POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI TOM 32 2005 NR 1 (3–12)

NAGRODA NOBLA Z CHEMII ZA 2004 ROK – DOCENIENIE KONTROLOWANEJ, ZALEŻNEJ OD UBIKWITYNY, PROTEOLITYCZNEJ DEGRADACJI BIAŁEK

NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY FOR 2004 – APPRECIATION OF CONTROLLED, UBIQUITIN-DEPENDENT PROTEIN DEGRADATION

Barbara GRZELAKOWSKA-SZTABERT

Zakład Biochemii Komórki,
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN

Streszczenie: W opracowaniu tym przedstawiono sylwetki i osiągnięcia laureatów nagrody Nobla w dziedzinie chemii w 2004 roku. Przypomniano pierwszą opisaną funkcję ubikwityny, czyli jej udział w kontrolowanej, zachodzącej przy udziale proteasomu 26S proteolizie białek. Zasygnalizowano też rolę tego wszechobecnego białka w regulacji innych procesów komórkowych.

S*ummary* In the article three Nobel laureates in chemistry for 2004 and their achievements are presented. Their discovery of the first described function of ubiquitin, namely its participation in the controlled protein degradation is shortly reviewed. Moreover, the role of ubiquitin in the regulation of other cellular processes is shown.

Degradacja białek i ich synteza, to dwa procesy niezmiernie istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórek. W 2004 roku doceniono wieloletnie badania licznych grup badawczych zajmujących się problemem kontrolowanej proteolizy białek komórkowych i uhonorowano nagrodą Nobla z dziedziny chemii trzech badaczy – Avrama Hershko i Aarona Ciechanovera z Izraela oraz Irwina Rose z USA – „*za odkrycie zależnej od ubikwityny degradacji białek*", procesu ściśle regulowanego i specyficznego w stosunku do białkowego substratu, jego lokalizacji komórkowej i momentu, w którym ma nastąpić degradacja.

Irwin Rose urodzony w 1926 w Nowym Yorku w USA, pod koniec II wojny światowej służył jako radiomechanik w marynarce wojennej USA. Po wojnie kontynuował na Uniwersytecie w Chicago rozpoczęte wcześniej studia w *Washinghton*

State College. W 1952 roku uzyskał stopień doktora w dziedzinie biochemii, a następnie odbył staże podoktorskie w Zakładzie Medycyny *Case-Western Reserve University* w Cleveland i w Zakładzie Farmakologii Uniwersytetu w Nowym Yorku. W latach 1954–1963 pracował w Zakładzie Biochemii w *Yale Medical School,* a od 1963 roku aż do momentu przejścia na emeryturę w 1995 roku związany był z *Fox Chase Cancer Center* w Filadelfii. Obecnie kontynuuje swoje badania, jako emerytowany profesor, w Zakładzie Fizjologii i Biofizyki w *Medical College* na Uniwersytecie Kalifornijskim w Irvine. Od 1979 roku jest członkiem *National Academy of Sciences*, USA.

Avram Hershko urodzony w 1937 roku w Karcag na Węgrzech, od 1950 roku obywatel Izraela, doktoryzował się w dziedzinie medycyny (1965) i biochemii (1969) w *Hadassah Medical School* na Uniwersytecie Hebrajskim w Jerozolimie. Staż podoktorski odbył pod kierunkiem G. Tomkinsa w Zakładzie Biochemii i Biofizyki Uniwersytetu Kalifornijskiego w San Francisco, USA. Po powrocie do Izraela, od 1972 roku jest profesorem w Instytucie Badawczym Nauk Medycznych im. Rodziny Rappaportów w Izraelskim Instytucie Technologii (Technion) w Hajfie. W latach 1977–1978 pracował w laboratorium Rose`a w Filadelfii. Jest laureatem nagrody Weizmana (1987) oraz nagrody Izraela (1994), najwyższego cywilnego odznaczenia tego państwa. Wraz z A. Ciechanoverem i A. Varshavskim został w 2000 roku laureatem nagrody im. Alberta Laskera za pionierskie badania prowadzące do odkrycia zależnego od ubikwityny szlaku degradacji białek. Od 2003 roku jest członkiem *National Academy of Sciences*, USA.

Aaron Ciechanover urodzony w 1947 roku w Hajfie, uzyskał stopień doktora medycyny w 1981 roku pracując pod kierunkiem A. Hershko w Izraelskim Instytucie Technologii (Technion) w Hajfie. Staż podoktorski odbył w laboratorium H. Lodisha w *Massachusetts Institute of Technology*, USA, a od szeregu lat jest profesorem i dyrektorem Instytutu Badawczego Nauk Medycznych im. Rodziny Rappaportów w Izraelskim Instytucie Technologii w Hajfie. Od 1987 roku jest także wizytującym profesorem w Zakładzie Pediatrii w *Washington University* w St. Louis, USA. Jest laureatem nagrody Izraela oraz wraz z A. Hershko i A. Varshavskim nagrody im. Alberta Laskera.

Zasługą powyższych badaczy jest odkrycie i opisanie podstaw działania pozalizosomalnego proteolitycznego systemu degradacji białek, w którym ulegają proteolizie, poza białkami uszkodzonymi bądź o nieprawidłowej strukturze, białka biorące udział w bardzo wielu procesach komórkowych, w tym w regulacji cyklu komórkowego, transkrypcji, reperacji DNA czy też odpowiedzi immunologicznej. Elementem wspólnym łączącym prace tegorocznych Noblistów jest ubikwityna. Niemniej jednak badania każdego z nich są ściśle ukierunkowane, o czym najlepiej świadczą tytuły wykładów noblowskich wygłoszonych na uroczystej sesji 8 grudnia 2004 roku.

- Irwin Rose „*How ubiquitin chains are made and unmade*",
- Avram Hershko *„The ubiquitin system for protein degradation and its roles in the control of cell division"*
- Aaron Ciechanover *"Intracellular proteolysis – from a vaque idea into the patient bed"*

W końcu lat siedemdziesiątych i początku osiemdziesiątych ubiegłego wieku Hershko i Ciechanover, pracując w laboratorium kierowanym przez A. Rose w *Fox Chase Cancer Center* w Filadelfii wykazali, że w lizatach z retikulocytów zachodzi zależna od ATP proteoliza białek, w której uczestniczy termostabilne niewielkie białko globularne,

nazwane początkowo APF-1 (*ATP-dependent proteolytic factor 1*), które następnie okazało się identyczne z odkrytą kilka lat wcześniej ubikwityną. Ubikwityna, białko zbudowane z 76 aminokwasów jest, jak obecnie wiadomo, jednym z najbardziej konserwatywnych białek komórkowych i występuje w formie wolnej lub związanej z białkami we wszystkich organizmach eukariotycznych. W latach 1980–1983 Rose, Hershko i Ciechanover zaproponowali i udowodnili hipotezę o udziale ubikwityny w zależnej od ATP proteolizie białek [13, 14]. Udokumentowali konieczność kowalentnego dołączenia ubikwityny, a właściwie łańcucha zbudowanego z kilku ubikwityn, do białka mającego ulec degradacji oraz wyizolowali i scharakteryzowali trzy aktywności enzymatyczne E1, E2 i E3, których sekwencyjne działanie jest niezbędne do skierowania białka do proteasomu 26S, wieloskładnikowego kompleksu białkowego, w którym ulega ono proteolizie. W etapie pierwszym działa enzym E1, tzw. enzym aktywujący ubikwitynę, i wówczas w procesie wymagającym ATP zostaje utworzone wysoko-energetyczne wiązanie pomiędzy glicyną na C-końcu ubikwityny a cysteiną w centrum aktywnym E1 i powstaje intermediat E1-S- ubikwityna. Następnie zaktywowana w ten sposób ubikwityna zostaje przekazana na białko E2 zwane białkiem przenoszącym bądź koniugującym ubikwitynę. Z białka E2 bezpośrednio lub częściej przy udziale białka E3, tzw. ligazy ubikwitylowej, cząsteczka ubikwityny zostaje przeniesiona na właściwy białkowy substrat. Powstaje wówczas wiązanie izopeptydowe pomiędzy zaktywowanym C-końcem ubikwityny i ε-NH2 jednej z lizyn obecnych w białku. Proces ten powtarza się aż do momentu, gdy białko zostanie naznaczone połączonymi w łańcuch wieloma cząsteczkami ubikwityny. Tak oznakowane białko jest następnie rozpoznawane przez proteasom 26S, w którym po odłączeniu ubikwityny, dochodzi do rozfałdowania i ostatecznej degradacji białka. Zagadnienia te były od szeregu lat i są nadal omawiane w wielu opracowaniach przeglądowych [np. 3, 5, 31], w tym także w polskich czasopismach biologicznych [10, 26, 21, 33].

Tak w szalenie uproszczonej postaci przedstawia się schemat ubikwitylacji białek, która w rzeczywistości jest jednak znacznie bardziej skomplikowana. Do dzisiaj bowiem poznano kilka enzymów E1, kilkanaście enzymów E2 i kilka klas ligaz ubikwitylowych E3, do których zalicza się już blisko tysiąc białek. W cząsteczce ubikwityny obecne są 4 reszty lizynowe, na których mogą formować się łańcuchy poliubikwitylowe. Jeśli następuje to poprzez Liz-48, a także niekiedy Liz-29, to pociąga za sobą skierowanie białek do proteasomu 26S. Natomiast utworzenie łańcucha poliubikwitylowego w połączeniu z Liz-63 ubikwityny sprawia, że w ten sposób oznakowane białka nie są degradowane, a biorą udział w regulacji reperacji DNA, modulacji transkrypcji i translacji, aktywacji różnych kinaz białkowych czy też wewnątrzkomórkowego transportu białek [31]. Co więcej wiadomo także, że podczas gdy do degradacji białka w proteasomie 26S konieczna jest obecność na nim łańcucha złożonego z co najmniej czterech reszt ubikwitylowych, to monoubikwitylacja białka lub modyfikacja przez białka ubikwityno-podobne skierowuje je do różnych kompartmentów komórkowych, w tym także do lizosomów, w których mogą być degradowane. Znane też są liczne enzymy deubikwitylujące, a co więcej wykryto w komórkach szereg białek pokrewnych ubikwitynie, zdolnych do modyfikowania białek i pełniących dzięki temu ważne funkcje regulacyjne [16, 23, 34].

1. UBIKWITYNO-ZALEŻNA DEGRADACJA BIAŁEK

Zainteresowanie zależną od ubikwityny degradacją białek zapoczątkowane ponad 20 lat temu trwa do dzisiaj. Wiele uwagi poświęca się poszukiwaniom i identyfikacji białek degradowanych w tym systemie. Szczególnie dużo badań, w których uczestniczą też omawiani Nobliści, dotyczy proteolizy białek regulatorowych cyklu komórkowego – cyklin, białkowych inhibitorów kinaz cyklino-zależnych, białek odpowiedzialnych za rozpoczęcie syntezy DNA czy też precyzyjną segregację chromatyd podczas mitozy. Ich nieodwracalna degradacja jest bardzo istotna, gdyż pociąga za sobą jednokierunkowość przebiegu cyklu [np. 9–11]. Równie intensywnie badana jest degradacja białek supresorowch, różnych czynników transkrypcyjnych czy też wielu białek sygnałowych. Wiadomo bowiem obecnie, że wszelkie zaburzenia funkcjonowania systemu ubikwityna/proteasom 26S mogą leżeć u podłoża wielu schorzeń i być często przyczyną nieefektywności stosowanych terapii. Utrata funkcji systemu może prowadzić do niepożądanej stabilizacji produktów onkogenów (np. c-Myc, c-Fos, c-Jun, Src, białko wirusowe E1A) i w efekcie promować transformację nowotworową. Natomiast podwyższona aktywność tego układu może powodować destabilizację białek kodowanych przez geny supresorowe (np. p53) czy inhibitory cyklu komórkowego (p21/WAF1, p27). Ostatnio opublikowany nawet został artykuł: „*The ubiquitin system: from basic mechanisms to the patient bed*" [4], w którym podsumowano dotychczasowe informacje o zaburzeniach tego układu w wielu nowotworach, chorobach neurodegeneracyjnych oraz chorobach o podłożu immunologicznym i infekcyjnym. Wyzwaniem zatem staje się opracowanie metod farmakologicznej interwencji w funkcjonowanie układu ubikwityna/proteasom 26S, między innymi polegających na zastosowaniu specyficznych, niskocząsteczkowych inhibitorów proteasomu 26S [30] i enzymów przeprowadzających ubikwitylację [np. 28]. Myśli się też o precyzyjnym kierowaniu wybranych białek na drogę proteolizy przy użyciu syntetyzowanych chimerycznych białek adaptorowych [12].

Precyzyjna regulacja poliubikwitylacji może zachodzić na poziomie białkowych substratów podlegających ubikwitylacji, efektywności „maszynerii ubikwitylującej", jak również zależeć od działania samego proteasomu 26S. W znakomitej większości białka degradowane w układzie ubikwityna/proteasom 26S charakteryzuje obecność na N-końcu cząsteczki tzw. degronów, czyli określonych sekwencji aminokwasowych pełniących funkcje destabilizujące i zawierających resztę/y lizynowe, do której dołączany jest łańcuch poliubikwitynowy. To zwrócenie uwagi na znaczenie składu aminokwasowego i struktury N-końca białek dla ich stabilności (tzw. reguła N-końca) jest zasługą A. Varshavskiego, jednego z współlaureatów nagrody Laskera w 2000 roku [27], bardzo zasłużonego badacza procesów ubikwitylacji, który zdaniem wielu biologów również powinien się znaleźć wśród laureatów nagrody Nobla.

Do precyzyjnego rozpoznania białkowych substratów przez enzymy ubikwitylujące przyczyniają się też liczne modyfikacje potranslacyjne, z których najczęściej opisywane są fosforylacja i hydroksylacja określonych reszt aminokwasowych. Ułatwia ona lub często jest wręcz niezbędna do ich rozpoznawania przez odpowiednie ligazy ubikwitylowe,

istotna jest także acetylacja lub metylacja reszt lizynowych. Inną modyfikacją białek przeznaczonych do degradacji w proteasomie może być też dołączanie do tych samych miejsc, z którymi wiąże się ubikwityna, białek pokrewnych ubikwitynie, takich jak np. SUMO (*small ubiquitin-related modifier)* [5, 23, 34]. W efekcie doprowadza to do zmniejszenia podatności na ubikwitylację tak modyfikowanych białek i powoduje wzrost ich stabilności. Z kolei o efektywności „maszynerii ubikwitylującej", czyli działaniu enzymów aktywujących ubikwitynę i dołączających ją do białkowych substratów decyduje poziom transkrypcji kodujących je genów, jak też różnego typu modyfikacje potranslacyjne, w tym również przez białka pokrewne ubikwitynie, np. RUB (*related to ubiquitin*, znane także jako NEDD8). Coraz lepiej też poznawana jest budowa i funkcjonowanie proteasomu 26S oraz czynniki decydujące o jego sprawnym funkcjonowaniu. Badania te są bardzo istotne ze względu na częste upośledzenie działania proteasomu 26S w wielu stanach chorobowych, a także podczas starzenia się organizmów [2].

Czy poliubikwitylacja jest zawsze niezbędna do degradacji białek w proteasomie? Pytanie to staje się coraz bardziej aktualne w świetle wielu ostatnio pojawiających się danych, które wskazują, że w proteasomie 26S może również zachodzić degradacja białek nieoznaczonych uprzednio ubikwityną. Przez wiele lat sztandarowym przykładem takiego białka była dekarboksylaza ornitynowa, kluczowy enzym w biosyntezie poliamin [17, 29], ale wiadomo obecnie, że także dotyczy to np. inhibitora cyklu komórkowego (białka p21/WAF1), receptora limfocytów T ze zmutowanym (niezawierającym reszt lizynowych), polipeptydowym łańcuchem α, a także białka supresorowego p53, białka c-jun i wielu innych [19,29].

Pojawia się zatem pytanie o sposób rozpoznawania przez proteasom 26S białek przeznaczonych do degradacji. Badania tego zagadnienia są trudne przede wszystkim ze względu na niestabilność *in vivo* łańcuchów poliubikwitylowych ciętych przez obecne w ekstraktach komórkowych enzymy deubikwitylujące. Jak już wspomniano, łańcuch zbudowany z 4 reszt ubikwitylowych jest najkrótszym łańcuchem zdolnym do wiązania się z proteasomem 26S i stanowi wystarczający sygnał do proteolizy połączonego z nim białka. Sugeruje się, że odpowiednia trójwymiarowa struktura łańcucha i kombinacja hydrofobowych regionów w cząsteczkach tworzących go ubikwityn jest niezbędna do współdziałania z niezidentyfikowanymi jeszcze w pełni czynnikami rozpoznającymi (*cognate recognition factors)*, obecnymi prawdopodobnie na podjednostce regulatorowej proteasomu 26S. Chociaż precyzyjnie nie wiadomo, w jaki sposób następuje rozpoznanie, to pewne jest, że łańcuch poliubikwitylowy jest czymś więcej niż sumą składowych ubikwityn. Niesiony przez niego sygnał jest bardziej trwały niż dawany przez pojedynczą ubikwitynę, a kolejne odszczepianie ubikwityn od łańcucha daje więcej czasu na rozfałdowanie „trudnych" białek czy też usunięcie przeszkód uniemożliwiających wejście polipeptydu do proteasomu. Zaczyna się doceniać enzymy deubikwitylujące i traktować je jako „czasowy regulator" degradacji [20].

Jak zatem są rozpoznawane i wiązane przez proteasom nieubikwitylowane białka? Problem ten jest szeroko dyskutowany i wysuwanych jest szereg przypuszczeń co do możliwych mechanizmów. Myśli się przede wszystkim o udziale specjalnych białek adaptorowych. W przypadku dekarboksylazy ornitynowej jest to dobrze poznane i scharakteryzowane białko – antyzym [6, 17]. Postuluje się też możliwość bezpoś-

redniego oddziaływania nieubikwitylowanego białka z określoną podjednostką rdzenia proteasomu 26S (białko p21/WAF1), czy też sugeruje zmiany allosteryczne w obrębie samego proteasomu ułatwiające białku dotarcie do jego katalitycznego centrum [19]. Sprawa pozostaje nadal otwarta i jest przedmiotem intensywnych badań.

Ale dołączenie do białka ubikwityny nie zawsze oznacza, jak obecnie wiadomo, konieczność jej interakcji z proteasomem. Ten ubikwitynowy sygnał rozpoznaje też wiele innych białek, w których występują określone domeny – sekwencje aminokwasowe (*np. UIM – ubiquitin-associated motif),* poprzez które następuje bezpośrednie wiązanie mono- lub poliubikwitylowanych białek, przy czym zazwyczaj silniejsze jest ich powinowactwo do łańcucha poliubikwitylowego niż do pojedynczej ubikwityny. Do dziś opisano sześć takich domen o różnym składzie i strukturze, a sposób ich wiązania z ubikwityną jest przedmiotem licznych badań [22]. Pojawiają się też doniesienia o obecności w białkach specjalnych sekwencji aminokwasowych odpowiedzialnych za wiązanie SUMO.

2. NIESPODZIEWANE FUNKCJE UBIKWITYLACJI – REGULACJA TRANSKRYPCJI I ENDOCYTOZY

Udział ubikwityny w proteolizie białek zdominował dyskusję o jej innych funkcjach, a są one niezmiernie istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórek. Dotyczą bowiem wielu ważnych procesów, w tym regulacji transkrypcji, endocytozy i różnego typu oddziaływań pomiędzy białkami. Niemożliwe jest omówienie w tym krótkim opracowaniu tak bardzo złożonych procesów, chcę tylko zwrócić uwagę na te etapy w ich przebiegu, w których dołączenie ubikwityny do określonych białek może mieć znaczenie regulacyjne.

Transkrypcja genów zachodzi w obrębie aktywnej euchromatyny, na stan której niebagatelny wpływ mają histony, o ubikwitylacji których wiadomo już od lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku, a *de facto*, histon 2A był pierwszym opisanym ubikwitylowanym białkiem (1977). Jednak o znaczeniu ubikwitylacji w modulowaniu transkrypcji zaczęto myśleć później, gdy okazało się, że histon 2A występuje w nukleosomach w połączeniu z ubikwityną. Obecnie wiadomo, że i inne histony (H2B, H1) są ubikwitylowane i znajdowane w aktywnych transkrypcyjnie rejonach chromatyny [15]. Jest zatem niewątpliwe, że ubikwitylacja histonów może zmieniać ich strukturę i ich wzajemne oddziaływania, jak również oddziaływania z DNA i jest niezbędna do powstania i utrzymania właściwej," rozluźnionej", struktury chromatyny. W pewnych sytuacjach może także ułatwiać następczą metylację histonów i regulować w ten sposób wyciszanie niektórych genów.

Pośredni udział ubikwityny w regulacji transkrypcji wydaje się oczywisty, jeśli weźmie się pod uwagę jej wpływ na stabilność białek biorących udział w tym złożonym procesie [1, 8, 18]. Polega on na „proteolitycznej obróbce" prekursorów różnych aktywatorów i inhibitorów tego procesu, a także przede wszystkim na promowaniu ich degradacji po spełnieniu przez nie funkcji regulatorowych, aktywacji lub hamowania transkrypcji w odpowiedzi na sygnał przesyłany przez określony szlak sygnalizacyjny. Co więcej

badania ostatnich lat wykazały, że w cząsteczkach bardzo wielu czynników transkrypcyjnych domeny odpowiedzialne za interakcję z promotorami (*TAD – transcription activation domains*) pokrywają się w dużym stopniu z regionami decydującymi o proteolizie (degronami) tych czynników, a mutacje w domenie biorącej udział w aktywacji transkrypcji stabilizują je. Niewątpliwie fakt ten ma znaczenie funkcjonalne, chociaż jego mechanizm nie jest jeszcze dzisiaj w pełni zrozumiały. Spekuluje się, że ubikwitylacja czynnika transkrypcyjnego po jego związaniu z promotorem może stanowić nie tylko sygnał do jego degradacji, lecz jest także niezbędna do pełnienia przez niego funkcji regulacyjnych [7].

Ubikwitylacji i degradacji w proteasomie 26S ulega także, przynajmniej w komórkach z uszkodzonym DNA, duża podjednostka polimerazy RNA II, jeden ze składników kompleksu transkrypcyjnego. Jej eliminacja umożliwia rekrutację do uszkodzonego miejsca, a następnie działanie systemu naprawczego i zatrzymanie transkrypcji aż do ukończenia naprawy [8]. Oznakowanie białek ubikwityną nie zawsze jednak pociąga za sobą bezpośrednie skierowanie ich na drogę degradacji. Tyczy to także czynników transkrypcyjnych, których ubikwitylacja bądź sumoilacja decyduje w znacznym stopniu o ich cytoplazmatycznej lub jądrowej lokalizacji i dopiero późniejszej degradacji w tych subkompartmentach komórkowych [24].

Nie tylko ubikwityna, ale także niektóre podjednostki proteasomu 26S mogą brać udział w regulacji transkrypcji. Dotyczy to zwłaszcza podjednostek wykazujących aktywność ATP-az obecnych w podjednostce regulatorowej proteasomu 26S, które podejrzewa się o udział w regulacji funkcjonowania polimerazy RNA II. Wysuwane jest przypuszczenie, że mogą one brać udział w zależnym od ATP rozfałdowywaniu białek i wywoływać reorganizację kompleksu transkrypcyjnego w sposób ułatwiający jego działanie [7, 8].

Należy zdawać sobie sprawę, że udział ubikwityny w regulacji transkrypcji nie ogranicza się tylko do promowania proteolizy określonych białek. Przynajmniej w przypadku kilku czynników transkrypcyjnych udokumentowano bezpośrednią modulację przez ubikwitynę ich efektywności, dzięki czemu stało się możliwe ich wybiórcze ukierunkowanie na aktywację transkrypcji określonych genów, zależnie od składu środowiska hodowlanego. Klasycznym już przykładem tego typu regulacji jest modulacja przez ubikwitynę aktywacji transkrypcji przez drożdżowy czynnik Met4 [8]. Ponadto, aktywność PCNA, jądrowego antygenu proliferujących komórek, jest także związana z jego ubikwitylacją (poprzez Liz 63) bądź sumoilacją. W komórkach z uszkodzonym DNA jest on mono-, a następnie poliubikwitylowany i wchodzi w skład kompleksu reperacyjnego, natomiast w komórkach nieuszkodzonych jest sumoilowany i bierze udział w prawidłowej replikacji DNA [32].

Ubikwityna pełni także istotną rolę w **endocytozie**, złożonym procesie internalizacji wielu białek błonowych. Liczne ligazy ubikwitylowe przeprowadzają ubikwitylację wielu białek błonowych, w tym białek tworzących kanały jonowe czy też receptorów różnych sygnałów zewnątrzkomórkowych (czynników wzrostowych, hormonów) [12, 25]. Dołączenie do białek błonowych jednej lub dwóch cząsteczek ubikwityny (poprzez Liz 63) jest wystarczającym sygnałem do ich internalizacji w pęcherzykach endocytarnych.

W przypadku białek przeznaczonych do degradacji następny etap polega na skierowaniu ich do lizosomów, w których ulegają proteolizie, natomiast białka predestynowane do ponownego wbudowania w błonę komórkową pozostają w błonach endosomów. Szereg ostatnich badań wskazuje, że niektóre białka błonowe nie muszą być ubikwitylowane, żeby zostać przemieszczone do wnętrza komórki. Ich internalizacja staje się możliwa, dzięki interakcji z innymi ubikwitylowanymi białkami (np. epsynami czy arestynami) odpowiedzialnymi za prawidłowy przebieg endocytozy [15, 25]. Ten typ modyfikacji ma szczególnie duże znaczenie w przekazywaniu sygnałów z receptorów takich czynników wzrostowych, jak: np. naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) czy też hormon wzrostu (GH). Częste występowanie w komórkach nowotworowych mutantów ligaz ubikwitylowych pozbawionych aktywności powoduje, że w takich komórkach receptory błonowe nie ulegają degradacji, a tym samym przedłużony zostaje sygnał z receptora, co może przyczyniać się do niekontrolowanego wzrostu komórek.

Monoubikwitylacji ulegają też białka retrowirusów, jak również liczne antygeny, w tym białka głównego kompleksu zgodności tkankowej, MHC. Modyfikacja ta jest konieczna bądź do uwalniania wirusów z zakażonych komórek bądź też do usuwania białek antygenowych z błon komórkowych. Tak więc z każdym rokiem powiększa się liczba białek, których działanie regulowane jest przez ubikwitylację. Zagadnienie to jest bardzo skomplikowane i zasługuje na odrębne opracowanie.

PODSUMOWANIE

Kariera ubikwityny, jako jednego z istotnych regulatorów coraz większej liczby procesów komórkowych, rozpoczęła się niewiele ponad 20 lat temu. Okres ten przyniósł wiele odkryć, już pozwalających na docenienie znaczenia procesu ubikwitylacji, chociaż szereg zagadnień z tym związanych wymaga dalszych badań. Nie wiadomo na przykład dokładnie, jak dołączenie pojedynczej ubikwityny lub łańcucha poliubikwitylowego zmienia strukturę tak modyfikowanych białek, ich aktywność, współdziałanie z innymi białkami w kompleksach czy też lokalizację wewnątrzkomórkową. Zbyt mało też jeszcze wiadomo o procesach deubikwitylacji białek czy też o działaniu białek pokrewnych ubikwitynie. Nie mniej jednak wydaje się już niemal pewne, że ubikwitylacja stanowi równie ważną modyfikację białek jak ich fosforylacja lub metylacja.

PIŚMIENNICTWO

Podano tylko podstawowe, na ogół przeglądowe pozycje piśmiennictwa wystarczające, aby zainteresowany czytelnik mógł znaleźć źródłowe informacje.

[1] BACH I, OSTENDORFF HP. Orchestrating nuclear functions: ubiquitin sets the rhythm. *Trends Biochem Sci* 2003; **28**: 189–195.

[2] CARRARD G, BULTEAU AL, PETROPOULOS I, FRIGUET B. Impairement of proteasome structure and function in aging. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; **34**: 1461–1474.

[3] CIECHANOVER A. The ubiquitin – proteasome pathway: on protein death and cell life**.** *EMBO J* 1998, **17**: 71–7160.

[4] CIECHANOVER A, IWAI K. The ubiquitin system: from basic mechanisms to the patient bed. *IUBMB Life* 2004; **56**: 193–201.

[5] CIECHANOVER A, SCHWARTZ AL. The ubiquitin-mediated proteolytic pathway: mechanism of recognition of the proteolytic substrate and involvement in the degradation of native cellular proteins. *FASEB J* 1994; **8**: 182–191.

[6] COFFINO P. Regulation of cellular polyamines by antizyme. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2001; **2**:188–194.

[7] CONAWAY RC, BROWER CS, CONAWAY JW. Emerging role of ubiquitin in transcription regulation. *Science* 2002; **296**: 1254–1258.

[8] FREIMAN RN, TJIAN R. Regulation the regulators: lysine modifications make their mark. *Cell* 2003; **112**: 11–17.

[9] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Degradacja cyklin jako niezbędny element regulacyjny cyklu komórkowego. *Post Biochem* 1993; **39**: 16–25.

[10] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Proteoliza białek regulujących przebieg cyklu komórkowego – udział ubikwitynacji. *Post Biochem* 2002; **48**: 34–47.

[11] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Punkty kontrolne cyklu komórkowego – czy znamy ich molekularne podłoże? *Post Biol Kom* 2002*;* **29**; 157–175.

[12] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Oligo- i monomeryczne ligazy ubikwitynowe E3 z domeną *RING finger* – budowa i działanie. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 1–20.

[13] HERSHKO A, CIECHANOVER A, HELLER H, HAAS AL, ROSE IA. Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; **77**: 1783–1786.

[14] HERSHKO A, HELLER H, ELIAS S, CIECHANOVER A. Components of ubiquitin-protein ligase system. *J Biol Chem* 1983; **258**: 8206–8214.

[15] HICKE L. Protein regulation by monoubiquitin. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2001; **2**, 19–201.

[16] JENTSCH S, PYROWOLAKIS G. Ubiquitin and its kin: how close are the family ties? *Trends Cell Biol* 2000; **10**: 335–342.

[17] MANTEUFFEL-CYMBOROWSKA M. Dekarboksylaza ornitynowa jedynym nieubikwitynowanym białkiem degradowanym przez 26S proteasomy? *Post Biochem* 1996; **42**: 113–120.

[18] MURATANI M, TANSEY WP. How the ubiquitin – proteasome system controls transcription. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2003; **4**: 192–201.

[19] ORLOWSKI M, WILK S. Ubiquitin-independent proteolytic functions of the proteasome. *Arch Biochem Biophys* 2003; **415**: 1–5.

[20] PICKART CM. Ubiquitin in chains. *Trends Biochem Sci* 2000; **25**: 544–548.

[21] PIOTROWSKA U. Struktura i funkcja ubikwityny. *Post Biochem* 1993; **39**: 8–16.

[22] SCHNELL JD, HICKE L. Non-traditional functions of ubiquitin and ubiquitin-binding proteins. *J Biol Chem* 2003; **278**: 35857–35860.

[23] SCHWARTZ DC, HOCHSTRASSER M. A superfamily of protein tags: ubiquitin, SUMO and related modifiers. *Trends Biochem Sci* 2003; **28**: 321–328.

[24] SHCHERBIK N, HAINES DS. Ub on the move. *J Cell Biochem* 2004; **93**: 11–19.

[25] STROUS GJ, GENT J. Dimerization, ubiquitylation and endocytosis go together in growth hormone receptor function. *FEBS Lett* 2002; **529**: 102–109.

[26] TOBIASZ A, ŻOŁĄDEK T. System ubikwitynacji i jego rola u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. *Post Biochem* 1997; **43**: 91–97.

[[27] VARSHAVSKY A. The N-end rule: functions, mysteries, uses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 12142–12149.
[28] VASSILIEV LT, VU BT, GRAVES B, CARVAJAL D, PODLASKI F, FILIPOVIC Z, KONG N, KAMMLOT U, LUKACS C, KLEIN C, FOTOUHI N, LIU EA. *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* 2004; **303**: 844–848.
[29] VERMA R, DESHAIES RJ. A proteasome howdunit: the case of the missing signal. *Cell* 2000; **101**: 341–344.
[30] VOORHEES PM, DEES EC, O'NEIL B, ORLOWSKI RZ. The proteasome as a target for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 6316–6325.
[31] WEISMANN AM. Themes and variations on ubiquitylation. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2001; **2**: 169–178.
[32] WILKINSON CRM. New tricks for ubiquitin and friends. *Trends Cell Biol* **12**: 545–546.
[33] WÓJCIK C. Proteasomy i szlak degradacji białek zależny od ubikwityny. *Post Biol Kom* 1995; **22**: 295–315.
[34] YEH ETH, GONG L, KAMITANI T. Ubiquitin-like proteins: new wines in new bottles. *Gene* 2000; **248**: 1–14.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 15.12.2004 r.
Przyjęto: 20.12.2004 r.
Adres autora: ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa
e-mail: b.grzelakowska@nencki.gov.pl