

卢洪婷, 朱雪蛟, 周金柱, 等. 猪源 NUB1 的基因克隆、表达与细胞定位研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (8): 43-48.

LU H T, ZHU X J, ZHOU J Z, et al. Gene cloning, expression and cell localization of porcine NUB1 [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (8): 43-48.

## 猪源 NUB1 的基因克隆、表达与细胞定位研究

卢洪婷<sup>1,2</sup>, 朱雪蛟<sup>2\*</sup>, 周金柱<sup>2</sup>, 张雪寒<sup>2</sup>, 陶然<sup>2</sup>, 郭容利<sup>2</sup>, 牛家强<sup>1\*</sup>, 李彬<sup>1,2\*</sup>

(1. 西藏农牧大学动物科学学院/农业农村西部包虫病防治重点实验室/西藏高原动物疫病研究自治区高校重点实验室, 西藏 林芝 860000;

2. 江苏省农业科学院兽医研究所/农业农村部兽用生物制品工程技术重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 旨在对猪源泛素样蛋白负调控因子 1 (NUB1) 进行鉴定、表达和细胞定位分析, 并探究 NUB1 对猪轮状病毒 (PoRV) 的复制、先天性免疫、神经前体细胞表达发育调控下调蛋白 8 (NEDD8) 通路调节的影响。设计带有 *Kpn* I 和 *Xho* I 酶切位点的引物并在 C 端带入 His 标签, 以猪小肠上皮细胞 (IPEC-J2) 的 cDNA 为模板, 扩增 NUB1 基因, 并克隆到 pcDNA3.1 (+) 载体; 利用 Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000 脂质体转染重组质粒到 MARC145 细胞, Western blot 和间接免疫荧光试验检测 NUB1 在 MARC145 细胞中的表达情况, 共聚焦显微分析技术确定 NUB1 定位情况。结果: 成功扩增出猪源 NUB1 基因, 并构建 NUB1 真核表达质粒 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His; 重组质粒能在 MARC145 细胞中表达, NUB1 蛋白定位于细胞核和细胞浆。综上, 本试验成功构建了可外源表达 NUB1 的真核表达质粒 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His, 为后续研究 NUB1 的生物学功能及其对 PoRV 复制的影响奠定了基础。

**关键词:** NUB1; NEDD8; 基因克隆; 细胞定位; 基因表达

**中图分类号:** S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)08-0043-06

## Gene cloning, expression and cell localization of porcine NUB1

LU Hongting<sup>1,2</sup>, ZHU Xuejiao<sup>2\*</sup>, ZHOU Jinzhu<sup>2</sup>, ZHANG Xuehan<sup>2</sup>, TAO Ran<sup>2</sup>,  
GUO Rongli<sup>2</sup>, NIU Jiaqiang<sup>1\*</sup>, LI Bin<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Animal Science, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University/Key Laboratory of Hydatid Disease Prevention and Control in Xizang, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Colleges and Universities of Autonomous Region of Animal Epidemic Disease Research on Xizang Plateau, Linzhi 860000, China;

2. Institute of Veterinary Medicine, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Veterinary Biological Engineering and Technology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** The aim of this study was to identify, express and localize the negative regulator of ubiquitin-like proteins 1 (NUB1), and to further study the effects of NUB1 on porcine rotavirus (PoRV) replication, innate immunity and the neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8 (NEDD8) pathway regulation. Primers with *Kpn* I and *Xho* I restriction sites were designed, and His tag was introduced into the C-terminal. Using the cDNA of IPEC-J2 cell as a template, the NUB1 gene was amplified and cloned into a pcDNA3.1 (+) vector. The recombinant plasmid obtained was transfected into MARC145 cells by Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000 liposome. The expression of NUB1 in MARC145 cells was detected by Western blot and indirect immunofluorescence, and the localization of NUB1 was determined by confocal microscopy. The results were as follows: The porcine NUB1 gene was successfully amplified, and the eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1 (+) -NUB1-His was constructed. The recombinant plasmid could be expressed in MARC145 cells, and NUB1 protein was located in the nucleus and cytoplasm. To sum up, the eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1 (+) -NUB1-His, which can express NUB1 exogenously, was successfully constructed in this experiment, which laid a foundation for further research on the biological function of NUB1 and its influence on PoRV replication.

收稿日期: 2024-10-31; 修回日期: 2025-06-15

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFD1801303); 国家自然科学基金项目 (32302892); 江苏省自然科学基金项目 (BK20221432)

第一作者: 卢洪婷, 女, 硕士研究生

\* 通信作者: 李彬, 研究员, 研究方向为动物腹泻病防控技术, E-mail: libinana@126.com; 牛家强, 教授, 研究方向为高原重大动物疫病防控, E-mail: lznjq@163.com; 朱雪蛟, 副研究员, 研究方向为动物腹泻病防控技术, E-mail: 604537937@qq.com.

**Keywords:** NUB1; NEDD8; gene cloning; subcellular localization; gene expression

泛素样蛋白负调控因子 1 (negative regulator of ubiquitin-like protein-1, NUB1), 是由 601 个氨基酸残基组成的蛋白, 其分子量为 69.1 kDa, 在细胞核、细胞浆和细胞膜中均表达, 主要表达于细胞核<sup>[1-2]</sup>; 作为神经前体细胞表达发育调控下调蛋白 8 (neural precursor cell-expressed developmentally downregulated 8, NEDD8) 的负调节因子, 它能将 NEDD8 靶向蛋白酶体进行蛋白降解<sup>[3]</sup>。泛素介导的蛋白质降解越来越被人们所重视, 泛素-蛋白酶体系统不仅可以清理多余的蛋白, 也与许多生命活动, 如细胞分裂、DNA 的修复、转录等方面有着十分重要的联系。由 NUB1 基因编码的蛋白质将 NEDD8 及其偶联物募集到蛋白酶体中进行降解, 从而在转录后调节 NEDD8 偶联系统。因此, NUB1 能调控泛素化和类泛素化进程, 在生物体的许多生命活动中必然也发挥着不可忽视的作用。NUB1 是一种干扰素诱导蛋白, 有潜在的抗病毒作用<sup>[4]</sup>, 还具有介导癌症中的细胞凋亡和抗增殖作用<sup>[5]</sup>。NUB1 最初作为类泛素蛋白 NEDD8 相互作用的蛋白被分离出来<sup>[6]</sup>。NUB1 蛋白的 N-端有类泛素的结构域 (UBL), C-端有 2 个泛素相关结构域 (UBA)<sup>[7]</sup>。NUB1 的 C-末端 UBA 结构域介导与底物蛋白的相互作用, 并且促进底物被泛素蛋白酶体降解<sup>[8-9]</sup>。NUB1 可以结合 NEDD8 并且负调节 NEDD8, 引起底物蛋白发生类泛素化修饰<sup>[10]</sup>。NUB1 可以与 NEDD8 化蛋白酶体组分相互作用、影响蛋白酶体的活性、调节蛋白质的降解效率和参与蛋白质降解通路的调控, 泛素依赖性蛋白酶体途径可被某些病毒劫持以维持病毒基因组扩增<sup>[11]</sup>。MLN4924 是一种靶向 NEDD8 激活酶 E1 (NAE) 的抑制剂, MLN4924 抑制类泛素化可能会阻止病毒基因组扩增<sup>[12]</sup>。

本实验室前期研究发现, 猪轮状病毒 (porcine rotavirus, PoRV) 可以改变 NUB1 蛋白的表达, 但关于 NUB1 影响 PoRV 复制及其调控的机制并不清楚。因此, 本研究旨在构建能够表达 NUB1 的真核表达质粒, 为进一步研究 NUB1 对 PoRV 复制、先天性免疫以及 NEDD8 通路的影响奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、菌株

猪小肠上皮细胞 (IPEC-J2)、非洲绿猴胚胎肾细胞 (MARC145) 和 pcDNA3.1 (+) 真核表达载体

质粒由江苏省农业科学院兽医研究所保存。大肠杆菌 Trans5 $\alpha$  感受态细胞购自 TransGen 公司。

### 1.2 主要试剂

胎牛血清购自 Biological Industries 公司; 胰酶-EDTA 消化液购自南京生航生物技术有限公司; 2 $\times$  Phanta Master Mix 高保真酶和 Hiscript<sup>®</sup> II Q RT SuperMix for qPCR 逆转录酶购自南京诺唯赞公司; DNA 胶回收试剂盒和质粒小提试剂盒购自 Omega 公司; T4 DNA 连接酶购自 Bio-Rad 公司; *Kpn* I 和 *Xho* I 限制性核酸内切酶、Lipofectamine<sup>™</sup> 3000 脂质体转染试剂盒购自 Thermo 公司; 蛋白细胞裂解液购自 Beyotime 公司; 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记羊抗小鼠和 HRP 标记羊抗兔抗体购自 Abclonal 公司; His 标签小鼠单克隆抗体、 $\beta$ -actin 兔多克隆抗体、GAPDH 小鼠单克隆抗体、NUB1 兔多克隆抗体, 均购自 Proteintech 公司; FITC 标记羊抗小鼠/兔 IgG 购自 Boster 公司。

### 1.3 目的基因引物设计

设计 NUB1 的全长引物, NUB1-F (*Kpn* I) 序列为: 5'-GGGGTACCATGGCGCAAAGAAGTATCTC-CAAGCA-3'; NUB1-R (*Xho* I) 序列为: 5'-GC-CTCGAGTTAATGGTGATGGTGATGATGTTTTCGCTTT-GCTGCTGCCTTGATG-3'。*Kpn* I 和 *Xho* I 酶切位点分别以斜体表示, 下游引物添加的 His 标签序列以下划线表示。

### 1.4 目的基因的克隆

使用 Vazyme 公司的总 RNA 小提试剂盒提取 IPEC-J2 细胞的 RNA 后, 通过逆转录反应为 cDNA。加入 12.5  $\mu$ L 2 $\times$  Phanta Master Mix 高保真酶, NUB1 上游引物和下游引物各 1  $\mu$ L, 1  $\mu$ L cDNA, 用 ddH<sub>2</sub>O 补足 25  $\mu$ L。PCR 程序为: 95  $^{\circ}$ C 3 min; 95  $^{\circ}$ C 30 s, 58  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 1 min, 进行 35 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。1% 的琼脂糖凝胶电泳后, 使用 Omega 胶回收纯化试剂盒胶回收目的条带。

### 1.5 片段与载体的酶切鉴定

NUB1 和 pcDNA3.1 (+) 用 *Kpn* I 和 *Xho* I 37  $^{\circ}$ C 酶切 60 min, 胶回收, T4 连接酶连接过夜, 转化大肠杆菌 Trans5 $\alpha$  感受态细胞, 涂布氨苄抗性的 LB 培养基培养过夜, 挑单克隆培养, 提取质粒进行双酶切鉴定, 鉴定大小正确的质粒送公司进行测序验证。

## 1.6 质粒转染

显微镜观察 24 孔细胞板中的 MARC145 细胞生长至 70% ~ 80% 时, 降低血清浓度到 4%, 添加 DMEM 补齐 500  $\mu\text{L}$ 。按 Lipofectamine™3000 脂质体转染试剂盒说明, 1  $\mu\text{g}$ /孔质粒配制 pcDNA3.1 (+) 和 pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His 转染复合物。吸取 50  $\mu\text{L}$  转染复合物逐滴均匀加入 MARC145 细胞中。

## 1.7 间接免疫荧光试验 (IFA)

转染 MARC145 细胞培养 24 h 后, PBS 润洗细胞 3 次, 加入预冷的无水乙醇 300  $\mu\text{L}$ /孔于 -20  $^{\circ}\text{C}$  固定细胞 1 h。吸弃无水乙醇, 用 PBS 润洗细胞 3 次后, 在 37  $^{\circ}\text{C}$  作用 200  $\mu\text{L}$ /孔的 His 标签小鼠单克隆抗体 (1 : 400 稀释) 2 h, PBS 洗涤 3 次, 5 min/次; 37  $^{\circ}\text{C}$  作用 200  $\mu\text{L}$ /孔的 FITC 标记羊抗小鼠 (1 : 400 稀释) 1 h, PBS 洗涤 3 次, 荧光显微镜观察。

## 1.8 Western blot 鉴定

转染 MARC145 细胞培养 24 h 后, PBS 润洗细胞 3 次, 每孔加入 150  $\mu\text{L}$  细胞裂解液, 在冰上裂解 10 min, 加入离心管中离心取上清液。取 38  $\mu\text{L}$  5 $\times$  SDS-PAGE Loading Buffer 加入上清液中, 涡旋混匀后, 放置于 100  $^{\circ}\text{C}$  的金属浴中煮蛋白 10 min。

根据蛋白分子量的大小选择 10% 的分离胶进行 SDS-PAGE。使用半干转印仪, 转膜 15 min, 将蛋白转印到 NC 膜上。将 NC 膜放入含有 5% 脱脂奶的 PBS 中, 放置于摇床上 40 r/min 室温封闭 2 h 或 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱封闭过夜。加入 PBST 置于摇床上 70 r/min 洗涤 3 次, 15 min/次。分别以 1 : 5 000 稀释的 His 标签鼠单克隆抗体和 1 : 2 000 稀释 NUB1 兔多克隆抗体, 室温摇床 40 r/min 孵育 2 h。PBST 洗涤 4 次, 15 min/次。PBST 洗涤后加入对应的 1 : 10 000 稀释的 HRP 标记羊抗小鼠或 HRP 标记羊抗兔二抗, 摇床上 40 r/min 室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次, 15 min/次。配制 ECL 发光液, 均匀涂抹于 NC 膜上, 通过化学发光成像仪器进行成像分析。

## 1.9 激光共聚焦试验

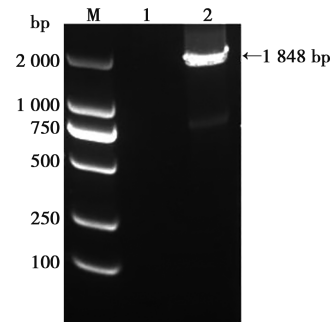
将无菌的细胞爬片放入细胞板内, MARC145 细胞传代, 在 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  细胞培养箱中培养 17 ~ 20 h, 待细胞密度为 70% ~ 80% 时进行转染。转染 24 h 后, PBS 润洗细胞 3 次, 吸弃液体; 加入冰的无水乙醇, 置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  固定细胞 1 h。PBS 润洗细胞 3 次, 吸弃液体。按 200  $\mu\text{L}$ /孔加入 His 单抗或 NUB1 兔多抗 (1 : 400 稀释) 在 37  $^{\circ}\text{C}$  温箱作用 2 h, PBS 洗涤 3 次, 5 min/次; 按 200  $\mu\text{L}$ /孔加入 FITC 标记羊抗小鼠/兔 IgG (1 : 400 稀释) 37  $^{\circ}\text{C}$  温箱作用 1 h,

PBS 洗涤 3 次, 5 min/次, 37  $^{\circ}\text{C}$  温箱作用 200  $\mu\text{L}$ /孔的 DAPI (1 : 1 000 稀释) 5 min, PBS 洗涤 3 次, 5 min/次。最后取一洁净载玻片滴加米粒大小的防猝灭剂, 将细胞爬片中有细胞附着的一面朝下放置于载玻片上。激光共聚焦显微镜扫描观察并拍照。

## 2 结果

### 2.1 NUB1 基因的 RT-PCR 扩增

以 IPEC-J2 细胞的 cDNA 作为模板, PCR 扩增 NUB1 基因如图 1, NUB1 基因片段约为 1 848 bp, 与预期大小一致。

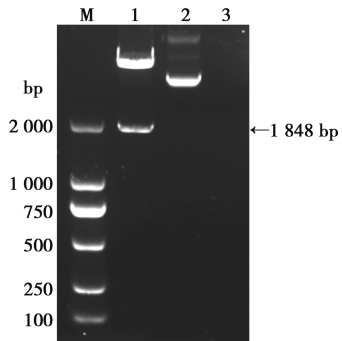


M. DL2000 Marker; 1. 阴性对照; 2. NUB1 基因。

图 1 NUB1 基因的 PCR 扩增

### 2.2 重组质粒双酶切鉴定

pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His 使用 *Kpn* I 和 *Xho* I 进行双酶切鉴定。pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His 重组质粒经过双酶切后, 出现 2 个条带。一条为 1 848 bp 的目的片段, 另一条为 pcDNA3.1 (+) 载体片段, 结果显示该重组质粒构建成功, 见图 2。将酶切后位置正确的重组质粒送公司进行测序, 测序结果正确。



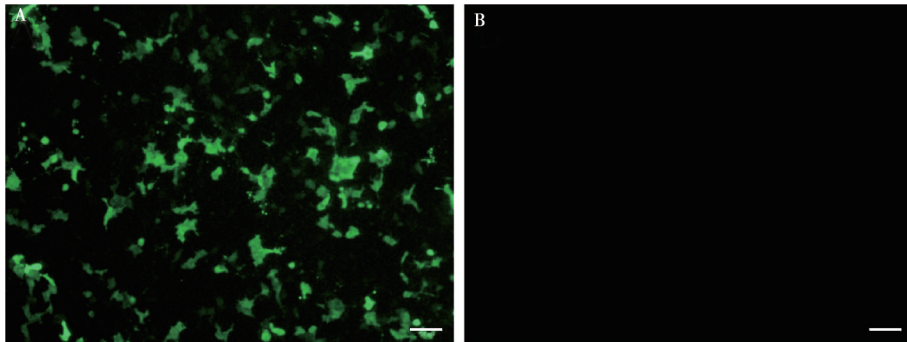
M. DL2000 Marker; 1. *Kpn* I 和 *Xho* I 酶切的 pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His; 2. 未酶切的 pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His; 3. 阴性对照。

图 2 pcDNA3.1 (+) - NUB1 - His 真核表达质粒双酶切鉴定

### 2.3 细胞表达 NUB1 重组蛋白的 IFA 鉴定

将测序鉴定正确的重组质粒 pcDNA3.1 (+) - NUB1-His 和 pcDNA3.1 (+) 转染到细胞融合度 70%~80% 的 MARC145 细胞 24 h 后, 利用 His 抗体

进行 IFA 鉴定。空载体转染的 MARC145 细胞中未出现绿色荧光, 而 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 转染的 MARC145 细胞有大量特异性绿色荧光, 如图 3。结果证明, 目的基因能在 MARC145 细胞中外源表达。



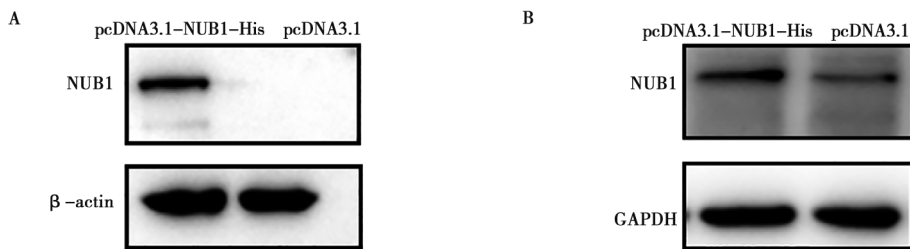
A. pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 转染的 MARC145 细胞; B. pcDNA3.1 (+) 转染的 MARC145 细胞。标尺 = 100 μm。

图 3 细胞表达 NUB1 重组蛋白的 IFA 鉴定

### 2.4 重组蛋白的 Western blot 鉴定

将 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 重组质粒和 pcDNA3.1 (+) 对照质粒转染 MARC145 细胞 24 h 后, 收获细胞蛋白, 进行 Western blot 检测。MARC145 细胞转染重组质粒后, 采用 His 标签抗体和 NUB1 抗体均可在 70~100 kDa 之间检测到特异的条带, 使用

His 标签抗体仅能在转染重组质粒样品中检测到 NUB1 蛋白 (图 4A), 使用 NUB1 抗体在转染对照 pcDNA3.1 (+) 质粒样品能检测到本底的 NUB1 蛋白, 在重组质粒转染样品中, NUB1 表达明显高于对照 (图 4B)。以上结果表明 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 重组质粒能成功表达 NUB1 蛋白。



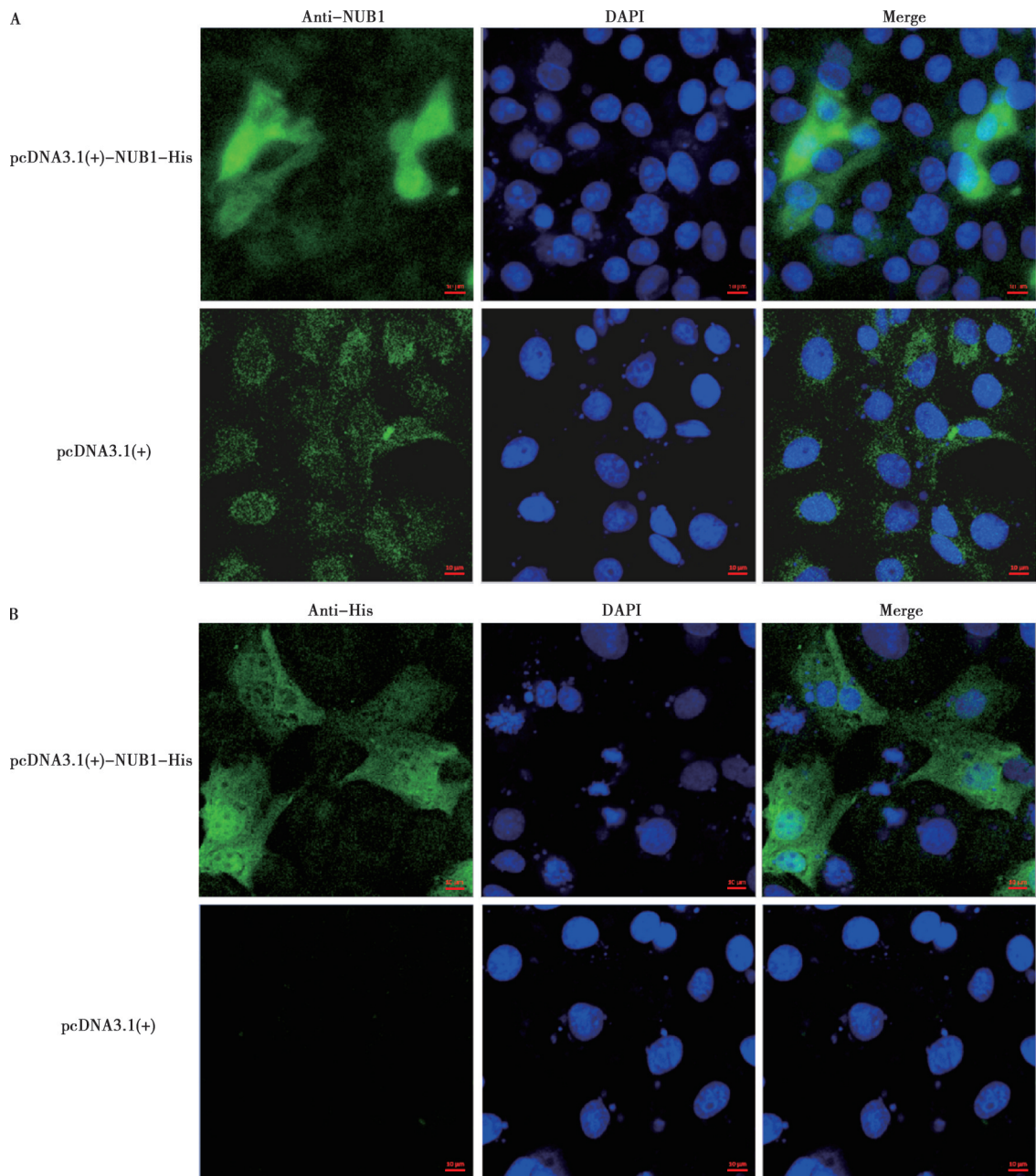
A. His 标签抗体; B. NUB1 抗体。

图 4 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 重组蛋白 Western blot 鉴定

### 2.5 激光共聚焦验证蛋白定位

MARC145 细胞转染质粒 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 和 pcDNA3.1 (+) 后, 进行 IFA 鉴定, 激光共聚焦显微镜观察拍摄。如图 5 所示, NUB1 抗体和 His 标记的 NUB1 都在细胞核和细胞浆中出现特异性的绿色荧光。使用 NUB1 抗体时, 转染重组质粒

pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 的绿色荧光强于对照 (图 5A); 使用 His 抗体标记 NUB1 时, 转染重组质粒 pcDNA3.1 (+) -NUB1-His 的出现特异性绿色荧光, 转染 pcDNA3.1 (+) 未出现特异性的绿色荧光 (图 5B)。上述结果说明, NUB1 定位于细胞核和细胞浆中。



A. NUB1 抗体；B. His 标签抗体。标尺 = 10 μm。

图 5 激光共聚焦显微镜观察 NUB1 在 MARC145 细胞中的定位

### 3 讨论

NUB1 是 NEDD8 表达的强下调因子，在调节包括细胞生长等生物学功能中发挥关键作用。过表达 NUB1 对 U2OS 细胞具有明显的生长抑制作用<sup>[13]</sup>，表明 NUB1 在细胞增殖调控中具有重要作用，可能通过影响细胞周期进程或其他生长相关信号通路来实现其功能。NUB1 在免疫系统中发挥重要作用，是干扰素诱导表达基因，参与抗病毒和抗细菌的免疫应答<sup>[14-15]</sup>。例如，hnRNPA2B1（一种核内 RNA 结合蛋

白）在细菌感染时能够感知并结合细胞核内的腺嘌呤，进而促进 IL-1 $\beta$  的产生，增强抗细菌免疫反应<sup>[15]</sup>。虽然 NUB1 的具体免疫功能机制尚未完全阐明，但其在干扰素信号通路中的作用表明它可能在免疫应答中扮演重要角色。NUB1 在人的肝癌<sup>[6]</sup>、胃癌<sup>[16]</sup>等癌症调控中的作用被广泛研究，但在病毒上的研究还鲜有报道，更无对猪腹泻病调控的研究报道。因此，本试验成功克隆了猪源 NUB1 基因完整的 PoRV 编码区序列，长度为 1 848 bp，而 MARC145 细胞是 PoRV 的易感细胞，并在 MARC145 细胞中验证

重组质粒能够外源性表达。以上结果为进一步研究 NUB1 对猪腹泻病毒的影响提供了物质基础。

此外, NUB1 蛋白很可能存在一定的蛋白翻译后修饰, NUB1 通过其 UBL 和 UBA 结构域, 可能参与蛋白质泛素化和降解的调控<sup>[14]</sup>。目前发现的与 NUB1 有关的类泛素化修饰往往在细胞核中进行, 因此, NUB1 在细胞核中的分布对泛素化和类泛素化修饰至关重要<sup>[17]</sup>。NUB1 可通过与 RNA 结合蛋白或 RNA 降解复合物相互作用参与细胞核 RNA 稳态的调控<sup>[18]</sup>, 也可通过与核基质蛋白的相互作用, 参与调控染色质的组织和基因表达, 从而影响细胞的生理功能<sup>[19]</sup>。由此可见, NUB1 调控 RNA、蛋白质稳态, 参与核机制调控, 以及影响细胞命运决定等机制皆在细胞核中发挥重要作用。本研究发现, NUB1 蛋白主要定位于细胞核和细胞浆, NUB1 可以从细胞核中向细胞浆发生移位, 而这种现象可能是抑制蛋白酶体导致, NUB1 在细胞中定位分布的变化可能是由于发生了蛋白修饰<sup>[20]</sup>, 但具体是何种机制尚不完全清楚。

本实验室前期研究发现, PoRV 可以影响 NUB1 的表达, 推测 NUB1 可能参与影响 PoRV 的复制。作为 NEDD8 的负调节因子, NUB1 对 PoRV 的作用以及 NEDD8 途径在其中的作用还未知。本文成功克隆并表达了 NUB1 基因, 进行了细胞定位的鉴定, 为深入研究 NUB1 生物学功能和影响 PoRV 复制机制及 NEDD8 通路奠定了基础。

## 参考文献:

- [1] TANAKA T, NAKATANI T, KAMITANI T. Inhibition of NEDD8-conjugation pathway by novel molecules: potential approaches to anticancer therapy [J]. *Mol Oncol*, 2012, 6 (3): 267-275.
- [2] BONACCI T, AUDEBERT S, CAMOIN L, et al. Regulation of NUB1 activity through non - proteolytic Mdm2 - mediated ubiquitination [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (1): e0169988.
- [3] TANJI K, TANAKA T, MORI F, et al. NUB1 suppresses the formation of Lewy body-like inclusions by proteasomal degradation of synphilin-1 [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169 (2): 553-565.
- [4] FENG X, RATNER L. Human T-cell leukemia virus type 1 blunts signaling by interferon alpha [J]. *Virology*, 2008, 374 (1): 210-216.
- [5] ARSHAD M, ABDUL HAMID N, CHAN M C, et al. NUB1 and FAT10proteins as potential novel biomarkers in cancer: a translational perspective [J]. *Cells*, 2021, 10 (9): 2176.
- [6] 黄达. NUB1 调控 c-Myc 表达在肝癌细胞增殖的研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [7] VODICKA P, CHASE K, IULIANO M, et al. Effects of exogenous NUB1 expression in the striatum of HDQ175/Q7 mice [J]. *J Huntingtons Dis*, 2016, 5 (2): 163-174.
- [8] TANJI K, MORI F, KITO K, et al. Synphilin-1-binding protein NUB1 is colocalized with nonfibrillar, proteinase K-resistant  $\alpha$ -synuclein in presynapses in Lewy body disease [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2011, 70 (10): 879-889.
- [9] TANJI K, MORI F, KAKITA A, et al. Immunohistochemical localization of NUB1, a synphilin-1-binding protein, in neurodegenerative disorders [J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 114 (4): 365-371.
- [10] FLIGHT M H. Neurodegenerative disease: hunting out the NUB1 of the matter [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14 (5): 308-309.
- [11] HUGHES D J, WOOD JJ, JACKSON B R, et al. NEDDylation is essential for Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latency and lytic reactivation and represents a novel anti-KSHV target [J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11 (3): e1004771.
- [12] LE-TRILLING V T K, MEGGER D A, KATSCHINSKI B, et al. Broad and potent antiviral activity of the NAE inhibitor MLN4924 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19977.
- [13] KITO K, YE H E T H, KAMITANI T. NUB1, a NEDD8-interacting protein, is induced by interferon and down-regulates the NEDD8 expression [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (23): 20603-20609.
- [14] 甘力, 张义兵, 孙钊, 等. 鲫 Nub1 基因的克隆及特征分析 [J]. *水生生物学报*, 2010, 34 (4): 702-708.
- [15] ZHANG S, CUI Z, ZHANG D, et al. Nuclear adenine activates hnRNPA2B1 to enhance antibacterial innate immunity [J]. *Cell Metab*, 2025, 37 (2): 413-428.
- [16] 张冬冬. 转录因子 NUB1 调控胃癌恶性生物学行为的分子机制研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [17] LI J, MA W, LI H, et al. NEDD8 ultimate buster 1 long (NUB1L) protein suppresses atypical neddylation and promotes the proteasomal degradation of misfolded proteins [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (39): 23850-23862.
- [18] HAN X, XING L, HONG Y, et al. Nuclear RNA homeostasis promotes systems-level coordination of cell fate and senescence [J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31 (5): 694-716.
- [19] MA G, FU X, ZHOU L, et al. The nuclear matrix stabilizes primed-specific genes in human pluripotent stem cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2025, 27 (2): 232-245.
- [20] RICHEL E, POOLER A M, RODRIGUEZ T, et al. NUB1 modulation of GSK3 $\beta$  reduces tau aggregation [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21 (24): 5254-5267.