

## РОЛЬ ПРОТЕАСОМ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ

© Т. Н. Моисеева,<sup>1</sup> А. Г. Миттенберг, Н. А. Барлев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;  
<sup>1</sup> электронный адрес: t.n.moiseeva@gmail.com

26S протеасома представляет собой мультисубъединичный комплекс, который наряду с лизосомами играет важнейшую роль в расщеплении белков. Протеасома обладает протеолитическими, АТФазной/геликазной и РНКазной ферментативными активностями, которые могут использоваться для регуляции различных физиологических процессов. Многочисленные исследования свидетельствуют о важной роли протеасом в регуляции транскрипции. Несмотря на то что различные посттрансляционные модификации протеасом описаны довольно широко, их функциональная значимость, в частности в процессах регуляции экспрессии генов в ответ на различные формы стресса, сравнительно слабо изучена. В данной публикации мы освещаем роль протеасом в регуляции экспрессии генов и обсуждаем их влияние на различные этапы транскрипции.

Ключевые слова: протеасома, транскрипция, повреждения ДНК, посттрансляционные модификации.

Принятые сокращения: AAA — АТФазы, ассоциированные с различными клеточными активностями; СКП — казеинкиназа II; LMP2 — low molecular mass polypeptide 2 (полипептид низкой молекулярной массы 2); РКА — протеинкиназа А; Rpn — regulatory particle non-ATPase (неАТФазная субъединица 19S регуляторного комплекса); Rpt — regulatory particle triple-A ATPase (субъединица 19S регуляторного комплекса, входящая в семейство AAA-АТФаз).

26S протеасома является мультисубъединичным белковым комплексом, который присутствует как в ядре, так и в цитоплазме всех эукариотических клеток. Важнейшей функцией протеасом является расщепление белков, меченных полиубиквитиновыми цепями, с помощью ограниченного и контролируемого протеолиза, который позволяет регулировать большинство жизненных процессов клетки (Baumeister et al., 1998; Glickman, Ciechanover, 2002). 26S протеасома (рис. 1) состоит из цилиндрического 20S корового комплекса и одного или двух регуляторных 19S комплексов (Walz et al., 1998). Каждый из 19S комплексов в свою очередь содержит 17 субъединиц, 6 из которых обладают АТФазной активностью (Glickman, Ciechanover, 2002). АТФазные субъединицы получили наименования под аббревиатурой Rpt (regulatory particle triple-A ATPase), а неАТФазные — Rpn (regulatory particle non-ATPase). Субъединицы 19S регуляторных комплексов участвуют в распознавании и разворачивании полиубиквитилированных субстратов, управляя таким образом протеолитической активностью 20S протеасомы. 20S коровый комплекс состоит из 4 колец, каждое из которых образовано 7 субъединицами. Два внешних кольца составлены из субъединиц  $\alpha$ -типа, а два внутренних — из  $\beta$ -субъединиц (Baumeister et al., 1998; Voges et al., 1999). Из 7  $\beta$  субъединиц внутреннего кольца протеолитически активными являются лишь три белка:  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 5$ , которые обладают соответственно каспазо-, трипсино- и химо трипсиноподобной активностью (Dick et al., 1998; Kisilev et al., 1999).

### Регуляция транскрипции с участием протеасом

Поскольку протеасомы определяют время жизни и активность многих важных ферментов и являются основным белковым компонентом клетки, составляющим около 1 % всего клеточного белка, неудивительно, что они участвуют в регуляции широкого спектра клеточных процессов, в том числе и экспрессии генов.

Анализ всего генома дрожжей методом иммунопреципитации хроматина показал, что компоненты протеасом ассоциируются с большинством генов. Во многих случаях эта ассоциация положительно коррелирует с транскрипцией и присутствием РНК-полимеразы на этих генах (Sikder et al., 2006). Тем не менее несколько сотен генов связывались исключительно либо с 20S, либо с 19S комплексами.

В другом исследовании и регуляторный 19S-, и полноразмерный 26S комплексы были обнаружены ассоциированными с геномной ДНК в эмбриональных стволовых клетках, но выполняли различные функции (Szutorisz et al., 2006). В частности, 19S комплексы, содержащие субъединицы Rpn12 и Rpt3, способствовали связыванию транскрипционных факторов с промоторами определенных генов, в то время как интактные 26S протеасомы ингибировали транскрипцию с межгенных участков (Szutorisz et al., 2006; Zwaka, 2006). Совокупность вышеприведенных данных свидетельствует о том, что экспрессия генов может по-разному регулироваться 20S и 19S субкомплексом, вне контекста полноразмерной 26S протеасомы.

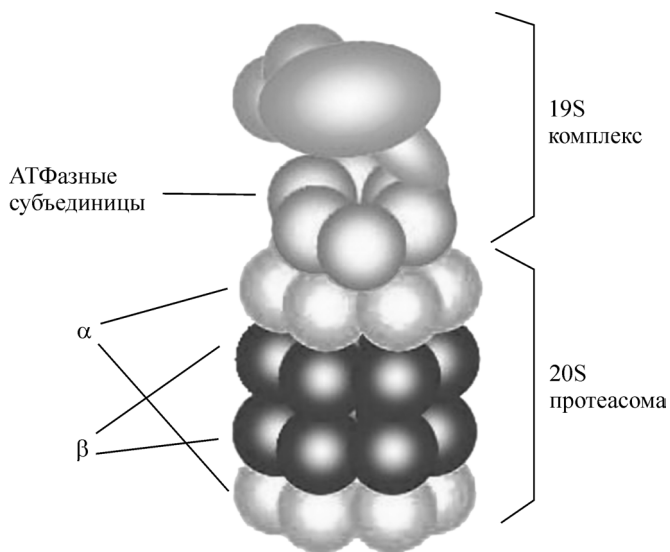


Рис. 1. Структура 26S протеасомы.

26S протеасома состоит из 20S протеолитической частицы и 19S регуляторного комплекса. 26S протеасома представляет собой полый цилиндр, составленный из 4 колец, образованных субъединицами двух типов —  $\alpha$  и  $\beta$ . 19S комплекс состоит из 17 субъединиц, 6 из которых обладают АТФазной активностью.

Влияние протеасом распространяется на все три этапа транскрипции — инициацию, элонгацию и терминацию, причем протеасомы используют как протеолитические, так и неканонические активности для контроля над этими процессами.

### Участие протеасомы в инициации транскрипции

Ряд исследований показал, что две непротеолитические субъединицы 19S комплекса протеасомы, SUG1/Rpt6/PSMC5 и SUG2/Rpt4/PSMC6, способствуют связыванию транскрипционного активатора Gal4 с промоторами генов-мишеней и привлечению компонентов транскрипционного аппарата к хроматину, в том числе дрожжевой субъединицы, необходимой для элонгации транскрипции, FACT (Cdc68/Pob3), а также TFIIID, TFIIH и холофермента РНК-полимеразы II (Ferdous et al., 2001; Sun et al., 2002).

Факт, что оба белка, SUG1 и SUG2, обладают АТФазной активностью, а SUG1 также способен выступать в роли 3', 5'-ДНК-геликазы (Fraser et al., 1997), свидетельствует о том, что эти белки могут влиять на процессы активации и элонгации транскрипции за счет локального изменения конформации хроматина, который в свою очередь регулирует привлечение транскрипционных факторов и эффективность прохождения РНК-полимеразы II.

Для стабильного связывания холофермента РНК-полимеразы II с промоторными участками генов и реинициации транскрипции помимо АТФазной активности необходима также и протеолитическая активность протеасом. Подтверждением этому служит тот факт, что под воздействием химических ингибиторов протеолитической активности протеасом полностью блокируется способность дрожжевого активатора Gcn4 привлекать РНК-полимеразу II к промоторам генов-мишеней (Lipford et al., 2005).

В принципе, сильные транскрипционные активаторы необходимы в клетке только на определенный промежуток времени, например для быстрого реагирования на стресс. В этот период активаторы претерпевают активирующее моноубиквитинирование («лицензирование») по остаткам  $\epsilon$ -аминогрупп лизинов, которое само по себе не является сигналом для деградации белка, но может служить «затравкой» для нарастания полиубиквитиновой цепи. По окончании «острой фазы» ответа индуцированные трансактиваторы становятся «нежелательными» в клетке и должны быть каким-то образом нейтрализованы. Такая нейтрализация осуществляется за счет нарастания на них полиубиквитиновой цепи, которая в конечном итоге распознается протеасомой и ведет к специфичному расщеплению белка. Такой механизм регуляции транскрипционных активаторов (рис. 2) был впервые описан в гипотезе Тэнси (Tansey, 2004) и получил название «черной вдовы». Соответственно время действия (и жизни) активатора определяется скоростью нарастания полиубиквитиновой цепи, которая в свою очередь определяется специфичностью фермента E3-лигазы. Этот фермент осуществляет передачу убиквитина непосредственно с E2-переносчика на субстрат.

Каким же образом моноубиквитинирование активатора способно стимулировать его активность? Как и любая посттрансляционная модификация, моноубиквитинирование может влиять на активатор путем изменения его конформации, приводящего к изменению его спектра белок-белковых взаимодействий. Подтверждением этому может служить тот факт, что моноубиквитинированный химерный активатор LexA-VP16 сильнее взаимодействует с фактором элонгации P-TEFb (Kurosu, Peterlin, 2004).

В недавно опубликованном исследовании (Ferdous et al., 2007) был описан еще один механизм «активирующего» влияния моноубиквитинирования на транскрипционные активаторы. Данная группа авторов показала, что АТФазная активность 19S комплекса протеасомы дестабилизирует взаимодействие между активатором Gal4-VP16 и промотором. Моноубиквитинирование активатора разрушало его взаимодействие с 19S комплексом и тем самым стабилизировало активатор-промоторный комплекс, приводя к более эффективной инициации транскрипции. Пока остается неясным, является этот механизм общей закономерностью или специфической особенностью данного активатора (Kodadek et al., 2006; Ferdous et al., 2007).

Активность множества важнейших транскрипционных факторов, включая NF- $\kappa$ B (Rape, Jentsch, 2004), рецепторы гормонов (Kinyamu, Archer, 2007), онкосупрессоры p53 и Rb (Haupt et al., 1997; Kubbutat et al., 1997; Higashitsuji et al., 2005) и онкоген c-Мyc (Gross-Mesilaty et al., 1998; Sears, 2004), подвергается убиквитинзависимому «лицензированию». Кроме того, было показано, что каталитическая  $\beta$ -субъединица 20S протеасомы LMP2 (low molecular mass polypeptide 2) непосредственно взаимодействует с белком-коактиватором стероидных рецепторов (SRC). Привлечение LMP2 с помощью коактиватора SRC является необходимым для циклического процесса сборки (разборки) транскрипционных комплексов на промоторах соответствующих генов, регулируемых эстрогеновыми рецепторами (Zhang et al., 2006).

Протеолитическая активность протеасомы также является критичной для поддержания ответа на действие

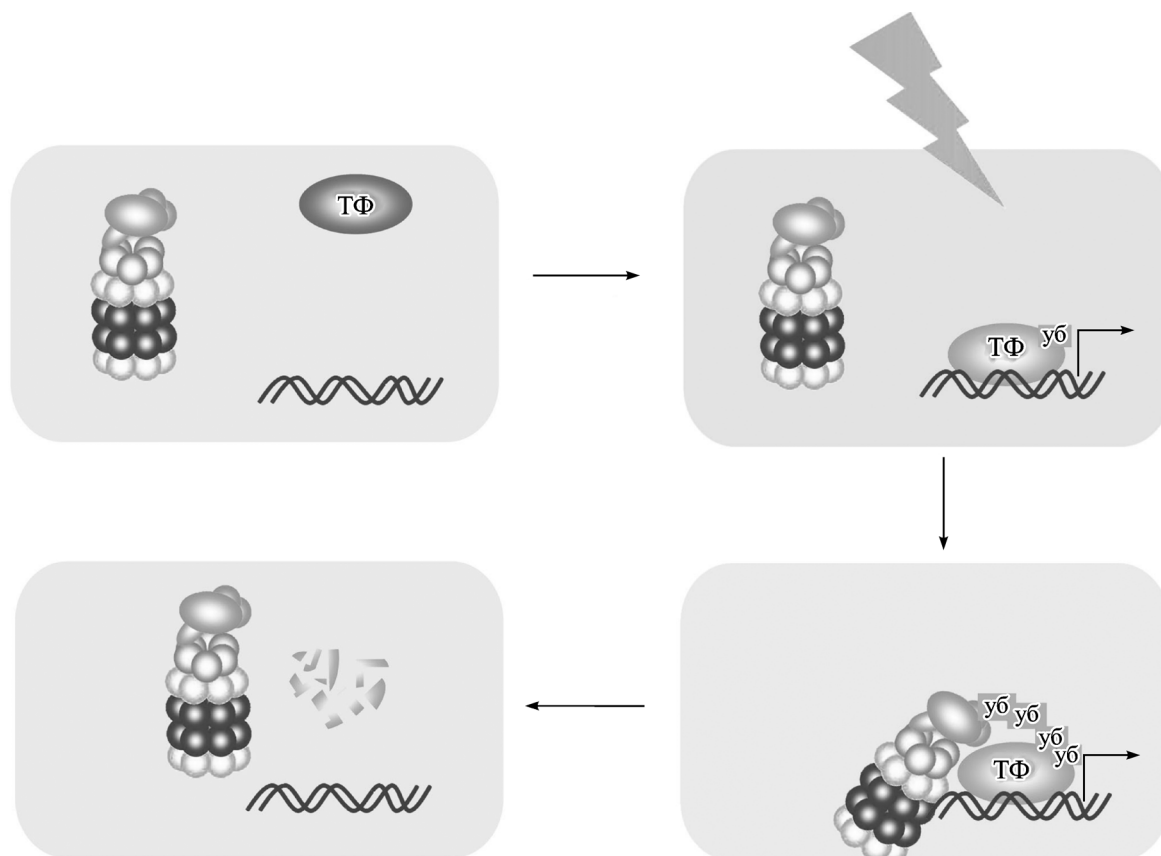


Рис. 2. Активация транскрипционных факторов (ТФ) по механизму «черная вдова».

При стрессовом воздействии на клетку происходит активация транскрипционного фактора с помощью моноубиквитилирования. Одновременно происходит наращивание убиквитиновой (уб) цепи, что служит сигналом для расщепления протеасомой транскрипционного фактора.

глюкокортикоидных гормонов. Активность субъединицы 20S протеасомы модулирует транскрипцию генов, регулируемых глюкокортикоидными рецепторами, по крайней мере частично, через регуляцию сборки (разборки) транскрипционных комплексов с транскрибируемой ДНК (Kinyamu, Archer, 2007).

Необходимо, однако, заметить, что Rb, Egr-1 и несколько других активаторов и регуляторов клеточного цикла могут расщепляться протеасомой по убиквитиннезависимому пути, через непосредственное взаимодействие активатора с субъединицей C8 ( $\alpha 7$ ) 20S коровой частицы (Bae et al., 2002; Sdek et al., 2005; Ying, Xiao, 2006). Вероятно, Mdm2 (специфическая E3-лигаза для p53 и Rb) стабилизирует эти взаимодействия, а нарушения структуры центрального кислотного домена Mdm2 препятствуют ассоциации протеасом с данными активаторами.

Другой механизм убиквитиннезависимого расщепления белков 20S протеасомой опосредован NQO1 — NADH-зависимой оксидазой, которая регулирует доступ субстратов в протеасому (Asher et al., 2005; Kahana et al., 2005).

Как уже было отмечено, протеасома непосредственно участвует в регуляции стабильности многих транскрипционных факторов, расщепляя их по убиквитинзависимому или убиквитиннезависимому механизму, и, таким образом, опосредованно контролирует транскрипцию определенных генов. Кроме того, существуют транскрипционные факторы, которые активируются протеасомой в результате частичного протеолиза белка-предшественни-

ка или полного расщепления белка-ингибитора. К таким транскрипционным факторам относятся белки семейства NF- $\kappa$ B, активно участвующие в регуляции иммунитета, воспаления и выживания клетки (Hayden, Ghosh, 2008). В это семейство входят RelA (p65), c-Rel, RelB, p50 и p52. Белки p50 и p52 образуются из своих предшественников p105 и p100 соответственно с помощью протеасомной деградации I $\kappa$ B-подобных повторов, расположенных в С-концевой области.

Существуют два способа активации NF- $\kappa$ B — канонический и неканонический. Канонический путь активации осуществляется за счет протеасомзависимой деградации фосфорилированного белка-репрессора I $\kappa$ B в ответ на действие различных цитокинов.

Неканонический путь запускается несколькими рецепторами В-клеток, такими как CD40 и BAFF-R (Romerantz, Baltimore, 2002). Данные рецепторы инициируют сигнальный каскад, приводящий к активации IKK $\alpha$ -киназы, которая фосфорилирует p100. После фосфорилирования p100 полиубиквитируется, что приводит к специфическому расщеплению его С-концевой области протеасомой и образованию зрелой субъединицы p52, которая после образования димера с RelA доставляется в ядро и участвует в регуляции транскрипции (Chiu et al., 2009).

Таким образом, протеасома участвует в регуляции активности транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B не только на уровне контроля стабильности данных белков, но и на этапе их активации.





ного пути — UBA1, UBI4 и CDC48, а также множество других генов, связанных с ответом на различные формы стресса и репарацией поврежденной ДНК (Dohmen et al., 2007). Уровень белка Rpn4 также подвергается регуляции сразу по нескольким механизмам, которые затрагивают либо контроль экспрессии гена *RPN4*, либо стабильность белка Rpn4.

Протеолитический контроль уровня белка Rpn4 осуществляется как по убиквитинзависимому, так и независимому пути, за счет узнавания двух различных сигналов деградации (Ju, Xie, 2004). Ингибирование протеасом подавляет оба механизма расщепления Rpn4, что в результате приводит к активации экспрессии протеасомных генов.

### Протеасомы и различные формы стресса

Результаты многих исследований говорят об участии протеасом в процессах адаптации клеток к различным формам стресса на уровне регуляции транскрипции (Naujokat, Hoffmann, 2002). Например, клеткам дрожжей для ответа на стресс необходимы АТФазные компоненты 19S регулятора протеасом. Эксперименты по хроматиновой иммунопреципитации показали, что белки Sug1, Sug2 и Cim5/Rpt1/PSMC2 (еще одна АТФазная субъединица 19S комплекса) привлекаются (за счет белок-белковых взаимодействий с активаторами) к промоторам стресс-индуцибельных генов *HSP26*, *HSP104* и *GAD1* (Sulahian et al., 2006) и регулируют их транскрипцию.

В ответ на генотоксический стресс, вызванный ингибитором топоизомеразы II адриамицином, не только повышается общая протеолитическая активность протеасом и увеличивается эффективность расщепления убиквитинированных субстратов (Liu et al., 2008), но и изменяется специфичность этой активности (Tsimokha et al., 2007). Такие изменения приводят к расщеплению определенных транскрипционных факторов протеасомой (Poizat et al., 2000; Ito et al., 2007), что определяет транскрипционный ответ на воздействие ДНК-повреждающего агента. Показано, что под воздействием цитостатического агента паклитаксела происходило заметное изменение экспрессии многих генов, как связанных с апоптозом и регуляцией деления клеток, так и ответственных за регуляцию протеолитических путей. В частности, усиливалась транскрипция генов некоторых протеасомных субъединиц (Hernandez-Vargas et al., 2007). Одновременная обработка опухолевых клеток ингибитором протеасом и цитостатическим агентом ускоряла апоптоз (Hernandez-Vargas et al., 2007). Несмотря на то что роль протеасом в апоптозе, вызванном повреждениями ДНК, пока неизвестна, этот эффект может быть обусловлен ингибированием расщепления проапоптотических белков Bax and Bid протеасомой (Breitschopf et al., 2000; Grethe et al., 2004).

### Посттрансляционные модификации и активность протеасом

Очевидно, что активное участие протеасом в различных клеточных процессах, в том числе и в транскрипции, требует строгой регуляции их активности. Регуляция протеасом происходит с помощью изменения субъединичного состава протеасом и (или) посттрансляционных модификаций (см. таблицу).

Среди всех посттрансляционных модификаций, обнаруженных в протеасоме, фосфорилирование играет важнейшую роль в регуляции ее активности и стабильности (Bose et al., 1999; Fernandez-Murray et al., 2002; Iwafune et al., 2002; Wang et al., 2007). Например, фосфорилирование субъединицы 20S протеасомы C8 ( $\alpha 7$ ) с помощью киназы II (СКII) сильно влияет на стабильность и специфичность 26S комплекса (Bose et al., 2004). Воздействие интерферона  $\gamma$  приводит к понижению уровня фосфорилирования C8, что отражается на количестве 26S протеасом в клетке. Уровень протеасом, содержащих PA28, напротив, возрастает из-за нестабильности 26S комплекса и возросшей скорости замещения 19S комплекса на 11S (Rivett et al., 2001; Bose et al., 2004).

Стабильность 26S протеасомы также зависит от статуса фосфорилирования субъединицы 19S регулятора Rpn16. Фосфорилирование этого белка способствует связыванию 19S и 20S комплексов через взаимодействие Rpn16 с субъединицей  $\alpha 2$  20S протеасомы (Satoh et al., 2001).

Группа Томпсона (Thompson et al., 2004) обнаружила, что фосфорилированная форма белка S12 (Rpn8), не-АТФазной субъединицы 19S регуляторного комплекса, встречается в 6 нормальных клеточных линиях эпителия молочной железы, но отсутствует в 4 линиях трансформированных клеток того же типа. Фосфорилирование субъединицы S12 предположительно определяет внутриклеточную локализацию данного белка, так как его фосфорилированная форма встречается исключительно в цитоплазме и не ассоциируется с 26S протеасомой.

О киназах, ответственных за фосфорилирование субъединиц протеасом, пока известно сравнительно немного. Показано, что СКII ассоциируется с протеасомами в эритроцитах (Ludemann et al., 1993) и фосфорилирует субъединицу 20S комплекса  $\alpha 7$  (Iwafune et al., 2004). Недавно было обнаружено, что протеинкиназа А (РКА) связывается с протеасомами кардиомиоцитов грызунов и фосфорилирует субъединицу Spt6 19S комплекса, что приводит к активации протеолитической активности протеасомы и деградации транскрипционного фактора Sp1 (Su et al., 1999; Zong et al., 2006). Оказалось, что РКА работает совместно с протеинфосфатазой 2А (PP2A), что и позволяет осуществлять тонкую регуляцию активности протеасом в ответ на изменения внутриклеточного уровня глюкозы (Zong et al., 2006).

Повреждения ДНК регулируют активность и специфичность некоторых киназ, в частности СКII и РКА. Эти же киназы участвуют в регуляции активности 26S протеасомы. Так, например, было показано, что СКII фосфорилирует субъединицу C8 ( $\alpha 7$ ) 20S субкомплекса. Фосфорилирование этой субъединицы необходимо для поддержания целостности 26S протеасомы. Кроме того, фосфорилирование субъединицы Rpt6 с помощью киназы РКА усиливает АТФазную активность 19S комплекса (Zhang et al., 2007), что в свою очередь может регулировать ремоделирование хроматина.

Окислительный стресс за счет повышения внутриклеточного содержания  $H_2O_2$  вызывает S-глутатионилирование субъединицы Rpn2 19S комплекса (Zmijewski et al., 2009). Эта модификация приводит к инактивации протеасомы и стабилизации белка I $\kappa$ B- $\alpha$ , репрессирующего транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B (Zmijewski et al., 2009).

Исходя из вышесказанного очевидно, что посттрансляционные ковалентные модификации, включая фосфо-

## Фосфорилирование субъединиц протеасом

Субъединица	Сайты фосфорилирования	Ферменты	Функциональные эффекты	Организм	Литературный источник
$\alpha 1$ (PSA6)	Ser~P; Tyr~P; Thr~P	Не описаны	Усиление химотрипсино- и каспазоподобных активностей	<i>M. musculus</i>	Zong et al., 2006
$\alpha 2$ (PSA2)	Ser~P, Tyr120~P	» »	Усиление химотрипсино- и каспазоподобных активностей; ядерная локализация протеасом	<i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i>	Benedict et al., 1995; Wehren et al., 1996; Zong et al., 2006
$\alpha 3$ (PSA4)	Ser~P, Ser248~P	PLK, CK2 и др.	Связывание регуляторных белков с коровой частицей; усиление химотрипсино- и каспазоподобных активностей	<i>H. sapiens</i> , <i>M. musculus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>R. norvegicus</i>	Castano et al., 1996; Mason et al., 1996; Bose et al., 1999; Feng et al., 2001; Fernandez-Murray et al., 2002; Zong et al., 2006
$\alpha 4$ (PSA7) $\alpha 5$ (PSA5) $\alpha 6$ (PSA1)	n. d.	CKI, CKII и PKA	Не описаны	<i>C. auratus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>O. sativa</i> , <i>M. musculus</i>	Umeda et al., 1997; Fernandez-Murray et al., 2002; Horiguchi et al., 2005; Zong et al., 2006
$\alpha 7$ (PSA3)	Ser243~P, Ser250~P и др.	PKA, CK2, PLK и др.	Стабилизация 26S-протеасомы через усиление взаимодействий между 20S- и 19S-комплексами; связывание регуляторных частиц с коровой протеасомой; усиление химотрипсино- и каспазоподобных активностей	<i>H. sapiens</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>S. cerevisiae</i>	Castano et al., 1996; Pardo et al., 1998; Bose et al., 2001; Feng et al., 2001; Zong et al., 2006; Gillardon et al., 2007
$\beta 2$ (PSB7) $\beta 3$ (PSB3) $\beta 7$ (PSB4)	Ser~P, Thr~P	PKA	Усиление химотрипсино- и каспазоподобных активностей	<i>M. musculus</i>	Zong et al., 2006
Rpt5	Ser9~P	Не описаны	Распознавание субстрата и открывание канала внутрь 20S-коровой частицы	<i>H. sapiens</i>	Wang et al., 2007
Rpt6	Ser120~P	p45-киназа, PKA	Стабилизация 26S-протеасомы через усиление взаимодействий между 20S- и 19S-комплексами; активация протеасомы	<i>S. scrofa</i> , <i>H. sapiens</i>	Satoh et al., 1995, 2001; Zhang et al., 2007
PA28	Ser~P	Не описаны	Связывание с 20S-протеасомой; протеолитическая активность через конформационные изменения в 11S-комплексе	<i>H. sapiens</i>	Bose et al., 1999

рилирование, должны существенно влиять на функцию протеасом в регуляции транскрипционных программ в клетке.

### Заключение

В данном обзоре мы попытались кратко представить существующие в настоящее время данные литературы о роли протеасом в регуляции транскрипции на всех возможных ее этапах, включающих в себя модуляцию активности и стабильности транскрипционных факторов, а также активацию, элонгацию и терминацию синтеза РНК. Универсальная роль протеасомы в регуляции транскрипции определяется сложным белковым составом данного комплекса, обладающего уникальным набором различных ферментативных активностей: АТФазной, геликазной, протеазной и эндорибонуклеазной, которые в зависимости от ситуации могут использоваться как вместе, так и по отдельности.

Очевидно, что различные активности протеасом должны каким-то образом координироваться. Наиболее важным в этом плане представляется механизм регуляции активности протеасом через различные посттрансляционные модификации. В этой связи необходимо отметить тот факт, что на сегодняшний день число работ, посвященных влиянию посттрансляционных модификаций на активность протеасом, участвующих в процессе регуляции транскрипции, весьма ограничено. По всей видимости, такие исследования затрудняются тем обстоятельством, что не только протеасома, но и ее субстраты также подвергаются ковалентным модификациям в ответ на определенные клеточные сигналы. Поэтому довольно сложно отличить эффект модификаций на транскрипционные факторы, или гистоны хроматина, от непосредственного влияния модификаций на активность протеасом.

Тем не менее все вышесказанное позволяет заключить, что задача изучения роли посттрансляционных модификаций в регуляции протеолитических и непротеолитических активностей протеасомы представляется чрез-

вычайно важной и актуальной для нашего понимания молекулярных механизмов экспрессии генов и связанных с ними физиологических клеточных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00834).

### Список литературы

- Anindya R., Aygun O., Svejstrup J. Q. 2007. Damage-induced ubiquitylation of human RNA polymerase II by the ubiquitin ligase Nedd4, but not cockayne syndrome proteins or BRCA1. *Mol. Cell*. 28 : 386—397.
- Asher G., Tsvetkov P., Kahana C., Shaul Y. 2005. A mechanism of ubiquitin-independent proteasomal degradation of the tumor suppressors p53 and p73. *Genes Develop.* 19 : 316—321.
- Bae M. H., Jeong C. H., Kim S. H., Bae M. K., Jeong J. W., Ahn M. Y., Bae S. K., Kim N. D., Kim C. W., Kim K. R., Kim K. W. 2002. Regulation of Egr-1 by association with the proteasome component C8. *Biochim. biophys. acta*. 1592 : 163—167.
- Baumeister W., Walz J., Zuhl F., Seemuller E. 1998. The proteasome: paradigm of a self-compartmentalizing protease. *Cell*. 92 : 367—380.
- Benedict C. M., Ren L., Clawson G. A. 1995. Nuclear multicatalytic proteinase alpha subunit RRC3: differential size, tyrosine phosphorylation, and susceptibility to antisense oligonucleotide treatment. *Biochemistry*. 34 : 9587—9598.
- Bose S., Brooks P., Mason G. G., Rivett A. J. 2001. Gamma-Interferon decreases the level of 26S proteasomes and changes the pattern of phosphorylation. *Biochem. J.* 353 : 291—297.
- Bose S., Mason G. G., Rivett A. J. 1999. Phosphorylation of proteasomes in mammalian cells. *Mol. Biol. Rep.* 26 : 11—14.
- Bose S., Stratford F. L., Broadfoot K. I., Mason G. G., Rivett A. J. 2004. Phosphorylation of 20S proteasome alpha subunit C8 (alpha7) stabilizes the 26S proteasome and plays a role in the regulation of proteasome complexes by gamma-interferon. *Biochem. J.* 378 : 177—184.
- Breitschopf K., Zeiher A. M., Dimmeler S. 2000. Ubiquitin-mediated degradation of the proapoptotic active form of bid. A functional consequence on apoptosis induction. *J. Biol. Chem.* 275 : 21 648—21 652.
- Castano J. G., Mahillo E., Arizti P., Arribas J. 1996. Phosphorylation of C8 and C9 subunits of the multicatalytic proteinase by casein kinase II and identification of the C8 phosphorylation sites by direct mutagenesis. *Biochemistry*. 35 : 3782—3789.
- Chiu Y. H., Zhao M., Chen Z. J. 2009. Ubiquitin in NF-kappaB signaling. *Chem. Rev.* 109 : 1549—1560.
- Collins G. A., Tansey W. P. 2006. The proteasome: a utility tool for transcription? *Curr. Opin. Genet. Develop.* 16 : 197—202.
- Dick T. P., Nussbaum A. K., Deeg M., Heinemeyer W., Groll M., Schirle M., Keilholz W., Stevanovic S., Wolf D. H., Huber R., Rammensee H. G., Schild H. 1998. Contribution of proteasomal beta-subunits to the cleavage of peptide substrates analyzed with yeast mutants. *J. Biol. Chem.* 273 : 25 637—25 646.
- Dohmen R. J., Willers I., Marques A. J. 2007. Biting the hand that feeds: Rpn4-dependent feedback regulation of proteasome function. *Biochim. biophys. acta*. 1773 : 1599—1604.
- Ezhkova E., Tansey W. P. 2004. Proteasomal ATPases link ubiquitylation of histone H2B to methylation of histone H3. *Mol. Cell*. 13 : 435—442.
- Feng Y., Longo D. L., Ferris D. K. 2001. Polo-like kinase interacts with proteasomes and regulates their activity. *Cell Growth Differ.* 12 : 29—37.
- Ferdous A., Gonzalez F., Sun L., Kodadek T., Johnston S. A. 2001. The 19S regulatory particle of the proteasome is required for efficient transcription elongation by RNA polymerase II. *Mol. Cell*. 7 : 981—991.
- Ferdous A., Kodadek T., Johnston S. A. 2002. A nonproteolytic function of the 19S regulatory subunit of the 26S proteasome is required for efficient activated transcription by human RNA polymerase II. *Biochemistry*. 41 : 12 798—12 805.
- Ferdous A., Sikder D., Gillette T., Nalley K., Kodadek T., Johnston S. A. 2007. The role of the proteasomal ATPases and activator monoubiquitylation in regulating Gal4 binding to promoters. *Genes Develop.* 21 : 112—123.
- Fernandez-Murray P., Pardo P. S., Zelada A. M., Passeron S. 2002. *In vivo* and *in vitro* phosphorylation of *Candida albicans* 20S proteasome. *Arch. Biochem. Biophys.* 404 : 116—125.
- Fraser R. A., Rossignol M., Heard D. J., Egly J. M., Chambon P. 1997. SUG1, a putative transcriptional mediator and subunit of the PA700 proteasome regulatory complex, is a DNA helicase. *J. Biol. Chem.* 272 : 7122—7126.
- Gillardot F., Kloss A., Berg M., Neumann M., Mechtler K., Hengerer B., Dahlmann B. 2007. The 20S proteasome isolated from Alzheimer's disease brain shows post-translational modifications but unchanged proteolytic activity. *J. Neurochem.* 101 : 1483—1490.
- Gillette T. G., Gonzalez F., Delahodde A., Johnston S. A., Kodadek T. 2004. Physical and functional association of RNA polymerase II and the proteasome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 5904—5909.
- Glickman M. H., Ciechanover A. 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev.* 82 : 373—428.
- Gonzalez F., Delahodde A., Kodadek T., Johnston S. A. 2002. Recruitment of a 19S proteasome subcomplex to an activated promoter. *Science*. 296 : 548—550.
- Grethe S., Ares M. P., Andersson T., Porn-Ares M. I. 2004. p38 MAPK mediates TNF-induced apoptosis in endothelial cells via phosphorylation and downregulation of Bcl-x(L). *Exp. Cell Res.* 298 : 632—642.
- Gross-Mesilaty S., Reinsteiner E., Bercovich B., Tobias K.E., Schwartz A.L., Kahana C., Ciechanover A. 1998. Basal and human papillomavirus E6 oncoprotein-induced degradation of Myc proteins by the ubiquitin pathway. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 95 : 8058—8063.
- Haupt Y., Maya R., Kazaz A., Oren M. 1997. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*. 387 : 296—299.
- Hayden M. S., Ghosh S. 2008. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 132 : 344—362.
- Hernandez-Vargas H., von Kobbe C., Sanchez-Esteviz C., Julian-Tendero M., Palacios J., Moreno-Bueno G. 2007. Inhibition of paclitaxel-induced proteasome activation influences paclitaxel cytotoxicity in breast cancer cells in a sequence-dependent manner. *Cell Cycle*. 6 : 2662—2668.
- Higashitsuji H., Liu Y., Mayer R. J., Fujita J. 2005. The oncoprotein gankyrin negatively regulates both p53 and RB by enhancing proteasomal degradation. *Cell Cycle*. 4 : 1335—1337.
- Horiguchi R., Yoshikuni M., Tokumoto M., Nagahama Y., Tokumoto T. 2005. Identification of a protein kinase which phosphorylates a subunit of the 26S proteasome and changes in its activity during meiotic cell cycle in goldfish oocytes. *Cell Signal*. 17 : 205—215.
- Ito T., Fujio Y., Takahashi K., Azuma J. 2007. Degradation of NFAT5, a transcriptional regulator of osmotic stress-related genes, is a critical event for doxorubicin-induced cytotoxicity in cardiac myocytes. *J. Biol. Chem.* 282 : 1152—1160.
- Iwafune Y., Kawasaki H., Hirano H. 2002. Electrophoretic analysis of phosphorylation of the yeast 20S proteasome. *Electrophoresis*. 23 : 329—338.
- Iwafune Y., Kawasaki H., Hirano H. 2004. Identification of three phosphorylation sites in the alpha7 subunit of the yeast 20S proteasome *in vivo* using mass spectrometry. *Arch. Biochem. Biophys.* 431 : 9—15.
- Ju D., Xie Y. 2004. Proteasomal degradation of RPN4 via two distinct mechanisms, ubiquitin-dependent and -independent. *J. Biol. Chem.* 279 : 23 851—23 854.
- Kahana C., Asher G., Shaul Y. 2005. Mechanisms of protein degradation: an odyssey with ODC. *Cell Cycle*. 4 : 1461—1464.



- Kinyamu H. K., Archer T. K. 2007. Proteasome activity modulates chromatin modifications and RNA polymerase II phosphorylation to enhance glucocorticoid receptor-mediated transcription. *Mol. Cell. Biol.* 27 : 4891—4904.
- Kisselev A. F., Akopian T. N., Castillo V., Goldberg A. L. 1999. Proteasome active sites allosterically regulate each other, suggesting a cyclical bite-chew mechanism for protein breakdown. *Mol. Cell.* 4 : 395—402.
- Kleiman F. E., Wu-Baer F., Fonseca D., Kaneko S., Baer R., Manley J. L. 2005. BRCA1/BARD1 inhibition of mRNA 3' processing involves targeted degradation of RNA polymerase II. *Genes Develop.* 19 : 1227—1237.
- Kodadek T., Sikder D., Nalley K. 2006. Keeping transcriptional activators under control. *Cell.* 127 : 261—264.
- Krogan N. J., Lam M. H., Fillingham J., Keogh M. C., Gebbia M., Li J., Datta N., Cagney G., Buratowski S., Emili A., Greenblatt J. F. 2004. Proteasome involvement in the repair of DNA double-strand breaks. *Mol. Cell.* 16 : 1027—1034.
- Kubbutat M. H., Jones S. N., Vousden K. H. 1997. Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature.* 387 : 299—303.
- Kurosu T., Peterlin B. M. 2004. VP16 and ubiquitin; binding of P-TEFb via its activation domain and ubiquitin facilitates elongation of transcription of target genes. *Curr. Biol.* 14 : 1112—1116.
- Lee D., Ezhkova E., Li B., Pattenden S. G., Tansey W. P., Workman J. L. 2005. The proteasome regulatory particle alters the SAGA coactivator to enhance its interactions with transcriptional activators. *Cell.* 123 : 423—436.
- Lipford J. R., Smith G. T., Chi Y., Deshaies R. J. 2005. A putative stimulatory role for activator turnover in gene expression. *Nature.* 438 : 113—116.
- Liu J., Zheng H., Tang M., Ryu Y. C., Wang X. 2008. A therapeutic dose of doxorubicin activates ubiquitin-proteasome system-mediated proteolysis by acting on both the ubiquitination apparatus and proteasome. *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295 : H2541—2550.
- Ludemann R., Lerea K. M., Etlinger J. D. 1993. Copurification of casein kinase II with 20S proteasomes and phosphorylation of a 30-kDa proteasome subunit. *J. Biol. Chem.* 268 : 17 413—17 417.
- Mannhaupt G., Schnell R., Karpov V., Vetter I., Feldmann H. 1999. Rpn4p acts as a transcription factor by binding to PACE, a nonamer box found upstream of 26S proteasomal and other genes in yeast. *FEBS Lett.* 450 : 27—34.
- Mason G. G., Hendil K. B., Rivett A. J. 1996. Phosphorylation of proteasomes in mammalian cells. Identification of two phosphorylated subunits and the effect of phosphorylation on activity. *Eur. J. Biochem.* 238 : 453—462.
- Naujokat C., Hoffmann S. 2002. Role and function of the 26S proteasome in proliferation and apoptosis. *Lab. Invest.* 82 : 965—980.
- Pardo P. S., Murray P. F., Walz K., Franco L., Passeron S. 1998. *In vivo* and *in vitro* phosphorylation of the alpha 7/PRS1 subunit of *Saccharomyces cerevisiae* 20S proteasome: *in vitro* phosphorylation by protein kinase CK2 is absolutely dependent on polylysine. *Arch. Biochem. Biophys.* 349 : 397—401.
- Poizat C., Sartorelli V., Chung G., Kloner R. A., Kedes L. 2000. Proteasome-mediated degradation of the coactivator p300 impairs cardiac transcription. *Mol. Cell. Biol.* 20 : 8643—8654.
- Pomerantz J. L., Baltimore D. 2002. Two pathways to NF-kappa-B. *Mol. Cell.* 10 : 693—695.
- Rape M., Jentsch S. 2004. Productive RUpture: activation of transcription factors by proteasomal processing. *Biochim. biophys. acta.* 1695 : 209—213.
- Reid J., Svejstrup J. Q. 2004. DNA damage-induced Def1-RNA polymerase II interaction and Def1 requirement for polymerase ubiquitylation *in vitro*. *J. Biol. Chem.* 279 : 29 875—29 878.
- Rivett A. J., Bose S., Brooks P., Broadfoot K. I. 2001. Regulation of proteasome complexes by gamma-interferon and phosphorylation. *Biochimie.* 83 : 363—366.
- Satoh K., Nishikawa T., Yokosawa H., Sawada H. 1995. Phosphorylation of proteasome substrate by a protein kinase associated with the 26S proteasome is linked to the ATP-dependent proteolysis of the 26S proteasome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 213 : 7—14.
- Satoh K., Sasajima H., Nyoumura K.I., Yokosawa H., Sawada H. 2001. Assembly of the 26S proteasome is regulated by phosphorylation of the p45/Rpt6 ATPase subunit. *Biochemistry.* 40 : 314—319.
- Sdek P., Ying H., Chang D. L., Qiu W., Zheng H., Touitou R., Allday M. J., Xiao Z. X. 2005. MDM2 promotes proteasome-dependent ubiquitin-independent degradation of retinoblastoma protein. *Mol. Cell.* 20 : 699—708.
- Sears R. C. 2004. The life cycle of C-myc: from synthesis to degradation. *Cell Cycle.* 3 : 1133—1137.
- Sikder D., Johnston S. A., Kodadek T. 2006. Widespread, but non-identical, association of proteasomal 19 and 20S proteins with yeast chromatin. *J. Biol. Chem.* 281 : 27 346—27 355.
- Somesh B. P., Reid J., Liu W. F., Sogaard T. M., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Svejstrup J. Q. 2005. Multiple mechanisms confining RNA polymerase II ubiquitylation to polymerases undergoing transcriptional arrest. *Cell.* 121 : 913—923.
- Somesh B. P., Sigurdsson S., Saeki H., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Svejstrup J. Q. 2007. Communication between distant sites in RNA polymerase II through ubiquitylation factors and the polymerase CTD. *Cell.* 129 : 57—68.
- Su K., Roos M. D., Yang X., Han I., Paterson A. J., Kudlow J. E. 1999. An N-terminal region of Sp1 targets its proteasome-dependent degradation *in vitro*. *J. Biol. Chem.* 274 : 15 194—15 202.
- Sulahian R., Sikder D., Johnston S. A., Kodadek T. 2006. The proteasomal ATPase complex is required for stress-induced transcription in yeast. *Nucl. Acids Res.* 34 : 1351—1357.
- Sun L., Johnston S. A., Kodadek T. 2002. Physical association of the APIS complex and general transcription factors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 296 : 991—999.
- Szutorisz H., Georgiou A., Tora L., Dillon N. 2006. The proteasome restricts permissive transcription at tissue-specific gene loci in embryonic stem cells. *Cell.* 127 : 1375—1388.
- Tansey W. P. 2004. Death, destruction, and the proteasome. *N. Engl. J. Med.* 351 : 393—394.
- Thompson H. G., Harris J. W., Brody J. P. 2004. Post-translationally modified S12, absent in transformed breast epithelial cells, is not associated with the 26S proteasome and is induced by proteasome inhibitor. *Int. J. Cancer.* 111 : 338—347.
- Tsimokha A. S., Mittenberg A. G., Kulichkova V. A., Kozhukharova I. V., Gause L. N., Konstantinova I. M. 2007. Changes in composition and activities of 26S proteasomes under the action of doxorubicin-apoptosis inducer of erythroleukemic K562 cells. *Cell. Biol. Int.* 31 : 338—348.
- Umeda M., Fujii N., Manabe Y., Uchimiyama H. 1997. Molecular and biochemical characterization of a proteasome subunit from rice and carrot cells. *Mol. Gen. Genet.* 255 : 19—27.
- Voges D., Zwickl P., Baumeister W. 1999. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu. Rev. Biochem.* 68 : 1015—1068.
- Walz J., Erdmann A., Kania M., Typke D., Koster A. J., Baumeister W. 1998. 26S proteasome structure revealed by three-dimensional electron microscopy. *J. Struct. Biol.* 121 : 19—29.
- Wang X., Chen C. F., Baker P. R., Chen P. L., Kaiser P., Huang L. 2007. Mass spectrometric characterization of the affinity-purified human 26S proteasome complex. *Biochemistry.* 46 : 3553—3565.
- Wehren A., Meyer H. E., Sobek A., Kloetzel P. M., Dahlmann B. 1996. Phosphoamino acids in proteasome subunits. *Biol. Chem.* 377 : 497—503.
- Woudstra E. C., Gilbert C., Fellows J., Jansen L., Brouwer J., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Svejstrup J. Q. 2002. A Rad26-Def1 complex coordinates repair and RNA pol II proteolysis in response to DNA damage. *Nature.* 415 : 929—933.
- Xie Y., Varshavsky A. 2001. RPN4 is a ligand, substrate, and transcriptional regulator of the 26S proteasome: a negative feedback circuit. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 3056—3061.
- Ying H., Xiao Z. X. 2006. Targeting retinoblastoma protein for degradation by proteasomes. *Cell Cycle.* 5 : 506—508.



Zhang F., Hu Y., Huang P., Toleman C. A., Paterson A. J., Kudlow J. E. 2007. Proteasome function is regulated by cyclic AMP-dependent protein kinase through phosphorylation of Rpt6. *J. Biol. Chem.* 282 : 22 460—22 471.

Zhang H., Sun L., Liang J., Yu W., Zhang Y., Wang Y., Chen Y., Li R., Sun X., Shang Y. 2006. The catalytic subunit of the proteasome is engaged in the entire process of estrogen receptor-regulated transcription. *EMBO J.* 25 : 4223—4233.

Zmijewski J. W., Banerjee S., Abraham E. 2009. S-glutathionylation of the Rpn2 regulatory subunit inhibits 26S proteasomal function. *J. Biol. Chem.* 284 : 22 213—22 221.

Zong C., Gomes A. V., Drews O., Li X., Young G. W., Berhane B., Qiao X., French S. W., Bardag-Gorce F., Ping P. 2006. Regulation of murine cardiac 20S proteasomes: role of associating partners. *Circ. Res.* 99 : 372—380.

Zwaka T. P. 2006. Keeping the noise down in ES cells. *Cell.* 127 : 1301—1302.

Поступила 20 X 2009

## PROTEASOMES AND THEIR ROLE IN TRANSCRIPTIONAL REGULATION

*T. N. Moiseeva,<sup>1</sup> A. G. Mittenberg, N. A. Barlev*

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;

<sup>1</sup> e-mail: t.n.moiseeva@gmail.com

26S proteasome is a multisubunit protein complex that plays a pivotal role in protein degradation. Proteasome's enzymatic activities — proteolytic, ATPase/helicase and RNase — can be used in regulation of multiple cellular processes. Recent studies confirm the major role of proteasomes in transcriptional regulation. Although various post-translational modifications of proteasome subunits have been described, relatively little is known about their functional effect on regulation of proteasome-dependent gene expression. In this article, we talk about the role of proteasomes in control of gene expression and different stages of transcription.

Key words: proteasome, transcription, DNA damage, post-translational modifications.