

泛素化及相关疾病研究进展*

方 帅 赵 博**

(上海交通大学药学院, 上海 200240)

摘要 泛素是一种普遍存在于真核细胞中的小分子量蛋白质。E1-E2-E3 三步级联反应形成的泛素化修饰, 是细胞中最常见、多样化和多功能的蛋白质翻译后修饰, 参与蛋白质水解、信号传导等各种生命活动。本文综述了近 3 年来泛素领域的研究进展, 并着重于论述泛素化系统在肿瘤、DNA 损伤应答以及神经退行性疾病中的作用。

关键词 泛素化, 肿瘤, DNA 损伤应答, 神经退行性疾病

学科分类号 Q513, Q519

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0391

泛素(ubiquitin, UB)是一类高度保守的小分子量蛋白质, 分子质量为 8.5 ku, 含有 76 个氨基酸残基, 广泛存在于真核细胞中, 人类泛素的三维结构如图 1 所示。泛素的主要功能是参与真核细胞中大部分蛋白质的选择性降解, 此外还在各种细胞生命活动中起着重要作用, 如信号传导、免疫应答、转录翻译等^[1]。因为发现了泛素, 科学家 Avram Herskho, Aaron Ciechanover 和 Irwin A.Rose 获得了 2004 年诺贝尔化学奖。

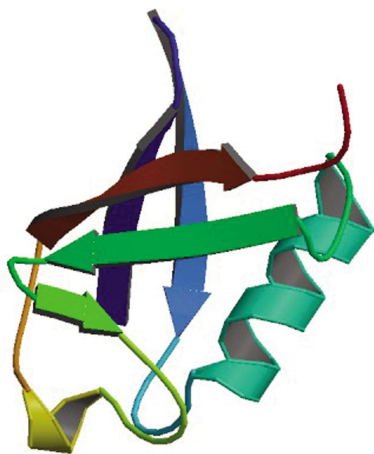


Fig. 1 3D structure of UB

图 1 泛素蛋白三维结构图

信息来源于 PDB 数据库。

1 泛素化

泛素调节蛋白质降解的过程是一个需要多种酶参与的三步级联反应, 通过泛素活化酶 E1 (ubiquitin-activating enzyme)、泛素结合酶 E2 (ubiquitin-conjugation enzyme) 以及泛素连接酶 E3 (ubiquitin-protein ligase) 催化 UB 结合至目标蛋白。被 UB 标记的蛋白质有的被蛋白酶体水解, 有的被细胞内吞。被错误标记的蛋白会经去泛素化酶 (deubiquitinase, DUB) 移除泛素标签, 逃脱被降解的命运^[1]。

如图 2, 泛素常以不同长度、不同结合位点及不同拓扑结构结合于蛋白质, 这也构成了蛋白质翻译后修饰(posttranslational modification, PTM)的多样性, 并调节被标记蛋白质的功能和去向。泛素化参与了真核细胞几乎所有的生命活动, 是最灵活和全能的 PTM^[2]。

*985 高校专项基金资助项目(WF114117001/004, WF220417001)。

** 通讯联系人。

Tel: 021-34205430, E-mail: bozhao@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2016-12-30, 接受日期: 2017-04-30

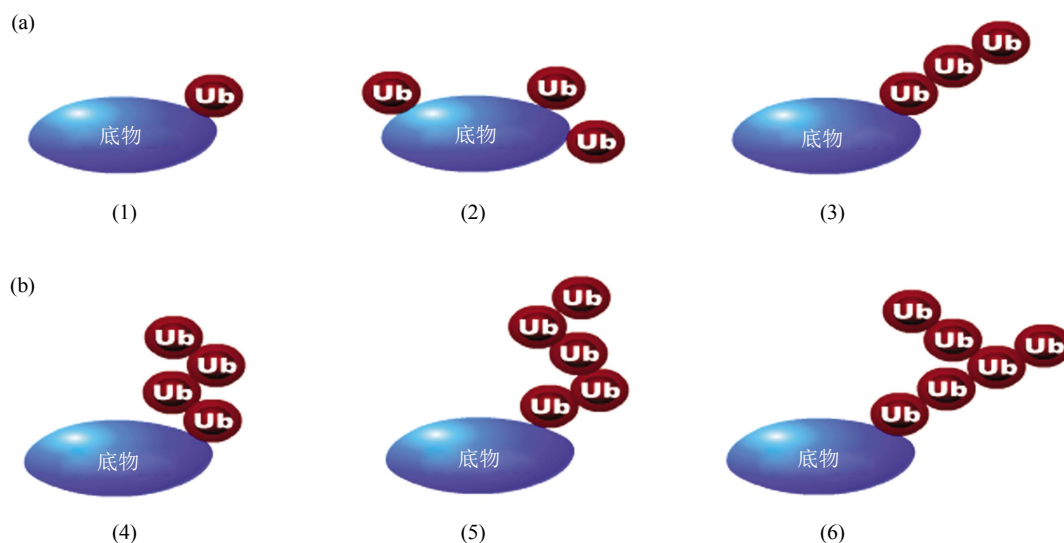


Fig. 2 Types of substrate ubiquitylation and polyubiquitin chains

图 2 不同类型的底物泛素化修饰与聚泛素链结构

(a) 不同类型的底物泛素化修饰: (1)单位点单泛素化修饰; (2)多位点单泛素化修饰; (3)聚泛素化修饰. (b) 不同类型的聚泛素链结构: (4)单一链型; (5)杂合链型; (6)分支链型. 蓝色代表底物蛋白, 红色代表泛素分子.

2 泛素化过程中的相关酶

在哺乳动物细胞中, 目前已发现 2 个 E1, 40 多个 E2 以及 600 多个 E3, 泛素化过程中的酶简述如下.

2.1 泛素活化酶 E1

哺乳动物细胞中存在 2 个 E1: Uba1 (又称 Ube1)和 Uba6. 其中 Uba1 最为熟知, 在真核细胞内高度保守, 多见于蛋白质降解通路中. Uba1 抑制剂可引起细胞功能的显著性改变, 如 Largazole 及其衍生物具有抗肿瘤效果^[3]. 新近的研究表明, Uba1 在细胞内稳态和神经退行性病变中处于核心地位, 暗示其作为一系列神经退行性疾病的治疗靶点具有巨大潜力^[4].

Uba6 在许多人类细胞系和组织中均有表达, 但对其功能了解的并不多. 本课题组的前期工作中, 利用 OUT(orthogonal ubiquitin transfer)技术^[5], 对这 2 个 E1 对应的下游底物进行了分类, 最终确认了 528 个 Uba6 特异性底物, 494 个 Uba1 特异性底物, 以及 225 个共同作用底物, 并发现这些底物对应于不同的细胞信号通路. 其中 Uba6 特异性底物多与细胞结构及运动有关, 而 Uba1 特异性底物则与某些代谢通路相关^[6].

2.2 泛素结合酶 E2

E2 不只是 UB 的携带者, 它有转硫醇(把硫酯转移至巯基)和氨解(把硫酯转移至氨基)^[7]2 个作用. 在细胞中, E2 主要以 E2~UB 复合物的形式存在, 以便随时进行反应. 此外 E2 也可以直接调节泛素化相关酶的活性, 例如, 专门水解 Lys48 聚泛素链的去泛素化酶 OTUB1 的活性, 就是通过与游离 E2 的相互作用而加强的^[8].

2.3 泛素-蛋白连接酶 E3

E3 是一个庞大的家族, 已发现的 E3 超过 600 个. 按结构特点主要可分为 3 类: RING(really interesting new gene, 还包括拓扑结构类似的 U-box E3)、HECT(homologous to E6AP C-terminus)以及 RBR(RING-in-between-RING). RING E3 可以细分为单分子 RING E3 和多亚基 E3 复合物, 如 SCF、APC/C、Cullin 2/Elongin B/C/VHL 等均属于多亚基 E3 复合物^[9-10].

本课题组前期通过对泛素 C 端小肽库进行筛选, 获得了对 E1 具有较高活力的小肽, 这些小肽相比野生型小肽, 活性提高了 1 400 倍. 并且小肽对 2 个 E3: E6AP 和 CHIP 的泛素化表现出了抑制效果, 而这 2 个 E3 均参与了 p53 的降解, 具有抑制肿瘤细胞形成的潜力^[11].

2.4 蛋白酶体

泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 的功能是选择性降解被 UB 标记的蛋白质, 因而在细胞周期调控、受体下调、基因转录和细胞凋亡等诸多生命活动中发挥重要作用^[12]. 蛋白酶体是 UPS 作用的最后一环, 也是肿瘤治疗的靶点, 蛋白酶体抑制剂 Bortezomib、Carfilzomib 及 Ixazomib 等已获得临床批准.

2.5 去泛素化酶 DUB

泛素化的过程是可逆的, 这个过程由去泛素化酶 DUB 完成. DUB 的功能是从多泛素融合蛋白或被标记蛋白中产生游离 UB^[13], 以保持细胞中游离 UB 水平的稳态^[14]. 除调节组蛋白修饰外, DUB 还可对多种 DNA 损伤应答进行检查. 许多 DUB 有调节 p53 信号传导的功能.

本课题组在前期的研究中发现, 通过对 UB 第 73 位氨基酸 Leu 进行单点突变, 突变体 Leu73Phe 和 Leu73Tyr 相比野生型 UB, 对 DUB 的耐受能力大大增强^[15]. UB 的 C 端一个位点的变化, 就可以使其泛素化底物对 DUB 的耐受性受到很大影响, 这为研制 DUB 抑制剂提供了一定的理论依据.

3 泛素化修饰

PTM 决定了大部分蛋白质的功能和命运, 泛素化修饰则是其中最常见的形式之一. 连接到底物后, 泛素会进行进一步修饰, 这些修饰代表着不同的信号并引导细胞的不同活动, 即“泛素密码”. 泛素化可以发生在泛素 N 端及 7 个赖氨酸残基上, 形成包含复杂拓扑结构的聚泛素链. 泛素的赖氨酸残基也可以被 SUMO 或 NEDD8 等类泛素分子修饰. 泛素的修饰还包括 Lys 残基的乙酰化和 Ser、Thr、Tyr 残基的磷酸化, 每种修饰都可能显著性地改变信号的结果^[16].

通过 Lys48 连接的 Lys48 链是最典型的聚泛素链, 占了所有链型的 50% 以上, 是底物被蛋白酶体降解的信号. 而细胞中占比第二的链型 (Lys63 链) 则起着信号传导的作用^[1].

非典型的聚泛素链也带有许多信息. 例如, Met1 链 (即直链) 是 NF- κ B 信号的重要正调节因子^[16]; Lys6 链与调节 UV 引起的 DNA 损伤应答及线粒体的体内稳态有关^[17]; Lys11 链是细胞周期调控中另一种蛋白酶体降解信号^[18]; 最初数据显示 Lys27 链的信号可能与帕金森病相关, 但并未得到证实^[16]; Lys29 链与蛋白酶体降解^[19]和表观遗传调

控有关^[20]; Lys33 链作用于高尔基体膜上的蛋白交换^[21].

Lys63 链以杂合或分支结构被 Met1 链修饰的发现, 解决了关于 Lys63 链究竟是作用于炎症信号传导还是 NF- κ B 活化的问题^[22]. Lys63/Met1 杂合链使人们意识到杂合链和分支链携带有新的信号信息. 事实上, 以上提及的非典型链也许都与其他连接方式的聚泛素链相互影响和相互作用, 如 Jmjd2d 泛素化中涉及的 Lys11 链和 Lys29 链等^[20].

4 泛素化与肿瘤

泛素化反应广泛存在于各种细胞活动中, 其中任何一步反应异常都可能导致疾病如肿瘤的发生, 泛素化相关酶在其中发挥不同的作用. 因此泛素中酶的抑制剂或激动剂都有可能抑制肿瘤的发生和生长.

E1 是泛素化反应中的第一个酶, 人体中仅由 Uba1 和 Uba6 两种 E1 便调节了下游所有泛素化反应. 因此, 抑制 E1 活性可抑制下游某些与肿瘤相关的泛素化. 例如, Uba1 的抑制剂 PYR-41 和 PYZD-4409 可诱导哺乳动物细胞死亡, 但其更精确的机制尚不明确. 尽管已有多种 E1 抑制剂被发现, 但真正进入临床试验的只有 MLN4924, 这是类泛素分子 NEDD8 的 E1 活化酶抑制剂^[23]. 究其原因, E1 抑制剂特异性和成药性较差, 更重要的是会导致泛素化底物的积累.

目前已发现的 E2 约 40 个, 相比只有 2 个的 E1, E2 抑制剂具有更强的特异性, 在肿瘤治疗方面也有更大的价值. 例如化合物 CC0651 是 E2 结合酶 CDC34 的抑制剂, 与 CDC34 结合后使其发生构象改变从而无法完成 UB 的传递. 尽管 CC0651 体外实验效果良好, 但在实际应用前仍有许多困难需要克服^[23].

比起 E1 和 E2, E3 更受关注, 不仅因为 E3 数量庞大, 更因为 E3 能够特异性识别蛋白质底物, 因而可作为包括人类肿瘤在内的多种 E3 相关疾病的治疗靶点, 并且特异性更强. E3 有的是致癌因子, 有的是抑癌因子, 还有的可在特定条件下互相转换^[24]. 例如, 在许多人类肿瘤中, 肿瘤抑制因子 Fbw7 常丢失或突变, 因此, 调节其上游因子恢复 Fbw7 的功能是肿瘤治疗的途径之一, Skp2 则通过降解肿瘤抑制因子来实现其致癌作用, 使癌细胞恶性增殖, β -TRCP 具有两面性, 根据环境调节抑癌因子或致癌因子的降解^[10]. 以 E3 为靶点的药物,

如 Serdemetan、LCL161、AT-406 已进入临床实验, IMiDs 已获 FDA 批准^[25].

DUB 在细胞周期进程中的作用同样很重要, DUB 功能失调常在肿瘤中发现^[26]. 此外在膀胱癌、神经胶质瘤等肿瘤中均发现了 DUB 的过表达^[27-28]. 例如 USP4 的过表达存在于多种类型的肿瘤中, 因

此被认为是一个潜在的致癌基因^[29].

理论上泛素化反应中的各种酶都可以作为抗肿瘤药物的靶点, 然而目前已报道的有较好效果的药物只有数十种, 真正可用于临床治疗的药物更是少数, 其中又以蛋白酶体抑制剂居多. 表 1^[25]列举了部分蛋白酶体抑制剂.

Table 1 Proteasome inhibitors

表 1 部分蛋白酶体抑制剂

药物名称	商品名	药物靶点	研究状态
硼酸类			
Bortezomib	Velcade	20S 蛋白酶体(抑制糜蛋白酶样活性)	FDA 批准用于多发性骨髓瘤、套细胞淋巴瘤
Ixazomib	Ninlaro	20S 蛋白酶体(抑制糜蛋白酶样活性)	FDA 批准其与 2 款其他药物合并用于治疗多发性骨髓瘤
环氧酮类			
Carfilzomib	Kyprolis	20S 蛋白酶体(抑制糜蛋白酶样活性)	FDA 批准其用于治疗多发性骨髓瘤
Oprozomib	—	20S 蛋白酶体(抑制糜蛋白酶样活性)	临床一期、二期
其他			
Marizomib	—	20S 蛋白酶体(抑制糜蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶活性)	临床一期、二期

5 泛素化与 DNA 损伤应答

DNA 损伤应答(DNA damage response, DDR)的功能是修复 DNA 损伤和保持自身基因组的稳定性. 在正常的 DNA 复制中, 泛素化反应引导着蛋白质降解以提供复制最佳环境. 在此阶段泛素的功能是: 防止重复复制、调节 DNA 复制叉的移动、核染色质重建以及复制叉终止时复制体的分解^[2, 30]. DNA 损伤时, 泛素化反应参与了 DNA 损伤应答过程中的 PTM 以保持基因组的完整性, 并及时集合或移除与 DNA 损伤信号传导和修复相关的蛋白质. 由于 DNA 损伤及基因组的不稳定信号是许多人类肿瘤的典型特征, 也是肿瘤精准医疗的切入点, 抑制肿瘤 DDR 的靶向疗法具有较大的前景^[31].

5.1 泛素化与复制后修复

DNA 的损伤耐受中复制后修复(post-replication repair, PRR)机制起了重要作用. 在细胞 S 期, 绕过损伤区域的方式有两种, 一种是 DNA 跨损伤合成(DNA translesion synthesis, TLS), 即绕过损伤区域进行合成; 另一种是模板转换(template switch, TS), 即利用姐妹染色单体进行合成^[32]. 两种方式的本质区别在于前者仍然可能发生错误, 而后者被认为是无误的. PRR 蛋白的泛素化修饰在两种方

式的选择中起决定性的作用. 例如, 增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在单泛素化时走 TLS 路径, 聚泛素化时走 TS 路径^[33].

5.2 泛素化与 DNA 双链断裂

泛素化修饰是 DNA 双链断裂(DNA double strand break, DSB)应答的一种. 为响应 DSB, 核染色质及其相关蛋白质发生泛素化, 并聚集重要 DSB 修复因子, 促使电离辐射诱导聚焦点(ionizing radiation-induced foci, IRIF)形成以标记 DNA 损伤位点^[34]. 其中 E3 泛素连接酶 RNF8、RNF168 等在组蛋白泛素化中起了关键性作用. 在损伤位点, RNF8(RING finger protein 8)促使组蛋白 H1 泛素化, RNF168 则催化了 H2A 型组蛋白 N 端的 K13 和 K15 位泛素化^[35]. 这些泛素化的累积是 DSB 应答的基础, 促使了修复蛋白复合物的形成^[36]. 此外在核染色质修饰中还存在 H2A 在 K119 位的单泛素化和 H2B 在 K120 位的单泛素化, E3 连接酶 BBAP 催化的 H4K91 的单泛素化也加强了 DSB 修复因子的聚集^[37].

5.3 泛素化与全基因组核苷酸切除修复

化学致癌物、紫外线或细胞代谢副产物会引起不同 DNA 加合及交联. 此时要保持基因组的稳定性需要全基因组核苷酸切除修复(global-genome

nucleotide excision repair, GG-NER)行为. 当细胞响应紫外线引起的 DNA 修复时, 启动因子 XPC (xeroderma pigmentosum group C)被 2 个 E3 连接酶 CRL4^{DBP2} 和 RNF111 双重泛素化, 并与损伤 DNA 相互作用, 启动 GG-NER 响应^[38]. 缺少任意一种酶都会使 DNA 修复失效, 因此 CRL4^{DBP2} 和 RNF111 在紫外线引起的损伤修复中至关重要.

6 泛素化与神经退行性疾病

经由泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)的蛋白质水解是神经系统行使正常功能的主要分子机制, 同时也是神经退行性疾病的主要原因. 蛋白质的降解在神经系统中具有关键功能, 如发育中的突触联结微调以及成年后的突触可塑性. 与 UPP 相关的神经退行性疾病包括阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病以及肌萎缩性脊髓侧索硬化症. UPP 紊乱也是如快乐木偶综合症等精神疾病的主要原因^[39-40].

神经退行性疾病中的 UPS 损伤假说有一系列细胞学和遗传学数据支持. 例如, 这些疾病都存在着不同环节和不同程度的 UPS 损伤, 包括泛素化过程, 去泛素化过程以及底物传递过程^[41].

6.1 泛素化与阿尔茨海默病

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是被研究得最多的一种与年龄相关的神经退行性疾病, 特征是记忆力和认知力的逐渐丧失、痴呆以及言行举止的改变. 它与合成缺陷蛋白、错误转运至细胞膜以及氧化性损伤有关, 并伴有 β -淀粉样蛋白 (amyloid beta, A β) 的累积和 tau 蛋白的过度磷酸化^[42].

研究显示, 在与 AD 相关的 A β 前体蛋白形成和 A β 代谢信号通路中, Uch-L1 (ubiquitin C-terminal hydrolase L1)、UBB+1 (Ubiquitin-B+1)、E3 连接酶 Fbxo2 (F-box protein 2)、蛋白酶体以及促进蛋白聚合的分子伴侣(CRAM-1 与 MOAG-4)均有重要作用^[43]. UPP 通过 26S 蛋白酶体调节着 A β 代谢和 tau 降解.

6.2 泛素化与帕金森病

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是另一种常见的神经退行性疾病, 可引起中脑黑质多巴胺能神经退化, PINK1 (PTEN-induced putative kinase 1) 和 PARKIN 基因的突变均可致病^[44].

PINK1 与 E3 连接酶 Parkin 协同作用维持着神经细胞的稳定: Parkin 催化 UB 对靶蛋白的标记,

且 Parkin 和 UB 都是被 PINK 磷酸化的. Parkin 是一种多功能 E3 连接酶, 还作用于包括 AD 在内的其他神经退行性疾病, Parkin 功能失调会引起神经元变性死亡^[45].

6.3 泛素化与亨廷顿病

亨廷顿病(Huntington's disease, HD)是一种以行动异常、认知下降和精神问题为特征的常染色体显性的神经退行性疾病. HD 发病原因是 4 号染色体上亨廷顿(huntingtin, HTT)基因中三联密码子 CAG 重复数增多(35 个及以上), 引起聚谷氨酰胺片段扩大, 从而产生突变型亨廷顿蛋白(mutant huntingtin, mHtt), 并在神经元细胞内形成聚合体^[46].

鉴于 mHtt 的累积是其神经毒性的首要条件, 清除 mHtt 将有助于 HD 治疗. 因此, UPS(主要清除真核细胞内可溶的和短寿蛋白)以及自噬(主要清除长寿蛋白、聚合蛋白和损伤细胞器)这两种清除错误折叠蛋白的水解机制就显得尤为重要. 研究显示, Lys48 位和 Lys63 位的泛素化均与通过 UPS 和自噬途径的 mHtt 清除有关, 正是 UPS 和自噬两者协同作用才能清除错误折叠蛋白, 而连接两者的则可能是组蛋白脱乙酰酶(HDAC6)^[47].

7 总结与展望

综上所述, 泛素对细胞的生命活动不可或缺. 尽管泛素发现已有半个多世纪, 与泛素相关的研究成果也层出不穷, 但是由于泛素化系统的复杂性, 人们目前的认知只是冰山一角, 很多问题仍有待研究, 如泛素修饰酶的底物鉴定、细胞平衡打破后蛋白质泛素化修饰的改变等, 这些问题的研究有赖于泛素其他性质的发现. 此外, 底物蛋白上泛素链拓扑结构的解析仍是一项极具挑战性的任务^[48].

目前, 泛素 E3 的底物特异性仍然是该领域研究的一个热点问题, 这是因为 E3 作为泛素化传递链的最后一步中的关键酶, 在底物识别时发挥非常重要的作用. E3 也是最重要的药物靶点, 特别是降解抑癌蛋白的 E3 连接酶, 例如 MDM2, 是各大药企和研究机构关注的热门靶点. 然而, 采用一些传统方法, 如基因敲除、RNAi 等, 由于 E3 和底物之间复杂的交叉作用, 很难实现这个目标. 我们课题组采用噬菌体展示和酵母细胞展示技术, 在细胞中构建一条由突变体组成的正交泛素途径, 是一个很有用的研究底物特异性的工具^[5, 15]. 近年来, 基于质谱的蛋白质组学发展迅速, 成为了研究细胞

信号传导中蛋白质的强大的工具,已应用于蛋白质翻译后修饰和获得性免疫等多个领域^[48-49]。借助这个工具,研究细胞不同生命活动中差异显著的蛋白质的性质,如蛋白质丰度、蛋白质间相互作用、PTM、亚细胞定位、蛋白质合成及降解速率等,变得相对容易,了解这些变化的规律将有助于精确定位靶点,并针对性地治疗相关疾病。可以想象,泛素化中蛋白的蛋白质组学研究将会带来更多令人惊喜的结果。

参 考 文 献

- [1] Herskho A, Ciechanover A. The ubiquitin system. Annual Review of Biochemistry, 1998, **67**(1): 425-479
- [2] Moreno S P, Gambus A. Regulation of unperturbed DNA replication by ubiquitylation. Genes, 2015, **6**(3): 451-468
- [3] Ungermannova D, Parker S J, Nasveschuk C G, *et al.* Largazole and its derivatives selectively inhibit ubiquitin activating enzyme (e1). PloS One, 2012, **7**(1): e29208
- [4] Groen E J, Gillingwater T H. UBA1: at the crossroads of ubiquitin homeostasis and neurodegeneration. Trends in Molecular Medicine, 2015, **21**(10): 622-632
- [5] Zhao B, Bhuripanyo K, Zhang K, *et al.* Orthogonal ubiquitin transfer through engineered E1-E2 cascades for protein ubiquitination. Chemistry & Biology, 2012, **19**(10): 1265-1277
- [6] Liu X P, Zhao B, Sun L M, *et al.* Orthogonal ubiquitin transfer identifies ubiquitination substrates under differential control by the two ubiquitin activating enzymes Nature Communications, 2017. DOI: 10.1038/ncomms14286
- [7] Stewart M D, Ritterhoff T, Kleivit R E, *et al.* E2 enzymes: more than just middle men. Cell Research, 2016, **26**(4): 423-440
- [8] Wiener R, Dibello A T, Lombardi P M, *et al.* E2 ubiquitin-conjugating enzymes regulate the deubiquitinating activity of OTUB1. Nature Structural & Molecular Biology, 2013, **20** (9): 1033-1039
- [9] Smit J J, Sixma T K. RBR E3-ligases at work. EMBO Reports, 2014, **15**(2): 142-154
- [10] Liu J, Shaik S, Dai X, *et al.* Targeting the ubiquitin pathway for cancer treatment. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, **1855**(1): 50-60
- [11] Zhao B, Choi C H, Bhuripanyo K, *et al.* Inhibiting the protein ubiquitination cascade by ubiquitin-mimicking short peptides. Organic Letters, 2012, **14**(22): 5760-5763
- [12] Shen M, Schmitt S, Buac D, *et al.* Targeting the ubiquitin-proteasome system for cancer therapy. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2013, **17**(9): 1091-1108
- [13] Pinto-Fernandez A, Kessler B M. DUBbing cancer: deubiquitylating enzymes involved in epigenetics, DNA damage and the cell cycle as therapeutic targets. Frontiers in Genetics, 2016, **7**: 133(DOI: 10.3389/fgene.2016.00133)
- [14] Wang C H, Chen G C, Chien C T. The deubiquitinase Leon/USP5 regulates ubiquitin homeostasis during *Drosophila* development. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2014, **452**(3): 369-375
- [15] Zhao B, Bhuripanyo K, Schneider J, *et al.* Specificity of the E1-E2-E3 enzymatic cascade for ubiquitin C-terminal sequences identified by phage display. ACS Chemical Biology, 2012, **7**(12): 2027-2035
- [16] Swatek K N, Komander D. Ubiquitin modifications. Cell Research, 2016, **26**(4): 399-422
- [17] Elia A E, Boardman A P, Wang D C, *et al.* Quantitative proteomic atlas of ubiquitination and acetylation in the DNA damage response. Molecular Cell, 2015, **59**(5): 867-881
- [18] Bremm A, Komander D. Emerging roles for Lys11-linked polyubiquitin in cellular regulation. Trends in Biochemical Sciences, 2011, **36**(7): 355-363
- [19] Kim W, Bennett E J, Huttlin E L, *et al.* Systematic and quantitative assessment of the ubiquitin-modified proteome. Molecular Cell, 2011, **44**(2): 325-340
- [20] Jin J, Xie X, Xiao Y, *et al.* Epigenetic regulation of the expression of Il12 and Il23 and autoimmune inflammation by the deubiquitinase Trubid. Nature Immunology, 2016, **17**(3): 259-268
- [21] Yuan W C, Lee Y R, Lin S Y, *et al.* K33-linked polyubiquitination of coronin 7 by Cul3-KLHL20 ubiquitin E3 ligase regulates protein trafficking. Molecular Cell, 2014, **54**(4): 586-600
- [22] Emmerich C H, Ordureau A, Strickson S, *et al.* Activation of the canonical IKK complex by K63/M1-linked hybrid ubiquitin chains. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, **110**(38): 15247-15252
- [23] Huang X, Dixit V M. Drugging the undruggables: exploring the ubiquitin system for drug development. Cell Research, 2016, **26**(4): 484-498
- [24] Wang Z, Liu P, Inuzuka H, *et al.* Roles of F-box proteins in cancer. Nature Reviews Cancer, 2014, **14**(4): 233-247
- [25] Lub S, Maes K, Menu E, *et al.* Novel strategies to target the ubiquitin proteasome system in multiple myeloma. Oncotarget, 2016, **7**(6): 6521-6537
- [26] Lim K H, Song M H, Baek K H. Decision for cell fate: deubiquitinating enzymes in cell cycle checkpoint. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS, 2016, **73**(7): 1439-1455
- [27] Boustani M R, Khoshnood R J, Nikpasand F, *et al.* Overexpression of ubiquitin-specific protease 2a (USP2a) and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in human gliomas. Journal of The Neurological Sciences, 2016, **363**(April 15): 249-252
- [28] Jeong P, Ha Y S, Yun S J, *et al.* Assess the expression of ubiquitin specific protease USP2a for bladder cancer diagnosis. BMC Urology, 2015, **15**: 80(DOI:10.1186/s12894-015-0074-x)
- [29] Xing C, Lu X X, Guo P D, *et al.* Ubiquitin-specific protease 4-mediated deubiquitination and stabilization of PRL-3 is required for potentiating colorectal oncogenesis. Cancer Research, 2016, **76**(1): 83-95
- [30] Garcia-Rodriguez N, Wong R P, Ulrich H D. Functions of ubiquitin and SUMO in DNA replication and replication stress. Frontiers in Genetics, 2016, **7**: 87(DOI: 10.3389/fgene.2016.0008)

- [31] O'Connor M J. Targeting the DNA damage response in cancer. *Molecular Cell*, 2015, **60**(4): 547–560
- [32] Cipolla L, Maffia A, Bertolotti F, *et al.* The regulation of DNA damage tolerance by ubiquitin and ubiquitin-like modifiers. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 105(DOI: 10.3389/fgene.2016.00105)
- [33] Giannattasio M, Zwicky K, Follonier C, *et al.* Visualization of recombination-mediated damage bypass by template switching. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2014, **21**(10): 884–892
- [34] Dantuma N P, Pfeiffer A. Real estate in the DNA damage response: ubiquitin and SUMO ligases home in on DNA double-strand breaks. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 58(DOI: 10.3389/fgene.2016.00058)
- [35] Thorslund T, Ripplinger A, Hoffmann S, *et al.* Histone H1 couples initiation and amplification of ubiquitin signalling after DNA damage. *Nature*, 2015, **527**(7578): 389–393
- [36] Harding S M, Greenberg R A. Choreographing the double strand break response: ubiquitin and SUMO control of nuclear architecture. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 103 (DOI: 10.3389/fgene.2016.00103)
- [37] Smeenk G, Mailand N. Writers, readers, and erasers of histone ubiquitylation in DNA double-strand break repair. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 122(DOI: 10.3389/fgene.2016.00122)
- [38] Ruthemann P, Balbo Pogliano C, Naegeli H. Global-genome nucleotide excision repair controlled by ubiquitin/sumo modifiers. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 68(DOI: 10.3389/fgene.2016.00068)
- [39] Ristic G, Tsou W L, Todi S V. An optimal ubiquitin-proteasome pathway in the nervous system: the role of deubiquitinating enzymes. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2014, **7**: 72 (DOI: 10.3389/fgene.2014.00072)
- [40] Hegde A N, Haynes K A, Bach S V, *et al.* Local ubiquitin-proteasome-mediated proteolysis and long-term synaptic plasticity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2014, **7**: 96 (DOI: 10.3389/fnmol.2014.00096)
- [41] Ortega Z, Lucas J J. Ubiquitin-proteasome system involvement in Huntington's disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2014, **7**: 77(DOI: 10.3389/fnmol.2014.00077)
- [42] Gadhave K, Bolshette N, Ahire A, *et al.* The ubiquitin proteasomal system: a potential target for the management of Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2016, **20**(7): 1392–1407
- [43] Gong B, Radulovic M, Figueiredo-Pereira M E, *et al.* The ubiquitin-proteasome system: potential therapeutic targets for Alzheimer's disease and spinal cord injury. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2016, **9**: 4(DOI: 10.3389/fnmol.2016.00004)
- [44] Caulfield T R, Fiesel F C, Springer W. Activation of the E3 ubiquitin ligase Parkin. *Biochemical Society Transactions*, 2015, **43**(2): 269–274
- [45] Zhang C W, Hang L, Yao T P, *et al.* Parkin regulation and neurodegenerative disorders. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2015, **7**: 248(DOI: 10.3389/fnagi.2015.00248)
- [46] Ross C A, Aylward E H, Wild E J, *et al.* Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics. *Nature Reviews Neurology*, 2014, **10**(4): 204–216
- [47] Zhao T, Hong Y, Li X J, *et al.* Subcellular clearance and accumulation of huntington disease protein: a mini-review. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2016, **9**: 27 (DOI: 10.3389/fnmol.2016.00027)
- [48] Heidelberger J B, Wagner S A, Beli P. Mass spectrometry-based proteomics for investigating DNA damage-associated protein ubiquitylation. *Frontiers in Genetics*, 2016, **7**: 109 (DOI: 10.3389/fgene.2016.00109)
- [49] Klein T, Viner R I, Overall C M. Quantitative proteomics and terminomics to elucidate the role of ubiquitination and proteolysis in adaptive immunity. *Philosophical Transactions Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 2016, **374**(2079): pii 20150372(DOI: 10.1098/rsta.2015.0372)

Ubiquitination in Diseases*

FANG Shuai, ZHAO Bo**

(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract Ubiquitin, a highly conserved 76-amino-acid polypeptide widely present in eukaryotic cells, is covalently attached to substrate proteins through the E1-E2-E3 cascade. Ubiquitination is involved in a myriad of cellular functions, including protein degradation, signal transduction, DNA damage and repair, transcription regulation, cell cycle progression, and tumorigenesis. In this review, we discuss the basic concept of protein ubiquitination, and focus on its roles in the initiation and progression of cancers, DNA damage response, and neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease. These knowledge is staring to be exploited to develop both drugs and therapy strategies against these diseases.

Key words ubiquitination, cancer, DNA damage response, neurodegenerative diseases

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0391

* This work was supported by a grant from 985 startup project of Shaighai Jiao Tong University(WF114117001/004, WF220417001).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-34205430, E-mail: bozhao@sjtu.edu.cn

Received: December 30, 2016 Accepted: April 30, 2017