

北化工冯越组揭示新型泛素化反应的分子机制

Feng Yue Group of Beijing University of Chemical Technology Reveals the Molecular Mechanism of New Ubiquitination Reaction



冯越教授

5月23日，北京软物质科学与工程高精尖创新中心、北京化工大学生命学院冯越教授研究组在 Nature 在线发表最新研究成果，揭示了嗜肺军团菌内一种新型的泛素修饰与连接酶——SdeA 及其与泛素复合物的晶体结构，并解析了其修饰泛素及催化新型泛素化过程的工作机理。

泛素化是泛素在特定酶的作用下，对底物蛋白进行特异性修饰的过程，几乎参与一切生命活动的调控，与肿瘤、心血管等疾病的发病也密切相关。常规的泛素化过程是由 E1、E2、E3 三个酶的级联反应催化的，最终将泛素蛋白转移到底物的赖氨酸残基上。然而，美国普渡大学罗招庆研究组在 2016 年的 Nature 文章中报道，嗜肺军团菌（一种条件性致病菌）中以 SdeA 为代表的 SidE 家族可以通过一种全新的、完全不同于经典泛素化的方式修饰泛素，并催化其对几种内质网相关蛋白的泛素化过程，实现 all-in-one 的泛素化模式。

紧接着，在 2016 年底，Ivan Dikic 研究组报道了对该反应过程的进一步研究，明确了 SdeA 的 mART 和 PDE 结构域经过两步催化反应最终完成对底物的泛素化过程。此外，罗招庆实验室的另一项工作证明 SidJ 具有去泛素化功能以逆转由 SidE 家族蛋白对底物的修饰，其活性不依赖于活性的半胱氨酸残基。

巧合的是，在 Ivan Dikic 组 Cell 文章在线发表的同一天（2016 年 12 月 1 日），冯越研究组获得了 SdeA 核心区 231-1190 区域的初步结构信息，确认了 SdeA 中 mART 和 PDE 组成活性中心，C 端结构域形成 scaffold 的基本结构组成方式。通过结构分析和功能实验，冯越研究组发现，与 PDE 结构域自身即具备催化活性（即可以以 ADP 核糖基化泛素作为底物催化该新型泛素化反应）不同的是，mART 结构域则需要 PDE 结构域的稳定作用才能维持正常的活性。在维持 mART 活性的结构要素中，mART 结构域一段伸到 PDE 结构域中的 loop（789-797 段氨基酸）发挥了重要功能，在该文章中被命名为“Plug” loop。

随后，冯越研究组又进一步获得了该区段 SdeA 与泛素复合物、及与泛素-NADH 复合物的晶

体结构，从而揭示了泛素与 mART 结构域的结合模式。通过体外 pull down 和凝胶过滤层析实验，冯越研究组证明了 SdeA 的 C 端结构域结合 IcmS-IcmW 蛋白复合物，并且其 1191-1350 区域可与 IcmS-IcmW 及 DotL 的 C 端形成四元复合物。这表明 SdeA 的 C 端结构域可能在 SdeA 转移到宿主细胞的过程中发挥功能。

SdeA 是目前为止世界上首个鉴定出的新型泛素连接酶，其与泛素复合物结构的解析揭示了一种全新的泛素化结构机理。由于哺乳动物也含有类似结构，同时其他细菌可能也具有类似的、尚未发现的泛素化系统，所以在未来，该研究将帮助鉴定出其它新型泛素化系统，从而丰富我们对细胞生命过程的认知；同时，嗜肺军团菌是军团菌肺炎这一潜在致死性肺炎的致病微生物，SdeA 的结构解析也为设计针对该家族蛋白的小分子抑制剂，作为治疗军团菌肺炎的潜在抗生素奠定了重要基础。



Structural basis of ubiquitin modification by the Legionella effector SdeA

军团菌效应物 SdeA 对泛素修饰的结构基础

北京软物质科学与工程高精尖创新中心、北京化工大学生命学院冯越教授

2018年5月23日

<https://doi.org/10.1038/s41586-018-0146-7>

Protein ubiquitination is a multifaceted post-translational modification that controls almost every process in eukaryotic cells. Recently, the Legionella effector SdeA was reported to mediate a unique phosphoribosyl-linked ubiquitination through successive modifications of the Arg42 of ubiquitin (Ub) by its mono-ADP-ribosyltransferase (mART) and phosphodiesterase (PDE) domains. However, the mechanisms of SdeA-mediated Ub modification and phosphoribosyl-linked ubiquitination remain unknown. Here we report the structures of SdeA in its ligand-free, Ub-bound and Ub - NADH-bound states. The structures reveal that the mART and PDE domains of SdeA form a catalytic domain over its C-terminal region. Upon Ub binding, the canonical ADP-ribosyltransferase toxin turn-turn (ARTT) and phosphate-nicotinamide (PN) loops in the mART domain of SdeA undergo marked conformational changes. The Ub Arg72 might act as a ‘probe’ that interacts with the mART domain first, and then movements may occur in the side chains of Arg72 and Arg42 during the ADP-ribosylation of Ub. Our study reveals the mechanism of SdeA-mediated Ub modification and provides a framework for further investigations into the phosphoribosyl-linked ubiquitination process.