

印双红,张俊波,张孟琴,等. 泛素结合酶 *UBE2G2* 基因调控胞内布鲁氏菌存活的作用[J]. 江苏农业科学,2022,50(16):180-185.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.16.027

泛素结合酶 *UBE2G2* 基因调控胞内布鲁氏菌存活的作用

印双红^{1,3},张俊波^{2,3},张孟琴⁴,易萌¹,易彩霞¹,蔡春连¹,毛宏¹,易继海⁵,李志强⁶,陈创夫⁵

(1. 铜仁学院大健康学院,贵州铜仁 554300; 2. 铜仁学院农林工程与规划学院,贵州铜仁 554300;

3. 贵州省梵净山地区生物多样性保护与利用重点实验室,贵州铜仁 554300;

4. 铜仁学院材料与化学工程学院,贵州铜仁 554300; 5. 石河子大学动物科技学院,新疆石河子 832000;

6. 商丘师范学院生物与食品学院,河南商丘 476000)

摘要:为了探讨泛素结合酶 *UBE2G2* 在胞内布鲁氏菌繁殖中的作用,通过分别构建过表达载体和设计合成小干扰 RNA (siRNA) 对 *UBE2G2* 基因进行过表达和沉默;利用 MTT 比色法检测 *UBE2G2* 基因沉默或过表达对细胞活性的影响;利用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测布鲁氏菌 M5-90 感染对 *UBE2G2* 基因表达的影响;用布鲁氏菌 M5-90 感染过表达和沉默 *UBE2G2* 基因的细胞,利用 qRT-PCR 检测细胞中 *CHOP* 基因表达的变化,利用菌落计数法检测胞内细菌数量的变化,利用试剂盒检测乳酸脱氢酶 (LDH)、白介素 18 (IL-18) 和 γ -干扰素 (IFN- γ) 水平的变化。结果显示,获得 *UBE2G2* 基因的过表达作用的载体 pLVX-puro-*UBE2G2*;筛选出 *UBE2G2* 基因的干扰效果最佳片段为 *UBE2G2*-83-siRNA;*UBE2G2* 基因沉默或过表达对细胞活性没有影响;M5-90 感染可提高细胞中 *UBE2G2* 基因的表达;M5-90 感染过表达 *UBE2G2* 基因的细胞,可提高细胞中 LDH 水平和胞内细菌数量并可抑制 *CHOP* 的表达、IL-18 和 IFN- γ 的水平;M5-90 感染沉默 *UBE2G2* 基因的细胞,可提高细胞 *CHOP* 的表达、IL-18 和 IFN- γ 的水平并可抑制 LDH 水平和胞内细菌数量。结果表明,泛素结合酶 *UBE2G2* 可调控胞内布鲁氏菌存活。

关键词:布鲁氏菌;*UBE2G2* 基因;RNA 干扰;真核表达;胞内存活

中图分类号: S182;S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)16-0180-06

布鲁氏菌病是一种广泛分布的人畜共患传染病^[1]。动物感染布鲁氏菌后表现为关节炎、流产、胎膜发炎、空怀和睾丸炎等症状。人可以通过吸入气溶胶化的细菌或通过摄取和接触被污染的动物组织而感染。人感染布鲁氏菌后会导致反复发烧、关节炎和心内膜炎等全身性疾病。目前,布鲁氏菌的持续性感染的分子机制尚不清楚。

泛素蛋白酶体途径具有降解真核细胞内蛋白质的作用,调节着大多数蛋白的降解,是维持细胞

稳态所必需的^[2-3]。蛋白酶体降解途径主要包括靶蛋白的泛素化和泛素化靶蛋白在蛋白酶体内的降解。靶蛋白的泛素化主要需要 3 种酶协同完成,包括 E1 活化酶、E2 结合酶和 E3 连接酶。E2 结合酶以一个多基因家族形式存在,人类基因组中已发现 40 多个泛素结合酶^[4]。E2 结合酶一般具有 1 个 16~18 ku 大小的催化中心,包含具有催化活性的半胱氨酸残基^[5-6]。然而,E2 结合酶在布鲁氏菌感染过程中的作用机制尚不清楚。本研究以泛素结合酶 *UBE2G2* 为研究对象,检测其在胞内布鲁氏菌繁殖中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

Opti-MEM 培养基,购自 GIBCO 公司;LDH 检测试剂盒,购自碧云天生物技术公司;LipofectamineTM RNAiMAX 转染试剂、Lipofectamine 2000 和总 RNA 提取试剂 Trizol,均购自 Invitrogen 公司;布鲁氏菌 M5-90、小鼠巨噬细胞 RAW264.7 和

收稿日期:2021-11-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:82160391、31502067);贵州省省级科技计划项目(编号:黔科合基础-ZK[2021]一般078);贵州省高层次人才项目(编号:2018-(2016)-022);贵州省重点实验室项目(编号:黔科合平台人才[2020]2003);铜仁市科技支撑计划(编号:铜市科研[2020]128号);铜仁学院国家基金培育项目(编号:GJPY[2021]15号、GJPY[2021]29号)。

作者简介:印双红(1986—),女,贵州松桃人,硕士,副教授,主要从事病原微生物的感染与免疫研究。E-mail:ysh_hong2006@163.com。
通信作者:张俊波,博士,教授,主要从事动物传染病研究。E-mail:zhangjunbo666@126.com。

pLVX - puro 载体,由贵州省梵净山地区生物多样性保护与利用重点实验室保存。该试验于 2019 年 4 月至 2020 年 10 月在贵州省梵净山地区生物多样性保护与利用重点实验室完成。

1.2 UBE2G2 基因过表达细胞的构建

1.2.1 过表达质粒 pLVX - puro - UBE2G2 的构建

利用 NCBI 网站下载小鼠的 *UBE2G2* 基因序列 (GenBank 登录号为 NM_019803.3),送华大基因公司合成序列,将目的基因序列与 pLVX - puro 载体连接构建过表达质粒 pLVX - puro - *UBE2G2*,将该重组质粒转化至大肠杆菌 DH5 α 中,于 37 ℃ 振荡培养 1 h,7 000 r/min 离心 3 min,将沉淀菌体涂布于含有氨苄青霉素 (100 g/mL) 的固体平板中,于 37 ℃ 培养 16 h,提取质粒并进行 PCR 扩增和酶切验证。

设计 pLVX - puro 载体和 pLVX - puro - *UBE2G2* 的共同检测引物,F:5' - CACGCTGTTTGA CCTCCAT - 3',R:5' - GGATGTGGAATGTGTGCGA G - 3'。质粒 pLVX - puro 和 pLVX - puro - *UBE2G2* 的 PCR 体系为 20 μ L: 2 \times ES *Taq* MasterMix 10.0 μ L, pLVX - puro - *UBE2G2* (pLVX - puro) 1.0 μ L,上下游引物各 1.0 μ L, ddH₂O 7.0 μ L。PCR 反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 20 s,57 ℃ 40 s, 72 ℃ 40 s,循环 30 次;72 ℃ 7 min。质粒 pLVX - puro - *UBE2G2* 双酶切验证体系为 40 μ L:*Eco*R I 限制性内切酶 2.0 μ L,*Bam*H I 限制性内切酶 2.0 μ L,质粒 pLVX - puro - *UBE2G2* 20.0 μ L,10 \times H Buffer

4.0 μ L 和 ddH₂O 12.0 μ L。

1.2.2 过表达效果的检测 参照文献[7]中的方法,用 6 孔板培养细胞,培养液用 10% 胎牛血清的 Opti - MEM 培养基,待细胞密度为 1×10^6 个/mL 时,将细胞培养基更换为无血清的 Opti - MEM 培养基,将细胞分为磷酸盐缓冲液 (PBS) 对照组、pLVX - puro 空质粒组和 pLVX - puro - *UBE2G2* 过表达质粒组。取 2 支灭菌的 EP 管,一个管加入 10 μ L Lipofectamine 2000 和 240 μ L Opti - MEM;另一个管加入 15 μ L 质粒 (pLVX - puro 或 pLVX - puro - *UBE2G2*) 或 15 μ L PBS 和 235 μ L Opti - MEM,室温静置 4 min,将上述 2 个管中的液体混合,室温静置 15 min,然后将其加入至 6 孔板中,培养 4 h 后加入含胎牛血清的 Opti - MEM 培养基,培养 48 h 后收集细胞,利用实时荧光定量 PCR (qRT - PCR) 分析 *UBE2G2* 基因过表达情况。从 NCBI 网站下载 *UBE2G2* 和内参 *GAPDH* 基因序列 (GenBank 登录号分别为 NM_019803.3 和 NM_008084.3),设计引物 (表 1),引物序列由华大基因公司合成。以 *GAPDH* 为内参,qRT - PCR 分析 *UBE2G2* 的表达水平,反应体系为 20 μ L:荧光染料 10 μ L,模板 cDNA 2 μ L,上下游引物各 1 μ L,ddH₂O 6 μ L。PCR 反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 个循环;72 ℃ 7 min。试验将 PBS 处理的细胞作为对照组。每组细胞设置 3 次重复,采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法分析基因的相对表达量。

表 1 *UBE2G2*、*CHOP* 和 *GAPDH* 基因的 qRT - PCR 引物

基因	引物序列
<i>UBE2G2</i>	F:5' - ACGGCGTTGAAGAGGCT - 3',R:5' - AGGATAGATGTTGGGATGGAA - 3'
<i>CHOP</i>	F:5' - CTCGCTCTCCAGATTCCAGTC - 3',R:5' - CTTTCATGCGTGTGCTTCCCA - 3'
<i>GAPDH</i>	F:5' - AAGAAGCTGCTGAAGCAGG - 3',R:5' - GAAGCTGGAAGAGTGGGAGT - 3'

1.3 UBE2G2 沉默表达细胞的构建

1.3.1 小干扰 RNA (siRNA) 的合成 由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成 *UBE2G2* 基因干扰片

段,包括 3 对阳性 siRNA 序列 (*UBE2G2* - 83 - siRNA、*UBE2G2* - 253 - siRNA 和 *UBE2G2* - 456 - siRNA) 和 1 对阴性 siRNA 序列 (表 2)。

表 2 *UBE2G2* 基因的 siRNA 序列

siRNA 片段名称	序列
<i>UBE2G2</i> - 83 - siRNA	F:5' - GGCCGAGUAUAAGCAAUUAATT - 3',R:5' - UAAUUGCUUAUACUCGGCCTT - 3'
<i>UBE2G2</i> - 253 - siRNA	F:5' - GCCCUCCGAAGAUGAGAUUTT - 3',R:5' - AAUCUCAUCUUCGGAGGGCTT - 3'
<i>UBE2G2</i> - 456 - siRNA	F:5' - GGAGCAAACGUAUGAUUUTT - 3',R:5' - AAGCAUCUACGUUUGCUCCTT - 3'
阴性 siRNA	F:5' - UUCUCCGAACGUGUCACGUTT - 3',R:5' - ACGUGACACGUUCGGAGAATT - 3'

1.3.2 沉默效果的检测 参照文献[7]中的方法,按照“1.2.2”节的方法培养细胞,将细胞分为 PBS

对照组、阴性 siRNA 组、*UBE2G2* - 83 - siRNA 干扰组、*UBE2G2* - 253 - siRNA 干扰组和 *UBE2G2* -

456-siRNA 干扰组。取 2 个 EP 管,个管分别加 125 μ L Opti-MEM, 然后一个管加入 7 μ L Lipofectamine RNAiMAX, 另一个管加入 12.5 μ L siRNA (*UBE2G2*-83-siRNA、*UBE2G2*-253-siRNA、*UBE2G2*-456-siRNA 或阴性 siRNA), 室温孵育 5 min, 将上述 2 个管中的液体混匀, 室温孵育 15 min, 然后将其加入细胞液中, 培养 4 h 后加入含 20% 胎牛血清的 Opti-MEM 培养基; 培养 48 h 后, 利用 qRT-PCR 分析 *UBE2G2* 基因沉默表达情况。

1.4 *UBE2G2* 沉默或过表达对细胞活性的影响

采用 MTT 比色法检测细胞活性。将 *UBE2G2*-83-siRNA 和 pLVX-puro-*UBE2G2* 质粒分别转染细胞, 培养细胞至对数生长期, 消化细胞, 加入含胎牛血清的 Opti-MEM 培养基, 将悬浮细胞接种于 96 孔板中。弃去上清液, 加入二甲基亚砜 (DMSO), 测量 490 nm 处的吸光度。试验设正常培养的细胞为对照组, 重复 3 次。

1.5 羊种布鲁氏菌 M5-90 感染对相关基因表达的影响

从 NCBI 网站下载 *CHOP* 基因序列 (GenBank 登录号为 NM_007837.4), 设计 *CHOP* 基因的引物 (表 1)。用 qRT-PCR 分析 M5-90 感染对过表达和沉默表达 *UBE2G2* 基因的细胞中 *CHOP* 基因表达量的影响。

用 M5-90 感染细胞, 培养 24 h 收集细胞。利用 qRT-PCR 分析 *UBE2G2* 的表达水平, 具体方法见“1.2.2”节。试验以 PBS 处理的细胞为对照组。

取转染 pLVX-puro-*UBE2G2* 和 *UBE2G2*-83-siRNA 的细胞, 用 M5-90 感染转染的细胞, 培养 24 h 收集细胞。利用 qRT-PCR 检测 *CHOP* 的表达水平, 具体方法见“1.2.2”节。试验同时设正常细胞及转染 pLVX-puro 空质粒、阴性 siRNA、PBS 处理的细胞为对照组。

1.6 *UBE2G2* 沉默或过表达对细胞内布鲁氏菌存活的影响

取“1.5”节中 5 组细胞, 37 $^{\circ}$ C 培养 1.5 h, 添加含有庆大霉素 (50 μ g/mL) 细胞培养基孵育 40 min, 更换无庆大霉素的培养基, 培养 24 h, 用 TritonX-100 裂解细胞, 室温放置 15 min 后将裂解液涂布固体平板, 统计细菌数量, 试验重复 3 次。

1.7 *UBE2G2* 沉默或过表达对细胞乳酸脱氢酶 (LDH) 水平及相关细胞因子的影响

取 M5-90 感染的 PBS 对照组、pLVX-puro 空

质粒组、pLVX-puro-*UBE2G2* 过表达质粒组、阴性 siRNA 对照组、*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组共 5 组细胞, 检测 LDH 水平、白介素-18 (IL-18) 水平和 γ -干扰素 (IFN- γ) 水平, 试验重复 3 次。

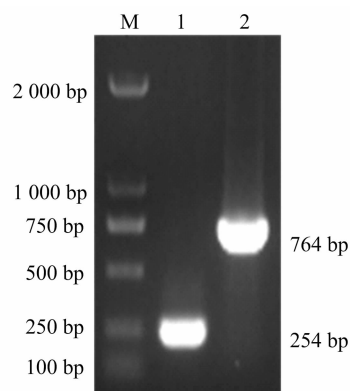
1.8 统计学分析

试验所得数据均利用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 结果以“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果与分析

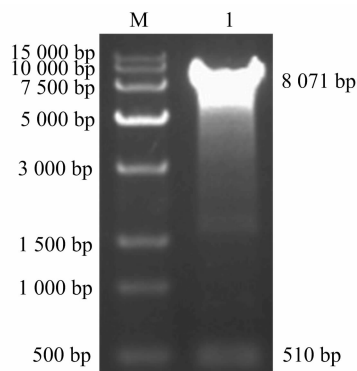
2.1 质粒 pLVX-puro-*UBE2G2* 构建的验证

由图 1 可知, pLVX-puro 质粒经引物 pLVX-puro-F/pLVX-puro-R PCR 扩增获得大小为 254 bp 的条带, pLVX-puro-*UBE2G2* 质粒经 PCR 扩增可获得的 764 bp 的条带。由图 2 可知, 质粒 pLVX-puro-*UBE2G2* 经双酶切获得大小为 510 bp 的目的基因条带, 结果与预期值相符。结果表明, pLVX-puro-*UBE2G2* 构建成功。



M—DL2000 DNA Marker; 1—pLVX-puro PCR 产物;
2—pLVX-puro-*UBE2G2* PCR 产物

图1 重组载体 pLVX-puro-*UBE2G2* 的 PCR 验证



M—DL15000 DNA Marker;
1—pLVX-puro-*UBE2G2* 的双酶切产物

图2 重组载体 pLVX-puro-*UBE2G2* 的酶切验证

2.2 过表达载体 pLVX-puro-UBE2G2 过表达效果的验证

由图 3 可知,转染 pLVX-puro-UBE2G2 组细胞 *UBE2G2* 的表达量极显著高于 PBS 对照组 ($P < 0.01$);转染 pLVX-puro 组细胞的 *UBE2G2* 的表达量与 PBS 对照组无明显变化。结果表明,pLVX-puro-UBE2G2 质粒可过表达 *UBE2G2*。

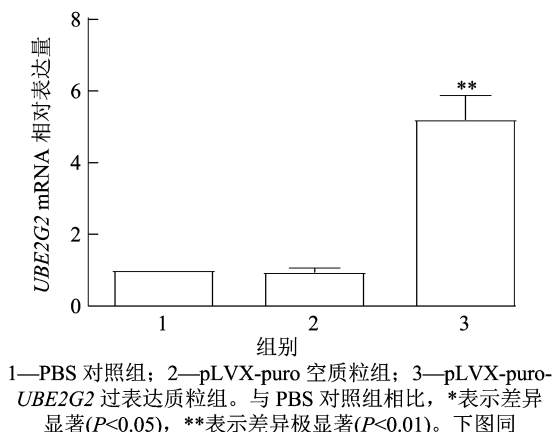


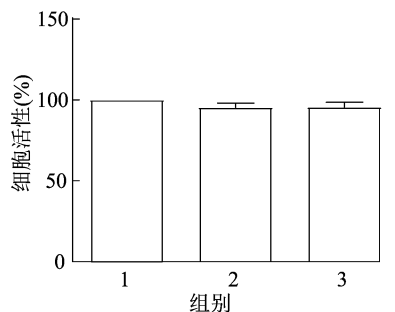
图3 *UBE2G2* 过表达效果的检测结果

2.3 siRNA 干扰 UBE2G2 基因效果的验证

由图 4 可知,*UBE2G2*-83-siRNA、*UBE2G2*-253-siRNA 和 *UBE2G2*-456-siRNA 干扰组细胞 *UBE2G2* 基因的表达量均极显著低于 PBS 对照组 ($P < 0.01$),干扰效率分别为 89%、63%、48%。结果表明,*UBE2G2* 的最佳干扰片段为 *UBE2G2*-83-siRNA。

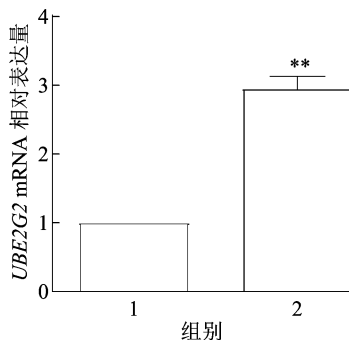
2.4 沉默或过表达 UBE2G2 基因对细胞活性的影响

由图 5 可知,*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组、pLVX-puro-UBE2G2 过表达质粒组的细胞活性均



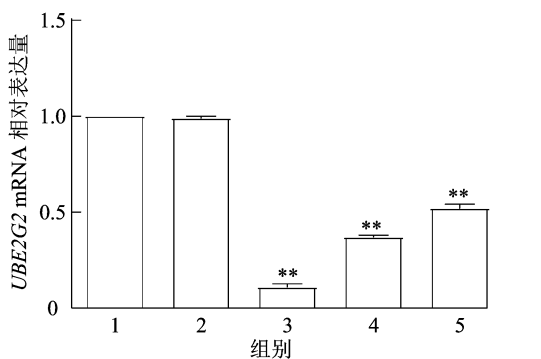
1—正常细胞对照组; 2—*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组; 3—pLVX-puro-UBE2G2 过表达质粒组

图5 沉默和过表达 *UBE2G2* 对细胞活性的影响



1—PBS 对照组; 2—M5-90 感染组

图6 布鲁氏菌 M5-90 感染对细胞 *UBE2G2* mRNA 表达的影响



1—PBS 对照组; 2—阴性 siRNA 组; 3—*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组; 4—*UBE2G2*-253-siRNA 干扰组; 5—*UBE2G2*-456-siRNA 干扰组

图4 *UBE2G2* 沉默表达效果的检测结果

在 90% 以上。结果表明,沉默或过表达 *UBE2G2* 基因不影响细胞活性。

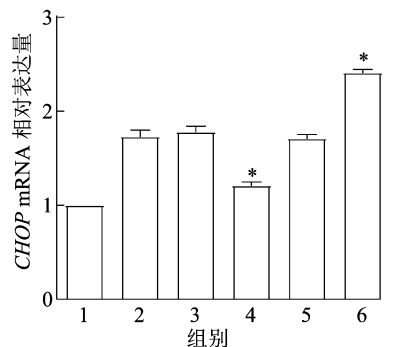
2.5 布鲁氏菌感染对 UBE2G2 和 CHOP 基因相对表达量的影响

由图 6 可知,M5-90 感染组细胞 *UBE2G2* 基因的表达量极显著高于 PBS 对照组 ($P < 0.01$)。结果表明,M5-90 感染可诱导细胞 *UBE2G2* 的表达。

由图 7 可知,与 PBS 对照组细胞相比,pLVX-puro-UBE2G2 过表达组细胞中 *CHOP* 的表达量显著降低 ($P < 0.05$);*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组细胞中 *CHOP* 的表达量显著升高 ($P < 0.05$);pLVX-puro 空质粒组与阴性 siRNA 对照组细胞中 *CHOP* 的表达量均无明显变化。结果表明,沉默和过表达 *UBE2G2* 分别可提高和抑制 M5-90 介导的细胞中 *CHOP* 的表达。

2.6 沉默和过表达 UBE2G2 基因对胞内布鲁氏菌存活的影响

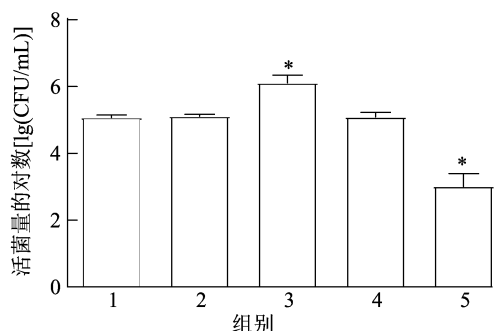
由图 8 可知,转染 *UBE2G2*-83-siRNA 片段的



1—正常细胞对照组; 2—PBS 对照组; 3—pLVX-puro 空质粒对照组; 4—pLVX-puro-UBE2G2 过表达质粒组; 5—阴性 siRNA 对照组; 6—*UBE2G2*-83-siRNA 干扰组

图7 M5-90 感染对沉默或过表达 *UBE2G2* 基因细胞中 *CHOP* 表达量的影响

细胞内布鲁氏菌 (M5-90) 菌株数量显著低于 PBS 对照组 ($P < 0.05$), 转染 pLVX-puro-UBE2G2 质粒的细胞内 M5-90 菌株数量显著高于 PBS 对照组 ($P < 0.05$)。结果表明, 沉默和过表达 UBE2G2 分别可抑制和促进胞内 M5-90 菌株的存活。



1—PBS 对照组; 2—pLVX-puro 空质粒组; 3—pLVX-puro-UBE2G2 过表达质粒组; 4—阴性 siRNA 对照组; 5—UBE2G2-83-siRNA 干扰组。下同

图8 沉默或过表达 UBE2G2 对细胞内布鲁氏菌存活的影响

2.7 沉默和过表达 UBE2G2 基因对 M5-90 感染细胞的 LDH、IL-18 和 IFN- γ 水平的影响

2.7.1 LDH 水平 由图 9 可知, 与 PBS 对照组相比, pLVX-puro-UBE2G2 质粒组细胞的 LDH 水平极显著升高 ($P < 0.01$), UBE2G2-83-siRNA 干扰组细胞的 LDH 水平显著降低 ($P < 0.05$); pLVX-puro 空质粒组与阴性 siRNA 组细胞的 LDH 水平均无明显变化。结果表明, 沉默和过表达 UBE2G2 分别可抑制和提高 M5-90 介导的细胞中 LDH 水平。

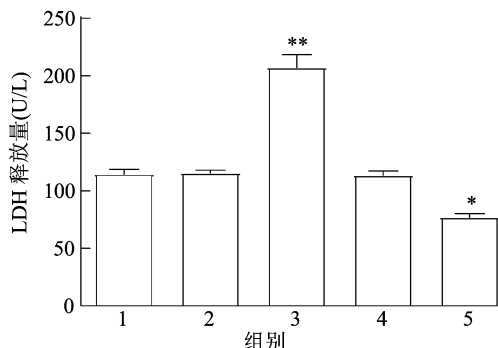


图9 沉默和过表达 UBE2G2 对 M5-90 感染的细胞 LDH 水平的影响

2.7.2 IL-18 水平 由图 10 可知, 与 PBS 对照组相比, pLVX-puro-UBE2G2 质粒组细胞的 IL-18 水平显著降低 ($P < 0.05$); UBE2G2-83-siRNA 干扰组细胞的 IL-18 水平显著升高 ($P < 0.05$); pLVX-puro 空质粒组与阴性 siRNA 组细胞的 IL-18 水平均无明显变化。结果表明, 沉默和过表达 UBE2G2 分别可提高和抑制 M5-90 介导的细胞中 IL-18 水平。

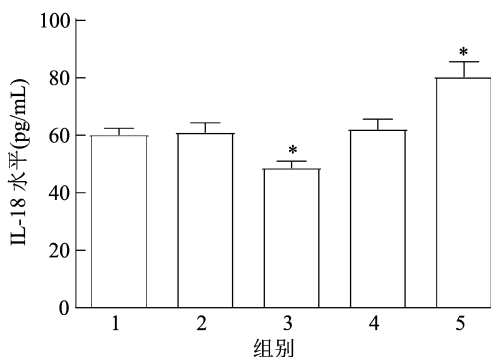


图10 沉默和过表达 UBE2G2 对 M5-90 感染的细胞 IL-18 水平的影响

2.7.3 IFN- γ 水平 由图 11 可知, 与 PBS 对照组相比, pLVX-puro-UBE2G2 质粒组细胞的 IFN- γ 水平显著降低 ($P < 0.05$); UBE2G2-83-siRNA 干扰组细胞的 IFN- γ 水平显著升高 ($P < 0.05$); pLVX-puro 空质粒组与阴性 siRNA 组细胞的 IFN- γ 水平均无明显变化。结果表明, 沉默和过表达 UBE2G2 分别可提高和抑制 M5-90 介导的细胞中 IFN- γ 水平。

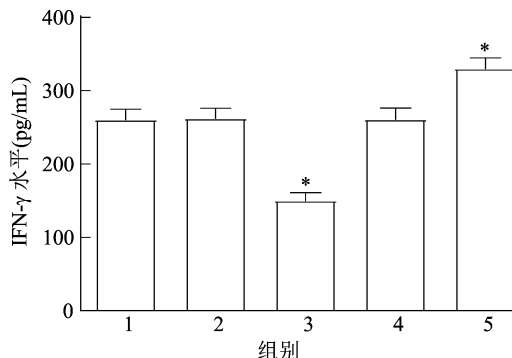


图11 沉默和过表达 UBE2G2 对 M5-90 感染的细胞 IFN- γ 水平的影响

3 讨论与结论

泛素主要参与细胞周期、胞吞作用和细胞程序性死亡等细胞过程^[8-10]。泛素蛋白酶体系统参与病毒感染、存活、释放与免疫逃逸等各个阶段^[11-12]。研究表明, 沉默泛素结合酶 UBE2J1 可显著降低登革病毒 (DENV) 感染, 而过表达 UBE2J1 可增强 DENV 感染^[13]。细胞泛素蛋白酶体系统也参与了细胞内布鲁氏菌的存活。研究表明, 布鲁氏菌 S2 感染巨噬细胞可诱导泛素及蛋白酶体的表达; 功能增强后的泛素蛋白酶体系统可抑制布鲁氏菌 S2 的早期感染; 而在感染后期, 利用抑制剂乳胞素抑制细胞蛋白酶体功能, 可抑制细胞内布鲁氏菌 S2 的存活能力^[14], 因此推测泛素蛋白酶体功能被抑制后可促进巨噬细胞自体吞噬系统的活化, 从而提高了巨噬

细胞的杀菌能力^[15]。笔者所在课题组前期研究发现,*UBE2T*在胞内布鲁氏菌繁殖中发挥正调控作用^[7],本研究结果表明,M5-90感染可诱导细胞中*UBE2G2*的表达,且*UBE2G2*可调控胞内M5-90菌株的存活,因此,*UBE2G2*与*UBE2T*功能相似。

细胞因子IL-18具有在机体中防御各种传染病调节细胞免疫的作用。IL-18在清除病毒过程中发挥作用^[16-17]。干扰素INF- γ 是细胞分泌的糖蛋白,可活化自然杀伤(NK)细胞和诱导细胞主要组织相容性复合物I(MHC I)的表达,增强宿主的免疫力^[18]。INF- γ 是反映宿主细胞免疫水平的主要巨噬细胞活化因子^[19-20]。INF- γ 是抗布鲁氏菌感染的细胞因子^[21]。本研究表明,沉默和过表达*UBE2G2*分别可提高和抑制M5-90介导的细胞中IL-18和INF- γ 水平。因此,*UBE2G2*可调控布鲁氏菌介导的细胞中IL-18水平和INF- γ 水平。

内质网在机体抵抗胞内病原感染过程中至关重要^[22-23]。布鲁氏菌侵入细胞后隐藏于膜结合隔室内,该隔室被称为布氏小体^[24]。由于布氏小体在感染细胞周期中具有内体性质,因此将其称为内体布氏小体,该内体布氏小体与内质网结构持续相互作用,获得与内质网膜相关的标记物^[25];内质网中含菌小泡被称为复制性布氏小体^[26],该复制性布氏小体具有内质网的结构和功能特征,表明内体布氏小体转化为内质网衍生的细胞器^[27]。内质网为布鲁氏菌在细胞内的繁殖提供了有利的场所。布鲁氏菌在感染的细胞内与内质网相互作用,可表现出免疫逃避和细胞凋亡抑制的功能^[27]。*CHOP*是细胞凋亡转录因子,当内质网应激超过自身的应答能力时,诱导*CHOP*的高表达,引发细胞凋亡^[28-29]。本研究表明,沉默和过表达*UBE2G2*分别可提高和抑制M5-90介导的细胞中*CHOP*的表达。笔者推测沉默*UBE2G2*可通过诱导M5-90介导的细胞中*CHOP*的表达促进细胞发生凋亡,从而抑制胞内M5-90菌株的存活;因此,*UBE2G2*可能通过*CHOP*的表达来调控胞内布鲁氏菌的存活。

参考文献:

- [1] Franc K A, Kreck R C, Häslér B N, et al. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world; a call for interdisciplinary action[J]. BMC Public Health, 2018, 18(1): 125.
- [2] Wang J S, Maldonado M A. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2006, 3(4): 255-261.
- [3] Kwon Y T, Ciechanover A. The ubiquitin code in the ubiquitin-proteasome system and autophagy[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2017, 42(11): 873-886.
- [4] Mansour M A. Ubiquitination: friend and foe in cancer[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2018, 101: 80-93.
- [5] Furukawa M, Ohta T, Xiong Y. Activation of UBC5 ubiquitin-conjugating enzyme by the RING finger of ROC1 and assembly of active ubiquitin ligases by all cullins[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(18): 15758-15765.
- [6] Park H B, Kim J W, Baek K H. Regulation of Wnt signaling through ubiquitination and deubiquitination in cancers[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11): 3904.
- [7] 印双红, 张俊波, 易萌, 等. 泛素结合酶*UBE2T*基因在布鲁氏菌感染过程中的作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(4): 19-28.
- [8] Teixeira L K, Reed S I. Ubiquitin ligases and cell cycle control[J]. Annual Review of Biochemistry, 2013, 82: 387-414.
- [9] Chen R H, Chen Y H, Huang T Y. Ubiquitin-mediated regulation of autophagy[J]. Journal of Biomedical Science, 2019, 26(1): 80.
- [10] Ulrich H D, Walden H. Ubiquitin signalling in DNA replication and repair[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2010, 11(7): 479-489.
- [11] Kong F Y, You H J, Kong D L, et al. The interaction of hepatitis B virus with the ubiquitin proteasome system in viral replication and associated pathogenesis[J]. Virology Journal, 2019, 16(1): 73.
- [12] Tang Q, Wu P, Chen H Q, et al. Pleiotropic roles of the ubiquitin-proteasome system during viral propagation[J]. Life Sciences, 2018, 207: 350-354.
- [13] Feng T T, Deng L, Lu X C, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme UBE2J1 negatively modulates interferon pathway and promotes RNA virus infection[J]. Virology Journal, 2018, 15(1): 132.
- [14] 董炳梅, 张春玲, 孙培娇, 等. 猪布鲁菌感染对巨噬细胞泛素蛋白酶体功能的影响[J]. 中国兽医学报, 2018, 38(2): 332-335, 363.
- [15] Deretic V. Autophagy in immunity and cell-autonomous defense against intracellular microbes[J]. Immunological Reviews, 2011, 240(1): 92-104.
- [16] Rooney T, Murphy E, Benito M, et al. Synovial tissue interleukin-18 expression and the response to treatment in patients with inflammatory arthritis[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2004, 63(11): 1393-1398.
- [17] Sekiyama A, Ueda H, Kashiwamura S I, et al. IL-18, a cytokine translates a stress into medical science[J]. The Journal of Medical Investigation, 2005, 52(Supplement): 236-239.
- [18] 王文浩, 胡琳玉, 彭秋玲, 等. 康乐黄鸡TLR7基因多态性及血清INF- γ 水平相关性研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(9): 89-91, 97, 236.
- [19] 夏伦斌, 连宏军, 王新华, 等. 绵羊INF- γ 基因的克隆与序列分析[J]. 动物医学进展, 2006, 27(10): 69-72.
- [20] Otani N, Nakajima K, Ishikawa K, et al. Changes in cell-mediated