

DOI: 10.13376/j.cbls/2022002

文章编号: 1004-0374(2022)01-0016-07

蛋白质泛素化修饰在HIV-1复制中的作用研究进展

陈帆^{1,2}, 周光凤^{1,2}, 熊思东^{1*}, 郑永唐^{2*}

(1 苏州大学药学院, 苏州 215021; 2 中国科学院昆明动物研究所,
中国科学院动物模型与人类疾病机理重点实验室, 昆明 650223)

摘要: HIV-1 是引起艾滋病大流行的主要病原体, 在其与宿主相互作用的过程中, 病毒运用各种手段逃避宿主的抗病毒免疫系统, 而宿主同时会进化出相应的“武器”来对抗病毒的入侵。在这一系列的过程中, 泛素化修饰作为一种重要的蛋白质翻译后修饰过程, 在 HIV-1 复制中起重要作用。同时, 泛素化的可逆过程去泛素化修饰对 HIV-1 的复制也具有一定的影响。该文综述了泛素化和去泛素化修饰在 HIV-1 复制过程中的作用研究, 有助于更好地理解宿主与 HIV-1 之间的相互作用机制, 为抗 HIV-1 药物的研发提供新的思路。

关键词: HIV-1; 泛素化; 去泛素化; 抗病毒

中图分类号: Q71; R373.9 **文献标志码:** A

Research progress on the function of protein ubiquitination during HIV-1 replication

CHEN Fan^{1,2}, ZHOU Guang-Feng^{1,2}, XIONG Si-Dong^{1*}, ZHENG Yong-Tang^{2*}

(1 College of Pharmacy, Soochow University, Suzhou 215021, China; 2 Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms of the Chinese Academy of Sciences, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: HIV-1 is the main pathogen causing the AIDS pandemic. During its interaction with the host, the virus uses various strategies to evade the host's antiviral immune system, and the host will also evolve corresponding "weapons" to fight the virus invasion. In this series of processes, ubiquitination modification, as an important protein post-translational modification process, plays an important role in HIV-1 replication. At the same time, the reversible process of ubiquitination, deubiquitination, also has a certain impact on the replication of HIV-1. This article reviews the role of ubiquitination and deubiquitination modifications in the process of HIV-1 replication, which helps to better understand the interaction mechanism between the host and HIV-1, and provides some new ideas for the development of anti-HIV-1 drugs.

Key words: HIV-1; ubiquitination; deubiquitination; antiviral

在 HIV-1 生命周期中有多个病毒蛋白发挥重要作用, 如 Tat、Nef、Gag、Vif、Vpu、Vpr 等, 泛素化修饰与这些蛋白质的功能之间具有怎样的关系成为研究的热点。越来越多的研究表明, HIV-1 或被感染的宿主细胞利用泛素化机制来调控病毒蛋白或宿主蛋白的稳定性, 从而调控病毒的生命周期或宿主的抗病毒免疫系统(图 1)。本文就近年来泛素化修饰在 HIV-1 复制中的作用进行综述。

1 泛素化修饰

1.1 泛素分子

泛素(ubiquitin, Ub)分子是一类由 76 个氨基酸组成的小分子量蛋白质, 其普遍存在于大多数的真

收稿日期: 2021-09-07; 修回日期: 2021-10-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(U1802284)

*通信作者: E-mail: zhengyt@mail.kiz.ac.cn(郑永唐);

sdxiong@suda.edu.cn(熊思东)

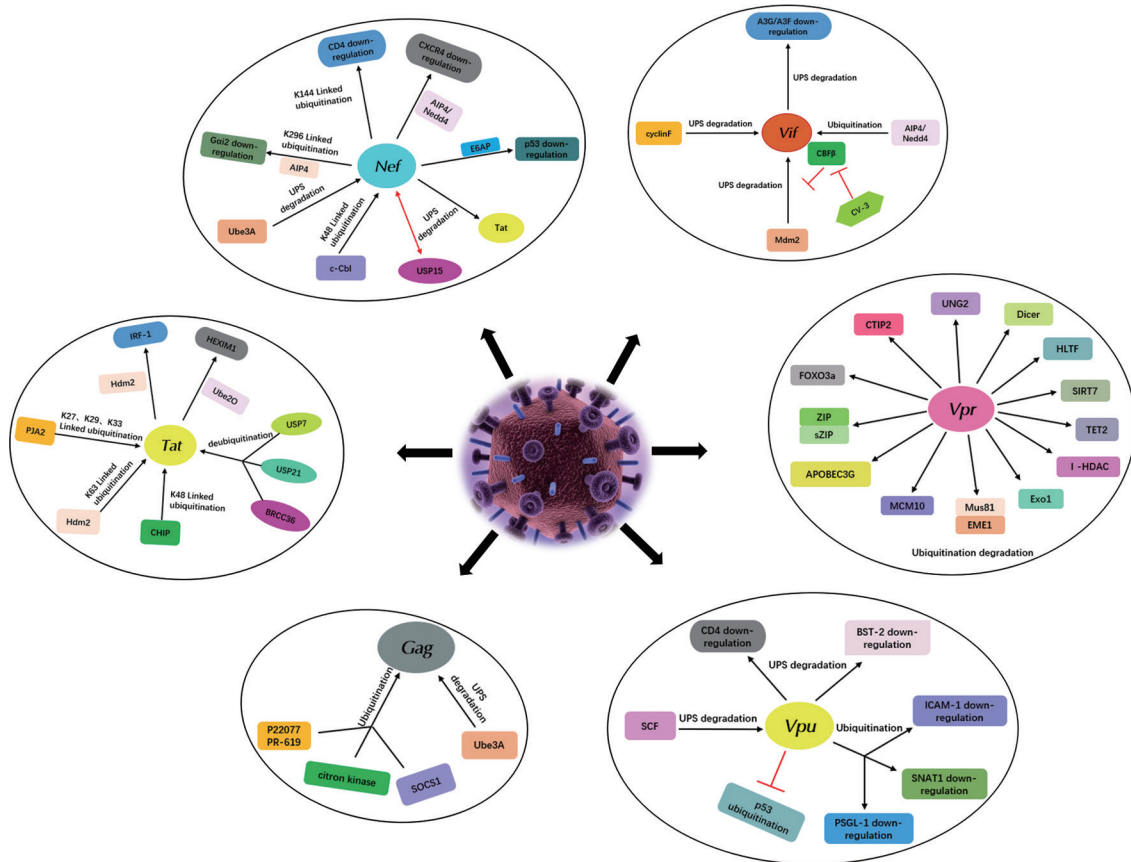


图1 泛素化和去泛素化对HIV-1蛋白的调控

核细胞中, 主要参与细胞周期进程、信号转导、转录调节、受体下调和内吞作用等多个过程^[1]。Ub的7个不同的功能性赖氨酸残基(K6、K11、K27、K29、K33、K48和K63)和N末端的甲硫氨酸残基(M1)均可作为泛素化位点, 任何一个Ub分子都可以通过其赖氨酸残基或甲硫氨酸残基与上一个Ub分子连接, 由此形成不同类型的多聚泛素链^[2-3]。

1.2 泛素化修饰的过程

泛素化是重要的蛋白质翻译后修饰过程, 是一种ATP依赖的级联反应, 在一系列酶的作用下将Ub连接在底物蛋白上。具体而言, 泛素化始于E1泛素激活酶以消耗ATP的方式激活Ub, 随后将活化的Ub转移至E2泛素结合酶; E3泛素连接酶一方面可以识别靶蛋白, 另一方面可以将结合在E2上的Ub转移至靶蛋白上, 由此实现靶蛋白的泛素化修饰^[1]。

泛素化作为一种动态且可逆的过程, 可以被去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)逆转, DUB从底物蛋白上去除Ub, 从而产生自由的Ub分子以确保Ub循环, 该过程称为去泛素化^[4]。目前发现人类基因组大约编码100多种DUB, 按照其结构

特征至少可以分为以下7个家族, 其中大部分属于半胱氨酸蛋白酶: 泛素特异性蛋白酶家族(ubiquitin-specific peptidases, USPs)、卵巢肿瘤蛋白酶家族(ovarian tumour proteases, OTUs)、泛素C末端水解酶家族(ubiquitin carboxy-terminal hydrolases, UCHs)、MJD结构域蛋白酶家族(Machado-Joseph domain-containing proteases, MJDs/Josephin)、MINDY蛋白酶家族(motif interacting with Ub-containing novel DUB family, MINDYs)、ZUFSP家族(zinc finger with UFM1-specific peptidase domain protein/C6orf113/ZUP1, ZUFSP)和JAMM金属蛋白酶家族(JAB1/MPN/MOV34 metalloenzyme family, JAMMs)^[5]。

1.3 泛素化修饰的功能

不同类型的多聚泛素链介导不同的生物学功能, 比如: K6泛素链介导DNA的损伤修复; K11和K48泛素链介导靶蛋白的蛋白酶体降解; K27泛素链有助于线粒体自噬; K29泛素链则介导靶蛋白被溶酶体降解; K33泛素链参与T细胞受体信号转导; K63泛素链与NF- κ B信号激活、胞吞作用和蛋白质复合物的形成有关; M1残基形成的线性泛素链则介导NF- κ B信号转导、细胞死亡和抑制信号

白的活化等^[2-3]。

2 泛素化修饰在HIV-1复制中的作用

2.1 HIV-1 Tat蛋白的泛素化修饰

Tat 是 HIV-1 编码的反式转录激活因子，在 HIV-1 生命周期的早期合成，主要的功能是将正性转录延伸因子 b (positive transcription elongation factor b, P-TEFb) 引导至 RNA 聚合酶，进而激活病毒基因组的转录和延伸^[6]。早期的研究发现，Tat 这种转录特性受泛素化调控，E3 泛素连接酶 Hdm2 通过促进 Tat 蛋白 K63 泛素链形成从而增强其反式激活的潜力和 HIV-1 的复制能力^[7]。而 Tat 蛋白在宿主细胞中又会经蛋白酶体和溶酶体途径降解，具体机制尚不清楚。2019 年，Ali 等^[8]报道了 E3 泛素连接酶 CHIP (carboxyl terminus of Hsp70 interacting protein) 对 Tat 蛋白的调控作用，体外实验发现 CHIP 以剂量依赖性方式降低 Tat 蛋白的表达水平，且促进 WT-Ub 和 K48-Ub 对 Tat 蛋白的修饰。为了验证 Tat 蛋白泛素化修饰对 HIV-1 复制的影响，作者在 HeLa-TZM-bl 细胞中转染 CHIP，结果导致 Tat 的反式激活能力减弱及 HIV-1 颗粒产生减少；相反，通过 CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) 技术敲低 HEK-293T 细胞中 CHIP 表达则导致 Tat 的反式激活能力增强及 HIV-1 颗粒产生增多，从而证实了 CHIP 在 HIV-1 复制中的潜在作用。2017 年，Faust 等^[9]通过 RNAi 技术干扰细胞内与 Tat 存在相互作用的蛋白表达后，发现一种新型的 E3 连接酶 PJA2 以非降解的方式泛素化修饰 Tat (泛素化位点有 K27、K29 和 K33)，以此特异性调节 HIV-1 的转录延伸。除了 Tat 本身被泛素化修饰以外，Tat 还可以通过劫持宿主细胞的泛素化机制达到促进病毒复制的目的。例如，Tat 结合 E2 泛素结合酶 Ube2O，促进宿主细胞 P-TEFb 激酶抑制剂 HEXIM1 的泛素化，导致 HEXIM1 的胞质隔离和 P-TEFb 的释放，释放的 P-TEFb 被募集到 HIV-1 的启动子上，进而促进 HIV-1 的转录激活^[10]。Tat 还参与募集 E3 泛素连接酶 Hdm2，促进干扰素调节因子 1 (IRF-1) 的泛素化修饰，将 IRF-1 靶向蛋白酶体降解，从而抑制 HIV-1 感染期间宿主的抗病毒免疫反应^[11]。另一方面，DUB 对 Tat 蛋白的修饰在一定程度上也能够影响 HIV-1 的产生。如 2017 年 Ali 等^[12]通过体外研究发现，广谱的 DUB 抑制剂 (PR-619) 或 USP7 特异性抑制剂 (P5091) 处理后导致 Tat 蛋白降解，P5091 还抑制了 HIV-1 潜伏感染的 T 淋巴细胞系

J1.1 细胞中病毒的产生。利用 CRISPR 技术敲低 HEK-293T 细胞中 USP7 的表达后，Tat 的表达水平明显降低，伴随着 HIV-1 的产生也明显减少。进一步的机制研究证明 USP7 是通过去除 Tat 蛋白 K48 泛素链，阻止其被蛋白酶体降解，稳定 Tat 蛋白，从而促进 HIV-1 病毒的产生。有趣的是，作者还发现在人 T 细胞 (MOLT-3) 中，HIV-1 感染后，内源性的 USP7 表达水平明显上调。另一个 DUB BRCC36 则去除 Tat 蛋白 K63 泛素链，阻止其被选择性自噬和耦合溶酶体途径降解，稳定 Tat 蛋白，结果同样是促进 HIV-1 的产生^[13]。2021 年，一项研究通过筛选一系列 USP 家族的 DUB 发现，USP21 通过 2 种方式降低 Tat 蛋白表达水平进而抑制 HIV-1 的产生：一方面 USP21 通过其去泛素化酶的活性去除 Tat 蛋白的多聚泛素链降低 Tat 蛋白的稳定性，另一方面则通过下调细胞周期蛋白 T1 (CycT1) 的 mRNA 水平特异性下调 Tat 的表达^[14]。

2.2 HIV-1 Nef蛋白的泛素化修饰

Nef 是 HIV 及猴免疫缺陷病毒 (simian immunodeficiency virus, SIV) 编码的一种辅助蛋白，通过干扰多种宿主蛋白运输和信号转导途径来促进病毒复制进而发展为获得性免疫缺陷综合征 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)^[15]。Nef 的主要功能是下调 HIV-1 感染的靶受体 CD4，其中 Nef 在 K144 位点的双泛素化修饰对于介导 CD4 下调是必不可少的^[16-17]。对应地，SIV 编码的 Nef 下调 CD4 也需要 K176 位点的泛素化修饰^[18]。除了下调 CD4 外，Nef 还诱导 HIV-1 感染的辅助受体 CXCR4 的降解：Nef 直接募集 E3 泛素连接酶 AIP4 (atrophin-1-interacting protein 4) 或 Nedd4 至 CXCR4，使 CXCR4 被泛素化修饰，随后通过内体分选复合物 (endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 途径运输进入溶酶体降解^[19-20]。Nef 的另一个功能则是触发 E3 连接酶 AIP4 介导的 Gai2 在 K296 位的泛素化修饰，导致 Gai2 被溶酶体降解，进而破坏趋化因子受体信号转导和白细胞的迁移、归巢，其中后者可能是导致 HIV-1 感染早期免疫功能低下的原因^[21]。Nef 与 E3 泛素连接酶 E6AP 的结合则诱导 p53 蛋白泛素化修饰，使 p53 被蛋白酶体途径降解，从而保护 HIV-1 感染的细胞免于 p53 诱导的细胞凋亡^[22]。Nef 与 E3 泛素连接酶 Ube3A 的结合诱导 Nef 经泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 降解，从而降低 HIV-1 关键致病蛋白 Nef 的水平。Ube3A 还可以促进 HIV-1 结构蛋白 Gag 的

降解,抑制 HIV-1 复制^[23]。Nef 还利用 UPS 诱导 HIV-1 复制的关键促进蛋白 Tat 降解,从而负调控 HIV-1 基因的表达^[24]。而宿主细胞 E3 泛素连接酶 c-Cbl 则促进 Nef 蛋白 K48 泛素链的形成,将其靶向蛋白酶体途径降解,进而抑制 HIV-1 感染人类巨噬细胞^[25]。目前仅报道 USP15 作为 DUB 具有去除 Nef 泛素链的作用,通过 UPS 诱导 Nef 降解,抑制 HIV-1 的复制。有趣的是,Nef 也诱导 USP15 的降解,但作用效果要弱于 USP15 对 Nef 的降解作用^[26]。

2.3 HIV-1 Gag蛋白的泛素化修饰

在 HIV-1 复制周期的后期,病毒 RNA 从细胞核输出到细胞质,翻译产生 Gag 多蛋白前体(也称为 Pr55Gag),参与病毒的组装^[27]。Gag 多蛋白前体由基质(matrix protein, MA)、衣壳(capsid, CA)、核衣壳(nucleocapsid, NC)和 p6 结构域 4 个部分组成。早期的研究表明,HIV-1 或 SIV 的 Gag p6 结构域与单个 Ub 分子共价结合,提示这种泛素化修饰可能与 Gag 参与病毒的组装和出芽有关^[28]。随后又发现在 HIV-1 的 Gag 多蛋白前体中,不仅 p6 结构域存在单泛素化修饰,MA、CA 和 NC 结构域中同样也存在低水平的单泛素化修饰,且 Gag 的泛素化修饰对于 HIV-1 的出芽非常重要^[29-30]。比如,RhoA 效应子(citron-K)通过促进 Gag 的泛素化增强 HIV-1 的产生,并通过多泡体(multivesicular body, MVB)途径诱导 HIV-1 释放^[31]。细胞因子信号转导抑制因子 1(suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1)是一种在 HIV-1 感染期间诱导产生的宿主因子,对 Gag 在细胞内的运输和稳定具有重要的调节作用。SOCS1 具有促进 Gag 泛素化的作用,泛素化修饰后的 Gag 与微管结合,进而促进 Gag 的运输和病毒颗粒的产生^[32]。但目前仍不清楚具体哪种 E3 泛素连接酶介导 Gag 的泛素化修饰。2017 年,Setz 等^[33]发现使用 DUB 抑制剂 P22077 和 PR-619 处理可以促进 Gag 多聚泛素化水平,使 Gag 进入 UPS 和 MHC-I (major histocompatibility complex-I)途径而干扰 Gag 的产生,导致释放子代病毒的感染性降低,且以剂量依赖性方式抑制 HIV-1 复制。这一现象提示某些 DUB 在 HIV-1 复制中可能发挥重要作用。

2.4 HIV-1 Vif蛋白的泛素化修饰

Vif 在 HIV-1 感染的晚期以较高的水平表达,其最典型的功能是介导宿主限制因子载脂蛋白 B mRNA 编辑酶 3G (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme 3G, APOBEC3G) 和载脂蛋白 B mRNA 编辑酶 3F

(APOBEC3F) 的降解,抵消 APOBEC3 家族强大的抗病毒作用。具体机制如下:Vif 通过其 N 末端与 APOBEC3G 结合,C 末端的 SOCS-box 基序募集 ElonginB、ElonginC 和 Cullin5 形成 E3 泛素连接酶复合物,介导 APOBEC3G 的泛素化修饰,然后经 UPS 降解^[34]。Vif 介导 APOBEC3F 的降解也是同样的机制^[35]。除了介导 APOBEC3G、APOBEC3F 的泛素化修饰,Vif 自身也存在泛素化修饰。比如,E3 泛素连接酶 Nedd4 和 AIP4 促进其在 Vif-Cul5 复合物中发生单泛素化修饰,这对于随后介导 A3G 的降解至关重要^[36-38]。2009 年,Izumi 等^[39]发现一种新型 E3 连接酶 Mdm2,其在体内体外均诱导 Vif 的多聚泛素化修饰,并通过 UPS 促进 Vif 降解,进而上调 APOBEC3G 的表达水平。这提示 Mdm2 作为 HIV-1 复制的负调控因子,可以作为抗 HIV-1 药物研发的新靶点。而宿主辅助转录因子 CBF β (core binding factor β) 与 Vif 的结合则抑制了其 Mdm2 的相互作用,进而保护 Vif 免受 Mdm2 介导的 UPS 降解,抵消 Mdm2 的负调控作用^[40]。针对 CBF β 与 Vif 晶体结构的虚拟筛选发现,小分子抑制剂 CBF β /Vif-3 (CV-3) 具有抗 HIV-1 活性。进一步的研究证实,CV-3 通过与 CBF β 的 Gln-67、Ile-102 和 Arg-131 残基形成氢键来阻断 Vif 和 CBF β 之间的相互作用,进而有效抑制 HIV-1 复制^[41]。细胞周期蛋白 F (cyclin F) 充当 SCF^{cyclinF} E3 泛素连接酶的底物结合亚基,而 Vif 是 SCF^{cyclinF} E3 连接酶的新型底物,cyclinF 通过物理相互作用介导 Vif 泛素化和蛋白酶体降解,从而增加 APOBEC3G 的表达,负调控 HIV-1 的复制^[42]。

2.5 HIV-1 Vpu蛋白的泛素化修饰

Vpu 是 HIV-1 和某些 SIV 编码的 I 型跨膜蛋白,它并不掺入病毒颗粒,仅在病毒产生细胞中促进病毒从感染的细胞中释放^[43]。Vpu 可以诱导 HIV-1 的天然靶受体 CD4 在胞质结构域中一个或多个赖氨酸残基位点被多聚泛素化修饰,进而将 CD4 靶向蛋白酶体降解,增强病毒的传播^[44]。骨髓基质细胞抗原 2 (bone marrow stromal cell antigen-2, BST-2) 是 HIV-1 的宿主限制因子,是一种 II 型跨膜糖蛋白,可以将新出芽的病毒颗粒锚定在细胞膜表面,抑制 HIV-1 的释放^[45]。Vpu 可以和 BST-2 的跨膜结构域结合,并通过 β TrCP (β transducin repeat-containing protein) 依赖性的方式泛素化修饰 BST-2,导致 BST-2 的降解和病毒出芽的增多^[46]。针对 Vpu 介导 BST-2 的泛素化修饰和降解,一种小分子化合物 2-

硫代 -6- 氮杂鸟苷被鉴定出具有降低 BST-2 泛素化水平的作用,进而恢复其限制 HIV-1 释放的能力^[47]。此外, Vpu 诱导钠偶联中性氨基酸转运蛋白 1 (sodium-coupled neutral amino acid transporter 1, SNAT1) 的泛素化和溶酶体降解,限制丙氨酸的摄取,从而干扰宿主的免疫代谢^[48]。Vpu 依赖 β TrCP 还可以诱导细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule1, ICAM-1) 的泛素化修饰和降解,降低 ICAM-1 在病毒粒子中的包装,从而降低病毒的感染性^[49]。相反, Vpu 以 β TrCP 依赖性方式抑制宿主 p53 的泛素化修饰和降解,增强 HIV-1 感染期间 p53 介导的细胞凋亡^[50]。除了调控宿主蛋白的泛素化修饰, Vpu 本身也被 SCF (Skp1-Cullins-F-box) E3 连接酶复合物多聚泛素化修饰并靶向蛋白酶体降解^[51]。P-选择素糖蛋白配体 1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1) 是 HIV-1 的限制因子之一, IFN- γ 诱导 CD4⁺ T 细胞中 PSGL-1 的表达从而抑制 HIV-1 的逆转录,并通过掺入子代病毒有效阻断病毒感染性。HIV-1 编码的 Vpu 与 PSGL-1 结合并通过 β TrCP2 诱导其泛素化降解,从而抵消 PSGL-1 的限制作用^[52]。

2.6 HIV-1 Vpr 蛋白的泛素化修饰

Vpr 是灵长类慢病毒中普遍表达的一种辅助蛋白,主要通过和宿主蛋白的相互作用来调节 HIV-1 的生命周期^[53]。Vpr 与 E3 泛素连接酶 CRL4^{DCAF1} 结合,诱导多种宿主蛋白的泛素化修饰和降解,如降解 DNA 糖基化酶 UNG2 (uracil DNA glycosylase 2),干扰碱基切除修复途径,从而保护 HIV-1 免受宿主限制因子 APOBEC3G 的作用^[54-56];降解核糖核酸内切酶 Dicer,促进巨噬细胞中 HIV-1 的复制^[57];降解解旋酶样转录因子 (helicase like transcription factor, HLTF),拮抗宿主细胞 DNA 修复机制^[58];降解组蛋白去乙酰基酶 SIRT7 (Sirtuin 7),促进 HIV-1 的复制^[59];降解双加氧酶 TET2 (ten-eleven translocation 2),维持 IL-6 的表达,从而促进 HIV-1 复制,加速疾病的进展^[60];降解染色质 I 类组蛋白去乙酰基酶 (histone deacetylase, HDAC),诱导潜伏的 HIV-1 前病毒重新激活^[61];降解核酸外切酶 1 (Exo1),促进 HIV-1 复制^[62];降解核酸内切酶复合物 MUS81-EME1,这可能对 HIV-1 的生命周期至关重要^[63]。Vpr 与 Cul4-DDB1[VprBP] E3 连接酶结合则诱导 DNA 复制因子微小染色体维持 10 (minichromosome maintenance protein 10, MCM10) 的泛素化修饰和蛋白酶体降解,这与 Vpr 诱导 G₂/M 细胞周期停滞有关^[64]。利用相同的机制, Vpr 还介

导 APOBEC3G 的泛素化和蛋白酶体降解^[65]。Vpr 通过 Cul4A^{DCAF1} E3 泛素连接酶介导的 2 个转录调节因子 ZIP 和 sZIP 的蛋白酶体降解在 HIV-1 复制周期中的作用仍有待研究^[66]。Vpr 还通过 UPS 降解 FOXO3a 转录因子,受 FOXO3a 调控的自噬蛋白 (autophagy, ATG) mRNA 水平下调,进而抑制自噬^[67]。细胞辅助因子 CTIP2 (COUP-TF-interacting protein 2) 有利于小胶质细胞中 HIV-1 整合后潜伏库的建立和持续存在, Vpr 通过与 Cul4A-DDB1-DCAF1 的相互作用促进 CTIP2 的泛素化和降解,抵消 CTIP2 对病毒潜伏库的作用^[68]。

3 展望

泛素化和去泛素化作为一种可逆的过程,它们对底物蛋白的修饰可以调节蛋白质的寿命及功能,从而广泛参与多种生理过程,如细胞增殖、凋亡、自噬、内吞、DNA 损伤修复及免疫应答等。它们二者之间的平衡与机体内环境的稳态密切相关,一旦平衡失调可能导致一系列疾病,包括癌症、神经退行性疾病、免疫疾病以及代谢综合征等。但是,泛素化和去泛素化在病毒复制过程中的确切调控机制还有待于更进一步的研究,因此需要深入地了解泛素化和去泛素化修饰在宿主与病毒对抗中的关键调节作用:宿主如何利用泛素化或去泛素化抵抗病毒的入侵,以及病毒又是如何利用泛素化或去泛素化为病毒复制提供有利的环境。探索泛素化和去泛素化在病毒生命周期中的作用及调控分子机制,将有助于抗病毒治疗新靶标的发现,为抗 HIV-1 药物的研发提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 425-79
- [2] Liu J, Cheng Y, Zheng M, et al. Targeting the ubiquitination/deubiquitination process to regulate immune checkpoint pathways. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 28
- [3] Zuo Y, Feng Q, Jin L, et al. Regulation of the linear ubiquitination of STAT1 controls antiviral interferon signaling. *Nat Commun*, 2020, 11: 1146
- [4] Mevissen TET, Komander D. Mechanisms of deubiquitinase specificity and regulation. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 159-92
- [5] Zong Z, Zhang Z, Wu L, et al. The functional deubiquitinating enzymes in control of innate antiviral immunity. *Adv Sci*, 2020, 8: 2002484
- [6] Kam J, Stoltzfus CM. Transcriptional and posttranscriptional regulation of HIV-1 gene expression. *Cold Spring Harb*

- Perspect Med, 2012, 2: a006916
- [7] Brès V, Kiernan RE, Linares LK, et al. A non-proteolytic role for ubiquitin in Tat-mediated transactivation of the HIV-1 promoter. *Nat Cell Biol*, 2003, 5: 754-61
- [8] Ali A, Farooqui SR, Banerjee AC. The host cell ubiquitin ligase protein CHIP is a potent suppressor of HIV-1 replication. *J Biol Chem*, 2019, 294: 7283-95
- [9] Faust TB, Li Y, Jang GM, et al. PJA2 ubiquitinates the HIV-1 Tat protein with atypical chain linkages to activate viral transcription. *Sci Rep*, 2017, 7: 45394
- [10] Faust TB, Li Y, Bacon CW, et al. The HIV-1 Tat protein recruits a ubiquitin ligase to reorganize the 7SK snRNP for transcriptional activation. *eLife*, 2018, 7: e31879
- [11] Remoli AL, Marsili G, Perrotti E, et al. HIV-1 Tat recruits HDM2 E3 ligase to target IRF-1 for ubiquitination and proteasomal degradation. *mBio*, 2016, 7: e01528-16
- [12] Ali A, Raja R, Farooqui SR, et al. USP7 deubiquitinase controls HIV-1 production by stabilizing Tat protein. *Biochem J*, 2017, 74: 1653-68
- [13] Xu M, Moresco JJ, Chang M, et al. SHMT2 and the BRCC36/BRISC deubiquitinase regulate HIV-1 Tat K63-ubiquitylation and destruction by autophagy. *PLoS Pathog*, 2018, 14: e1007071
- [14] Gao W, Li G, Zhao S, et al. Deubiquitinating enzyme USP21 inhibits HIV-1 replication by downregulating Tat expression. *J Virol*, 2021, 7: JVI.00460-21
- [15] Swigut T, Alexander L, Morgan J, et al. Impact of Nef-mediated downregulation of major histocompatibility complex class I on immune response to simian immunodeficiency virus. *J Virol*, 2004, 78: 13335-44
- [16] Garcia JV, Miller AD. Serine phosphorylation-independent downregulation of cell-surface CD4 by Nef. *Nature*, 1991, 350: 508-11
- [17] Jin YJ, Cai CY, Zhang X, et al. Lysine 144, a ubiquitin attachment site in HIV-1 Nef, is required for Nef-mediated CD4 down-regulation. *J Immunol*, 2008, 180: 7878-86
- [18] Cai CY, Zhang X, Sinko PJ, et al. Two sorting motifs, a ubiquitination motif and a tyrosine motif, are involved in HIV-1 and simian immunodeficiency virus Nef-mediated receptor endocytosis. *J Immunol*, 2011, 186: 5807-14
- [19] Hrecka K, Swigut T, Schindler M, et al. Nef proteins from diverse groups of primate lentiviruses downmodulate CXCR4 to inhibit migration to the chemokine stromal derived factor 1. *J Virol*, 2005, 79: 10650-9
- [20] Chandrasekaran P, Moore V, Buckley M, et al. HIV-1 Nef down-modulates C-C and C-X-C chemokine receptors via ubiquitin and ubiquitin-independent mechanism. *PLoS One*, 2014, 9: e86998
- [21] Chandrasekaran P, Buckley M, Moore V, et al. HIV-1 Nef impairs heterotrimeric G-protein signaling by targeting $G\alpha_2$ for degradation through ubiquitination. *J Biol Chem*, 2012, 287: 41481-98
- [22] Ali A, Farooqui SR, Rai J, et al. HIV-1 Nef promotes ubiquitination and proteasomal degradation of p53 tumor suppressor protein by using E6AP. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529: 1038-44
- [23] Pyeon D, Rojas VK, Price L, et al. HIV-1 impairment via UBE3A and HIV-1 Nef interactions utilizing the ubiquitin proteasome system. *Viruses*, 2019, 11: 1098
- [24] Sugiyama R, Naganuma H, Nishitsuji H, et al. Human immunodeficiency virus-1 Nef suppresses Hsp70-mediated Tat activation. *FEBS Lett*, 2011, 585: 3367-71
- [25] Zhang HG, Guo J, Yuan Y, et al. Ubiquitin E3 ligase c-Cbl is a host negative regulator of Nef protein of HIV-1. *Front Microbiol*, 2020, 11: 597972
- [26] Pyeon D, Timani KA, Gulraiz F, et al. Function of ubiquitin (Ub) specific protease 15 (USP15) in HIV-1 replication and viral protein degradation. *Virus Res*, 2016, 223: 161-9
- [27] Freed EO. HIV-1 assembly, release and maturation. *Nat Rev Microbiol*, 2015, 3: 484-96
- [28] Ott DE, Coren LV, Copeland TD, et al. Ubiquitin is covalently attached to the p6Gag proteins of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus and to the p12Gag protein of Moloney murine leukemia virus. *J Virol*, 1998, 72: 2962-8
- [29] Gottwein E, Kräusslich HG. Analysis of human immunodeficiency virus type 1 Gag ubiquitination. *J Virol*, 2005, 79: 9134-44
- [30] Gottwein E, Jäger S, Habermann A, et al. Cumulative mutations of ubiquitin acceptor sites in human immunodeficiency virus type 1 gag cause a late budding defect. *J Virol*, 2006, 80: 6267-75
- [31] Ding J, Zhao J, Sun L, et al. Citron kinase enhances ubiquitination of HIV-1 Gag protein and intracellular HIV-1 budding. *Arch Virol*, 2016, 161: 2441-8
- [32] Nishi M, Ryo A, Tsurutani N, et al. Requirement for microtubule integrity in the SOCS1-mediated intracellular dynamics of HIV-1 Gag. *FEBS Lett*, 2009, 583: 1243-50
- [33] Setz C, Friedrich M, Rauch P, et al. Inhibitors of deubiquitinating enzymes block HIV-1 replication and augment the presentation of Gag-derived MHC-I epitopes. *Viruses*, 2017, 9: 222
- [34] Yu X, Yu Y, Liu B, et al. Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex. *Science*, 2003, 302: 1056-60
- [35] Liu B, Sarkis PT, Luo K, et al. Regulation of APOBEC3F and human immunodeficiency virus type 1 Vif by Vif-Cul5-ElonB/C E3 ubiquitin ligase. *J Virol*, 2005, 79: 9579-87
- [36] Dussart S, Courcoul M, Bessou G, et al. The Vif protein of human immunodeficiency virus type 1 is posttranslationally modified by ubiquitin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 315: 66-72
- [37] Mehle A, Goncalves J, Santa-Marta M, et al. Phosphorylation of a novel SOCS-box regulates assembly of the HIV-1 Vif-Cul5 complex that promotes APOBEC3G degradation. *Genes Dev*, 2004, 18: 2861-6
- [38] Dang Y, Siew LM, Zheng YH. APOBEC3G is degraded by the proteasomal pathway in a Vif-dependent manner without being polyubiquitylated. *J Biol Chem*, 2008, 283: 13124-31
- [39] Izumi T, Takaori-Kondo A, Shirakawa K, et al. MDM2 is a novel E3 ligase for HIV-1 Vif. *Retrovirology*, 2009, 6: 1

- [40] Matsui Y, Shindo K, Nagata K, et al. Core binding factor β protects HIV, type 1 accessory protein viral infectivity factor from MDM2-mediated degradation. *J Biol Chem*, 2016, 291: 24892-9
- [41] Duan S, Wang S, Song Y, et al. A novel HIV-1 inhibitor that blocks viral replication and rescues APOBEC3s by interrupting Vif/CBF β interaction. *J Biol Chem*, 2020, 295: 14592-605
- [42] Augustine T, Chaudhary P, Gupta K, et al. Cyclin F/FBXO1 interacts with HIV-1 viral infectivity factor (Vif) and restricts progeny virion infectivity by ubiquitination and proteasomal degradation of Vif protein through SCF^{cyclin F} E3 ligase machinery. *J Biol Chem*, 2017, 292: 5349-63
- [43] Strebel K, Klimkait T, Maldarelli F, et al. Molecular and biochemical analyses of human immunodeficiency virus type 1 vpu protein. *J Virol*, 1989, 63: 3784-91
- [44] Schubert U, Antón LC, Bacik I, et al. CD4 glycoprotein degradation induced by human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein requires the function of proteasomes and the ubiquitin-conjugating pathway. *J Virol*, 1998, 72: 2280-8
- [45] Neil SJ, Eastman SW, Jouvenet N, et al. HIV-1 Vpu promotes release and prevents endocytosis of nascent retrovirus particles from the plasma membrane. *PLoS Pathog*, 2006, 2: e39
- [46] Gustin JK, Douglas JL, Bai Y, et al. Ubiquitination of BST-2 protein by HIV-1 Vpu protein does not require lysine, serine, or threonine residues within the BST-2 cytoplasmic domain. *J Biol Chem*, 2012, 287: 14837-50
- [47] Zhang Q, Mi Z, Huang Y, et al. 2-thio-6-azauridine inhibits Vpu mediated BST-2 degradation. *Retrovirology*, 2016, 13: 13
- [48] Matheson NJ, Sumner J, Wals K, et al. Cell surface proteomic map of HIV infection reveals antagonism of amino acid metabolism by Vpu and Nef. *Cell Host Microbe*, 2015, 18: 409-23
- [49] Sugden SM, Pham TNQ, Cohen ÉA. HIV-1 Vpu downmodulates ICAM-1 expression, resulting in decreased killing of infected CD4⁺ T cells by NK cells. *J Virol*, 2017, 91: e02442-16
- [50] Verma S, Ali A, Arora S, et al. Inhibition of β -TrCP-dependent ubiquitination of p53 by HIV-1 Vpu promotes p53-mediated apoptosis in human T cells. *Blood*, 2011, 117: 6600-7
- [51] Belaïdouni N, Marchal C, Benarous R, et al. Involvement of the β TrCP in the ubiquitination and stability of the HIV-1 Vpu protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357: 688-93
- [52] Liu Y, Fu Y, Wang Q, et al. Proteomic profiling of HIV-1 infection of human CD4⁺ T cells identifies PSGL-1 as an HIV restriction factor. *Nat Microbiol*, 2019, 4: 813-25
- [53] Andersen JL, Le Rouzic E, Planelles V. HIV-1 Vpr: mechanisms of G2 arrest and apoptosis. *Exp Mol Pathol*, 2008, 85: 2-10
- [54] Ahn J, Vu T, Novince Z, et al. HIV-1 Vpr loads uracil DNA glycosylase-2 onto DCAF1, a substrate recognition subunit of a cullin 4A-ring E3 ubiquitin ligase for proteasome-dependent degradation. *J Biol Chem*, 2010, 285: 37333-41
- [55] Wu Y, Zhou X, Barnes CO, et al. The DDB1-DCAF1-Vpr-UNG2 crystal structure reveals how HIV-1 Vpr steers human UNG2 toward destruction. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 933-40
- [56] Schröfelbauer B, Yu Q, Zeitlin SG, et al. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr induces the degradation of the UNG and SMUG uracil-DNA glycosylases. *J Virol*, 2005, 79: 10978-87
- [57] Casey Klockow L, Sharifi HJ, Wen X, et al. The HIV-1 protein Vpr targets the endoribonuclease Dicer for proteasomal degradation to boost macrophage infection. *Virology*, 2013, 444: 191-202
- [58] Lahouassa H, Blondot ML, Chauveau L, et al. HIV-1 Vpr degrades the HLTF DNA translocase in T cells and macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 5311-6
- [59] Zhou X, Monnie C, DeLucia M, et al. HIV-1 Vpr activates host CRL4-DCAF1 E3 ligase to degrade histone deacetylase SIRT7. *Virol J*, 2021, 18: 48
- [60] Lv L, Wang Q, Xu Y, et al. Vpr targets TET2 for degradation by CRL4VprBP E3 ligase to sustain IL-6 expression and enhance HIV-1 replication. *Mol Cell*, 2018, 70: 961-70
- [61] Romani B, Baygloo NS, Hamidi-Fard M, et al. HIV-1 Vpr protein induces proteasomal degradation of chromatin-associated class I HDACs to overcome latent infection of macrophages. *J Biol Chem*, 2016, 291: 2696-711
- [62] Yan J, Shun MC, Hao C, et al. HIV-1 Vpr reprograms CLR4DCAF1 E3 ubiquitin ligase to antagonize exonuclease 1-mediated restriction of HIV-1 infection. *mBio*, 2018, 9: e01732-18
- [63] Zhou X, DeLucia M, Ahn J. SLX4-SLX1 protein-independent down-regulation of MUS81-EME1 protein by HIV-1 viral protein R (Vpr). *J Biol Chem*, 2016, 291: 16936-47
- [64] Romani B, Shaykh Baygloo N, Aghasadeghi MR, et al. HIV-1 Vpr protein enhances proteasomal degradation of MCM10 DNA replication factor through the Cul4-DDB1[VprBP] E3 ubiquitin ligase to induce G₂/M cell cycle arrest. *J Biol Chem*, 2015, 290: 17380-9
- [65] Zhou D, Wang Y, Tokunaga K, et al. The HIV-1 accessory protein Vpr induces the degradation of the anti-HIV-1 agent APOBEC3G through a VprBP-mediated proteasomal pathway. *Virus Res*, 2015, 195: 25-34
- [66] Maudet C, Sourisce A, Dragin L, et al. HIV-1 Vpr induces the degradation of ZIP and sZIP, adaptors of the NuRD chromatin remodeling complex, by hijacking DCAF1/VprBP. *PLoS One*, 2013, 8: e77320
- [67] Alfaisal J, Machado A, Galais M, et al. HIV-1 Vpr inhibits autophagy during the early steps of infection of CD4 T cells. *Biol Cell*, 2019, 111: 308-18
- [68] Forouzanfar F, Ali S, Wallet C, et al. HIV-1 Vpr mediates the depletion of the cellular repressor CTIP2 to counteract viral gene silencing. *Sci Rep*, 2019, 9: 13154