

## 邵峰团队揭示病原细菌抑制宿主天然免疫防御的新机制

Feng Shao'team revealed the Ubiquitination and degradation of GBPs by a Shigella effector to suppress host defence



11月16日，北京生命科学研究所以邵峰院士带领团队在《Nature》期刊发表了题为“Ubiquitination and degradation of GBPs by a Shigella effector to suppress host defence”的最新研究成果。他们发现，志贺氏痢疾杆菌分泌的效应蛋白 IpaH9.8 会通过泛素化降解宿主细胞内的鸟苷酸结合蛋白 (GBP) 抑制宿主的免疫反应，从而促进病原菌在宿主内的生存和增殖。

志贺氏痢疾杆菌是一种胞内自由生存的革兰氏阴性菌，能够引起痢疾等人类肠道疾病。长期以来，邵峰实验室一直利用志贺氏痢疾杆菌作为模型研究病原细菌和宿主的相互作用机制，并已取得多项重要新发现。该项研究起始于他们在研究 GBP 的抗菌作用机制中的一个意外发现，即志贺氏痢疾杆菌感染会特异地引起宿主细胞内 hGBP1 蛋白的迅速降解，而其他常见的肠道致病菌并无此现象。

进一步，他们通过在志贺氏杆菌中进行全基因组转座子突变体筛选，发现 *ipaH9.8* 基因突变会导致 hGBP1 蛋白降解表型的消失。IpaH9.8 属于志贺氏杆菌三型分泌系统效应蛋白 IpaH

家族。IpaH 家族蛋白都含有一个保守的 C 端具有泛素连接酶活性的结构域和一个相对有变化的 N 端富亮氨酸重复结构的结构域，IpaH 家族的细菌泛素连接酶在其它很多病原细菌中也广泛存在。

早在 2008 年，邵峰实验室就曾解析了痢疾杆菌的 IpaH3 泛素连接酶的晶体结构，但 10 多年来人们对 IpaH 家族效应蛋白的生理功能以及其在宿主中的底物一直不清楚。在该研究中，他们进一步通过一系列细胞水平的细菌感染实验和体外生物化学实验，发现 IpaH9.8 可以直接在 hGBP1 蛋白上催化形成 K48 连接的多泛素链，进而导致 hGBP1 通过蛋白酶体通路被降解。在细菌感染时，此修饰和降解过程发生在细胞质中。进一步研究还发现，IpaH9.8 可以作用于多个 GBP 家族成员，且不依赖于 GBP 的核苷酸结合状态以及 GBP 家族不同成员的功能差异。当 IpaH9.8 不存在或其识别 GBP 的氨基酸残基被突变时，一部分 GBP 家族的蛋白会定位到胞内志贺氏菌上来抑制其生长。

在小鼠感染模型中，IpaH9.8 降解 GBP 蛋白对于细菌在小鼠体内的复制并最终导致小鼠死亡至关重要。当小鼠缺失一部分可以被 IpaH9.8 降解的 GBP 时，对于野生型志贺氏菌，这些 GBP 敲除的小鼠和野生型小鼠一样，都表现出对感染敏感，最终死亡。但是当被 *ipaH9.8* 基因缺失的志贺氏菌感染后，野生型小鼠可以存活，但 GBP 敲除的小鼠却仍然敏感和发生死亡。这些结果都强调了 IpaH9.8 降解 GBP 在细菌感染过程中的极为重要的功能。

该研究首次报道了在志贺氏痢疾杆菌感染过程中，IpaH9.8 的生理底物是 GBP 家族蛋白，通过降解 GBP 来抑制宿主对细菌的清除。该研究还发现 GBP 蛋白在细菌感染时会聚集到细菌周围并导致细菌发生不正常的形变进而发挥抗细菌作用。该研究也首次建立了一个对于深入研究 GBP 免疫防御机制非常有效的细菌感染体系，同时 IpaH9.8 也可以被用做 GBP 蛋白的一个特异性抑制剂。



Ubiquitination and degradation of GBPs by a *Shigella* effector to suppress host defence

细菌效应蛋白通过泛素化降解 GBP 蛋白抑制宿主免疫防御

北京生命科学研究所 邵峰

2017 年 11 月 16 日

doi:10.1038/nature24467

Interferon-inducible guanylate-binding proteins (GBPs) mediate cell-autonomous antimicrobial defences. *Shigella flexneri*, a Gram-negative cytoplasmic free-living bacterium that causes bacillary dysentery, encodes a repertoire of highly similar type III secretion system effectors called invasion plasmid antigen Hs (IpaHs). IpaHs represent a large family of bacterial ubiquitin-ligases, but their function is poorly understood. Here we show that *S. flexneri* infection induces rapid proteasomal degradation of human guanylate binding protein-1 (hGBP1). We performed a transposon screen to identify a mutation in the *S. flexneri* gene *ipaH9.8* that prevented hGBP1 degradation. IpaH9.8 targets hGBP1 for degradation via Lys48-linked ubiquitination. IpaH9.8 targets multiple GBPs in the cytoplasm independently of their nucleotide-bound states and their differential function in antibacterial defence, promoting *S. flexneri* replication and resulting in the death of infected mice. In the absence of IpaH9.8, or when binding of GBPs to IpaH9.8 was disrupted, GBPs such as hGBP1 and mouse GBP2 (mGBP2) translocated to intracellular *S. flexneri* and inhibited bacterial replication. Like wild-type mice, mutant mice deficient in GBP1–3, 5 and 7 succumbed to *S. flexneri* infection, but unlike wild-type mice, mice deficient in these GBPs were also susceptible to *S. flexneri* lacking *ipaH9.8*. The mode of IpaH9.8 action highlights the functional importance of GBPs in antibacterial defences. IpaH9.8 and *S. flexneri* provide a unique system for dissecting GBP-mediated immunity.