УДК 57.052
©Бунеева, Медведев

РОЛЬ АТИПИЧНОГО УБИКВИТИНИРОВАНИЯ В КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

О.А. Бунеева*, А.Е. Медведев

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,
119121. Москва, Погодинская ул. 10, эл. почта: olbuneeva@gmail.com

Убиквитинирование – разновидность посттрансляционной модификации внутриклеточных белков, в ходе которой происходит ковалентное присоединение молекул убиквитина к белкам-мишеням. Различают моноубиквитинирование (присоединение одной молекулы убиквитина), множественное моноубиквитинирование (так называемое мультиубиквитинирование) и полиубиквитинирование (присоединение к белку-мишени цепочки, состоящей из нескольких (чаще всего четырёх) молекул убиквитина. В случае полиубиквитинирования образуются линейные или разветвленные цепи полимерных форм этого белка. В их образовании участвуют различные остатки лизина мономеров убиквитина. Наиболее хорошо изучено полиубиквитинирование с участием Lys48, которое чаще всего приводит к доставке белков-мишеней для протеолитической деградации. В данном обзоре рассмотрены примеры т.н. атипичного полиубиквитинирования с участием других остатков лизина (Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys63) и N-концевого остатка метионина. Эти примеры убедительно свидетельствуют о том, что полиубиквитинирование белков-мишеней далеко не всегда приводит к их протеолитической деградации. Полиубиквитинированные белки участвуют в регуляции самых разных клеточных процессов, включая иммунный ответ, стабильность генома, передачу сигнала и другие. Нарушения механизмов убиквитинирования ведут к возникновению различных заболеваний.

Ключевые слова: убиквитин, посттрансляционные модификации белков, атипичное убиквитинирование, убиквитинирующие ферменты

DOI 10.18097/PBMC20166205496

ВВЕДЕНИЕ

Убиквитин (от латинского “ubique” – “везде”) – состоящий из 76 аминокислотных остатков белок массой около 8,5 кДа, который встречается во всех эукариотических клетках и осуществляет посттрансляционную модификацию различных белков – их убиквитинирование (называемое также убиквитинилированием) [1]. Убиквитин ковалентно присоединяется к белку-мишени посредством образования пептидной связи между карбоксильной группой С-концевого остатка убиквитина (Gly76) и аминогруппой боковой цепи лизинового остатка модифицируемого белка. При этом к белковому субстрату может присоединяться одна молекула убиквитина (моноубиквитинирование) или цепочка из нескольких (чаще всего четырёх) убиквитиновых остатков (полиубиквитинирование). Молекулы убиквитина в полиубиквитиновой цепи могут быть соединены посредством одного из семи остатков лизина (Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys48, Lys63) или через N-концевой остаток метионина (Met1) [2]. На приведённой ниже схеме первичной структуры убиквитина эти аминокислотные остатки, обозначенные однобуквенными символами, выделены жирным шрифтом:

MQIFV**K**TLTG**K**TITLEVEPSDTIENV**K**A**K**IQD**K**EGIPP-
DQQRLIFAG**K**QLEDGRTLSDYNIQ**K**ESTLHLVLRLRGG

Наиболее изучено убиквитинирование белков, предназначенных для последующей деградации в 26S протеасомах – мультиферментных протеазных комплексах, расщепляющих модифицированные убиквитином белковые субстраты на небольшие пептиды и аминокислоты [3]. Этот процесс имеет большое значение для быстрой ликвидации отслуживших регуляторных белков, а также избавления от поврежденных белков, накапливающихся в клетке в результате мисфолдинга или окислительного стресса [4, 5]. При этом для узнавания убиквитинированного белка протеасомой обычно необходимо наличие цепочки из четырёх молекул убиквитина, соединенных между собой при помощи аминогрупп остатков Lys48 [6].

Однако помимо элиминации “ненужных” белков с участием протеасомы, модификация убиквитином различных белков-мишеней определяет его роль во многих других внутриклеточных процессах: регуляции экспрессии генов, клеточного цикла и деления, ответе на стресс, репарации ДНК, импорте белков в митохондрии, сборке рибосом, апоптозе, эндоцитозе, борьбе с вирусной инфекцией [7-14]. В большинстве этих случаев белки-мишени подвергаются убиквитинированию, отличному от “классического”. Здесь мы рассмотрим именно такие неканонические случаи (атипичного) убиквитинирования, к которым относят любое присоединение к белку-мишени одной или нескольких молекул убиквитина за исключением “классического” Lys48-полиубиквитинирования – мечения белков для протеасомной деградации.

Важно подчеркнуть, что сбои в процессах убиквитинирования могут быть причиной патогенеза ряда заболеваний (в первую очередь,

* - адресат для переписки

нейродегенеративных, иммунных, воспалительных, опухолевых) [15-19]. Поэтому дальнейшее исследование убиквитинирования представляет несомненный интерес для разработки лекарственной терапии этих заболеваний. Знания о механизме убиквитин-протеасомного пути уже позволили создать лекарственный препарат бортезомиб (велкейд) – обратимый ингибитор 26S протеасомы, успешно применяющийся в терапии множественной миеломы [20]. Вероятно, не за горами и практическое применение результатов исследования других типов убиквитинирования.

Первоначально информация о функциональной роли убиквитинирования накапливалась в результате экспериментов *in vitro* с использованием синтетических убиквитиновых цепей или при трансфекции в клетки мутантных форм убиквитина с направленной заменой лизинового остатка на аргининовый. Масс-спектрометрический анализ (в том числе количественный), использование специфичных к определенным цепям убиквитина антител и другие современные методы выявления различных типов убиквитинирования в исследованиях *in vivo* помогли приблизиться к пониманию физиологической роли модификации белков убиквитином [21-23]. С помощью протеомных методов Peng и соавторы идентифицировали у дрожжей более тысячи убиквитинированных белков и показали, что все семь лизиновых остатков молекулы убиквитина участвуют в образовании полиубиквитиновых связей [22].

1. СТРУКТУРА УБИКВИТИНОВЫХ ЦЕПЕЙ

Применение таких методов исследования, как рентгеновская кристаллография, ядерно-магнитный резонанс, малоугловое рентгеновское рассеяние, позволило больше узнать о структуре цепей убиквитина и убиквитинированных белков [2]. На сегодняшний день охарактеризовано пять типов убиквитиновых цепей, имеющих (в зависимости от типа соединения остатков убиквитина) **компактную или открытую конформацию** (рис. 1) [24, 25]. Цепочки компактной конформации образуются с участием Lys6, Lys11 и Lys48, а цепочки открытой конформации – с участием Lys63 и Met1. В первом случае дистальный (то есть С-концевой) и проксимальный (то есть соединённый посредством аминогруппы лизинового остатка) участки убиквитина имеют внутримолекулярные участки соприкосновения, то время как в случае открытой конформации соединенные между собой остатки убиквитина контактируют только в точке соединения. Однако, благодаря подвижности убиквитиновых цепочек, могут образовываться и другие типы конформаций, при этом в большинстве случаев взаимодействие осуществляется между гидрофобными изолейциновыми остатками в положениях 36 и 44 [2, 26].

На основании всех возможных вариантов наращивания цепи с использованием различных остатков лизина молекул убиквитина (кроме классических тетраубиквитиновых цепей, соединённых при участии Lys64) предложена классификация атипичных убиквитиновых цепочек [21]. Полиубиквитиновые цепочки, образованные с участием лизиновых остатков, находящихся в одной и той же позиции (Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33 либо Lys63), носят название **гомотипических**. **Смешанные атипические цепи** образуются при конъюгации мономеров убиквитина с использованием различных остатков лизина. Они могут быть **неразветвлёнными** либо **разветвлёнными** (в результате убиквитинирования одной молекулы убиквитина по двум или более лизиновым остаткам образуются разветвления (“вилки”)) [21].

Все это разнообразие, по-видимому, объясняет специфичное распознавание соответствующих конфигураций белками-мишенями, содержащими **убиквитин-связывающие домены**, а также **деубиквитиназами**, осуществляющими гидролиз связи между убиквитиновыми остатками или между молекулами убиквитина и белка-мишени [7, 27, 28].

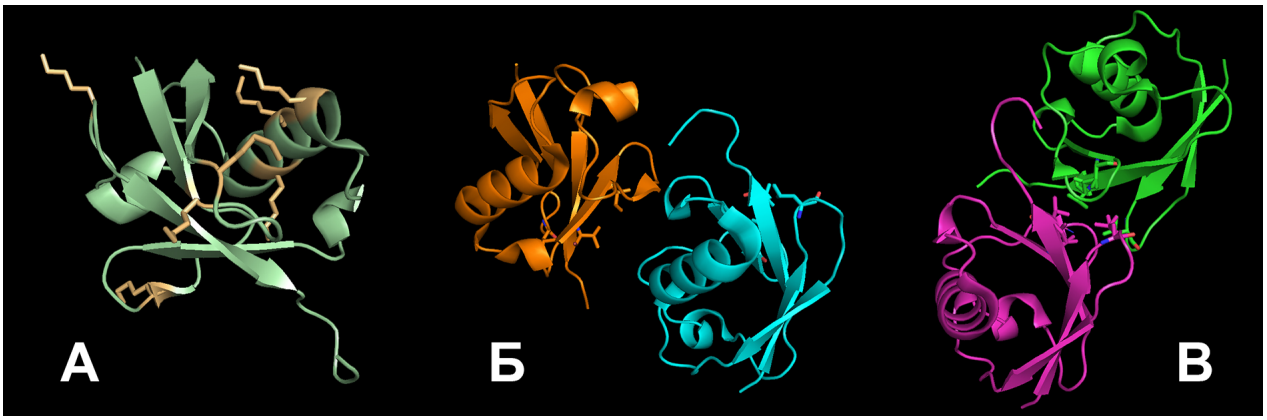

Рисунок 1. Кристаллическая структура убиквитина (А) и формирование закрытой (Б) и открытой (В) конформации при взаимодействии двух молекул убиквитина. Структуры убиквитина взяты из базы данных трёхмерных структур белков PDB: А - 5k9p, Б - 3m3j, В - 3aul. Остатки лизина (А) показаны жёлтым цветом. Открытая и закрытая конформации определяются по взаимодействию (или отсутствию такового) между гидрофобными поверхностями двух молекул убиквитина. Основные аминокислотные остатки, образующие гидрофобный кластер (Leu8, Ile44 и Val70), на рисунках Б и В показаны палочками.

2. УБИКВИТИНИРУЮЩИЕ И ДЕУБИКВИТИНИРУЮЩИЕ ФЕРМЕНТЫ

Модификацию белков убиквитином осуществляет убиквитин-конъюгирующая система в присутствии АТР. Сначала **убиквитин-активирующий фермент** (Е1) гидролизует АТР и образует тиоэфирную связь с убиквитином. Затем активированный убиквитин переносится на **убиквитин-конъюгирующий фермент** (Е2), который, в свою очередь, переносит его на молекулу субстрата, специфически узнаваемого одной из **убиквитинлигаз** (Е3) (рис. 2).

Убиквитинлигазы (Е3) – гетерогенная группа высокоспецифичных ферментов. В геноме человека закодировано более 700 различных убиквитинлигаз [29] и только около 40 убиквитин-конъюгирующих ферментов (Е2) [2]. В зависимости от строения Е2-связывающего домена убиквитинлигазы разделяют на подсемейства (рис. 3). **Убиквитинлигазы HECT-типа** (содержащие так называемый HECT-домен, от английского homologous to E6-associated protein (E6-AP) carboxyl terminus) осуществляют убиквитинирование следующим образом: молекула убиквитина переносится от Е2 на Е3 (в виде тиоэфирного конъюгата), а затем уже происходит убиквитинирование белкового субстрата [30].

Убиквитинлигазы, содержащие RING-finger домен (от английского really interesting new gene), существуют обычно в виде мультисубъединичного комплекса и осуществляют убиквитинирование при одновременном связывании белка-мишени и Е2. Молекула убиквитина при этом переносится непосредственно от Е2 на молекулу белка-мишени [31]. Эти ферменты, таким образом, не столько сами

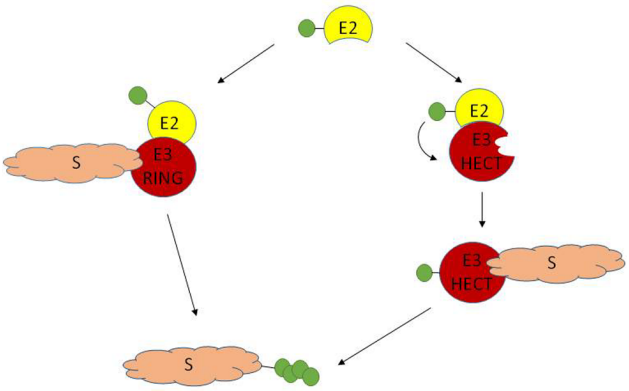

Рисунок 3. Различие между убиквитинлигазами RING- и HECT-типа. S - белковый субстрат, Е2 - убиквитин-конъюгирующий фермент, Е3 - убиквитинлигаза. Зелёными кружками обозначены молекулы убиквитина. Пояснения в тексте. По [28], с модификациями.

функционируют в роли убиквитинлигазы, сколько активируют Е2 и делают его способным модифицировать специфические субстраты [32]. Геномное секвенирование показало, что в количественном отношении RING-finger убиквитинлигазы значительно превосходят убиквитинлигазы HECT-типа. Эти данные подтвердились и после того, как было найдено, что ферменты, содержащие близкие по структуре к RING-домену **U-box** домен (UF2-homology domain) и **PHD** (plant homeodomain), также обладают убиквитинлигазной активностью [33, 34].

Убиквитинлигазы типа RBR (от английского ring between ring) содержат канонический RING домен, внутренний IBR (in-between RING) домен и домен RING2. Этот модуль характерен

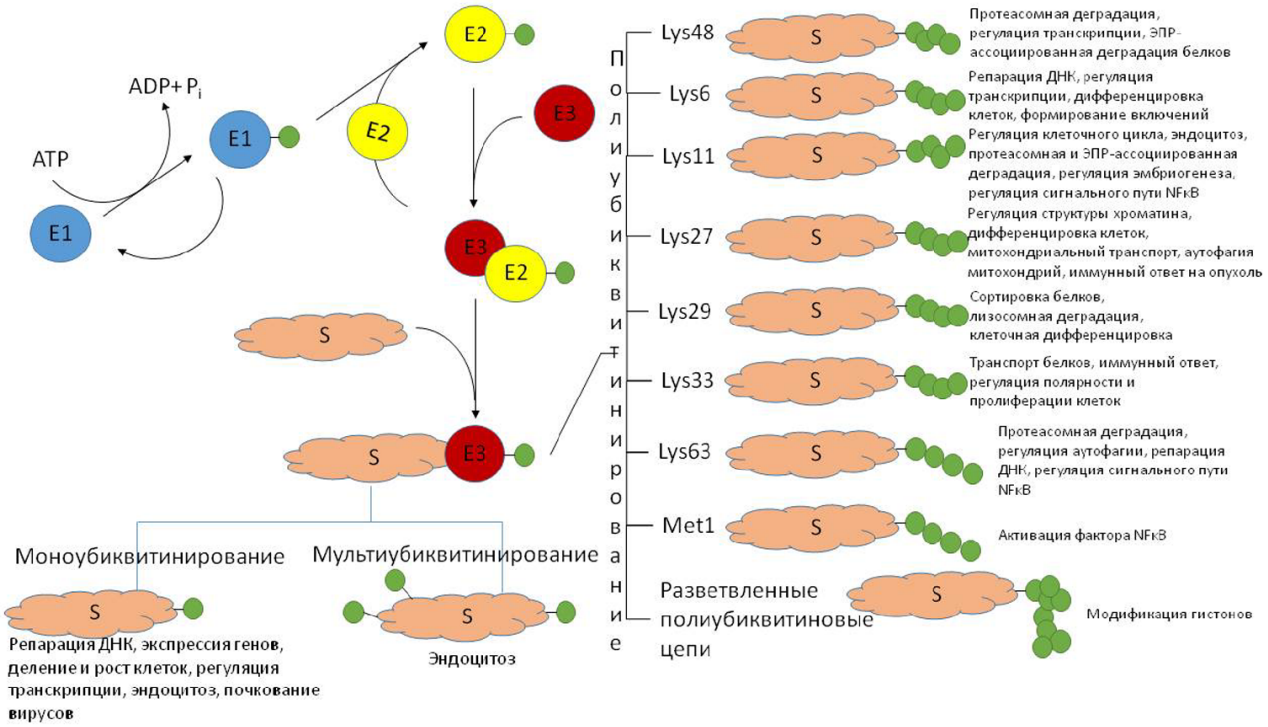

Рисунок 2. Схема убиквитинирования и роль различных типов убиквитинирования в клеточной регуляции. S - белковый субстрат, Е1 - убиквитин-активирующий фермент, Е2 - убиквитин-конъюгирующий фермент, Е3 - убиквитинлигаза. Зелёными кружками обозначены молекулы убиквитина.

для 18-ти известных E3 человека [35]. К наиболее хорошо изученным убиквитинлигазам этого типа относится, в частности, паркин – белок, играющий важную роль в этиологии болезни Паркинсона и обеспечении функционирования митохондрий [36, 37].

Интересно, что некоторые убиквитинлигазы могут функционировать в качестве E3, самостоятельно принимая активированный убиквитин от убиквитин-конъюгирующего фермента (E2) и формируя у белка-мишени полиубиквитиновые цепи, в то время как другие наращивают полиубиквитиновые цепи у белков, уже предварительно убиквитинированных другой убиквитинлигазой. Такие убиквитинлигазы фигурируют в литературе под названием **E4** [38-40].

Однако убиквитинлигазы E4 необходимы для убиквитинирования лишь небольшой части белковых субстратов [13].

По мнению ряда авторов, в будущем, вероятно, будут открыты новые подсемейства или подклассы убиквитинлигаз [2]. Тем не менее, многие уже известные убиквитин-конъюгирующие ферменты E2 и убиквитинлигазы E3 (особенно HECT и RBR подсемейств) способны осуществлять убиквитинирование неканонического типа.

Таким образом, **тип убиквитинирования зависит от сочетания различных E2 и E3**. По данным Kim и соавторов, определённые E3, содержащие HECT-домен, в сочетании с определёнными E2, формируют на белке-мишени линейные цепи убиквитина с участием Lys48 либо Lys63 убиквитина. В то же время E3, содержащие RING-домен, и U-box-E3 в сочетании с теми же ферментами E2 образуют при убиквитинировании разветвлённые цепи с участием всех возможных изопептидных связей и всех лизиновых остатков убиквитина. Такие разветвлённые цепи не расщепляются с участием протеасом. Однако те же самые E3, действуя вместе с другими E2, также образуют гомогенные убиквитиновые цепочки с участием Lys48 либо Lys63 (в зависимости от типа E2) [41].

Как уже было отмечено, убиквитинирование – обратимый процесс. Отщепление убиквитиновых цепей от их белковых субстратов осуществляют деубиквитинирующие ферменты (рис. 4). **Деубиквитиназы** (USP7, USP22, CYLD, UCHL1, A20, BAP1, атаксин 3 и другие), в свою очередь, являются участниками множества регуляторных механизмов в сети белок-белковых взаимодействий [42-48].

Помимо убиквитина, существуют и другие **убиквитиноподобные белки,** из которых наиболее известны белки **SUMO** (small ubiquitin-like modifiers). Они содержат структурные мотивы в третичной структуре, подобные таковым убиквитина, но характеризуются своими собственными конъюгирующими системами и узнаются особыми доменами белков-мишеней. Убиквитиноподобные белки так же, как и убиквитин, участвуют в регуляции многих процессов в клетке: протеасомной деградации, транскрипции, передачи сигнала, аутофагии с участием лизосом, а также в контроле клеточного цикла [13, 49]. Белки-мишени

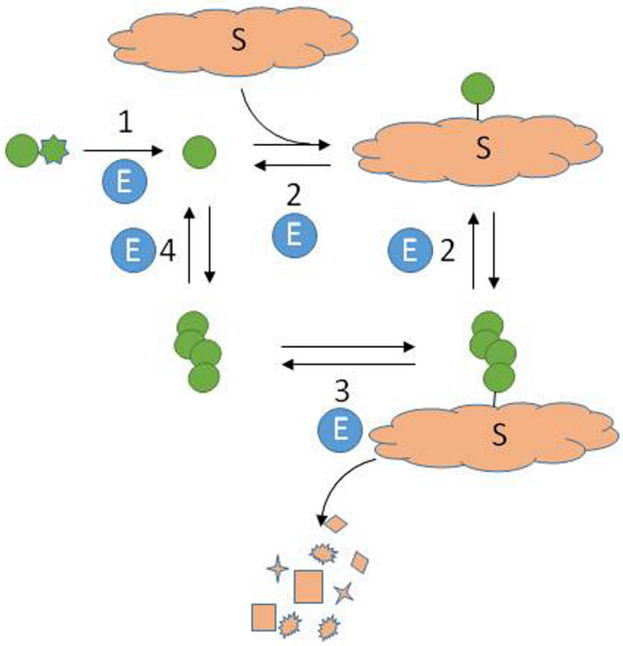

Рисунок 4. Роль деубиквитиназ в метаболизме убиквитина: 1 - процессинг предшественника убиквитина; 2 - отщепление убиквитиновых конъюгатов от белков или низкомолекулярных нуклеофилов (например, глутатиона); 3 - отщепление убиквитиновых мономеров или олигомеров от белков, помеченных для деградации, для повторного их использования; 4 - "разборка" свободных убиквитиновых олигомеров. S - белковый субстрат, E - деубиквитиназа. Зелёными кружками обозначены молекулы убиквитина. Адаптировано из [43].

могут подвергаться модификации с помощью полипептидных цепей, образованных при участии остатков убиквитина и убиквитиноподобных белков (например, SUMO). Такие цепочки получили название **гетерологических** [21].

Ниже мы рассмотрим примеры **атипичного убиквитинирования,** к которому относят любое присоединение к белку-мишени одной или нескольких молекул убиквитина за исключением классического Lys48-полиубиквитинирования предназначенных для протеасомной деградации белков.

3. МОНОУБИКВИТИНИРОВАНИЕ

Моноубиквитинирование (присоединение к белковому субстрату одной молекулы убиквитина) – посттрансляционная модификация, контролирующая многие внутриклеточные процессы от мембранного транспорта до регуляции транскрипции и репарации ДНК в ответ на действие повреждающих факторов. **Моноубиквитинирование гистонов H2A и H2B**, белков сердцевины нуклеосомы, было показано достаточно давно [50, 51]. В клетках млекопитающих примерно 1% H2B и около 10% H2A убиквитинированы по лизиновым остаткам С-конца этих белков. В дрожжах, напротив, преимущественно убиквитинирован гистон H2B. Опыты с дрожжами, несущими мутацию, лишающую H2B сайта убиквитинирования, а также с мутантными по убиквитин-конъюгирующему ферменту RAD6

дрожжами позволили выявить функциональную значимость моноубиквитинирования гистонов у дрожжей [52]. Оказалось, что убиквитинирование **важно для мейоза и нормального роста клеток** [53, 54]. Это подтвердилось и в экспериментах с нокаутной мутацией гомолога RAD6 – убиквитин-конъюгирующего фермента HR6B у мышей: у них оказался нарушен сперматогенез, что привело к стерильности [55].

Важную функцию выполняет убиквитинирование гистона H1, связанного с линкерной ДНК (соединяющей нуклеосомы между собой). Опыты с мутациями TAF250 (одной из субъединиц основного транскрипционного фактора эукариот TFIID) у дрозофил показали, что моноубиквитинирование может контролировать **экспрессию генов**. Мутации TAF250, ингибирующие ее убиквитинирующую активность, нарушали активацию транскрипции у эмбрионов дрозофил. TAF250 – белок, интересный еще и тем, что в его одной полипептидной цепи содержатся домены, гомологичные E2 и E3. Такой необычный способ убиквитинирования, вероятно, обеспечивает присоединение к гистону одной молекулы убиквитина, а не полиубиквитиновой цепочки [52].

В настоящее время очевидно, что убиквитинирование гистонов по различным остаткам лизина в их хвостовой части – одна из существенных посттрансляционных модификаций этих белков. Уникальная роль при этом принадлежит моноубиквитинированию гистона H2B в позиции Lys120 (H2Bub1), играющему ключевую роль в поддержании мультипотентности стволовых клеток [56], регуляции репликации ДНК [57], регуляции транскрипции, сохранении структуры хроматина и стабильности генома [58]. Моноубиквитинирование гистона H2B приводит к изменению структуры хроматиновых волокон, делая хроматин доступным для факторов транскрипции и репарации ДНК и активируя многие из этих белков [59-65]. H2Bub1 также способствует метилированию других гистонов и может таким образом осуществлять регуляцию транскрипции.

Ряд данных свидетельствует в пользу того, что H2Bub1 может подавлять развитие раковых опухолей [66]. С помощью иммуногистохимических методов было показано, что уровень H2Bub1 существенно снижен на поздних стадиях рака молочной железы [67], прямой кишки [68], лёгких [68] и паращитовидной железы [69]. В настоящее время подробно изучают специфичные для H2Bub1 убиквитинлигазы (в частности, E3 RING finger-убиквитинлигазы RNF20–RNF40) и деубиквитинирующие ферменты – убиквитин-специфичные протеазы (ubiquitin-specific proteases) USP7, USP22 и USP44. Возможно, ингибиторы этих деубиквитиназ, позволяющих регулировать уровень H2Bub1 *in vivo*, помогут открыть новые возможности для терапии рака [70].

Моноубиквитинирование белков играет важную роль в регуляции так называемого **сигнального пути анемии Фанкони**, отвечающего за репарацию ДНК и поддержание стабильности хроматина. Анемия Фанкони – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, биаллельная мутация в любом из 15-ти известных генов (FANKA, FANKB, FANCC и других), ведущая к гиперчувствительности клеток к цитотоксическому и кластогенному действию агентов, вызывающих межнитевые поперечные сшивки ДНК [71]. Этот сигнальный путь активируется при повреждении ДНК и в S-фазе клеточного цикла (период интерфазы, в котором происходит репликация ДНК). В ядре происходит сборка мультисубъединичного полиферментного FA (Fanconi anemia) комплекса, основными компонентами которого являются убиквитин-конъюгирующий фермент UBE2T и содержащая RING-домен убиквитинлигаза FANCL. FA комплекс моноубиквитинирует белки FANCD2 и FANCI и таким образом направляет их к определённым участкам хроматина, где они взаимодействуют с ключевыми белками репарации ДНК (BRCA1, FANCD1/BRCA2, RAD51). Показано, что моноубиквитинирование FANCD2 необходимо для мобилизации эндонуклеаз FAN1 b SLX4/FANCI к сайтам повреждения ДНК. После репарации FANCD2 и FANCI деубиквитинируются комплексом USP1/UAF1 и удаляются из хроматина [16, 71, 72].

С помощью **моноубиквитинирования** и последующего эндоцитоза также осуществляется регуляция активности белков плазматической мембраны. У большинства белков плазматической мембраны моноубиквитинирование обращённого к цитоплазме домена служит меткой для их интернализации – попадания в первичные эндоцитозные везикулы и направления в эндосомы для последующей сортировки, приводящей к деградации в лизосомах, либо возвращению вновь к поверхности клетки [28, 73, 74]. Информацию о попадании белка внутрь клетки несет сама молекула убиквитина, так как убиквитин может стимулировать интернализацию даже в случае, когда он слит в единой рамке трансляции с белками, лишёнными сайтов убиквитинирования [75, 76].

Первоначально индукция эндоцитоза белков при их моноубиквитинировании была показано для дрожжей [77, 78]. Оказалось, что в клетках млекопитающих моноубиквитинирование не только является триггером эндоцитоза, но также и осуществляет контроль этого процесса. Часто в ответ на внешний стимул убиквитинированию подвергаются не только (или не столько) сами рецепторы, но белки-адаптеры (способствующие при клатрин-зависимом эндоцитозе связыванию клатрина с мембраной и с лигандами). Например, при стимуляции клеток эпидермальным фактором роста (лигандом, усиливающим эндоцитоз) моноубиквитинируется белок EPS15 (epidermal growth factor receptor pathway substrate clone 15) [52].

Моноубиквитинированию подвергаются многие ионные каналы, а также мембранные рецепторы, сопряжённые с G-белками, тирозинкиназные рецепторы, и таким образом осуществляется их интернализация, транспорт и регуляция их активности [79]. Показано,

что чрезмерная активация соответствующих (например, тирозинкиназных) сигнальных путей вызывает канцерогенез. В этом случае направленное изменение активности соответствующих специфичных убиквитинлигаз может регулировать эндоцитоз этих рецепторов и их последующую деградацию в лизосомах, предотвращая развитие заболевания [80].

Многие из этих мембранных белков подвергаются **множественному моноубиквитинированию, или мультиубиквитинированию** (присоединению единичных молекул убиквитина к различным лизиновым остаткам белка-мишени). Мультиубиквитинирование в ответ на активацию соответствующим лигандом было показано для рецепторов эпидермального фактора роста, рецепторов фактора роста тромбоцитов, тирозинкиназных рецепторов. Такая модификация ведёт к эндоцитозу рецепторов и их расщеплению в лизосомах [73]. Множественное моноубиквитинирование также является триггером агрегации синуклеина – основного компонента телец Леви. Подобные включения в нейронах являются типичным признаком болезни Паркинсона – заболевания, характеризующегося дегенерацией дофаминергических нейронов чёрной субстанции головного мозга. Сочетание масс-спектрометрических, генетических, электронно-микроскопических и иммунологических методов позволило доказать, что убиквитинлигаза SIAH (от английского **s**even **i**n **a**bsentia **h**omolog) специфически моноубиквитинирует синуклеин по нескольким определённым остаткам лизина *in vivo* и *in vitro*, что способствует образованию массивных агрегатов этого белка и гибели клеток [17].

Моноубиквитинирование белков играет определяющую роль и в **почковании оболочечных** (имеющих липидную мембрану) **вирусов**. Этот процесс можно представить себе как обратный эндоцитозу. В нем важную роль играет общий для всех ретровирусов полипротеин Gag, единая полипептидная цепь которого расщепляется на несколько белков нуклеокапсидной оболочки. Полипротеин Gag содержит особый L (late) домен, необходимый для отщепления от мембраны вирусных частиц. Обычно этот домен содержит богатую пролином последовательность, роль которой заключается в присоединении к ассоциированному с клеточной мембраной Gag специфической убиквитинлигазы Nedd4. Моноубиквитинирование Gag является сигналом к отпочковыванию вирусных частиц от мембраны клетки-хозяина, за которым сразу же происходит деубиквитинирование Gag. По такому принципу осуществляется почкование ВИЧ, вируса везикулярного стоматита, вируса Эбола и многих других оболочечных вирусов, имеющих клиническое значение [18, 81-85].

4. НЕКАНОНИЧЕСКОЕ ПОЛИУБИКВИТИНИРОВАНИЕ

Атипичным полиубиквитинированием считается мечение белков убиквитиновыми цепями (обычно состоящими из четырёх молекул) с использованием лизиновых остатков убиквитина в положении, отличном от Lys48. Тем не менее, **Lys48-полиубиквитинирование, не связанное с мечением белков для протеасомной деградации,** по-видимому, тоже следует причислить к неканоническому. Примером такой непротеолитической функции служит **регуляция активности фактора транскрипции Met4** у дрожжей. Активность этого фактора (как и у многих других регуляторов биосинтеза) определяется уровнем конечного продукта (в данном случае метионина). При увеличении уровня метионина в среде фактор Met4 полиубиквитинируется по остаткам Lys48 и инактивируется, но не направляется в протеасому. Вероятно, это происходит благодаря наличию у транскрипционного фактора Met4 убиквитин-связывающего домена, который взаимодействует с его же собственным убиквитиновым “хвостом”, таким образом укорачивая его ниже критической длины, необходимой для узнавания протеасомой [86-88].

Другой случай “непротеасомного” Lys48-полиубиквитинирования – активация шаперона p97 из семейства AAA-ATPаз (от английского ATPase associated with various cellular activities). Он может взаимодействовать с определёнными кофакторами и влиять на разные субстраты, полиубиквитинированные с участием Lys48 убиквитина [89, 90]. При узнавании этих полиубиквитиновых цепей шапероном p97 активируется АТРаза, и убиквитинированный субстрат “вытаскивается” из соответствующего клеточного компартмента или белкового комплекса. Такая “сегрегационная” функция шаперона p97 играет ключевую роль в процессах **деградации неправильно свёрнутых белков эндоплазматического ретикулума (ЭПР) (ERAD**; ER-associated degradation) и активации мембранного фактора транскрипции Spt23 у дрожжей [91-97]. В первом случае субстраты после освобождения из ЭПР остаются полиубиквитинированными и затем подвергаются протеолизу в протеасомах. В случае “экстрагированного” из мембраны фактора Spt23, напротив, происходит потеря большинства его убиквитиновых конъюгатов, что предохраняет от протеолиза и обеспечивает его дальнейшее существование в клетке. Шаперон p97 и его кофактор Ufd1-Np14 выполняют “сегрегационную” функцию и в процессе митоза. Комплекс p97-Ufd1-Np14 узнаёт полиубиквитинированную киназу Aurora B и экстрагирует её из хроматина в процессе митоза, что способствует деконденсации хроматина и перестройке ядерной оболочки [98].

4.1. Lys63-полиубиквитинирование

В случае полиубиквитинирования белков цепями убиквитина, соединенными через остатки, отличные от Lys48, лучше всего изучено **Lys63-полиубиквитинирование**. Эта модификация белков, как и Lys48-полиубиквитинирование, также играет роль в их деградации. Однако известно всего лишь несколько сообщений

о протеасомной деградации меченных таким образом белковых субстратов [41, 99]. Основная часть убиквитинированных Lys63-цепями белков утилизируется независимым от протеасомы способом – путём **аутофагии** (образования вокруг поврежденных органелл или части цитоплазмы с высокой концентрацией агрегатов дефектных белков бислойных мембранных пузырьков (аутофагосом), которые затем сливаются с лизосомами, где "переваривается" их содержимое). Ключевая роль в этом процессе принадлежит адаптерному белку p62 (секвестросоме 1), содержащему одновременно и убиквитиноподобный фолд, и убиквитин-связывающий домен. Убиквитиноподобный фолд может взаимодействовать не только с протеасомой, но и с другими белками-партнерами, включая различные сигнальные молекулы, что приводит к олигомеризации p62 [100]. Убиквитин-связывающий домен *in vivo* предпочтительно узнает Lys63-цепи убиквитина [101]. Вероятно, неправильно свернутые белки, меченные такими полиубиквитиновыми цепочками, распознаются p62, и олигомеризация последнего ведет к образованию крупных белковых частиц. Затем благодаря взаимодействию p62 с убиквитиноподобным белком LC3 – регулятором аутофагии – запускается механизм аутофагии, благодаря чему и разрушаются эти агрегаты [102]. Подобным образом удаляются белковые включения, характерные для многих нейродегенеративных заболеваний.

Показано, что убиквитинилигаза **паркин** способна (без последующего направления в протеасомы) убиквитинировать в положении Lys63 **синфилин 1** – белок, наряду с синуклеином входящий в состав телец Леви (типичных для болезни Паркинсона). При этом в клетках образуются агрегаты, подобные тельцам Леви [103]. Аналогично убиквитинируется еще один важный для развития паркинсонизма белок **DJ1** [104]. В случае мышиной модели болезни Хантингтона в клетках накапливаются убиквитиновые цепочки, образованные с участием Lys63 [105].

Известно, что при болезни Альцгеймера избыточно фосфорилированный тау белок образует крупные агрегаты. На клетках нейробластомы человека было показано, что в случае коэкспрессии с мутантными тау и SOD1 (супероксиддисмутазой 1) мутантный в положении 63 убиквитин (с заменой Lys на Arg) способствует образованию тау- и SOD1-позитивных включений [106]. Паркин – убиквитинлигаза, способная осуществлять убиквитинирование белков с участием остатков Lys48 (в случае совместной работы с E2-UbcH7 или UbcH8). В этом случае модифицированные белки направляются в протеасому [107-109]. Но паркин может работать и в паре с другой E2, специфической для Lys63-убиквитинирования (Ubc13/Uev1a) [110, 111].

Ингибирование протеасомы способствует убиквитинированию белков цепями убиквитина с участием Lys63 в экспрессирующих паркин клетках [104]. При этом вовлечение UBC13, специфической для Lys63-полиубиквитинирования, избирательно увеличивалось в условиях протеолитического стресса. Кроме того, UBC13-дефицитные клетки оказались существенно более чувствительны к ингибиторам протеасом по сравнению с клетками дикого типа [104]. Это доказывает роль паркин-опосредованного Lys63-полиубиквитинирования в поддержании клеточного гомеостаза, особенно когда протеасомы перегружены или повреждены. В условиях протеолитического стресса в клетках, по-видимому, происходит переключение на этот тип убиквитинирования, вызывая последующее освобождение клетки от субстратов паркина путём аутофагии.

Все эти данные в совокупности с наблюдениями о том, что подавление аутофагии вызывает нейродегенеративные заболевания у мышей, позволяют заключить, что включения в случае нейродегенеративных заболеваний могут играть защитную роль, обосабливая токсичные компоненты и направляя их по пути аутофагии, таким образом предотвращая гибель нейронов [112-114].

Lys63-полиубиквитинирование играет важную роль в регуляции сигнального пути транскрипционного фактора NF-κB [115], который контролирует такие важные клеточные процессы, как иммунный ответ, воспаление, пролиферация клеток, подавление программы апоптоза, и осуществляется при участии различных типов убиквитинирования. Активация NF-κB, (как правило, димера, состоящего из белков p50 и p65) происходит при стимуляции рецепторов на поверхности клетки (например, рецептора 1 фактора некроза опухоли (TNFR1, Tumour Necrosis Factor Receptor 1), рецептора интерлейкина 1 первого типа (IL1R1, **i**nter**l**eukin **1** **r**eceptor type **1**), толл-подобного рецептора 4 (TLR4, Toll-like receptor 4 – от немецкого "Toll" – "потрясающий, классный"), рецептора CD40 (**C**luster of **d**ifferentiation 40) и многих других. В неактивном состоянии NF-κB существует в виде димера с ингибиторным белком IκB. Активация этого сигнального пути приводит к фосфорилированию IκB под действием ингибиторного киназного комплекса (IKK), индукции Lys48-убиквитинирования IκB и его последующей протеасомной деградации. Это позволяет фактору NF-κB "отправиться" в ядро и активировать транскрипцию соответствующих генов. Активация IKK комплекса, в свою очередь, зависит от Lys63-убиквитинирования различных адаптерных белков-субстратов (белка RIP1 (**r**eceptor-**i**nteracting **p**rotein **1**), киназы, ассоциированной с рецептором IL-1 (IRAK, **I**L-1**R**-**a**ssociated **k**inase), TNFR-ассоциированных факторов (TRAFs)). Это убиквитинирование осуществляется при участии Lys63-специфичных E2 в сочетании с набором соответствующих убиквитинлигаз E3 [116]. При этом **убиквитиновые цепи, соединённые посредством Met1 (так называемые линейные цепи)** и продуцируемые состоящим из трёх белков комплексом LUBAC (**L**inear **U**biquitin **C**hain **A**ssembly **C**omplex), определяют специфичность активации киназного комплекса [117-122]. Показано, что активированные рецепторные комплексы CD40 и TNFR осуществляют быструю мобилизацию LUBAC из цитоплазмы, причём взаимодействие происходит

благодаря Lys63- и Lys11-убиквитиновым цепям [120, 123]. Результатом такой мобилизации является осуществляемое LUBAC линейное убиквитинирование компонента ингибиторного киназного комплекса белка NEMO (**N**F-κB **e**ssential **mo**dulator), белка RIP1 и, возможно, других компонентов, необходимых для активации NFB-опосредованного сигнального пути [115]. Разные длина и структура убиквитиновых цепей, по-видимому, могут вызывать различные конформационные изменения компонентов ингибиторного киназного комплекса, влияя на его активность [118]. Мутации, препятствующие присоединению убиквитиновых цепей к NEMO, нарушают активацию ингибиторного киназного комплекса и вызывают тяжелое наследственное заболевание – ангидротическую эктодермальную дисплазию с иммунодефицитом [124].

Lys63-полиубиквитинированные белки участвуют в процессах устранения повреждений ДНК с участием белка PCNA (**P**roliferating **C**ell **N**uclear **A**ntigen). Убиквитинирование происходит в несколько этапов. Сначала убиквитин-конъюгирующий фермент RAD6 и убиквитинлигаза RAD18 направляются с помощью белка RPA (**R**eplication **P**rotein **A**), который связывается с однонитевой ДНК, к месту разрыва в двухнитевой структуре ДНК (“остановленной вилке”). Затем RAD6 и RAD18 осуществляют моноубиквитинирование PCNA. Моноубиквитинированный PCNA обеспечивает замену полимераз с высокой точностью копирования на TLS (translesion synthesis polymerases) полимеразы, способные осуществлять синтез дочерней цепи ДНК на повреждённой матрице, подставляя случайные основания. Затем с помощью E2 Ubc13/Mms2 и E3 RAD5 происходит надстройка сайтов убиквитинирования PCNA (через Lys63). Такое полиубиквитинирование обеспечивает переключение механизма репликации, и теперь уже происходит безошибочный синтез ДНК на неповреждённой нити [125].

Lys63-полиубиквитинирование также участвует в устранении двухцепочечных разрывов ДНК. Такие разрывы узнаются MRN-комплексом (состоящим из белков **M**re11, **R**ad50 и **N**bs1). Этот белковый комплекс активирует ATM (**A**taxia **T**elangiectasia **M**utated), протеинкиназу, которая фосфорилирует адаптерный белок MDC1. Фосфорилированная форма MDC1 узнается FHA (**f**ork**h**ead-**a**ssociated domain) доменом убиквитинлигазы RNF8, которая совместно с Ubc13 осуществляет Lys63-полиубиквитинирование белков-мишеней, включая гистоны H2AX и H2A. Эти полиубиквитиновые цепи затем узнаются UIM (**U**biquitin-**I**nteracting **M**otif) доменом белка RAP80 (**R**eceptor-**A**ssociated **P**rotein 80), который мобилизует эффекторный комплекс, включающий убиквитинлигазу BRCA1 (breast cancer 1), белки Abraxas, Brcc36 и BARD1. При этом Brcc36 содержит DUB домен, а BARD1 стабилизирует белок BRCA1. Функция RNF8 и Ubc13, по-видимому, заключается в построении полиубиквитиновых цепей в участке повреждения ДНК для вовлечения убиквитин-редактируемого комплекса BRCA1 [126].

4.2. Lys11-полиубиквитинирование

Lys11-полиубиквитиновые цепи также широко распространены в природе и участвуют в не меньшем количестве клеточных процессов. Специфический фермент UBE2S (E2, который формирует такие цепи) был открыт почти 20 лет назад [127], и только недавно с помощью масс-спектрометрии, использования специфических для этого типа цепей антител и мутантных убиквитиновых молекул было показано существование Lys11-цепей *in vivo* и прояснена их физиологическая роль. У высших эукариот гомотипические Lys11-полиубиквитиновые цепи играют ключевую роль в регуляции клеточного цикла [128]. Именно этим объясняется тот факт, что доля таких цепей резко повышается в синхронизированных культурах клеток на стадии митоза [129], когда активируется специфическая для них убиквитинлигаза – мультисубъединичный комплекс APC/C (**A**naphase-**P**romoting **C**omplex/ **C**yclosome) [130-134]. В паре с этим E3 работают специфические E2 (UBE2C и UBE2D) [131, 135], осуществляя моноубиквитинирование субстратов или образуя короткие убиквитиновые цепи. Показано, что UBE2C узнает особый нелинейный консенсусный мотив у субстратов APC/C (так называемый **TEK box**) [131]. Короткие цепи убиквитина затем наращиваются UBE2S до длинных Lys11-цепей (содержащих до 13-ти убиквитиновых остатков), а затем субстраты быстро деградируются в протеасомах. Мутации, приводящие к истощению UBE2C и UBE2S, способствуют стабилизации и накоплению субстратов APC/C, существенным дефектам веретена деления и задержке митоза [130].

Lys11-полиубиквитиновые цепи участвуют также в регуляции сигнальных путей NF-κB [123] и Wnt/β-катенина Wnt (от англ. названия генов “wingless” и “int-1”) [136].

Гетеротипические разветвлённые цепи, построенные с участием Lys11 и Lys63, играют важную роль в процессе эндоцитоза [137].

Деградация неправильно свёрнутых белков эндоплазматического ретикулума (ERAD), о которой мы упоминали в контексте моноубиквитинирования, также осуществляется с участием Lys11-убиквитиновых цепей [138, 139].

Формирование полиубиквитиновых цепей, связанных посредством Lys6 и Lys11, было показано *in vivo*. Накопление модифицированных таким образом белков в клетках характерно для патогенеза нейродегенеративных заболеваний. Благодаря использованию высокоспецифичных антител для тау белка, выделенного из мозга больных болезнью Альцгеймера, и методов количественной масс-спектрометрии удалось определить сайты убиквитинирования, а также тип полиубиквитиновых цепей этого белка [140]. Наряду с каноническим типом убиквитинирования тау с участием Lys48 (мечение для деградации в протеасомах) у больных обнаружено полиубиквитинирование этого белка с участием Lys6 и Lys11. Поскольку ранее было показано ингибирующее влияние на убиквитин-

зависимый протеолиз модификации убиквитина (биотинилирования) по остатку Lys6- [140], атипичное убиквитинирование тау белка, по-видимому, ингибирует протеасому и способствует накоплению патологических форм тау [141]. Накопление белков, убиквитинированных с участием **Lys63 и Lys11**, было показано и в случае болезни Хантингтона (на модели трансгенных мышей линии R6/2) [105].

Не так давно было обнаружено, что белок NleL (**n**on-**L**ee-encoded **e**ffector **l**igase) E3 из клеток *Escherichia coli* способен формировать как гомотипические, так и гетеротипические разветвлённые (совместно с Lys48-) Lys6-убиквитиновые цепи [142].

4.3. Lys6-убиквитинирование

У дрожжей из всех видов убиквитиновых цепочек наиболее редко встречаются построенные с участием Lys6 [22]. Тем не менее, показано, что в присутствии убиквитина K6R, мутантного по шестому остатку лизина (который заменён на аргинин), тормозится активность убиквитин-конъюгирующего фермента RAD6, катализирующего убиквитинирование гистона H2B. Это свидетельствует важной роли Lys6-цепей убиквитина **в модификации гистонов**.

Что касается роли Lys6-цепей у высших эукариот, с помощью масс-спектрометрического и мутационного анализа было установлено, что продукт гена-супрессора рака молочной железы 1 – белок **BRCA1** (Breast Cancer1), образуя гетеродимер с белком BARD1 (**B**RCA1 **A**ssociated **R**ING **D**omain 1), функционирует как убиквитинлигаза и образует Lys6-разветвлённые полиубиквитиновые цепи, не являющиеся сигналом для протеолиза убиквитинированных субстратов в протеасомах [143]. Другие авторы в экспериментах с человеческими клетками показали, что функция этого типа убиквитинирования связана **с ликвидацией последствий репликативного стресса и повреждений ДНК** [144].

Мы уже упоминали о том, что моноубиквитинирование гистонов играет существенную роль в регуляции структуры хроматина и дифференцировке клеток. Моноубиквитинирование осуществляют ингибиторные комплексы группы Polycomb **PRC1** (**p**olycomb **r**epressive **c**omplex1) и **PRC2**, обладающие гистон-модифицирующей активностью. Ring1B (субъединица комплекса PRC1) катализирует не только моноубиквитинирование гистона H2A, но и самоубиквитинирование. При этом образуются разветвленные гетеротипические полиубиквитиновые цепи, построенные при участии Lys6, Lys27 и Lys48, что повышает способность Ring1B к моноубиквитинированию гистона [145].

4.4. Lys27-полиубиквитинирование

Lys27-полиубиквитинированию подвергается также фактор транскрипции Jun (от английского “Junior”). В таком виде он узнаётся специальными белковыми факторами **HRS** и **TSG101** (**T**umor **s**usceptibility **g**ene **101**) и направляется в лизосомы [146].

Убиквитинлигаза TRAF6 (**t**umor **n**ecrosis **f**actor-**r**eceptor **a**ssociated **f**actor **6**), играющая существенную роль в развитии болезни Паркинсона (как спорадической, так и генетически обусловленной), **осуществляет атипичное убиквитинирование мутантных белков альфа-синуклеина и DJ-1** – основных компонентов телец Леви. *In vivo* эти белки-субстраты TRAF6 подвергались убиквитинированию с образованием неканонических цепей с участием Lys6 и Lys29, что повышало их способность формировать нерастворимые агрегаты [147]. В мозге больных болезнью Паркинсона TRAF6 локализуется в тельцах Леви вместе с альфа-синуклеином [147]. Атипичное Lys27-убиквитинирование митохондриальных белков **Miro** (GTPаза семейства Ras) [14] и **VDAC** [148], которое осуществляет активированная E3 убиквитинлигаза паркин, также может вносить вклад в патогенез болезни Паркинсона

Lys27-полиубиквитинирование играет важную роль в механизмах иммунитета и онкогенеза. Этот тип модификации характерен для транскрипционного фактора **TIEG1** (от названия гена, кодирующего этот белок – **T**GFβ **i**nducible **e**arly **g**ene). Трансформирующий фактор роста бета (**TGFβ**, **T**ransforming **g**rowth **f**actor **b**eta) – представитель цитокинов, индуцирующий дифференциацию регуляторных Т-лимфоцитов (Tregs), играющих ключевую роль в регуляции иммунного ответа. При определённых условиях интерлейкин IL6 активирует тирозинкиназу Ty2, которая фосфорилирует фактор TIEG1, что является сигналом к его Lys27-полиубиквитинированию убиквитинлигазой ITCH. Авторы показали, что моноубиквитинирование и полиубиквитинирование фактора TIEG1 с участием остатков Lys27 регулирует его перемещения в ядро и цитоплазму и таким образом влияет на дифференцировку Treg клеток, а, следовательно, и на рост опухолей [149].

Подвергается атипичному убиквитинированию и другой ключевой фактор транскрипции – рецептор андрогенов, определяющий сигнальный путь андрогенов в клетках простаты, необходимый для выживания и пролиферации этих клеток. Специфическая убиквитинлигаза RNF6 осуществляет модификацию андрогенного рецептора разветвлёнными полиубиквитиновыми цепями, связанными посредством Lys6 и Lys27 [150]. Это определяет связывание соответствующих кофакторов, транслокацию рецептора андрогенов в ядро, его связывание с хроматином и влияние на транскрипционную активность. Авторы отмечают, что уровень RNF6 влияет на рост опухолей простаты и указывают на возможную роль этого фермента в терапии рака простаты [150].

4.5. Lys29-полиубиквитинирование

Lys29-полиубиквитинирование было показано впервые в 1999 году, когда обнаружили, что лизат ретикулоцитов кролика содержит набор ферментов, способный к мечению белков гомотипическими Lys29-цепями и гетерополимерами, связанными с участием и Lys48-, и это никак не связано

с деградацией меченных таким образом белков в протеасомах [151].

Lys29-полиубиквитинирование наблюдали в связи с **механизмом сортировки белков с участием шаперонов** [152]. Существует структурная и функциональная связь между системой шаперонов и убиквитин-протеасомной системой, благодаря которой как новосинтезированные, так и повреждённые белки подвергаются сортировке и отбираются для рефолдинга либо направляются в протеасомы для деградации. Кофактор шаперона – белка теплового шока Hsc/Hsp70 **CHIP** (**c**arboxyl-terminus of **H**sc70-**i**nteracting **p**rotein) – является убиквитинлигазой, содержащей U-box, и совместно с убиквитинлигазой UBCH5 осуществляет убиквитинирование конститутивного белка теплового шока Hsc70 короткими (менее четырёх остатков убиквитина) цепями, соединёнными посредством Lys29- и Lys63-. Данное неканоническое убиквитинирование не является мечением для протеасомной деградации и влияет на шаперонную активность Hsc70 и его способность направлять субстраты в протеасомы [152].

Полиубиквитинирование с участием Lys29 имеет место и в случае сигнального пути Notch, активация которого играет немаловажную роль в ангиогенезе опухолей. Оказалось, что убиквитинлигазы Deltex и AIP4 (**a**tropine-1-**i**nteracting **p**rotein **4**), принадлежащие к семействам RING и HECT соответственно, колокализованы в районе эндоцитозных везикул и взаимодействуют друг с другом. При этом Deltex служит позитивным регулятором сигнального пути Notch. AIP4 убиквитинирует Lys29-цепями Deltex и таким образом метит эту убиквитинлигазу для деградации в лизосомах [153].

Доказана роль Lys29-полиубиквитинирования в регуляции сигнального пути Wnt/β-катенина, определяющего эмбриогенез, клеточную дифференцировку и влияющего на развитие злокачественных опухолей. Активность β-катенина, ключевого компонента этого сигнального пути, регулируется мультиферментным комплексом, включающим киназу GSK-3β (**g**lycogen **s**ynthase **k**inase-**3β**). GSK-3β фосфорилирует β-катенин, который затем подвергается Lys11-полиубиквитинированию и последующей протеасомной деградации. Однако регуляция активности β-катенина этим не исчерпывается. GSK-3β может взаимодействовать с E3 убиквитинлигазой **EDD** (**E**3 ligase identified by **d**ifferential **d**isplay), которая связывает β-катенин и модифицирует его полиубиквитиновыми цепями, построенными с участием Lys11- и Lys29-, что, напротив, приводит к его стабилизации [137].

В то же время, Lys29-полиубиквитинирование другого компонента этого сигнального пути, аксина, осуществляемое убиквитинлигазой HECT-типа **Smurf1** (**Sm**ad **u**buquitination **r**egulatory **f**actor **1**), нарушает его ассоциацию с рецепторами LRP5/6, что вызывает дестабилизацию β-катенина и таким образом ингибирует сигнальный путь Wnt [154].

4.5. Lys33-полиубиквитинирование

Полиубиквитинирование белков-мишеней с участием остатка убиквитина Lys33 изучено хуже всего. Тем не менее, в последнее время появились публикации, свидетельствующие о том, что такие модификации также играют роль в клеточной регуляции, отличную от мечения белков для деградации в протеасомах. Исследование субстратной специфичности убиквитинлигазы HECT типа **AREL1** (**a**poptosis-**r**esistant **E**3 Ub protein **l**igase **1**) показало, что этот фермент предпочтительно образует полиубиквитиновые цепи, соединённые посредством Lys33 и Lys11. Диубиквитиновые молекулы, образованные с помощью этих остатков лизина, обладают сходной компактной конформацией, в то время как триубиквитиновая Lys33-цепь отличается более развёрнутой конформацией, что, по-видимому, необходимо для распознавания этих цепей различными убиквитин-связывающими доменами. Существуют специфические деубиквитиназы, предпочитающие расщепление Lys33-полиубиквитиновых цепей [155].

Lys33-опосредованное полиубиквитинирование служит для непротеолитической регуляции передачи сигнала с участием антиген-распознающих рецепторов Т-лимфоцитов (TCR) **в механизме иммунитета**. E3 убиквитинлигаза RING-типа **Cbl-b** (**C**asitas **B**-**l**ineage **l**ymphoma **b**) и E3 убиквитинлигаза HECT-типа **Itch** совместно индуцируют подобное полиубиквитинирование зета субъединицы рецептора Т-клеток (**TCR zeta**, **T**-**c**ell **r**eceptor-**zeta**). Такая модификация способствует фосфорилированию TCR zeta протеинкиназой **Zap-70** (**z**eta chain-**a**ssociated **p**rotein kinase **70**), ведущему к инактивации рецептора [156].

Описана роль Lys33-полиубиквитинирования в транспорте белков. **Cul3-KLHL20**, мультисубъединичный содержащий куллин E3-убиквитинлигазный комплекс RING-типа, катализирует подобную модификацию регулятора F-актина, белка коронина 7 (coronin 7, Crn7), не связанную с деградацией последнего. Полиубиквитинированный коронин 7 взаимодействует с адаптерным белком **Eps15** (**Ep**idermal growth factor receptor **s**ubstrate **15**) и направляется в транс-сеть аппарата Гольджи (TGN), где способствует стабилизации F-актина и элонгации трубочек TGN [157].

В другой работе сообщается о Lys33- и Lys29-полиубиквитинировании AMP-активируемых протеинкиназ (AMPKs, AMP activated protein kinases): **NUAK1** (**NUA**K Family **K**inase **1**) и **MARK4** (**m**icrotubule-**a**ffinity-**r**egulating **k**inase **4**). Эти ферменты модифицируются с образованием атипических Lys29/Lys33-связанных полиубиквитиновых цепей, по-видимому, разветвлённых. Данная модификация не влияла на стабильность протеинкиназ. Напротив, деубиквитинирование с участием специфической деубиквитиназы USP9X влияло на их фосфорилирование и активацию с помощью супрессора опухолей киназы LKB1. Учитывая

функции AMP-активируемых протеинкиназ, можно предположить, что полученные результаты говорят о роли этого типа убиквитинирования в регуляции полярности и пролиферации клеток [158].

О роли линейных полиубиквитиновых цепочек, соединённых посредством Met1, в регуляции NFκB-сигнального пути мы уже упоминали в разделе, посвященном Lys63-убиквитинированию. Подробно об этом типе убиквитинирования рассказывается в обзорах [159, 160].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ различных вариантов атипичного убиквитинирования белков, проведенный в нашей работе, показывает, что они носят такое название лишь потому, что открытие их произошло позднее, чем открытие классического Lys48-опосредованного убиквитинирования с последующей деградацией убиквитинированных субстратов в протеасомах. Теперь мы можем с уверенностью констатировать, что существует большое разнообразие посттрансляционных модификаций белков с участием убиквитина, в которых принимают участие различные лизиновые остатки убиквитиновой молекулы. Убиквитинированные субстраты определяют течение самых разных клеточных процессов, таких как иммунный ответ, стабильность генома, передача сигнала и других. Нарушения механизмов убиквитинирования ведут к соответствующим заболеваниям (см. таблицу). Именно поэтому исследование деталей различных механизмов убиквитинирования чрезвычайно важно для диагностики и терапии многих заболеваний, в том числе вирусных, онкологических и нейродегенеративных.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы и гранта РФФИ 16-04-00173.

Авторы благодарны д.б.н. А.В. Веселовскому и Н.И. Бунееву за помощь в подготовке данной рукописи и плодотворную дискуссию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hershko A., Ciechanover A.* (1998) Annu. Rev. Biochem., **67**, 425-479.
2. *Kulathu Y., Komander D.* (2012) Nat. Rev., Mol. Cell. Biol., **13**, 508-523.
3. *Tomko Jr. R.J., Hochstrasser M.* (2013) Annu. Rev. Biochem., **82**, 1-34.
4. *Patton E.E., Willems A.R., Tyers M.* (1998) Trends Genet., **14**(6), 236-243.
5. *Hochstrasser M.* (1996) Cell, **84**(6), 813-815.
6. *Finley D., Sadis S., Monia B.P., Boucher P., Ecker D.J., Crooke S.T., Chau V.* (1994) Mol Cell Biol., **14**(8), 5501-5509.
7. *Tenno T., Fujiwara K., Tochio H., Iwai K., Morita E.H., Hayashi H., Murata S., Hiroaki H., Sato M., Tanaka K., Shirakawa M.* (2004) Genes Cells., **9**(10), 865-875.
8. *Vertegaal A.C.O.* (2011) Chem. Rev., **111**, 7923-7940.
9. *Sadowski M., Suryadinata R., Tan A.R., Roesley S.N.A., Sarcevic B.* (2012) Life, **64**(2), 136-142.
10. *Bremm A., Komander D.* (2011) Trends in Biochem. Sci., **36**(7), 355-363.

Таблица. Примеры атипичного убиквитинирования и его роль в патогенезе заболеваний человека

Тип убиквитинирования	**Белки-мишени (субстраты убиквитинирования)**	**Ферменты убиквитинирования и деубиквитиназы**	**Роль в патогенезе заболеваний человека**	**Источник**
Моноубиквитинирование	Гистон H2Bub1	RNF20–RNF40, USP7, USP22 и USP44	Рак молочной железы, прямой кишки, лёгких, паращитовидной железы	[66-69]
Моноубиквитинирование	FANCD2, FANCI	UBE2T, FANCL и другие компоненты мультиферментного комплекса FA USP1/UAF1	Анемия Фанкони	[16, 71, 72]
Мультиубиквитинирование	Синуклеин	Убиквитинлигаза SIAH	Болезнь Паркинсона	[17]
Моноубиквитинирование	Белок ретровирусов Gag	Nedd4	ВИЧ, вирус везикулярного стоматита, вирус Эбола	[18, 81-85]
Lys63-полиубиквитинирование	Синфилин 1, DJ1	Parkin	Болезнь Паркинсона	[103, 104]
Lys63-полиубиквитинирование	Tay, супероксиддисмутаза 1	Parkin в паре с Ubc13/Uev1a	Болезнь Альцгеймера	[110, 111]
Lys6- и Lys29-полиубиквитинирование	Альфа-синуклеин, DJ-1	TRAF6	Болезнь Паркинсона	[147]
Lys27-полиубиквитинирование	Белок Miro (RHOT1), потенциалзависимый анионный канал 1 VDAC1	Parkin	Болезнь Паркинсона	[14, 148]
Lys27-полиубиквитинирование	Транскрипционный фактор TIEG1	ITCH	Злокачественные опухоли	[149]
Lys6- и Lys27-полиубиквитинирование	Рецептор андрогенов	RNF6	Рак простаты	[150]

11. *Benskey M., Lee K.Y., Parikh K., Lookingland K.J., Goudreau J.L.* (2013) NeuroToxicology, **37**, 144-153.
12. *Aguilar R.C., Wendland B.* (2003) Current Opinion in Cell Biol., **15**, 184-190.
13. *Kravtsova-Ivantsiv, Ciechanover A.* (2012) J. Cell. Science, **125**, 539-548.
14. *Birsa N., Norkett R., Wauer T., Mevissen T.E.T., Wu H.-C., Foltynie T., Bhatia K., Hirst W.D., Komander D., Plun-Favreau H., Kittler J.T.* (2014) J. Biol. Chem., **289**(21), 14569-14582.
15. *Huang H., Wang H., Figueiredo-Pereira M.E.* (2013) Cell. Biochem. Biophys., **67**(1), 55-66.
16. *Rego M.A., Kolling F.W. 4th, Vuono E.A., Mauro M., Howlett N.G.* (2012) Blood., **120**(10), 2109-2117.
17. *Rott R., Szargel R., Haskin J., Shani V., Shainskaya A., Manov I., Liani E., Avraham E., Engelender S.* (2008) J. Biol. Chem., **283**(6), 3316-3328.
18. *Ott D.E., Coren L.V., Copeland T.D., Kane B.P., Johnson D.G, Sowder II R.C., Yoshinaka Y., Oroszlan S., Arthur L.O., Hendrson L.* (1998) J. Virol., **72**(4), 2962-2968.
19. *Ulrich H.D., Walden H.* (2010) Nature Reviews, Mol. Cell. Biol., **11**, 479-489.
20. *Raedler L.* (2015) Am. Health Drug Benefits, **8**, 135-140.
21. *Ikeda F., Dikis I.* (2008) Embo reports, **9**(6), 536-542.
22. *Peng J., Schwartz D., Elias J.E., Thoreen C.C., Cheng D., Marsischky G., Roelofs J., Finley D., Gygi S.P.* (2003) Nat. Biotechnol., **21**, 921-926.
23. *Kirkpatrick D.S., Denison C., Gygi S.P.* (2005) Nat. Cell. Biol., **7**, 750-757.
24. *Varadan R., Walker O., Pickart C., Fushman D.* (2002) J. Mol. Biol., **324**, 637-647.
25. *Varadan R., Assfalg M., Haririnia A., Raasi S., Pickart C., Fushman D.* (2004) J. Biol. Chem., **279**, 7055-7060.
26. *Datta A.B., Hura G.L., Wolberger C.* (2009) J. Mol. Biol., **392**, 1117-1124.
27. *Raasi S., Varadan R., Fushman D., Pickart C.M.* (2005) Nat. Struct. Mol. Biol., **12**, 708-714.
28. *Di Fiore P.P., Polo S., Hoffman K.* (2003) Nature Reviews, Mol. Cell. Biol., **4**, 491-497.
29. *Lill J.R., Wertz I.E.* (2014) Trends Pharmacol. Sci., **35**, 187-207.
30. *Huibregtse J.M., Scheffner M., Beaudenon S., Howley P.M.* (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **92**, 2563-2567.
31. *Joazeiro C.A.P., Weissman A.M.* (2000) Cell, **102**, 549-552.
32. *Hicke L., Dunn R.* (2003) Annu. Rev. Cell. Dev. Biol., **19**, 141-172.
33. *Hatakeyama S., Yada M., Matsumoto M., Ishida N., Nakayama K.I.* (2001) J. Biol. Chem., **276**, 33111-33120.
34. *Coscoy L., Sanchez D.J., Ganem D.* (2001) J. Cell. Biol., **155**, 1265-1274.
35. *Eisenhaber B., Chumak N., Eisenhaber F., Hauser M.T.* (2007) Genome Biol., **8**, 209.
36. *Бунеева О.А., Медведев А.Е.* (2006) Биохимия, **71**(8), 1050-1061.
37. *Бунеева О.А., Медведев А.Е.* (2011) Биомед. химия, **57**, 246-281.
38. *Grossman S.R., Deato M.E., Brignone C., Chan H.M., Kung A.L., Tagami H., Nakatani Y., David M., Livingston D.M.* (2003) Science, **300**(5617), 342-344.
39. *Koegl M., Hoppe T., Schlenker S., Ulrich H.D., Mayer T.U., Jentsch S.* (1999) Cell, **96**, 635-644.
40. *Kuhlbrodt K., Mouysset J., Hoppe T.* (2005) Essays in Biochemistry, **41**, 1-14.
41. *Kim H.T., Kim K.P., Lledias F., Kisselev A.F., Scaglione K.M., Skowyra D., Gygi S.P., Goldberg A.L.* (2007) J. Biol. Chem., **282**(24), 17375-17386.
42. *Chung C.H., Baek S.H.* (1999) BBRC Communs, **266**, 633-640.
43. *Amerik A.Y., Hochstrasser M.* (2004) Biochim. Biophys. Acta, **1695**, 189-207.
44. *Wang Y., Serricchio M., Jauregui M., Shanbhag R., Stoltz T., Di Paolo C.T., Kim P.K., McQuibban G.A.* (2015) Autophagy, **11**(4), 595-606.
45. *Sowa M.E., Bennett E.J., Gygi S.P., Harper J.W.* (2009) Cell, **138**, 389-403.
46. *Nijman S.M.B., Luna-Vargas M.P.A., Velds A., Brummelkamp T.R., Dirac A.M.G., Sixma T.K., Bernards R.* (2005) Cell, **123**, 773-786.
47. *Bhattacharya S., Ghosh M.K.* (2014) BioMed Res. Intern., 2014, ID 435197.
48. *Pal A., Young M.A., Donato N.J.* (2014) Cancer Res., **74**, 4955-4966.
49. *Kerscher O., Felberbaum R., Hochstrasser M.* (2006) Annu. Rev. Cell Dev. Biol., **22**, 159-180.
50. *Busch H., Goldknop, I.L.* (1981) Mol. Cell. Biochem., **40**, 173-187.
51. *Spencer V.A., Davie J.R.* (1999) Gene, **240**, 1-12.
52. *Hicke L.* (2001) Nat. Rev., Mol. Cell. Biol., **2**, 195-201.
53. *Robzyk K., Recht J., Osley M.A.* (2000) Science, **287**, 501-504.
54. *Jentsch S., McGrath J.P., Varshavsky A.* (1987) Nature, **329**, 131-134.
55. *Roest H.P., van Klaveren J., de Wit J., van Gurp C.G., Koken M.H., Vermey M., van Roijen J.H., Hoogerbrugge J.W., Vreeburg J.T., Baarends W.M., Bootsma D., Grootegoed J.A., Hoeijmakers J.H.* (1996) Cell, **86**(5), 799-810.
56. *Karpiuk O., Najafova Z., Kramer F., Hennion M., Galonska C., König A., Snaidero N., Vogel T., Shchebet A., Begus-Nahrmann Y., Kassem M., Simons M., Shcherbata H., Beissbarth T., Johnsen S.A.* (2012) Mol. Cell, **46**(5), 705-713.
57. *Trujillo K.M., Osley M.A.* (2012) Mol. Cell, **48**(5), 734-746.
58. *Sadeghi L., Siggens L., Svensson J.P., Ekwall K.* (2014) Nat. Struct. Mol. Biol., **21**(3), 236-243.
59. *Minsky N., Shema E., Field Y., Schuster M., Segal E., Oren M.* (2008) Nat. Cell. Biol., **10**(4), 483-488.
60. *Fierz B., Chatterjee C., McGinty R.K., Bar-Dagan M., Raleigh D.P., Muir T.W.* (2011) Nat. Chem. Biol., **7**(2), 113-119.
61. *Shema-Yaacoby E., Nikolov M., Haj-Yahya M., Siman P., Allemand E., Yamaguchi Y., Muchardt C., Urlaub H., Brik A., Oren M., Fischle W.* (2013) Cell. Rep., **4**(3), 601-608.
62. *Pirngruber J., Shchebet A., Schreiber L., Shema E., Minsky N., Chapman R.D., Eick D., Aylon Y., Oren M., Johnsen S.A.* (2009) EMBO Rep., **10**(8), 894-900.
63. *Johnsen S.A.* (2012) FEBS Lett., **586**(11), 1592-1601.
64. *Kari V., Shchebet A., Neumann H., Johnsen S.A.* (2011) Cell Cycle, **10**(20), 3495-3504.
65. *Moyal L., Lerenthal Y., Gana-Weisz M., Mass G., So S., Wang S.Y., Eppink B., Chung Y.M., Shalev G, Shema E. et al.* (2011) Mol. Cell., **41**(5), 529-542.
66. *Espinosa J.M.* (2008) Genes Dev., **22**(20), 2743-2749.
67. *Prenzel T., Begus-Nahrmann Y., Kramer F., Hennion M., Hsu C., Gorsler T., Hintermair C., Eick D., Kremmer E., Simons M., Beissbarth T., Johnsen S.A.* (2011) Cancer Res., **71**(17), 5739-5753.
68. *Urasaki Y., Heath L., Xu C.W.* (2012) PLoS One, **7**(5), e36775.
69. *Hahn M.A., Dickson K.A., Jackson S., Clarkson A., Gill A.J., Marsh D.J.* (2012) Hum. Mol. Genet., **21**(3), 559-568.
70. *Cole A.J., Clifton-Bligh R., Marsh D.J.* (2015) Endocr.-Relat. Cancer, **22**, T19–T33.
71. *Gregory R.C., Taniguchi T., D'Andrea A.* (2003) Semin. Cancer Biol., **13**(1), 77-82.

72. *Castella M., Jacquemont C., Thompson E.L., Yeo J.E., Cheung R.S., Huang J.W., Sobeck A., Hendrickson E.A., Taniguchi T.* (2015) PLoS Genet., **11**(10), e1005563.
73. *Haglund K., Sigismund S., Polo S., Szymkiewicz I., Di Fiore P.P., Dikic I.* (2003) Nat. Cell. Biol., **5**, 461-466.
74. *Levkowitz G., Waterman H., Zamir E., Kam Z., Oved S., Langdon W.Y., Beguinot L., Geiger B., Yarden Y.* (1998) Genes Dev., **12**(23), 3663-3674.
75. *Roth A.F., Davis N.G.* (2000) J. Biol. Chem., **275**, 8143-8153.
76. *Shih S.C., Sloper-Mould K.E., Hicke L.* (2000) EMBO J., **19**, 187-198.
77. *Hicke L., Riezman H.* (1996) Cell, **84**, 277-287.
78. *Kolling R., Hollenberg C.P.* (1994) EMBO J., **13**, 3261-3271.
79. *Acconciaa F., Sigismunda S., Polo S.* (2009) Experim. Cell. Res., **315**, 1610-1618.
80. *Bache K.G., Slagsvold T., Stenmark H.* (2004) EMBO J., **23**, 2707-2712.
81. *Strack B., Calistri A., Accola M.A., Palú G., Göttlinger H.G.* (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **97**, 13063-13068.
82. *Craven R.C., Harty R.N., Paragas J., Palese P., Wills J.W.* (1999) J. Virol., **73**, 3359-3365.
83. *Jayakar H.R., Murti K.G., Whitt M.A.* (2000) J. Virol., **74**, 9818-9827.
84. *Harty R.N., Brown M.E., Wang G, Huibregtse J., Hayes F.P.A.* (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **97**, 13871-13876.
85. *Morita E., Sundquist W.I.* (2004) Annu. Rev. Cell. Dev. Biol., **20**, 395-425.
86. *Kaiser P., Flick K., Wittenberg C., Reed S.I.* (2000) Cell, **102**, 303-314.
87. *Kuras L., Rouillon A., Lee T., Barbey R., Tyers M., Thomas D.* (2002) Mol. Cell, **10**, 69-80.
88. *Flick K., Raasi S., Zhang H., Yen J.L., Kaiser P.* (2006) Nat. Cell. Biol., **8**, 509-515.
89. *Ye Y.J.* (2006) Struct. Biol., **156**, 29-40.
90. *Jentsch S., Rumpf S.* (2007) Trends Biochem. Sci., **32**, 6-11.
91. *Bays N.W., Wilhovsky S.K., Goradia A., Hodgkiss-Harlow K., Hampton R.Y.* (2001) Mol. Biol. Cell., **12**, 4114-4128.
92. *Ye Y., Meyer H.H., Rapoport T.A.* (2001) Nature, **414**, 652-656.
93. *Jarosch E., Taxis C., Volkwein C., Bordallo J., Finley D., Wolf D.H., Sommer T.* (2002) Nat. Cell. Biol., **4**, 134-139.
94. B*raun S., Matuschewski K., Rape M., Thoms S., Jentsch S.* (2002) Embo J., **21**, 615-621.
95. *Rabinovich E., Kerem A., Frohlich K.U., Diamant N., Bar-Nun S.* (2002) Mol. Cell. Biol., **22**, 626-634.
96. *Ye Y., Meyer H.H., Rapoport T.A.* (2003) J. Cell. Biol., **162**, 71-84.
97. *Rape M., Hoppe T., Gorr I., Kalocay M., Richly H., Jentsch S.* (2001) Cell, **107**, 667-677.
98. *Ramadan K., Bruderer R., Spiga F.M., Popp O., Baur T., Gotta M., Meyer H.H.* (2007) Nature, **450**, 1258-1262.
99. *Babu J.R., Geetha T., Wooten M.W.* (2005) J. Neurochem., **94**, 192-203.
100. *Wooten M.W., Geetha T., Seibenhener M.L., Babu J.R., Diaz-Meco M.T., Moscat J.* (2005) J. Biol. Chem., **280**, 35625-35629.
101. *Seibenhener M.L., Babu J.R., Geetha T., Wong H.C., Krishna N.R., Wooten M.W.* (2004) Mol. Cell. Biol., **24**, 8055-8068.
102. *Li W., Ye Y.* (2008) Cell Mol. Life Sci., **65**(15), 2397-2406.
103. *Lim K.L., Chew K.C., Tan J.M., Wang C., Chung K.K., Zhang Y., Tanaka Y., Smith W., Engelender S., Ross C.A., Dawson V.L., Dawson T.M.* (2005) J. Neurosci., **25**, 2002-2009.
104. *Lim G.G.Y., Chew K.C.M., Ng X.-H., Henry-Basil A., Sim R.W.X., Tan J.M.M., Chai C., Lim K.-L.* (2013) PLOS ONE | www.plosone.org, **8**(9), e73235, 1-15.
105. *Bennett E.J., Shaler T.A., Woodman B., Ryu K.Y., Zaitseva T.S., Becker C.H., Bates G.P., Schulman H., Kopito R.R.* (2007) Nature, **448**, 704-708.
106. *Tan J.M.M., Wong E.S.P., Kirkpatrick D.S., Pletnikova O., Ko H.S., Tay S.-P., Ho M.W.L., Troncoso J., Gygi S.P., Lee M.K., Dawson V.L., Dawson T.M., Lim K.-L.* (2008) Hum. Mol. Genet., **17**(3), 431-439.
107. *Imai Y., Soda M., Inoue H., Hattori N., Mizuno Y., Takahashi R.* (2001) Cell, **105**, 891-902.
108. *Shimura H., Hattori N., Kubo S., Mizuno Y., Asakawa S., Minoshima S., Shimizu N., Iwai K., Chiba T., Tanaka K., Suzuki T.* (2000) Nat. Genet., **25**, 302-305.
109. *Zhang Y., Gao J., Chung K.K., Huang H., Dawson V.L., Dawson T.M.* (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **97**, 13354-13359.
110. *Olzmann J.A., Li L., Chudaev M.V., Chen J., Perez F.A., Palmiter R.D., Chin L.S.* (2007) J. Cell Biol., **178**, 1025-1038.
111. *Doss-Pepe E.W., Chen L., Madura K.* (2005) J. Biol. Chem., **280**, 16619-16624.
112. *Komatsu M., Waguri S., Chiba T., Murata S., Iwata J.I., Tanida I., Ueno T., Koike M., Uchiyama Y., Kominami E., Tanaka K.* (2006) Nature, **441**, 880-884.
113. *Hara T., Nakamura K., Matsui M., Yamamoto A., Nakahara Y., Suzuki-Migishima R., Yokoyama M., Mishima K., Saito I., Okano H., Mizushima N.* (2006) Nature, **441**, 885-889.
114. *Tan J.M.M., Wong E.S.P., Dawson V.L., Dawson T.M., Lim K.-L.* (2008) Autophagy, **4**(2), 251-253.
115. *Grabbe C., Husnjak K., Dikic I.* (2011) Nat. Reviews, Mol. Cell Biol., **12**, 295-307.
116. *Skaug B., Jiang X., Chen Z.* (2009) Annu. Rev. Biochem., **78**, 769-796.
117. *Haas T.L., Emmerich C.H., Gerlach B., Schmukle A.C., Cordier S.M., Rieser E., Feltham R., Vince J., Warnken U., Wenger T., Koschny R., Komander D., Silke J., Walczak H.* (2009) Mol. Cell, **36**(5), 831-844.
118. *Rahighi S., Ikeda F., Kawasaki M., Akutsu M., Suzuki N., Kato R., Kensche T., Uejima T., Bloor S., Komander D., Randow F., Wakatsuki S., Dikic I.* (2009) Cell, **136**(6), 1098-1109.
119. *Tokunaga F., Sakata S., Saeki Y., Satomi Y., Kirisako T., Kamei K., Nakagawa T., Kato M., Murata S., Yamaoka S., Yamamoto M., Akira S., Takao T., Tanaka K., Iwai K.* (2009) Nat. Cell. Biol., **11**(2), 123-132.
120. *Ikeda F., Deribe Y.L., Skånland S.S., Stieglitz B., Grabbe C., Franz-Wachtel M., van Wijk S.J., Goswami P., Nagy V., Terzic J. et al.* (2011) Nature, **471**(7340), 637-641.
121. *Gerlach B, Cordier S.M., Schmukle A.C., Emmerich C.H., Rieser E., Haas T.L., Webb A.I., Rickard J.A., Anderton H., Wong W.W. et al.* (2011) Nature, **471**(7340), 591-596.
122. *Tokunaga F., Nakagawa T., Nakahara M., Saeki Y., Taniguchi M., Sakata S., Tanaka K., Nakano H., Iwai K.* (2011) Nature, **471**(7340), 633-636.
123. *Dynek J.N., Goncharov T., Dueber E.C., Fedorova A.V., Izrael-Tomasevic A., Phu L., Helgason E., Fairbrother W.J., Deshayes K., Kirkpatrick D.S., Vucic D.* (2010) EMBO J., **29**(24), 4198-4209.
124. *Sebban H., Yamaoka S., Courtois G.* (2006) Trends Cell. Biol., **16**, 569-577.
125. *Chen Z.J., Sun L.J.* (2009) Mol. Cell, **33**, 275-286.
126. *Bennett E.J., Harper J.W.* (2008) Nat. Struct. Mol. Biol., **15**, 20-22.

127. *Baboshina O.V., Haas A.L.* (1996) J. Biol. Chem., **271**, 2823-2831.
128. *Wickliffe K.E., Lorenz S., Wemmer D.E., Kuriyan J., Rape M.* (2011) Cell, **144**(5), 769-781.
129. *Matsumoto M.L., Wickliffe K.E., Dong K.C., Yu C., Bosanac I., Bustos D., Phu L., Kirkpatrick D.S., Hymowitz S.G., Rape M., Kelley R.F., Dixit V.M.* (2010) Mol. Cell, **39**, 477-484.
130. *Williamson A., Wickliffe K.E., Mellone B.G., Song L., Karpen G.H., Rape M.* (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106**, 18213-18218.
131. *Jin L., Williamson A., Banerjee S., Philipp I., Rape M.* (2008) Cell, **133**, 653-665.
132. *Wu T., Merbl Y., Huo Y., Gallop J.L., Tzur A., Kirschner M.W.* (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **107**, 1355-1360.
133. *Song L., Rape M.* (2010) Mol. Cell, **38**, 369-382.
134. *King R.W., Peters J.M., Tugendreich S., Rolfe M., Hieter P., Kirschner M.W.* (1995) Cell, **81**, 279-288.
135. *Summers M.K., Pan B., Mukhyala K., Jackson P.K.* (2008) Mol. Cell, **31**, 544-556.
136. *Hay-Koren A., Caspi M., Zilberberg A., Rosin-Arbesfeld R.* (2011) Mol. Biol. Cell, **22**, 399-411.
137. *Goto E., Yamanaka Y., Ishikawa A., Aoki-Kawasumi M., Mito-Yoshida M., Ohmura-Hoshino M., Matsuki Y., Kajikawa M., Hirano H., Ishido S.* (2010) J. Biol. Chem., **285**, 35311-35319.
138. *Xu P., Duong D.M., Seyfried N.T., Cheng D., Xie Y., Robert J., Rush J., Hochstrasser M., Finley D., Peng J.* (2009) Cell, **137**, 133-145.
139. *Alexandru G., Graumann J., Smith G.T., Kolawa N.J., Fang R., Deshaies R.J.* (2008) Cell, **134**, 804-816.
140. *Shang F., Deng G., Liu Q., Guo W., Haas A.L., Crosas B., Finley D., Taylor A.* (2005) J. Biol. Chem., **280**(21), 20365-20374.
141. *Cripps D., Thomas S.N., Jeng Y., Yang F., Davies P., Yang A.J.* (2006) J. Biol. Chem., **281**(16), 10825-10838.
142. *Hospenthal M.K., Freund S.M.V., Komander D.* (2013) Nat. Struct. Mol. Biol. **20**(5), 555-565.
143. *Nishikawa H., Ooka S., Sato K., Arima K., Okamoto J., Klevit R.E., Fukuda M., Ohta T.* (2004) J. Biol. Chem., **279**(6), 3916-3924.
144. *Morris J.R., Solomon E.* (2004) Hum. Mol. Genet., **13**(8), 807-817.
145. *Ben-Saadon R., Zaaroor D., Ziv T., Ciechanover A.* (2006) Mol. Cell, **24**, 701-711.
146. *Ikeda H., Kerppola T.K.* (2008) Mol. Biol. Cell, **19**, 4588-4601.
147. *Zucchelli S., Codrich M., Marcuzzi F., Pinto M., Vilotti S., Biagioli M., Ferrer I., Gustincich S.* (2010) Hum. Mol. Genet., **19**(19), 3759-3770.
148. *Geisler S., Holmström K.M., Skujat D., Fiesel F.C., Rothfuss O.C., Kahle P.J., Springer W.* (2010) Nat. Cell. Biol., **12**(2), 119-145.
149. *Peng D.-J., i Zeng M., Muromoto R., Matsuda T., Shimoda K., Subramaniam M., Spelsberg T.C., Wei W.-Z., Venuprasad K.* (2011) J. Immunol., **186**(10), 5638-5647.
150. *Xu K., Shimelis H., Linn D.E., Jiang R., Yang X., Sun F., Guo Z., Chen H., Li W., Chen H., Kong X., Melamed J., Fang S., Xiao Z., Veenstra T.D., Qiu Y.* (2009) Cancer Cell, **15**(4), 270-282.
151. *Mastrandrea L.D., You J., Niles E.G., Pickart C.M.* (1999) J. Biol. Chem., **274**(38), 27299-27306.
152. *Jiang J., Ballinger C.A., Wu Y., Dai Q., Cyr D.M., Höhfeld J., Patterson C.* (2001) J. Biol. Chem., **276**(46), 42938-42944.
153. *Chastagner P., Israël A., Brou C.* (2008) PLoS One, **3**(7), e2735.
154. *Fei C., Li Z., Li C., Chen Y., Chen Z., He X., Mao L., Wang X., Zeng R., Li L.* (2013) Mol. Cell. Biol., **33**(20), 4095-4105.
155. *Kristariyanto Y.A., Choi S.-Y., Rehman S.A.A., Ritorto M.S., Campbell D.G., Morrice N.A., Toth R., Kulathu Y.* (2015) Biochem. J., **467**, 345-352.
156. *Huang H., Jeon M.-S., Liao L., Yang C., Elly C., Yates J.R., Liu Y.-C.* (2010) Immunity, **33**, 60-70.
157. *Yuan W.-C., Lee Y.-R., Lin S.-Y., Chang L.-Y., Tan Y.P., Hung C.-C., Kuo J.-C., Liu C.-H., Lin M.-Y., Xu M., Chen Z.J., Chen R.H.* (2014) Mol. Cell, **54**, 586-600.
158. *Al-Hakim A.K., Zagorska A., Chapman L., Deak M., Peggie M., Alessi D.R.* (2008) Biochem. J., **411**, 249-260.
159. *Walczak H., Iwai K., Dikic I.* (2012) BMC Biol.,**10**, 23, http://www.biomedcentral.com/1741-7007/10/23
160. *Iwai K.* (2011) Cell Cycle, **10**(18), 3095-3104.

Поступила: 05. 04. 2016.
Принята к печати: 11. 07. 2016.

ATYPICAL UBIQUITINATION OF PROTEINS

O.A. Buneeva, A.E. Medvedev

Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; e-mail: olbuneeva@gmail.com

Ubiquitination is a type of posttranslational modification of intracellular proteins characterized by covalent attachment of one (monoubiquitination) or several (polyubiquitination) of ubiquitin molecules to target proteins. In the case of polyubiquitination, linear or branched polyubiquitin chains are formed. Their formation involves various lysine residues of monomeric ubiquitin. The best studied is Lys48-polyubiquitination, which targets proteins for proteasomal degradation. In this review we have considered examples of so-called atypical polyubiquitination, which mainly involves other lysine residues (Lys6, Lys11, Lys27, Lys29, Lys33, Lys63) and also N-terminal methionine. The considered examples convincingly demonstrate that polyubiquitination of proteins not necessarily targets proteins for their proteolytic degradation in proteasomes. Atypically polyubiquitinated proteins are involved in regulation of various processes and altered polyubiquitination of certain proteins is crucial for development of serious diseases.

Key words: ubiquitin, posttranslational modification of proteins, atypical ubiquitination, ubiquitination enzymes