

# 线性泛素化修饰研究进展

何珊, 张令强

军事医学科学院放射辐射与医学研究所, 北京蛋白质组研究中心, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 100850

**摘要:** 蛋白质泛素化修饰过程在调节各种细胞生物学功能的过程中发挥了非常重要的作用, 如细胞周期进程、DNA 损伤修复、信号转导和各种蛋白质膜定位等。泛素化修饰可分为多聚泛素化修饰和单泛素化修饰。多聚泛素化修饰系统可以通过对底物连接不同类型的多泛素化链调节蛋白质的功能。多聚泛素化修饰中已知 7 种泛素链连接方式均为泛素内赖氨酸连接方式。近几年发现了第 8 种类型的泛素链连接形式即线性泛素化, 其泛素链的连接方式是由泛素甲硫氨酸的氨基基团与另一泛素甘氨酸的羧基基团相连形成泛素链标记。目前研究表明线性泛素化修饰在先天性免疫和炎症反应等多个过程中发挥着非常重要的作用。募集线性泛素链的泛素连接酶 E3 被称为 LUBAC 复合体, 其组成底物以及其活性调控机制和功能所知甚少。本文综述了募集线性泛素化链的泛素连接酶、去泛素化酶、底物等活性调控机制及其在先天性免疫等多个领域中的功能, 分析了后续研究方向, 以期对相关研究提供参考。

**关键词:** 线性泛素化修饰; LUBAC 复合体; NF- $\kappa$ B 信号通路; HOIP

## Research progress in linear ubiquitin modification

Shan He, Lingqiang Zhang

State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China

**Abstract:** Protein ubiquitination plays vital roles in regulating various cytobiological processes such as cell cycle progression, DNA damage repair, signal transduction and membrane localization of various proteins. Moreover, proteins can be modified by single ubiquitin molecules (monoubiquitination) or ubiquitin chains (polyubiquitination). Polyubiquitination regulates protein function by linking different types of polyubiquitin chains to substrates. All the 7 known linkage types of polyubiquitination are inter-ubiquitin linkages formed through lysine residues. In recent years, the eighth ubiquitin linkage type, linear ubiquitination in which the linkages are formed between the amino group of methionine residues of ubiquitin and the carboxy group of glycine residues of another, has been identified. Studies have shown that linear ubiquitination plays very important roles in various processes including innate immunity and inflammatory reactions. The ubiquitin ligase E3 that recruits linear ubiquitin chains is called linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC), however, little is known about its constitutive substrates, activity regulation and functions. Here we reviewed the mechanism of activity regulation of ubiquitin ligases, deubiquitinating enzymes and substrates as well as their roles in multiple areas including innate immunity,

收稿日期: 2015-05-21; 修回日期: 2015-08-07

作者简介: 何珊, 博士生, 研究方向: 蛋白质泛素化与疾病。E-mail: heshanpapa@126.com

通讯作者: 张令强, 博士, 研究员, 研究方向: 蛋白质泛素化与疾病。E-mail: zhanglq@nic.bmi.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-214

网络出版时间: 2015-8-10 13:08:42

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150810.1308.004.html>

and also analyzed future directions to provide references for relevant studies.

**Keywords:** Linear ubiquitin modification; LUBAC complex; NF- $\kappa$ B signaling pathways; HOIP

蛋白质泛素化修饰过程在调节各种细胞生物功能的过程中发挥了非常重要的作用,如细胞周期进程、DNA 损伤修复、信号转导和各种蛋白质膜定位等。该系统的损伤引起一系列疾病的发生如肿瘤的发生以及各种神经退性疾病等<sup>[1-5]</sup>。泛素化的过程涉及一系列酶的级联反应,在该过程中发挥功能的是 E1 激活酶、E2 结合酶和 E3 连接酶。泛素化修饰可分为多聚泛素化修饰和单泛素化修饰。目前报道的多聚泛素化修饰主要有 8 种不同类型的连接方式,其中 7 种涉及泛素链内部赖氨酸 K 与泛素分子 C 末端的甘氨酸 G 相连接方式,包括 K6、K11、K27、K29、K33、K48 和 K63 位的多聚泛素化修饰。研究比较多的是 K48 位和 K63 位多聚泛素化修饰,其中 K48 位的多聚泛素化修饰主要起到降解的作用, K63 位的多聚泛素化修饰主要起到信号转导与 DNA 修复的功能。近几年发现了第 8 种类型的泛素链连接方式即线性泛素化修饰,其泛素链的连接方式是由泛素甲硫氨酸 Met1 的氨基基团与另一泛素甘氨酸的羧基相连形成泛素链标记(图 1)。目前研究表明线性泛素化修饰在先天性免疫和抑制炎症反应等多种过程中发挥着非常重要的作用,成为现阶段的研究热点<sup>[6-11]</sup>。

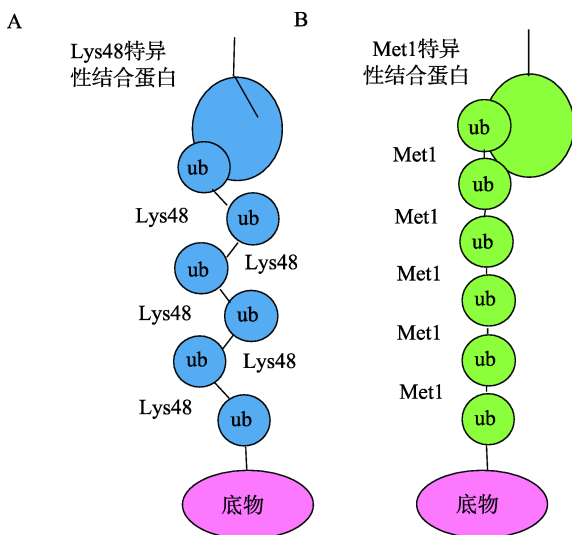


图 1 泛素链的连接方式

A: K48 多聚泛素化泛素链的连接方式; B: 线性泛素化泛素链的连接方式。

## 1 线性泛素化复合体的发现和组成

2006 年,日本大阪大学 Kazuhiro Iwai 教授实验室首次发现了线性泛素化复合体 (Linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC) 的存在<sup>[12]</sup>。LUBAC 复合体是由 HOIL-1L 和 HOIP 组成。HOIL-1L (57 kDa) 是一个 RING 类泛素连接酶又称为 RIPK2 (Heme-oxidized IRP2 ligase) 或 RBCK1 (RanBP-type and C3HC4-type zinc finger containing 1), 它可以泛素化降解 IRP2<sup>[13,14]</sup>。HOIP (HOIL-1L interacting protein) (120 kDa) 也是一个含有 RING 类结构域的泛素连接酶。研究人员发现 HOIL-1L 的 UBL 结构域可以与 HOIP 的 UBA 结构域相互作用形成一个 600 kDa 的复合体。更为重要的是,该 600 kDa 的复合体可以表现泛素连接酶的活性,从而识别底物延伸多聚泛素链。同时该研究还发现该复合体募集形成的多聚泛素链不是泛素内部赖氨酸相关的而是泛素的首尾相连的线性泛素链,即一个泛素单体的甘氨酸与另一泛素单体的甲硫氨酸之间形成线性泛素链<sup>[12]</sup>。2011 年, Tokunaga 等<sup>[15]</sup>发现了一个名为 Sharpin (SHANK-associated RH domain interacting protein) (47 kDa) 的分子,它具有泛素和类泛素结合结构域,在小鼠体内其突变体可以产生多种疾病如免疫系统紊乱和多种器官的炎症等。他们同时发现 Sharpin 也是线性泛素化复合体 LUBAC 的重要组成部分,其 C 端与 HOIL-1L 具有高度的一致性。Sharpin 缺失会导致 NF- $\kappa$ B 凋亡细胞信号调节的紊乱,从而导致慢性皮炎紊乱症状。Sharpin 的 UBL 结构域可以与 HOIP 的 NZF 结构域发生相互作用,同时 Sharpin 可以激活体内外线性泛素修饰的活性。共表达 Sharpin 和 HOIP 可以促进 NEMO 体内线性泛素化修饰的发生,同时该效应可以下调 HOIL-1L。Sharpin 的缺失可以导致细胞迅速死亡阻断 caspase8 依赖的信号通路。因此 Sharpin 可以激活 NF- $\kappa$ B 通路抑制体内不同信号通路的凋亡。从此, LUBAC 复合体由 HOIP, HOIL-1L, Sharpin 共同组成(图 2)<sup>[16]</sup>。

## 2 线性泛素化复合体 LUBAC 的 E3 活性机制

通常情况下,主要有两种类型的 E3。一种是

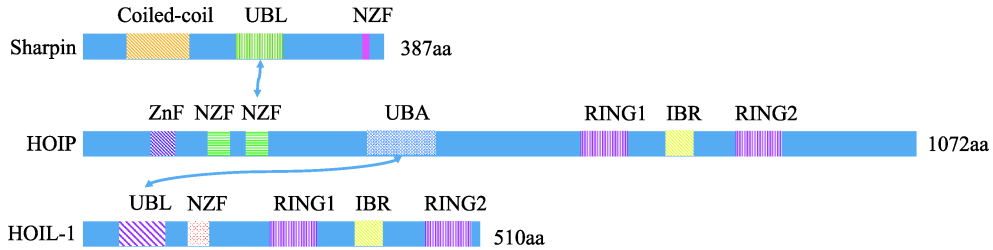


图2 LUBAC复合体的组成

RING类E3(其中又分为单RING类结构的E3和复合体支架结构的E3), 另外一种是HECT类的E3。其中前者可以催化E2与泛素结合, 然后将泛素转移到底物靶蛋白上, 而后者则可以与泛素直接结合形成硫酯键中间体<sup>[17-19]</sup>。近期又发现了RBR类E3, 它属于RING类E3中的新类型, 其结构特征是含有RBR(RING Between RING)结构域。RBR结构域包含两个RING形结构域, 其中RING1可以与E2结合, 具有RING类E3的特性, RING2可以与泛素形成硫酯键中间体, 它具有类HECT E3的活性, 是一个HECT/RING E3<sup>[20-22]</sup>。HOIL-1L和HOIP是LUBAC复合体的两大组分, 两者都包含RBR结构域, 是RBR泛素连接酶E3家族中的成员, 区别在于只有HOIP的RBR结构域可以调节线性泛素化修饰, 使其在体外单独结合和募集。Sharpin和HOIL-1L虽然都不能产生线性泛素化修饰, 但是当它们募集到HOIP后可以激活LUBAC的活性。HOIP的RBR结构域可以在多种不同复合体中调控线性泛素化的连接, 所以HOIP的RBR结构域可以表现出LUBAC E3的活性。

HOIP对于激活LUBAC的活性十分重要, 目前已经解析出HOIP的晶体结构。2011年, Chaugule

等<sup>[23]</sup>研究人员发现Parkin作为另一个重要的含有RBR的E3, 其UBL结构域具有自抑制的功能。这种自抑制作用通过与它的共因子和底物结合可被释放<sup>[23, 24]</sup>。许多该领域的研究人员同样认为HOIP也具有Parkin的特性, 即HOIL-1L的UBL结构域和Sharpin的NZF结构域对于HOIP激活其线性泛素链十分重要。正是因为Sharpin、HOIL-1L与HOIP结合, 从而释放了HOIP自抑制的活性<sup>[25-30]</sup>。

HOIP的活性比较低或被抑制主要3种形式: (1) 抑制E2-Ub与RING1结合; (2) RING2的酶活中心被遮蔽; (3) LDD结构域结合受体泛素被抑制(图3)<sup>[31]</sup>。目前认为缺失N端700个氨基酸的HOIP才具有LUBAC E3的活性。

### 3 去线性泛素化酶 OTULIN

去泛素化酶属于Ub信号的关键调节因子, 目前已知的线性泛素化特异性DUB主要包含OTULIN(OTU domain-containing deubiquitinase with linear linkage specificity)、CYLD等。其中OTULIN可以对线性泛素链的多聚泛素化信号起到调节作用。它还可以结合LUBAC, 通过过表达OTULIN阻止TNF $\alpha$ 诱导的NEMO与泛素化RIPK1的结合。

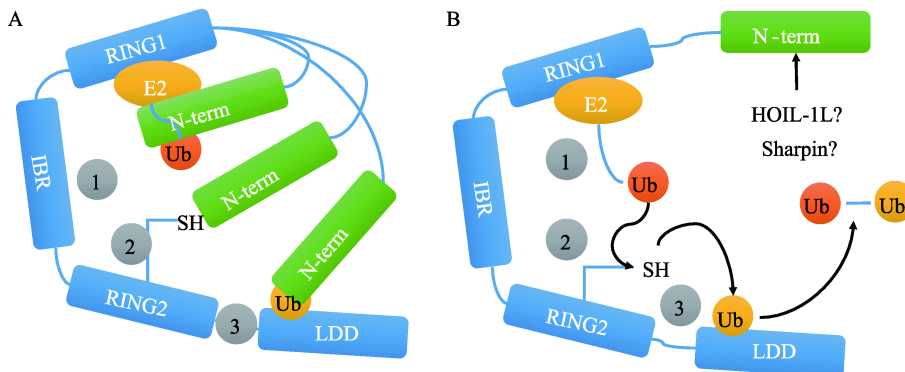


图3 HOIP自抑制机制

A: HOIP非激活的状态; B: HOIP激活状态。

OTULIN 的 PIM 结构域可以和 LUBAC 复合体 HOIP 保守的 PUB 结构域相结合,磷酸化的 OTULIN 可以抑制 HOIP 与 OTULIN 的结合。在正常情况下,未被磷酸化的 OTULIN 是 LUBAC 复合体的重要组成成分,但磷酸化后 OTULIN 则不能与 LUBAC 相互作用<sup>[32-35]</sup>。

随着对 OTULIN(Gumby)研究的深入,研究人员发现它与胚胎中致命的血管生成缺陷有着密切关系。Gumby 不仅可以在 Wnt 信号通路有关的上皮细胞中表达,而且还可以与 DVL2 相互作用。研究人员发现在血管生成缺陷的小鼠表型中,Gumby 的突变体具有影响底物的结合和催化底物的线性泛素化的功能。Gumby 除了具有降低 NEMO 线性泛素化的功能外,还可激活 NF- $\kappa$ B 通路的转录活性。去线性泛素化酶 OTULIN 在调控 Wnt 信号通路、神经发育以及血管生成等多种生物学功能中发挥着重要作用<sup>[36]</sup>。

#### 4 线性泛素化复合体底物 NEMO 及其在 NF- $\kappa$ B 信号通路的过程中发挥的作用

线性泛素化复合体在免疫相关的研究领域发挥着重要作用。目前已知的线性泛素化底物主要有 NEMO、RIP2、RIP1 等,它们在 TNF- $\alpha$  激活信号通路的过程中发挥着非常重要的作用。LUBAC 可以特

异性激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,其中包括 IkBa 可以被 IKK 复合体磷酸化、磷酸化的 IkBa 发生 K48 位的多聚泛素化降解、p65 入核、NF- $\kappa$ B 信号通路被激活。所以 LUBAC 可以调控 NEMO 的线性多聚泛素化<sup>[37]</sup>(图 4),其主要作用机制可以表现为线性泛素与 NEMO 的偶联可以被另一个 IKK 复合物中的 NEMO 反式识别,从而引发 IKK2 的二聚化和自身的去磷酸化,而活化的 IKK2 磷酸化 NF- $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$ (IkBa) 和 NF- $\kappa$ B 亚单位 p105(在 p105 肿瘤形成激酶 2(TPL2)、A20、NF $\kappa$ B 活化 2(ABIN2)结合抑制因子的复合物中)可以分别导致经典的核因子-途径和 ERK 途径激活。

K63 位多聚泛素化在 NF- $\kappa$ B 激活的条件下与线性多聚泛素化相关。如在 TNF- $\alpha$  信号刺激条件下,UBC13 募集 Tak1、K63 位的多聚泛素链就会产生,随后激活 JNK 通路的活性。而在 T 细胞受体通路过程中,UBC13 参与 JNK 和 NF- $\kappa$ B 激活通路中 K63 位的多聚泛素化,介于线性泛素链在 NF- $\kappa$ B 通路过程中激活的活性,UBC13 募集 LUBAC 催化 K63 位的多泛素化修饰<sup>[38]</sup>。

#### 5 线性泛素化复合体的其他功能

LUBAC 会参与多个信号通路的激活。例如 ERK

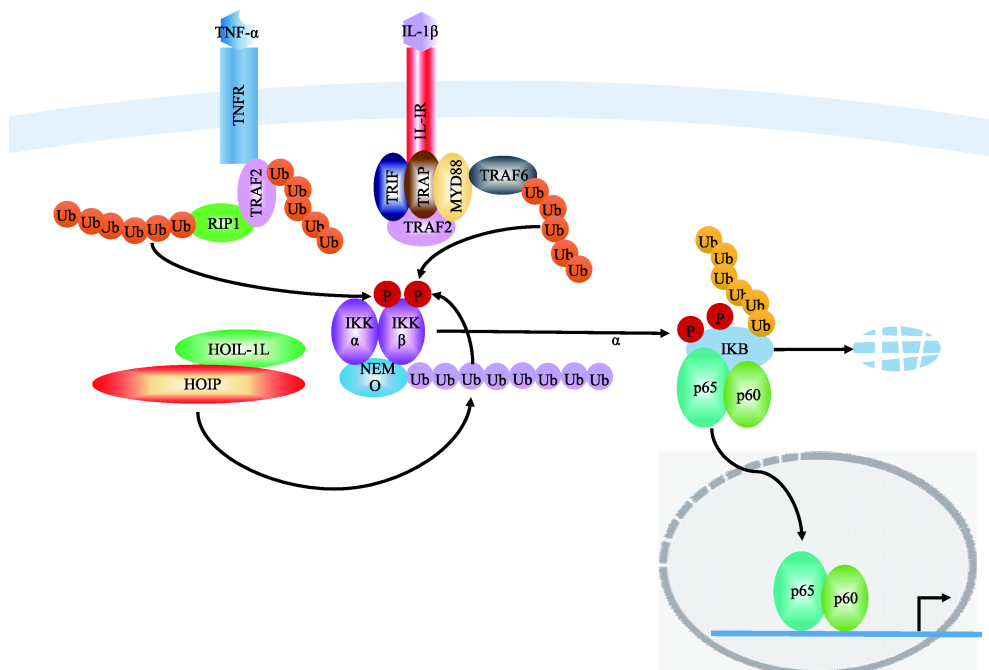


图 4 LUBAC 激活 NF- $\kappa$ B 信号通路



磷酸化激活过程,在B细胞或巨噬细胞中,IKK会通过TPL2(Tumor progression locus 2,或称MAP3K8)磷酸化激活ERK。LUBAC线性泛素化活性的缺失抑制了B细胞中CD40介导的ERK激活,这说明LUBAC介导的线性泛素化也参与了IKK介导的ERK激活。

随着研究的深入,LUBAC除了在先天性免疫相关的研究中发挥着重要作用外,它还发挥着其他重要功能。Parkin是一个与帕金森疾病相关的RING类泛素连接酶,它主要起到保护神经细胞的作用,可以在多种刺激条件下抑制细胞凋亡。研究发现,Parkin募集LUBAC参与线性泛素化影响NF- $\kappa$ B信号通路活性的过程与线粒体完整性密切相关。LUBAC细胞信号刺激条件下,Parkin可以募集线性泛素化复合体,提高NEMO线性泛素化的能力,所以它对Parkin所在信号通路具有保护机制。为了维持线粒体的完整性,阻止信号刺激下细胞的凋亡,NF- $\kappa$ B通路中线粒体三磷酸化酶OPA1转录上调。在缺失Parkin的细胞中,NEMO的线性泛素化可以激活NF- $\kappa$ B信号通路,上调OPA1,降低TNF- $\alpha$ 信号刺激,所以LUBAC复合体与线粒体完整性及细胞衰老关系密切<sup>[39]</sup>。

HOIP作为LUBAC复合体的重要成员,除了在NF- $\kappa$ B信号通路的调控过程中发挥重要功能外,在肿瘤的发生发展过程中也起到非常重要的作用。2014年,Craig等<sup>[40]</sup>通过研究发现,细胞内如果缺少HOIP,就达到抑制细胞对化疗药物顺铂响应的目的,同时还会提高caspase3/caspase8依赖的ATM调节细胞凋亡的过程,但是它不能调控ATR激活的DNA检查点的损伤过程。在HOIP敲低的细胞中,顺铂诱导的JNK激酶激活。JNK抑制剂可以提高细胞对顺铂的响应;而对于顺铂响应的卵巢癌细胞中,HOIP下调,顺铂拮抗。研究发现HOIP是一个潜在的治疗肿瘤的药物靶点。Zhu等<sup>[41]</sup>也发现HOIP(RNF31)可以稳定雌激素受体 $\alpha$ ,从而调节雌激素激活的乳腺癌细胞的增殖。

## 6 结语与展望

自从发现线性泛素链及线性泛素化修饰复合体LUBAC以后,人们就开始对线性泛素化修饰参与的细胞信号通路过程产生了极大兴趣。近期对线性泛素

链组装、去组装和识别机制的研究文章的发表,再次扩展了研究人员对线性泛素链病理生理功能的理解。

我们认为,泛素化系统一般通过适时和有选择性的在其底物上加上泛素链的方式调控细胞功能,所以识别线性泛素化的底物非常必要,它将有助于阐明线性泛素化参与调控的各种细胞生物学功能的具体机制。寻找新的参与体内线性泛素化连接和识别的蛋白复合体,成为线性泛素化研究领域的热点。蛋白质组学方法有助于人们比较全面的了解参与线性泛素化的细胞内蛋白对涉及线性泛素化连接和识别的蛋白复合物作原子级分辨率的分析以及鉴别LUBAC功能的调控规律,以便发现新的线性泛素化结合结构域(LUBID)。比如HOIL-1L的锌指(ZF)结构域最近被证明可特异性识别线性泛素化。不同的泛素链连接方式是如何协同,从而精确转导信号通路并参与生物学功能,以及线性泛素化如何在受体信号复合物水平被调控,这也是目前该领域急需解决的难题之一。识别发生在TNFRSC的单个泛素化事件并确定它们各自的生理学功能,这将有助于明确不同类型泛素化类型尤其是线性泛素化的功能和作用,为深入研究提供有价值的帮助。

多种泛素链参与了NF- $\kappa$ B信号通路的活化,主要有Met1、Lys11、Lys48和Lys63连接的泛素链。同时还有多条通路可激活经典NF- $\kappa$ B信号通路,LUBAC以催化活性或非催化活性的角色参与了这些通路。荧光标记的线性泛素结合域(GFP-UBAN,UBAN:ubiquitin-binding in ABIN and NEMO,ABIN和NEMO中的泛素结合域)或许可以帮助区分LUBAC在这些途径中的催化功能或非催化功能。因为细胞中GFP-UBAN的表达有助于监测线性链的生成并可抑制其下游反应。

目前在鉴别线性多聚泛素化底物方面还存在困难,属于线性泛素化研究的主要难点,其主要原因在于LUBAC与DUB之间存在相互作用。识别泛素链特异性的线性DUB将有助于鉴别LUBAC底物并深化研究人员对LUBAC介导的线性泛素化病理生理功能的理解。因为敲除OTULIN可增强线性泛素化水平,所以OTULIN可能是一个解析LUBAC介导的线性泛素化是否参与其他信号通路以及识别LUBAC的新底物的有效工具。

## 参考文献

- [1] Haglund K, Dikic I. Ubiquitylation and cell signaling. *EMBO J*, 2005, 24(19): 3353–3359. [DOI]
- [2] 刘泽先, 蔡煜东, 郭雪江, 李婷婷, 李鹭, 邱建丁, 任间, 施绍萍, 宋江宁, 王明会, 谢鹭, 薛宇, 张子丁, 赵兴明. 中国在翻译后修饰的生物信息学研究领域的进展与前瞻. *遗传*, 2015, 37(7): 621–634. [DOI]
- [3] 王维, 孟智启, 石放雄. 组蛋白修饰及其生物学效应. *遗传*, 2012, 34(7): 810–818. [DOI]
- [4] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67(8): 425–479. [DOI]
- [5] 卢亮, 李栋, 贺福初. 蛋白质泛素化修饰的生物信息学研究进展. *遗传*, 2013, 35(1): 17–26. [DOI]
- [6] Hershko A, Heller H, Elias S, Ciechanover A. Components of ubiquitin-protein ligase system, resolution, affinity purification, and role in protein breakdown. *J Biol Chem*, 1983, 258(13): 8206–8214. [DOI]
- [7] Pickart CM, Eddins MJ. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1695(1-3): 55–72. [DOI]
- [8] Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81(8): 203–229. [DOI]
- [9] Cook WJ, Jeffrey LC, Kasperek E, Pickart CM. Structure of tetraubiquitin shows how multiubiquitin chains can be formed. *J Mol Biol*, 1994, 236(2): 601–609. [DOI]
- [10] Varadan R, Walker O, Pickart C, Fushman D. Structural properties of polyubiquitin chains in solution. *J Mol Biol*, 2002, 324(4): 637–647. [DOI]
- [11] Kulathu Y, Komander D. Atypical ubiquitylation—the unexplored world of polyubiquitin beyond Lys48 and Lys63 linkages. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(8): 508–523. [DOI]
- [12] Murata S, Kato M, Fukumoto H, Kanie M, Sano S, Tokunaga F, Tanaka K, Iwai K. A ubiquitin ligase complex assembles linear polyubiquitin chains. *EMBO J*, 2006, 25(20): 4877–4887. [DOI]
- [13] Yamanaka K, Ishikawa H, Megumi Y, Tokunaga F, Kanie M, Rouault TA, Morishima I, Minato N, Ishimori K, Iwai K. Identification of the ubiquitin-protein ligase that recognizes oxidized IRP2. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(4): 336–340. [DOI]
- [14] Ishikawa H, Kato M, Hori H, Ishimori K, Kirisako T, Tokunaga F, Iwai K. Involvement of heme regulatory motif in heme-mediated ubiquitination and degradation of IRP2. *Mol Cell*, 2005, 19(2): 171–181. [DOI]
- [15] Tokunaga F, Nakagawa T, Nakahara M, Saeki Y, Taniguchi M, Sakata SI, Tanaka K, Nakano H, Iwai K. SHARPIN is a component of the NF- $\kappa$ B-activating linear ubiquitin chain assembly complex. *Nature*, 2011, 471(7340): 633–636. [DOI]
- [16] Ikeda F, Deribe YL, Skånland SS, Stieglitz B, Grabbe C, Franz-Wachtel M, van Wijk SJL, Goswami P, Nagy V, Terzic J, Tokunaga F, Androulidaki A, Nakagawa T, Pasparakis M, Iwai K, Sundberg JP, Schaefer L, Rittinger K, Macek B, Dikic I. SHARPIN forms a linear ubiquitin ligase complex regulating NF- $\kappa$ B activity and *Apoptosis*. *Nature*, 2011, 471(7340): 637–641. [DOI]
- [17] Eddins MJ, Carlile CM, Gomez KM, Pickart CM, Wolberger C. Mms2-Ubc13 covalently bound to ubiquitin reveals the structural basis of linkage-specific polyubiquitin chain formation. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13(10): 915–920. [DOI]
- [18] Kim HC, Huibregtse JM. Polyubiquitination by Hect E3s and the determinants of chain type specificity. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(12): 3307–3318. [DOI]
- [19] Kim HC, Steffen AM, Oldham ML, Chen J, Huibregtse JM. Structure and function of a HECT domain ubiquitin-binding site. *EMBO Rep*, 2011, 12(4): 334–341. [DOI]
- [20] Tokunaga C, Kuroda S, Tatematsu K, Nakagawa N, Ono Y, Kikkawa U. Molecular cloning and characterization of a novel protein kinase C-interacting protein with structural motifs related to RBCC family proteins. *Biochem Biophys Res Comm*, 1998, 244(2): 353–359. [DOI]
- [21] Eisenhaber B, Chumak N, Eisenhaber F, Hauser MT. The ring between ring fingers (RBR) protein family. *Genome Biol*, 2007, 8(3): 209. [DOI]
- [22] Christensen DE, Brzovic PS, Kleivit RE. E2-BRCA1 RING interactions dictate synthesis of mono- or specific polyubiquitin chain linkages. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(10): 941–948. [DOI]
- [23] Chaugule VK, Burchell L, Barber KR, Sidhu A, Leslie SJ, Shaw GS, Walden H. Autoregulation of Parkin activity through its ubiquitin-like domain. *EMBO J*, 2011, 30(14): 2853–2867. [DOI]
- [24] Kondapalli C, Kazlauskaitė A, Zhang N, Woodroof HI, Campbell DG, Gourlay R, Burchell L, Walden H, Macartney TJ, Deak M, Knebel A, Alessi DR, Muqit MMK. PINK1 is activated by mitochondrial membrane potential depolarization and stimulates Parkin E3 ligase activity by phosphorylating Serine 65. *Open Biol*, 2012, 2(5): 120080. [DOI]
- [25] Levin I, Eakin C, Blanc MP, Kleivit RE, Miller SI, Brzovic PS. Identification of an unconventional E3 binding surface on the UbcH5~Ub conjugate recognized by a pathogenic bacterial E3 ligase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(7): 2848–2853. [DOI]

- [26] Maspero E, Mari S, Valentini E, Musacchio A, Fish A, Pasqualato S, Polo S. Structure of the HECT: tin complex and its role in ubiquitin chain elongation. *EMBO Rep*, 2011, 12(4): 342–349. [DOI]
- [27] Smit JJ, Monteferrario D, Noordermeer SM, van Dijk WJ, van der Reijden BA, Sixma TK. The E3 ligase HOIP specifies linear ubiquitin chain assembly through its RING-IBR-RING domain and the unique LDD extension. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3833–3844. [DOI]
- [28] Stieglitz B, Morris-Davies AC, Koliopoulos MG, Christodoulou E, Rittinger K. LUBAC synthesizes linear ubiquitin chains via a thioester intermediate. *EMBO Rep*, 2012, 13(9): 840–846. [DOI]
- [29] Wenzel DM, Lissounov A, Brzovic PS, Klevit RE. UBC7 reactivity profile reveals parkin and HHARI to be RING/HECT hybrids. *Nature*, 2011, 474(7349): 105–108. [DOI]
- [30] Yagi H, Ishimoto K, Hiromoto T, Fujita H, Mizushima T, Uekusa Y, Yagi-Utsumi M, Kurimoto E, Noda M, Uchiyama S, Tokunaga F, Iwai K, Kato K. A non-canonical UBA-UBL interaction forms the linear-ubiquitin-chain assembly complex. *EMBO Rep*, 2012, 13(5): 462–468. [DOI]
- [31] Dove KK, Klevit RE. RING-between-RINGS—keeping the safety on loaded guns. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3792–3794. [DOI]
- [32] Keusekotten K, Elliott PR, Glockner L, Fiil BK, Damgaard RB, Kulathu Y, Wauer T, Hospenthal MK, Gyrd-Hansen M, Krappmann D, Hofmann K, Komander D. OTULIN antagonizes LUBAC signaling by specifically hydrolyzing Met1-linked polyubiquitin. *Cell*, 2013, 153(6): 1312–1326. [DOI]
- [33] Fiil BK, Damgaard RB, Wagner SA, Keusekotten K, Fritsch M, Bekker-Jensen S, Mailand N, Choudhary C, Komander D, Gyrd-Hansen M. OTULIN restricts Met1-linked ubiquitination to control innate immune signaling. *Mol Cell*, 2013, 50(6): 818–830. [DOI]
- [34] Schaeffer V, Akutsu M, Olma MH, Gomes LC, Kawasaki M, Dikic I. Binding of OTULIN to the PUB Domain of HOIP controls NF- $\kappa$ B Signaling. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 349–361. [DOI]
- [35] Elliott PR, Nielsen SV, Marco-Casanova P, Fiil BK, Keusekotten K, Mailand N, Freund SMV, Gyrd-Hansen M, Komander D. Molecular basis and regulation of OTULIN-LUBAC interaction. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 335–348. [DOI]
- [36] Rivkin E, Almeida SM, Ceccarelli DF, Juang YC, MacLean TA, Srikumar T, Huang H, Dunham WH, Fukumura R, Xie G, Gondo Y, Raught B, Gingras AC, Sicheri F, Cordes SP. The linear ubiquitin-specific deubiquitinase gumbi regulates angiogenesis. *Nature*, 2013, 498(7454): 318–324. [DOI]
- [37] Tokunaga F, Sakata SI, Saeki Y, Satomi Y, Kirisako T, Kamei K, Nakagawa T, Kato M, Murata S, Yamaoka S, Yamamoto M, Akira S, Takao T, Tanaka K, Iwai K. Involvement of linear polyubiquitylation of NEMO in NF- $\kappa$ B activation. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(2): 123–132. [DOI]
- [38] Niu JX, Shi YL, Iwai K, Wu ZH. LUBAC regulates NF- $\kappa$ B activation upon genotoxic stress by promoting linear ubiquitination of NEMO. *EMBO J*, 2011, 30(18): 3741–3753. [DOI]
- [39] Müller-Rischart AK, Pils A, Beaudette P, Patra M, Hadian K, Funke M, Peis R, Deinlein A, Schweimer C, Kuhn PH, Lichtenthaler SF, Motori E, Hrelia S, Wurst W, Trümbach D, Langer T, Krappmann D, Dittmar G, Tatzelt J, Winklhofer KF. The E3 ligase parkin maintains mitochondrial integrity by increasing linear ubiquitination of NEMO. *Mol Cell*, 2013, 49(5): 908–921. [DOI]
- [40] MacKay C, Carroll E, Ibrahim AFM, Garg A, Inman GJ, Hay RT, Alpi AF. E3 Ubiquitin ligase HOIP attenuates apoptotic cell death induced by cisplatin. *Cancer Res*, 2014, 74(8): 2246–2257. [DOI]
- [41] Zhu J, Zhao C, Kharman-Biz A, Zhuang T, Jonsson P, Liang N, Williams C, Lin CY, Qiao Y, Zendejdel K, Strömblad S, Treuter E, Dahlman-Wright K. The atypical ubiquitin ligase RNF31 stabilizes estrogen receptor  $\alpha$  and modulates estrogen-stimulated breast cancer cell proliferation. *Oncogene*, 2014, 33(34): 4340–4351. [DOI]

(责任编辑: 朱卫国)