



(<http://www.ibp.cas.cn/>)

(<http://www.ibp.cas.cn/>)

高璞组揭示病原菌介导的新型泛素化及去泛素化的催化调控机制

发布时间: 2020年06月04日

2020年6月2日,《Nature Communications》杂志在线发表了高璞课题组的研究论文"Insights into catalysis and regulation of non-canonical ubiquitination and deubiquitination by bacterial deamidase effectors"。该工作解析了来源于高致病性嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*) 的新型泛素化酶MavC与底物蛋白UBE2N及泛素分子的复合物结构,并同时解析了MavC及其同源蛋白MvcA与负调控因子Lpg2149的两种复合物结构。结合大量生化和细胞实验,阐明了这种新型泛素化修饰系统催化和调控的分子机制。

蛋白质泛素化修饰是真核细胞最重要的翻译后修饰之一。经典的泛素化修饰需要通过E1-E2-E3三酶级联反应来催化完成,而近期鉴定的两类*L. pneumophila*效应蛋白(SidE和MavC)却可以通过不依赖E1-E2-E3的全新方式催化宿主蛋白的泛素化修饰(图1)。高璞课题组曾于2018年在《Cell》杂志报道了SidE家族蛋白催化反应的结构和分子机制,而此项最新工作则主要是围绕MavC家族蛋白展开研究。

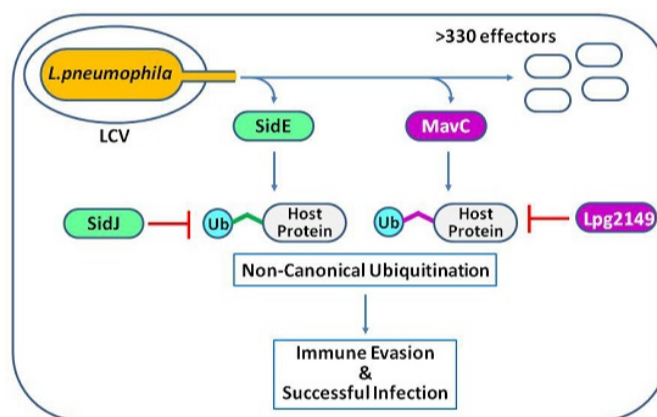


图1: 病原菌编码的两种新型泛素化修饰系统

MavC所在基因组簇可编码三种效应蛋白: Lpg2147 (MavC), Lpg2148 (MavC paralog A或MvcA) 和Lpg2149。MavC和MvcA均可以催化泛素分子的脱氨反应 (Ub-Q40转变为Ub-E40), 而Lpg2149则可以抑制这两种脱氨酶的活性。近期的研究表明, MavC还可以特异性泛素化修饰宿主蛋白UBE2N, 进而抑制UBE2N的正常E2功能, 从而抑制NF- κ B通路的活化。有趣的是, 尽管MvcA与MavC非常类似, 但MvcA却不能催化UBE2N泛素化。

研究人员利用MavC催化制备了泛素化修饰的UBE2N (UBE2N~Ub), 并解析了MavC与UBE2N~Ub复合物的晶体结构(图2a)。该结构直接揭示了MavC与UBE2N以及Ub的互作界面, 并表明MavC利用同一个活性中心催化脱氨反应及泛素化反应。MvcA与MavC的序列和结构比较表明, MvcA的Insertion结构域中并不保守存在能够与UBE2N结合的关键氨基酸, 这也解释了为何MvcA不能稳定结合游离状态的UBE2N, 以及为何不能催化UBE2N的泛素化修饰。这些基于结构所得的结论, 也进一步通过生化和细胞实验获得了验证。

出乎意料的是, MavC和MvcA还具备去泛素化酶的活性, 可以特异性去除MavC介导的UBE2N泛素化修饰(图2b)。由于MvcA比MavC的去泛素化活性更强, 因而在实际感染中MavC和MvcA很可能分别发挥泛素化酶和去泛素化酶的功能。这一发现表明MavC可以利用同一个活性口袋来催化脱氨、泛素化以及去泛素化三种酶学反应, 同时鉴定了MavC是目前为止第一个能够同时添加和去除同一类泛素化修饰的酶。

研究人员进一步解析了MavC+Lpg2149复合物和MvcA+Lpg2149复合物的晶体结构(图2a)。与游离状态下的晶体结构呈现紧密二聚体不同, Lpg2149以单体形式与MavC或MvcA相互作用。由于Lpg2149和Ub占据相似的结合位置, 说明Lpg2149可以直接干扰Ub与MavC/MvcA的相互作用。功能实验表明, Lpg2149确实可以同时抑制脱氨、泛素化及去泛素化。有意思的是, 游离状态的MavC本身就具备Lpg2149的结合构象, 而MvcA则需要发生较大的构象变化来实现与Lpg2149的结合。进一步的结合实验表明, MavC-Lpg2149的亲合力比MvcA-Lpg2149强约50倍, 这与结构分析是一致的。

综上，本研究较为完整的阐明了Mavc介导的新型泛素化修饰的催化和调控机制，既有助于理解病原与宿主相互博弈的多样性机制，也可为新型抗菌疗法的设计提供思路。

高璞研究员为通讯作者，其课题组副研究员王勇和博士生展琪为共同第一作者。高光侠研究员及其课题组副研究员王新路指导并开展了细胞实验。上海光源为晶体数据收集提供了支持。生物物理所平台杨福全研究员和王继峰博士为质谱分析提供了帮助，陈媛媛博士为ITC实验提供了帮助。此研究得到国家自然科学基金委、科技部及中科院的经费支持。

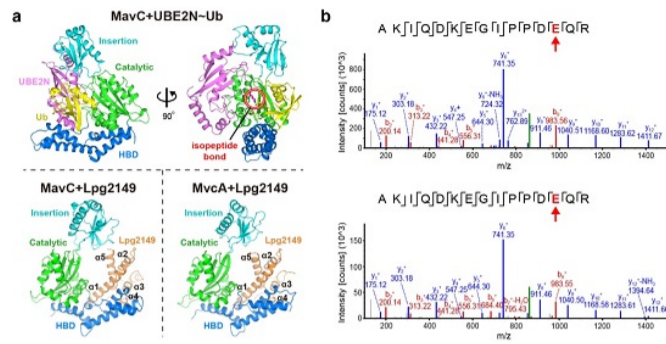


图2: a, MavC+UBE2N~Ub、MavC+Lpg2149和MvcA+Lpg2149三种复合物的晶体结构; b, MavC (上) 和MvcA (下) 催化UBE2N~Ub去泛素化的切割位点。

媒体报道: <http://blog.sciencenet.cn/blog-3423233-1236257.html>
(<http://blog.sciencenet.cn/blog-3423233-1236257.html>)

文章链接: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-16587-w>
(<https://www.nature.com/articles/s41467-020-16587-w>)

(供稿: 高璞研究组)



版权所有: 中国科学院生物物理研究所 119 京ICP备
05002792号 京公网安备 110402500011 号
地址: 北京市朝阳区大屯路15号 邮编: 100101
电话: 010-64889872 电子邮件: webadmin@ibp.ac.cn



(<http://bszs.cas.ac.cn/method=show&i>)