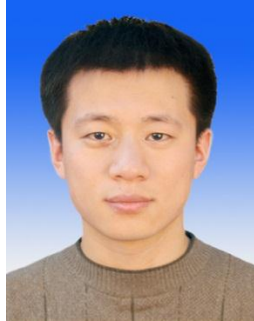


中科院在 Cell 杂志发表结构生物学相关新成果

Chinese Academy of Sciences Has Published the New Results Related to Structural Biology in Cell



高璞研究员

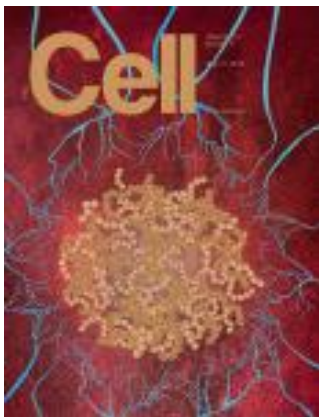
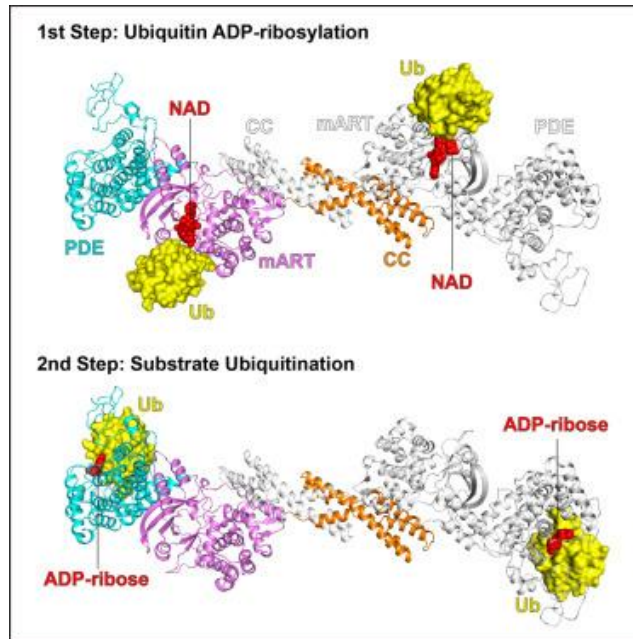
【Cell 系列】2018 年 5 月 17 日，Cell 杂志发表了中国科学院生物物理研究所高璞课题组与纽约大学合作的研究论文《Structural Insights into Non-canonical Ubiquitination Catalyzed by SidE》。该工作解析了来源于高致病性嗜肺军团菌（*Legionella pneumophila*）的新型泛素化酶 SidE 与 ubiquitin 和配体的多个复合物的高分辨率晶体结构，并结合大量的生化实验和突变体分析，揭示了 SidE 同 ubiquitin 及其配体的新颖相互作用方式和催化机制。

具体来说，研究人员通过大量的尝试，成功获得了 SidE 在其两步催化反应中，与 ubiquitin 及其配体的高分辨率晶体结构。SidE 的 apo 结构表明，mART 结构域和 PDE 结构域的催化口袋互相远离并朝向不同的方向，提示这两个结构域的催化过程是相互独立的；同时这两个结构域又通过一段保守的基序紧密结合，当丧失这种相互作用时，两个结构域的活性都受到了影响。

mART 结构域与 ubiquitin 及辅因子 NAD 的复合物结构显示，mART 结构域利用其表面的一个高度保守区域参与结合 ubiquitin，而这个相互作用界面非常靠近 mART 的催化中心；ubiquitin 的 C 末端 tail 则贡献了其主要的结合位点，尤其是第 72 位及 74 位的精氨酸紧密结合到 mART 结构域的酸性氨基酸形成的口袋里；NAD 则结合于 mART 结构域经典的 R-S-E motif 上，其烟酰胺基团则朝向 ubiquitin 的 42 位精氨酸方向，等待着催化形成 ADPr-Ub。

PDE 结构域与 ubiquitin 及 ADP-ribose 的复合物结构表明，ubiquitin 结合于 PDE 结构域催化口袋的一侧，其 Lys6-Thr9 这段区域及 His68 贡献了主要的结合位点，Arg42 朝向 PDE 结构域的活性中心；PDE 结构域在结合了 ubiquitin 后会产生局部的构象变化，以利于催化的进行。以上所有参与结合及催化的关键氨基酸，研究人员均利用突变体实验进行了酶活验证。

此外，研究人员还发现 SidE 家族蛋白对底物的识别不依赖于底物蛋白的特定三维结构，只要底物蛋白上含有能够进入 SidE 催化口袋的丝氨酸，那么均可被泛素化修饰。这些结果不仅较为完整地阐明了 SidE 家族蛋白新颖的泛素修饰机制，还为开发基于此新型泛素修饰系统的生物学工具提供了基础。



Structural Insights into Non-canonical Ubiquitination Catalyzed by SidE

SidE 催化的非典型泛素化结构研究

中国科学院 高璞

5 月 17 日

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.023>

Ubiquitination constitutes one of the most important signaling mechanisms in eukaryotes. Conventional ubiquitination is catalyzed by the universally conserved E1-E2-E3 three-enzyme cascade in an ATP-dependent manner. The newly identified SidE family effectors of the pathogen *Legionella pneumophila* ubiquitinate several human proteins by a different mechanism without engaging any of the conventional ubiquitination machinery. We now report the crystal structures of SidE alone and in complex with ubiquitin, NAD, and ADP-ribose, thereby capturing different conformations of SidE before and after ubiquitin and ligand binding. The structures of ubiquitin bound to both mART and PDE domains reveal several unique features of the two reaction steps catalyzed by SidE. Further, the structural and biochemical results demonstrate that SidE family members do not recognize specific structural folds of the substrate proteins. Our studies provide both structural explanations for the functional observations and new insights into the molecular mechanisms of this non-canonical ubiquitination machinery.