

# SKIL: UN INHIBIDOR DE LA VÍA DE LA CITOCINA TGF- $\beta$ \*

Elisa Domínguez-Hüttinger y Marina Macías-Silva

Departamento de Biología Celular. Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México.  
Apartado Postal: 70-243. 04510 México, D.F. México. Tel.: (55) 56-22-5729. Fax: (55) 56-22-5611.  
Correo E: ehuttinger@ifc.unam.mx o mmacias@ifc.unam.mx

## RESUMEN

"Sloan-Kettering-Institute Like" (*skil*) es un gen muy interesante que se ha asociado a procesos como el desarrollo embrionario, el desarrollo de cáncer, la respuesta inmune y la regeneración tisular. Cambios en sus niveles de expresión normal contribuyen al desarrollo de tumores, por lo que se le ha considerado como un supresor de tumores o una oncoproteína. El papel principal de la proteína SKIL es inhibir la vía del TGF- $\beta$ , ya que funciona como un correpressor transcripcional que bloquea la actividad transcripcional de los principales efectores del TGF- $\beta$ , las Smad, así como reclutando a otros correpressores y a desacetilasas de histona. En ausencia de SKIL, las proteínas Smad regulan la expresión de los genes blanco del TGF- $\beta$  al actuar como factores de transcripción. TGF- $\beta$  induce la expresión del gen *skil*, pero regula negativamente los niveles de la proteína SKIL a través de la inducción de su degradación vía el sistema ubiquitina-proteosoma. Esta regulación constituye un ejemplo típico de un asa de retroalimentación negativa de las vía de transducción de señales.

## PALABRAS

### CLAVE:

SKIL, Sno, TGF- $\beta$ , asa de retroalimentación negativa, regulación transcripcional.

## ABSTRACT

"Sloan-Kettering-Institute Like" (*skil*) is a very interesting gene that has been associated to processes like embryo development, cancer development, immune response and tissue regeneration. Alterations in the expression of SKIL normal levels contribute to tumor development, thus SKIL is considered as both a tumor suppressor and an oncoprotein. The main role of the SKIL protein is to act as a corepressor of the TGF- $\beta$  signal transduction pathway. SKIL functions as a transcriptional corepressor that inhibits the TGF- $\beta$  pathway interfering with the transcriptional activity of the main TGF- $\beta$  effectors, the Smad proteins, and by recruiting corepressors and histone deacetylases. In absence of SKIL, Smads regulate the expression on TGF- $\beta$  target genes while they act as transcription factors. TGF- $\beta$  induces the expression of the gene *skil*, but TGF- $\beta$  also regulates negatively the protein levels of SKIL by inducing its degradation via ubiquitin-proteasome system. This regulation constitutes a good example of a negative feedback loop present in signal transduction pathways.

## KEY WORDS:

SKIL, Sno, TGF- $\beta$ , negative feedback loop, transcriptional regulation.

## INTRODUCCIÓN

En 1986, un grupo de investigadores del Instituto Sloan-Kettering encontraron una secuencia de DNA común en el grupo de retrovirus Sloan-Kettering (SKV), y presente también en el genoma del pollo. Llamaron a esta secuencia SKI ("Sloan-Kettering Institute"), e intuyeron que se trataba de un gen funcional. Un año después, se descubrió el gen homólogo en el humano (*h-ski*), así como una

secuencia similar a *ski*, que nombraron *sno* (Ski-related novel gene) y que es ahora un sinónimo de *skil* (SKI-Like).

El papel fisiológico del gen *skil* se fue descubriendo paulatinamente. Al inicio, se caracterizó su perfil de expresión en diferentes etapas del desarrollo, así como su papel en determinados procesos fisiológicos. *Skil* se encuentra expresado de manera ubicua, sin embargo, su tasa de transcripción basal es muy baja. Durante el desarrollo

embrionario, en diversos tipos de cáncer, en el timo y en el bazo, así como en algunos procesos de regeneración tisular, se puede observar que *skil* está sobreexpresado. El incremento en los niveles de expresión de *skil* durante dichos procesos concuerda con su papel fisiológico. SKIL induce la miogénesis y durante la regeneración tisular es un importante inductor de la proliferación celular, mientras que en el sistema inmune, se sabe que SKIL activa a las células T. En el desarrollo del cáncer, se le ha adjudicado a SKIL un papel ambivalente, por un lado, como supresor de tumores, y por el otro, como oncoproteína, aunque a la fecha no se ha descrito alguna forma mutada de SKIL.

El mecanismo de acción molecular de SKIL está directamente asociado a la vía de transducción de señales del factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ). El TGF- $\beta$  es una citocina que afecta una gran gama de procesos fisiológicos a través de la activación de sus efectores, las proteínas Smad. En respuesta a la unión del TGF- $\beta$  con sus receptores, se activa el receptor tipo I o ALK5. ALK5 es una cinasa de residuos de serina y treonina que fosforila a las proteínas R-Smad (Smad2 y Smad3), lo cual ocasiona que se forme un complejo heterotrimérico, de R-Smads con Smad4, que se transloca al núcleo. Una vez en el núcleo, las Smad se asocian a secuencias específicas en las regiones regulatorias de diversos genes, por ejemplo, el elemento de unión a Smad (SBE), que se encuentra en los promotores de los genes blanco del TGF- $\beta$ . Así, el TGF- $\beta$  regula la expresión de numerosos genes blanco. La proteína SKIL actúa como correpressor de la vía del TGF- $\beta$ . Es decir, que inhibe la regulación de la transcripción de los genes blanco de esta citocina.

De acuerdo con lo anterior, actualmente se presume que los efectos fisiológicos de SKIL están directamente asociados con la inhibición de la vía de transducción del TGF- $\beta$ . Por ejemplo, durante la regeneración hepática, esta citocina actúa como un potente antimitótico. Se sugiere que al inhibir la vía del TGF- $\beta$ , SKIL favorece la proliferación celular en un hígado en regeneración.

La activación de la vía del TGF- $\beta$  induce la degradación de la proteína SKIL vía el proteosoma. Así, existe una ventana de tiempo en la cual el TGF- $\beta$  es capaz de regular la transcripción de sus genes blanco, mientras los niveles de SKIL están aún disminuidos. Un gen blanco del TGF- $\beta$  es el mismo *skil*. De esta manera, la activación transcripcional del gen *skil* y el consecuente aumento en los niveles de la proteína por la vía del TGF- $\beta$ , constituye un asa de retroalimentación negativa en esta vía, que podría ser importante para apagar las señales del TGF- $\beta$  en la célula.

## SKIL: Del gen a la proteína

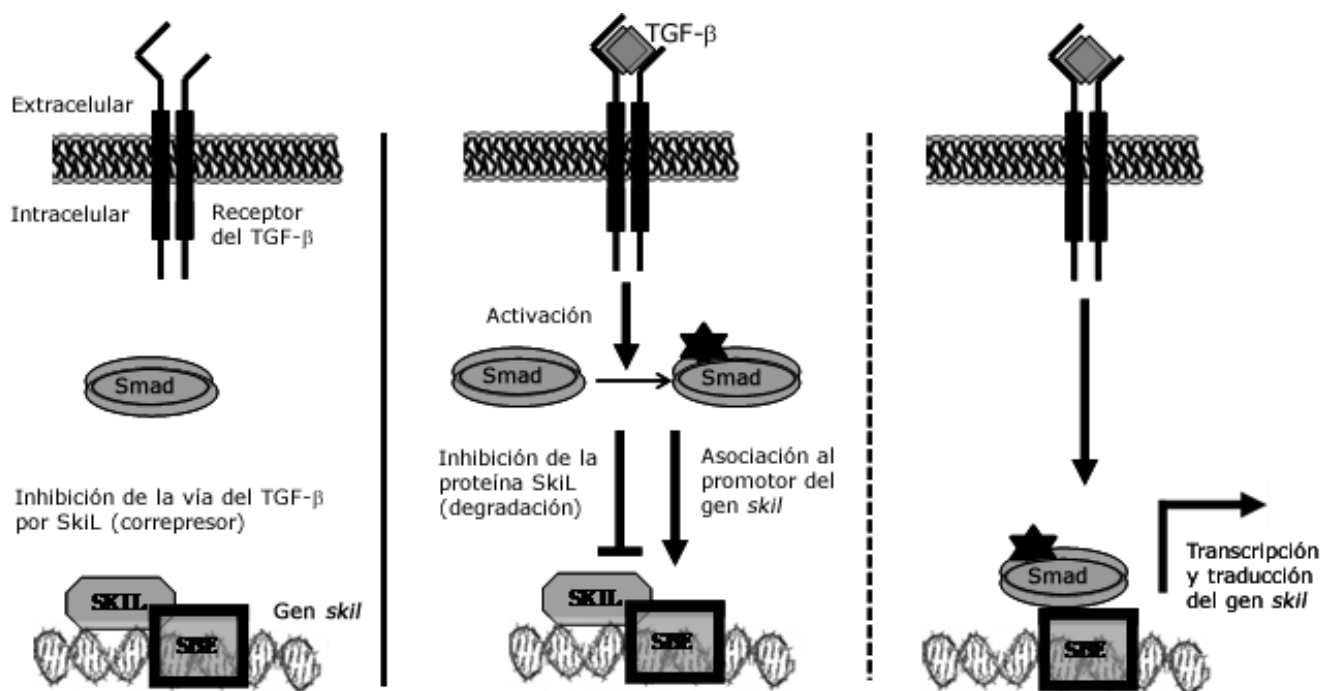
Estudios filogenéticos sugieren que el gen *skil* se encuentra en una gran gama de metazoarios. Sin embargo, hasta ahora solamente se han caracterizado genes ortólogos de *skil* en *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Drosophila sp.*, en rata y en pollo (1-4). En los genomas de todas estas especies, hay una sola copia del gen *skil*. En el ratón y el humano, se localiza en el cromosoma tres, mientras que en la rata y la mosca, se encuentra en el segundo cromosoma. En el pollo, *skil* se localiza en el cromosoma nueve.

En el humano, existen cuatro isoformas, producto de empalme alternativo ("*splicing*"), de SKIL. Se trata de SnoN (*Non-Alu-containing*), SnoA (*Alu-containing*), SnoN2 y SnoI ("*Insertion*"). En el ratón, el empalme alternativo genera las isoformas SnoN2 y SnoN. En el pollo, existe sólo una isoforma de SnoN (1). En *Drosophila*, se encontraron cuatro isoformas de dSno correspondientes a sus cuatro contrapartes humanas (4). En general, las isoformas más expresadas son SnoN2 en *Mus musculus* y SnoN en *Homo sapiens* (5).

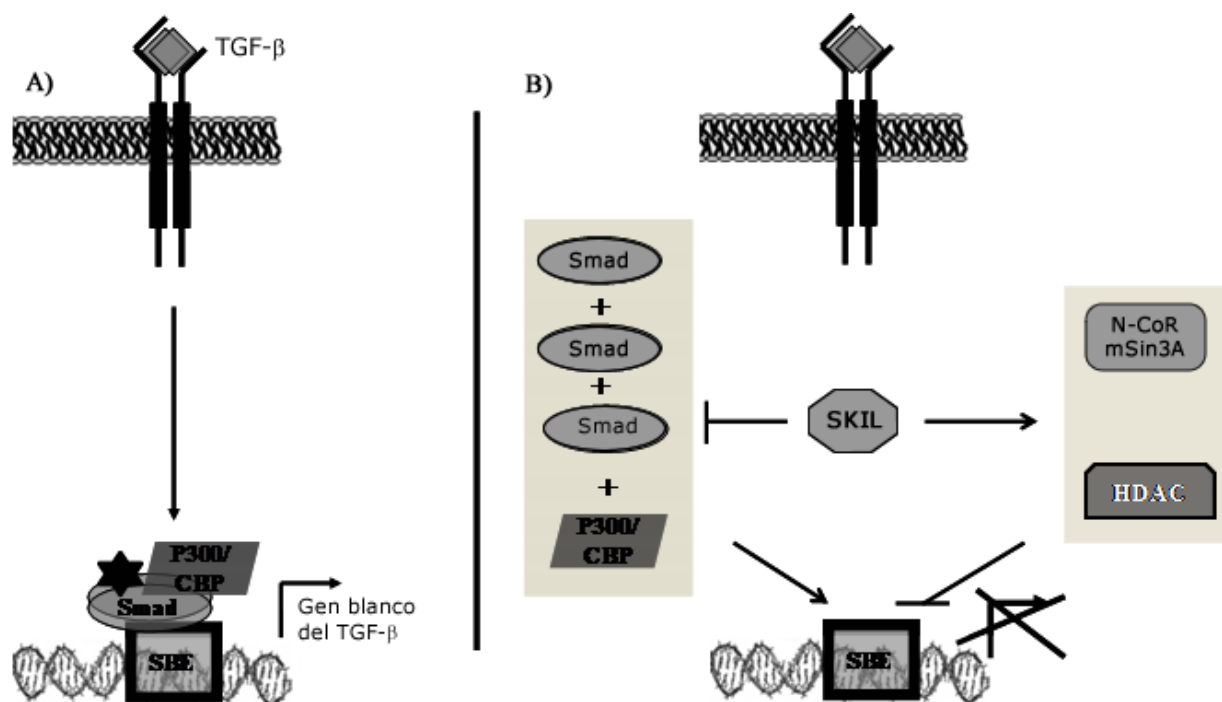
La isoforma humana de SKIL, SnoN, es una proteína nuclear conformada por 684 aminoácidos (aa). La porción amino terminal (aproximadamente 270 aa) está altamente conservada entre las isoformas de SKIL, y también en la proteína SKI. En esta región se encuentra un dominio de transformación y diferenciación que contiene regiones de interacción con las Smad, una de ellas es el dominio SAND que permite la interacción con Smad4. La región carboxilo terminal está pobremente conservada –de hecho, está ausente en la isoforma SnoI–, y es la que presenta el dominio de homo- y heterodimerización (A). La ausencia de una actividad catalítica, así como la presencia de motivos de interacción con las Smad, sugiere que el mecanismo de acción de la proteína SKIL en la vía del TGF- $\beta$  es principalmente a través de su interacción con las Smad.

## Mecanismo de acción de SKIL

La proteína SKIL es un correpressor de la vía de transducción del TGF- $\beta$ . Es decir, SKIL inhibe la regulación de la expresión de los genes blanco del TGF- $\beta$  (Fig. 1). Bioquímicamente hablando, esta interferencia se puede dar de cuatro formas (Fig. 2): 1) SKIL impide la formación del complejo heterotrimérico de Smads –el dominio de dimerización de Smad4 coincide con el dominio de unión a SKI y SKIL–; 2) imposibilita la unión del coactivador p300/CBP al complejo heterotrimérico de Smads; 3) recluta a otros correpresores –como N-CoR y



**Figura 1.** Regulación de la proteína SKIL por la vía de transducción del TGF- $\beta$ . La asociación del TGF- $\beta$  a su receptor induce la activación de las proteínas efectoras del TGF- $\beta$ , las Smad. Las Smad activadas se asocian al Elemento de Unión a las Smad (SBE) en el promotor del gen *skil*. Esta asociación induce la transcripción del gen *skil* y posterior traducción del RNAm. La proteína SKIL reprime a la vía del TGF- $\beta$  al actuar como correpresor de las Smad. El TGF- $\beta$ , por medio de las Smad induce la degradación de la proteína SKIL. Ver el texto para más detalles.



**Figura 2.** Mecanismo de acción de SKIL. A) En ausencia del correpresor SKIL, la citocina TGF- $\beta$  induce la activación de sus genes blanco por medio de la asociación de las Smad y un coactivador (p300/CBP) a un SBE en el promotor del gen blanco del TGF- $\beta$ . B) La presencia de SKIL inhibe la expresión del gen blanco del TGF- $\beta$  al impedir la formación del complejo heterotrimérico de Smads, imposibilitar la unión del coactivador p300/CBP y dicho complejo, y reclutar a otros correpresores como N-CoR y mSin3A; y/o a desacetilasas de histona (HDACs) al promotor blanco del TGF- $\beta$ .

mSin3A-; y 4) recluta desacetilasas de histona (HDACs) al promotor blanco del TGF- $\beta$ . SKI y SKIL no poseen actividad catalítica, y además son incapaces de asociarse directamente al DNA, para lo cual requieren de la interacción con las proteínas Smad. Esta interacción de SKIL y SKI con las Smad inhibe la actividad transcripcional de las mismas, y así SKIL y SKI ejercen sus efectos inhibitorios sobre la vía del TGF- $\beta$  (Fig. 1).

### Regulación de la expresión del gen *skil*

En 1999, Storschein y colaboradores detectaron por primera vez un aumento en los niveles de expresión del RNAm de *skil* en respuesta a un estímulo del TGF- $\beta$  (6). En los últimos años, se ha investigado el mecanismo celular por el que ocurre este incremento. Hoy se sabe que la región regulatoria del gen *skil*, llamada promotor, tiene cuatro SBEs y además una secuencia de unión a Smads que no se había reportado en ningún otro gen blanco del TGF- $\beta$ . Se trata de la secuencia inhibitoria de las Smads (SIE); como su nombre lo indica, la unión de un complejo heterotrimérico de Smads al SIE inhibe la transcripción de *skil*. No obstante la presencia del SIE en el promotor de *skil*, el efecto global del TGF- $\beta$  sobre la expresión de este gen es positivo (7) (Fig. 1). Este mecanismo de inducción de la expresión del gen *skil* por la vía del TGF- $\beta$  se reportó originalmente para *Mus musculus*, sin embargo, se sabe que las regiones reguladas por la vía del TGF- $\beta$  en el promotor de *skil* están conservadas y son funcionales en *Homo sapiens* (8).

En el promotor de *skil* de *Homo sapiens* se ha encontrado además una secuencia de respuesta al factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). Se trata de una secuencia de 200 pares de bases (pb) que contiene sitios de unión a la proteína específica 1 (Sp1) y al elemento de respuesta a cAMP (CRE) (9). Estudios bioinformáticos sugieren que dicha secuencia está conservada en *Mus musculus*.

Finalmente, Yatsula y colaboradores detectaron un sitio de unión al protooncogen Evi1 (*Ectopic viral integration site-1*) en la región regulatoria de *skil* de células mieloides transformadas NIH 3T3 (10).

### Regulación de los niveles proteicos de SKIL

La vía de señalización del TGF- $\beta$  induce la degradación de la proteína SKIL. En presencia de este correpressor es probable que el TGF- $\beta$  no sea capaz de inducir un cambio en la expresión de muchos de sus genes blanco (entre los que se encuentra *skil*). Así, el TGF- $\beta$ , a través de las Smad, disminuye los niveles proteicos de SKIL antes de ejercer

otros efectos (Fig. 1). El TGF- $\beta$  reduce los niveles proteicos de SKIL por medio de la degradación proteosomal dependiente de ubiquitina (11, 12).

Cualquier proteína que será degradada debe ser marcada. Una forma común de marcar las proteínas a degradar es mediante la ubiquitinación. Se trata de un proceso de adición de varias unidades de la proteína ubiquitina a la proteína blanco; este proceso es catalizado por enzimas tipo E1 (activadora de ubiquitina), E2 (conjugadora de ubiquitina) y E3 (ligasa de ubiquitina). Las ligasas E3 entran en contacto directo con la proteína blanco, por lo que son las que determinan la especificidad del sustrato (11). En el marco de la vía de señalización del TGF- $\beta$  se han detectado una serie de ligasas de ubiquitina que marcan a la proteína SKIL para enviarla a degradación. Se trata de las ligasas E3 de ubiquitina: Smurf2 (*Smad ubiquitin regulatory factor*) (11), la E3 que forma parte del complejo promotor de la anafase (APC) (15), y Arkadia (13). Hace un par de años, Kajino y colaboradores (14) observaron que la fosforilación de SKIL por la cinasa activada por el TGF- $\beta$ , TAK1, repercute negativamente sobre la estabilidad del correpressor; es decir, que TAK1 aumenta la susceptibilidad de la proteína SKIL a ser ubiquitinada y posteriormente degradada vía el proteosoma. Actualmente se investiga si existen vías independientes del TGF- $\beta$  que inducen la degradación de la proteína SKIL, como por ejemplo por medio del uso del antibiótico anisomicina (15).

Así como la fosforilación y la ubiquitinación, la sumoilación (*small ubiquitin-like modifier*) es una modificación post-traducciona que afecta a la proteína SKIL. A diferencia de la ubiquitinación, la sumoilación aumenta la estabilidad de la proteína SKIL, acrecentando su actividad correpresora. La sumoilación es catalizada por las enzimas Ubc9 y PIAS (16).

La variedad de enzimas que modifican a la proteína SKIL nos habla de una regulación puntual de SKIL en diversos escenarios fisiológicos. Por ejemplo, la fluctuación de los niveles proteicos de SKIL durante el ciclo celular se debe a la regulación periódica de los niveles proteicos de SKIL por APC (5). Después de la mitosis, cuando la célula entra a G1, APC induce la degradación proteolítica de SKIL. Así, después de que la célula se dividió -fase G2- SKIL deja de inhibir a la citocina antiproliferativa TGF- $\beta$ , arrestando el ciclo celular (17). Podemos mencionar otro papel interesante de APC en relación a SKIL en el contexto neuronal; Steigmüller y colaboradores (18) describen que la ubiquitinación de SKIL por APC inhibe el crecimiento axonal en cultivos primarios de neuronas de cerebelo. En cuanto a Smurf2, se sabe que esta ligasa E3 au-

TABLA 1

Principales procesos fisiológicos y patológicos en los que el correpresor SKIL juega un papel importante; principalmente por reprimir los efectos de la vía del TGF- $\beta$ .

Proceso Fisiopatológico	TGF- $\beta$	SKIL
<b>Cáncer</b>		
Fase temprana (proliferación)	Supresor de tumores (anti-proliferativo)	Protooncogen
Fase tardía (extravasación, angiogénesis, metástasis)	Protooncogen (matriz extracelular)	Supresor de tumores
<b>Regeneración tisular</b>	Inhibe fase proliferativa de la regeneración	Inhibe el efecto antiproliferativo del TGF- $\beta$ , propiciando la regeneración
Sistema inmune	Citocina antiinflamatoria	Inmunoactivador. Sobreexpresado en células del sistema inmune, activador de células T
<b>Desarrollo</b>		
Miogénesis	Inhibe la diferenciación muscular	Miogénico

menta la degradación de SKIL durante la fibrosis hepática (19).

En suma, la proteína SKIL tiene una gran gama de efectos sobre el organismo, y estos efectos están profundamente relacionados con el tipo de tejido en el que se encuentre; es decir, con el contexto celular. A continuación se describirán brevemente los escenarios en los que SKIL parece jugar un papel preponderante.

## PAPEL FISIOPATOLÓGICO DE SKIL

### Cáncer

SKIL juega un papel dual en el desarrollo del cáncer. Hay evidencias de su actuación como protooncogen, pero también figura como supresor de tumores. Por un lado, la sobreexpresión de *skil* es común en muchas líneas tumorales humanas derivadas de melanoma, cáncer de mama, de esófago, de pulmón, de epidermis y de próstata, lo que sugiere que *skil* es un protooncogen. Cabe resaltar que no se han encontrado mutaciones asociadas al gen *skil* (20). Por otro lado, Shinagawa y colaboradores (21) mostraron que la pérdida de una copia de *skil* aumenta la susceptibilidad a desarrollar tumores. Ratones heterocigos (*skil*<sup>+/-</sup>) tratados con carcinógenos químicos son más susceptibles a desarrollar tumores, así como más propensos a desarrollar linfomas de manera espontánea que su contraparte silvestre. En este caso, parece que *skil* actúa como un supresor de tumores. A pesar de que no se ha llegado a ningún consenso, parece que, en estadios tempranos del desarrollo tumoral,

SKIL favorece el crecimiento tumoral. Este efecto se debe, probablemente, a que SKIL inhibe las señales antiproliferativas del TGF- $\beta$ . En tumores más desarrollados, SKIL inhibe la metástasis, actuando como un supresor de tumores. El TGF- $\beta$  favorece la extravasación y la migración de las células tumorales; así que también en este caso podemos entender el papel negativo de SKIL en función del TGF- $\beta$  (18) (Tabla 1).

El papel dual de SKIL en cáncer nos hace pensar que su regulación precisa es esencial para el mantenimiento de la homeostasis tisular. Por ello, resulta importante estudiar las enzimas y los factores de transcripción que controlan la expresión y la estabilidad de la proteína SKIL.

### Regeneración tisular y fibrosis

Macías-Silva y colaboradores observaron que SKIL se encuentra sobreexpresado durante la regeneración hepática, principalmente en hepatocitos. Durante la fase proliferativa de la regeneración, los hepatocitos parecen ser resistentes a las señales antimitóticas del TGF- $\beta$ . El aumento en los niveles de RNAm y de la proteína de SKIL explica esta resistencia de las células (Tabla 1). Se propone que el mismo TGF- $\beta$  es el ligando que podría ser responsable de aumentar la expresión de SKIL durante la regeneración hepática (22). En contraste, la fibrosis hepática se caracteriza por un aumento en la degradación de SKIL y de Smad2 por Smurf2, lo que causa una marcada disminución de los niveles proteicos del efector de la vía del TGF- $\beta$  y de su correpresor (19).


## Desarrollo embrionario

Existen dos posiciones contrarias respecto al papel de SKIL durante el desarrollo embrionario. Por un lado, Shinagawa y colaboradores generaron un ratón carente del gen *skil*. Este ratón *knockout* resultó ser letal, por lo que concluyen que *skil* es esencial para el desarrollo embrionario (21). Por su parte, Pearson-White y McDuffie crearon otro ratón *knockout* para *skil*. Este ratón parece normal; únicamente se detectaron anomalías en la activación de sus células T (23).

La discusión en torno a la importancia del SKIL durante el desarrollo embrionario sigue en pie. Sin embargo, hay un consenso en cuanto al papel de SKIL en el desarrollo muscular y en la activación del sistema inmune (1, 23, 24). Desde que se comenzó a caracterizar la función de SKIL, se le ha atribuido un papel miogénico. Incluso, parece que la isoforma SnoI se expresa exclusivamente en músculo esquelético (5), y se sabe que en fibroblastos de codorniz, la sobreexpresión de SKIL induce la diferenciación terminal de músculo esquelético (24). En cuanto al sistema inmune, Pearson-White y McDuffie (23) demostraron que el gen *skil* se encuentra constitutivamente expresado en las células del timo y del bazo. Además, mostraron que células T carentes de *skil* son inca-

paces de proliferar. Años antes, Pearson-White y colaboradores ya habían caracterizado la expresión de SKIL en las células hematopoyéticas (5). Así, parece que SKIL juega un papel importante en el sistema inmune al antagonizar los efectos del TGF- $\beta$ , que es una potente citocina inmunosupresora (Tabla 1).

## CONCLUSIONES

SKIL es un importante regulador negativo de la vía de transducción de la citocina TGF- $\beta$ . El mantenimiento preciso de sus niveles de expresión (tanto de proteína como de RNAm) es fundamental para mantener la homeostasis tisular. Hoy en día, la regulación de los niveles de expresión de SKIL es adjudicada principalmente a la vía del TGF- $\beta$ . Así, la relación entre SKIL y el TGF- $\beta$  forma un asa de retroalimentación negativa en la vía. Esta relación se ve reflejada en los procesos fisiopatológicos protagonizados por SKIL; todo parece indicar que las repercusiones sistémicas que este correpresor ejerce, se deben exclusivamente a su papel inhibitorio de las acciones del TGF- $\beta$ . Sin embargo, no podemos descartar que SKIL tenga efectos fisiológicos independientes del TGF- $\beta$ , ni que existan mecanismos alternos a la vía del TGF- $\beta$  que regulen los niveles de expresión de SKIL. 

## REFERENCIAS

1. Boyer P, Colmenares C, Stavnezer E, Hughes S (1993) Sequence and biological activity of chicken snoN cDNA clones. *Oncogene* 8: 457-466.
2. Nomura N, Sasamoto S, Ishii S, Date T, Matsui M, Ishizaki R (1989) Isolation of human cDNA clones of ski and the ski-related gene, sno. *Nucleic Acids Res* 17:5489-5500.
3. Pelzer T, Lyons G, Kim S, Moreaditj R (1996) Cloning and Characterization of the Murine Homolog of the sno Proto-Oncogene Reveals a Novel Splice Variant. *Dev Dyn* 205:114-125.
4. Takaesu N, Hyman-Walsh C, Yee Y, Wisotzkey R, Stinchfield M, O'Connor M, Wotton D, Newfelf S (2006) dSno Facilitates Baboon Signaling in the Drosophila Brain by Switching the Affinity of Medea Away from Mad and Toward dSmad2. *Genetics* 174:1299-313.
5. Pearson-White S, Crittenden R (1997) Proto-oncogene Sno expression, alternative isoforms and immediate early serum response. *Nucleic Acids Res* 14:2930-2937.
6. Stroschein S, Wang W, Zhou S, Zhou Q, Luo K (1999) Negative Feedback Regulation of TGF- $\beta$  Signalling by the SnoN Oncoprotein. *Science* 286:771-774.
7. Zhu Q, Pearson-White S, Luo K (2005) Requirement for the SnoN Oncoprotein in Transforming Growth Factor  $\beta$ -induced Oncogenic Transformation of Fibroblast Cell. *Mol Cell Biol* 25:10731-10744.
8. Tecalco-Cruz AC, Caligaris C, Sosa-Garrocho M, Ortiz-García L, Domínguez-Hüttinger E, Macías-Silva M (2009) Negative regulation of human *skil* gene promoter by SKIL co-repressor. (Manuscrito en preparación).
9. Rouyun Tn, Zhang X, Yang J, Liu Y, Li Y (2007) Molecular Basis for the Cell Type-Specific Induction of SnoN Expression by Hepatocyte Growth Factor. *J Am Soc Nephrol* 18:2340 -2349.
10. Yatsula B, Lin S, Read A, Poholek A, Yates K, Yue D, Hui P, Perkin A (2005) Identification of Binding Sites of EVI1 in Mammalian Cells. *J Biol Chem* 280:30712-10722.
11. Bonni S, Wang H, Causing C, Kavsak P, Stroschein S, Luo K, Wrana J (2001) TGF- $\beta$  induces assembly of a Smad2-Smurf2 ubiquitin ligase complex that targets SnoN for degradation. *Nat Cell Biol* 3:587-595.
12. Stroschein S, Bonni S, Wrana J, Luo K (2001) Smad3 recruits the anaphase-promoting complex for ubiquitination and degradation of SnoN. *Genes Dev* 15:2822-2836.

13. Nagano Y, Mavrikakis K, Lee K, Fujii T, Koinuma D, Sase H, Yuki K, Isogaya K, Saitoh M, Imamura T, Episkopou V, Miyazono K, Miyazawa K (2007) Arkadia Induces Degradation of SnoN and c-Ski to Enhance Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling. *J Biol Chem* 282:20492–20501.
14. Kajino T, Omori E, Ishii S, Matsumoto K, Ninomiya-Tsuji J (2007) TAK1 MAPK Kinase Mediates Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling by Targeting SnoN Oncoprotein for Degradation. *J Biol Chem* 282:9475–9481.
15. Vázquez-Macias A, Ruiz-Mendoza A, Fonseca-Sánchez M, Briones-Orta M, Macías-Silva M (2005) Downregulation of Ski and SnoN co-repressors by anisomycin. *FEBS Lett* 579:3701–3706.
16. Hsu Y, Sarker K, Pott I, Chan A, Netherton S, Bonni S (2006) Sumoylated SnoN Represses Transcription in a Promoter-specific Manner. *J Biol Chem* 281:33008–33018.
17. Wan Y, Liu X, Kirschner M (2001) The Anaphase-Promoting Complex Mediates TGF- $\beta$  Signaling by Targeting SnoN for destruction. *Mol Cell* 8:1027–1039.
18. Steigmüller J, Konoshi Y, Huynh M, Yuan Z, DiBacco S, Bonni A (2006). Cell-Intrinsic Regulation of Axolal morphogenesis by the Cdh1-APC Target SnoN. *Neuron* 50:389–400.
19. Cai Y, Shen Z, Zhou C, Wang J (2006) Abnormal expression of Smurf2 during the process of rat liver fibrosis. *Chin J Dig Dis* 7:237–245.
20. Zhu Q, Krakowski A, Dunham E, Wang L, Bandyopadhyay A, Berdeaux R, Martin S, Sun L, Luo K (2007) Dual Role of SnoN in Mammalian Tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 27:324–339.
21. Shinagawa T, Dong H, Xu M, Maekawa T, Ishii S (2000) The sno gene, which encodes a component of the histone deacetylation complex, acts as a tumor suppressor in mice. *EMBO J* 19:2280–2291.
22. Macías-Silva M, Wei L, Leu J, Crissey M, Taub R (2002) Up-Regulated Transcriptional Repressors SnoN and Ski Bind Smad Proteins to Antagonize Transforming Growth Factor- $\beta$  Signals during Liver Regeneration. *J Biol Chem* 277:28483–28490.
23. Pearson-White S, McDuffie M (2003) Defective T-Cell Activation Is associated with Augmented Transforming Growth Factor  $\beta$  Sensitivity in Mice with Mutations in the Sno Gene. *Mol Cell Biol* 23:5446–5459.
24. Wrighton KH, Liang M, Bryan B, Luo K, Liu M, Feng XH, Lin X (2007) Transforming growth factor-beta-independent regulation of myogenesis by SnoN sumoylation *En: J Biol Chem* 282:6517–24.