



病原菌效应因子调控宿主泛素化修饰的研究进展

左伟, 王欣宇, 胡剑刚, 王少辉*

中国农业科学院上海兽医研究所, 上海 200241

左伟, 王欣宇, 胡剑刚, 王少辉. 病原菌效应因子调控宿主泛素化修饰的研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(8): 2980-2993.
ZUO Wei, WANG Xinyu, HU Jiangang, WANG Shaohui. Modulation of host ubiquitination pathways by bacterial effectors[J].
Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(8): 2980-2993.

摘要: 泛素化(ubiquitination)是真核细胞内广泛存在的蛋白质翻译后修饰方式,参与并调控DNA修复、细胞周期、免疫应答、信号通路等真核细胞内几乎所有的生命活动。同时,细胞通过去泛素化酶(deubiquitinases, DUBs)使泛素化修饰成为可逆过程,保证了泛素化系统及其相关生理过程的动态平衡。病原菌感染过程中,宿主细胞可通过泛素化修饰发挥抗细菌感染作用。然而,病原菌可编码并分泌效应因子,靶向宿主泛素(ubiquitin, Ub)系统并调控宿主泛素化修饰过程,干扰宿主细胞的免疫应答,从而促进细菌存活与毒力。本文概述了重要病原菌利用效应因子调控宿主细胞泛素化修饰的研究进展,有助于全面理解病原菌调控宿主泛素化修饰促进感染的机制。

关键词: 病原菌; 泛素化; 效应因子; E3 泛素连接酶; 去泛素化酶

Modulation of host ubiquitination pathways by bacterial effectors

ZUO Wei, WANG Xinyu, HU Jiangang, WANG Shaohui*

Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 200241, China

Abstract: Ubiquitination is a common post-translational modification of proteins in eukaryotic

资助项目: 国家自然科学基金(32172856, 31972654); 上海市自然科学基金(22ZR1476100); 中国农业科学院科技创新工程(SHVRI-ASTIP-2014-8)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32172856, 31972654), the Natural Science Foundation of Shanghai (22ZR1476100), and the Agricultural Science and Technology Innovation Program of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (SHVRI-ASTIP-2014-8).

*Corresponding author. Tel: +86-21-34293412, E-mail: shwang0827@126.com

Received: 2022-12-05; Accepted: 2023-02-07; Published online: 2023-02-13

cells, which is involved in a variety of physiological and pathological processes such as DNA repair, cell cycle, immunological response, and signal transduction. Meanwhile, host cells use deubiquitinases (DUBs) to reverse ubiquitin signals, ensuring the dynamic balance of the ubiquitination system and physiological functions. In the case of bacterial infection, host cells mount a defense response by ubiquitination. However, pathogenic bacteria can encode and secrete effectors to regulate the ubiquitination of the host, thereby interfering with the host cellular immune response and bolstering their survival and virulence. This review outlines the research on the effectors of pathogenic bacteria that regulate ubiquitination pathways in host cells, which is expected to enhance the understanding of bacteria's regulation of host ubiquitination for the infection.

Keywords: pathogenic bacteria; ubiquitination; effector; E3 ubiquitin ligase; deubiquitinase

泛素化(ubiquitination)是真核细胞内高度保守的蛋白翻译后修饰,其对细胞生命周期的多种过程发挥重要作用。泛素化可调控蛋白质的稳定性、功能、活性及亚细胞定位,而且参与细胞生长、信号转导、蛋白转运、囊泡运输及炎症反应等生理过程^[1-2]。泛素是一种由76个氨基酸构成的小蛋白,其C末端甘氨酸被暴露在外。泛素化是将一个或多个泛素(ubiquitin, Ub)与底物共价连接的过程,这种连接通常发生在泛素的C末端甘氨酸残基与底物的赖氨酸残基之间,也可发生在非赖氨酸位点及N末端游离氨基上^[3]。不同类型的泛素连接或多聚泛素链的产生导致了被修饰蛋白的功能多样性。泛素化是一个可逆过程,宿主通过去泛素化酶(deubiquitinase, DUB)将泛素从底物上去除,保证了泛素化系统及其相关生理过程的动态平衡。细胞内的各种免疫应答过程都离不开泛素化修饰的精细调控,如核转录因子 κ B (nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B)、炎症小体应答信号通路、细胞焦亡和细胞凋亡等。因此,泛素化修饰在宿主细胞抗细菌感染过程中发挥着不可替代的功能^[4]。

在病原菌与宿主相互斗争的过程中,病原菌进化出不同分泌系统,分泌大量的毒性效应因子作用于宿主细胞。这些效应因子具有不同的生物化学活性,它们可以特异性地作用于宿主细胞内

的信号分子,使信号分子激活或失活,从而调节宿主细胞内信号通路、拮抗宿主细胞的免疫防御反应、促进病原菌感染^[5]。细菌不具备完整的泛素化系统^[6]。但是,细菌可以“劫持”宿主泛素化系统,从而逃避宿主免疫应答,促进病原菌感染^[5-6]。目前,发现的参与调控宿主泛素化系统的效应因子很多,根据其作用方式分为:(1)具有E3泛素连接酶活性的效应因子;(2)发挥去泛素化酶活性的效应因子;(3)调控非经典泛素化机制的效应因子。本文综述了病原菌利用效应因子调节宿主细胞泛素化的研究进展,为解析病原菌对宿主泛素化系统所采用的作用机制,以及开发新的治疗方法策略提供参考。

1 泛素化及去泛素化过程

泛素化指的是泛素在酶的作用下连接于底物特异的赖氨酸残基上的过程。泛素化通常由E1、E2和E3酶组成的多级酶联反应实现。首先,E1通过与Ub的末端羧基形成硫酯键来激活Ub的C端。然后,被激活的Ub在转硫反应中从E1转移到E2酶的活性部位半胱氨酸,保留硫酯连接。最后,E3s与底物和E2s相互作用,促进Ub转移到底物的赖氨酸残基上^[7]。目前已经发现人类基因组能够编码两种E1酶(UBA1和UBA2),40多个E2酶,近1000个E3酶^[8]。因

此,在泛素化过程中,一个 E1 酶可以对应下游多个 E2 酶,然后一个 E2 酶又对应多个 E3 酶。

根据泛素作用于其底物的方式,泛素化修饰可分为单泛素化和多泛素化。单泛素化是指在一个蛋白的一个和多个赖氨酸位点标记单个 Ub 分子,而多泛素化修饰则是给底物相同的赖氨酸残基加上多个 Ub 分子形成的泛素链^[9]。此外,Ub 分子还可以通过自身的 7 个赖氨酸残基(K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63)和 1 种甲硫氨酸残基肽键连接形成多种类型的线性泛素链(M1)^[8]。不同类型的 Ub 连接或多 Ub 链的产生导致被修饰蛋白不同的生理功能。K48 连接的多聚泛素链通过介导蛋白降解调控信号通路转导,在 NF- κ B 信号通路中,NF- κ B 转录抑制因子 I κ B α 被 K48 泛素链修饰后,被蛋白酶体降解,从而激活下游信号^[10]。K63 连接的多聚泛素能够作为蛋白识别信号,调节多个信号通路中蛋白之间的互作,例如促进 IKK 复合物与上游 TAK1 复合物结合,导致 NF- κ B 通路被激活^[11]。K6 连接的多聚泛素参与 DNA 损伤修复和线粒体稳定调控^[12-14]。K27 连接的多聚泛素控制 DNA 损伤反应和先天免疫反应^[15]。此外,有研究报道 K29 连接的多聚泛素与调节胚胎发生和肿瘤发生的 Wnt 信号通路有关^[16]。K33 连接的多聚泛素参与 T 细胞抗原受体和 AMP 活化蛋白激酶相关蛋白激酶的调节^[17-18]。Met1 连接的线性泛素链能够通过靶向 NEMO 来促进 NF- κ B 信号传导的激活^[19]。

去泛素化是指被泛素化修饰的底物蛋白在去泛素化酶的作用下去除泛素标记的过程。目前,在人基因组中报道发现大约有 100 多个 DUB,这些 DUB 根据序列和结构分为 7 大家族。其中 6 个家族属于半胱氨酸依赖的蛋白酶类,分别为泛素特异性蛋白酶家族(ubiquitin-specific proteases, USP)、泛素羧基端水解酶家族(ubiquitin carboxyl-terminal hydrolases, UCH)、卵

巢肿瘤结构域家族(otubain/ovarian tumor-domain containing proteins, OTU)、MINDY 蛋白酶家族(MIU 结合 DU 家 B 族)、Machado-Joseph 域(Machado-Joseph domain, MJD)家族,以及 ZUFSP/Mug105 家族。而 JAMM (Jad1/Mov34/Mpr1 Pad1 N-terminal domain proteases)家族的 DUB 属于金属蛋白酶类^[20]。DUB 可作用于泛素化修饰的底物分子,催化水解 Ub 与底物分子之间的酯键、肽键或异肽键,进而将 Ub 从底物上迅速水解,产生可循环利用的 Ub,保证了泛素化修饰系统及其相关生理过程的动态平衡^[21](图 1)。

细菌感染过程中,通过分泌系统向宿主分泌不同类型的效应因子,“劫持”宿主泛素化系统并扰乱宿主免疫防御,从而逃避宿主免疫应答,促进病原菌感染^[5-6]。

2 病原菌效应因子具有 E3 泛素连接酶活性

在病原菌效应因子介导的泛素化过程中,效应因子通过模仿宿主 E3 泛素连接酶的功能,“劫持”宿主泛素化系统,从而逃避宿主免疫应答,发挥致病作用^[22]。根据 E3 泛素连接酶的结构组成,可以将其分为单亚基型和多亚基型两大类。其中,单亚基型 E3 泛素连接酶根据其结构域的不同可分为 3 种类型,分别为与 E6-AP C 端同源(homologous to the E6-AP C-terminus, HECT)家族、非常有趣的新基因(really interesting new gene, RING)家族以及 U-box 家族。多亚基型 E3 泛素连接酶可以分为后期促进复合物(anaphase promoting complex, APC)、SCF (SKP1-cullin1-F-box)、VHL-ELONGIN-CUL2/5、DDB-CUL4 (UV-damaged DNA-binding protein1-cullin4)和 BTB-CUL3 (bric a brac, tramtrack and broad complex/poxvirus-cullin3) 5 种类型^[23-24]。目前,病原菌效应因子不仅可以模仿 HECT 型与 RING

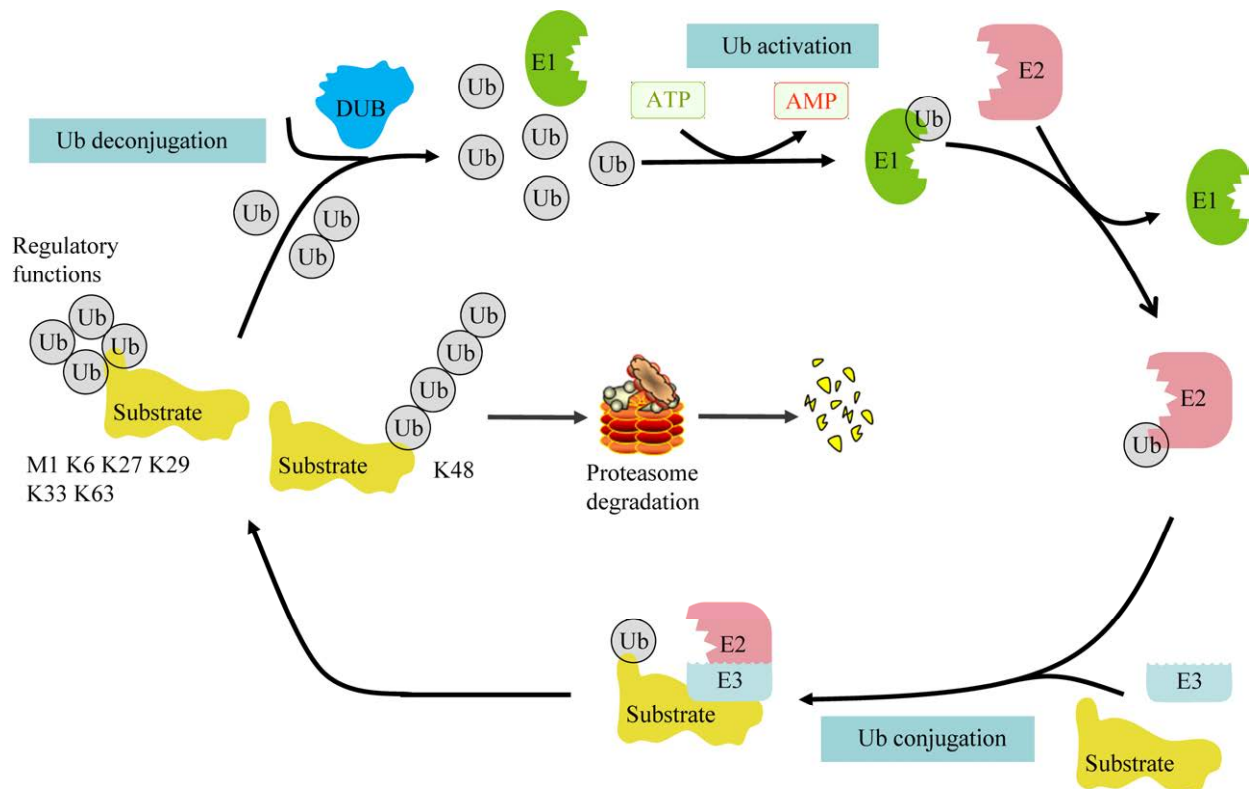


图 1 泛素化和去泛素化过程^[7,21]

Figure 1 The process of ubiquitination and deubiquitination^[7,21].

型泛素连接酶，而且还进化出具有新型结构折叠类型的 E3 泛素连接酶(表 1)。

2.1 HECT E3 泛素连接酶

HECT E3 泛素连接酶家族是最大和最早研究的 E3 泛素连接酶之一，根据 N 端结构域的不同，HECT E3 泛素连接酶可以分为 Nedd4 家族、HERC 家族以及 HECT。HECT 连接酶由 E6AP 及其同源蛋白组成。E6AP 蛋白的 C 端含多个氨基酸组成的 HECT 结构域，能够特异性合成 K48 泛素链^[51]。第一个被确认为 HECT E3 泛素连接酶的细菌效应物是来自沙门氏菌的效应因子 SopA。在被感染的宿主中，SopA 介导 TRIM56 和 TRIM65 的降解，并导致干扰素转录的减少，从而降低宿主细胞抵抗病原体的能力^[25-26]。另一个与宿主编码的 HECT E3 泛素连接酶相似的细菌效应物是肠出血性大肠杆菌的

NleL。NleL 能够单泛素化宿主 c-Jun NH2 末端激酶(c-Jun NH2 terminal kinase, JNKs)，抑制 JNK 与上游激酶 MKK7 的相互作用，进而阻断 JNK 的激活，促进宿主细胞表面肌动蛋白基座的形成^[27]。此外，NleL 的异位表达可以减弱 IKK 的磷酸化和 I κ B α 的降解^[52](图 2)。

2.2 RING E3 泛素连接酶

RING 是 E3 泛素连接酶中最大的一个家族，在泛素化过程中，RING E3 泛素连接酶直接将泛素分子由 E2 转移至底物蛋白^[53]。RING E3 泛素连接酶可分为单体环指和多亚基 E3 泛素连接酶。单体 RING E3 泛素连接酶不仅含有与底物结合和泛素化的结构域，还具有自身泛素化的功能，如 COP1、Mdm2 和 TRAF6^[54]。多亚基 E3 泛素连接酶，例如 cullin-RING 连接酶(cullin-RING ligase, CRL)是一类高度多样化的泛素连

表 1 扰乱宿主泛素化系统的病原菌效应因子汇总

Table 1 Summary of pathogenic bacterial effectors subverting the host ubiquitin system

Bacterial effector	Effector activity	Bacteria	Functions	Targets	References
E3 ligases					
SopA	HECT-like E3 ligase	<i>Salmonella</i>	Regulation of host inflammation	TRIM56 and TRIM65	[25-26]
NleL	HECT-like E3 ligase	EHEC	Modulation of adherence to host epithelial cells <i>via</i> changes to actin pedestal	IPR025726	[27]
AvrPtoB	RING/U-box-type E3 ligase	<i>Pseudomonas syringae</i>	Inhibition of immune response	Fen, Cerk1, Fsl2	[28]
LubX	U-box-type E3 ligase	<i>Legionella pneumophila</i>	Acts as a meta-effector on SidH to advance the infection but also has host targets	Clk1 and SidH	[29]
GobX	U-box-type E3 ligase	<i>Legionella pneumophila</i>	Using S-palmitoylation to ensure its localization in the Golgi	Unknown	[30]
NleG	RING-type E3 ligase	EPEC EHEC	Unknown	Unknown	[31]
IpaH1.4	NEL E3 ligase	<i>Shigella</i>	Antagonizes the ubiquitination of bacteria for degradation <i>via</i> xenophagy, targeting LUBAC for the degradation	HOIP	[32]
IpaH4.5	NEL E3 ligase	<i>Shigella</i>	Inhibition of NF- κ B activation, regulation of cytokine expression	P65	[33]
IpaH0722	NEL E3 ligase	<i>Shigella</i>	Inhibition of NF- κ B activation	TRAF2	[34]
SspH1	NEL E3 ligase	<i>Salmonella</i>	Inhibition of NF- κ B activation	PKN1	[35]
SspH2	NEL E3 ligase	<i>Salmonella</i>	Promotion of IL-8 secretion <i>via</i> Nod1 signaling	Nod1	[36]
SlrP	NEL E3 ligase	<i>Salmonella</i>	Induction of host cell death	Trx	[37]
SidC/SdcA	NEL E3 ligase	<i>Legionella pneumophila</i>	Tethering factor, functions in trafficking between ER and LCV	Rab1	[38-39]
FBXW7	E3 ligase	<i>Mycobacterium</i>	Facilitating the degradation of TNF- α by K63-linked ubiquitylation	TNF- α	[40]
LNx1	E3 ligase	<i>Mycobacterium</i>	Promoting the polyubiquitination and proteasome-mediated degradation of NEK6	NEK6	[41]
Deubiquitinases					
SseL	DUB	<i>Salmonella</i>	Inhibition of NF- κ B activation, required for virulence, interference with autophagy of bacteria, inhibition of lipid droplet accumulation	Ubiquitin aggregates ALIS, S100A6, hnRNPK	[42]
ChlaDUB1	DUB	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Modulation of NF- κ B activation, involved in Golgi fragmentation	I κ B α , Mcl-1	[43]
ChlaDUB2	DUB	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Involved in Golgi fragmentation	TAK1	[43]
ChlaOTU	DUB	<i>Chlamydia caviae</i>	Inhibition of NF- κ B activation	I κ B α	[44]
YopJ	DUB	<i>Yersinia</i>	Inhibition of NF- κ B activation and MAK pathway	TRAF2, TRAF6, I κ B α	[45]
TssM	DUB	<i>Burkholderia</i>	Inhibition of NF- κ B activation and Type 1 IFN activation	TRAF3, TRAF6, I κ B α	[46]
RavD	DUB	<i>Legionella pneumophila</i>	Inhibition of NF- κ B activation	PI3P, PI4P, I κ B α	[47-48]
SdeA	DUB/E3 ligase	<i>Legionella pneumophila</i>	Important for the association of ubiquitinated species with the bacterial phagosome	Unknown	[49-50]

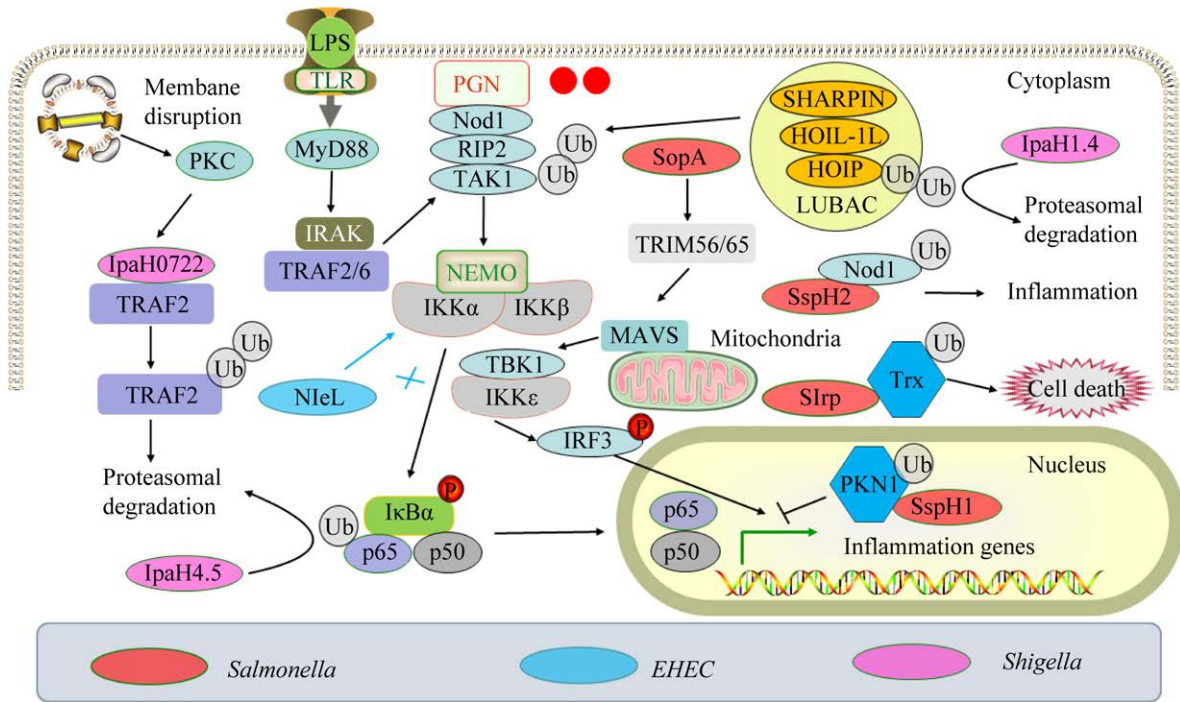


图 2 病原菌通过 E3 泛素连接酶活性的效应因子扰乱宿主泛素化通路^[25-26,32-37,52]

Figure 2 Pathogenic bacteria subvert host ubiquitination pathways via effectors with E3 ubiquitin ligase activity^[25-26,32-37,52].

接酶, cullin 支架包括 N 末端环盒蛋白、衔接蛋白和 C 末端底物受体。另一种关键的多亚基 E3 泛素连接酶 APC/C 由 19 个亚基组装而成, 包括一个 RING 亚基 Apc11 和一个 cullin 样亚基 Apc2^[51]。AvrPtoB 是被最早发现具有泛素连接酶活性的效应因子, 由细菌性植物病原体丁香假单胞杆菌(*Pseudomonas syringe*)产生。AvrPtoB 属于 HopAB 蛋白家族, 在黄单胞菌属(*Xanthomonas*)等植物病原体以及假单胞菌(*Pseudomonas*)的许多菌株中广泛保守。AvrPtoB 的 N 端结构域与宿主蛋白结合可以触发 C 端 U-box 结构域内的 AvrPtoB E3 泛素连接酶活性, 从而导致几个宿主模式识别受体的泛素化^[28]。此外, 由嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*) T4SS 分泌的效应因子 LubX 和 GobX, 以及致病性大肠杆菌 T3SS

分泌的效应因子 NleG 都可以模仿真核生物 RING 型泛素连接酶^[32]。LubX 在宿主细胞中积累到一定的量后, 能够利用宿主的泛素化机制使 SidH 靶向蛋白酶体降解, 从而促进宿主细胞的感染^[29]。GobX 能够利用 S-棕榈酰化来确保其在高尔基体内的定位, 但其宿主底物尚未确定, 需要开展进一步的研究^[30]。NleG 家族的分子功能目前还不清楚, 但 NleG 最保守的 C 端部分在结构上与 RING 支架结构域相似, 并具有 E3 泛素连接酶活性^[31]。

2.3 RBR E3 泛素连接酶

与 RING 和 HECT 类型不同, 新发现的 RBR E3 泛素连接酶是一个独特的 RING-HECT 杂合 E3 泛素连接酶家族。RBR E3 泛素连接酶由一个保守的催化区域特化, 包括一个 RING1、一个

中央中间环 IBR 和一个 RING2 结构域^[55]。RING1 可以招募载有泛素的 E2。RING2 结构域包含一个催化半胱氨酸,当缺少催化半胱氨酸残基时,IBR 结构域可以采用与 RING2 结构域相同的折叠。此外,RBR E3 泛素连接酶可参与分子间相互作用以使蛋白质保持在自抑制状态,这种状态受不同种类的机制调节,例如磷酸化或蛋白质-蛋白质相互作用^[56]。与 HECT E3 泛素连接酶类似,RBR E3 泛素连接酶通过两步反应发挥其功能,首先将 Ub 转移到 RING2 上的催化半胱氨酸位点,然后再转移至底物蛋白^[57-58]。尽管它们通常类似于 HECT E3 泛素连接酶,但 RBR 连接酶倾向于通过线性泛素链泛素化底物,这也是 RBR 连接酶的一种独特机制^[59]。线性泛素链组装复合物 LUBAC 作为一种多亚基 E3 泛素连接酶复合物,由 HOIP、HOIL-1L、Parkin 及 SHARPIN 四部分组成。此外,LUBAC 可以通过特异性组装 Met1 连接的线性泛素链来调节 NF- κ B 信号传导^[51](图 2)。

2.4 新型 E3 泛素连接酶

不同于 HECT 型和 RING 型泛素连接酶的效应因子,广泛存在于多种病原菌中的 IpaH 家族效应因子被认为是一种新型的 E3 泛素连接酶^[60-61]。IpaH 家族效应因子在沙门氏菌(*Salmonella*)、志贺氏菌(*Shigella*)、根瘤菌(*Rhizobium*)和假单胞菌等病原菌中广泛存在,并且拥有大量的同源效应因子。这些同源效应因子都具有 C 端序列高度保守的泛素连接酶结构域和 N 端序列多变但结构保守的亮氨酸(LRR)结构域^[62]。IpaH 效应因子能够通过 LRR 结构域掩盖催化的 Cys 进行自抑制,从而防止不必要泛素化机制的产生。一旦 IpaH 酶通过 LRR 结构域与效应因子结合,这种结合所引起的构象变化会导致 E3 泛素连接酶活性从自抑制状态释放出来。IpaH 家族效应因子成员 IpaH0722 和 IpaH4.5 酶分别通过泛素化 TNF 受体相关因子

2 (TNF receptor correlated factor 2, TRAF2)和 NF- κ B p65 来灭活 NF- κ B 途径^[33-34]。IpaH1.4 通过靶向线性泛素链组装复合物(linear ubiquitin chain assembly complexes, LUBAC)降解来完成对细菌泛素化的拮抗作用^[32](图 2)。

另外,在沙门氏菌中发现的 SspH1、SspH2 和 SlrP 是一组新的 E3 泛素连接酶效应因子。SspH1 通过泛素化宿主 PKN1,进而影响宿主的炎症反应^[35]。SspH2 通过单泛素化上调 Nod1 介导的 IL-8 的分泌,从而介导上皮细胞的先天免疫反应^[36]。SlrP 通过泛素化硫氧还蛋白-1 (Trx) 来促进宿主细胞的凋亡^[37](图 2)。研究发现,大肠杆菌(*Escherichia coli*) III 型分泌系统 2 (ETT2) 分泌的效应因子 EspE3 包含亮氨酸重复序列,具有 E3 泛素连接酶活性,且催化 K63 位点的多聚泛素化。此外,效应因子 EspE3 可以促进禽致病性大肠杆菌的细胞黏附能力、体内定殖能力和致病力,并且能够抑制宿主细胞 IL-1 β 、IL-8 炎症因子的表达,但其如何调控炎症通路尚未清楚^[63]。

另一类新型 E3 泛素连接酶是军团菌编码的 SidC 和及其同源物 SdcA,它们利用其自身独特的结构特点,实现由一种效应因子调控泛素化途径和磷酸肌醇途径的过程。SidC 与 SdcA 序列相似性为 72%,但二者对 E2 的亲合力明显不同,在 E2 酶中,SidC 与 UbcH7 亲合力较强,而 SdcA 与 UbcH5 结合能力更强。SidC 通过对宿主 GTP 酶 Rab1 的单泛素化,参与嗜肺军团菌空泡(LCV)的成熟,但 SidC 和及其同源物 SdcA 的宿主底物尚未清楚^[38-39]。此外,在分枝杆菌中发现的效应因子 FBXW7 和 LNX1 被认为是一种新型的 E3 泛素连接酶。FBXW7 通过 K63 连接的泛素化促进 TNF- α 的降解,从而促进分枝杆菌的免疫逃避^[40]。LNX1 可以直接结合 NEK6,促进 NEK6 的多聚泛素化和蛋白酶体介导的降解^[41]。

3 病原菌效应因子具有去泛素化酶活性

泛素化修饰过程少不了 DUB 的调控, DUB 对泛素相关信号通路具有重要意义。尽管细菌缺乏典型的泛素化修饰系统^[6], 但越来越多研究发现, 病原菌通过分泌具有 DUB 活性的效应因子, 从而对不同的泛素链进行切割, “劫持”宿主细胞泛素化修饰系统并扰乱宿主免疫防御, 最终促进其生存及感染^[64](表 1)。

3.1 具有切割多聚泛素化链的去泛素化酶

根据 MEROPS 数据库(<https://www.ebi.ac.uk/merops/>)序列分析发现, 病原菌中存在一类与去磺酰化酶 (SENP) 相似, 具有共同的 His-Asp/Asn-Cys 活性位点的 DUB, 被列为一种新型“CE 家族 DUB”^[64]。沙门氏菌 SPI-2 T3SS 效应因子 SseL 是最早被报道的细菌 CE 家族 DUB, 同时也是最早被研究去泛素化酶的效应因子, 其可以水解切割 K48 和 K63 多聚泛素链, 但偏好于 K63 多聚泛素链。研究表明, SseL 通过抑制 NF- κ B 信号通路及炎症反应、切割沙门菌囊泡膜 (SCV) 上的多聚泛素链抑制自噬、减少细胞毒性等, 从而增强沙门菌的胞内存活^[42]。另外, 沙眼衣原体效应因子 ChlaDUB1 和 ChlaDUB2 均具有 DUB 活性, 对 K63 多聚泛素链具有特异性。ChlaDUB1 不仅能够去泛素化 NF- κ B 并抑制 NF- κ B 信号通路, 而且可稳定抗凋亡蛋白 Mcl-1 调控细胞凋亡^[43]。而肺炎衣原体含有一个 OTU 家族的 DUB ChlaOTU, 通过切割 K48 和 K63 连接的泛素链, 抑制 NF- κ B 信号通路^[44]。鼠疫耶尔森菌 (*Yersinia pestis*) 效应因子 YopJ 具有 DUB 和乙酰转移酶活性, 能够通过其 DUB 活性切割 K48 和 K63 多聚泛素链, 进而调控 NF- κ B 信号通路及细胞凋亡^[45]。伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia*) 编码的 TssM 效应因子通过裂解

TRAF3、TRAF6 和 I κ B α 中的多聚泛素链来转移宿主的炎症信号, 从而抑制 1 型干扰素和 NF- κ B 途径^[46](图 3)。此外, 据报道黄单胞杆菌 (*Xanthomonas*) 的 XopD、大肠杆菌的 ElaD 以及弗氏链球菌 (*Streptococcus Freundii*) 中的 SchiCE 效应因子也都具有泛素化酶活性^[42]。

3.2 具有切割线性泛素化链的去泛素化酶

线性泛素化链在真核生物的细胞中发挥重要作用, 当入侵的病原菌被机体内的巨噬细胞识别、标记后, 线性泛素化链能够对病原菌进行修饰, 从而激活宿主体内的 NF- κ B 信号通路。在病原菌中, 已经发现了许多具有切割多聚泛素链的去泛素化酶效应因子, 但是对于具有切割线性泛素化链的去泛素化效应因子却一直未发现。最近研究发现, 存在于嗜肺军团菌中的效应因子 RavD 能够特异性切割线性泛素化链中的 DUB^[47]。RavD 具有独特的 Cys-His-Ser 催化三联体基序, 其 C 末端结构域可以与磷脂酰肌醇 PI3P 和 PI4P 结合, 使 RavD 定位在 LCV 上, 然后通过 N 端结构域对线性泛素链进行切割, 从而抑制宿主 NF- κ B 信号通路^[48](图 3)。此外, 通过对嗜肺乳杆菌中 RavD 蛋白 RavDlc 结构的解析, 研究发现该结构由 6 个 α 螺旋和 8 条 β 链组成, 但其核心结构域由 3 条中心 β 链和 α 螺旋组成^[65]。Ub 在 RavDlc 中具有不同的结合方式。在近端时, Ub 结合在一个开放口袋上, 而在远端时 Ub 则结合在一个大的开放表面上, 这种独特的结合方式不仅可以确保 RavDlc 的催化中心准确地作用在 G76-Met1 上, 而且表明了 RavD 效应因子对 Met1 连接泛素链的特异性^[65]。此外, 在军团菌属的其他细菌中也发现了具有特异性切割线性泛素链的去泛素化效应因子, 并且它们均为 RavD 的同源蛋白, 这表明在宿主细胞内特异性切割线性泛素链是军团菌属细菌生存的一种法则。

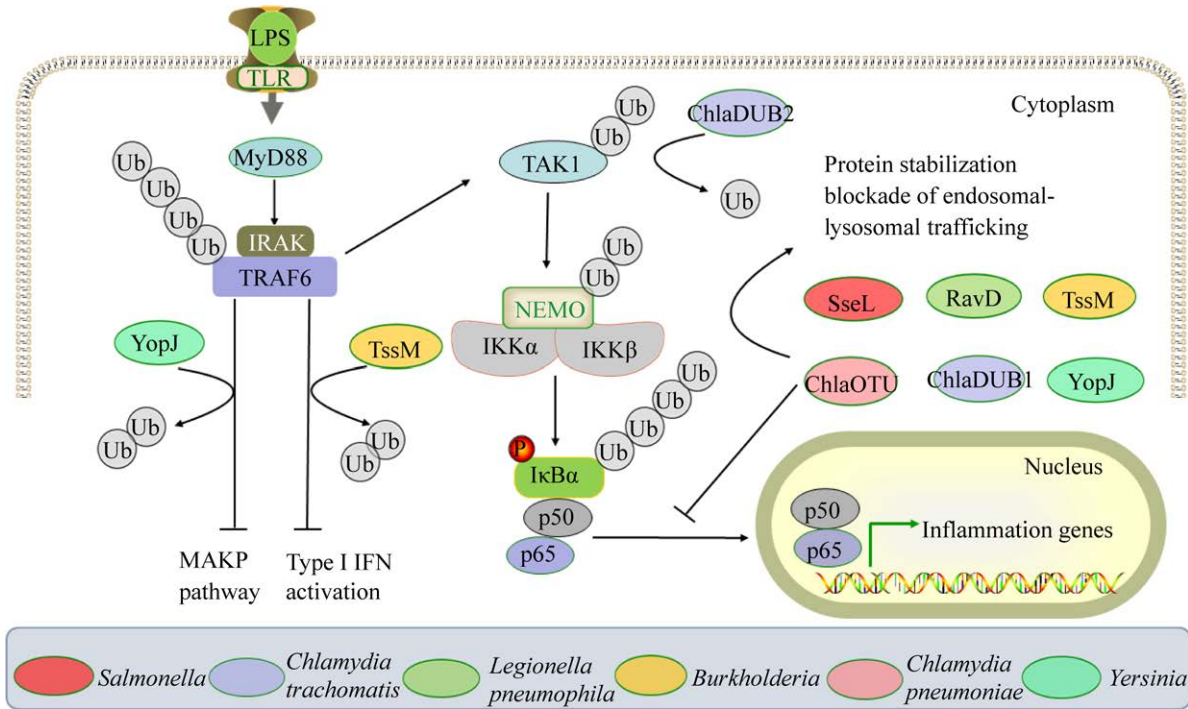


图3 病原菌通过去泛素化酶活性的效应因子扰乱宿主泛素化修饰^[42-48]

Figure 3 Pathogenic bacteria subvert host ubiquitination pathways through effectors with deubiquitinase activity^[42-48].

4 细菌效应因子调控非经典泛素化途径

随着对细菌病原体内效应因子结构和功能的不断研究,最近,在嗜肺军团菌中发现了可以调控非经典泛素化途径的效应蛋白因子 MavC/MvcA 和 SidE 家族效应因子。与经典泛素化机制不同的是,这两种效应因子介导的泛素化途径不需要经过三级酶联反应的参与,这些非经典泛素化机制有助于人们更加全面了解病原菌所采用的入侵机制。

4.1 SidE 家族效应蛋白调控的非经典泛素化途径

嗜肺军团菌编码的 SidE 家族效应因子包括 SdeA、SdeB、SdeC 和 SidE,它们可以对宿主蛋白进行非经典泛素化修饰^[66]。SidE 家族效应因

子包含 4 个结构域,分别为 DUB 结构域、一个磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)结构域、一个单 ADP 核糖基转移酶(mART)结构域和一个卷曲螺旋(CC)结构域^[67]。SidE 家族效应因子不需要利用 E1 和 E2 酶就可以完成泛素化催化这一过程。例如,效应因子 SdeA 的催化过程可以分两步进行,首先,泛素分子 Arg42 在 mART 结构域的催化下进行 ADP 糖基化修饰,形成 ADP 核糖泛素中间体(ADPR-Ub)。然后, SidE 的 PDE 结构域将 ADPR-Ub 转换为磷酸核糖基并释放出 AMP 分子,泛素通过磷酸核糖基团共价连接到底物或 SdeA 的丝氨酸残基上^[49-50]。另外, SidE 家族效应因子还可以通过 PR 泛素化宿主蛋白,从而调控不同细胞功能^[49]。PR 泛素化底物主要为内质网内的调节蛋白,主要包括 FAM134 家族蛋白、RTN3 以及 TEX264 等蛋白。

这些底物蛋白能够将内质网分解为大小不同的片段,然后将分解的片段转运到溶酶体内,再利用内质网的吞噬途径进行降解^[68-69]。研究发现, SidE 家族效应因子可以将维持内质网结构稳定的蛋白 Atlastins PR 泛素化^[70]。因此, SidE 家族效应因子介导的磷酸核糖泛素化途径可以依据 PR 泛素化宿主蛋白来实现对细胞凋亡及囊泡运输等过程的干扰,从而有利于其对宿主细胞的感染。

4.2 MavC 与 MvcA 效应因子调控的非经典泛素化途径

在转谷氨酰胺酶的作用下,嗜肺军团菌效应因子 MavC 将 E2 泛素结合酶(UBE2N)的 2 个赖氨酸残基 K92 和 K94 与 Ub 的谷氨酰胺残基 Q40 相互催化形成异肽键,从而实现了对宿主 UBE2N 的非经典泛素化途径^[71-72]。这一劫持过程阻止了 UBE2N 与宿主细胞蛋白之间 K63 型多聚泛素链的形成,从而抑制 NF- κ B 信号通路激活^[71-72]。另外,在嗜肺军团菌发现的另一个效应因子 MvcA 可以将 MavC 催化的泛素化过程进行特异性逆转,从而实现了对宿主信号精确的时空调控^[71]。MvcA 与 MavC 一级序列相似,同源率超过 50%,结构也相似,二者都由一个插入域、一个球状中心结构域和一个尾部 α 螺旋延伸区域组成,MvcA 与 MavC 通过 3 个结构域的相互配合完成催化反应^[71]。根据研究发现,MvcA 在嗜肺军团菌感染的后期能够将 MavC 的产物 UBE2N-Ub 进行去泛素化。在这个过程中,MvcA 不仅具有和其他脱酰胺酶一样的催化中心,而且还拥有一个独特的结构域,从而可以与底物 UBE2N-Ub 相互结合^[71-73]。另外,在 MavC 参与的泛素化体系中,当 MavC 的量较高时,其本身也表现出一定的去泛素化酶活性,能够裂解 UBE2N-Ub。但在嗜肺军团菌侵袭宿主细胞过程中,Ub 的含量远远高于 UBE2N-Ub,也就是说,

MavC 主要介导非典型泛素化途径,在相反的催化反应中体现出弱活性,而效应因子 MvcA 在这种泛素化反应过程中体现专一性^[74]。

5 总结及展望

泛素化修饰自发现以来,已经被证实是介导真核细胞内蛋白质降解的最主要途径,它在调控蛋白质稳定性、功能、活性及亚细胞定位等方面具有非常重要的作用^[1-2]。目前,在泛素化酶联反应过程中,调节宿主泛素信号通路的效应因子可以模仿宿主体内蛋白质的活性,或者利用其独特的生物活性,对泛素化过程进行修改调节,从而逃避宿主的免疫监视,促进病原菌感染。随着研究的不断深入,我们对病原菌调节泛素化过程的信号通路已经有了新的认识,但仍存在许多未知的调节机制需要我们进一步进行研究。例如,病原菌效应因子除了调控泛素分子、去泛素化酶、泛素结合酶以及泛素连接酶外,其是否还可以对泛素激活酶进行调节还需要进一步去验证。

近年来关于病原菌利用效应因子调控泛素化途径的报道不断增多,例如,嗜肺军团菌效应因子 RavD 能够特异性切割宿主巨噬细胞内嗜肺军团菌囊泡膜(LCV)上的 M1 线性泛素链,抑制宿主 NF- κ B 信号通路及炎症应答,从而促进其胞内生存^[62]。结核分枝杆菌效应因子 RV0222 和 PtpA 能够利用宿主细胞内的泛素分子对宿主自身免疫信号通路的激活进行抑制^[75]。布鲁氏菌(*Brucella*)效应因子 TcpB 能够促进泛素化和胱天蛋白酶 1、4 和 11 降解,从而减弱 LPS 诱导的非典型炎性体信号传导^[76]。因此,病原菌效应因子在很多生命过程中具有重要作用,许多疾病的产生都与之相关,深入研究效应因子的分子机制将有助于我们全面了解细菌病原体所采用的模仿机制,对于开发新的治疗方法策略至关重要。

参考文献

- [1] LIU X, WANG Q, CHEN W, WANG C. Dynamic regulation of innate immunity by ubiquitin and ubiquitin-like proteins[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2013, 24(6): 559-570.
- [2] SHAID S, BRANDTS CH, SERVE H, DIKIC I. Ubiquitination and selective autophagy[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2013, 20(1): 21-30.
- [3] ABDUL REHMAN SA, KRISTARIYANTO YA, CHOI SY, NKOSI PJ, WEIDLICH S, LABIB K, HOFMANN K, KULATHU Y. MINDY-1 is a member of an evolutionarily conserved and structurally distinct new family of deubiquitinating enzymes[J]. *Molecular Cell*, 2016, 63(1): 146-155.
- [4] HU RG, HOCHSTRASSER M. Recent progress in ubiquitin and ubiquitin-like protein (ubl) signaling[J]. *Cell Research*, 2016, 26(4): 389-390.
- [5] STEELE-MORTIMER O. Exploitation of the ubiquitin system by invading bacteria[J]. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 2011, 12(2): 162-169.
- [6] QIU JZ, LUO ZQ. Hijacking of the host ubiquitin network by *Legionella pneumophila*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2017, 7: 487.
- [7] YIN X, LIU QB, LIU F, TIAN XC, YAN TH, HAN J, JIANG SL. Emerging roles of non-proteolytic ubiquitination in tumorigenesis[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 944460.
- [8] VOZANDYCHOVA V, STOJKOVA P, HERCIK K, REHULKA P, STULIK J. The ubiquitination system within bacterial host-pathogen interactions[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(3): 638.
- [9] SENFT D, QI JF, RONAI ZA. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2018, 18(2): 69-88.
- [10] JACOBSON AD, ZHANG NY, XU P, HAN KJ, NOONE S, PENG JM, LIU CW. The lysine 48 and lysine 63 ubiquitin conjugates are processed differently by the 26S proteasome[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(51): 35485-35494.
- [11] MADIRAJU C, NOVACK JP, REED JC, MATSUZAWA SI. K63 ubiquitination in immune signaling[J]. *Trends in Immunology*, 2022, 43(2): 148-162.
- [12] MANZANILLO PS, AYRES JS, WATSON RO, COLLINS AC, SOUZA G, RAE CS, SCHNEIDER DS, NAKAMURA K, SHILOH MU, COX JS. The ubiquitin ligase parkin mediates resistance to intracellular pathogens[J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 512-516.
- [13] MORRIS JR, SOLOMON E. BRCA1: BARD1 induces the formation of conjugated ubiquitin structures, dependent on K6 of ubiquitin, in cells during DNA replication and repair[J]. *Human Molecular Genetics*, 2004, 13(8): 807-817.
- [14] ORDUREAU A, SARRAF SA, DUDA DM, HEO JM, JEDRYCHOWSKI MP, SVIDERSKIY VO, OLSZEWSKI JL, KOERBER JT, XIE T, BEAUSOLEIL SA, WELLS JA, GYGI SP, SCHULMAN BA, HARPER JW. Quantitative proteomics reveal a feedforward mechanism for mitochondrial PARKIN translocation and ubiquitin chain synthesis[J]. *Molecular Cell*, 2014, 56(3): 360-375.
- [15] JIA JJ, LIAO XY, LIANG YY, CHEN RL, GAO FG. K48- and K27-mutant ubiquitin regulates adaptive immune response by affecting cross-presentation in bone marrow precursor cells[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2022, 112(1): 157-172.
- [16] YU YY, ZHENG QY, ERRAMILI SK, PAN M, PARK S, XIE Y, LI JX, FEI JY, KOSSIAKOFF AA, LIU L, ZHAO ML. K29-linked ubiquitin signaling regulates proteotoxic stress response and cell cycle[J]. *Nature Chemical Biology*, 2021, 17(8): 896-905.
- [17] RIBET D, COSSART P. Ubiquitin, SUMO, and NEDD8: key targets of bacterial pathogens[J]. *Trends in Cell Biology*, 2018, 28(11): 926-940.
- [18] XU R, LU T, ZHAO JY, LI Q, WANG J, PENG B, LIU J, ZHANG PF, QU LD, CHANG XY, YAO LQ, ZHANG LY. Identification of ubiquitinated substrate proteins and their gene expression patterns in lung adenocarcinoma[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2021, 9(22): 1692.
- [19] JAHAN AS, ELBÆK CR, DAMGAARD RB. Met1-linked ubiquitin signalling in health and disease: inflammation, immunity, cancer, and beyond[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2021, 28(2): 473-492.
- [20] CLAGUE MJ, BARSUKOV I, COULSON JM, LIU H, RIGDEN DJ, URBÉ S. Deubiquitylases from genes to organism[J]. *Physiological Reviews*, 2013, 93(3): 1289-1315.
- [21] PARSONS JL, DIANOVA II, KHORONENKOVA SV, EDELMANN MJ, KESSLER BM, DIANOV GL. USP47 is a deubiquitylating enzyme that regulates base excision repair by controlling steady-state levels of DNA polymerase B[J]. *Molecular Cell*, 2011, 41(5): 609-615.
- [22] HICKS SW, GALÁN JE. Exploitation of eukaryotic subcellular targeting mechanisms by bacterial effectors[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(5): 316-326.
- [23] JIA Q, SUN S, SUN T, LIN W. Mechanism of F-box protein family in plant resistance response to

- environmental stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(8): 1125-1136.
- [24] LECHNER E, ACHARD P, VANSIRI A, POTUSCHAK T, GENSHIK P. F-box proteins everywhere[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(6): 631-638.
- [25] FISKIN E, BHOGARAJU S, HERHAUS L, KALAYIL S, HAHN M, DIKIC I. Structural basis for the recognition and degradation of host TRIM proteins by *Salmonella* effector SopA[J]. Nature Communications, 2017, 8: 14004.
- [26] ZHANG Y, HIGASHIDE WM, McCORMICK BA, CHEN J, ZHOU DG. The inflammation-associated *Salmonella* SopA is a HECT-like E3 ubiquitin ligase[J]. Molecular Microbiology, 2006, 62(3): 786-793.
- [27] SHENG XP, YOU Q, ZHU HN, CHANG ZN, LI QR, WANG HF, WANG C, WANG HY, HUI LJ, DU CT, XIE XD, ZENG R, LIN AN, SHI DF, RUAN KC, YAN JH, GAO GF, SHAO F, HU RG. Bacterial effector NleL promotes enterohemorrhagic *E. coli*-induced attaching and effacing lesions by ubiquitylating and inactivating JNK[J]. PLoS Pathogens, 2017, 13(7): e1006534.
- [28] ROSEBROCK TR, ZENG LR, BRADY JJ, ABRAMOVITCH RB, XIAO FM, MARTIN GB. A bacterial E3 ubiquitin ligase targets a host protein kinase to disrupt plant immunity[J]. Nature, 2007, 448(7151): 370-374.
- [29] KUBORI T, SHINZAWA N, KANUKA H, NAGAI H. *Legionella* metaeffector exploits host proteasome to temporally regulate cognate effector[J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(12): e1001216.
- [30] HIGASHI Y, NAGAI Y, MACHIDA M, HAYASHI N. Field-angle resolved flux-flow resistivity as a phase-sensitive probe of unconventional Cooper pairing[J]. Physical Review B, 2013, 88(22): 224511.
- [31] WU B, SKARINA T, YEE A, JOBIN MC, DILEO R, SEMESI A, FARES C, LEMAK A, COOMBES BK, ARROWSMITH CH, SINGER AU, SAVCHENKO A. NleG type 3 effectors from enterohaemorrhagic *Escherichia coli* are U-box E3 ubiquitin ligases[J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(6): e1000960.
- [32] BERGLUND J, GJONDREKAJ R, VERNEY E, MAUPIN-FURLOW JA, EDELMANN MJ. Modification of the host ubiquitome by bacterial enzymes[J]. Microbiological Research, 2020, 235: 126429.
- [33] WANG F, JIANG Z, LI Y, HE X, ZHAO JL, YANG XL, ZHU L, YIN ZT, LI XL, WANG XS, LIU W, SHANG W, YANG Z, WANG SM, ZHEN Q, ZHANG ZN, YU YQ, ZHONG H, YE QN, HUANG LY, et al. *Shigella flexneri* T3SS effector IpaH4.5 modulates the host inflammatory response *via* interaction with NF- κ B p65 protein[J]. Cellular Microbiology, 2013, 15(3): 474-485.
- [34] ASHIDA H, NAKANO H, SASAKAWA C. *Shigella* IpaH0722 E3 ubiquitin ligase effector targets TRAF₂ to inhibit PKC-NF- κ B activity in invaded epithelial cells[J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(6): e1003409.
- [35] HARAGA A, MILLER SI. A *Salmonella* type III secretion effector interacts with the mammalian serine/threonine protein kinase PKN_i[J]. Cellular Microbiology, 2006, 8(5): 837-846.
- [36] BHAVSAR AP, BROWN NF, STOEPPEL J, WIERMER M, MARTIN DDO, HSU KJ, IMAMI K, ROSS CJ, HAYDEN MR, FOSTER LJ, LI X, HIETER P, FINLAY BB. The *Salmonella* type III effector SspH2 specifically exploits the NLR co-chaperone activity of SGT1 to subvert immunity[J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(7): e1003518.
- [37] BERNAL-BAYARD J, RAMOS-MORALES F. *Salmonella* type III secretion effector SlrP is an E3 ubiquitin ligase for mammalian thioredoxin[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(40): 27587-27595.
- [38] HSU F, LUO X, QIU JZ, TENG YB, JIN JP, SMOLKA MB, LUO ZQ, MAO YX. The *Legionella* effector SidC defines a unique family of ubiquitin ligases important for bacterial phagosomal remodeling[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(29): 10538-10543.
- [39] LUO X, WASILKO DJ, LIU Y, SUN JY, WU XC, LUO ZQ, MAO YX. Structure of the *Legionella* virulence factor, SidC reveals a unique PI(4)P-specific binding domain essential for its targeting to the bacterial phagosome[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(6): e1004965.
- [40] SONG JR, CHAO J, HU XH, WEN X, DING CR, LI D, ZHANG D, HAN SS, YU X, YAN B, JIN Z, SONG YH, GONZALES J, VIA LE, ZHANG L, WANG DC. E3 ligase FBXW7 facilitates *Mycobacterium* immune evasion by modulating TNF- α expression[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 851197.
- [41] FU BB, XUE WW, ZHANG HW, ZHANG R, FELDMAN K, ZHAO QT, ZHANG SF, SHI L, PAVANI KC, NIAN WQ, LIN XY, WU HB. MicroRNA-325-3p facilitates immune escape of *Mycobacterium tuberculosis* through targeting LNX1 *via* NEK6 accumulation to promote anti-apoptotic STAT3 signaling[J]. mBio, 2020, 11(3): e00557-e00520.
- [42] MESQUITA FS, THOMAS M, SACHSE M, SANTOS AJM, FIGUEIRA R, HOLDEN DW. The *Salmonella* deubiquitinase SseL inhibits selective autophagy of

- cytosolic aggregates[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(6): e1002743.
- [43] Le NEGRATE G, KRIEG A, FAUSTIN B, LOEFFLER M, GODZIK A, KRAJEWSKI S, REED JC. ChlaDub1 of *Chlamydia trachomatis* suppresses NF-kappaB activation and inhibits IkappaBalpha ubiquitination and degradation[J]. *Cellular Microbiology*, 2008, 10(9): 1879-1892.
- [44] FURTADO AR, ESSID M, PERRINET S, BALAÑÁ ME, YODER N, DEHOUX P, SUBTIL A. The chlamydial OTU domain-containing protein ChlaOTU is an early type III secretion effector targeting ubiquitin and NDP52[J]. *Cellular Microbiology*, 2013, 15(12): 2064-2079.
- [45] ZHOU HL, MONACK DM, KAYAGAKI N, WERTZ I, YIN JP, WOLF B, DIXIT VM. *Yersinia* virulence factor YopJ acts as a deubiquitinase to inhibit NF-kappa B activation[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2005, 202(10): 1327-1332.
- [46] TAN KS, CHEN YH, LIM YC, TAN GY G, LIU YC, LIM YT, MACARY P, GAN YH. Suppression of host innate immune response by *Burkholderia pseudomallei* through the virulence factor TssM[J]. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md: 1950), 2010, 184(9): 5160-5171.
- [47] PIKE CM, BOYER-ANDERSEN R, KINCH LN, CAPLAN JL, NEUNUEBEL MR. The *Legionella* effector RavD binds phosphatidylinositol-3-phosphate and helps suppress endolysosomal maturation of the *Legionella*-containing vacuole[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(16): 6405-6415.
- [48] CHOSED R, TOMCHICK DR, BRAUTIGAM CA, MUKHERJEE S, NEGI VS, MACHIUS M, ORTH K. Structural analysis of *Xanthomonas* XopD provides insights into substrate specificity of ubiquitin-like protein proteases[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(9): 6773-6782.
- [49] BHOGARAJU S, KALAYIL S, LIU YB, BONN F, COLBY T, MATIC I, DIKIC I. Phosphoribosylation of ubiquitin promotes serine ubiquitination and impairs conventional ubiquitination[J]. *Cell*, 2016, 167(6): 1636-1649.e13.
- [50] WANG Y, SHI M, FENG H, ZHU YL, LIU SQ, GAO A, GAO P. Structural insights into non-canonical ubiquitination catalyzed by SidE[J]. *Cell*, 2018, 173(5): 1231-1243.e16.
- [51] YANG Q, ZHAO JY, CHEN D, WANG Y. E3 ubiquitin ligases: styles, structures and functions[J]. *Molecular Biomedicine*, 2021, 2(1): 23.
- [52] SHENG XP, YOU Q, ZHU HN, LI QR, GAO H, WANG HF, YOU CP, MENG Q, NIE YJ, ZHANG XY, HU RG. Enterohemorrhagic *E. coli* effector NleL disrupts host NF-kB signaling by targeting multiple host proteins[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2020, 12(4): 318-321.
- [53] BULATOV E, CIULLI A. Targeting Cullin-RING E3 ubiquitin ligases for drug discovery: structure, assembly and small-molecule modulation[J]. *The Biochemical Journal*, 2015, 467(3): 365-386.
- [54] JOAZEIRO CA, WEISSMAN AM. RING finger proteins: mediators of ubiquitin ligase activity[J]. *Cell*, 2000, 102(5): 549-552.
- [55] AGUILERA M, OLIVEROS M, MARTÍNEZ-PADRÓN M, BARBAS JA, FERRÚS A. *Ariadne-1*: a vital *Drosophila* gene is required in development and defines a new conserved family of ring-finger proteins[J]. *Genetics*, 2000, 155(3): 1231-1244.
- [56] WALDEN H, RITTINGER K. RBR ligase-mediated ubiquitin transfer: a tale with many twists and turns[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2018, 25(6): 440-445.
- [57] SMIT JJ, SIXMA TK. RBR E3-ligases at work[J]. *EMBO Reports*, 2014, 15(2): 142-154.
- [58] WENZEL DM, LISSOUNOV A, BRZOVIC PS, KLEVIT RE. UBCH₇ reactivity profile reveals parkin and HHARI to be RING/HECT hybrids[J]. *Nature*, 2011, 474(7349): 105-108.
- [59] BERNDSEN CE, WOLBERGER C. New insights into ubiquitin E3 ligase mechanism[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2014, 21(4): 301-307.
- [60] SINGER AU, ROHDE JR, LAM R, SKARINA T, KAGAN O, DiLEO R, CHIRGADZE NY, CUFF ME, JOACHIMIAK A, TYERS M, SANSONETTI PJ, PARSOT C, SAVCHENKO A. Structure of the *Shigella* T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(12): 1293-1301.
- [61] ZHU YQ, LI HT, HU LY, WANG JY, ZHOU Y, PANG ZM, LIU LP, SHAO F. Structure of a *Shigella* effector reveals a new class of ubiquitin ligases[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(12): 1302-1308.
- [62] YI ZF, WANG D, XIN SH, ZHOU DL, LI T, TIAN MX, QI JJ, DING C, WANG SH, YU SQ. The CpxR regulates type VI secretion system 2 expression and facilitates the interbacterial competition activity and virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Veterinary Research*, 2019, 50(1): 40.
- [63] MUKHERJEE R, DIKIC I. Regulation of host-pathogen interactions via the ubiquitin system[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2022, 76: 211-233.

- [64] PRUNEDA JN, DURKIN CH, GEURINK PP, OVAA H, SANTHANAM B, HOLDEN DW, KOMANDER D. The molecular basis for ubiquitin and ubiquitin-like specificities in bacterial effector proteases[J]. *Molecular Cell*, 2016, 63(2): 261-276.
- [65] WAN MY, WANG XF, HUANG CF, XU DD, WANG Z, ZHOU Y, ZHU YQ. A bacterial effector deubiquitinase specifically hydrolyses linear ubiquitin chains to inhibit host inflammatory signalling[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(8): 1282-1293.
- [66] QIU JZ, SHEEDLO MJ, YU KW, TAN YH, NAKAYASU ES, DAS C, LIU XY, LUO ZQ. Ubiquitination independent of E1 and E2 enzymes by bacterial effectors[J]. *Nature*, 2016, 533(7601): 120-124.
- [67] JEONG M, JEON H, SHIN D. Ubiquitin-regulating effector proteins from *Legionella*[J]. *BMB Reports*, 2022, 55(7): 316-322.
- [68] AN H, ORDUREAU A, PAULO JA, SHOEMAKER CJ, DENIC V, HARPER JW. TEX264 is an endoplasmic reticulum-resident ATG8-interacting protein critical for ER remodeling during nutrient stress[J]. *Molecular Cell*, 2019, 74(5): 891-908.e10.
- [69] GRUMATI P, MOROZZI G, HÖLPER S, MARI M, HARWARDT ML I, YAN RQ, MÜLLER S, REGGIORI F, HEILEMANN M, DIKIC I. Full length RTN₃ regulates turnover of tubular endoplasmic reticulum *via* selective autophagy[J]. *eLife*, 2017, 6: e25555.
- [70] HU JJ, SHIBATA Y, ZHU PP, VOSS C, RISMANCHI N, PRINZ WA, RAPOPORT TA, BLACKSTONE C. A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network[J]. *Cell*, 2009, 138(3): 549-561.
- [71] GAN NH, GUAN HX, HUANG YN, YU T, FU JQ, NAKAYASU ES, PUVAR K, DAS C, WANG DM, OUYANG SY, LUO ZQ. *Legionella pneumophila* regulates the activity of UBE2N by deamidase-mediated deubiquitination[J]. *The EMBO Journal*, 2020, 39(4): e102806.
- [72] PUVAR K, IYER S, FU JQ, KENNY S, NEGRÓN TERÓN KI, LUO ZQ, BRZOVIC PS, KLEVIT RE, DAS C. *Legionella* effector MavC targets the Ube2N-Ub conjugate for noncanonical ubiquitination[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 2365.
- [73] GUAN HX, FU JQ, YU T, WANG ZX, GAN NH, HUANG YN, PERČULIJA V, LI Y, LUO ZQ, OUYANG SY. Molecular basis of ubiquitination catalyzed by the bacterial transglutaminase MavC[J]. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 2020, 7(12): 2000871.
- [74] MU YJ, WANG Y, HUANG YF, LI D, HAN YY, CHANG M, FU JQ, XIE YC, REN J, WANG H, ZHANG Y, LUO ZQ, FENG Y. Structural insights into the mechanism and inhibition of transglutaminase- induced ubiquitination by the *Legionella* effector MavC[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 1774.
- [75] WANG L, WU JH, LI J, YANG H, TANG TQ, LIANG HJ, ZUO MY, WANG J, LIU HP, LIU F, CHEN JX, LIU ZH, WANG Y, PENG C, WU XY, ZHENG RJ, HUANG XC, RAN YJ, RAO ZH, GE BX. Host-mediated ubiquitination of a mycobacterial protein suppresses immunity[J]. *Nature*, 2020, 577(7792): 682-688.
- [76] JAKKA P, NAMANI S, MURUGAN S, RAI N, RADHAKRISHNAN G. The *Brucella* effector protein TcpB induces degradation of inflammatory caspases and thereby subverts non-canonical inflammasome activation in macrophages[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(50): 20613-20627.