

· 综述 ·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.01.06

去泛素化酶活性的调控

梁超超[#], 程梦华[#], 刘石娟^{*}

(曲阜师范大学生命科学学院, 山东 曲阜 273165)

摘要 泛素化是一种非常重要的蛋白质翻译后修饰方式,在细胞生命活动的各个方面发挥作用。泛素化修饰是可逆的过程,去泛素化酶通过催化去除底物蛋白质上的泛素从而逆转该过程。去泛素化酶是一类数量众多的蛋白水解酶家族,近年来不断有新的去泛素化酶被发现和报道。鉴于其在细胞功能中的重要作用,去泛素化酶活性受到严格的调控。目前的研究表明,影响去泛素化酶活性的因素很多。本文主要从转录水平的调控、翻译后修饰、蛋白质定位和蛋白质相互作用等调控方式进行论述,以期为研究和利用去泛素化酶治疗疾病提供新思路。

关键词 去泛素化酶; 活性调控; 翻译后修饰; 蛋白质定位; 蛋白质相互作用

中图分类号 Q7

Regulation of Deubiquitylating Enzymes

LIANG Chao-Chao[#], CHENG Meng-Hua[#], LIU Shi-Juan^{*}

(College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China)

Abstract Ubiquitylation is a post-translational modification that plays key roles in various biological processes. It is reversely catalyzed by deubiquitinating enzymes (DUBs), which cleave ubiquitin from substrate proteins. DUBs constitute a diverse protein family that play critical roles in cellular functions. The activity of DUBs are tightly and intricately regulated by four major regulatory mechanisms: regulation of gene expression, post-translational modifications, protein-protein interaction and subcellular localization. Here we review the progresses in this field, and hope to provide strategies to target DUBs for therapeutic purposes.

Key words deubiquitinating enzyme; activity regulation; post-translational modification; subcellular localization; protein interaction

在真核生物中,泛素系统广泛参与细胞多种代谢活动,几乎调控每一个过程。去泛素化酶(deubiquitylating enzyme, DUB)作为泛素系统的重要组分,其作用主要是移除目标蛋白质上的泛素分子,逆转泛素连接酶 E3 的作用,从而控制细胞中的泛素水平^[1]。去泛素化酶在细胞的代谢调控中发挥非常重要的作用,其功能涉及细胞的许多生理与生化过程,例如细胞周期调控、DNA 损伤修复以及肿瘤的发生发展等^[2, 3]。去泛素化酶是一类数量众多的蛋白水解酶家族,根据其催化结构域的不同,分为 6 个亚家族:泛素特异性蛋白酶家族(ubiquitin-specific proteases, UBP/USP)、泛素 C 端水解酶家族(ubiquitin C-terminal hydrolases, UCH)、卵巢肿瘤蛋白酶家族(ovarian tumor proteases, OTU)、MJD 域蛋白酶家族(Machado-Joseph domain proteases)、MINDY 蛋白酶家

族(MIU-containing novel DUB family)和 JAMM 蛋白酶家族(JAB1/MPN/MOV34 proteases)^[4]。在人去泛素化酶中,大约有 54 个泛素特异性蛋白酶,包括 USP1 和圆柱瘤综合征蛋白 CYLD (cylindromatosis-

收稿日期: 2017-07-24; 修回日期: 2017-09-23; 接受日期: 2017-10-09
国家自然科学基金(No. 31200196, No. 31670270)和山东省自然科学基金(No. ZR2011CQ016, No. ZR2014JL021)资助

^{*} 通讯作者 Tel: 0537-4456415; E-mail: sjliusj@163.com

[#] 共同第一作者

Received: July 24, 2017; Revised: September 23, 2017; Accepted: October 9, 2017

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 31200196, No. 31670270) and Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2011CQ016, No. ZR2014JL021)

^{*} Corresponding author Tel: 0537-4456415; E-mail: sjliusj@163.com

[#] Co-first author

associated DUB)等;4个泛素C端水解酶UCHL1、UCHL3、UCH37和BRCA1相关蛋白1(BRCA1-associated protein-1,BAP1);16个卵巢肿瘤蛋白酶,包括OTUB1、OTUD1和A20等;4个MJD域蛋白酶,包括共济失调3型蛋白(ataxin-3,ATXN3)、ATXN3L、Josephin域1蛋白(Josephin domain containing 1,JOSD1)和JOSD5;4个MINDY蛋白酶MINDY-1~MINDY-4;和16个JAMM蛋白酶家族,包括STAM的SH3同源结构域相关分子(associated molecule with the SH3 homology domain of STAM,AMSH)和含BRCA1/BRCA2复合体36亚基(BRCA1/BRCA2-containing complex subunit 36,BRCC36)等^[4]。

研究发现,去泛素化酶在体外活性很低,意味着去泛素化酶在体内的不同阶段有着严格的调控机制^[5]。对细胞来说,去泛素化酶活性受到精确调控是非常关键的,否则错误激活的去泛素化酶可以非特异性地水解其遇到的任何泛素-蛋白质结合物,影响细胞生存^[5]。真核生物细胞演化出多种策略调控去泛素化酶活性,包括转录水平、翻译后修饰、蛋白质定位和蛋白质相互作用等不同调控方式。

1 去泛素化酶活性在转录水平的调控

在某些组织、细胞中或特定的刺激下,去泛素化酶的活性受表达水平变化的影响。这种变化主要发生在转录或转录后水平,包括miRNAs的调节。例如,USP1基因以一种依赖于细胞周期的方式进行表达^[6]。在G₁期,USP1 mRNA表达水平较低,而在S期,表达丰度达到顶点^[6]。在G₁期,因USP1 mRNA表达水平降低,同时USP1在G₁期被泛素连接酶APC/C^{Cdh1}降解,使得USP1去泛素化增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)量降低,从而在DNA复制之前为泛素化PCNA提供更适宜的环境,以应答紫外线介导的DNA损伤^[7]。在人脑胶质瘤中,USP11的转录受到Hey1的抑制^[8]。通过与结合在USP11启动子CpG岛上的特异性蛋白1(specific protein 1,Sp1)的相互作用,Hey1被招募至USP11启动子上^[8]。Sp1能够保护DNA不被甲基化,因此胶质瘤细胞中的USP11启动子低甲基化,进而通过Hey1招募多梳抑制复合物2(polycomb repressive complex 2,PRC2),催化H3K27三甲基化,最终导致染色质紧缩,转录受到抑制^[8]。USP11能够去泛素化早幼粒白血病蛋白(promyelocytic leukemia,PML)并使其稳定^[8]。抑制USP11转录会使PML失去稳定性,进而形成侵袭性

胶质瘤的多种恶性特征^[8]。在小鼠中,这些恶性特征包括增殖、侵袭性和肿瘤生长^[8]。炎症因子可强烈诱导小鼠USP17基因表达^[9]。在转录水平圆柱瘤综合征蛋白CYLD能引起心功能失调,Nrf2是抗氧化应激系统的关键性转录因子,心中圆柱瘤综合征蛋白CYLD被核因子kappa B(nuclear factor-kappa B,NF-κB)通路激活的作用较小,而是通过抑制胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)和p38介导的c-jun、c-myc、c-fos的表达,下调NF-E2相关因子2(NF-E2-related factor 2,Nrf2)的表达,从而抑制Nrf2介导的依赖NF-κB信号通路的抗氧化作用^[10,11]。

研究表明,在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)细胞中,USP14是miR-4782-3p的靶基因,miR-4782-3p能够与USP14的3'-UTR结合从而抑制USP14的表达^[12]。USP14过量表达与非小细胞肺癌患者的不良预后相关,并促进肿瘤细胞增殖^[13]。而miR-4782-3p高表达与患者的良好预后相关,能够延长患者的生存期^[12]。miR-200c能够抑制USP25表达,进而抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭^[14]。与正常对照组相比较,非小细胞肺癌患者肿瘤组织的USP25 mRNA表达水平提高,并与患者临床分期及淋巴结转移有关^[14]。

2 翻译后修饰调控去泛素化酶活性

蛋白质的翻译后修饰是调节去泛素化酶活性的关键步骤之一,常见的去泛素化酶翻译后修饰方式有磷酸化、泛素化和类泛素化。大规模的磷酸化蛋白质组学研究显示,大部分的人USP去泛素化酶能够发生磷酸化^[15]。磷酸化能够激活A20、USP7、USP15、USP16、USP19、USP28、USP34和USP37,反过来却抑制USP8、USP25和圆柱瘤综合征蛋白CYLD活性^[16,17]。细胞周期蛋白依赖性激酶2(cyclin-dependent kinase 2,CDK2)介导USP37的Ser628位点磷酸化,从而激活USP37^[18]。CDK1能够磷酸化USP1的Ser313位点,从而促进USP1与USP1相关因子1(USP1-associated factor 1,UAF1)相互作用并发挥其催化活性^[19]。USP1-UAF1蛋白复合体是DNA损伤响应途径的重要调控因子^[19]。因此,该复合体是一个非常具有前景的癌症治疗靶标。然而,Olazabal-Herrero等发现,USP1的Ser313位点磷酸化,对于胞内USP1与UAF1相互作用并不是必需的,介导USP1与UAF1结合的是USP1的420~520位氨基酸基序^[20]。两者结论不同的原因与实

验条件不同有关:前者是体外验证,而后者是体内实验。在分裂间期,USP8 的 Ser680 位点磷酸化后才能结合 14-3-3 ϵ 蛋白,进而抑制 USP8 的催化活性^[21]。进一步研究发现,这种抑制作用在分裂期被解除,此时 USP8 处于非磷酸化状态^[21]。14-3-3 ϵ 结合基序突变能够增强 USP8 活性,进而上调表皮生长因子受体信号通路,导致库欣氏病(Cushing's disease)发生^[22]。除了丝氨酸残基外,USP8 蛋白也可以在酪氨酸和苏氨酸残基上进行磷酸化^[23, 24]。Thr907 位点磷酸化能够使 USP8 蛋白水平趋于稳定^[23]。在肿瘤坏死因子或脂多糖的作用下,圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 的 Ser418 位点发生磷酸化修饰^[10]。将此位点的丝氨酸突变成丙氨酸后,圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 磷酸化状态解除,其活性明显增强,表明磷酸化负调控圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 活性^[10]。圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 磷酸化同时抑制其去泛素化酶活性,不能使肿瘤坏死因子受体相关因子 2(TNF receptor associated factor 2, TRAF2)或核

因子 κ B 必需的调控子(NF- κ B essential modulator, NEMO)去磷酸化,从而不能负调控 NF- κ B 信号通路^[10, 16]。人去泛素化酶 OTU 亚家族的 DUBA(OTUD5),只有在其 Ser177 位发生磷酸化后才具备活性,磷酸化 OTUD5 因其 Helix1 和 Helix6 发生折叠使构象改变,其催化活性因此改变并且能够有效结合泛素^[25]。Edelmann 等^[26]研究表明,磷酸化的去泛素化酶 OTUB1 能够稳定 ras 同源基因家族成员 A(ras homologue gene family member A, RhoA)的活化形式,特别是 Tyr26 位磷酸化,其能够通过干扰 OTUB1 的酶活性与泛素结合和底物识别能力来调控其功能。另有研究表明,酪蛋白激酶 2(casein kinase 2, CK2)能够在 OTUB1 的 Ser16 位进行磷酸化^[27]。虽然 Ser16 位磷酸化的 OTUB1 体外催化活性、结合 K63 位泛素链的能力以及与 E2 结合酶 UBE2N 相互作用的能力没有发生改变,但是 OTUB1 的亚细胞定位发生变化^[27]。Table 1 回顾了去泛素化酶磷酸化调控作用的相关研究结果。

Table 1 A summary of phosphorylation events of deubiquitinating enzymes (DUBs)

DUB	Residue	Modifying enzyme	Physiological effect of phosphorylation	References
USP1	Ser313	CDK1	Promote complex formation and stimulate the USP1 DUB activity	[19]
USP8	Ser680	14-3-3 ϵ	Suppression of catalytic activity	[21]
USP8	Tyr	ErbB2	Colocalize inside the cell	[24]
USP8	Thr907	Akt	Increase protein stability	[23]
USP37	Ser628	CDK2	Promote USP37 DUB activity	[18]
CYLD	Ser418	IKK ϵ , IKK γ	Decrease CYLD DUB activity and suppression of TRAF2 deubiquitination	[10, 16]
OTUB1	Tyr26		Interfering with OTUB1 enzymatic activity, ubiquitin binding or substrate recognition	[26]
OTUB1	Ser16	CK2	Alter OTUB1 nuclear localization	[27]
OTUD5	Ser177	CK2	Would be required for enhanced protein stability	[25]

除了磷酸化作用,泛素化和类泛素化也能修饰和调节去泛素化酶的活性。去泛素化酶 USP 亚家族 USP4 能够去泛素化 E3 连接酶 Rho52, Rho52 反过来能够泛素化 USP4 从而抑制其活性^[28]。类泛素化 USP25 能够降低其结合和水解多聚泛素链,使 USP25 活性受到抑制^[29]。与此类似,类泛素化修饰也能负调控圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 的去泛素化酶活性^[30]。UCH 亚家族的 UCHL1 在 K4、K65、K71 或 K157 发生单泛素化,能够阻止 UCHL1 与泛素化底物结合,其去泛素化酶活性受到抑制^[31]。OTU 亚家族的 OTUB1 和 OTUB2 二者不含去泛素化酶结构域,未泛素化时处于自抑制状态,泛素化后通过变构调节激活自身的水解活性^[32]。研究发现, MJD 亚家族的 ATXN3 能够在 Lys117 位发生泛素化从而激活

其去泛素化酶的活性,这对于 ATXN3 减少细胞内高分子量泛素化蛋白质,并抑制毒性蛋白质依赖性变性的能力十分重要,这也有利于其诱导胞内蛋白质聚集体的形成^[33]。ATXN3 也可以在 K356 位进行类泛素化修饰,此处修饰有助于减少淀粉样纤维的形成和增强与 p97 蛋白的相互作用^[34]。与 ATXN3 类似, MJD 亚家族的 JOSD1 的催化活性受泛素化修饰的调控, JOSD1 只有单泛素化后才能切除泛素链^[35]。

目前研究发现,去泛素化酶还存在其他翻译后修饰方式。例如, USP11 和 USP22 能够分别在 Lys245 和 Lys129 位点发生乙酰化^[36]。活性氧可以在 USP1 和 USP7 等去泛素化酶的催化性半胱氨酸残基上进行氧化修饰,进而抑制其去泛素化酶活

性^[37]。USP1 和 ATXN3 等还可以发生蛋白质自身水解和切割,从而失去活性^[38]。另外,T 细胞抗原受体(T cell receptor,TCR)能激活黏膜相关淋巴组织淋巴瘤转运蛋白 1 (mucosa-associated lymphoid tissue,MALT1)蛋白质水解酶活性,进而切割去泛素化酶 A20,使其失活^[39]。

3 蛋白质定位影响去泛素化酶活性及其功能

去泛素化酶的活性受其定位的影响,在某些因素影响下甚至可以改变其发挥功能的场所。研究发现,USP1 单独存在时其活性非常低,与 UAF1 结合后活性显著提高^[40]。USP1 在细胞质中与 UAF1 形成复合体。然后,在 USP1 的 2 个核定位信号引导下,USP1-UAF1 复合体重定位于细胞核中^[41]。UAF1 除了能与 USP1 结合外,还可以与 USP12 或 USP46 相互作用^[42]。在 HPV E1 解旋酶和 UAF1 形成的复合体作用下,位于胞质的 USP1、USP12 和 USP46 被招募至病毒 DNA 复制起始位点,从而促进病毒 DNA 复制^[42]。T 细胞识别的鳞状细胞癌抗原 3 (squamous cell carcinoma antigen recognized by T-cells 3,SART3)的核定位信号,介导 USP4 在细胞核中的重定位及去泛素化酶活性^[43]。USP8 定位于内体(endosome),影响内体形态和组织^[44]。USP15 定位于细胞质中。进一步研究发现,Tip110 能够与 USP15 相互作用并调控其定位,使胞质中的 USP15 重新定位于细胞核中,并调节 Tip110 去泛素化水平^[45]。而 SART3 也能够与 USP15 结合,并将 USP15 从细胞质招募至细胞核,以调节组蛋白 H2B 的去泛素化水平^[46]。近来研究发现,USP21 存在两种剪接异构体形式,短的 USP21 异构体定位于细胞核和核膜,能对组蛋白 H2A 进行去泛素化修饰^[47];长的 USP21 异构体定位于中心体和微管,影响原发性纤毛形成^[44]。USP30 定位于线粒体外膜,其去泛素化酶活性为维持正常的线粒体形态所需要,RNA 干扰 USP30 的表达导致线粒体伸长^[48]。研究发现,USP36 的亚细胞定位信号位于蛋白质的 C 端,是一段短的碱性氨基酸序列,该序列与核仁磷酸蛋白 B23 的酸性区域相互作用,将 USP36 定位于核仁内^[49]。对 USP36 进行 RNA 干扰,降低其表达会导致核仁形态发育不完全和胞质核糖体水平略有减少,最终导致细胞增殖率降低^[49]。圆柱瘤综合征蛋白 CYLD 通过与中心体蛋白 CAP350 相互作用,定位于中心体和基体,其定位及去泛素化酶活性刺激原发性纤毛形成^[50]。如纤毛发生受损,会影响皮肤

和毛囊皮脂腺单位的稳态,而后者被认为是圆柱瘤原发部位^[50]。

除了 USP 亚家族以外,去泛素化酶其他亚家族成员的活性也受蛋白质定位的影响。研究发现,UCH 亚家族成员 BAP1 去泛素化酶活性及核定位,对 BAP1 介导的肿瘤抑制作用是必需的^[51]。然而,受泛素连接酶 UBE2O 泛素化修饰后,BAP1 的亚细胞定位发生改变,从细胞核转移至细胞质^[51]。JAMM 亚家族的 AMSH 定位于细胞核和细胞质中,少部分定位于内体^[52]。AMSH 能够与信号转导衔接分子(signal transducing adaptor molecule,STAM)相互作用,在 STAM 作用下,AMSH 从细胞核转移至内体^[52]。BRCC36 存在于细胞质和细胞核中,胞质蛋白 KIAA0157 结合并激活 BRCC36 使其定位于细胞质中;但是,核蛋白卷曲螺旋结构蛋白(coiled-coil domain-containing protein,CCDC98)与 BRCC36 形成的复合物主要定位于细胞核,参与 DNA 损伤的响应^[53]。

4 蛋白质相互作用调节去泛素化酶活性

研究发现,大量的去泛素化酶能够与 WD 重复蛋白相互作用。例如,胞质蛋白 USP12、USP46 能够与 WD40 重复蛋白 UAF1 形成不同的蛋白质复合体,其去泛素化酶活性及稳定性依赖于它们与 UAF1 的相互作用^[54]。USP12 和 USP46 也能与 WDR20 相互作用,WDR20 可以进一步增强 USP12-UAF1 的活性^[55]。15-氧代绣线菊内酯 S3 通过与 USP30 催化结构域的半胱氨酸残基相互作用抑制 USP30 活性,USP30 介导调控 S3 诱导的线粒体融合过程^[56]。USP7 的去泛素化酶活性受 GMP 合成酶(GMP-synthetase,GMPS)调控,GMP 合成酶与 USP7 的前 3 个类泛素结构域结合从而活化 USP7^[57]。

在 UCH 家族中,UCH37 活性的调控机制比较特殊。一方面,人非 ATP 酶依赖性调节颗粒 13 (human regulatory particle non-ATPase 13,hRpn13)通过 C 端的去泛素化酶受体结构域与 UCH37 的激活结构域相结合,从而提高 UCH37 的活性^[58]。另一方面,INO80 复合体亚基 G (INO80 complex subunit G,INO80G)的 N 末端片段与 UCH37 缔合进而抑制后者活性^[59]。OTU 家族的 OTUB1 和泛素结合酶 E2 相互作用,能够促进 OTUB1 对 Lys48 位多聚泛素链的清除^[60]。OTUB1 和人短链脱氢酶/还原酶(human short chain dehydrogenase/reductase family gene,HSCARG)相互作用,从而抑制肿瘤坏死因子受体相关因子 3 (tumor necrosis factor receptor-

associated factor 3, TRAF3) 的泛素化,能够移除 TRAF3 上的多聚泛素链^[61]。

综上所述,在生物体内存在多种去泛素化酶活性的调控机制(Fig. 1)。值得注意的是,去泛素化酶的活性调控不只局限于某个单一层次上,很多情况下需要多个层面共同作用,呈现出高度多样性^[62]。去泛素化酶通过与其他蛋白质的相互作用,改变自身状态和亚细胞定位或稳定性,进而实现活性变化。例如,蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/AKT) 能够磷酸化 USP4 从而维持其蛋白质的稳定性,并使原来位于核内的 USP4 重新定位于细胞质和细胞膜

上^[63]。在正常细胞中,USP10 定位于细胞质,并调节胞质 p53 的稳定性。当 DNA 损伤后,USP10 被毛细血管扩张性共济失调症突变蛋白 (ataxia-telangiectasia mutated, ATM) 磷酸化修饰,重定位于细胞核,并促进 p53 活化^[64]。泛素化可以激活 USP7,这种活性状态还会因 GMP 合成酶的结合而更加稳定^[57]。由 CK2 介导的磷酸化修饰改变了 OTUB1 的亚细胞定位,未磷酸化的 OTUB1 主要位于细胞质中,而 Ser16 位磷酸化的 OTUB1 只存在于细胞核中,这对细胞修复电离辐射引起的 DNA 损伤是至关重要的^[27]。

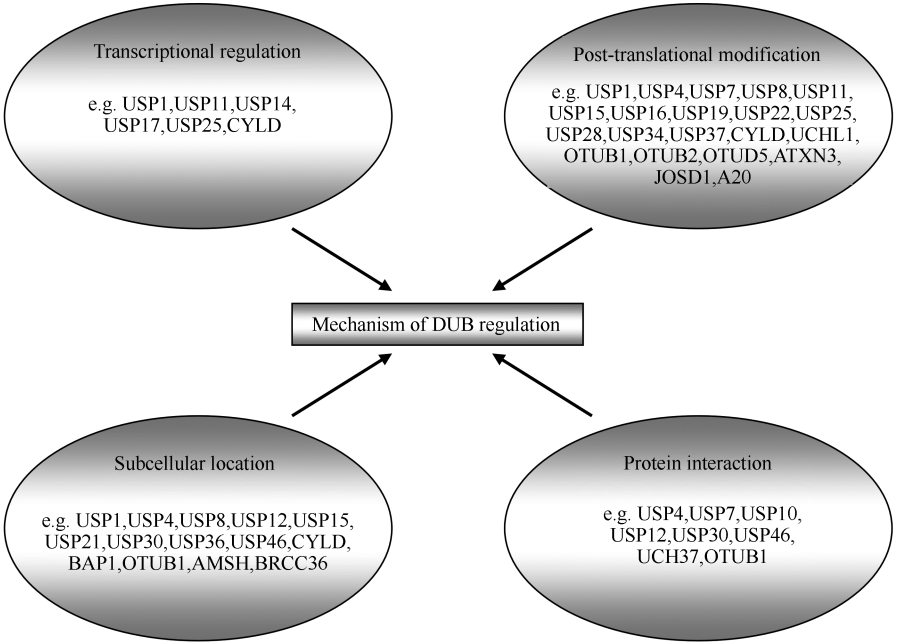


Fig. 1 Mechanisms of DUB regulation

5 问题与展望

在真核生物中,去泛素化酶种类多样,功能涉及到细胞的许多生理与生化过程。细胞在翻译后修饰、蛋白质定位和蛋白质相互作用等多个层面调控去泛素化酶的活性,保证了泛素系统及其相关生命活动的动态平衡^[62]。研究发现,许多人类疾病与去泛素化酶的活性密切相关。去泛素化酶活性异常改变是诱发多种疾病的主要原因,去泛素化酶有可能成为抗肿瘤治疗的新药物靶点^[65, 66],这意味着,未来许多人类疾病的治疗是基于对去泛素化酶的研究所发展的。尽管近几年对去泛素化酶活性调控的研究有了长足发展,然而目前仍有许多问题需要解决。一方面,许多去泛素化酶或调控其表达活性的辅助因子还有待发现和研究,去泛素化酶相互作用网络

图谱有待完善,调控去泛素化酶活性的相互作用蛋白质受到研究者越来越多的关注。另一方面,对于大分子复合物中的去泛素化酶活性调控机制了解甚少,例如,尽管最近确定的 UCH37/hRnp13 结构对研究 UCH37 的活化机制提供了线索^[59],但是,却无法解释蛋白酶体中的 UCH37 的泛素水解酶活性。类似的挑战也存在于其他去泛素化酶中,这只能通过研究大型全酶复合物在不同的活化状态下的变化进行解决。今后,利用蛋白质组学和比较基因组学等技术分析和鉴定去泛素化酶及其相互作用蛋白质和重要调控因子,发现和提出调控去泛素化酶活性的新策略,进而开发出新的药物治疗靶点。

参考文献 (References)

[1] Leznicki P, Kulathu Y. Mechanisms of regulation and diversification of deubiquitylating enzyme function [J]. J Cell

- Sci, 2017, **130**(12): 1997-2006
- [2] Citterio E. Fine-tuning the ubiquitin code at DNA double-strand breaks: deubiquitinating enzymes at work [J]. *Front Genet*, 2015, **6**: 282
- [3] Wei R, Liu X, Yu W, *et al.* Deubiquitinases in cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, **6**(15): 12872-12889
- [4] Mevissen TET, Komander D. Mechanisms of deubiquitinase specificity and regulation [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, **86**: 159-192
- [5] Sahtoe DD, Sixma TK. Layers of DUB regulation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, **40**(8): 456-467
- [6] Nijman SM, Huang TT, Dirac AM, *et al.* The deubiquitinating enzyme USP1 regulates the Fanconi anemia pathway [J]. *Mol Cell*, 2005, **17**(3): 331-339
- [7] Cotto-Rios XM, Jones MJ, Busino L, *et al.* APC/C^{Cdh1}-dependent proteolysis of USP1 regulates the response to UV-mediated DNA damage [J]. *J Cell Biol*, 2011, **194**(2): 177-186
- [8] Wu HC, Lin YC, Liu CH, *et al.* USP11 regulates PML stability to control Notch-induced malignancy in brain tumours [J]. *Nat Commun*, 2014, **5**: 3214
- [9] Burrows JF, McGrattan MJ, Rasche A, *et al.* DUB-3, a cytokine-inducible deubiquitinating enzyme that blocks proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(14): 13993-14000
- [10] Reiley W, Zhang M, Wu X, *et al.* Regulation of the deubiquitinating enzyme CYLD by IkkappaB kinase gamma-dependent phosphorylation [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(10): 3886-3895
- [11] Tan Y, Ichikawa T, Li J, *et al.* Diabetic downregulation of Nrf2 activity via ERK contributes to oxidative stress-induced insulin resistance in cardiac cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Diabetes*, 2011, **60**(2): 625-633
- [12] Wu N, Zhang C, Bai C, *et al.* MiR-4782-3p inhibited non-small cell lung cancer growth via USP14 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, **33**(2): 457-467
- [13] Wu N, Liu C, Bai C, *et al.* Over-expression of deubiquitinating enzyme USP14 in lung adenocarcinoma promotes proliferation through the accumulation of β -catenin [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, **14**(6): 10749-10760
- [14] Li J, Tan Q, Yan M, *et al.* miRNA-200c inhibits invasion and metastasis of human non-small cell lung cancer by directly targeting ubiquitin specific peptidase 25 [J]. *Mol Cancer*, 2014, **13**: 166
- [15] Olsen JV, Blagoev B, Gnäd F, *et al.* Global, *in vivo*, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks [J]. *Cell*, 2006, **127**(3): 635-648
- [16] Huttli JE, Shen RR, Abbott DW, *et al.* Phosphorylation of the tumor suppressor CYLD by the breast cancer oncogene IKKepsilon promotes cell transformation [J]. *Mol Cell*, 2009, **34**(4): 461-472
- [17] Kim S, Lee D, Lee J, *et al.* Vaccinia-related kinase 2 controls the stability of the eukaryotic chaperonin TRiC/CCT by inhibiting the deubiquitinating enzyme USP25 [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, **35**(10): 1754-1762
- [18] Huang X, Summers MK, Pham V, *et al.* Deubiquitinase USP37 is activated by CDK2 to antagonize APC(CDH1) and promote S phase entry [J]. *Mol Cell*, 2011, **42**(4): 511-523
- [19] Villamil MA, Liang Q, Chen J, *et al.* Serine phosphorylation is critical for the activation of ubiquitin-specific protease 1 and its interaction with WD40-repeat protein UAF1 [J]. *Biochemistry*, 2012, **51**(45): 9112-9123
- [20] Olazabal-Herrero A, Garcia-Santisteban I, Rodriguez JA. Structure-function analysis of USP1: insights into the role of Ser313 phosphorylation site and the effect of cancer-associated mutations on autocleavage [J]. *Mol Cancer*, 2015, **14**: 33
- [21] Mizuno E, Kitamura N, Komada M. 14-3-3-dependent inhibition of the deubiquitinating activity of UBPY and its cancellation in the M phase [J]. *Exp Cell Res*, 2007, **313**(16): 3624-3634
- [22] Reincke M, Shiera S, Hayakawa A, *et al.* Mutations in the deubiquitinase gene USP8 cause Cushing's disease [J]. *Nat Genet*, 2015, **47**(1): 31-38
- [23] Cao Z, Wu X, Yen L, *et al.* Neuregulin-induced ErbB3 downregulation is mediated by a protein stability cascade involving the E3 ubiquitin ligase Nrdp1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, **27**(6): 2180-2188
- [24] Meijer IM, Kerperien J, Sotoca AM, *et al.* The Usp8 deubiquitination enzyme is post-translationally modified by tyrosine and serine phosphorylation [J]. *Cell Signal*, 2013, **25**(4): 919-930
- [25] Huang OW, Ma X, Yin J, *et al.* Phosphorylation-dependent activity of the deubiquitinase DUBA [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19**(2): 171-175
- [26] Edelmann MJ, Kramer HB, Altun M, *et al.* Post-translational modification of the deubiquitinating enzyme otubain 1 modulates active RhoA levels and susceptibility to Yersinia invasion [J]. *FEBS J*, 2010, **277**(11): 2515-2530
- [27] Herhaus L, Perez-Oliva AB, Cozza G, *et al.* Casein kinase 2 (CK2) phosphorylates the deubiquitylase OTUB1 at Ser16 to trigger its nuclear localization [J]. *Sci Signal*, 2015, **8**(372): ra35
- [28] Wada K, Kamitani T. UnpEL/Uspp4 is ubiquitinated by Ro52 and deubiquitinated by itself [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **342**(1): 253-258
- [29] Meulmeester E, Kunze M, Hsiao HH, *et al.* Mechanism and consequences for paralog-specific sumoylation of ubiquitin-specific protease 25 [J]. *Mol Cell*, 2008, **30**(5): 610-619
- [30] Kobayashi T, Masoumi KC, Massoumi R. Deubiquitinating activity of CYLD is impaired by SUMOylation in neuroblastoma cells [J]. *Oncogene*, 2015, **34**(17): 2251-2260
- [31] Meray RK, Lansbury PT Jr. Reversible monoubiquitination regulates the Parkinson disease-associated ubiquitin hydrolase UCH-L1 [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(14): 10567-10575
- [32] Mevissen TE, Hospenthal MK, Geurink PP, *et al.* OTU deubiquitinases reveal mechanisms of linkage specificity and enable ubiquitin chain restriction analysis [J]. *Cell*, 2013, **154**(1): 169-184
- [33] Tsou WL, Burr AA, Ouyang M, *et al.* Ubiquitination regulates the neuroprotective function of the deubiquitinase ataxin-3 *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(48): 34460-34469
- [34] Almeida B, Abreu IA, Matos CA, *et al.* SUMOylation of the brain-predominant Ataxin-3 isoform modulates its interaction with p97 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1852**(9): 1950-1959
- [35] Seki T, Gong L, Williams AJ, *et al.* JosD1, a membrane-targeted deubiquitinating enzyme, is activated by ubiquitination and regulates membrane dynamics, cell motility, and endocytosis [J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(24): 17145-17155
- [36] Choudhary C, Kumar C, Gnäd F, *et al.* Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions [J]. *Science*, 2009, **325**(5942): 834-840
- [37] Cotto-Rios XM, Bekes M, Chapman J, *et al.* Deubiquitinases as a signaling target of oxidative stress [J]. *Cell Rep*, 2012, **2**(6): 1475-1484
- [38] Huang TT, Nijman SM, Mirchandani KD, *et al.* Regulation of monoubiquitinated PCNA by DUB autocleavage [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(4): 339-347
- [39] Coornaert B, Baens M, Heynink K, *et al.* T cell antigen receptor stimulation induces MALT1 paracaspase-mediated cleavage of the NF-kappaB inhibitor A20 [J]. *Nat Immunol*, 2008, **9**(3): 263-271
- [40] Cohn MA, Kowal P, Yang K, *et al.* A UAF1-containing multisubunit protein complex regulates the Fanconi anemia pathway [J]. *Mol Cell*, 2007, **28**(5): 786-797
- [41] Garcia-Santisteban I, Zorroza K, Rodriguez JA. Two nuclear localization signals in USP1 mediate nuclear import of the USP1/UAF1 complex [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(6): e38570
- [42] Lehoux M, Gagnon D, Archambault J. E1-mediated recruitment of a UAF1-USP deubiquitinase complex facilitates human papillomavirus DNA replication [J]. *J Virol*, 2014, **88**(15):

- 8545-8555
- [43] Park JK, Das T, Song EJ, *et al.* Structural basis for recruiting and shuttling of the spliceosomal deubiquitinase USP4 by SART3 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(11): 5424-5437
 - [44] Urbe S, Liu H, Hayes SD, *et al.* Systematic survey of deubiquitinase localization identifies USP21 as a regulator of centrosome- and microtubule-associated functions [J]. *Mol Biol Cell*, 2012, **23**(6): 1095-1103
 - [45] Timani KA, Liu Y, Suvannasankha A, *et al.* Regulation of ubiquitin-proteasome system-mediated Tip110 protein degradation by USP15 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, **54**: 10-19
 - [46] Zhang Q, Harding R, Hou F, *et al.* Structural basis of the recruitment of ubiquitin-specific protease USP15 by spliceosome recycling factor SART3 [J]. *J Biol Chem*, 2016, **291**(33): 17283-17292
 - [47] Okuda H, Ohdan H, Nakayama M, *et al.* The USP21 short variant (USP21SV) lacking NES, located mostly in the nucleus *in vivo*, activates transcription by deubiquitylating ubH2A *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e79813
 - [48] Nakamura N, Hirose S. Regulation of mitochondrial morphology by USP30, a deubiquitinating enzyme present in the mitochondrial outer membrane [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(5): 1903-1911
 - [49] Endo A, Matsumoto M, Inada T, *et al.* Nucleolar structure and function are regulated by the deubiquitylating enzyme USP36 [J]. *J Cell Sci*, 2009, **122**(Pt 5): 678-686
 - [50] Eguether T, Ermolaeva MA, Zhao Y, *et al.* The deubiquitinating enzyme CYLD controls apical docking of basal bodies in ciliated epithelial cells [J]. *Nat Commun*, 2014, **5**: 4585
 - [51] Mashtalir N, Daou S, Barbour H, *et al.* Autodeubiquitination protects the tumor suppressor BAP1 from cytoplasmic sequestration mediated by the atypical ubiquitin ligase UBE2O [J]. *Mol Cell*, 2014, **54**(3): 392-406
 - [52] McCullough J, Row PE, Lorenzo O, *et al.* Activation of the endosome-associated ubiquitin isopeptidase AMSH by STAM, a component of the multivesicular body-sorting machinery [J]. *Curr Biol*, 2006, **16**(2): 160-165
 - [53] Feng L, Wang J, Chen J. The Lys63-specific deubiquitinating enzyme BRCC36 is regulated by two scaffold proteins localizing in different subcellular compartments [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**(40): 30982-30988
 - [54] Cohn MA, Kowal P, Yang K, *et al.* A UAF1-containing multisubunit protein complex regulates the Fanconi anemia pathway [J]. *Mol Cell*, 2007, **28**(5): 786-797
 - [55] Kee Y, Yang K, Cohn MA, *et al.* WDR20 regulates activity of the USP12 x UAF1 deubiquitinating enzyme complex [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**(15): 11252-11257
 - [56] Yue W, Chen Z, Liu H, *et al.* A small natural molecule promotes mitochondrial fusion through inhibition of the deubiquitinase USP30 [J]. *Cell Res*, 2014, **24**(4): 482-496
 - [57] Faesen AC, Dirac AM, Shanmugham A, *et al.* Mechanism of USP7/HAUSP activation by its C-terminal ubiquitin-like domain and allosteric regulation by GMP-synthetase [J]. *Mol Cell*, 2011, **44**(1): 147-159
 - [58] Randles L, Anchoori RK, Roden RB, *et al.* The proteasome ubiquitin receptor hRpn13 and its interacting deubiquitinating enzyme Uch37 are required for proper cell cycle progression [J]. *J Biol Chem*, 2016, **291**(16): 8773-8783
 - [59] Sahtoe DD, van Dijk WJ, El Oualid F, *et al.* Mechanism of UCH-L5 activation and inhibition by DEUBAD domains in RPN13 and INO80G [J]. *Mol Cell*, 2015, **57**(5): 887-900
 - [60] Wiener R, DiBello AT, Lombardi PM, *et al.* E2 ubiquitin-conjugating enzymes regulate the deubiquitinating activity of OTUB1 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, **20**(9): 1033-1039
 - [61] Peng Y, Xu R, Zheng X. HSCARG negatively regulates the cellular antiviral RIG-I like receptor signaling pathway by inhibiting TRAF3 ubiquitination via recruiting OTUB1 [J]. *PLoS Pathog*, 2014, **10**(4): e1004041
 - [62] Wolberger C. Mechanisms for regulating deubiquitinating enzymes [J]. *Protein Sci*, 2014, **23**(4): 344-353
 - [63] Zhang L, Zhou F, Drabsch Y, *et al.* USP4 is regulated by AKT phosphorylation and directly deubiquitylates TGF- β type I receptor [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, **14**(7): 717-726
 - [64] Yuan J, Luo K, Zhang L, *et al.* USP10 regulates p53 localization and stability by deubiquitinating p53 [J]. *Cell*, 2010, **140**(3): 384-396
 - [65] Farshi P, Deshmukh RR, Nwankwo JO, *et al.* Deubiquitinases (DUBs) and DUB inhibitors: a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2015, **25**(10): 1191-1208
 - [66] Jin J, Xie X, Xiao Y, *et al.* Epigenetic regulation of the expression of IL12 and IL23 and autoimmune inflammation by the deubiquitinase TRABID [J]. *Nat Immunol*, 2016, **17**(3): 259-268