

# 泛素-蛋白水解酶复合体通路与病毒侵染

李朝飞 庞 义\*

( 中山大学生物防治国家重点实验室 广州 510275 )

**摘 要** 泛素-蛋白水解酶复合体通路( Ubiquitin-proteasome pathway , UPP )是细胞内依赖于 ATP、非溶酶体途径的蛋白质降解通路 ,广泛参与包括细胞周期调控、细胞凋亡、信号转导、转录调控、免疫应答及抗原呈递等多种机体代谢活动。UPP 在病毒侵染中作用的研究仍处于起步阶段。已发现 ,昆虫病毒和非洲猪瘟病毒分别是迄今发现唯一编码泛素和泛素连接酶的病毒。最近 ,大量的研究表明 ,病毒利用宿主细胞的 UPP 逃避免疫系统监控、促进病毒复制以及进行病毒粒子的组装和释放。

**关键词** 泛素 ,泛素-蛋白水解酶复合体通路 ,病毒侵染

中图分类号 Q965 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2004)02-0151-06

在正常代谢条件下 ,细胞内蛋白的合成和降解具有高度精确的时空调节与选择性。目前已发现多种蛋白质降解途径 :a. 溶酶体途径 ,主要降解入胞蛋白和表面膜蛋白 ,应急状态下也降解细胞内蛋白 ,尤其是结构蛋白 ,但该途径对胞内蛋白降解的特异性较低 ;b. 特殊细胞器的水解系统 ,如高尔基体内 Kex2 水解酶、线粒体内 La 蛋白酶、植物叶绿体内 ClpAP 等 ;c. 细胞膜表面水解酶系统 ;d. Caspase 蛋白酶家族 ;e. 高度保守的泛素-蛋白水解酶复合体通路( Ubiquitin-proteasome pathway , UPP )。UPP 是细胞质和细胞核内依赖于 ATP、非溶酶体途径的蛋白质降解通路 ,高效并高度选择性地对细胞内蛋白进行降解 ,尤其降解短寿命的功能蛋白、癌基因产物和变性、变构蛋白等 ,应急状态下也降解细胞内的结构蛋白。通过降解多种胞内蛋白 ,UPP 参与细胞周期、细胞生长、分化与凋亡、细胞分泌与内吞、信号转导、转录调控、DNA 修复、免疫应答及抗原呈递等多种生命活动过程 ,该途径的异常将导致一系列疾病 ,尤其是恶性肿瘤与神经退行性疾病<sup>[1]</sup>。UPP 的发现被认为是细胞周期调控、细胞恶性转化和免疫学研究的重大转折。除了真核生物以外 ,昆虫病毒是目前发现唯一编码泛素的病毒 ,并且在一些植物病毒和其他动物病毒中也发现了泛素或泛素化的病毒蛋白。最近 ,大量的研究表明 ,病毒侵染过程中与宿主 UPP 系统之间存在着复杂的相互作用。

## 1 泛素-蛋白水解酶复合体通路

泛素-蛋白水解酶复合体通路由相互连续的两个步骤组成 :a. 泛素( Ubiquitin )分子与底物蛋白的共价结合 ;b. 多聚泛

素化的蛋白被蛋白水解酶复合体( Proteasome )降解 ,同时泛素被重新活化( 图 1 )。

### 1.1 泛素与底物蛋白的共价结合

泛素由 76 个氨基酸组成 ,分子量为 8.6kD ,是在真核生物内高度保守、广泛存在的一种多肽。从不同种属真核生物得到的泛素的一级结构几乎相同 ,对酵母、植物、动物泛素的分析表明 ,它们的一级结构仅有 1~3 个氨基酸残基的不同 ,三维构象也基本相似 ,N-端为较紧密的球状结构域 ,而 C-末端则是松散的伸展结构<sup>[2]</sup>。

泛素与靶蛋白的结合需要 3 个酶 ,即 E1、E2、E3。E1 被称为泛素活化酶( Ubiquitin activating enzyme ) ,在该酶的催化下 ,泛素首先和 ATP 反应形成泛素-AMP ,然后泛素再和 E1 以硫酯键的方式结合形成 E1-S-泛素复合物。接着泛素转移给 E2 ,E2 即为泛素结合酶( Ubiquitin conjugating enzyme ) ,泛素与 E2 之间形成新的硫酯键。最后 ,在泛素-蛋白质连接酶( Ubiquitin-protein ligase )E3 的作用下 ,泛素 C 端甘氨酸羧基与靶蛋白赖氨酸  $\alpha$ -或  $\epsilon$ -氨基结合形成泛素-蛋白质复合物。随后 ,泛素 48 位赖氨酸  $\epsilon$ -氨基进一步泛素化形成多聚泛素化的蛋白质<sup>[3]</sup>。最近发现 ,一种新的酶——E4 在少数底物的泛素化反应中 ,对多聚泛素链的的延长起着重要作用<sup>[4]</sup>。

### 1.2 蛋白水解酶复合体对底物蛋白的降解

蛋白水解酶复合体由呈筒状的 20S 水解核心( Core particle , CP )与覆盖于 20S 两端或一端呈帽状结构的 19S 调节子( Regulatory particle , RP )组成 ,其分子量约为 2500 kD ,沉降系数为 26S ,在机体内主要发挥能量和泛素依赖性的蛋白质水解作用。20S CP 是由 4 个环组成的中空筒状结构 ,每个环由

收稿日期 2003-09-01 ,修回日期 2003-11-10。

基金项目 国家重点基础研究发展规划项目( No. G2000016209 )和自然科学基金项目( No. 30370965 )资助。

\* 通讯作者。 Tel : 86-20-84113860 ; E-mail : ls12@zsu.edu.cn

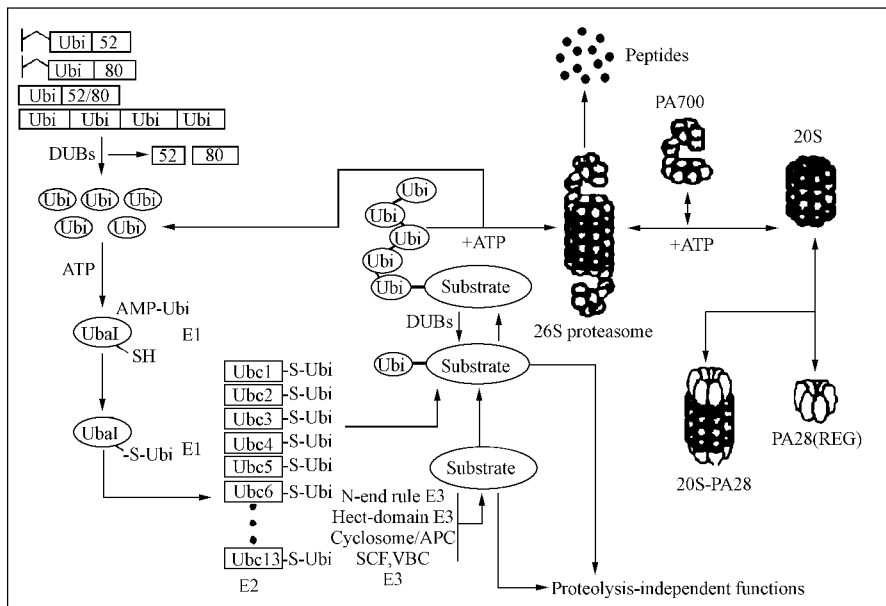
图 1 泛素-蛋白水解酶复合体通路<sup>[5]</sup>

Fig. 1 Ubiquitin-proteasome pathway (UPP)

7个亚基组成,其中位于外侧的两个环各由7个 $\alpha$ 亚基组成,而位于内侧的两个环各由7个 $\beta$ 亚基组成。

20S的蛋白水解活性位点存在于两个 $\beta$ 环上。19S调节子由两个多亚基的亚结构盖子(Lid)与基底(base)组成,具有选择底物,促使底物构象发生改变并将其运送至20S水解核心等多种生理功能。已发现,一些19S调节子的Rpt(regulatory particle triple-A protein)亚基直接与CP $\alpha$ -环结合,具有开启20S中央通道与运送底物的功能。另一种非ATP酶蛋白Rpn10与RP基底紧密结合,它也可以与RP盖子结合或游离于蛋白酶体以外存在,其主要功能是稳定RP盖子与基底之间的相互作用。目前发现,Rpn10/S5a/Mcb1能特异识别多聚泛素化底物蛋白的泛素链并与其结合,在ATP存在下,19S RP的基底使靶蛋白解折叠,发生构象改变,并将其运送至20S水解核心的柱状通道中,将靶蛋白水解为一般长度小于8个氨基酸残基的短肽,而泛素链则在去泛素化酶的作用下与底物蛋白解离。在这一降解过程中,19S Rp盖子以某种方式防止多聚泛素链对底物蛋白进入水解核心通道造成阻塞。从而加速底物蛋白的降解<sup>[6]</sup>。

去泛素作用是泛素化过程的逆转,参与泛素分子合成后由其前体蛋白的分离,蛋白质降解后泛素分子的再利用,对多聚泛素链的修饰以及将错误识别的底物蛋白从泛素化复合体中释放出来等过程。去泛素作用主要由去泛素化酶(Deubiquitinating enzymes, DUBs)来完成的。去泛素化酶属半胱氨酸蛋白酶,目前已发现90多种<sup>[7]</sup>。

## 2 UPP与病毒侵染

### 2.1 病毒编码的泛素及泛素功能相关酶类

昆虫病毒是迄今发现唯一编码泛素的病毒,其泛素基因编码区3'端融合有1~74个氨基酸残基的延伸肽,对于这种

融合的意义及延伸肽的功能尚不明确。序列分析发现,昆虫病毒泛素与真核生物泛素的同源性一般为76%~85%,一些介导泛素功能的氨基酸残基也保守地存在于昆虫病毒泛素中<sup>[8]</sup>。研究表明,苜蓿丫纹夜蛾核多角体病毒(*Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)泛素以磷脂键连接于芽生型病毒(Budded virus, BV)的囊膜上<sup>[9]</sup>,缺失该基因并不影响病毒的复制,但芽生型病毒粒子的滴度明显降低<sup>[10]</sup>。

非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)是目前已知唯一编码泛素连接酶(E2)的病毒。研究发现,ASFV编码的泛素连接酶—UBCv1能催化自身及组蛋白和病毒粒子蛋白PIG1的泛素化<sup>[11,12]</sup>。进一步研究表明,UBCv1能与含有ARID(A/T rich interaction domain) DNA结合结构域的蛋白质相互作用<sup>[13]</sup>。

### 2.2 UPP与病毒免疫逃逸

病毒入侵细胞时,受到宿主免疫系统的监控。研究表明,病毒逃避细胞免疫系统监控的机制主要与组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)的抗原呈递途径有关。目前发现,I型MHC呈递的抗原肽段主要由UPP产生。在免疫反应和应答中,细胞因子刺激细胞,通过Jak/STAT信号传递途径激活MHC基因的表达。同时,细胞因子,如IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 等诱导细胞表达3种 $\beta$ 亚基: $\beta$ 1(LMP2)、 $\beta$ 5(LMP7)与 $\beta$ 2(MECL-1),它们能代替正常细胞26S蛋白酶体中具有催化活性的 $\beta$ 亚基 $\beta$ 1、 $\beta$ 2、 $\beta$ 5,从而形成新的20S水解核心。此外,IFN- $\gamma$ 诱导表达11S PA28同源二聚体,PA28代替覆盖在20S蛋白酶体一端的19S调节子,并与上述新形成的20S水解核心以及19S帽状结构一起形成PA28-20S-19S蛋白水解酶复合体。在正常细胞中,20S水解核心内存在6个活性位点,其中两个活性位点优先在蛋白质疏水性氨基酸

残基后切割,两个在碱性氨基酸残基后切割,另两个在酸性氨基酸残基后切割。由这些活性位点产生的肽段多数都短于 8 个氨基酸残基。研究发现,由 IFN- $\gamma$  诱导表达的  $\beta$  亚基能改变 20S 水解核心的水解活性,这些亚基在蛋白质的疏水性氨基酸残基、碱性氨基酸残基和支链氨基酸残基后切割,而 PA28 取替 19S 调节子以后,使得蛋白酶体能够释放较长得肽段 (>8aa)。已知,抗原肽转运蛋白 TAP 与 MHC I 选择性结合长度约 8~10aa,C-末端为疏水性和碱性氨基酸残基的肽段。因此,由 PA28-20S-19S 蛋白酶体产生的肽段,在氨基酸序列特征和大小两个方面都有利于抗原呈递。正是由于该蛋白酶体在免疫抗原呈递中的重要作用,又被称为免疫蛋白酶体 (Immunoproteasome, 26si)<sup>[14]</sup>。此外,IFN- $\gamma$  又诱导产生多种氨肽酶,对肽段进行进一步加工修饰,使其更适合于抗原呈递。加工后的肽段由 TAP 转运,到达内质网腔。在分子伴侣参与下,大量合成的 MHC I 结合抗原肽段形成抗原复合物,经高尔基体分泌的小泡运输到质膜呈递给细胞毒 T 细胞 (Tc) 激活细胞免疫过程 (图 2)。II 型 MHC 主要负责胞外抗原的呈递。病毒侵染细胞时,II 型 MHC 的表达量增加,附着于质膜上的病毒蛋白经细胞内吞途径进入胞内。携带有病毒蛋白的内吞小泡与运送 MHC II 的高尔基小泡融合,在融合小泡内形成抗原复合物,转运到质膜表面,呈递给辅助 T 细胞 (Th) 激活体液免疫过程 (图 3)。研究表明,在抗原呈递途径的不同环节上,不同的病毒采取了相同或不同的策略,以逃避宿主细胞免疫系统的监控。

**2.2.1 病毒干扰 UPP** 病毒入侵时,UPP 对病毒蛋白降解产生抗原肽段,加速细胞抗原呈递过程。研究表明,许多病毒能抑制或阻止 UPP 对病毒蛋白的降解。目前发现,Epstein-Barvirus (EBV) 的核抗原 EBNA1 (Epstein-Bar virus nuclear antigen-1) 蛋白序列中具有重复的 Gly-Ala(Gar) 结构域,该结构域能形成  $\beta$  折叠,从而抵抗 EBNA1 的构象发生改变,阻止其进入 26si 被降解<sup>[15]</sup>。而 Human cytomegalovirus (HCMV) 基质蛋白 pp65 能促使许多 HCMV 蛋白分子内的 Thr 残基磷酸化,这种磷酸化修饰也能阻止这些蛋白被 UPP 降解<sup>[16]</sup>。此外,Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) 的 Tax 和 Tat 蛋白, Hepatitis B Virus (HBV) 的 X 蛋白和 EBV 的 E1A 蛋白都能抑制 20S 水解核心的催化活性,从而免于抗原呈递<sup>[14]</sup>。

**2.2.2 降解 I 型 MHC** 研究发现, HCMV 基因组中有一个 US 区 (Unique short region), 该区域序列编码 10 多个蛋白。其中的 US2 和 US11 在内质网中合成后分布于内质网膜上,其内质网腔内的结构域能形成类似 Ig 折叠,该结构域能与内质网内新生的 MHC I 紧密结合,并在 UPP 及其它因子的协同作用下使 MHC I 转位,进入细胞质。在胞质空间内, MHC I 在极短的时间内 (半衰期 < 1min) 被 26S 蛋白酶体降解。US2/US11 与 MHC I 结合后,导致 MHC I 重链多聚泛素化,推测 US2/US11 具有 E3 连接酶的功能,它们特异性地催化 MHC I 分子泛素化,进而诱导其转位与降解<sup>[17]</sup>。herpesviruses (HPV) k3 基因编码的 MK3 蛋白与 Kaposi's sarcoma associated virus (KSHV) k3/k5 基因编码的 MIR1/MIR2 蛋白都具有一个

PHD/LAP 锌指结构域 (plant hemeo doman/leukemia associated protein-zinc finger doman), 该结构域具有 E3 活性。MK3 与 MIR1/MIR2 也分布于内质网膜上,其跨膜区能与新生的 MHC I 结合,并导致其降解。但它们降解 MHC I 的机理有所不同。MK3 与 MHC I 结合前,首先以某种机制促使与 MHC I 组装相关的 TAP/Tapsin 蛋白降解,随后诱导 MHC I 分子多聚泛素化并由 26S 降解<sup>[18]</sup>,而 MIR1/MIR2 与 MHC I 结合后,携带 MHC I 到达质膜,并通过其 PHD/LAP 结构域的 E3 酶活,催化 MHC I 单一泛素化。单一泛素化作为细胞内吞信号,使 MHC I 经细胞内吞途径由溶酶体降解<sup>[19]</sup>。

**2.2.3 下调 MHC I、II 表达水平** 已知细胞因子 (如 IFN- $\gamma$ ) 可诱导 MHC II 在成纤维细胞、内皮细胞与小神经胶质细胞中表达,允许这些细胞呈递抗原。但在 HCMV 感染的哺乳动物细胞中,IFN- $\gamma$  不能诱导 MHC II 的表达,进而阻止细胞抗原呈递。HCMV 降低 MHC II 表达的机理可能是其编码的蛋白促使 Jak 蛋白经 UPP 降解,从而阻断 Jak/STAT 信号传递途径,影响 MHC II 基因的转录<sup>[20]</sup>。腺病毒 12 的早期抗原 (Ad12E1A) 可引起 MHC I 表达下降,现在发现这种下行调节机制至少涉及转录水平和装配水平两个方面。转录水平的调控是通过干扰增强子 A 结合因子的形成来实现的,其中 KBF1 负责 MHC I 的组成型表达, NF- $\kappa$ B 负责 MHC I 诱导型表达。KBF 是一个同源二聚体 (p50-p50), NF- $\kappa$ B 是异源二聚体 (p50-p65), p50 的前体形式是 p105, p105 可通过 UPP 降解加工成 p50,进而合成上述两种因子,激活 MHC I 基因的表达,而 Ad12E1A 可以抑制 p105 的降解过程,使得这两种重要的转录因子不能成熟,从而实现 MHC I 表达的下调<sup>[21]</sup>。

**2.2.4 下调 CD4 表达水平** 一般情况下, MHC 分子与 TcR 的相互作用往往不足以维持这两类细胞间的牢固联系,需要另一类称为附受体 (Accessory receptor) 的分子协调作用。当这类附加受体也具有利用自身的胞间信息系统激活 T 细胞功能时,就被称为共受体 (Coreceptor)。CD8 和 CD4 共受体分别参与 I 型 MHC 与细胞毒 T 细胞及 II 型 MHC 与辅助 T 细胞之间的反应 (图 2、3)。研究发现, HIV-1 编码的 Vpu 蛋白能与内质网中合成后转位至胞质空间内的 CD4 分子结合,并导致其经由 UPP 降解<sup>[22]</sup>。

### 2.3 UPP 与病毒装配和释放

包膜病毒在感染细胞时,利用宿主细胞的合成机器,产生了大量的新生的病毒粒子。对某些类型的病毒,这些新生的病毒粒子集结在细胞表面,呈芽状突起,当芽释放后,每一个芽形成一个成熟的病毒,然后感染新的宿主细胞。研究发现,在许多病毒、特别是芽殖型病毒的病毒粒子中含有泛素或泛素化蛋白,以前,研究者并未意识到 UPP 与病毒的装配和释放有关。最近,大量的研究表明,UPP 参与了 RNA 病毒的装配和释放。

研究表明,当 26S 蛋白酶体的活性抑制后,逆转录病毒科的 rous sarcoma virus (RSV), murine leukemin virus (MLV), monkeypox virus (MPV), HIV (HIV-1, HIV-2), 弹状病毒科的 vesicular stomatitis virus (VSV), 丝状病毒科的 Ebola virus, sn

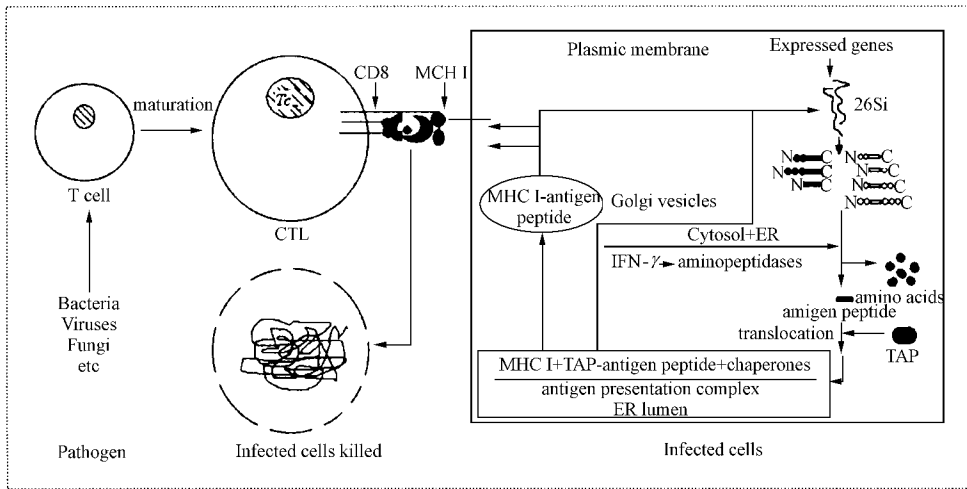


图 2 泛素-蛋白水解酶复合体通路与 MHC I 抗原呈递途径

Fig.2 UPP and MHC I antigen presentation pathway

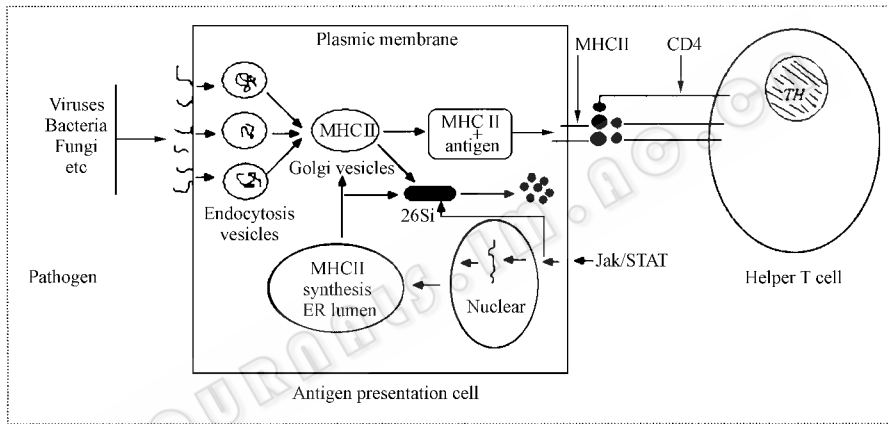


图 3 泛素-蛋白水解酶复合体通路与 MHC II 抗原呈递途径

Fig.3 UPP and MHC II antigen presentation pathway

Marburg virus 等 RNA 病毒的病毒粒子滴度明显下降,大量的病毒粒子滞留于细胞质膜,难以从宿主细胞上芽殖释放<sup>[23-25]</sup>。进一步研究发现,参与病毒装配和释放的逆转录病毒的 Gag 蛋白、弹状病毒的基质蛋白 M、丝状病毒的 VP40 蛋白,在其蛋白质序列中都存在一段较短的“L 结构域”(Late budding domain, L domain),该结构域的典型特征是含有一个富含脯氨酸的“PY”模体(PY motif)-PPXY 或 R(T/S)AP<sup>[25-27]</sup>。研究证实, PY 模体能与 E3 连接酶 Nedd4/Rsp5 的 WW 结构域相互作用。通过这种相互作用使得具有 PY 模体的病毒蛋白单一或多聚泛素化。在有 26S 蛋白酶体抑制剂存在时, Gag、M 或 VP40 蛋白不能泛素化,其通过细胞质膜的数量也急剧下降,而缺失 PY 模体后,这些病毒蛋白与病毒粒子的释放量虽然明显减少,但其释放过程不受 26S 蛋白酶体抑制剂的影响。推测, PY 模体的功能是介导病毒蛋白与 Nedd4/Rsp5 相互作用,并导致病毒蛋白泛素化<sup>[24, 25]</sup>。泛素化的意义仍不十分清楚,由于细胞内吞途径在病毒粒子的释放过程中起着重要作用。因此,推测泛素化可能作为一种信号,指导病毒蛋白到达质膜上细胞内吞活跃的区域。也可能病毒

泛素化以后,募集与细胞内吞途径相关的组分,进而完成病毒粒子的装配和释放。最近的研究发现,肿瘤敏感基因 Tsg101(tumor-susceptibility gene 101)能与逆转录病毒的 Gag 蛋白和 Ebola 病毒的 VP40 蛋白结合,且结合区为 Gag 蛋白和 VP40 蛋白的 PY 模体<sup>[28]</sup>。已知, Tsg101 属泛素偶连酶受体蛋白,主要参与胞内蛋白转运、转录和细胞周期调控。推测, Tsg101 在逆转录病毒复制晚期的装配和释放过程中起作用,其作用机理可能是 Tsg101-Gag 复合体与 E3 连接酶作用,促使 Gag 蛋白发挥其“L 结构域”在病毒组装和释放中的作用。有研究表明, Tsg101 对转运质膜蛋白的小泡(Vesicles)起调节作用。因此, Tsg101 可能将 Gag 蛋白运送到病毒粒子成熟与释放位点。另外的可能是,如果泛素在逆转录病毒的释放过程中起作用,那么 Tsg101 可能作为一种细胞防御机制在起作用,它与 Gag 形成一种无效复合物,阻止有活性的 E2 将 Gag 蛋白泛素化。这些推测仍有待进一步研究的证实。

目前,尽管对 UPP 与病毒组装和释放的关系尚缺乏深入研究,但是,保守的“L 结构域”与细胞蛋白的相互作用而影响病毒蛋白泛素化修饰的现象表明,在病毒的装配和释放

中,UPP的参与可能是所有病毒,至少是RNA病毒入侵过程中所发生的普遍事件。

### 3 国内研究现状

国内对UPP在病毒侵染中的作用尚缺乏研究。最近,我们完成了斜纹夜蛾核多角病毒(*Spodoptera litura* multicapsid nucleopolyhedrovirus, SpltMNPV)基因组全序列的测定,发现在该病毒基因组中存在一个泛素融合基因 *ubiquitin-gp37*<sup>[29]</sup>。该基因N-端编码单拷贝泛素,而C-端融合了256个氨基酸残基的延伸肽。同源性比较发现,这一延伸肽与昆虫杆状病毒GP37和昆虫痘病毒Fusolin蛋白有较高的相似性。进一步研究表明,SpltMNPV泛素融合基因编码的蛋白在宿主细胞中剪切后形成了糖基化修饰的GP37与泛素两种蛋白<sup>[8]</sup>。随后的研究发现,SpltMNPV泛素与宿主斜纹夜蛾泛素的氨基酸序列同源性为84%。推测病毒在进化过程中由宿主细胞获得了泛素基因<sup>[30]</sup>。

### 4 展望

目前,UPP在病毒侵染中作用的研究仍处于起步阶段,此方面研究的深入最终可能导致对一系列病毒性病害获得较好的治疗方法。例如,26S蛋白酶体抑制剂对病毒侵染具有明显的抑制作用,因而有望作为新的抗病毒药物加以利用。另外,在RNA病毒组装和释放过程中起重要作用的PY模体,有可能在其他病毒蛋白中也存在同源或同功序列,根据这一模体与E3连接酶相互作用的机理,有可能设计出以PY模体作为攻击靶位点的新型抗病毒药物。

值得注意的是,相对于其它动物病毒,昆虫病毒泛素基因及宿主细胞UPP与昆虫病毒相互作用机理的研究较少,目前虽有一定的进展,但是,这些结果主要是从对AcMNPV的研究获得的。已有的证据表明,不同种类的昆虫病毒,其基因组结构及特定基因的功能是有差异的。深入开展不同种类昆虫病毒泛素基因的结构、功能及与宿主UPP关系的研究,不仅对于了解昆虫病毒的进化、病毒与宿主之间的相互作用关系具有重要的理论意义,而且对于开发新型基因工程病毒杀虫剂在实践上将起到深远的影响。

### REFERENCES (参考文献)

[ 1 ] Ciechanover A. The ubiquitin proteolytic system and pathogenesis of human diseases: a novel platform for mechanism-based drug targeting. *Biochem Soc Trans*, 2003, **31**(2): 474 - 481

[ 2 ] Vijay-Kumar S, Buggs C E, Wilkinson, K D *et al.* Comparison of the three-dimensional structures of yeast and oat ubiquitin with human ubiquitin. *J Biol Chem*, 1987, **262**(13): 6396 - 6399

[ 3 ] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, **67**: 425 - 479

[ 4 ] Koegl M, Hoppe T, Schlenker S *et al.* A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. *Cell*, 1999, **96**(5): 635 - 644

[ 5 ] Wójcik C. Ubiquitin-more than just a signal for protein degradation.

*Trends in Cell Biol*, 2001, **11**(10): 397 - 399

- [ 6 ] Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*, 2001, **82**: 373 - 428
- [ 7 ] Chung CH, Baek SH. Deubiquitinating enzymes: their diversity and emerging roles. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **266**(3): 633 - 640
- [ 8 ] Li Z, Gong Y, Yin C *et al.* Characterization of a novel ubiquitin-fusion gene Uba256 from *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus. *Gene*, 2003, **303**(1-2): 111 - 119
- [ 9 ] Guarino LA, Smith G, Dong W. Ubiquitin is attached to membranes of baculovirus particles by a novel type of phospholipid anchor. *Cell*, 1995, **80**(2): 301 - 309
- [ 10 ] Reilly LM, Guarino LA. The viral ubiquitin gene of Autographa Californica nuclear polyhedrosis virus is not essential for viral replication. *Virology*, 1996, **218**(1): 243 - 247
- [ 11 ] Hingamp PM, Arnold JE, Mayer RJ *et al.* A ubiquitin conjugating enzyme encoded by African swine fever virus. *EMBO J*, 1992, **11**(1): 361 - 366
- [ 12 ] Hingamp PM, Leyland ML, Webb J *et al.* Characterization of a ubiquitinated protein which is externally located in African swine fever virions. *J Virol*, 1995, **69**(3): 1785 - 1793
- [ 13 ] Bulimo WD, Miskin JE, Dixon LK. An ARID family protein binds to the African swine fever virus encoded ubiquitin conjugating enzyme, UBCv1. *FEBS Letters*, 2000, **471**(1): 17 - 22
- [ 14 ] Klotzel PM. Antigen processing by the proteasome. *Nature*, 2001, **413**(3): 179 - 188
- [ 15 ] Dantuma NP, Heessen S, Lindsten K *et al.* Inhibition of proteasomal degradation by the gly-Ala repeat of Epstein-Barr virus is influenced by the length of the repeat and the strength of the degradation signal. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(15): 8381 - 8385
- [ 16 ] Gilbert MJ, Riddell SR, Plachter B *et al.* Cytomegalovirus selectively blocks antigen processing and presentation of its immediate-early gene product. *Nature*, 1996, **383**(6602): 720 - 722
- [ 17 ] Shamu CE, Flierman D, Ploegh HL *et al.* Polyubiquitination is required for U2II-dependent movement of MHC class I heavy chains from endoplasmic reticulum into cytosol. *Mol Biol Cell*, 2001, **12**(8): 2546 - 2555
- [ 18 ] Hewitt EW, Duncan L, Mufti D *et al.* Ubiquitylation of MHC class I by the K3 viral protein. *EMBO J*, 2002, **21**(10): 2418 - 2429
- [ 19 ] Lorenzo ME, Jung JU, Ploegh HL. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K3 utilizes the ubiquitin-proteasome system in routing class major histocompatibility complexes to late endocytic compartments. *J Virol*, 2002, **76**(11): 5522 - 5531
- [ 20 ] Miller DM, Rahill BM, Boss JM *et al.* Human cytomegalovirus inhibits major histocompatibility complex class II expression by disruption of the Jak/Stat pathway. *J Exp Med*, 1998, **187**(5): 675 - 683
- [ 21 ] Schouten GJ, van der Eb AJ, Zantema A. Downregulation of MHC class I expression due to interference with p105-NF kappa B1 processing by Ad12E1A. *EMBO J*, 1995, **14**(7): 1498 - 1507
- [ 22 ] Schubert U, Antón LC, Bacik I *et al.* CD4 glycoprotein degradation

- the function of proteasomes and the ubiquitin-conjugating pathway. *J Virol*, 1998, **72**(3): 2280 – 2288
- [ 23 ] Vogt VM. Ubiquitin in retrovirus assembly : actor or bystander ? *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(24): 12945 – 12947
- [ 24 ] Harty RN, Brown ME, McGettigan JP *et al.* Rhabdoviruses and the cellular ubiquitin-proteasome system : a budding interaction. *J Virol*, 2001, **75**(22): 10623 – 10629
- [ 25 ] Harty RN, Brown ME, Wang G *et al.* A PPXY motif within the VP40 protein of Ebola virus interacts physically and functionally with a ubiquitin ligase : implications for filovirus budding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(25): 13871 – 13876
- [ 26 ] Craven RC, Harty RN, Paragas J. Late domain function identified in the vesicular stomatitis virus M protein by use of rhabdovirus-retrovirus chimeras. *J Virol*, 1999, **73**(4): 3359 – 3365
- [ 27 ] Yasuda J, Hunter EA. A proline-rich motif ( PPPY ) in the Gag polyprotein of Mason-Pfizer monkey virus plays a maturation-independent role in virion release. *J Virol*, 1998, **72**(5): 4095 – 4103
- [ 28 ] Pomillos O, Alam SL, Davis DR *et al.* Structure of the Tsg101 UEV domain in complex with the PTAP motif of the HIV-1 p6 protein. *Nature Structural Biology*, 2002, **9**(11): 812 – 817
- [ 29 ] Pang Y, Yu J, Wang L *et al.* Sequence analysis of the *Spodoptera litura* multicapsid nucleopolyhedrovirus genome. *Virology*, 2001, **287**(2): 391 – 404
- [ 30 ] Li Z, Gong Y, Shi Y *et al.* Cloning and expression of *Spodoptera litura* ubiquitin gene. *Entomologica Sinica*, 2003, **10**(1): 27 – 34

## Ubiquitin-proteasome Pathway and Virus Infection

LI Zhao-Fei PANG Yi\*

( State Key Laboratory for Biocontrol , Zhongshan University , Guangzhou 510275 , China )

**Abstract** Ubiquitin is highly conserved 76 amino acid protein found in all eukaryotic organisms and ubiquitin-proteasome pathway ( UPP ) plays a very important role in regulated non-lysosomal ATP dependent protein degradation. This pathway participates in or regulates numerous cellular processes , such as selective protein degradation , cell cycle progression , apoptosis , signal transduction , transcriptional regulation , receptor control by endocytosis , immune response and the processing of antigens. Nevertheless , roles of UPP in virus infection are only beginning to be clarified. Ubiquitin homology has also been found in insect viruses. All viral ubiquitin genes encode an N-terminal ubiquitin sequence and 3-256 amino acids C-terminal peptides. Most of the residues known to be essential for ubiquitin function have been conserved in the viral variant. In *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus ( AcMNPV ) , viral ubiquitin is attached to the inner surface of budded viron membrane by a covalently linked phospholipid and is not essential for viral replication. Currently , insect viruses are the only viruses known to encode ubiquitin. However , ubiquitin also plays a role in the life cycle of other viruses. Host ubiquitin molecules have been found in some plant viruses and other animal viruses. Additionally , Africa swine fever virus ( ASFV ) encodes a ubiquitin-conjugating enzyme ( E2 ) and a putative causal link between human immunodeficiency virus type 1 ( HIV-1 ) and ubiquitin was established by showing that depletion of the intracellular pool of free ubiquitin inhibits the virus budding. Further analyses indicated that many retroviruses proteins which are required for efficient pinching off the virus bud contain a late domain. The core element of the late domain is a proline-rich motif ( PPXY ) which mediates the late domain to be ubiquitinated by cellular proteins. Recently , it has been shown that many retroviruses have developed mechanisms to escape the cellular immune response , to facilitate virus replication and to promote virus assembly and budding via host UPP.

**Key words** ubiquitin , ubiquitin-proteasome pathway , virus infection

Received : 09-01-2003

This work was supported by Grants from the Special Funds for Major State Basic Research Project ( No. G2000016209 ) and the National Natural Science Foundation ( No. 30370965 ).

\* Corresponding author. Tel : 86-20-84113860 ; E-mail : ls12@zsu.edu.cn