



# 病原菌调节宿主细胞泛素化途径的研究进展\*

谭加兴<sup>1)</sup> 罗书慧<sup>2)</sup> 周艳<sup>2)\*\*</sup> 朱永群<sup>1)\*\*</sup><sup>(1)</sup> 浙江大学生命科学研究院, 杭州 310058; <sup>(2)</sup> 浙江大学生命科学学院微生物研究所, 杭州 310058)

**摘要** 泛素化是真核生物特有的蛋白质翻译后修饰, 广泛地参与宿主细胞各种信号通路和生理过程. 病原菌常通过分泌毒性效应蛋白, 对泛素和泛素结合酶进行独特的共价修饰, 或者利用泛素连接酶和去泛素化酶的酶学活性, 调节宿主泛素化过程, 从而干扰宿主细胞的信号转导, 促进细菌的感染和生存. 本文概述了病原菌效应蛋白调节宿主泛素化途径的主要研究进展和最新发现.

**关键词** 病原菌, 效应蛋白, 泛素化, 蛋白质翻译后修饰, 宿主细胞

**中图分类号** Q5, Q7, Q93

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2019.0252

泛素是真核生物特有的一个由 76 个氨基酸残基组成的小蛋白质, 从酵母到人类高度保守<sup>[1-2]</sup>. 泛素化是真核生物细胞内普遍并且极为关键的蛋白质翻译后修饰, 几乎参与了真核细胞所有的信号通路, 在真核生物的生理过程发挥着重要作用. 泛素化是由泛素激活酶 E1、泛素结合酶 E2 以及泛素连接酶 E3 组成的三级酶联反应催化完成的. 首先, 泛素由 ATP 供能在泛素激活酶 E1 的催化下被激活, 通过硫酯键共价连接到 E1 的活性半胱氨酸残基上. 随后, E1 招募泛素结合酶 E2, 在 E2 的催化下, 泛素被转移到 E2 的半胱氨酸活性残基上. 最后, 在不同类型的泛素连接酶 E3 催化下, 泛素被连接到底物蛋白上<sup>[1]</sup>. 泛素可以进一步通过其 C 末端甘氨酸 (Gly76) 连接到上一个泛素分子的赖氨酸或者甲硫氨酸残基上, 形成 8 种不同连接形式的多聚泛素链, 包括由泛素上的 Lys6、Lys11、Lys27、Lys29、Lys33、Lys48 和 Lys63, 通过异肽键连接的泛素链以及由 Met1 通过肽键首尾连接的线性泛素链. 这些多聚泛素链具有不同的构象, 可以被细胞内各种泛素链结合蛋白特异地识别, 进而决定将底物蛋白运输到蛋白酶体被降解还是启动相关的信号转导<sup>[1, 3]</sup>, 例如, Lys48 连接的多聚泛素链介导底物蛋白的降解, 而 Lys63 连接的多聚泛素链参与了多个信号通路的信号调节. 泛素化是一个可逆的过程, 真核细胞内也存在大量的去泛素化酶, 能够水解底物上的多聚泛素链, 逆转蛋白质泛素化过程,

产生游离的泛素分子, 因此去泛素化在信号转导过程中也发挥着关键的“调节器”作用<sup>[4]</sup>.

病原菌在与宿主长期相互斗争的过程中, 进化出了各种独特的蛋白质分泌系统, 如三型和四型分泌系统, 分泌大量的毒性效应蛋白分子到宿主细胞中. 这些被注射到宿主细胞中的效应蛋白往往具有独特的生物化学活性, 它们特异地作用于宿主细胞关键信号分子, 对宿主信号分子进行激活或者失活, 从而调节宿主信号通路、拮抗宿主的免疫防御反应、促进病原菌的侵染和生存<sup>[5]</sup>. 由于泛素化在真核细胞中广泛存在并且发挥着关键作用, 所以病原菌常常利用效应蛋白来调节宿主细胞的泛素化过程<sup>[6]</sup>. 本文将概述病原菌利用效应蛋白调节宿主泛素化途径的主要研究进展和最新发现.

## 1 效应蛋白对泛素的共价修饰

### 1.1 泛素的脱酰胺化修饰

泛素是整个泛素化过程的核心, 在真核生物中高度保守, 因此效应蛋白直接作用于泛素是病原菌破坏宿主泛素化过程的一个极为非常有效的方式. Cif 家族效应蛋白包括来源于肠致病性大肠杆菌的

\* 国家自然科学基金重点项目(81530068)资助.

\*\* 通讯联系人.

周艳. Tel: 0571-88206740, E-mail: zhouyanlsi@zju.edu.cn

朱永群. Tel: 0571-88206122, E-mail: zhuyongqun@zju.edu.cn

收稿日期: 2019-10-21, 接受日期: 2019-10-25

效应蛋白 Cif 及来自类鼻疽伯克霍尔德菌的效应蛋白 CHBP 等. 该家族效应蛋白能够抑制宿主的细胞周期以及引起宿主细胞形成肌动蛋白压力纤维 (actin stress fiber) [7-8]. Cif 家族效应蛋白采取典型的木瓜蛋白酶样结构折叠类型, 含有 1 个“半胱氨酸-组氨酸-谷氨酰胺 (Cys-His-Gln)”催化三联体, 具有独特的脱酰胺化酶活性, 可以将泛素的第 40 位谷氨酰胺残基 (Q40) 进行脱酰胺化, 使之成为谷氨酸 (E40) (图 1a). 脱酰胺化的泛素虽然还能被泛素激活酶和泛素结合酶激活, 但是不能被泛素连接酶催化形成泛素链, 从而影响了蛋白质的泛素化过程 [7]. 另外 Cif 家族效应蛋白还能对类泛素分子 NEDD8 的第 40 位谷氨酰胺残基 (Q40) 进行脱酰胺化. 脱酰胺化的 NEDD8 不能被连接到 Cullin 家族蛋白上, 导致在细胞周期中发挥重要作用的 Cullin 家族蛋白失活, 引起了 p21、p27 和 RhoA 等 Cullin 底物的聚集, 从而引起了细胞周期的阻滞和肌动蛋白压力纤维的形成 [7].

## 1.2 泛素的磷酸核糖基化修饰

来源于嗜肺军团菌的 SidE 家族效应蛋白包括 SdeA、SdeB、SdeC 和 SidE 4 个效应蛋白, 它们含有 1 000 多个氨基酸残基, 在结构上分为: N 端的去泛素化酶结构域、中间的磷酸二酯酶 (PDE) 结构域和 ADP-核糖基转移酶 (ART) 结构域及 C 端的 coil-coil 结构域 [9-11]. 其中 ADP-核糖基转移酶结构域具有典型的“精氨酸-丝氨酸-谷氨酸 (R-S-E)”催化基序, 能够特异地识别泛素, 并利用 NAD 作为辅基, 对泛素的第 42 位精氨酸残基 (R42) 进行 ADP-核糖基化修饰 [9]. 精氨酸 ADP-核糖基化修饰的泛素进一步在磷酸二酯酶结构域催化下, 利用谷氨酸活性残基, 将 ADP-核糖基进行水解, 形成单磷酸核糖基化修饰 [11]. 在蛋白质底物如 Rab33、Rtn4 等存在的情况下, 磷酸二酯酶结构域能将泛素 R42 位上的磷酸核糖基, 通过磷脂键与底物蛋白的丝氨酸残基进行共价连接, 从而对底物蛋白进行由磷酸核糖基化介导的泛素化修饰 [10-11] (图 1b). 这种“泛素化”并不依赖于经典的 E1-E2-E3 三级酶联催化反应, 因而被称为“E1, E2-非依赖”的泛素化修饰. SidE 家族效应蛋白催化的泛素磷酸核糖基化修饰抑制了泛素激活酶 E1 对泛素的激活作用, 破坏了宿主细胞的蛋白质泛素化过程, 同时“E1, E2-非依赖”的泛素化修饰也改变了宿主内质网结构, 从而促进了细菌在宿主巨噬细胞内的生存 [9].

## 2 效应蛋白对泛素结合酶的共价修饰

### 2.1 Ubc13 的脱酰胺化修饰

人体内共有 39 个泛素结合酶, 通过与不同的泛素连接酶进行配对, 作用于不同的蛋白质底物并催化泛素链的形成. 其中 Ubc13 是一个特殊的泛素结合酶, 其需要与 Uev1A 或 Uev2 形成异元二聚体, 然后与泛素连接酶结合, 催化形成 Lys63 连接的多聚泛素链. Lys63 连接的多聚泛素链能够被 TAB2 或 TAB3 识别, 激活 TAK1 激酶复合物, 同时游离 Lys63 连接的多聚泛素链还能直接激活 IKK 激酶复合物, 因此在宿主 NF- $\kappa$ B 免疫信号通路中发挥重要作用 [12-13]. 在痢疾杆菌感染宿主细胞时, 其三型分泌系统分泌的效应蛋白 OspI 特异地识别 Ubc13, 将 Ubc13 的第 100 位谷氨酰胺残基 (Q100) 进行脱酰胺化, 生成谷氨酸残基 (E100) [14] (图 1c). 脱酰胺化后的 Ubc13 不能与泛素连接酶 TRAF6 结合, 从而阻断了由 CARD-Bcl10-Malt1 复合物激活的 NF- $\kappa$ B 信号. OspI 主要通过识别 Ubc13 N 端的第一个螺旋结构, 区分 Ubc13 和宿主细胞内其他泛素结合酶, 并且 OspI 结合 Ubc13 的区域与宿主细胞内 TRAF6 结合 Ubc13 的区域重叠 [15], 所以 OspI 能在细胞内与 TRAF6 竞争性地结合 Ubc13, 因此 OspI 具有结合竞争和脱酰胺酶学两种生化活性, 从而有效地失活宿主泛素结合酶 Ubc13 [15].

### 2.2 由谷氨酰胺转移酶活性介导的泛素与 Ubc13 的共价交联

除了被 OspI 催化脱酰胺化修饰外, Ubc13 还能被嗜肺军团菌的效应蛋白 MavC 进行另外一种与泛素的共价交联修饰 [16]. MavC 是一个独特的谷氨酰胺转移酶, 将泛素的第 40 位谷氨酰胺残基 (Gln40) 与 Ubc13 的第 92 位或者第 94 位赖氨酸残基 (Lys92 或 Lys94) 进行共价交联 (图 1d). 被泛素共价交联的 Ubc13 丧失了催化生成 Lys63 连接的多聚泛素链的能力, 从而在嗜肺军团菌的感染早期阶段抑制了宿主细胞的 NF- $\kappa$ B 信号通路 [16]. 在没有 Ubc13 的赖氨酸残基作为胺基供体时, MavC 将泛素的 Gln40 进行脱酰胺化, 使之成为 Glu40, 抑制蛋白质泛素化, 其作用机制类似于肠致病性大肠杆菌的效应蛋白 Cif [16]. MavC 在嗜肺军团菌中还存在一个同源蛋白质 MvcA, MvcA 的 49% 氨基酸残基序列与 MavC 完全相同, 也能将泛素进行脱酰胺化修饰 (图 1a), 抑制宿主蛋白质泛素化途径 [17].

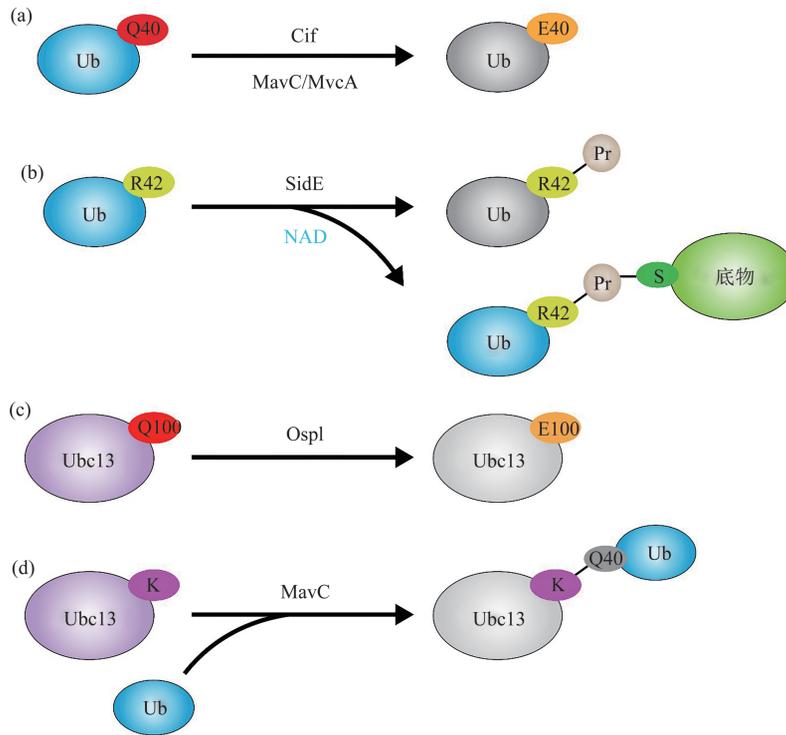


Fig. 1 Post-translational modifications of ubiquitin and Ubc13 by bacterial effector proteins

图1 病原菌效应蛋白对泛素和Ubc13的共价修饰

(a) Cif及其家族成员、MavC和MvcA将泛素脱酰胺化；(b) SidE家族效应蛋白催化泛素的磷酸核糖基化修饰（简称为“Pr”），以及催化由磷脂键与底物蛋白的丝氨酸残基连接的共价交联；(c) Ospl催化Ubc13的脱酰胺化修饰；(d) MavC催化泛素与Ubc13的共价交联。

### 3 效应蛋白作为泛素连接酶

在人细胞中大约含有1 000个泛素连接酶，主要分为RING型、HECT型及RBR型3种类型。RING型泛素连接酶通过结合泛素结合酶，将泛素直接连接到底物蛋白上或上一个泛素上<sup>[18]</sup>；而HECT型泛素连接酶先将泛素转移到自身的催化半胱氨酸残基上，然后再转移到底物蛋白上<sup>[19]</sup>；RBR型泛素连接酶有RING型结构域，同时含有催化半胱氨酸活性残基，因此兼有了RING型和HECT型泛素连接酶的属性<sup>[20]</sup>。到目前为止的研究进展显示，病原菌效应蛋白不仅能够模仿RING型和HECT型泛素连接酶，而且还进化出了具有全新结构折叠类型的新型泛素连接酶。

#### 3.1 效应蛋白模仿真核RING型泛素连接酶

最早发现具有泛素连接酶活性的效应蛋白是来自于植物病原菌丁香假单胞杆菌的效应蛋白AvrPtoB<sup>[21]</sup>。AvrPtoB的C端结构域虽然在序列上与真核生物的RING型泛素连接酶没有任何相似性，但在结构上非常相似（图2a）。生化实验证明

AvrPtoB的C端结构域确实能够与E1和E2一起催化形成多聚泛素链。丁香假单胞杆菌利用AvrPtoB的泛素连接酶活性，抑制植物程序性死亡介导的免疫防御作用。除了AvrPtoB外，嗜肺军团菌的效应蛋白LubX以及来源于肠致病性大肠杆菌的NleG家族效应蛋白都是模仿了真核细胞RING型泛素连接酶<sup>[22-24]</sup>。LubX能够泛素化宿主蛋白CLK1，促进嗜肺军团菌在宿主巨噬细胞内的生存<sup>[23]</sup>。关于NleG家族蛋白的宿主底物目前完全不清楚，亟待进一步的研究。

#### 3.2 效应蛋白模仿真核HECT型泛素连接酶

第一个被报道的模仿真核HECT型泛素连接酶的效应蛋白是来自沙门氏菌的效应蛋白SopA<sup>[25]</sup>。SopA在全长序列上跟HECT型泛素连接酶没有明显的相似性，但在活性半胱氨酸残基附近的氨基酸序列与HECT型泛素连接酶相应的序列有显著的相似性，并且活性半胱氨酸残基都是靠近C末端<sup>[25]</sup>。其晶体结构显示，SopA采取了HECT型泛素连接酶EA6P类似的双叶片结构<sup>[26]</sup>（图2b）。SopA泛素化宿主蛋白TRIM56和TRIM65，导致TRIM56和

TRIM65的降解,从而调节宿主的免疫反应<sup>[27]</sup>. SopA在肠出血性大肠杆菌中存在同源效应蛋白NleL<sup>[28-29]</sup>. NleL能够单泛素化宿主JNK激酶,抑制了JNK与上游激酶MKK7的结合,从而阻断JNK的激活,促进肠出血性大肠杆菌在宿主细胞表面形成肌动蛋白基座结构<sup>[30]</sup>.

### 3.3 具有全新结构折叠模式的泛素连接酶效应蛋白

不同于上述模仿RING型和HECT型泛素连接酶的效应蛋白,痢疾杆菌IpaH家族效应蛋白代表了一类广泛存在于众多病原菌中的新型泛素连接酶<sup>[31-32]</sup>. IpaH家族效应蛋白广泛分布于沙门氏菌属、耶尔森氏菌属、假单胞菌属等病原菌中,拥有大量的同源效应蛋白.这些同源蛋白都具有一个共同的序列特征,即N端的序列多变但结构保守的LRR结构域和C端的序列高度保守的泛素连接酶结构域<sup>[31]</sup>.结构研究显示,C端泛素连接酶结构域的结构完全不同于RING型、HECT型以及RBR型泛素连接酶,具有全新的三维结构折叠模式,并且含有不存在于RING型、HECT型以及RBR型泛素连接酶序列中的“半胱氨酸-天冬氨酸(C-X-D, X表

示任意氨基酸残基)”催化基序<sup>[31-32]</sup>(图2c). IpaH家族效应蛋白成员IpaH9.8泛素化宿主GBP1蛋白,促进痢疾杆菌在宿主胞内生存<sup>[33-34]</sup>. IpaH1.4和IpaH2.5泛素化宿主LUBAC复合物中的催化亚基HOIP,导致HOIP被蛋白酶体降解,从而阻断宿主细胞内LUBAC催化线性泛素链的形成,抑制宿主NF- $\kappa$ B免疫信号通路和由自噬介导的免疫防御反应<sup>[35]</sup>.另外,沙门氏菌的IpaH家族效应蛋白成员SspH1泛素化宿主PKN1<sup>[36-37]</sup>,而SspH2泛素化Nod1<sup>[38]</sup>,从而影响宿主的炎症反应. IpaH家族其他成员的功能还鲜有报道.除了IpaH家族全新泛素连接酶外,嗜肺军团菌的效应蛋白SidC及同源蛋白SdcA也具有泛素连接酶活性,但它们的结构也完全不同于真核生物的RING型、HECT型以及RBR型泛素连接酶活性,同时还具有一个半胱氨酸-组氨酸-天冬氨酸(Cys-His-Asp)催化三联体基序<sup>[39-40]</sup>. SidC的泛素连接酶活性对嗜肺军团菌改变宿主内质网结构并形成成熟的膜泡结构是必须的,但是SidC及同源蛋白的宿主底物目前还不清楚<sup>[39-40]</sup>.

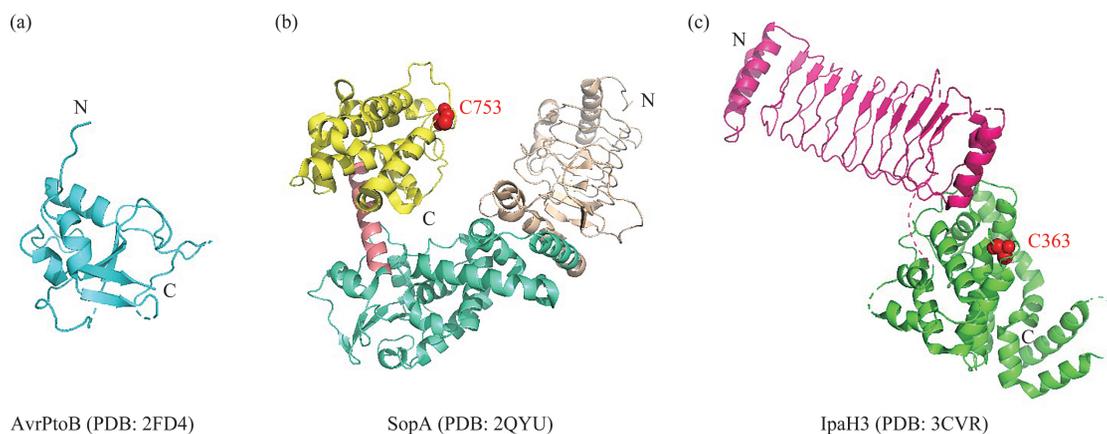


Fig. 2 Representative structures of bacterial E3 ligases

图2 细菌泛素连接酶的代表性结构

(a) 丁香假单胞菌效应蛋白AvrPtoB的泛素连接酶结构域的晶体结构,结构类似于真核细胞内的RING型泛素连接酶;(b)沙门氏菌效应蛋白SopA的二叶片结构,结构类似真核细胞内的HECT型泛素连接酶;(c)痢疾杆菌效应蛋白IpaH3的全长结构,其C端泛素连接酶显示为绿色,N端LRR结构域显示为紫色.SopA和IpaH3的活性半胱氨酸残基以红色球状显示.

## 4 效应蛋白具有去泛素化酶活性

泛素链分为通过异肽键连接的泛素链和通过肽键连接的线性泛素链.在异肽键连接的泛素链中,C末端甘氨酸(Gly76)连接到上一个泛素分子的

赖氨酸残基上.而在线性泛素链中,泛素首尾相连,C末端甘氨酸Gly76通过肽键连接到上一个泛素分子的甲硫氨酸残基(Met1)上<sup>[2, 41]</sup>.真核细胞内存在众多的去泛素化酶,逆转泛素化过程,从而调节细胞信号转导<sup>[4]</sup>.在病原菌与宿主的长期斗争

过程中, 病原菌也进化出了很多具有去泛素化酶活性的效应蛋白分子。

#### 4.1 切割异肽键连接泛素链的去泛素化酶效应蛋白

最早被研究去泛素化酶活性的效应蛋白是沙门氏菌效应蛋白 SseL, 其氨基酸序列与人的泛素样分子 SUMO 的蛋白酶 SENP1 具有显著的同源性<sup>[42]</sup>. SseL 能够切割 Lys48 和 Lys63 连接的多聚泛素链, 但底物偏好于 Lys63 连接的多聚泛素链. 在沙门氏菌感染时, SseL 切割沙门氏菌在宿主细胞内建立的膜泡结构上的多聚泛素链, 避免被自噬接头蛋白 p62 识别, 从而抑制由 p62 介导的自噬免疫防御<sup>[43]</sup>. 除了沙门氏菌的效应蛋白 SseL, 沙眼衣原体的效应蛋白 ChlaDub1 和 ChlaDub2 也与 SENP1 具有一定的序列同源性<sup>[44]</sup>. ChlaDub1 和 ChlaDub2 在体外都具有去泛素化酶活性, 且 ChlaDub1 能够去泛素化 I $\kappa$ B $\alpha$ , 从而抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[45]</sup>. ChlaDub1 还被发现具有乙酰转移酶活性<sup>[46]</sup>. 不同于沙眼衣原体, 肺炎衣原体没有 ChlaDub1 和 ChlaDub2, 但含有一个去泛素化酶效应蛋白 ChlaOTU<sup>[47]</sup>. ChlaOTU 含有真核生物中典型的 OTU 去泛素化酶结构, 能够跟自噬接头蛋白 NDP52 结合, 减少细菌入侵位置的多聚泛素链的累积<sup>[47]</sup>. 另外, 据报道大肠杆菌的 ElaD 以及黄单胞杆菌的 XopD 也具有去泛素化酶活性<sup>[48]</sup>. 这些被发现切割异肽键泛素链的去泛素化酶效应蛋白都偏

好于切割 Lys63 连接的多聚泛素链<sup>[48]</sup> (图 3a).

#### 4.2 切割线性泛素链的去泛素化酶效应蛋白

通过肽键、首尾相连的线性泛素链参与宿主免疫防御过程, 具有很强的抑制细菌侵染的能力. 相对于很早就发现病原菌存在很多切割异肽键泛素链的去泛素化酶效应蛋白, 在病原菌领域里长期以来存在着一个科学疑问: 是否存在特异地切割线性泛素链的去泛素化酶效应蛋白分子. 最近研究发现, 嗜肺军团菌的效应蛋白 RavD 是一个特异地切割线性泛素链的去泛素化酶效应蛋白. RavD 只切割线性泛素链 (图 3b), 不能切割任何异肽键连接形式的泛素链<sup>[49]</sup>. RavD 的 N 端 200 个氨基酸残基组成了其去泛素化酶结构域, 该结构域的三维结构完全不同于先前发现的所有去泛素化酶, 说明 RavD 是一个全新的去泛素化酶, 并具有一个“半胱氨酸-组氨酸-丝氨酸 (Cys-His-Ser)”催化三联体基序<sup>[49]</sup>. RavD 利用 2 个不同结合表面结合线性泛素链模块中的 2 个泛素分子, 从而区别异肽键泛素链和线性泛素链, 对线性泛素链进行特异的识别. 在嗜肺军团菌感染巨噬细胞时, RavD 利用其 C 末端结构域, 特异地结合磷脂酰肌醇分子 PI(3)P 和 PI(4)P<sup>[49-50]</sup>, 从而有效地在宿主细胞内定位到嗜肺军团菌的膜泡上, 利用其 N 端去泛素化酶结构域, 持续性地切割膜泡上形成的线性泛素链, 避免膜泡上线性泛素链的累积, 达到抑制宿主 NF- $\kappa$ B 免疫信号的目的<sup>[49]</sup>.

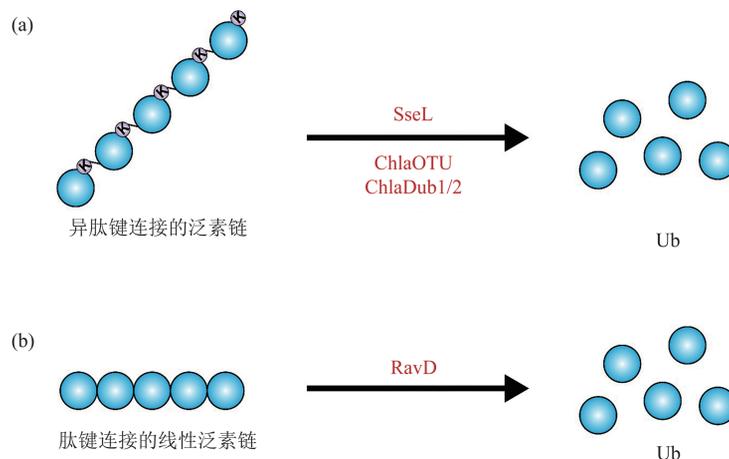


Fig. 3 Schematic diagram for hydrolysis of isopeptide-linkage and linear ubiquitin chains by bacterial deubiquitinase effectors

图3 病原菌去泛素化酶效应蛋白水解异肽键连接的泛素链和肽键连接的线性泛素链的示意图

(a) 效应蛋白 SseL、ChlaDub1、ChlaDub2 和 ChlaOTU 等剪切异肽键连接的泛素链; (b) RavD 特异地水解线性泛素链。

## 5 结 论

泛素化是真核生物必需的蛋白质翻译后修饰,参与众多的细胞信号通路,因此通过效应蛋白调节宿主泛素化途径是病原菌干扰宿主细胞信号通路的一种非常有效的方式.从已经发现的调节宿主泛素化信号通路的效应蛋白作用机制方面来看,这些效应蛋白可以在泛素化酶联反应的不同步骤上,利用不同甚至独特的生化活性,或者模仿宿主相关蛋白质活性,对泛素化进行干扰和利用,从而拮抗宿主免疫防御,促进病原菌的感染和生存.

虽然目前我们对病原菌调节宿主泛素化信号通路有了很多认识和研究进展,但是依然存在着众多科学问题需要进一步的研究.例如,IpaH家族效应蛋白具有数量庞大的同源家族成员,它们的宿主靶分子和在感染中的功能依然不清楚.另外,病原菌效应蛋白调节了泛素、泛素结合酶、泛素连接酶和去泛素化酶,但是是否也调节泛素激活酶目前还未知.这些问题的研究将帮助我们更加深入了解细菌与宿主相互作用的机制,也将促进相关疾病的临床诊治和药物设计.

## 参 考 文 献

- [1] Haglund K, Dikic I. Ubiquitylation and cell signaling. *EMBO J*, 2005, **24**(19): 3353-3359
- [2] Kerscher O, Felberbaum R, Hochstrasser M. Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2006, **22**: 159-180
- [3] Husnjak K, Dikic I. Ubiquitin-binding proteins: decoders of ubiquitin-mediated cellular functions. *Annu Rev Biochem*, 2012, **81**: 291-322
- [4] Mevissen T E T, Komander D. Mechanisms of deubiquitinase specificity and regulation. *Annu Rev Biochem*, 2017, **86**: 159-192
- [5] Hicks S W, Galan J E. Exploitation of eukaryotic subcellular targeting mechanisms by bacterial effectors. *Nat Rev Microbiol*, 2013, **11**(5): 316-326
- [6] Zhou Y, Zhu Y. Diversity of bacterial manipulation of the host ubiquitin pathways. *Cell Microbiol*, 2015, **17**(1): 26-34
- [7] Cui J, Yao Q, Li S, *et al.* Glutamine deamidation and dysfunction of ubiquitin/NEDD8 induced by a bacterial effector family. *Science*, 2010, **329**(5996): 1215-1218
- [8] Yao Q, Cui J, Zhu Y, *et al.* A bacterial type III effector family uses the papain-like hydrolytic activity to arrest the host cell cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, **106**(10): 3716-3721
- [9] Qiu J, Sheedlo M J, Yu K, *et al.* Ubiquitination independent of E1 and E2 enzymes by bacterial effectors. *Nature*, 2016, **533**(7601): 120-124
- [10] Kotewicz K M, Ramabhadran V, Sjoblom N, *et al.* A single *Legionella* effector catalyzes a multistep ubiquitination pathway to rearrange tubular endoplasmic reticulum for replication. *Cell Host Microbe*, 2017, **21**(2): 169-181
- [11] Bhogaraju S, Kalayil S, Liu Y, *et al.* Phosphoribosylation of ubiquitin promotes serine ubiquitination and impairs conventional ubiquitination. *Cell*, 2016, **167**(6): 1636-1649
- [12] Xia Z P, Sun L, Chen X, *et al.* Direct activation of protein kinases by unanchored polyubiquitin chains. *Nature*, 2009, **461**(7260): 114-119
- [13] Kanayama A, Seth R B, Sun L, *et al.* TAB2 and TAB3 activate the NF-kappaB pathway through binding to polyubiquitin chains. *Mol Cell*, 2004, **15**(4): 535-548
- [14] Sanada T, Kim M, Mimuro H, *et al.* The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response. *Nature*, 2012, **483**(7391): 623-626
- [15] Fu P, Zhang X, Jin M, *et al.* Complex structure of OspI and Ubc13: the molecular basis of Ubc13 deamidation and convergence of bacterial and host E2 recognition. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(4): e1003322
- [16] Gan N, Nakayasu E S, Hollenbeck P J, *et al.* *Legionella pneumophila* inhibits immune signalling via MavC-mediated transglutaminase-induced ubiquitination of UBE2N. *Nat Microbiol*, 2019, **4**(1): 134-143
- [17] Valleau D, Quaille A T, Cui H, *et al.* Discovery of ubiquitin deamidases in the pathogenic arsenal of *Legionella pneumophila*. *Cell Rep*, 2018, **23**(2): 568-583
- [18] Joazeiro C A, Weissman A M. RING finger proteins: mediators of ubiquitin ligase activity. *Cell*, 2000, **102**(5): 549-552
- [19] Kee Y, Huijbrechtse J M. Regulation of catalytic activities of HECT ubiquitin ligases. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **354**(2): 329-333
- [20] Spratt D E, Walden H, Shaw G S. RBR E3 ubiquitin ligases: new structures, new insights, new questions. *Biochem J*, 2014, **458**(3): 421-437
- [21] Janjusevic R, Abramovitch R B, Martin G B, *et al.* A bacterial inhibitor of host programmed cell death defenses is an E3 ubiquitin ligase. *Science*, 2006, **311**(5758): 222-226
- [22] Quaille A T, Urbanus M L, Stogios P J, *et al.* Molecular characterization of LubX: functional divergence of the U-Box fold by *Legionella pneumophila*. *Structure*, 2015, **23**(8): 1459-1469
- [23] Kubori T, Hyakutake A, Nagai H. *Legionella* translocates an E3 ubiquitin ligase that has multiple U-boxes with distinct functions. *Mol Microbiol*, 2008, **67**(6): 1307-1319
- [24] Wu B, Skarina T, Yee A, *et al.* NleG Type 3 effectors from enterohaemorrhagic *Escherichia coli* are U-Box E3 ubiquitin ligases. *PLoS Pathog*, 2010, **6**(6): e1000960
- [25] Zhang Y, Higashide W M, McCormick B A, *et al.* The inflammation-associated *Salmonella* SopA is a HECT-like E3 ubiquitin ligase. *Mol Microbiol*, 2006, **62**(3): 786-793
- [26] Diao J, Zhang Y, Huijbrechtse J M, *et al.* Crystal structure of SopA, a *Salmonella* effector protein mimicking a eukaryotic ubiquitin ligase. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(1): 65-70

- [27] Fiskin E, Bhogaraju S, Herhaus L, *et al.* Structural basis for the recognition and degradation of host TRIM proteins by *Salmonella* effector SopA. *Nat Commun*, 2017, **8**: 14004
- [28] Lin D Y, Diao J, Zhou D, *et al.* Biochemical and structural studies of a HECT-like ubiquitin ligase from *Escherichia coli* O157:H7. *J Biol Chem*, 2011, **286**(1): 441-449
- [29] Piscatelli H, Kotkar S A, Mcbee M E, *et al.* The EHEC type III effector NleL is an E3 ubiquitin ligase that modulates pedestal formation. *PLoS One*, 2011, **6**(4): e19331
- [30] Sheng X, You Q, Zhu H, *et al.* Bacterial effector NleL promotes enterohemorrhagic *E. coli*-induced attaching and effacing lesions by ubiquitylating and inactivating JNK. *PLoS Pathog*, 2017, **13**(7): e1006534
- [31] Zhu Y, Li H, Hu L, *et al.* Structure of a *Shigella* effector reveals a new class of ubiquitin ligases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(12): 1302-1308
- [32] Singer A U, Rohde J R, Lam R, *et al.* Structure of the *Shigella* T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(12): 1293-1301
- [33] Li P, Jiang W, Yu Q, *et al.* Ubiquitination and degradation of GBPs by a *Shigella* effector to suppress host defence. *Nature*, 2017, **551**(7680): 378-383
- [34] Wandel M P, Pathe C, Werner E I, *et al.* GBPs inhibit motility of *Shigella flexneri* but are targeted for degradation by the bacterial ubiquitin ligase IpaH9.8. *Cell Host Microbe*, 2017, **22**(4): 507-518.
- [35] Noad J, Von Der Malsburg A, Pathe C, *et al.* LUBAC-synthesized linear ubiquitin chains restrict cytosol-invading bacteria by activating autophagy and NF-kappaB. *Nat Microbiol*, 2017, **2**(7): 17063
- [36] Haraga A, Miller S I. A *Salmonella* type III secretion effector interacts with the mammalian serine/threonine protein kinase PKN1. *Cell Microbiol*, 2006, **8**(5): 837-846
- [37] Keszei A F, Tang X, McCormick C, *et al.* Structure of an SspH1-PKN1 complex reveals the basis for host substrate recognition and mechanism of activation for a bacterial E3 ubiquitin ligase. *Mol Cell Biol*, 2014, **34**(3): 362-373
- [38] Bhavsar A P, Brown N F, Stoepel J, *et al.* The *Salmonella* type III effector SspH2 specifically exploits the NLR co-chaperone activity of SGT1 to subvert immunity. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(7): e1003518
- [39] Hsu F, Luo X, Qiu J, *et al.* The *Legionella* effector SidC defines a unique family of ubiquitin ligases important for bacterial phagosomal remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, **111**(29): 10538-10543
- [40] Wasilko D J, Huang Q, Mao Y. Insights into the ubiquitin transfer cascade catalyzed by the *Legionella* effector SidC. *Elife*, 2018, **7**: e36154
- [41] Iwai K, Tokunaga F. Linear polyubiquitination: a new regulator of NF-kappaB activation. *EMBO Rep*, 2009, **10**(7): 706-713
- [42] Rytkonen A, Poh J, Garmendia J, *et al.* SseL, a *Salmonella* deubiquitinase required for macrophage killing and virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(9): 3502-3507
- [43] Mesquita F S, Thomas M, Sachse M, *et al.* The *Salmonella* deubiquitinase SseL inhibits selective autophagy of cytosolic aggregates. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(6): e1002743
- [44] Misaghi S, Balsara Z R, Catic A, *et al.* Chlamydia trachomatis-derived deubiquitinating enzymes in mammalian cells during infection. *Mol Microbiol*, 2006, **61**(1): 142-150
- [45] Le Negrate G, Krieg A, Faustin B, *et al.* ChlaDub1 of *Chlamydia trachomatis* suppresses NF-kappaB activation and inhibits IkkappaBalpha ubiquitination and degradation. *Cell Microbiol*, 2008, **10**(9): 1879-1892
- [46] Pruneda J N, Bastidas R J, Bertsoulaki E, *et al.* A *Chlamydia* effector combining deubiquitination and acetylation activities induces Golgi fragmentation. *Nat Microbiol*, 2018, **3**(12): 1377-1384
- [47] Furtado A R, Essid M, Perrinet S, *et al.* The chlamydial OTU domain-containing protein ChlaOTU is an early type III secretion effector targeting ubiquitin and NDP52. *Cell Microbiol*, 2013, **15**(12): 2064-2079
- [48] Pruneda J N, Durkin C H, Geurink P P, *et al.* The molecular basis for ubiquitin and ubiquitin-like specificities in bacterial effector proteases. *Mol Cell*, 2016, **63**(2): 261-276
- [49] Wan M, Wang X, Huang C, *et al.* A bacterial effector deubiquitinase specifically hydrolyses linear ubiquitin chains to inhibit host inflammatory signalling. *Nat Microbiol*, 2019, **4**(8): 1282-1293
- [50] Pike C M, Boyer-Andersen R, Kinch L N, *et al.* The *Legionella* effector RavD binds phosphatidylinositol-3-phosphate and helps suppress endolysosomal maturation of the *Legionella*-containing vacuole. *J Biol Chem*, 2019, **294**(16): 6405-6415

## Modulation of Host Ubiquitination Pathways by Pathogenic Bacterial Effector Proteins\*

TAN Jia-Xing<sup>1)</sup>, LUO Shu-Hui<sup>2)</sup>, ZHOU Yan<sup>2)\*\*</sup>, ZHU Yong-Qun<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>*Life Sciences Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;*

<sup>2)</sup>*Institute of Microbiology, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)*

**Abstract** Ubiquitination is a prevalent posttranslational modification in eukaryotic cells. Ubiquitination almost regulates all eukaryotic signaling pathways, thereby playing essential roles in eukaryotic cellular processes including immune responses. Bacterial pathogens inject a series of virulence proteins, named effectors, *via* special protein secretion systems, such as type III and type IV secretion systems, into the host cells to modulate host signaling pathways. Many effectors harbor unique enzymatic activities to modify ubiquitin or the ubiquitin-conjugating enzyme Ubc13, or have E3 ubiquitin ligase or deubiquitinase activities. This review summarizes the progresses and the newest discoveries on mechanisms of host ubiquitination modulation by bacterial effector proteins.

**Key words** bacterial pathogens, effector proteins, ubiquitination, post-translational modifications, host cells

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2019.0252

---

\* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81530068).

\*\* Corresponding author.

ZHOU Yan. Tel: 86-571-88206740, E-mail: zhouyanlsi@zju.edu.cn

ZHU Yong-Qun. Tel: 86-571-88206122, E-mail: zhuyongqun@zju.edu.cn

Received: October 21, 2019 Accepted: October 25, 2019