

泛素化途径在奶牛乳脂生成过程中的调控作用

刘莉莉¹, 郭爱伟¹, 李青青^{1,2}, 吴培福¹, 杨亚晋¹, 陈粉粉¹, 李素华¹,
郭盘江¹, 张勤³

1. 西南林业大学生命科学学院, 昆明 650224

2. 云南昆明翔昊科技有限公司, 昆明 650204

3. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018

摘要: 泛素化途径是真核细胞中主要的蛋白质降解途径, 其中泛素-蛋白酶体途径主要降解细胞质中的蛋白, 溶酶体途径主要降解细胞膜蛋白。研究表明, 泛素化途径在奶牛乳腺上皮细胞脂肪酸合成过程中起着关键的调控作用。在脂肪酸摄取过程中, 泛素化途径调控异常可导致细胞膜上脂肪酸转运蛋白的泛素化降解受阻, 使脂肪酸转运增强, 进而增加奶牛乳脂的生成。本文综述了泛素化途径在奶牛乳脂生成过程中对相关蛋白的调控作用, 以期对奶牛乳脂性状后续相关研究提供参考和新的思路。

关键词: 泛素化途径; 泛素-蛋白酶体系统; 溶酶体系统; 乳脂生成; 脂肪酸

The regulation of ubiquitination in milk fat synthesis in bovine

Lili Liu¹, Aiwei Guo¹, Qingqing Li^{1,2}, Peifu Wu¹, Yajin Yang¹, Fenfen Chen¹, Suhua Li¹,
Panjiang Guo¹, Qin Zhang³

1. College of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

2. Kunming Xianghao Technology Co. Ltd., Kunming 650204, China

3. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China

Abstract: Ubiquitination signaling is the main pathway of protein degradation in eukaryotic cells. Ubiquitin-proteasome system degrades the ubiquitinated cytoplasmic proteins and lysosome pathway mainly degrades the ubiquitinated membrane proteins. Previous studies have shown that ubiquitination signaling plays a critical role in fatty acids synthesis. In the process of fatty acids import, disruption of ubiquitination could prevent the degradation of fatty acid transport proteins, thereby promoting fatty acids import and milk fat synthesis in bovine primary mammary epithelial cells. In this review, we summarize the signal transduction and regulation mechanism of ubiquitination signaling in milk fat synthesis, which may provide references and new ideas for future research on milk fat traits in dairy cows.

Keywords: ubiquitination; ubiquitinated-proteasome system; lysosome pathway; milk fat synthesis; fatty acid

收稿日期: 2020-02-10; 修回日期: 2020-04-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31902152, 31872327)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31902152, 31872327)]

作者简介: 刘莉莉, 博士, 讲师, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: liulily0518@163.com

通讯作者: 张勤, 博士, 教授, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: qzhang@sdau.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.20-037

网络出版时间: 2020/5/8 9:58:23

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20200507.1717.004.html>

泛素(ubiquitin, Ub)是一种存在于大部分真核细胞中的多肽,由76个氨基酸组成,可以标记待降解的蛋白质,然后通过泛素化-蛋白酶体和溶酶体途径进行降解,即蛋白质的泛素化降解^[1]。泛素化介导了真核细胞中约85%的蛋白质降解,维持了细胞内环境的稳态和细胞器的完整性^[2]。已有研究表明,泛素化相关组件在奶牛(*Bos taurus*)乳脂合成过程中发挥重要作用^[3,4]。例如,在脂肪酸转运过程中,转运膜蛋白的泛素化有助于乳腺上皮细胞外脂肪酸的转入,使细胞利用更多的脂肪酸合成乳脂;乳腺上皮细胞中的高泛素化水平有助于脂肪酸的从头合成^[3];在高糖水平促进乳脂合成过程中,蛋白酶体的活性受限并发现乳腺上皮细胞中的泛素化水平显著上升^[5]。研究泛素化在奶牛乳脂生成过程中的生物学功能及作用机制,可为奶生产奶性状分子机理研究和分子育种提供新的理论依据。本文综述了泛素化途径在奶牛乳脂生成过程中的分子机制,以期为后期的奶牛乳脂相关研究奠定基础。

1 泛素化及泛素化系统

泛素化是通过泛素激活酶 E1 (ubiquitin-activating enzyme)、泛素结合酶 E2 (ubiquitin-conjugating enzyme)及泛素连接酶 E3 (ubiquitin-protein ligase)的共同作用,将泛素蛋白共价结合到靶蛋白质的一种翻译后修饰过程^[6-8](图1)。泛素分子共含有7个赖氨酸

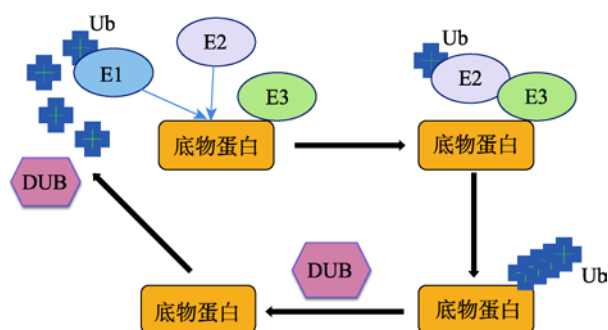


图1 泛素与底物蛋白结合示意图

Fig. 1 The basics of the ubiquitin-conjugation pathway
E1: 泛素激活酶; E2: 泛素结合酶; E3: 泛素连接酶; Ub: 泛素蛋白; Substrate: 底物蛋白; DUB: 去泛素化酶。底物蛋白在泛素激活酶 E1、泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3 的作用下连接上泛素蛋白,完成蛋白质的泛素化过程;又可以在去泛素化酶 DUB 的作用下完成去泛素化,使得泛素蛋白回到循环途径。

酸位点(K): K6、K11、K27、K29、K33、K48 和 K63,泛素既可以直接连接靶蛋白形成单泛素化和多泛素化,也可以通过彼此不同的残基而形成多聚泛素链,形成靶蛋白的多聚泛素化^[9,10]。研究表明,K48 位点多聚泛素化可以介导靶蛋白进入蛋白酶体被降解^[11-13],K63 位点多聚泛素化则参与包括细胞抗性、DNA 损伤修复和翻译调节等多种生物学过程发挥信号通路功能而不会被降解^[14-16]。K63 位点的单泛素化则可以通过内体蛋白分选转运装置(endosomal sorting complexes required for transport, ESCRTs)参与胞吞胞吐、蛋白质运输及 DNA 修复等过程,最终被溶酶体降解^[16,17]。泛素化修饰也是可逆的,去泛素化酶(deubiquitinating enzyme, DUB)可以识别泛素化蛋白并将泛素单体或多聚体水解出去,使泛素重新进入循环途径^[18,19],因此在免疫调控、基因转录激活和内含途径中都发挥了重要作用^[20-22]。研究表明,泛素化通过泛素-蛋白酶体途径和溶酶体途径在细胞中的蛋白质降解和运输^[23,24]、细胞周期调控^[25]、免疫应答^[26]、细胞增殖和凋亡^[27,28]以及外泌体^[29]等途径中都发挥着至关重要的作用。

1.1 泛素-蛋白酶体系统

泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)是细胞内蛋白质降解的主要途径,高效地参与了细胞中至少80%的蛋白质降解^[30]。26S蛋白酶体存在于细胞核和细胞质中,是由一个20S核心蛋白酶体和两个19S调节蛋白酶体组成的蛋白复合物。其中,20S核心蛋白酶体是起到主要催化作用的复合体,它可以发挥肽基谷氨酰胺水解酶样、胰蛋白酶样和糜蛋白酶样的3种蛋白酶体活性,可将泛素化蛋白质水解为7~9个氨基酸长度的缩氨酸,泛素则在去泛素化酶的作用下进入循环途径^[31,32]。泛素-蛋白酶体系统可以降解细胞中调节蛋白,参与细胞凋亡、转录调节及生长代谢途径,以控制细胞的生命活动^[27,30,33,34];同时该系统还可以降解细胞中突变、损伤和错误折叠的蛋白质,以维持细胞的稳态^[35]。例如,热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)在奶牛应激过程中发挥着非常重要的作用^[27,36],该蛋白可以识别并结合到错误折叠的蛋白质上并引导泛素蛋白的连接,以促进其被泛素-蛋白酶体系统降解。此外,热休克蛋白 HSP27 和 HSP90 也可以通过

引导蛋白质 I- κ B α (NFKB inhibitor alpha)磷酸化后的泛素化降解, 激活 NF- κ B (nuclear factor kappa B)信号通路, 进而在奶牛乳房炎等炎症反应中起到重要作用^[36]。

1.2 溶酶体系统

溶酶体系统是降解细胞中膜蛋白和细胞器的主要途径, 又称为自噬(大自噬), 是广泛存在于真核细胞中的生物学过程。泛素化修饰在膜蛋白和细胞器的转运过程中可以标记需要降解的膜蛋白质, 然后内体蛋白分选转运装置 ESCRTs 挑选出泛素化的膜蛋白并将其转运至多小泡内体(multivesicular endosome, MVE), 在与周边的膜结构分离后, 最终转运至溶酶体进行降解^[37]。ESCRTs 复合体是由 ESCRT 0、ESCRT I、ESCRT II 和 ESCRT III 共 4 个复合物构成(图 2), 其中 ESCRT 0、ESCRT I 和 ESCRT II 复合物都含有能与泛素蛋白结合的亚基, 因此它们能直接与泛素化修饰的蛋白结合。当 ESCRT 0 复合物识别泛素化膜蛋白后, 即可依次召集 ESCRT I 和 ESCRT II 促进内体膜发生内陷并将膜

蛋白进行包裹; 同时去泛素化酶 DUBs 也被召集水解膜蛋白上的泛素分子使其循环利用^[38,39]。研究表明, ESCRTs 复合体联合泛素化共同介导细胞内膜蛋白的降解而参与细胞分化、细胞因子受体激活和细胞代谢等途径^[27,40~42]。例如在细胞面临致病菌或病毒的入侵时, 溶酶体途径即可通过识别、包裹和融合等过程将其进行降解; 对于已经入侵宿主细胞的病毒, 宿主细胞则可以通过分泌干扰素来上调细胞内溶酶体系统信号通路, 进而加快对其的降解水平^[43,44]。因此溶酶体系统在细胞内具有非常重要的作用。

2 泛素化与乳脂生成

牛奶中乳脂含量约 3%~5%, 是衡量牛奶品质的重要指标。乳脂的主要成分是甘油三酯(triglyceride, TG) (约 99%)^[45], 是由奶牛乳腺组织的乳腺上皮细胞吸收脂肪酸或者利用前体小分子从头合成脂肪酸后合成脂肪滴, 并由磷脂膜包被形成乳脂肪球从乳腺上皮细胞释放到牛奶中^[46,47]。乳腺上皮细胞可以直接利用血液中的 18~24 个碳原子的游离长链脂肪酸合成甘油三酯形成乳脂小球, 该过程在奶牛泌乳期前 30 天占主导位置; 也可以利用乙酸和丙酸等前体小分子从头合成 4~14 个碳原子的短链和中链脂肪酸, 合成甘油三酯再形成乳脂小球, 该过程在奶牛泌乳期第 2 个星期开始, 并于第 30 天达到主导位置直至泌乳期结束。除此以外, 血液中有少量的短、中链游离脂肪酸可被动扩散进入乳腺上皮细胞, 被用于甘油三酯形成乳脂小球^[46,48]。无论是直接吸收的脂肪酸还是从头合成的短、中链脂肪酸, 都需要经过细胞中一系列酶的作用进行转运、活化、延长和去饱和等作用, 最终才能合成甘油三酯。因此, 乳脂的生成过程需要一系列受体配体结合、转运载体和酶类的精准调控, 而这些分子的激活和降解则需要泛素化过程的调控。

2.1 泛素化与长链脂肪酸转运

奶牛乳腺上皮细胞不能合成大于 16 碳原子的长链脂肪酸, 几乎全部来源于细胞外吸收。血液中的极低密度脂蛋白和乳糜微粒通过脂蛋白脂肪酶 LPL (lipoprotein lipase)水解为甘油和游离脂肪酸, 其

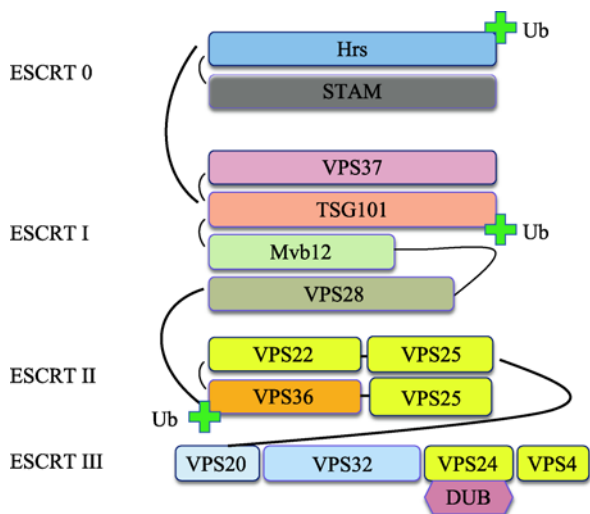


图 2 内体蛋白分选转运装置复合体 ESCRTs 的分子结构

Fig. 2 Molecular structure of the ESCRTs machinery
Ub: 泛素蛋白结合结构域; DUB: 去泛素化酶识别位点; 黑色曲线: 蛋白质的相互连接。内体蛋白分选转运装置复合体 ESCRTs 由 ESCRT 0、ESCRT I、ESCRT II 和 ESCRT III 共 4 个复合体构成。图中用黑色曲线表示 4 个复合体之间通过蛋白质相互作用而召集在一起, 并通过 ESCRT 0 和 ESCRT I 的泛素蛋白结合结构域识别并结合泛素化膜蛋白, 通过 ESCRT III 的去泛素化酶识别位点识别去泛素化酶。

中少量短、中链脂肪酸可通过被动扩散方式进入乳腺上皮细胞,长链脂肪酸则需要经过乳腺上皮细胞上的脂肪酸转运蛋白将其转运进细胞中。反刍动物的长链脂肪酸转运蛋白主要是脂肪酸转运蛋白 FAT/CD36, CD36 作为细胞膜上的乳脂球膜蛋白,可以通过翻转作用将细胞外游离的长链脂肪酸转运进细胞中^[46]。进入细胞中的长链脂肪酸则通过长链酯酰 CoA 酶 ACSL1 (long chain fatty acid CoA ligase 1)与脂肪酸结合蛋白 FABP3 (fatty acid binding protein 3)相结合^[45,46]。脂肪酸结合酶 FABP3 通过将脂肪酸从细胞膜运输内质网中进行甘油三酯和磷脂的合成以参与脂肪酸的细胞内转运过程^[46]。在脂肪酸转运过程中, CD36, ACSL1 及 FABP3 在调节长链脂肪酸转运和细胞内长链脂肪酸的浓度时起着至关重要的作用^[49]。

研究发现,仓鼠(*Cricetinae*)卵巢细胞 CHO 和人(*Homo sapiens*)胚肾 293 细胞中脂肪酸的含量可以显著促进 CD36 蛋白第 48 和 63 位赖氨酸的泛素化过程^[50],这说明 CD36 蛋白可直接受泛素化信号通路调控。Liu 等^[3]证实,敲降内体蛋白分选转运装置复合体 ESCRTs 中的亚单位 VPS28 (vacuolar protein sorting 28),可导致奶牛乳腺上皮细胞中 CD36 蛋白的泛素化水平升高。这表明蛋白 CD36 作为细胞膜蛋白是通过溶酶体途径调控降解,同时也说明细胞膜蛋白 CD36 可以通过溶酶体途径调控长链脂肪酸的转运。Kan 等^[51]在肝癌细胞 HepG2 细胞中发现花生四烯酸可以促进长链酯酰 CoA 酶 ACSL4 (long chain fatty acid CoA ligase 4)的泛素化和蛋白酶体降解过程。Chung 等^[52]在小鼠(*Mus musculus*)骨骼肌 C2C12 细胞中发现脂肪酸结合蛋白 FABP3 是类泛素化 SUMO 化(small ubiquitin-like modifier)调控的目标;刘莉莉等^[4]发现,抑制奶牛乳腺上皮细胞中蛋白酶体活性而提高细胞中泛素化水平后, *ACSL1* 和 *FABP3* 两个基因的 mRNA 表达水平显著上升($P<0.05$),同时还发现细胞中长链脂肪酸的含量显著上升。这些研究表明奶牛乳腺上皮细胞中的长链酯酰 CoA 酶 ACSL1 和脂肪酸结合蛋白 FABP3 受泛素-蛋白酶体系统调控,同时也说明 ACSL1 和 FABP3 可以通过泛素化途径调节细胞内长链脂肪酸的浓度。因此,在长链脂肪酸的转运过程中,泛素化首先通过溶酶体途径调控长链脂肪酸的转入,再

通过泛素-蛋白酶体途径调控细胞内脂肪酸的转运,进而影响长链脂肪酸生成甘油三酯的能力。具体过程见图 3 泛素化与长链脂肪酸转运部分。

2.2 泛素化与脂肪酸从头合成及脂肪滴形成

乳腺上皮细胞中约 50%的中、短脂肪酸是利用乙酸和丁酸等前体小分子进行从头合成的^[53]。脂肪酸从头合成主要是在乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA (acetyl-CoA carboxylase)和脂肪酸合成酶 FASN (fatty acid synthase)的作用下完成^[46]。乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 作为脂肪酸从头合成的限速酶,主要催化乙酰辅酶 A 羧化合成丙二酸单酰辅酶 A,由此开启脂肪酸的合成。脂肪酸合成酶 FASN 则主要负责将丙二酸单酰辅酶 A 继续延长合成中/长链饱和脂肪酸(C4:0-C16:0)^[54]。这些从头合成的脂肪酸又在酯酰 CoA 酶 ACSL 和脂肪酸结合蛋白 FABP3 等酶系的作用下被转运至内质网中进行甘油三酯和磷脂的合成。甘油二酯酰基转移酶 DGAT1 (diacylglycerol acyltransferase 1)和酰基辅酶 A 去饱和酶 SCD (Stearoyl-CoA desaturase)是内质网中合成甘油三酯的限速酶,可以通过变构效应被甘油二酯特异激活^[46,55]。在内质网中,脂肪酸逐步通过甘油二酯酰基转移酶 DGAT1 和酰基辅酶 A 去饱和酶 SCD 等酶系的作用合成甘油三酯,随后在内质网小叶中形成并累积成脂肪滴,在质膜包被及脂肪分化相关蛋白 ADFP (adipose differentiation-related protein)等协助下被分泌到腺泡中,脂肪分化相关蛋白 ADFP 是细胞中脂肪滴表面蛋白,不仅是脂质蓄积的特异性标志^[56,57],还可以促进脂肪滴与细胞膜上受体的结合,最后通过细胞的顶浆膜将脂肪滴释放到细胞外形成乳脂^[46,47,58,59]。

研究表明,乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 和脂肪酸合成酶 FASN 两个基因的转录因子是固醇调节元件结合蛋白 SREBP-1 (sterol regulatory element binding protein 1)^[60,61]。固醇调节元件结合蛋白 SREBP-1 在连接靶基因后,可以通过招募糖原合成酶激酶 GSK3 (glycogen synthase kinase 3)发生磷酸化,进而可以招募泛素连接酶 SCF-Fbw7,使其被泛素化并通过泛素-蛋白酶体系统进行降解^[62-64]。这也提示了泛素化可以间接影响乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 和脂肪酸合成酶 FASN 的表达而调控脂肪

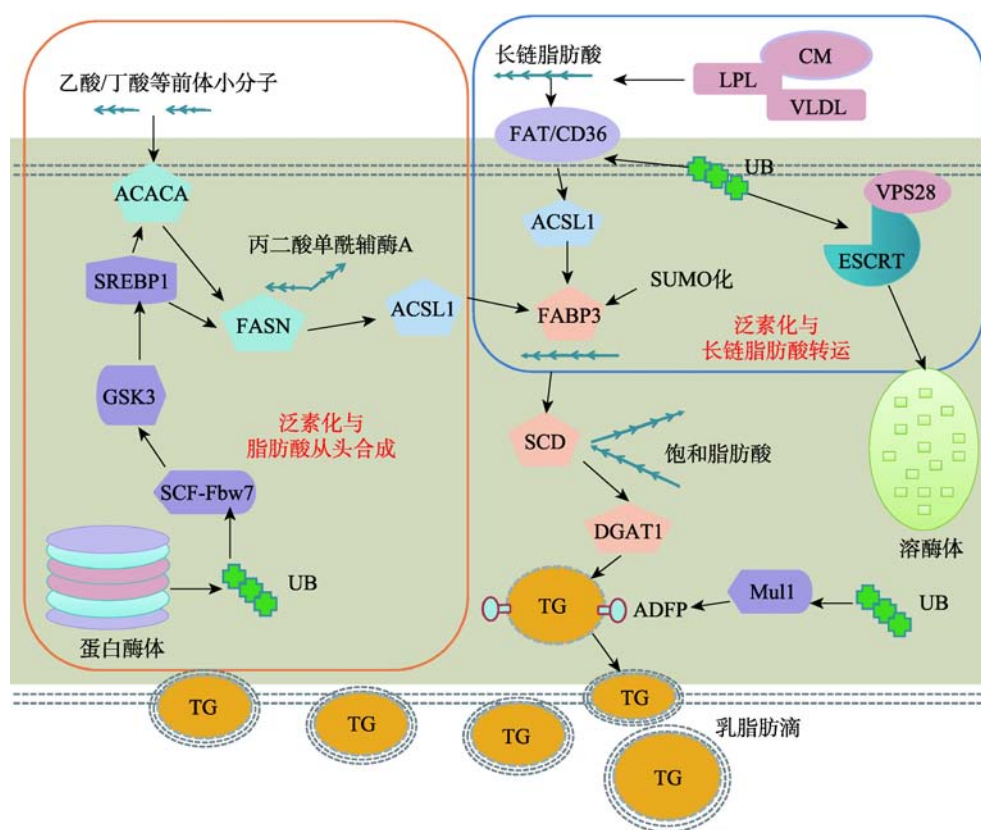


图 3 泛素化与乳脂合成的分子调控

Fig. 3 Molecular regulation of ubiquitination and milk fat synthesis

奶牛乳腺上皮细胞中甘油三酯的合成过程主要有两个过程：长链脂肪酸的直接合成和脂肪酸从头合成。在长链脂肪酸合成乳脂过程中，泛素化通过溶酶体途径调控长链脂肪酸的转入，并通过类泛素化 SUMO 化影响长链脂肪酸的细胞内转运；在脂肪酸从头合成过程中，泛素化通过泛素-蛋白酶体途径调控乙酸或丁酸等小分子生成脂肪酸的过程，并影响细胞中脂肪酸链的延长和转运；在乳脂生成的最后过程中，泛素化通过泛素-蛋白酶体系统影响乳脂肪滴的最后形成。

酸的从头合成。脂肪分化相关蛋白 ADFP 是脂肪滴表面蛋白，在肾透明细胞癌中研究发现泛素连接酶 Mul1 可以识别 ADFP 并调控其进行泛素化降解^[65]。Liu 等^[3]和刘莉莉等^[4]发现抑制奶牛乳腺上皮细胞中蛋白酶体活性后，乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 的 mRNA 表达量显著下调 ($P < 0.05$)，但脂肪酸合成酶 FASN 的 mRNA 表达量显著上调 ($P < 0.05$)，这也在一定程度上证实了泛素化可以通过影响乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 和脂肪酸合成酶 FASN 的表达而调控脂肪酸的从头合成；Liu 等^[3]和刘莉莉等^[4]还通过干扰奶牛乳腺上皮细胞中 VPS28 的表达而影响内体蛋白分选转运装置复合体 ESCRTs 的稳定性，进而发现细胞中的 ADFP 有明显的蓄积，同时通过电子显微镜观察到细胞中有大量脂肪滴蓄积，这也说明脂肪分化相关蛋白 ADFP 是受泛素-溶酶体系统调控

降解。因此，在脂肪酸从头合成过程中，泛素化可以通过泛素-蛋白酶体途径调控转录因子 SREBP-1 而影响乙酰辅酶 A 羧化酶 ACACA 和脂肪酸合成酶 FASN 的表达，从而影响乙酸或丁酸等小分子生成脂肪酸的过程，然后再通过泛素-蛋白酶体途径调控细胞内长链脂肪酸的生成和转运，以及最后长链脂肪酸生成甘油三酯的过程。具体过程见图 3 泛素化与脂肪酸从头合成部分。

3 结语与展望

泛素化途径在脂肪酸代谢和甘油三酯合成过程中都发挥重要作用。泛素化-蛋白酶体和溶酶体途径中的相关组件或调控发生异常都可导致奶牛乳腺上皮细胞中泛素化水平的改变进而直接影响脂肪酸的

转运和从头合成、脂肪滴的形成和乳脂的最后生成。然而, 目前对泛素化是如何诱导乳脂相关蛋白质的泛素化降解、这些蛋白质的泛素化类型以及泛素化涉及的酶的生化特性和亚细胞定位及其底物都知之甚少, 而这些都是阐明泛素化介导的乳脂生成调控机制的基础, 需要大量的研究。因此, 深入研究泛素化途径在奶牛乳脂生成过程中发挥的生物学功能及其具体作用方式和机制, 有望揭示泛素化信号通路调控乳脂合成的新机制, 并为泛素化信号通路在其他奶牛生产性状或其他畜禽生产性状的作用机制研究提供参考。

参考文献(References):

- [1] Metin C, Luccardini C. Neuroscience. Ubiquitination inhibits neuronal exit. *Science*, 2010, 330(6012): 1754–1755. [DOI]
- [2] Shi Y, Chan DW, Jung SY, Malovannaya A, Wang Y, Qin J. A data set of human endogenous protein ubiquitination sites. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10(5): M110.002089. [DOI]
- [3] Liu L, Zhang Q. Identification and functional analysis of candidate gene VPS28 for milk fat in bovine mammary epithelial cells. *Biochem Bioph Res Co*, 2019, 510(4): 606–613. [DOI]
- [4] Liu LL, Guo AW, Wu PF, Chen FF, Yang YJ, Zhang Q. Regulation of VPS28 gene knockdown on the milk fat synthesis in Chinese Holstein dairy. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(12): 1092–1100.
刘莉莉, 郭爱伟, 吴培福, 陈粉粉, 杨亚晋, 张勤. 敲降 VPS28 基因对中国荷斯坦奶牛乳脂合成的调控. *遗传*, 2018, 40(12): 1092–1100. [DOI]
- [5] Liu L, Jiang L, Ding XD, Liu JF, Zhang. The regulation of glucose on milk fat synthesis is mediated by the ubiquitin-proteasome system in bovine mammary epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(1): 59–63. [DOI]
- [6] Yu Y, Hayward GS. The ubiquitin E3 ligase RAUL negatively regulates type I interferon through ubiquitination of the transcription factors IRF7 and IRF3. *Immunity*, 2010, 33(6): 863–877. [DOI]
- [7] Strack B, Calistri A, Accola MA, Palù G, Göttlinger HG. A role for ubiquitin ligase recruitment in retrovirus release. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(24): 13063–13068. [DOI]
- [8] Bhoj VG, Chen ZJ. Ubiquitylation in innate and adaptive immunity. *Nature*, 2009, 458(7237): 430–437. [DOI]
- [9] Ikeda F, Dikic I. Atypical ubiquitin chains: new molecular signals. ‘Protein Modifications: Beyond the Usual Suspects’ review series. *EMBO Rep*, 2008, 9(6): 536–542. [DOI]
- [10] Tanno H, Komada M. The ubiquitin code and its decoding machinery in the endocytic pathway. *J Biochem*, 2013, 153(6): 497–504. [DOI]
- [11] Mallette FA, Richard S. K48-linked ubiquitination and protein degradation regulate 53BP1 recruitment at DNA damage sites. *Cell Res*, 2012, 22(8): 1221–1223. [DOI]
- [12] Hao ZY, Sheng Y, Duncan GS, Li WY, Dominguez C, Sylvester J, Su YW, Lin GH, Snow BE, Brenner D, You-Ten A, Haight J, Inoue S, Wakeham A, Elford A, Hamilton S, Liang Y, Zúñiga-Pflücker JC, He HH, Ohashi PS, Mak TW. K48-linked KLF4 ubiquitination by E3 ligase Mule controls T-cell proliferation and cell cycle progression. *Nat Commun*, 2017, 8: 14003. [DOI]
- [13] He S, Zhang LQ. Research progress in linear ubiquitin modification. *Hereditas(Beijing)*, 2015, 37(9): 911–917.
何珊, 张令强. 线性泛素化修饰研究进展. *遗传*, 2015, 37(9): 911–917. [DOI]
- [14] Tang Y, Tu HL, Zhang J, Zhao XQ, Wang YN, Qin J, Lin X. K63-linked ubiquitination regulates RIPK1 kinase activity to prevent cell death during embryogenesis and inflammation. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4157. [DOI]
- [15] Liu CS, Yang-Yen HF, Suen CS, Hwang MJ, Yen JY. Cbl-mediated K63-linked ubiquitination of JAK2 enhances JAK2 phosphorylation and signal transduction. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4613. [DOI]
- [16] Zhang QY, Zhang YZ, Shen K, Zhang SY, Cao JP. Histone ubiquitylation and its roles in DNA damage response. *Hereditas (Beijing)*, 2019, 41(1): 29–40.
张卿义, 张樱子, 沈凯, 张舒羽, 曹建平. 组蛋白泛素化修饰及其在 DNA 损伤应答中的作用. *遗传*, 2019, 41(1): 29–40. [DOI]
- [17] Ray DM, Rogers BA, Sunman JA, Akiyama SK, Olden K, Roberts JD. Lysine 63-linked ubiquitination is important for arachidonic acid-induced cellular adhesion and migration. *Biochem Cell Biol*, 2010, 88(6): 947–956. [DOI]
- [18] Békés M, Okamoto K, Crist SB, Jones MJ, Chapman JR, Brasher BB, Melandri FD, Ueberheide BM, Denchi EL, Huang TT. DUB-resistant ubiquitin to survey ubiquitination switches in mammalian cells. *Cell Rep*, 2013, 5(3): 826–838. [DOI]
- [19] Clague MJ. Biochemistry: Oxidation controls the DUB step. *Nature*, 2013, 497(7447): 49–50. [DOI]
- [20] Wright MH, Berlin I, Nash PD. Regulation of endocytic sorting by ESCRT-DUB-mediated deubiquitination. *Cell Biochem Biophys*, 2011, 60(1–2): 39–46. [DOI]

- [21] Rathaus M, Lerrer B, Cohen HY. Deubiquitylation: a novel DUB enzymatic activity for the DNA repair protein, Ku70. *Cell Cycle*, 2009, 8(12): 1843–1852. [DOI]
- [22] Zhu Y, Carroll M, Papa FR, Hochstrasser M, D'Andrea AD. DUB-1, a deubiquitinating enzyme with growth-suppressing activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(8): 3275–3279. [DOI]
- [23] Leestemaker Y, Ovaa H. Tools to investigate the ubiquitin proteasome system. *Drug Discov Today Technol*, 2017, 26: 25–31. [DOI]
- [24] Hao YH, Doyle JM, Ramanathan S, Gomez TS, Jia D, Xu M, Chen ZJ, Billadeau DD, Rosen MK, Potts PR. Regulation of WASH-dependent actin polymerization and protein trafficking by ubiquitination. *Cell*, 2013, 152(5): 1051–1064. [DOI]
- [25] Nakayama KI, Nakayama K. Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(5): 369–381. [DOI]
- [26] Malynn BA, Ma A. Ubiquitin makes its mark on immune regulation. *Immunity*, 2010, 33(6): 843–852. [DOI]
- [27] Chen K, Cheng HH, Zhou RJ. Molecular mechanisms and functions of autophagy and the ubiquitin-proteasome pathway. *Hereditas(Beijing)*, 2012, 34(1): 5–18.
陈科, 程汉华, 周荣家. 自噬与泛素化蛋白降解途径的分子机制及其功能. *遗传*, 2012, 34(1): 5–18. [DOI]
- [28] Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 503–533. [DOI]
- [29] Villarroja-Beltri C, Baixauli F, Mittelbrunn M, Fernández-Delgado I, Torralba D, Moreno-Gonzalo O, Baldanta S, Enrich C, Guerra S, Sánchez-Madrid F. ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins. *Nat Commun*, 2016, 7: 13588. [DOI]
- [30] Pohl C, Dikic I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Science*, 2019, 366(6467): 818–822. [DOI]
- [31] Smalle J, Vierstra RD. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 555–590. [DOI]
- [32] Bard JAM, Goodall EA, Greene ER, Jonsson E, Dong KC, Martin A. Structure and Function of the 26S Proteasome. *Annu Rev Biochem*, 2018, 87: 697–724. [DOI]
- [33] Chen YJ, Wu H, Shen XZ. The ubiquitin-proteasome system and its potential application in hepatocellular carcinoma therapy. *Cancer Lett*, 2016, 379(2): 245–252. [DOI]
- [34] Dong LH, Ran ML, Li Z, Peng FZ, Chen B. The role of ubiquitin-proteasome pathway in spermatogenesis. *Hereditas(Beijing)*, 2016, 38(9): 791–800.
董莲花, 冉茂良, 李智, 彭馥芝, 陈斌. 泛素-蛋白酶体途径在精子生成中的作用. *遗传*, 2016, 38(9): 791–800. [DOI]
- [35] Ross JM, Olson L, Coppotelli G. Mitochondrial and ubiquitin proteasome system dysfunction in ageing and disease: two sides of the same coin. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8): 19458–19476. [DOI]
- [36] Garrido C, Brunet M, Didelot C, Zermati Y, Schmitt E, Kroemer G. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle*, 2006, 5(22): 2592–2601. [DOI]
- [37] Saksena S, Sun J, Chu T, Emr SD. ESCRTing proteins in the endocytic pathway. *Trends Biochem Sci*, 2007, 32(12): 561–573. [DOI]
- [38] Odorizzi G. ESCRTs take on a job in surveillance. *Cell*, 2014, 159(2): 240–241. [DOI]
- [39] Shields SB, Piper RC. How ubiquitin functions with ESCRTs. *Traffic*, 2011, 12(10): 1306–1317. [DOI]
- [40] Gutierrez MG, Carlton JG. ESCRTs offer repair service. *Science*, 2018, 360(6384): 33–34. [DOI]
- [41] Majumder P, Chakrabarti O. ESCRTs and associated proteins in lysosomal fusion with endosomes and autophagosomes. *Biochem Cell Biol*, 2016, 94(5): 443–450. [DOI]
- [42] Radulovic M, Stenmark H. ESCRTs in membrane sealing. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46(4): 773–778. [DOI]
- [43] Zhang S, Yu CM, Yin Y, Chen W. Research progress of the role of autophagy in infectious diseases. *Bull Acad Mil Med Sci*, 2009, 33(5): 469–472.
章晟, 于长明, 殷瑛, 陈薇. 细胞自噬在病原体感染过程中的作用研究进展. *军事医学科学院院刊*, 2009, 33(5): 469–472. [DOI]
- [44] Espert L, Codogno P, Biard-Piechaczyk M. Involvement of autophagy in viral infections: antiviral function and subversion by viruses. *J Mol Med*, 2007, 85(8): 811–823. [DOI]
- [45] Walther TC, Farese RV. The life of lipid droplets. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1791(6): 459–466. [DOI]
- [46] Bionaz M, Looor JJ. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics*, 2008, 9: 366. [DOI]
- [47] Reinhardt TA, Lippolis JD. Bovine milk fat globule membrane proteome. *J Dairy Res*, 2006, 73(4): 406–416. [DOI]
- [48] Doege H, Stahl A. Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from *in vivo* models. *Physiology*, 2006, 21: 259–268. [DOI]

- [49] Bionaz M, Loor JJ. ACSL1, AGPAT6, FABP3, LPIN1, and SLC27A6 are the most abundant isoforms in bovine mammary tissue and their expression is affected by stage of lactation. *J Nutr*, 2008, 138(6): 1019–1024. [DOI]
- [50] Smith J, Su X, El-Maghrabi R, Stahl PD, Abumrad NA. Opposite regulation of CD36 ubiquitination by fatty acids and insulin: effects on fatty acid uptake. *J Biol Chem*, 2008, 283(20): 13578–13585. [DOI]
- [51] Kan CF, Singh AB, Stafforini DM, Azhar S, Liu J. Arachidonic acid downregulates acyl-CoA synthetase 4 expression by promoting its ubiquitination and proteasomal degradation. *J Lipid Res*, 2014, 55(8): 1657–1667. [DOI]
- [52] Chung SS, Ahn BY, Kim M, Kho JH, Jung HS, Park KS. SUMO modification selectively regulates transcriptional activity of peroxisome-proliferator-activated receptor γ in C2C12 myotubes. *Biochem J*, 2011, 433(1): 155–161. [DOI]
- [53] Bernard L, Leroux C, Chilliard Y. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *Adv Exp Med Biol*, 2008, 606: 67–108. [DOI]
- [54] Roy R, Ordovas L, Zaragoza P, Romero A, Moreno C, Altarriba J, Rodellar C. Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk-fat content. *Anim Genet*, 2006, 37(3): 215–218. [DOI]
- [55] Tao H, Chang GJ, Xu TL, Zhao HJ, Zhang K, Shen XZ. Feeding a high concentrate diet down-regulates expression of ACACA, LPL and SCD and modifies milk composition in lactating goats. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0130525. [DOI]
- [56] McManaman JL, Zabaronick W, Schaack J, Orlicky DJ. Lipid droplet targeting domains of adipophilin. *J Lipid Res*, 2003, 44(4): 668–673. [DOI]
- [57] Heid HW, Moll R, Schwetlick I, Rackwitz HR, Keenan TW. Adipophilin is a specific marker of lipid accumulation in diverse cell types and diseases. *Cell Tissue Res*, 1998, 294(2): 309–321. [DOI]
- [58] Heid HW, Keenan TW. Intracellular origin and secretion of milk fat globules. *Eur J Cell Biol*, 2005, 84(2–3): 245–258. [DOI]
- [59] McManaman JL, Russell TD, Schaack J, Orlicky DJ, Robenek H. Molecular determinants of milk lipid secretion. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2007, 12(4): 259–268. [DOI]
- [60] Lopez JM, Bennett MK, Sanchez HB, Rosenfeld JM, Osborne TF. Sterol regulation of acetyl coenzyme A carboxylase: a mechanism for coordinate control of cellular lipid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(3): 1049–1053. [DOI]
- [61] Rudolph MC, Monks J, Burns V, Phistry M, Mariani R, Foote MR, Bauman DE, Anderson SM, Neville MC. Sterol regulatory element binding protein and dietary lipid regulation of fatty acid synthesis in the mammary epithelium. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299(6): E918–E927. [DOI]
- [62] Punga T, Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J. Phosphorylation and ubiquitination of the transcription factor sterol regulatory element-binding protein-1 in response to DNA binding. *J Biol Chem*, 2006, 281(35): 25278–25286. [DOI]
- [63] Bengoechea-Alonso MT, Ericsson J. A phosphorylation cascade controls the degradation of active SREBP1. *J Biol Chem*, 2009, 284(9): 5885–5895. [DOI]
- [64] Han YM, Hu ZM, Cui AY, Liu ZS, Ma FG, Xue YQ, Liu YX, Zhang FF, Zhao ZH, Yu YY, Gao J, Wei C, Li JY, Fang J, Li J, Fan JG, Song BL, Li Y. Post-translational regulation of lipogenesis via AMPK-dependent phosphorylation of insulin-induced gene. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 623. [DOI]
- [65] Yuan YJ, Li XZ, Xu YY, Zhao HB, Su ZM, Lai DH, Yang WQ, Chen SX, He YZ, Li X, Liu LY, Xu GB. Mitochondrial E3 ubiquitin ligase 1 promotes autophagy flux to suppress the development of clear cell renal cell carcinomas. *Cancer Sci*, 2019, 110(11): 3533–3542. [DOI]

(责任编辑: 赵要风)