

## 去泛素化酶与基因表达调控\*

陈雨晗 张令强\*\* 贺福初

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 100850)

**摘要** 泛素化是常见的蛋白质翻译后修饰方式之一, 其参与了生物体内细胞分裂与分化、生长发育、转录调节、损伤应激、免疫应答等多方面的生理活动。近年来, 泛素研究领域的重要成员之一——去泛素化酶 (deubiquitylating enzymes) 被不断发现和报道。作为一类可以移除泛素的异肽酶类, 去泛素化酶具有结构和功能的多样性。基因表达调控一直是分子遗传学的研究热点, 系统整理和总结去泛素化酶与基因表达调控的关系具有重要意义。本文综述了去泛素化酶与基因表达调控的关系, 包括去泛素化酶与染色质稳态维持、细胞周期调控和 DNA 损伤修复等三个方面, 并对该领域未来的研究方向进行了预测和讨论。

**关键词** 去泛素化酶, 基因表达调控, 染色质调节, 细胞周期调节, DNA 损伤应激

**学科分类号** Q5, Q71

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2013.00124

泛素(ubiquitin)是一类在真核生物中普遍存在且高度保守的小分子多肽, 共 76 个氨基酸, 全长包含 7 个赖氨酸位点(K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63)和 1 个位于 C 端的甘氨酸位点。泛素以单体和多聚体形式, 经由酶促反应与底物蛋白结合并发生共价修饰的过程称为泛素化(ubiquitination)。泛素化的主要功能是参与底物蛋白的降解和异常蛋白的清除。生物体内蛋白质的降解共三条途径: 蛋白酶体途径、溶酶体途径和自噬体途径<sup>[1]</sup>, 绝大多数的降解反应由泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system)介导。该系统主要由泛素激活酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzyme, E2)和泛素连接酶(ubiquitin-ligase, E3)组成。在 ATP 存在的情况下, E1 活化泛素, 于 E1 的活性半胱氨酸位点和泛素的甘氨酸残基之间形成硫酯键, 随后, 泛素被顺序转移至 E2、E3, 最终, 泛素被 E3 转移到底物蛋白的赖氨酸残基上, 被泛素标记的底物蛋白进入蛋白酶体完成 ATP 依赖的水解反应<sup>[2-3]</sup>。

泛素链的组装根据赖氨酸位点和生理条件的不同形式各异, 有报道表明, 无论在细胞内环境还是胞外反应体系, 泛素自身的每个赖氨酸位点都可以发生泛素化<sup>[4]</sup>, 其中对 K48 和 K63 位多聚泛素化的

研究最为广泛。通常进入蛋白酶体的泛素链为 K48 位支链形式, 而 K63 位的直链泛素则介导细胞内吞、DNA 损伤修复、蛋白激酶活化、细胞定位转换、信号转导和压力应激反应<sup>[5-7]</sup>等多种非蛋白降解类功能。K29 位泛素链能同时参与蛋白酶体和溶酶体降解途径<sup>[8]</sup>。K29 和 K33 位的混合泛素链参与 AMPK-活化的相关激酶系统的调节<sup>[9]</sup>。此外, 在生物体内共同存在着多聚泛素化和单体泛素化, 都可以发挥重要的非蛋白降解类调节性生理功能。

去泛素化酶的存在使得泛素修饰的调节具有平衡性。去泛素化是指泛素化的底物蛋白在去泛素化酶(deubiquitylating enzymes, DUB)的作用下移除泛素的反应过程。迄今为止, 发现的去泛素化酶主要有六大类: UBP/USP 家族(ubiquitin-specific processing proteases)、UCH 家族(ubiquitin carboxy terminal hydrolases)、JAMM 家族(Jad1/Pad/MPN domain-containing metallo enzymes)、OTU 家族(Otu-domain-ubiquitin-aldehyde-binding protein)、MJD 家族

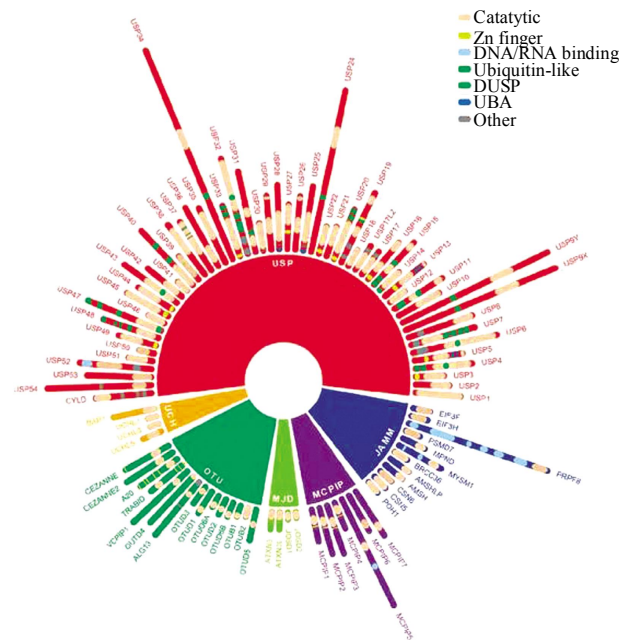
\* 国家自然科学基金资助项目(31125010)。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 010-66931216, E-mail: zhanglq550@163.com

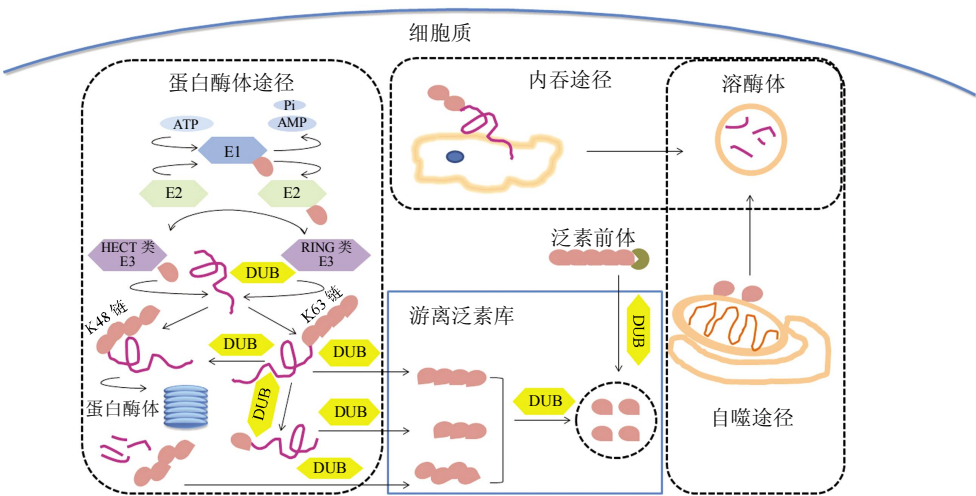
收稿日期: 2013-06-19, 接受日期: 2013-07-30

(Machado-Joseph disease related enzymes)和 MCPIP 家族(monocyte chemotactic protein-induced protein) (图 1<sup>[10]</sup>).



**Fig. 1 Categories of DUBs in human<sup>[10]</sup>**  
**图 1 去泛素化酶的分类<sup>[10]</sup>**  
如图所示为人源 DUB 的分类, 包括六大家族, 分别用不同颜色标注. 其中 DUB 不同亚家族的核心催化结构域用浅橙色表示, 其余的共有保守结构域也用相应的颜色注释. 线段的长短代表 DUB 的氨基酸数目, 每种颜色的扇形区在饼状图中的比例为不同亚家族的 DUB 占整个 DUB 数量的百分比.

去泛素化酶参与了以下六个方面的生命活动:  
a. 加工前体泛素为成熟的游离泛素, 由 UBC、UBB、UBA52 和 UBA40 等泛素基因编码的初级产物, 通常在 C 端含有延伸的肽段或者与核糖体耦联, 需要 DUB 的剪切功能. b. 挽救蛋白质的降解命运<sup>[11]</sup>, 这一点体现了与泛素连接酶的拮抗性.  
c. 去除非降解性泛素链信号<sup>[12]</sup>. d. 防止泛素和泛素 - 底物复合物被溶酶体途径和蛋白酶体途径降解, 维持体内泛素含量的相对稳定. e. 促进从底物上切除的泛素链解聚, 使得再循环的泛素变成游离的单体形式进入泛素库. f. 有一些特殊的 DUB 可以将非降解型的直链泛素进行编辑转变为单泛素, 使得泛素介导的信号发生转换(图 2). 目前对于去泛素化酶作用机理的研究远没有对泛素连接酶的研究深入, 已知 DUB 的生理功能主要包含四大类: 代谢与应激<sup>[13-14]</sup>、肿瘤与癌症<sup>[15]</sup>、感染与免疫<sup>[16-18]</sup>、干细胞与发育调控<sup>[19-20]</sup>. 基因表达调控作为分子遗传学的研究热点, 充分渗透到上述四个研究方向. 基因表达的调控, 主要包括组蛋白水平、转录因子水平、染色质水平, 涉及到基因的活化与失活、细胞周期进程转换、DNA 损伤修复等多项精细复杂的机制, 并存在泛素化和去泛素化动态平衡调控. 本综述从去泛素化酶与染色质调控、去泛素化酶与细胞周期调控、去泛素化酶与 DNA 损伤修复三个方面系统总结去泛素化酶在基因表达调控中的重要作用.



**Fig. 2 The schematic model delineating multiple functions of DUBs in cellular system**  
**图 2 去泛素化酶在细胞中的功能示意图**  
图中呈现了真核生物体内蛋白质降解的三条途径, 泛素蛋白酶体途径的基本组成, 以及 DUB 在整个泛素修饰网络不同位点不同阶段发挥的功能.

## 1 去泛素化酶家族的基本特征

### 1.1 去泛素化酶的催化结构

从前所述的六大类去泛素化酶,最大的家族是 USP 家族,新近发现的家族是 MCP1P 家族.泛素化酶的不同亚家族在结构模式上形态各异,但具有标志性的基本特征:以 USP 家族为例,较多的含有泛素结合结构域(UBD)、泛素相互作用结构域(UIM)和泛素相关结构域(UBA),这三类结构域都可以和泛素结合,但具有较低的亲和力.同时有相当一部分数量的 DUB 含有泛素类似物结构域(UBL).这些结构域在一级序列上几乎没有保守性,其三维结构却和泛素有极高的相似度,并且其 C 端通常缺失甘氨酸模序,使其自身不容易被降解.

大多数的 DUB 采用的蛋白质水解反应方式是使赖氨酸的  $\epsilon$ -氨基和泛素 C 端甘氨酸残基的羧基端分离. DUB 中的 USP、UCH、OTU、MJD 家族属于半胱氨酸水解酶类,基于木瓜蛋白酶的研究发现:催化反应依赖 2~3 个核心氨基酸残基,构成相应的催化二聚体和催化三聚体.在这些酶类中,组氨酸可以降低半胱氨酸催化活性中心的等电点,从而使得异肽链的连接容易被亲和性反应破解,而第 3 个氨基酸(通常是天冬氨酸或者精氨酸)使催化活性的组氨酸发生极化,有利于亲核反应的发生.

#### 1.1.1 USP 家族.

USP 家族成员的蛋白质含有三个结构域,就好像手掌、大拇指和其他手指的关系一样,活性催化中心位于手掌和大拇指的结构域,而食指结构域抓住泛素末端甘氨酸基序位点.有意思的是 USP 家族的蛋白中有一些 USP 结构域处于活性静息状态(apo-USP),但是当泛素结合到 USP 结构域时,USP 蛋白可以发挥催化活性,这就好比是活性和非活性中心位点的动态平衡变化.比较典型的例子是 USP7,当泛素结合时,组氨酸侧链旁的半胱氨酸由于占位效应被拉拢,然而 USP14 和 USP8 则需要在不结合泛素的情况下发生催化反应<sup>[21-22]</sup>,后者的泛素结合表面一旦占有泛素就会阻碍和屏蔽催化活性位点.还有一类值得一提的 USP 是 CYLD,它的独特之处在于其催化活性位点和泛素结合位点始终保持着一致性<sup>[23]</sup>.

所有的 USP 结构域蛋白可能会由于插入大分子多肽片段而改变泛素结合活性和催化活性,例如

CYLD 家族蛋白的 B-box 结构域、USP5 的 UBA 结构域等.还有一些蛋白含有 UBL 结构域,但功能尚不知晓.

**1.1.2 OTU 家族.** OTU 家族又分为三个亚类: Otubian(OTUB1, OTUB2)、A20-like-OTU 和 OTU.该家族成员也采取类似 USP 家族成员的活性转换方式:当泛素不结合时,处于活性抑制状态,而泛素结合后,催化活性位点暴露,从而发生反应<sup>[24]</sup>.

**1.1.3 UCH 家族.** UCH 家族的结构是 DUB 家族中最早被发现和报道的.在 apo 酶形式的泛素 C 端水解异肽酶 L3(UCHL3)中,存在着覆盖活性位点的环状结构,而且这个精细的环状结构在结合底物后,环状结构斜跨在泛素 C 端结构域,促使被 DUB 去泛素化的底物具有一定的空间位置选择性,有效地阻止了复杂组成和折叠的泛素底物复合体.同时,该复合体对于泛素链也有选择性,几乎观察不到 UCHL1 和 UCHL3 介导的四聚及四聚以上水平的泛素化<sup>[25]</sup>.因此,有一种说法是 UCH 类 DUB 仅仅参与小肽段的降解,例如由泛素蛋白酶体途径和溶酶体途径产生的代谢肽段.此外,UCH 类 DUB 由于其结构上的特殊性,可以降解延伸形式的泛素蛋白前体.

**1.1.4 MJD 家族.** 该家族研究最广泛的成员是 ATXN3, ATXN3 含有一个多聚谷氨酰胺链,神经退行性疾病 MJD 正是由于该链的过度延伸所致.最近研究人员解析了结合两个泛素的 ATXN3 的复合体结构<sup>[26]</sup>,研究表明,两个泛素结合位点各司其职,螺旋结构的“手臂”结构域调节活性位点的进入,而第二个泛素结合位点则远离活性位点,并且位于手臂结构的后端,因此,ATXN3 可能通过与远端的泛素二聚体相互作用形成稳定的开放构象,从而降解底物.

**1.1.5 JAMM/MPN+金属蛋白酶家族.** 最近 JAMM/MPN+ 家族成员的结构解析取得了突破:对 STAMBPL1 和 K63 位二聚泛素链复合体的研究表明,该家族蛋白质通常和两个锌离子耦联,其中的一个锌离子通过活化水分子从而攻击异肽键,随后氨基从带电的催化活性中间体释放,反应机理和胞嘧啶脱氨酶类似.该结构是迄今为止唯一一个去泛素化酶在活性位点结合泛素的复合结晶体<sup>[27]</sup>.

**1.1.6 MCP1P 家族.** 该家族第一个被发现和报道的成员——MCP1P1,在 N 端含有一个泛素关联结构域,该结构域促进与泛素化底物的连接,但不影

响去泛素化酶活性, 中间含有 CCCH 型锌指蛋白结构域, 上述两个结构域决定了 MCP1P1 的催化活性, C 端含有脯氨酸富集区. 尽管在 N 端含有保守的半胱氨酸和天冬氨酸盒子结构域, 但缺乏前述几种半胱氨酸水解蛋白酶类的组氨酸盒子结构域<sup>[28]</sup>.

## 1.2 去泛素化酶的调节

去泛素化酶的调节表现为两个方面: 去泛素化酶识别泛素链的特异性和去泛素化酶的活性调节.

DUB 识别泛素链具有高度的特异性和选择性: USP 和 OTU 家族的去泛素化酶都既可以识别 K48 位也能识别 K63 位的泛素链, 但不同的酶有偏好性, 例如 USP14 识别 K48 位泛素链, 而 CYLD 偏好识别 K63 位泛素链, 类似的有 OTUB1 和 A20 特异性识别 K48 位泛素链, 而 TRABID 和 OTUD5 特异性识别 K63 位泛素链. 较为特殊的是 OTU 家族的成员 Cezanne 能特异性切割 K11 位泛素链<sup>[29]</sup>, JAMM 家族偏向于识别 K63 位的泛素链, MJD 家族成员也有 K63 位泛素链的偏好性.

去泛素化酶的催化活性主要受到 4 个层次的调控. a. 转录水平的调节: 小鼠的 DUB-1、DUB-2、DUB-3 基因的表达受炎症因子的强烈诱导, 而 CYLD 可同时被 NF- $\kappa$ B 和 MAPK-P38 通路激活<sup>[30-31]</sup>. b. 翻译后修饰: 许多去泛素化酶发生磷酸化反应并由此发生酶活改变, 例如磷酸化抑制 CYLD 和 USP8, 反过来却激活 A20、USP7、USP15、USP16、USP19、USP28、USP34 和 USP37<sup>[32-33]</sup>. 泛素和类泛素蛋白也能修饰和调节 DUB 的活性, 例如 ATXN3 的泛素化可以激活其 DUB 的活性<sup>[34]</sup>, 而泛素化的 UCHL1<sup>[35]</sup>和 SUMO 化的 USP25 则活性受到抑制<sup>[36]</sup>. USP7、USP36 和 DUB-1 也能发生泛素化, 但功能尚未知晓<sup>[37-38]</sup>. 活性氧和氮类化合物被证实可以对 Cezanne 发生过氧化物介导的修饰. 更有意思的是有些去泛素化酶还可以发生蛋白质自身水解和切割从而失活, 例如 USP1 和 ATXN3. A20 可以通过激活其他蛋白质水解酶的水解功能而失活. c. 蛋白质定位: 去泛素化酶可以改变其发挥功能的场所, 从而识别特定的底物, 例如 USP30 的线粒体转位直接影响了线粒体的形态学性质<sup>[39]</sup>, 而 USP36 的核定位决定了其结构和功能<sup>[40]</sup>. 有些 DUB 除了其催化结构域以外还含有其他的泛素结合结构域, 例如 USP8、USP25、A20、OTUD5、ATXN3、AMSH 和 UCHL5 等. 此外, 泛素和 DUB 结合后发生的空间构象转换可以加快催化效

率, 如 USP46. 反过来, USP4 具有的类泛素结构域会导致 DUB 活性自抑制的发生<sup>[41]</sup>. d. 由相互作用蛋白介导的活性转换: DUB 介导的去泛素化在很大程度上依赖于和 DUB 的相互作用分子, 例如 USP1 能在 DNA 损伤修复过程中发挥作用是由于能和 U2 核糖核蛋白颗粒辅助因子 1 相互作用, 而有些 DUB 还能和 26S 蛋白酶体和 COP9 囊泡小体等超分子复合体发挥相互作用<sup>[42]</sup>, 并且已经有 DUB 蛋白质相互作用谱图的蛋白质组学数据支持, 由此可能发掘出更多的 DUB 复杂调控的生物学功能.

## 2 去泛素化酶与染色质调控

### 2.1 去泛素化酶与组蛋白稳态

染色质的主要组成成分是核小体, 核小体由组蛋白和 DNA 组成, 组蛋白的泛素化是其重要的翻译后修饰方式之一. 组蛋白的泛素化活跃位点有明显的独立性和特异性: 组蛋白 H2AK119 位和 H2BK120 位容易发生单泛素化, 作为染色质状态的信号而非蛋白质降解的信号. H2A 和 H2B 各司其职: 通常, H2B 和基因表达活化密切相关, 而组蛋白 H2A 则和基因沉默有关. 在不同的生物物种中, H2Aub1 和 H2Bub1(注: ub1 表示单泛素化, 下同)的比例, 显示了不同的基因组常染色质和异染色质状态的差异. 在真核生物中, 酵母和果蝇的 H2B 被 E2 RAD6 和 E3 BRE1 泛素化, 在哺乳动物中则相应的是 HR6A、HR6B 以及 RNF20、RNF40. H2Bub1 的泛素化通过促进组蛋白的其他修饰和在组蛋白分子伴侣 FACT 的依赖下改变核小体结构, 从而影响基因转录<sup>[43-45]</sup>. 例如 H2B 的泛素化特异性地促进 H3K4 和 H3K79 的甲基化, 作为核小体活化的信号. 并且 H2B 的泛素化和甲基化过程受一系列分子的精细协同调控, 在哺乳动物中甲基转移酶 Set1 与 COMPASS 构成复合体介导甲基化并与 Paf(RNA 聚合酶 II 偶联因子)和 Pol II 构成的复合体相互联系, 完成从泛素化到甲基化的信号转换. 值得一提的是, 在酵母中, H2B 的泛素化仅发生在与 Rad6-Bre1 复合体耦联延伸形式的 Pol II Ser5 位点磷酸化时.

H2B 的泛素化是一个涉及到 E3 和 DUB 平衡作用的动态性表观遗传学修饰. 在保守型的 SAGA 共激活转录因子中有一些重要的 DUB, 在酵母中是 UBP8, 果蝇中是 NONSTOP, 哺乳动物中是

USP22. UBP8 对 H2B 的去泛素化可以促进 CTK1 对 RNA Pol II CTD 的 Ser2 磷酸化, 并且激活后续的染色质修饰, 在 USP22 中也有类似的效应. 值得一提的是, UBP8 这类 DUB 并不能单独发挥功能, 而是必须联合 SAGA 复合体中的 SGF11、SUS1 和 SGF73 才能发挥催化活性构象的改变, 体现了去泛素化调节的时效性和特异性<sup>[46-48]</sup>.

H2B 泛素化周期变化与基因活化相关, 而稳定性低于 H2Bub1 水平的维持则与组成性基因沉默有关. 例如 UBP10 维持端粒和 rDNA 上的 H2B 位点低泛素化水平, 使得 H3K4 和 H2K79 的甲基化水平也很低. 低水平的甲基化又促进了 Sir2 的结合, 进一步抑制了组蛋白的乙酰化和转录活化.

在染色质稳态调控中, 还有一个重要的 DUB 是 USP7, 该 DUB 通过去泛素化 H2Bub1 介导发育过程中的基因沉默现象. 令人叹为观止的是 USP7 和 GMP 合成酶相互作用, 这种相互作用会显著提升 USP7 特异性去泛素化 H2B 的能力, 而 H2A 的去泛素化则不受 USP7 的调节. USP7 和 GMPS 构成的复合体作为一个选择性转录抑制子, 和多梳基因家族反应原件、脱皮甾醇反应原件和 EBV 复制起始位点相互联系, 揭示了细胞代谢状态和染色质动态结构之间的关联性<sup>[49-51]</sup>.

另一个值得关注的现象是: 在哺乳动物体内, 组蛋白 H2A 更偏向于发生泛素化, H2B 的泛素化比例仅有 1%, 而组蛋白 H2A 的泛素化比例达到 5%~15%. 已有的报道表明, 2A-DUB、USP21 都能对 H2Aub1 进行去泛素化, 解除对于后续甲基化反应和转录起始的抑制, 从而对于基因表达调控具有重要意义.

## 2.2 多梳基因家族介导的基因沉默

多梳基因家族(polycomb group, PcG)最早在果蝇中被克隆, 该基因在胚胎发育早期普遍存在, 主要功能是维持 HOX(同源异形框)基因的转录抑制状态, 参与调控细胞增殖、细胞衰老、干细胞多样性和细胞分化等多方面的生命活动<sup>[52]</sup>. PcG 的抑制作用是公认的染色质结构调控的重要方式之一, PcG 抑制的染色体标志是 H2Aub1. 在果蝇中, dRAF、dRING/ESC(extra sex combs)是 H2A 最重要的泛素连接酶, 哺乳动物中的同源成员则是 RING1A 和 RING1B. H2A 的泛素化带来的下游效应是组蛋白修饰和 RNA 聚合酶 II 的移动终止. 并且 RING1B 即使酶活中心突变依然可以介导 HOX 基因沉默<sup>[53]</sup>.

DUB 在 PcG 基因沉默的过程中发挥了重要作用, 从而维持发育过程的平衡. GMPS-USP7 网络不仅可以调控 H2Bub1 的去泛素化, 同时还可以对 H2Aub1 进行调节从而去泛素化 PcG 相关蛋白, USP7 和 USP11 都能去泛素化和稳定 PRC1 相关复合物. 这些 DUB 不仅可以介导 PcG 基因家族沉默, 还可以调节如 P16<sup>INK4a</sup> 这类重要的肿瘤抑制因子<sup>[54]</sup>. 有意思的是 USP7 可以去泛素化 RING1B, 后者可以发生两种类型的泛素化: a. K6、K27、K48 位的混合泛素链, 介导自身酶活修饰. b. K48 位蛋白降解型多聚泛素化修饰. USP7 可以同时将这两种类型的泛素化去除, 从而使得 RING1B 在 PcG 基因的调控中维持在一个相对平衡的状态<sup>[55]</sup>.

正如在基因活化过程中需要经历 H2B 的泛素化和去泛素化周期动态变化一样, PcG 对于 HOX 的抑制作用需要 H2A 的泛素连接酶和去泛素连接酶的协同过程. 这也进一步体现 DUB 去泛素化 H2A 的意义: 在哺乳动物中, UBP-M/USP16 对 H2A 去泛素化, 会削弱 PcG 对 HOX 基因的阻碍作用; 另一方面, 在果蝇中的 PcG 基因 *calypso* 编码 C 端水解酶去泛素化 H2Aub1. CALYPSO 和 PcG 蛋白 ASX 相互作用, 形成 PR-DUB 复合体, 同时结合 PRE 并介导 HOX 基因的沉默. 总之, PcG 对 HOX 基因的抑制, 同时需要 RING/ESC 的泛素化和 PR-DUB 的去泛素化<sup>[56]</sup>. 两者中任意一个的缺失都会加强 PcG 对 HOX 基因的抑制作用. 类似例子还有: PcG 蛋白 RYBP 可以结合 H2Aub1, 同时 RYBP 也能结合 RING1B<sup>[57]</sup>.

综上所述, 对 H2A 和 H2B 两个方面的研究, 综合体现了泛素连接酶和去泛素化酶对染色质稳态调控的反馈性和平衡性(图 3).

## 2.3 转录因子调控

DUB 调控基因表达的另一种方式是通过转因子的去泛素化. DUB 去除的泛素化形式兼有多聚泛素化和单体泛素化. 一方面 DUB 可以阻止转录因子进入到蛋白酶体, 达到稳定转录因子含量的目的. 另一方面, DUB 可以使转录因子的亚细胞定位发生转换. 比较经典的例子有 FOXO、c-Myc 和肿瘤抑制因子 PTEN. 当细胞受到过氧化物刺激时, FOXO 发生单泛素化后移位并向细胞核聚集, 而 USP7 可以使之去泛素化并逆转前述细胞学效应<sup>[58]</sup>. 调节细胞生长、增殖、凋亡的重要转录因子 c-Myc 可被 USP28 稳定<sup>[59]</sup>. PTEN 的细胞定位



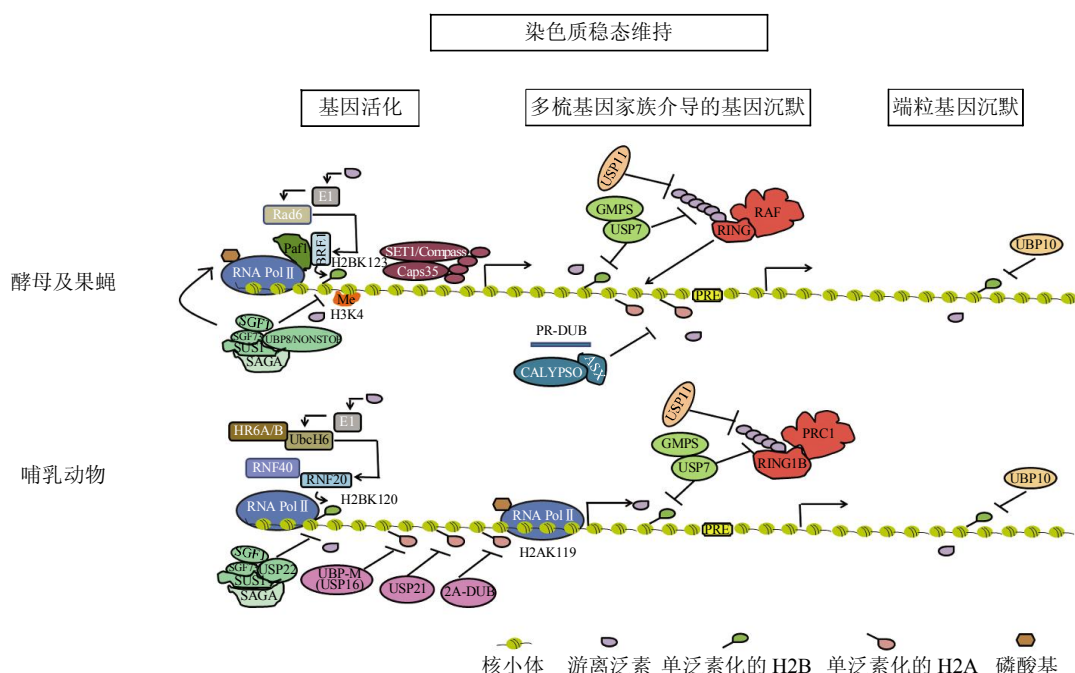


Fig. 3 Proposed roles and functions of DUB in chromatin regulation

图3 DUB与染色质稳态调控示意图

也受到泛素化调控, USP7 和 PML 核小体可以使之去泛素化, 从而稳定 PTEN 在细胞核中的定位<sup>[60]</sup>.

### 2.3.1 去泛素化酶与肿瘤调控.

去泛素化酶调控转录因子的重要意义充分体现在对肿瘤的影响中, 许多重要的转录因子参与了与癌症有关的信号通路, 例如 NF- $\kappa$ B、p53 以及 TGF- $\beta$  等, DUB 对它们的活性调控直接影响了通路的活化, 并引起肿瘤的进程变化和相应的类型转换.

一个典型的代表是 p53, p53 作为一类重要的转录因子, 参与细胞周期阻滞, 从而诱发凋亡, p53 对于下游基因转录水平的调控依赖其自身蛋白剂量效应, 目前已知的参与 p53 调控的经典泛素连接酶是 Mdm2, 而去泛素化酶中的 USP2、USP4、USP5、USP7、USP10 和 USP29 均被报道对 p53 进行调控. USP7 特异性结合并通过去泛素化稳定 p53, 从而诱发周期阻滞和细胞凋亡. 这种结合可以被 EBV 的 EBNA1 蛋白竞争性抑制, 从而维持细胞存活. 事实上 USP7 对于 p53 去泛素化调控并不是单一方式: 当缺失 USP7 后, p53 的蛋白水平并没有如预期中的下降, 反而上升, 因为 USP7 同时可以特异性结合和去泛素化 Mdm2 和 MdmX, 后者也参与 p53 通路的调节, P53、Mdm2、MdmX 竞争性结合 USP7 的 N 端结构域, 造成了

这些分子的交互作用. 此外, USP2 也可以通过 MDM2 的稳定效应造成 p53 的水平下降. USP7 对于 p53 的影响不仅仅局限于对 p53 蛋白水平的调控, USP7 可以竞争性结合 p53 所识别的调节性 DNA 序列, 后者介导了 DNA 和 p53 的相互作用. 并且 USP7 的这种结合不依赖于其酶活中心, 而是依赖于其 C 端结构域<sup>[61]</sup>. 换言之, USP7 可以通过结合 p53 靶基因的启动子区域, 启动 p53 下游报告基因的转录. USP7 还可以负调控 PML 核小体, 从而激活 p53, 同时 USP7 可以诱导 PML 的多聚泛素化, 从而使其发生降解<sup>[62]</sup>. 有报道称 USP7 和 PML 的结合有利于 EBNA1 诱导 PML 的降解<sup>[63]</sup>. 总之, p53 受到 USP7 的多层次多方位调节.

不同定位和不同状态的 p53 受到不同种类 DUB 的调节, 例如 USP7 对于 p53 的泛素化集中在细胞核, 而 USP10 可以对细胞质中的 p53 进行去泛素化<sup>[64]</sup>. 此外, USP10 可以同时稳定野生型和突变型的 p53, 从而在肿瘤发生过程中具有双重效应. 类似的, USP5 可以特异性地降解细胞核中的 p53, 并降低 p53 的转录活性<sup>[65]</sup>. 而 USP29 可以在氧化应激的条件下去泛素化和稳定 p53<sup>[66]</sup>, 最近有报道, USP4 通过稳定泛素连接酶 ARF-BP1 从而加快 p53 的降解, 并且 USP4 缺失的 MEF 呈现出生

长阻滞、细胞早熟、过度活化的 DNA 损伤检查点和对原癌基因转换的抗性<sup>[67]</sup>。

另一个典型的代表是 NF- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B 作为先天免疫和适应性免疫反应的重要调节子, 在肿瘤中通常表达水平组成性下调并处于持续激活状态。因此, 许多重要的 DUB 被视为肿瘤抑制因子<sup>[68]</sup>, 例如, A20 和 CYLD 通过调控 TRAF6 的泛素化水平, 从而下调 NF- $\kappa$ B 的通路水平<sup>[69]</sup>, 另外, CYLD 还可以去泛素化 TGF- $\beta$  相关激酶 1、Bcl-3、MAPK 等重要信号分子, 而 A20 则可通过提高其自身泛素连接酶活性, 增强 TRAF2 溶酶体途径的降解<sup>[70]</sup>。有意思的是 A20 既可以降解 RIPK 的 K48 位泛素链, 也可通过其 OTU 结构域移除 K63 位泛素链, 从而协同下调 NF- $\kappa$ B 的活化。类似的, USP21 和 Cezanne 也能抑制 NF- $\kappa$ B 的核转位, 并降低其转录活性<sup>[71-72]</sup>。此外, 还有一些 DUB 可以作用于 NF- $\kappa$ B 的核心组成元件, 例如 USP15 可以通过抑制 I $\kappa$ B $\alpha$  的蛋白酶体降解达到稳定 I $\kappa$ B $\alpha$  的目的<sup>[73]</sup>, USP11 则可在 TNF $\alpha$  信号刺激之前与 NF- $\kappa$ B 的抑制子 IKK 相互作用<sup>[74]</sup>。并且最近的研究表明, USP2 作为 TNF $\alpha$  激活信号的调节者, 对于 I $\kappa$ B $\alpha$  的磷酸化必不可少<sup>[75]</sup>。USP4 也可以通过去泛素化 TAK1 达到激活信号的目的<sup>[76]</sup>。值得一提的是 MCPIP1 可以通过去泛素化 TRAF2, 3, 6 达到负向调控 JNK 的激酶活性和 NF- $\kappa$ B 转录活性的目的。

正因为去泛素化酶调控了诸多重要的转录因子, 使得去泛素化酶蛋白水平变化与肿瘤密切相关, 例如 JOSD1、CSN5、UCHL1、USP9X 在非小细胞肺癌中显著高表达, 而 USP10、USP11、USP22、USP48 和 CSN5 则在恶性淋巴瘤细胞中高表达, USP1 与结直肠癌的初始形成相关, 而 USP2 在卵巢癌和前列腺癌中高表达, USP17 在食道癌和宫颈癌中高表达。其中 USP10、USP11、USP22 的水平还与肿瘤的恶性程度和侵袭能力密切相关<sup>[77]</sup>, 通常作为癌症诊断和预后的标志。有意思的是, USP2 可能同时发挥着促瘤和抑瘤的功能, 一方面, 在前列腺癌细胞中, USP2 可以稳定 FAS 等重要癌症标志基因<sup>[78]</sup>, 同时通过降低 p53 活性保护细胞免受凋亡, 从而耐药。然而 USP2 在乳腺癌中的低表达提示我们 USP2 发挥的促瘤或者抑瘤的功能可能与组织类型和时空调控的特异性有关。类似的例子有 USP4, USP4 因其对 NIH-3T3 细胞的转化能力而被视为重要的原癌基因。虽然在多种肿

瘤细胞中高表达, 但在小细胞肺癌中显著低表达。还有一些 DUB 在肿瘤中呈现专一的低表达, 例如在紫杉醇抗性的卵巢癌中 USP15 低表达, 在黑色素瘤中 CYLD 表达水平下调, 在多种淋巴瘤中 A20 表达下调。

### 2.3.2 干细胞与发育相关转录因子。

在生物的个体发育过程中涉及到基因的时空特异性表达, 转录因子在此过程能识别特异的增强子或终止子, 从而启动下游靶基因的表达, 而去泛素化酶通过对转录因子含量稳定性的调控决定了发育的进程和方向。例如在果蝇中, 去泛素化酶 UBP64 控制果蝇眼的发育, 拮抗泛素连接酶 SINA 对转录因子 TRAMTRACK 的泛素化降解, 后者调控前体细胞发育为眼部细胞而不是极性神经元细胞, 并且这种平衡调控具有细胞特异性, 只在有特定选择性前体的发育性眼细胞中发挥调控作用<sup>[79]</sup>。

在胚胎干细胞的发育分化过程中, 既有普适性的胚胎干细胞稳定性调控, 也有针对特殊类型干细胞的稳定性调控。在一项基于分化和未分化干细胞蛋白质组学的差异性研究中显示, 干细胞核心转录因子 nanog 和 OCT4 可能受到多种泛素连接酶和去泛素化酶的调控。有意思的是, DUB 对于胚胎干细胞分化的调控还有可能不依赖其去泛素连接酶特性, 而是作为转录抑制因子调控核心转录因子(例如 SOX2)的转录<sup>[80]</sup>, 已有报道表明, 去泛素化酶 A20 和 USP37 在肿瘤干细胞的调节中发挥着重要的调节作用, 在胶质瘤干细胞中, A20 的蛋白水平过度表达, 转录水平过度活化, 研究人员针对 A20 设计的靶向治疗方案显著地降低肿瘤干细胞的自我更新能力和神经球形成能力<sup>[81]</sup>。在由 PLZF/RARA 基因座位转位引起的 APL(急性早幼粒性白血病)中, USP37 可以显著稳定 PLZF/RARA 的蛋白质水平, 因此可以作为抗肿瘤的靶标<sup>[82]</sup>。

## 3 去泛素化酶与细胞周期调控

广义的染色质稳态调控还包括细胞周期进程转换, 在细胞有丝分裂过程中, 染色体的形态结构随周期进程而不断变化。DUB 之所以在细胞周期调控中具有重要功能, 一方面是因为许多 DUB 自身就是细胞周期调控机器和细胞周期检查点的重要成员, 例如 CYLD、USP13、USP37、USP39 和 USP44 等。另一方面随着细胞周期进程变化, DUB 自身也会发生相应的转换, 并受到其他蛋白

质的调节, 引起不同的细胞学效应。

DUB 对细胞周期的调控有许多经典的例子。CYLD 进入细胞周期的时间受到 polo- 类似物激酶 1 的精细调控<sup>[83]</sup>, USP13 可被泛素识别蛋白 Ufd1 招募, 并发挥与 APC/C-Cdh1 复合体的拮抗作用, 去除后者对 Skp2 的泛素化, 使得 CDK 抑制子 p27 的蛋白质水平被稳定, 从而造成周期延迟<sup>[84]</sup>。另一个发挥类似拮抗作用的 DUB 是 USP37, USP37 被 CDK2 活化后, 去泛素化 CyclinA 并促进细胞进入 S 期<sup>[85]</sup>。USP39 控制了激酶 AuroraB 的蛋白质水平, 对于维持分裂期纺锤体检查点的完整性具有不可替代的作用<sup>[86]</sup>, 而 USP44 通过稳定 APC/C 的抑制因子 Mad2-Cdc20 复合物的蛋白质水平, 有效地抑制了 APC/C 的过早活化<sup>[87]</sup>, 从而防止染色体尚未完全锚定于纺锤体而进入分裂前期。基于 USP44 的基因敲除小鼠实验表明, USP44 还能够有效地防止染色体的错误分离和异倍体现象的产生, 后者与小鼠的自发成瘤率高和临床预后率低密切相关<sup>[88]</sup>。USP50 参与到 G2/M 期的限制点调控中, 作为 Wee1 的调节者, 在 HSP90 的协助下, 一定程度上阻止其进入分裂时象<sup>[89]</sup>。更进一步的研究发现, USP17L2 可以去泛素化 Cdc25, 其蛋白质水平的稳定将导致细胞癌变<sup>[90]</sup>。更有意思的是 USP2 直接与 CyclinD1 相互作用, 促进其稳定性<sup>[91]</sup>。USP19 能以泛素连接酶 KPC1 依赖和不依赖的方式调节细胞增殖, 敲低 USP19 后, G1 至 S 期时象转换延迟, 并且 CDKI p27kip1 蛋白含量得以稳定<sup>[92]</sup>。从前面所述的 USP7 通过影响 PTEN 和 FOXO 也可以调节周期相关靶基因进而影响增殖。CSN5 是哺乳动物细胞周期的重要调节者, 通过控制细胞周期进程和延缓细胞衰老而控制体细胞周期进程<sup>[93]</sup>。最后, 值得一提的是 BAP1 与转录因子 YY1 以及 HCF1(宿主细胞因子 1)构成复合体, 通过调节 E2F 反应元件启动子的含量, 进而影响 G1/S 期进程转换<sup>[94-95]</sup>。

DUB 有一些成员的生物学活性在细胞周期中被调节。例如, 具有不同细胞学定位的 USP16 和 USP22。前者在细胞间期定位于细胞质, 在分裂时则与染色体相互耦联, 而 USP22 则在细胞间期定位于细胞核, 在分裂时并不与染色质耦联<sup>[96]</sup>。USP16 在分裂期起始被磷酸化, 随后在中后期被去磷酸化, 而发生活性转换, USP22 和 USP7 都能发生翻译后修饰, USP22 可以被乙酰化<sup>[97]</sup>, USP7 可

以发生磷酸化<sup>[98]</sup>, 并且 USP7 的磷酸化位点和介导蛋白质相互作用的结构域接近, 从而提示了该 DUB 的酶活和细胞学定位发生转变的分子机制。

另一方面, 不同的 DUB 具有的组织表达谱差异与 DUB 发挥的功能差异性密切相关。USP22 在人体各种组织中广泛表达, 而在小鼠中, USP22 的表达集中于大脑, 在肝脏中几乎检测不到其表达, USP3 却恰恰相反, 在大脑中表达含量低而在肝中表达含量高。这些差异也进一步提示我们染色质组成成分, 包括组蛋白 H2A、H2B 在内的底物在不同的组织和分裂时象受到不同的 DUB 调节, 并且这些 DUB 的不同亚细胞定位决定了其组装的功能复合体差异和催化活性差异。

#### 4 去泛素化酶与 DNA 损伤应答

在基因表达的过程中, 维持基因组的稳定性和基因结构的完整性是一项十分重要的议题。在生理情况下, 体细胞受到包括物理化学因素和生物因素在内的各种外界刺激并可能造成不同程度的 DNA 损伤, 即使不受到外界刺激, 也有一定概率的自发突变。如果缺乏合适的修复因子就会引起基因表达异常和细胞癌变, DUB 在这一过程中发挥重要的保护作用。例如 USP1 可以去泛素化 FANCD2 蛋白(与 Fanconi 贫血症相关)进而稳定 CHK1, 后者在 DNA 损伤过程中发挥重要作用<sup>[99]</sup>, 更为重要的是, USP1 还可以调节 PCNA(增殖细胞核抗原)的泛素化, PCNA 是防止 DNA 错配合成的重要调节者, 并在基因毒性损伤压力下发生泛素化<sup>[100]</sup>。前面所述, USP1 可以和 U2 小核糖核蛋白颗粒辅助因子 1(UAF1)形成复合体, 并促进同源重组形式的 DNA 双链断裂损伤修复<sup>[101]</sup>。还有 BRCC36、USP3、USP16、OTUB1 能在不同阶段参与到 RNF8/168 通路中, 从而发挥重要的双链断裂修复功能<sup>[102]</sup>。其中, BRCC36 不仅可以去除 K63 位多聚泛素化的 H2A, 还可以去除 K63 位多聚泛素化的非组蛋白型底物。在丝裂霉素 C 诱导的 DNA 损伤下, USP11 参与到 BRCA2 途径中发挥修复作用, USP28 则参与到 CHK2-p53-PUMA 通路中。最近的研究还表明, USP47 能够去泛素化参与碱基切除修复的 DNA 聚合酶 Pol $\beta$ , 从而奠定了其在 DNA 损伤修复调节和基因组稳定性维持中的重要作用<sup>[103]</sup>(图 4)。



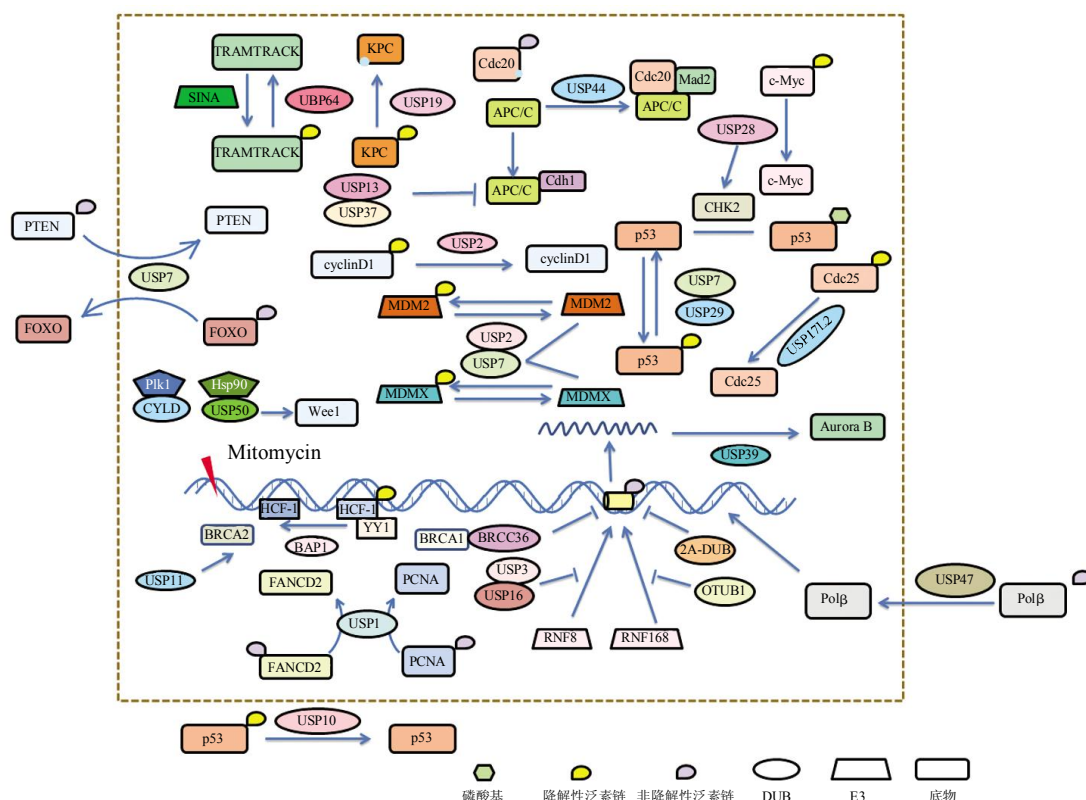


Fig. 4 The multiple functions of DUB in the maintenance of genome

图 4 DUB 在基因功能维持中发挥的作用

如图所示: DUB 参与了转录因子的活化与转位、细胞周期调控以及 DNA 损伤应激。

## 5 结语与展望

基因表达涉及到多层次多角度的调控, 去泛素化酶作为一类重要的蛋白质水解酶类, 在基因表达的调控中发挥了举足轻重的作用。一方面, 去泛素化酶介导的转录因子稳定性调控毋庸置疑在基因表达调控中发挥核心作用。另一方面, 组蛋白泛素化水平动态变化和多梳基因家族介导的基因沉默研究加深了我们对染色质 3D 结构动态变化的理解, 并涉及到基因表达活化和失活的多种机制。此外, 宏观的基因表达调控涉及到的细胞周期调控和 DNA 损伤修复, 二者通常与多种肿瘤和癌症的发生发展有关, 它们在更广阔的层面充分体现了 DUB 对于基因表达调控的重要性。

DUB 中的不同亚家族成员, 尽管享有共同的保守型核心催化结构域, 但由于其精细结构的不同而参与了基因表达调控的不同层面, 并呈现出结构和功能的高度多样性。一方面 DUB 在基因表达调控中靶向的生理底物种类繁多, 许多重要的转录因

子、细胞周期调节因子和损伤修复因子的 DUB 有待发现和研究。例如最近热门的干细胞转录因子的稳定性研究有助于我们理解胚胎发育、细胞分化的基本过程, 并为转化医学、组织工程提供助益。而且 DUB 可以改变这些蛋白质的亚细胞定位, 对于涉及到细胞生命活动的信号通路(如 MAPK、NF- $\kappa$ B、PI3K-Akt、Wnt、TGF- $\beta$  途径)的研究具有指导意义。另一方面, 调节 DUB 表达活性和时空特异性的相互作用蛋白也越来越引起科学家们的关注, 这往往比发现 DUB 的底物本身更有价值。例如 USP37 本身可以调控细胞周期, 整个细胞周期进程中自身的动态变化也受到 UPS 系统调节, USP37 在 G1 晚期开始表达, 在 G1 期早期被 APC/C 泛素化, 在 G2/M 转换期被 SCF<sup>F-box</sup> 泛素化调节<sup>[100]</sup>。有些 DUB 如 USP7 能定位到不同基因座位, 并识别特定的 DNA 序列, 提示我们 DUB 的特异性不仅体现在蛋白质稳定性调控的层次。此外, 与 DUB 有关的相互作用网络值得深入和系统的研究。目前已有数篇组学的文献报道了去泛素化

酶相互作用网络图谱<sup>[105]</sup>, 并提出了调节去泛素化酶活性的新策略, 为设计基于去泛素化酶靶点的抑制剂药物提供了新思路<sup>[106]</sup>. 今后相关领域的研究有以下几个方面值得关注: a. 新的 DUB 的鉴定. 建立去泛素化酶特征的金标准, 利用组学的手段筛查去泛素化酶并进行合理的 GO 分类, 尤其是在基因表达调控领域的 DUB. b. USP7 这类“全才型”的 DUB 的存在, 提示我们在基因表达调控水平上, “一专多职”的现象值得发现与归纳. c. 从 USP 家族和 OTU 家族诸多成员能同时识别 K48 位和 K63 位泛素链的特性, 提示我们许多重要蛋白质既在蛋白质稳定上受到 DUB 调控又在细胞学活性上受到其调控, 如前所述, 肿瘤抑制因子 PTEN 可被 USP7 去除单泛素化修饰从而改变细胞学定位, 而 PTEN 作为抑癌蛋白, 去除其 K48 位蛋白质稳定性的 DUB 尚未报道, 后者可能由于剂量效应而具有更重要的生理意义. d. 生理功能的系统性发现. 对于去泛素化酶的重要调控因子和去泛素化酶的相互作用网络调控的进一步挖掘, 并利用比较基因组学的思想, 对于肿瘤、常见疾病的通路进行分析, 以发掘出新的药物治疗靶点.

### 参 考 文 献

- [1] Michael J C, Sylvie U. Ubiquitin: same molecule, different degradation pathways. *Cell*, 2010, **143**(5): 682–685
- [2] Ye Y H, Rape M. Building ubiquitin chains: E2 enzymes at work. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, **10**(11): 755–764
- [3] Neutznier M, Neutznier A. Enzymes of ubiquitination and deubiquitination. *Essays Biochem*, 2012, **52**(1): 37–50
- [4] Ikeda F, Dikic I. Atypical ubiquitin chains: new molecular signals. "Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects" review series. *EMBO Rep*, 2008, **9**(6): 536–542
- [5] Wu C J, Conze D B, Li T, *et al.* Sensing of Lys 63-linked polyubiquitination by NEMO is a key event in NF- $\kappa$ B activation. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(4): 398–406
- [6] Mukhopadhyay D, Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, 2007, **315** (5809): 201–205
- [7] Wang G, Gao Y, Lin H K, *et al.* K63-linked ubiquitination in kinase activation and cancer. *Front Oncol*, 2012, **2**(9): 1310–1312
- [8] Chastagner P, Israel A, Brou C, *et al.* Itch/AIP4 mediates Deltex degradation through the formation of K29-linked poly-ubiquitin chains. *EMBO Rep*, 2006, **7**(11): 1147–1153
- [9] Al-Hakim A K, Zagorska A, Alessi D R, *et al.* Control of AMPK-related kinases by USP9X and atypical Lys (29)/Lys (33)-linked polyubiquitin chains. *Biochem J*, 2008, **411**(2): 249–260
- [10] Fraile J M, Quesada V, Lopez O C, *et al.* Deubiquitinases in cancer: new functions and therapeutic options. *Oncogene*, 2012, **31** (19): 2373–2388
- [11] Reyes-Turcu F E, Ventii K H, Wilkinson K D, *et al.* Regulation and cellular roles of ubiquitin specific deubiquitinating enzymes. *Annu Rev Biochem*, 2009, **78**: 363–397
- [12] Nijman S M, Luna-Vargas M P, Velds A, *et al.* A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes. *Cell*, 2005, **123**(5): 773–786
- [13] Yi P, Xia W, Wu R C, *et al.* SRC-3 coactivator regulates cell resistance to cytotoxic stress via TRAF4 mediated p53 destabilization. *Genes Dev*, 2013, **27**(3): 274–287
- [14] Parsons J L, Dianova I, Khoronenkova S V, *et al.* USP47 is a deubiquitylating enzyme that regulates base excision repair by controlling steady-state levels of DNA polymerase beta. *Mol Cell*, 2011, **41**(5): 609–615
- [15] Oh K H, Yang S W, Park J M, *et al.* Control of AIF-mediated cell death by antagonistic functions of CHIP ubiquitin E3 ligase and USP2 deubiquitinating enzyme. *Cell Death Differ*, 2011, **18** (8): 1326–1336
- [16] Zhong B, Liu X, Wang X, *et al.* Negative regulation of IL-17-mediated signaling and inflammation by the ubiquitin-specific protease USP25. *Nat Immunol*, 2012, **13**(11): 1110–1117
- [17] Neesar A, Minghui Z, Indrajit S, *et al.* The E3 ligase Itch and deubiquitinase Cyld co-operatively regulate Tak1 and inflammation. *Nat Immunol*, 2012, **12**(12): 1176–1183
- [18] Hu H, Brittain G C, Chang J H, *et al.* OTUD7B controls non-canonical NF- $\kappa$ B activation through deubiquitination of TRAF3. *Nature*, 2013, **494**(7437): 371–374
- [19] Buckley S M, Aranda-Orgilles B, Strikoudis A, *et al.* Regulation of pluripotency and cellular reprogramming by the ubiquitin-proteasome system. *Cell Stem Cell*, 2012, **11**(6): 783–789
- [20] Gilad F, Efrat S, Rita V, *et al.* RNF20 and USP44 regulate stem cell differentiation by modulating H2B monoubiquitylation. *Mol Cell*, 2012, **46**(5): 662–673
- [21] Hu M, Li P, Song L, *et al.* Structure and mechanisms of the proteasome-associated deubiquitinating enzyme USP14. *EMBO J*, 2005, **24**(21): 3747–3756
- [22] Avvakumov G V, Walker J R, Xue S, *et al.* Amino-terminal dimerization, NRDPI-rhodanese interaction, and inhibited catalytic domain conformation of the ubiquitin-specific protease 8 (USP8). *J Biol Chem*, 2006, **281**(49): 38061–38070
- [23] Komander D, Lord C J, Scheel H, *et al.* The structure of the CYLD USP domain explains its specificity for Lys63-linked polyubiquitin and reveals a B box module. *Mol Cell*, 2008, **29**(4): 451–464
- [24] Edelmann M J, Iphofer A, Akutsu M, *et al.* Structural basis and specificity of human otubain 1-mediated deubiquitination. *Biochem J*, 2009, **418**(2): 379–390
- [25] Komander D, Reyes-Turcu F, Licchesi J D, *et al.* Molecular discrimination of structurally equivalent Lys63-linked and linear polyubiquitin chains. *EMBO Rep*, 2009, **10**(5): 466–473
- [26] Nicastro G, Masino L, Esposito V, *et al.* The josephin domain of ataxin-3 contains two distinct ubiquitin binding sites. *Biopolymers*, 2009, **91**(12): 1203–1214

- [27] Sato Y, Yoshikawa A, Yamagata A, *et al.* Structural basis for specific cleavage of Lys 63-linked polyubiquitin chains. *Nature*, 2008, **455**(7211): 358–362
- [28] Liang J, Saad Y, Lei T, *et al.* MCP-induced protein 1 deubiquitinates TRAF proteins and negatively regulates JNK and NF-kappaB signaling. *J Exp Med*, 2010, **207**(13): 2959–2973
- [29] Bremm A, Freund S M, Komander D. Lys11-linked ubiquitin-chains adopt compact conformations and are preferentially hydrolyzed by the deubiquitinase Cezanne. *Nat Struct Mol Bio*, 2010, **17**(8): 939–947
- [30] Burrows J F, McGrattan M J, Johnston J A, *et al.* DUB-3, a cytokine-inducible deubiquitinating enzyme that blocks proliferation. *J Biol Chem*, 2004, **279**(14): 13993–14000
- [31] Baek K H, Kim M S, Choi H K, *et al.* DUB-1A, a novel deubiquitinating enzyme subfamily member, is polyubiquitinated and cytokine-inducible in B-lymphocytes. *J Biol Chem*, 2004, **279**(4): 2368–2376
- [32] Lopez-Otin C, Hunter T. The regulatory crosstalk between kinases and proteases in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2010, **10**(4): 278–292
- [33] Huang X, Summers M K, Lee G, *et al.* Deubiquitinase USP37 is activated by CDK2 to antagonize APC (CDH1) and promote S phase entry. *Mol Cell*, 2011, **42**(4): 511–523
- [34] Todi S V, Winborn B J, Paulson H L, *et al.* Ubiquitination directly enhances activity of the deubiquitinating enzyme ataxin-3. *EMBO J*, 2009, **28**(4): 372–382
- [35] Meray R K, Lansbury P T Jr. Reversible mono-ubiquitination regulates the Parkinson disease-associated ubiquitin hydrolase UCH-L1. *J Biol Chem*, 2007, **282**(14): 10567–10575
- [36] Meulmeester E, Kunze M, Melchior F, *et al.* Mechanism and consequences for paralog-specific sumoylation of ubiquitin-specific protease 25. *Mol Cell*, 2008, **30**(5): 610–619
- [37] Kim M S, Kim Y K, Baek K H, *et al.* Deubiquitinating enzyme USP36 contains the PEST motif and is polyubiquitinated. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **330**(3): 797–804
- [38] Lee H J, Kim M S, Baek K H, *et al.* HAUSP, a deubiquitinating enzyme for p53, is polyubiquitinated, polyubiquitinated, and dimerized. *FEBS Lett*, 2005, **579**(21): 4867–4872
- [39] Nakamura N, Hirose S. Regulation of mitochondrial morphology by USP30, a deubiquitinating enzyme present in the mitochondrial outer membrane. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(5): 1903–1911
- [40] Endo A, Matsumoto M, Kitamura N, *et al.* Nucleolar structure and function are regulated by the deubiquitylating enzyme USP36. *J Cell Sci*, 2009, **122**(Pt5): 678–686
- [41] Luna-Vargas M P, Faesen A C, Sixma T K, *et al.* Ubiquitin-specific protease 4 is inhibited by its ubiquitin-like domain. *EMBO Rep*, 2011, **12**(4): 365–372
- [42] Adler A S, Littlepage L E, Lin M, *et al.* CSN5 isopeptidase activity links COP9 signalosome activation to breast cancer progression. *Cancer Res*, 2008, **68**(2): 506–515
- [43] Espinoza J M. Histone H2B ubiquitination: the cancer connection. *Genes Dev*, 2008, **22**(20): 2743–2749
- [44] Lee J S, Smith E, Shilatifard A. The language of histone crosstalk. *Cell*, 2010, **142**(5): 682–685
- [45] Weake V M, Workman J L. Histone ubiquitination: triggering gene activation. *Mol Cell*, 2008, **29**(4): 653–663
- [46] Lee K K, Flores L, Workman J L, *et al.* The deubiquitylation activity of Ubp8 is dependent upon SGF11 and is associated with the SAGA complex. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(3): 1173–1182
- [47] Kohler A, Zimmerman E, Schneider M, *et al.* Structural basis for assembly and activation of the heterotetrameric SAGA histone H2B deubiquitinase module. *Cell*, 2010, **141**(4): 606–617
- [48] Samara N L, Datta A B, Berndsen C E, *et al.* Structural insights into the assembly and function of the SAGA deubiquitinating module. *Science*, 2010, **328**(9581): 1025–1029
- [49] Van der Knaap J A, Kumar B R, Moshkin Y M, *et al.* GMP synthetase stimulates histone H2B deubiquitylation by the epigenetic silencer USP7. *Mol Cell*, 2005, **17**(5): 695–707
- [50] Sarkari F, Sanchez A T, Wang S, *et al.* EBNA1-mediated recruitment of a histone H2B deubiquitylating complex to the Epstein-Barr virus latent origin of DNA replication. *PLoS Pathog*, 2009, **5**(10): e1000624
- [51] Moshkin Y M, Verrijzer C P. Biosynthetic enzyme GMP synthetase cooperates with ubiquitin specific protease 7 in transcriptional regulation of ecdysteroid target genes. *Mol Cell Biol*, 2010, **30**(3): 736–744
- [52] Simon J A, Kingston R E. Mechanisms of polycomb gene silencing: knowns and unknowns. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, **10**(10): 697–708
- [53] Eskeland R, Leeb M, Grimes G R, *et al.* Ring1B compacts chromatin structure and represses gene expression independent of histone ubiquitination. *Mol Cell*, 2010, **38**(3): 452–464
- [54] Maertens G N, El Messaoudi-Aubert S, Elderkin S, *et al.* Ubiquitin-specific proteases 7 and 11 modulate Polycomb regulation of the INK4a tumour suppressor. *EMBO J*, 2010, **29**(15): 2553–2565
- [55] de Bie P, Zaaroor-Regev D, Ciechanover A. Regulation of the Polycomb protein RING1B ubiquitination by USP7. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **400**(3): 389–395
- [56] Scheuermann J C, de Ayala Alonso A G, Oktaba K, *et al.* Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature*, 2010, **465**(7295): 243–247
- [57] Arrigoni R, Alam S L, Wamstad J A, *et al.* The Polycomb-associated protein Rybp is a ubiquitin binding protein. *FEBS Lett*, 2006, **580**(26): 6233–6241
- [58] van der Horst A, de Vries-Smits A M, Brenkman A B, *et al.* FOXO4 transcriptional activity is regulated by mono-ubiquitination and USP7/HAUSP. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(10): 1064–1073
- [59] Popov N, Wanzel M, Madiredjo M, *et al.* The ubiquitin-specific protease USP28 is required for MYC stability. *Nat Cell Biol*, 2007, **9**(7): 765–774
- [60] Song M S, Salmena L, Carracedo A, *et al.* The deubiquitylation and localization of PTEN are regulated by a HAUSP-PML network. *Nature*, 2008, **455**(7214): 813–817
- [61] Sarkari F, Sheng Y, Frappier L. USP7/HAUSP promotes the sequence-specific DNA binding activity of p53. *PLoS ONE*, 2010,

- 5(9): e13040
- [62] Sarkari F, Wang X, Frappier L, *et al.* The herpes virus associated ubiquitin specific protease, USP7, is a negative regulator of PML proteins and PML nuclear bodies. *PLoS One*, 2011, **6**(1): e16598
- [63] Sivachandran N, Sarkari F, Frappier L. Epstein-Barr nuclear antigen 1 contributes to nasopharyngeal carcinoma through the disruption of PML nuclear bodies. *PLoS Pathog*, 2008, **4**(10): e1000170
- [64] Yuan J, Luo K, Zhang L, *et al.* USP10 regulates p53 localization and stability by deubiquitinating p53. *Cell*, 2010, **140**(3): 384–396
- [65] Dayal S, Sparks A, Jacob J, *et al.* Suppression of the deubiquitinating enzyme USP5 causes the accumulation of unanchored polyubiquitin and the activation of p53. *J Biol Chem*, 2009, **284**(8): 5030–5041
- [66] Liu J, Chung H J, Vogt M, *et al.* JTV1 co-activates FBP to induce USP29 transcription and stabilize p53 in response to oxidative stress. *EMBO J*, 2011, **30**(5): 846–858
- [67] Zhang X, Berger F G, Yang J, *et al.* USP4 inhibits p53 through deubiquitinating and stabilizing ARF-BP1. *EMBO J*, 2011, **30**(11): 2177–2189
- [68] Prasad S, Ravindran J, Aggarwal B B. NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. *Mol Cell Biochem*, 2010, **336**(1–2): 25–37
- [69] Harhaj E W, Dixit V M. Regulation of NF-kappaB by deubiquitinases. *Immunol Rev*, 2012, **246**(1): 107–124
- [70] Li L, Soetandyo N, Wang Q, *et al.* The zinc finger protein A20 targets TRAF2 to the lysosomes for degradation. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1793**(2): 346–353
- [71] Xu G, Tan X, Wang H, *et al.* Ubiquitin-specific peptidase 21 inhibits tumor necrosis factor alpha-induced nuclear factor kappaB activation *via* binding to and deubiquitinating receptor-interacting protein 1. *J Biol Chem*, 2010, **285**(2): 969–978
- [72] McNally R S, Davis B K, Clements C M, *et al.* DJ-1 enhances cell survival through the binding of Cezanne, a negative regulator of NF-kappaB. *J Biol Chem*, 2011, **286**(6): 4098–4106
- [73] Schweitzer K, Bozko P M, Dubiel W, *et al.* CSN controls NF-kappaB by deubiquitinylation of IkappaB alpha. *EMBO J*, 2007, **26**(6): 1532–1541
- [74] Yamaguchi T, Kimura J, Miki Y, *et al.* The deubiquitinating enzyme USP11 controls an IkappaB kinase alpha (IKKalpha)-p53 signaling pathway in response to tumor necrosis factor alpha (TNFalpha). *J Biol Chem*, 2007, **282**(47): 33943–33948
- [75] Metzger M, Nickles D, Falschlehner C, *et al.* An RNAi screen identifies USP2 as a factor required for TNF-alpha-induced NF-kappaB signaling. *Int J Cancer*, 2011, **129**(3): 607–618
- [76] Fan Y H, Yu Y, Mao R F, *et al.* USP4 targets TAK1 to downregulate TNFalpha-induced NF-kappaB activation. *Cell Death Differ*, 2011, **18**(10): 1547–1560
- [77] Luise C, Capra M, Donzelli M, *et al.* An atlas of altered expression of deubiquitinating enzymes in human cancer. *PLoS One*, 2011, **6**(1): e15891
- [78] Graner E, Tang D, Rossi S, *et al.* The isopeptidase USP2a regulates the stability of fatty acid synthase in prostate cancer. *Cancer Cell*, 2004, **5**(3): 253–261
- [79] Bajpe P K, van der Knaap J A, Demmers J A, *et al.* Deubiquitylating enzyme UBP4 controls cell fate through stabilization of the transcriptional repressor tramtrack. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(5): 1606–1615
- [80] Robyn T S, Timothy J S, Paul E, *et al.* The epigenetic modifier Ubiquitin Specific Protease 22 (Usp22) regulates embryonic stem cell differentiation *via* transcriptional repression of Sex determining region Y-box 2 (Sox2). *J Biol Chem*, 2013, **288**(33): 24236–24246
- [81] Hjelmeland A B, Wu Q, Wickman S, *et al.* Targeting A20 decreases glioma stem cell survival and tumor growth *in vivo*. *Plos One*, 2010, **5**(2): e1000319
- [82] Yang W C, Shih H M. The deubiquitinating enzyme USP37 regulates the oncogenic fusion protein PLZF/RARA stability. *Oncogene*, 2012, **32**(43): 5167–5175
- [83] Stegmeier F, Sowa M E, Nalepa G, *et al.* The tumor suppressor CYLD regulates entry into mitosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(21): 8869–8874
- [84] Chen M, Gutierrez G J, Ronai Z A. Ubiquitin-recognition protein Ufd1 couples the endoplasmic reticulum (ER) stress response to cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(22): 9119–9124
- [85] Huang X, Summers M K, Pham V, *et al.* Deubiquitinase USP37 is activated by CDK2 to antagonize APC (CDH1) and promote S phase entry. *Mol Cell*, 2011, **42**(4): 511–523
- [86] van Leuken R J, Luna-Vargas M P, Sixma T K, *et al.* Usp39 is essential for mitotic spindle checkpoint integrity and controls mRNA-levels of aurora B. *Cell Cycle*, 2008, **7**(17): 2710–2719
- [87] Stegmeier F, Rape M, Draviam V M, *et al.* Anaphase initiation is regulated by antagonistic ubiquitination and deubiquitination activities. *Nature*, 2007, **446**(7138): 876–881
- [88] Zhang Y, Foreman O, Wigle D A, *et al.* USP44 regulates centrosome positioning to prevent aneuploidy and suppress tumorigenesis. *J Clin Invest*, 2012, **122**(12): 4362–4374
- [89] Aressy B, Jullien D, Cazales M, *et al.* A screen for deubiquitinating enzymes involved in the G/M checkpoint identifies USP50 as a regulator of HSP90-dependent Wee1 stability. *Cell Cycle*, 2010, **9**(18): 3815–3822
- [90] Pereg Y, Liu B Y, O' Rourke K M, *et al.* Ubiquitin hydrolase Dub3 promotes oncogenic transformation by stabilizing Cdc25A. *Nat Cell Biol*, 2010, **12**(4): 400–406
- [91] Shan J, Zhao W, Gu W, *et al.* Suppression of cancer cell growth by promoting cyclin D1 degradation. *Mol Cell*, 2009, **36**(3): 469–476
- [92] Lu Y, Bedard N, Chevalier S, *et al.* Identification of distinctive patterns of USP19-mediated growth regulation in normal and malignant cells. *PLoS One*, 2011, **6**(1): e15936
- [93] Yoshida A, Yoneda-Kato N, Panattoni M, *et al.* CSN5/Jab1 controls multiple events in the mammalian cell cycle. *FEBS Lett*, 2010, **584**(22): 4545–4552
- [94] Yu H, Mashtalir N, Daou S, *et al.* The ubiquitin carboxyl hydrolase BAP1 forms a ternary complex with YY1 and HCF-1 and is a critical regulator of gene expression. *Mol Cell Biol*, 2010, **30**(21): 5071–5085

- [95] Eletr Z M, Wilkinson K D. An emerging model for BAP1's role in regulating cell cycle progression. *Cell Biochem Biophys*, 2011, **60**(1-2): 3-11
- [96] Lee H J, Kim M S, Shin J M, *et al.* The expression patterns of deubiquitinating enzymes, USP22 and Usp22. *Gene Expr Patterns*, 2006, **6**(3): 277-284
- [97] Orpinell M, Fournier M, Riss A, *et al.* The ATAC acetyl transferase complex controls mitotic progression by targeting non-histone substrates. *EMBO J*, 2010, **29**(14): 2381-2394
- [98] Fernandez-Montalvan A, Bouwmeester T, Joberty G, *et al.* Biochemical characterization of USP7 reveals post-translational modification sites and structural requirements for substrate processing and subcellular localization. *FEBS J*, 2007, **274**(16): 4256-4270
- [99] Guervilly J H, Renaud E, Takata M, *et al.* USP1 deubiquitinase maintains phosphorylated CHK1 by limiting its DDB1-dependent degradation. *Hum Mol Genet*, 2011, **20**(11): 2171-2181
- [100] Huang T T, Nijman S M, Mirchandani K D, *et al.* Regulation of mono-ubiquitinated PCNA by DUB auto-cleavage. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(4): 339-347
- [101] Murai J, Yang K, Dejsuphong D, *et al.* The USP1/UAF1 complex promotes double-strand break repair through homologous recombination. *Mol Cell Biol*, 2011, **31**(12): 2462-2469
- [102] Al-Hakim A, Escibano-Diaz C, Landry M C, *et al.* The ubiquitous role of ubiquitin in the DNA damage response. *DNA Repair*, 2011, (Amst) **9**(12): 1229-1240
- [103] Parsons J L, Dianova I I, Khoronenkova S V, *et al.* USP47 is a deubiquitylating enzyme that regulates base excision repair by controlling steady-state levels of DNA polymerase beta. *Mol Cell*, 2011, **41**(5): 609-615
- [104] Burrows A C, Prokop J, Summers M K, *et al.* Skp1-Cul1-F-box ubiquitin ligase (SCF (betaTrCP)) -mediated destruction of the ubiquitin-specific protease USP37 during G2-phase promotes mitotic entry. *J Biol Chem*, 2012, **287**(46): 39021-39029
- [105] Sowa M E, Bennett E J, Gygi S P, *et al.* Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape. *Cell*, 2009, **138**(2): 389-403
- [106] Ernst A, Avvakumov G, Tong J, *et al.* A strategy for modulation of enzymes in the ubiquitin system. *Science*, 2013, **339**(2): 590-595

## The Pivotal Roles of DUBs in Gene Expression Control\*

CHEN Yu-Han, ZHANG Ling-Qiang\*\*, HE Fu-Chu

(State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

**Abstract** Ubiquitination is one of the pervasively studied ways of post-transcriptional modifications (PTMs), which orchestrates a plethora of physiological events, including cell mitosis, cell differentiation, cell growth, transcriptional controls, DNA damage repair and immune responses. Recently, a constitutive member of "The Ubiquitin Kingdom" called DUB (deubiquitylating enzymes) has come into the center of the stage. As an iso-peptidase, DUBs govern distinct structures and various functions. Meanwhile, the topic of gene expression control has always been the cutting edge of life sciences. It is of great importance to summarize the relationships between DUBs and gene expression regulations. In this review, we summarize the roles that DUBs play in three fields: First, chromatin regulation. Second, cell cycle control. Third, DNA damage response. Finally, we discussed and predicted the potential perspectives.

**Key words** DUB, gene expression control, chromatin regulation, cell cycle control, DNA damage response

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2013.00124

\* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31125010).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-10-66931216, E-mail: zhanglq550@163.com

Received: June 19, 2013 Accepted: July 30, 2013