⁷⁵ DDVDDMDEE⁴⁸³) 区。当 Orai1 被不含该 ID 区的 SOAR/CAD 激活时, 不会产生 CDI (具体细节请参看文献^[1])。

最后, 在 STIM 蛋白 C 末端有一段富含碱性氨基酸的 K 区 (Lysine (K) rich domain)。这一区域可以通过静电相互吸引与细胞膜上带负电荷的脂类发生相互作用, 帮助已经激活的 STIM1 分子在 ER 上靠近细胞膜的部位形成 puncta, 结合并激活 Orai1 钙离子通道^[55]。此外, 该区对于 STIM1 介导温度敏感性反应是必需的^[56]。

3.1.2 STIM1 与 STIM2 蛋白的结构和功能差异
STIM 蛋白分为 STIM1 和 STIM2 这 2 种同源蛋白, 两者在氨基酸组成及关键结构域方面高度相似 (图 2-a)。但它们在不同的组织内表达水平有所不同^[57], 在大多数组织中, STIM1 的表达量要高于 STIM2。但是

在大脑^[58]和树突细胞^[59]中,STIM2 的表达更占优势.两者在感受钙库内钙水平降低的程度的敏感性以及激活 Orai1 的能力上都有一定的差异.

1) 与 STIM1 相比,STIM2 仅能低效的激活 Orai1. 钙库清空后,STIM2 的 EF-SAM 结构域的解折叠和寡聚化的速率比 STIM1 更慢^[60]. 当用高浓度的 EGTA 螯合胞质钙离子的方法缓慢清空 ER 钙库时,STIM2-Orai1 介导的 I_{CRAC} 增长速度显著慢于 STIM1-Orai1 介导的 I_{CRAC} 增长速度. 我们发现,当把 STIM2 的 N 末端 69 个氨基酸换成 STIM1 的(即 STIM2_{S1NT})后,相应的 I_{CRAC} 增大速度变得与 STIM1 的一致. 反之,把 STIM1 的 N 末端 23 个氨基酸换成 STIM2 的 N 末端(即 STIM1_{S2NT})后,上述钙库缓慢被清空所引发的 I_{CRAC} 出现和增大的速度显著减慢,变得与 STIM2 相类似. 这些结果表明 STIM2 的 N 末端使其激活的速度较 STIM1 慢,进而影响了 STIM2 激活 Orai1 的效率^[61]. 除激活速率较慢外,其 SOAR 区结合并激活 Orai1 的能力也显著弱于 STIM1^[62]. 我们进一步的实验结果表明,SOAR2 的第 1 个 α 螺旋结合 Orai1 的能力显著地弱于 SOAR1. 造成这一区别的关键氨基酸还需要进一步的鉴定. 位于 SOAR2 第 2 个 α 螺旋上的 L485 残基使得其激活 Orai1 的能力低于 SOAR1 的 F394^[62]. STIM2 在自身激活速度、结合并激活 Orai1 的能力等方面均显著弱于 STIM1,因而超表达的 STIM2 有时可以作为 STIM1 的竞争性抑制剂,减小了 STIM1 介导的 SOCE^[63-64].

2) STIM2 比 STIM1 更先感受到内质网钙库的钙水平的降低. 针对 STIM 蛋白的 EF-SAM 片段的体外实验结果表明,STIM1 的 EF-SAM 区对钙离子的解离常数(K_d 值)约为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,稍小于 STIM2 的 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[65-66]. 而静息时的内质网钙水平在 $0.5 \sim 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,因而 STIM2 对钙库内钙水平的微小变化更加敏感^[67],并且在静息时就部分处于不结合钙的激活状态. 确实,在 HEK-Orai1 稳定细胞里超表达 STIM2 会引发自发的持续钙内流^[61]. 而 STIM1 在静息则处于自我抑制状态,需要钙库内钙水平降低较多时才能被激活. 基于这种区别,有报道认为 STIM2 负责维持静息情况下细胞的钙稳态^[67]. 但 STIM1 KO 的 DT40 细胞(仅有内源的 STIM2)没有自发持续钙内流,SOCE 也很小,而 STIM2 KO 的 DT40(仅有内源的 STIM1)细胞在静息时的钙库及胞浆的钙水平并没有发生显著的变化^[68],这一结果暗示 STIM2 的主要生理功能可能不是用于维持细胞的钙稳态.

总之,上述结果暗示 STIM2 好像用处不大:作为

一个钙感受器蛋白,它在静息时就自发的持续激活,但又几乎不能激活内源的 Orai 而引发钙内流. 而这一假设显然与它在包括神经元在内的多种细胞内表达显著高于 STIM1 的现象不符,因而急需进一步探究 STIM2 是否有一些未知的靶蛋白和生理功能.

3.2 Orai 钙离子通道 Orai 的名字源自希腊神话,原意是指天堂之门的守护者(keepers of the gates of heaven,是 Eunomia(秩序)、Dike(公正)、Eirene(和平)3 位女神的统称)^[25]. 在哺乳动物中,它有 3 种同源蛋白 Orai1、Orai2 以及 Orai3. 3 种蛋白的一级结构非常相似,均为定位于质膜上的 4 次跨膜的蛋白(图 3-a, b, 见封三). 之前众多的实验证据暗示 Orai 钙离子通道是四聚体^[6, 17]. 但最近来自果蝇 Orai1 晶体结构的证据表明,实际上需要 6 个 Orai1 单体才能构成一个钙离子通道^[35](图 3-c, 见封三). 而针对 orai1 串联体及其功能的研究也支持这一结论^[69-70].

3.2.1 Orai 通道的通道孔部分 为研究 Orai1 钙离子通道中到底哪些部分参与构成了用于通过钙离子的通道孔,2 个实验室分别对 Orai1 亚基上可能构成通道的部分进行了系统的丝氨酸突变,然后加入氧化剂使突变进去的丝氨酸在不同的 Orai1 亚基之间形成二硫键,并观测二硫键对 Orai1 亚基寡聚化或介导 I_{CRAC} 电流的影响^[71-72]. 如果某个亚基确实参与了通道孔的形成,那么不同 Orai1 亚基上同一氨基酸残基之间的距离就会足够近,丝氨酸突变后可以在氧化剂的作用下形成二硫键,从而使 Orai1 亚基寡聚化或阻断 I_{CRAC} 电流^[71-72]. 来自 2 个实验室的结果均表明 Orai1 第一跨膜区参与构成了 Orai 钙离子通道的通道孔(图 3-d, 见封三). 这一结论得到了果蝇 Orai1 晶体结构的证实^[35]. 其中第一跨膜区的 E106 氨基酸决定了整个离子通道的钙离子选择性,因而被认为构成了整个通道的选择性过滤器(selectivity filter)(详见文献[6])(图 3-d). 而对该通道的激活门(activation gate)的位置则还没有定论:有研究暗示该门位于 V102 的位置,也有研究认为该门应该在 R91 处(详见文献[6])(图 3-d).

3.2.2 Orai 上的 STIM1 结合区域 众多的研究表明,Orai1 上有 2 处 STIM1 结合位点^[43, 53](详见文献[6, 73]):一处在 Orai1 的 C 端,后来被称为 CBD 区(C terminal CAD binding domain, Orai1-(272~292));另一处在其 N 端,被称为 ETON 区(extended transmembrane Orai1 N-terminal region, Orai1-(73-90))^[74]或 NBD(N terminal CAD binding domain)^[75](图 3-c~e). 果蝇 Orai1 的晶体结构表明这 2 处均为与跨膜区相连的 α 螺旋结构(图 3-d~e). 其中 NBD 区

为 Orai1 第一跨膜区向胞浆内的直接延伸,而 CBD 区则与 Orai1 的第四跨膜区之间通过²⁶¹LVSHK²⁶⁵几个氨基酸构成特殊链接结构(NEXUS)相连,两者之间具有一定的角度.而 CBD 区在相邻的 2 个 Orai1 亚基中呈现反向平行式的排列(图 3-e),一个亚基中的 L273 和与之反向排列的 L276 之间有较强的疏水相互作用(果蝇中为 I316 和 L319).在该处突变使 2 个 CBD 之间的互作消失后,野生型 Orai1 不再结合 STIM1,并丧失介导 SOCE 的能力.这暗示 Orai1 六聚体通道在激活时可能需要以 3 个二聚体的方式与 STIM1 互作.在 Orai1 激活过程中,CBD 和 NBD 扮演的角色不同:来自众多实验室的结果暗示 CBD 主要参与 Orai1 与 STIM1 的结合;而 NBD 虽然也参与和 STIM1 的互作,但其主要作用是门控激活 Orai1 通道(详见文献[6,17,73]).

3.3 STIM1 与 Orai1 的偶联 当前对 STIM1 响应 ER 钙库清空从静息变为激活构象的过程所知较多,具体如前所述(详见文献[1,6,44]).在此之后,STIM1 的 SOAR/CAD 区会与 Orai1 的 CBD 和 NBD 区结合并激活 Orai1 钙通道.在这个过程中,SOAR 的第 1 和第 2 个 α 螺旋,特别是其中的³⁸²KIKKKR³⁸⁷处的 5 个碱性氨基酸及 F394 氨基酸(图 2-c),起着关键的作用^[1,6,17,62].但目前对 SOAR/CAD 区是如何结合 Orai1 的还所知甚少^[76],甚至对到底需要几个 STIM1 分子来激活一个 Orai1 钙通道这一问题,都没有确切的定论.之前的研究暗示一个 Orai1 亚基需要 2 个 STIM1 单体才能最大程度的被激活^[77-78].而我们最近发现单独表达的或链接在 Orai1 单体上的 SOAR 二聚体中,只需要其中一个能结合并激活 Orai1,即可最大程度地激活 Orai1^[79].这暗示一个 STIM1 分子对一个 Orai1 单体即可完全激活 Orai1 钙通道.该结果与之前解析的一个含 SOAR 第 1 个 α 螺旋和 Orai1-CBD 的复合物的 NMR 结构一致^[80].所以 STIM1-Orai1 复合物的具体构成,还需要进一步的研究来阐明.

STIM1 结合 Orai1 之后,Orai1 是如何通过一系列的构象变化转变为激活构象而引发钙内流的? 尽管目前对 Orai1 在结合 STIM1 后其通道口处的关键氨基酸残基如 V102 及 E106 等的变化已有一定的了解^[41],但对这一问题的整体了解还非常有限.目前已发现,在 Orai1 第四跨膜区 P245 处^[48,75],以及其与 CBD 相连的 NEXUS 区的相应突变,都可以使得 Orai1 在不结合 STIM1 时就可以持续激活.这些结果暗示这 2 处在 Orai1 从静息到激活的构象转变过程中起着关键作用.我们即将发表的结果表明,在 Orai1 的

C 末端 NEXUS 区的突变,即可使该突变在不结合 STIM1 的情况下 100% 的正常激活,产生的 I_{CRAC} 具有与野生型 STIM1-Orai1 介导的电流一样的生物物理学特性.这一结果说明 STIM1 与 Orai1 的 NBD 区的结合对 Orai1 钙通道的门控激活不是必需的.更详尽的相关分子机制还有待于进一步的研究^[73].

4 参考文献

- [1] Soboloff J, Rothberg B S, Madesh M, et al. STIM proteins: dynamic calcium signal transducers [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(9): 549
- [2] Berridge M J, Bootman M D, Roderick H L. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(7): 517
- [3] Berridge M J. Calcium signalling remodelling and disease [J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(2): 297
- [4] Berridge M J, Lipp P, Bootman M D. The versatility and universality of calcium signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(1): 11
- [5] Parekh A B, Putney J W Jr. Store-operated calcium channels [J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(2): 757
- [6] Prakriya M, Lewis R S. Store-operated calcium channels [J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1383
- [7] Chen Y W, Chen Y F, Chen Y T, et al. The STIM1-Orai1 pathway of store-operated Ca^{2+} entry controls the checkpoint in cell cycle G1/S transition [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22142
- [8] Cheng H, Wang S, Feng R. STIM1 plays an important role in TGF- β -induced suppression of breast cancer cell proliferation [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13): 16866
- [9] Bergmeier W, Weidinger C, Zee I, et al. Emerging roles of store-operated Ca^{2+} entry through STIM and Orai proteins in immunity, hemostasis and cancer [J]. *Channels (Austin)*, 2013, 7(5): 379
- [10] He L, Zhang Y, Ma G, et al. Near-infrared photoactivatable control of Ca^{2+} signaling and optogenetic immunomodulation [J]. *Elife*, 2015, 4: 10024
- [11] Zhang H, Sun A Y, Kim J J, et al. STIM1- Ca^{2+} signaling modulates automaticity of the mouse sinoatrial node [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(41): e5618
- [12] Liang S J, Zeng D Y, Mai X Y, et al. Inhibition of Orai1 store-operated calcium channel prevents foam cell formation and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(4): 618
- [13] Vashisht A, Trebak M, Motiani R K. STIM and Orai proteins as novel targets for cancer therapy [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 14(6): 685

- [14] Spinelli A M , Trebak M. ORAI channel-mediated Ca^{2+} signals in vascular and airway smooth muscle[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 310(6): 402
- [15] Trebak M. STIM/Orai signalling complexes in vascular smooth muscle[J]. *J Physiol*, 2012, 590(17): 4201
- [16] Wang Y, Deng X, Hewavitharana T, et al. Stim, ORAI and TRPC channels in the control of calcium entry signals in smooth muscle[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(9): 1127
- [17] Hogan P G , Rao A. Store-operated calcium entry: mechanisms and modulation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460(1): 40
- [18] Putney J W Jr. Capacitative calcium entry: from concept to molecules [J]. *Immunol Rev*, 2009, 231(1): 10
- [19] Putney J W Jr. A model for receptor-regulated calcium entry[J]. *Cell Calcium*, 1986, 7(1): 1
- [20] Putney J W Jr. Capacitative calcium entry revisited[J]. *Cell Calcium*, 1990, 11(10): 611
- [21] Hoth M , Penner R. Depletion of intracellular calcium stores activates a calcium current in mast cells [J]. *Nature*, 1992, 355(6358): 353
- [22] Oritani K , Kincade P W. Identification of stromal cell products that interact with pre-B cells[J]. *J Cell Biol*, 1996, 134(3): 771
- [23] Roos J, DiGregorio P J, Yeromin A V, et al. STIM1, an essential and conserved component of store-operated Ca^{2+} channel function [J]. *J Cell Biol*, 2005, 169(3): 435
- [24] Liou J, Kim M L, Heo W D, et al. STIM is a Ca^{2+} sensor essential for Ca^{2+} -store-depletion-triggered Ca^{2+} influx[J]. *Curr Biol*, 2005, 15(13): 1235
- [25] Feske S, Gwack Y, Prakriya M, et al. A mutation in Orail causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function[J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 179
- [26] Feske S, Draeger R, Peter H H, et al. The duration of nuclear residence of NFAT determines the pattern of cytokine expression in human SCID T cells [J]. *J Immunol*, 2000, 165(1): 297
- [27] Feske S, Draeger R, Peter H H, et al. Impaired NFAT regulation and its role in a severe combined immunodeficiency [J]. *Immunobiology*, 2000, 202(2): 134
- [28] Feske S, Giltneane J, Dolmetsch R, et al. Gene regulation mediated by calcium signals in T lymphocytes [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(4): 316
- [29] Vig M, Peinelt C, Beck A, et al. CRACM1 is a plasma membrane protein essential for store-operated Ca^{2+} entry[J]. *Science*, 2006, 312(5777): 1220
- [30] Zhang S L, Yeromin A V, Zhang X H, et al. Genome-wide RNAi screen of Ca^{2+} influx identifies genes that regulate Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel activity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(24): 9357
- [31] Vig M, Beck A, Billingsley J M, et al. CRACM1 multimers form the ion-selective pore of the CRAC channel[J]. *Curr Biol*, 2006, 16(20): 2073
- [32] Prakriya M, Feske S, Gwack Y, et al. Orail is an essential pore subunit of the CRAC channel[J]. *Nature*, 2006, 443(7108): 230
- [33] Yeromin A V, Zhang S L, Jiang W, et al. Molecular identification of the CRAC channel by altered ion selectivity in a mutant of Orai[J]. *Nature*, 2006, 443(7108): 226
- [34] McNally B A, Somasundaram A, Yamashita M, et al. Gated regulation of CRAC channel ion selectivity by STIM1[J]. *Nature*, 2012, 482(7384): 241
- [35] Hou X, Pedi L, Diver M M, et al. Crystal structure of the calcium release-activated calcium channel Orai[J]. *Science*, 2012, 338(6112): 1308
- [36] Peinelt C, Vig M, Koomoa D L, et al. Amplification of CRAC current by STIM1 and CRACM1 (Orail) [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(7): 771
- [37] Mercer J C, Dehaven W I, Smyth J T, et al. Large store-operated calcium selective currents due to co-expression of Orail or Orai2 with the intracellular calcium sensor, Stim1 [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(34): 24979
- [38] Soboloff J, Spassova M A, Tang X D, et al. Orail and STIM1 reconstitute store-operated calcium channel function[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(30): 20661
- [39] Navarro-Borelly L, Somasundaram A, Yamashita M, et al. STIM1-Orail interactions and Orail conformational changes revealed by live-cell FRET microscopy[J]. *J Physiol*, 2008, 586(22): 5383
- [40] Zhou Y, Meraner P, Kwon H T, et al. STIM1 gates the store-operated calcium channel ORAI1 in vitro[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(1): 112
- [41] Gudlur A, Quintana A, Zhou Y, et al. STIM1 triggers a gating rearrangement at the extracellular mouth of the ORAI1 channel[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5164
- [42] Stathopoulos P B, Zheng L, Li G Y, et al. Structural and mechanistic insights into STIM1-mediated initiation of store-operated calcium entry[J]. *Cell*, 2008, 135(1): 110
- [43] Li Z, Lu J, Xu P, et al. Mapping the interacting domains of STIM1 and Orail in Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel activation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(40): 29448

- [44] Ma G, Wei M, He L, et al. Inside-out Ca^{2+} signalling prompted by STIM1 conformational switch [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7826
- [45] Zhou Y, Srinivasan P, Razavi S, et al. Initial activation of STIM1, the regulator of store-operated calcium entry [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(8): 973
- [46] Covington E D, Wu M M, Lewis R S. Essential role for the CRAC activation domain in store-dependent oligomerization of STIM1 [J]. *Mol Biol Cell*, 2010, 21(11): 1897
- [47] Muik M, Fahrner M, Schindl R, et al. STIM1 couples to ORAI1 via an intramolecular transition into an extended conformation [J]. *EMBO J*, 2011, 30(9): 1678
- [48] Nesin V, Wiley G, Kousi M, et al. Activating mutations in STIM1 and ORAI1 cause overlapping syndromes of tubular myopathy and congenital miosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(11): 4197
- [49] Yu J, Zhang H, Zhang M, et al. An aromatic amino acid in the coiled-coil 1 domain plays a crucial role in the auto-inhibitory mechanism of STIM1 [J]. *Biochem J*, 2013, 454(3): 401
- [50] Korzeniowski M K, Manjarres I M, Varnai P, et al. Activation of STIM1-Orai1 involves an intramolecular switching mechanism [J]. *Sci Signal*, 2010, 3(148): 82
- [51] Yu F, Sun L, Hubrack S, et al. Intramolecular shielding maintains the ER Ca^{2+} sensor STIM1 in an inactive conformation [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(11): 2401
- [52] Yuan J P, Zeng W, Dorwart M R, et al. SOAR and the polybasic STIM1 domains gate and regulate Orai channels [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(3): 337
- [53] Park C Y, Hoover P J, Mullins F M, et al. STIM1 clusters and activates CRAC channels via direct binding of a cytosolic domain to Orai1 [J]. *Cell*, 2009, 136(5): 876
- [54] Yang X, Bai X, Zhang Y, et al. Effects of heat injured keratinocytes supernatant on expressions of collagen type I, collagen type III, and matrix metalloproteinase 1 of dermal fibroblasts [J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2012, 26(12): 1497
- [55] Deng X, Wang Y, Zhou Y, et al. STIM and Orai: dynamic intermembrane coupling to control cellular calcium signals [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(34): 22501
- [56] Xiao B, Coste B, Mathur J, et al. Temperature-dependent STIM1 activation induces Ca^{2+} influx and modulates gene expression [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(6): 351
- [57] Williams R T, Manji S S, Parker N J, et al. Identification and characterization of the STIM (stromal interaction molecule) gene family: coding for a novel class of transmembrane proteins [J]. *Biochem J*, 2001, 357(3): 673
- [58] Berna-Ero A, Braun A, Kraft R, et al. STIM2 regulates capacitive Ca^{2+} entry in neurons and plays a key role in hypoxic neuronal cell death [J]. *Sci Signal*, 2009, 2(93): 67
- [59] Vaeth M, Zee I, Concepcion A R, et al. Ca^{2+} Signaling but not store-operated Ca^{2+} entry is required for the function of macrophages and dendritic Cells [J]. *J Immunol*, 2015, 195(3): 1202
- [60] Parvez S, Beck A, Peinelt C, et al. STIM2 protein mediates distinct store-dependent and store-independent modes of CRAC channel activation [J]. *FASEB J*, 2008, 22(3): 752
- [61] Zhou Y, Mancarella S, Wang Y, et al. The short N-terminal domains of STIM1 and STIM2 control the activation kinetics of Orai1 channels [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(29): 19164
- [62] Wang X, Wang Y, Zhou Y, et al. Distinct Orai-coupling domains in STIM1 and STIM2 define the Orai-activating site [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3183
- [63] Bird G S, Hwang S Y, Smyth J T, et al. STIM1 is a calcium sensor specialized for digital signaling [J]. *Curr Biol*, 2009, 19(20): 1724
- [64] Soboloff J, Spassova M A, Hewavitharana T, et al. STIM2 is an inhibitor of STIM1-mediated store-operated Ca^{2+} entry [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(14): 1465
- [65] Stathopoulos P B, Li G Y, Plevin M J, et al. Stored Ca^{2+} depletion-induced oligomerization of stromal interaction molecule 1 (STIM1) via the EF-SAM region: an initiation mechanism for capacitive Ca^{2+} entry [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(47): 35855
- [66] Zheng L, Stathopoulos P B, Li G Y, et al. Biophysical characterization of the EF-hand and SAM domain containing Ca^{2+} sensory region of STIM1 and STIM2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369(1): 240
- [67] Brandman O, Liou J, Park W S, et al. STIM2 is a feedback regulator that stabilizes basal cytosolic and endoplasmic reticulum Ca^{2+} levels [J]. *Cell*, 2007, 131(7): 1327
- [68] Wang Y, Deng X, Zhou Y, et al. STIM protein coupling in the activation of Orai channels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(18): 7391
- [69] Cai X, Zhou Y, Nwokonko R M, et al. The Orai1 store-operated calcium channel functions as a hexamer [J]. *J Biol Chem*, 2016, [Epub ahead of print]

- [70] Yen M, Lokeva L A, Lewis R S. Functional analysis of Orai1 concatemers supports a hexameric stoichiometry for the CRAC channel [J]. *Biophys J*, 2016, 111(9):1897
- [71] Zhou Y, Ramachandran S, Oh-Hora M, et al. Pore architecture of the Orai1 store-operated calcium channel [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(11): 4896
- [72] McNally B A, Yamashita M, Engh A, et al. Structural determinants of ion permeation in CRAC channels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(52): 22516
- [73] Shim A H, Tirado-Lee L, Prakriya M. Structural and functional mechanisms of CRAC channel regulation [J]. *J Mol Biol*, 2015, 427(1): 77
- [74] Derler I, Plenk P, Fahrner M, et al. The extended transmembrane Orai1 N-terminal (ETON) region combines binding interface and gate for Orai1 activation by STIM1 [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(40): 29025
- [75] Palty R, Stanley C, Isacoff E Y. Critical role for Orai1 C-terminal domain and TM4 in CRAC channel gating [J]. *Cell Res*, 2015, 25(8): 963
- [76] Rothberg B S, Wang Y, Gill D L. Orai channel pore properties and gating by STIM: implications from the Orai crystal structure [J]. *Sci Signal*, 2013, 6(267): 83
- [77] Hoover P J, Lewis R S. Stoichiometric requirements for trapping and gating of Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} (CRAC) channels by stromal interaction molecule 1 (STIM1) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(32): 13299
- [78] Li Z, Liu L, Deng Y, et al. Graded activation of CRAC channel by binding of different numbers of STIM1 to Orai1 subunits [J]. *Cell Res*, 2011, 21(2): 305
- [79] Zhou Y, Wang X, Loktionova N A, et al. STIM1 dimers undergo unimolecular coupling to activate Orai1 channels [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8395
- [80] Stathopoulos P B, Schindl R, Fahrner M, et al. STIM1/Orai1 coiled-coil interplay in the regulation of store-operated calcium entry [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2963

Stores-operated calcium entry and mediator proteins STIM, Orai: a brief review

LIU Jindou ZHENG Sisi WANG Youjun

(Beijing Key Laboratory of Gene Resource and Molecular Development, College of Life Sciences, Beijing Normal University, 100875, Beijing, China)

Abstract STIM/Orai-mediated stores-operated calcium entry (SOCE) is an important Ca^{2+} influx pathway in multiple cell types. SOCE participates in numerous cellular processes such as the regulation of gene expression, cell proliferation, organ development, and immune responses. In the present paper we review the discovery of SOCE and the identification of STIM and Orai proteins via RNAi and high throughput screening technologies. With a focus on STIM, we also discuss some recent findings about STIM, Orai and their coupling, in the hope to provide some hints towards the detailed mechanisms underlying STIM-Orai interaction.

Keywords SOCE; STIM; Orai

Fig. 1





