

РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ Е3-УБИКВИТИНЛИГАЗ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ОНКОСУПРЕССОРА p53

© А. А. Дакс,¹ Д. Мелино,^{1,2} Н. А. Барлев^{1-3, *}

¹ С.-Петербургский технологический университет,

² Университет г. Лейстера, Великобритания,

³ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

* электронный адрес: nick.a.barlev@gmail.com

Убиквитинзависимая протеасомная деградация является одним из основных механизмов нелизосомного разрушения белков в клетке. Процесс убиквитинилирования катализируется тремя ферментативными каскадами. Ферменты первого каскада — E1 — активирующие, второго — E2 — конъюгирующие и третьего — E3 — лигирующие. Именно E3-лигазы определяют специфичность реакции убиквитинилирования, т. е. какой именно белок будет ковалентно модифицирован убиквитиновыми белками.

Онкосупрессорный белок p53 — продукт гена *TP53* — является одним из самых активно изучаемых за последние несколько десятилетий. Регуляция его активности является сложным и многоуровневым процессом, в который вовлечено множество факторов. Убиквитинилирование играет фундаментальную роль в регуляции функции p53, его количества, активности, а также локализации в клетке и является одной из наиболее важных посттрансляционных модификаций p53.

Данный обзор посвящен p53-специфическим E3-убиквитинлигазам, которые представляют собой потенциальные мишени для терапии малыми молекулами-ингибиторами при раковых заболеваниях.

Ключевые слова: p53, E3-убиквитинлигазы, убиквитинзависимая деградация.

Принятые сокращения: ФИ-3 — фосфоинозитол-3, ЭР — эндоплазматический ретикулум, NLS — сигнал ядерной локализации.

Белок p53 — продукт гена *TP53* — является одним из самых изучаемых за последние несколько десятилетий. По приблизительной оценке, начиная с 1970 г., тематике, непосредственно связанной с p53, посвящено около 30 тыс. печатных работ, а количество публикаций, затрагивающих процессы, связанные с активностью p53, приближается к 60 тыс. (PubMed).

Повышенный интерес к этому белку в большой степени объясняется выполняемой им онкосупрессорной функцией. В настоящее время известно, что около 50 % злокачественных новообразований характеризуется мутациями в гене *TP53*. Для большинства клеток опухолевых тканей характерно либо снижение количества p53 дикого типа в ядре, либо, наоборот, его накопление, если он представлен в мутантной форме. В результате этого изменяется реакция раковых клеток на стрессовые воздействия. Онкосупрессорная роль p53 реализуется за счет его способности останавливать продвижение клетки по клеточному циклу и индуцировать апоптоз (Vousden, Prives, 2009).

Белок p53 играет решающую роль в регуляции пролиферации клеток, «сканируя» человеческий геном с целью выявления поврежденных молекул ДНК и остановки клеточного цикла перед делением. В случае невозможности репарации поврежденной ДНК клетки направляются на путь апоптоза, который также опосредован p53. Белок p53 является транскрипционным фактором и регулирует

экспрессию по меньшей мере 146 генов человека (Menendez et al., 2009). Продукты этих генов ответственны за самые различные внутриклеточные процессы, включая деление и запрограммированную клеточную смерть, старение, репарацию генома, дифференцировку, метаболизм и межклеточные взаимодействия (Hollstein et al., 1991; Levine et al., 1991; Montenarh, 1992; Vogelstein, Kinzler, 1992).

Так как p53 вовлечен в большое количество процессов, неудивительно, что он взаимодействует с большим количеством белков. К настоящему времени охарактеризовано более 360 взаимодействий p53 с другими белками (база данных APID — Agile Protein Interaction DataAnalyze). По разным данным, с изменением функционирования p53 ассоциировано от половины (Hollstein et al., 1991) до практически всех типов (Vogelstein et al., 2000) злокачественных новообразований, что безусловно является одной из важнейших причин повышенного интереса к этому белку.

Несмотря на это, наши представления о функционировании и регуляции p53, накопленные за несколько десятилетий, нельзя назвать исчерпывающими. По этой причине количество работ, посвященных p53, непрерывно растет. Настоящий обзор посвящен ферментам, которые регулируют стабильность и онкосупрессорную активность белков семейства p53 за счет ковалентной модификации убиквитинилирования.

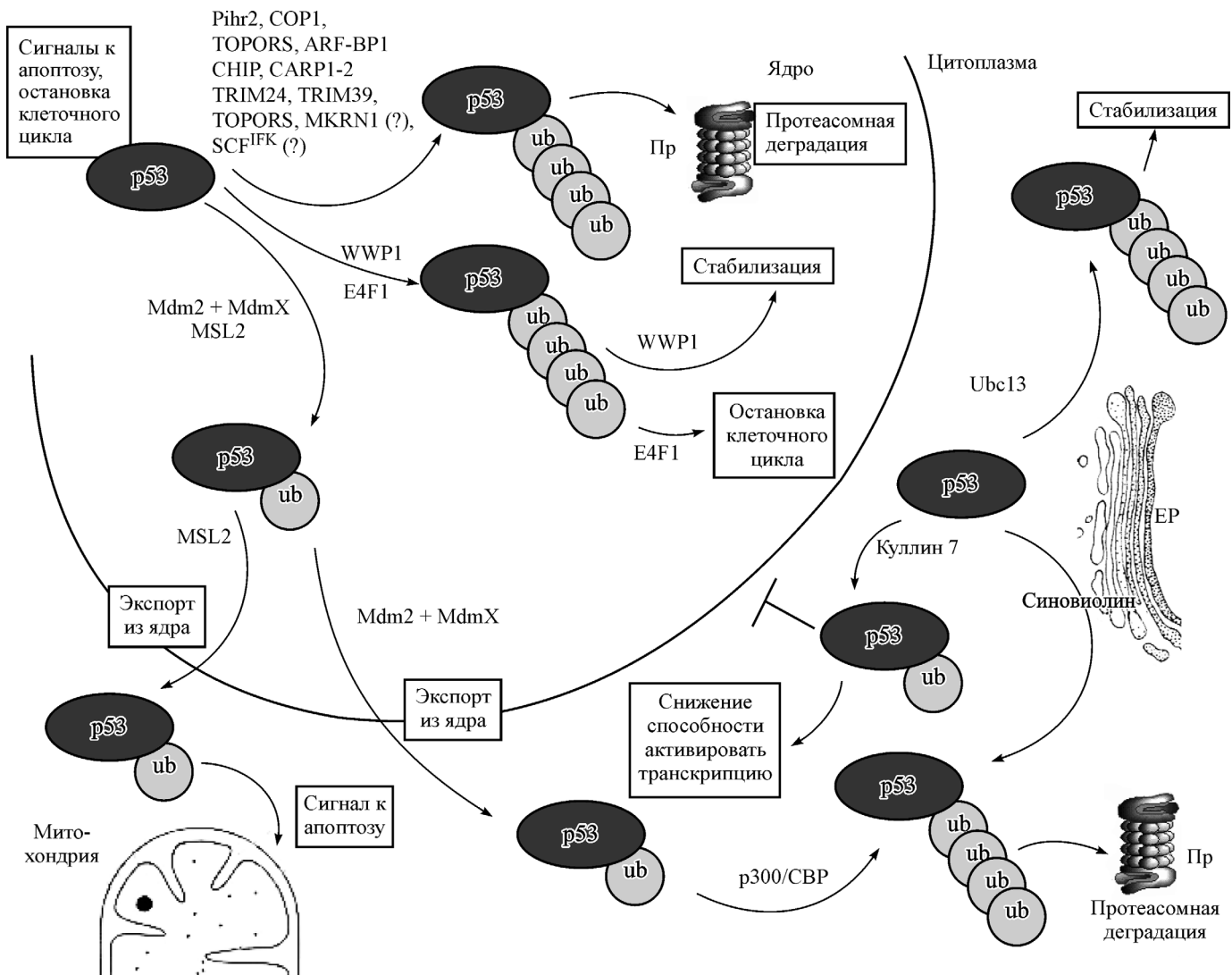
Регуляция p53

Тонкая и специфическая регуляция активности и стабильности онкосупрессорного белка p53 осуществляется за счет широкого спектра его посттрансляционных модификаций. В настоящее время известно около 100 белков, способных связываться с p53 и модифицировать его. При этом из 393 аминокислот, составляющих p53, как минимум 50 являются сайтами модификаций. Более того, по мере развития методов масс-спектрометрического анализа вполне вероятно, что будут открыты дополнительные сайты его модификаций (Meek, Anderson, 2009; Anderson et al., 2011).

Роль многих ковалентных модификаций p53 уже достаточно хорошо изучена. Так, например, показано, что

фосфорилирование и ацетилирование p53 активируют экспрессию его генов-мишеней, в то время как убиквитинилирование и сумоилирование, наоборот, вызывают подавление p53-опосредованной транскрипции и экспорт p53 из ядра (Sakaguchi et al., 1998; Di Ventura et al., 2008). Метилирование в свою очередь может быть связано как с активацией, так и с супрессией функции p53 в зависимости от конкретного сайта модификации. Многие из этих модификаций конкурируют за остатки лизина на p53, что обеспечивает чрезвычайно сложную и тонкую регуляцию его активности (Morgunkova, Barlev, 2006; Sims, Reinberg, 2008).

Убиквитинилирование играет фундаментальную роль в регуляции функции p53, его количества и локализации в клетке и является одной из наиболее важных модификаций для p53 (см. рисунок). Как известно, убиквитинили-



Судьба и функции в клетке белка p53, модифицированного различными E3-убиквитинлигазами.

ub — убиквитин, EP — эндоплазматический ретикулум, Пр — протеасома. Фермент Mdm2, действуя совместно с MdmX моноубиквитинилирует p53, активируя его транспорт из ядра в цитоплазму, после чего p53, модифицированный комплексом Mdm2/MdmX, полиубиквитинилируется белками p300 и CBP и затем подвергается деградации в протеасомах. E3-убиквитинлигазы Pih1r2, COP1, TOPORS, ARF-BP1, CHIP, CARP1-2, TRIM24, TRIM39, TOPORS и, возможно, MKRN1 и SCF^{IFK} полиубиквитинилируют p53 в ядре с его последующей протеасомозависимой деградацией. Белок WWP1 убиквитинилирует p53 в ядре, что приводит к его стабилизации. E4F1 полиубиквитинилирует p53 в ядре, что приводит к активации p53 и остановке клеточного цикла. MSL2 моноубиквитинилирует p53 в ядре, запуская его экспорт в цитоплазму с последующей активацией митохондриального апоптотического пути. Синовиолин — резидентный белок эндоплазматического ретикулума (EP) убиквитинилирует белок p53, после чего происходит его протеасомная деградация. Куллин 7 моно- и диубиквитинилирует p53, что снижает эффективность импорта p53 в ядро и соответственно его способность активировать транскрипцию. Ubc13 полиубиквитинилирует p53, что приводит к стабилизации p53.

рование представляет собой ковалентную модификацию, служащую сигналом для деградации белков с помощью 26S протеасомных комплексов (Mittenberg et al., 2008). Однако деградация p53 в протеасомах может также осуществляться и по убиквитиннезависимому пути (Tsvetkov et al., 2009; Fedorova et al., 2011). Помимо гидролиза белков протеасомы также обладают эндорибонуклеазной активностью, участвуя в регуляции уровня мРНК гена, кодирующего p53, в клетке, хотя эта ферментативная активность протеасом менее изучена по сравнению с их протеолитическими функциями (Kulichkova et al., 2010).

Убиквитинзависимая протеасомная деградация является весьма энергозатратным процессом. Соответственно этот путь деградации используется клеткой в том случае, когда необходимо быстро сократить количество и активность тех белков, время действия которых строго ограничено или их структура повреждена. К таким короткоживущим белкам относятся продукты генов-онкосупрессоров, в том числе p53, поскольку его избыточная активность приводит к дегенеративным процессам в тканях (Love, Grossman, 2012).

Процесс убиквитинилирования состоит в ковалентном присоединении небольшого белка убиквитина (с мол. массой ~8 кДа) к остатку лизиновой аминокислоты. Важно отметить, что убиквитины способны присоединяться не только к белку-мишени, но и друг к другу, образуя таким образом цепочки полиубиквитина, которые затем узнаются белками 19S комплекса протеасом. Процесс убиквитинилирования катализируется тремя ферментативными каскадами. Ферменты первого каскада (E1) — активирующие, второго (E2) — конъюгирующие и третьего (E3) — лигирующие (Hershko, Ciechanover, 1998; Pickart, 2001). Именно E3-лигазы определяют специфичность реакции убиквитинилирования, т. е. то, какой именно белок будет модифицирован. Список E3-лигаз, специфически взаимодействующих с p53, представлен в таблице.

Первой обнаруженной лигазой, мишенью которой является p53, является белок E6AP (human papilloma virus E6-associated cellular protein) (Scheffner et al., 1993), известный и как UBEA3 (ubiquitinprotein ligase E3A). Белок E6AP полиубиквитинилирует p53 в составе комплекса с белком E6 вируса папилломы человека высокой степени онкогенного риска (ВПЧ-ВР) (Scheffner et al., 1993). В клетках, инфицированных вирусом, эти белки приводят к деградации p53 и подавлению таких его функций, как запуск процесса апоптоза и остановка клеточного цикла. Соответственно вирус активно реплицируется в пролиферирующих клетках хозяина (Scheffner et al., 1993). Открытие E6AP впервые показало важную биологическую роль E3-убиквитинлигаз в клетке при вирусной инфекции.

В последующем был обнаружен белок Mdm2 (Mouse double minute 2), который оказался важнейшей p53-специфической E3-лигазой, осуществляющей полиубиквитинилирование и деградацию p53 (Haupt et al., 1997; Honda et al., 1997; Kubbutat et al., 1997; Li et al., 2003). Со временем было описано множество других E3-лигаз, вызывающих деградацию p53 (Brooks, Gu, 2011). Здесь необходимо отметить, что настоящий обзор посвящен описанию только тех E3-убиквитинлигаз, которые физически взаимодействуют с p53 в клетках млекопитающих.

Белок Mdm2

Онкогенная функция Mdm2 первоначально была описана у мышей, отсюда и произошло его название — mouse double minute chromosome amplified oncogene (Haupt et al., 1997; Honda et al., 1997; Kubbutat et al., 1997; Fang et al., 2000). Гомологичный ген человека *HDM2* также является онкогеном и расположен на хромосоме 12 (12q14.3-q15) (Oliner et al., 1992). В составе белковой молекулы Mdm2 различают следующие структурные элементы: аминоконцевой домен, отвечающий за связывание с p53; участок, обогащенный отрицательно заряженными аминокислотами («кислотный» домен); домен типа «цинковый палец», располагающийся в середине молекулы; домен «RING finger» на карбоксильном конце белка. Аминоконцевой и центральный домены отвечают за взаимодействие с p53, в то время как домен RING является сайтом связывания E2-лигаз (Wade, Wahl, 2009).

В нормальных условиях p53 активирует транскрипцию гена *MDM2*, чей белковый продукт в свою очередь убиквитинилирует p53 для дальнейшей протеасомной деградации, формируя, таким образом, замкнутый цикл обратной регуляции для поддержания низкого уровня p53 в клетке (Haupt et al., 1997; Honda et al., 1997; Kubbutat et al., 1997). Такая система обратной регуляции поддерживает низкий уровень p53 в клетке, а также ограничивает длительность и интенсивность ответа на стрессовые воздействия. Однако данная модель взаимодействия Mdm2 и p53 является упрощенной. На самом деле имеет место сложная сеть взаимодействий, включающая в себя множество вспомогательных молекул, обеспечивающих дополнительные уровни регуляции активности Mdm2 для тонкой настройки функции p53.

Примечательно, что относительное содержание Mdm2 в клетке определяет судьбу убиквитинилированного p53: низкое содержание Mdm2 индуцирует моноубиквитинилирование и экспорт p53 из ядра, в то время как высокая концентрация белка Mdm2 запускает полиубиквитинилирование и деградацию p53 в ядре (Li et al., 2003).

Гомолог *MDM2* у человека — *HDM2* — также является протоонкогеном. Его копияемость в клетках увеличена в 30—40 % случаев сарком; показана его избыточная экспрессия при лейкомиах (Oliner et al., 1992; Bueso-Ramos et al., 1993; Jones et al., 1995).

Стоит отметить, что помимо убиквитинлигазной функции Mdm2 выполняет функцию посредника при взаимодействии различных регуляторных белков, например онкосупрессорного белка Rb (retinoblastoma protein) с C8-субъединицей 20S протеасом, приводя к его убиквитиннезависимой деградации. Подтверждением этой гипотезы служит тот факт, что определенные мутации в центральном «кислотном» домене Mdm2 приводят к разрушению взаимодействия между C8 и Rb, тем самым стабилизируя онкосупрессорный белок (Ying, Xiao, 2006; Mittenberg et al., 2008).

Регуляция активности Mdm2

Как и p53, Mdm2 в значительной степени контролируется посттрансляционными модификациями. Например, при повреждении ДНК киназа DNA-ПК (DNA-activated protein kinase) фосфорилирует Mdm2 по Ser-17 в p53-связывающем домене, в результате чего его убикви-

E3-убиквитинлигазы, участвующие в модификации белка p53

Убиквитин-лигаза	Домен убиквитин-лигазной активности	Сайт убиквитинилирования p53	Компартмент взаимодействия с p53	Поли-/ моноубиквитинилирование	Действие на p53	Литературный источник
MDM2	RING	K370, K372, K373, K381, K382, K386	Ядро	Моно	Экспорт из ядра с последующим полиубиквитинилированием и протеасомной деградацией	Roth et al., 1998; Rodriguez et al., 2000; Wade, Wahl, 2009
p300/CBP	C/H1-TAZ1		Цитоплазма	Поли	Протеасомная деградация	Grossman et al., 2003
Pih1	RING		Ядро	»	То же	Leng et al., 2003 Duan et al., 2007
COP1	»		»	»	» »	Dornan et al., 2006
TOPORS	»		»	»	» »	Rajendra et al., 2004
ARF-BP1	HECT		»	»	» »	Chen et al., 2005
CHIP	U-box		»	»	» »	Akakura et al., 2001; Esser et al., 2005
Синовиолин	RING		Эндоплазмический ретикулум	»	» »	Yamasaki et al., 2006, 2007
CARP1-2	»		Колокализация CARP2 и p53 в ядре и цитоплазме	»	» »	Yang et al., 2007
WWP1	HECT		Ядро	»	Экспорт из ядра, стабилизация	Laine, Ronai, 2006
Ubc13	Helical	K48, K63	Цитоплазма	»	Стабилизация	То же
E4F1	Ub activity	K48, K319, K320, K321	Ядро	»	Блок клеточного цикла	Le Cam et al., 2006
MSL2	RING	K351, K357	»	Моно	Экспорт из ядра с последующей активацией митохондриального апоптотического пути	Kruse, Gu, 2009
Куллин 7	»		Цитоплазма	Моно-; ди-	Снижение транскрипционной активности	Andrews et al., 2006
TRIM24	»		Ядро	Поли	Протеасомная деградация	Allton et al., 2009
TRIM39	»		»	»	То же	Zhang et al., 2012
MKRN1	»	K291, K292		»	» »	Lee et al., 2009
SCF ^{JFK}	»			»	» »	Sun et al., 2009

Примечание. RING — домен «RING finger»; C/H1-TAZ1 — Zn²⁺-связывающий домен, богатый Cys/His; HECT — HECT-домен (homologous to E6-AP carboxyl terminus); Helical — C-концевой скрученный домен Ubc13; Ub activity — домен, ответственный за убиквитинилирование.

тинлигазная активность значительно снижается, что в свою очередь стабилизирует белок p53 (Mayo et al., 1997).

Другая киназа ATM (ataxia telangiectasia-mutated) из семейства фосфоинозитол-3-киназ фосфорилирует как Mdm2, так и p53. Она способствует индукции активности p53 в ответ на генотоксический стресс. Киназа ATM фосфорилирует Mdm2 по остатку Ser-395, который располагается вблизи RING-домена. Фосфорилирование Mdm2 по данному серину не влияет на его способность связываться с p53 (Khosravi et al., 1999), однако негативно влияет на его участие в экспорте p53 из ядра (Maya et al., 2001). Фосфорилирование Mdm2 протеинкиназой c-Abl (Abelson tyrosine-protein kinase) по смежному сайту — Ser-394 —

ослабляет способность Mdm2 взаимодействовать с p53, таким образом предотвращая его деградацию и способствуя стабилизации p53 при повреждении ДНК (Sionov et al., 2001; Goldberg 2002).

В «кислотном» домене Mdm2 также локализуется множество сайтов фосфорилирования для других киназ. Например, остатки Ser-240 и Ser-254 являются мишенями для серин-треониновой киназы GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 β). Фосфорилирование по этим сайтам способствует активации Mdm2-зависимой деградации p53 (Kulikov et al., 2005).

Фосфоинозитолзависимая киназа Akt фосфорилирует Mdm2 по двум сайтам — Ser-166 и Ser-186, расположен-

ным в непосредственной близости от сигнала ядерной локализации (NLS). Модификации по этим остаткам серинов активизируют импорт Mdm2 в ядро, а также ослабляют взаимодействие Mdm2 с его ингибитором p19ARF. Оба события в свою очередь способствуют протеасомной деградации p53 и снижению его концентрации в клетке (Mayo, Donner, 2001; Meek, Knippschild, 2003).

Важным регулятором Mdm2-зависимого пути деградации p53 выступает белок p14ARF или ARF (Sherr, 2001) — продукт альтернативной рамки считывания гена *CDKN2A*, который также кодирует ингибитор циклинзависимой киназы белок p16. В свободном состоянии ARF имеет сильный положительный заряд и не структурирован, что облегчает образование временных комплексов с различными белками. ARF обладает свойствами опухолевого супрессора, и его отсутствие приводит к фенотипу, напоминающему отсутствие p53 (Kamijo et al., 1997). Одной из мишеней белка ARF является Mdm2. Связываясь с Mdm2 в цитоплазме, ARF не только подавляет его убиквитинлигазную активность, но и удерживает Mdm2 от импорта в ядро, что приводит к стабилизации и активации p53 (Kamijo et al., 1998; Pomerantz et al., 1998; Zhang et al., 1998).

Другими негативными регуляторами убиквитинлигазной активности Mdm2 являются рибосомные белки L5, L11 и L23. В нормальных условиях эти белки входят в состав больших субъединиц 60S рибосом, однако при рибосомном стрессе, часто наблюдающемся в процессе опухолеобразования, белки L5, L11 и L23 могут переходить в свободное состояние. Взаимодействуя с Mdm2, они снижают его способность ингибировать p53, что в конечном итоге приводит к активации p53 и остановке клеточного цикла (Deisenroth, Zhang, 2010).

К примерам позитивной регуляции активности Mdm2 можно отнести взаимодействие Mdm2 с YY1 (Ying Yang 1) — мультифункциональным транскрипционным фактором, играющим важную роль в процессе развития организма (Sui et al., 2004). В этом случае YY1 за счет белок-белковых взаимодействий усиливает убиквитинлигазную активность Mdm2, стабилизируя его связь с p53. Таким образом, YY1 можно рассматривать как положительный кофактор полиубиквитинилирования p53 (Sui et al., 2004). По такому же механизму осуществляется положительная регуляция убиквитинлигазной активности Mdm2 за счет белка KAP1 (Wang et al., 2005).

Белок Mdm2, так же как и p53, сам подвергается разрушению в 26S протеасомах. Этот процесс регулируется за счет специальных ферментов, удаляющих убиквитиновые остатки, — деубиквитиназы (убиквитингидролазы). Было установлено, что белок HAUSP является одним из таких деубиквитинилирующих ферментов по отношению к Mdm2 (Li et al., 2004). Важно отметить, что процесс деубиквитинилирования регулируется другим белком, Дахх, который образует комплекс с Mdm2 и HAUSP и тем самым предотвращает самоубиквитинилирование Mdm2 (Cummins, Vogelstein, 2004; Tang et al., 2006). В то же время HAUSP может удалять убиквитин и с самого p53, что, наоборот, приводит к его стабилизации (Li et al., 2002). Таким образом, белок HAUSP, оказывая противоположные действия на систему разрушения p53 и Mdm2, способствует тонкой регуляции их активности в ответ на изменения окружающей среды.

Стоит отметить, что помимо участия в убиквитинзависимой деградации Mdm2 способен негативно влиять на экспрессию p53 посредством ингибирования транс-

крипции. Показано, что центральный домен Mdm2 связывается с TFIIIE — субъединицей основного транскрипционного комплекса — и ингибирует образование преинициаторного комплекса, предшествующего синтезу мРНК гена, кодирующего p53 (Thut et al., 1997).

Белок MdmX

Белок MdmX (Mdm4) — структурный гомолог Mdm2, имеющий в своем составе домен типа «RING finger», который часто ассоциирован с убиквитинилирующей активностью. Тем не менее у MdmX отсутствует E3-лигазная активность из-за мутации в этом домене. Как и Mdm2, он взаимодействует с аминоконцевым трансактивационным доменом p53 и снижает опосредованную p53 транскрипцию за счет образования гетеротримерного репрессивного комплекса, состоящего из p53, MdmX и Mdm2, мешая тем самым транскрипционным кофакторам взаимодействовать с p53 (Shvarts et al., 1996; Stad et al., 2001).

Помимо этого, было показано, что сверхэкспрессия MdmX стабилизирует Mdm2, ингибируя его самоубиквитинилирование (Stad et al., 2001). Кроме того, известно, что MdmX может усиливать E3-убиквитинлигазную активность Mdm2, образуя с ним гетеродимер через RING finger-домены. Это особенно актуально, когда количество Mdm2 и MdmX в клетке мало (Poyurovsky et al., 2006).

Мыши, нокаутированные по гену, кодирующему MdmX, нежизнеспособны, как и нокауты по Mdm2. Однако дополнительное выключение гена p53 в нокаутах по Mdm2 или MdmX приводит к компенсации и формированию жизнеспособных особей (Parant et al., 2001; Finch et al., 2002; Migliorini et al., 2002; Li et al., 2004). Эксперименты по реинтродукции p53 в мышей с одновременно выключенным p53 и Mdm2 (или MdmX) показали, что отсутствие Mdm2 индуцирует активацию генов-мишеней p53, вовлеченных в апоптоз, в то время как отсутствие MdmX индуцирует активацию генов, ответственных за остановку клеточного цикла (Chavez-Reyes et al., 2003; Barboza et al., 2008).

Белки p300 и CBP

p300 и CBP (CREP-binding protein) — гомологичные белки семейства гистонацетилтрансфераз. Они обладают ацетилтрансферазной активностью и являются коактиваторами транскрипции. Белки p300 и CBP локализованы как в ядре клетки (Kawaguchi et al., 2006), так и в цитоплазме (Shi et al., 2009). Оба содержат консервативные Zn²⁺-связывающие Cys/His-богатые домены. Один из этих доменов (C/H1-TAZ1) ответствен за E3- и E4-убиквитинлигазную активность и располагается в аминоконцевом участке белка (Grossman et al., 2003).

Показано, что белки p300 и CBP обладают способностью к полиубиквитинилированию (в том числе и автополиубиквитинилированию) как *in vitro* (в экспериментах с очищенными белками), так и *in vivo* (на клеточных лизатах) (Grossman et al., 2003). Однако для присоединения полиубиквитиновой цепи к p53 на белке должна быть моноубиквитиновая затравка, которую перед этим присоединил Mdm2. По этой причине p300 и CBP относят к E4-лигазам, участвующим в протеасомной деградации p53 (Grossman et al., 2003). Как E3-, так и E4-убиквитинлигазные активности p300 ингибируются аденовирусным

белком E1A, который соответственно выступает как стабилизатор p53 (Grossman et al., 2003).

При клеточном стрессе оба белка катализируют ацетилирование p53 и соответственно стабилизируют его, что приводит к активации p53 в ядре (Gu, Roeder, 1997; Barlev et al., 2001; Grossman et al., 2003; Shi et al., 2009). Таким образом, p300 и CBP по-разному регулируют стабильность p53 в различных компартментах клетки в ответ на изменения окружающей среды, убиквитинилируя его в цитоплазме и ацетилируя в ядре в нормальных и стрессовых условиях соответственно.

Белок Pirh2

Белок Pirh2 (p53-induced RING H2 domain) считается второй по важности (после Mdm2) E3-убиквитинилигазой, модифицирующей p53. Продукт гена *PIRH2* был впервые идентифицирован как белок, взаимодействующий с аминоконцом андрогенового рецептора (ARNIP). Он также известен как Rchy 1 (RING finger and CHY zinc finger domain containing 1) (Beitel et al., 2002; Leng 2003).

Как и в случае Mdm2, транскрипция гена, кодирующего Pirh2, активируется белком p53. При этом Pirh2 является антагонистом p53 за счет убиквитинилирования последнего, формируя тем самым замкнутый цикл обратной регуляции (Leng et al., 2003; Feng et al., 2007; Sheng et al., 2008). Однако в отличие от Mdm2, который в большей степени индуцирует деградацию немодифицированного p53 в нормальных условиях в отсутствие стресса, Pirh2 преимущественно убиквитинилирует p53, фосфорилированный по остатку Ser-15. Эта модификация p53 характерна для клеточного ответа на повреждения ДНК (например, при облучении ультрафиолетом или гамма-радиацией). При этом убиквитинилирование p53 за счет Pirh2 ведет к его последующей протеасомной деградации.

Таким образом, Pirh2, снижая уровень содержания p53 в клетке, опосредованно подавляет экспрессию генов, регулируемых p53, ответственных за остановку клеточного цикла и апоптоз (Lee et al., 2012).

В нормальных тканях, как правило, Pirh2 присутствует в фосфорилированной форме, в то время как в большинстве опухолей он не фосфорилирован. Pirh2 фосфорилируется кальмодулинзависимой киназой II (CaMKII), после чего экспортируется в цитоплазму одновременно с автоубиквитинилированием, что в свою очередь ведет к стабилизации p53 (Duan et al., 2007). Интересным является тот факт, что уровень CaMKII снижен в раковых клетках (Tombes et al., 1999). Помимо прочего, Pirh2 избыточно экспрессируется в различных опухолях, в том числе при раке простаты, легких, молочной железы и др., и эта избыточная экспрессия не зависит от p53, что говорит об онкогенной роли этого белка (Duan et al., 2006; Wang et al., 2011).

Важно отметить, что Pirh2 также убиквитинилирует p73 — белок семейства p53, который играет роль онкосупрессора, активируя гены, ответственные за блок клеточного цикла и апоптоз (Jung et al., 2011; Wy et al., 2011).

Как и Mdm2, Pirh2 способен оказывать ингибирующее действие на p53 независимо от своей убиквитинилигазной функции. Было показано, что при умеренных повреждениях ДНК Pirh2 снижает фосфорилирование p53 комплексом аксин—НРК2 по остатку Ser-46, конкурируя с киназой НРК2 за связывание с аксином. Однако при летальных уровнях повреждения ДНК активируется белок Tip60, представляющий собой гистонацетилтранс-

феразу, которая ацетирует p53 в ДНК-связывающем домене и активирует его апоптотические свойства. При этом Tip60 конкурирует за связывание с аксином и блокирует ассоциацию аксина с Pirh2. В результате данных взаимодействий образуется комплекс аксин—Tip60—НРК2—p53, запускающий p53-опосредованный апоптоз (Li et al., 2009).

Недавние исследования показали, что помимо взаимодействия с p53 Pirh2 участвует в полиубиквитинилировании и протеасомной деградации онкогена с-Мус. Так, было показано, что у мышей, мутантных по *PIRH2*, наблюдаются повышение количества белка с-Мус в клетках, а также предрасположенность к дисплазии плазматических клеток и образованию опухолей (Hakem et al., 2011). Помимо этого, сниженная экспрессия гена *PIRH2* в опухолевых тканях при раке легких, яичников и молочной железы коррелирует с пониженной выживаемостью пациентов. Эти данные свидетельствуют в пользу онкосупрессорной функции Pirh2 (Hakem et al., 2011).

Белок COP1

Белок COP1 (constitutive photomorphogenesis protein 1 homolog) изначально был описан как ключевой регулятор процесса фотоморфогенеза у растений (Deng et al., 1991). COP1 также известен как RFWD2 (RING finger and WD repeat domain 2) и RNF200 (RING finger protein 200). Он состоит из аминоконцевого домена типа RING finger, центрального спирального домена и С-концевого WD-домена. Белок COP1 также содержит в своем составе NLS и может находиться как в ядре, так и в цитоплазме (Yi et al., 2002; Bianci et al., 2003).

Подобно Mdm2 экспрессия гена *COP1* активируется белком p53. Продукт гена *COP1* в свою очередь негативно регулирует p53 за счет убиквитинилирования. Действуя одновременно в нормальных условиях, Mdm2 и COP1 усиливают убиквитинилирующую активность друг друга, что позволяет регулировать уровень содержания p53 при клеточном росте и пролиферации (Dornan et al., 2004b). При стрессе происходит инактивация COP1. Например, в ответ на повреждение ДНК под действием ионизирующего излучения протеинкиназа АТМ фосфорилирует COP1 по остатку Ser-387, тем самым активируя экспорт COP1 из ядра в цитоплазму и его самоубиквитинилирование. В результате этого происходит деградация COP1, которая ведет к стабилизации и активации p53, остановке клеточного цикла и апоптозу (Dornan et al., 2006). Избыточная экспрессия COP1 характерна для 80 % случаев рака молочной железы, а также для примерно половины случаев аденокарцином яичников, что свидетельствует в пользу онкогенной природы белка COP1 (Dornan et al., 2004a).

Тем не менее недавние исследования показали, что COP1 в некоторых случаях может выступать как онкосупрессор. Действуя совместно с белками DET1 (de-etiolated 1), DDB1 (DNA damage binding protein 1), куллином 4A и Roc1, он запускает убиквитинилирование и деградацию онкобелка c-Jun (Wertz et al., 2004). COP1 также негативно регулирует онкогенные транскрипционные факторы ETV1, ETV4 и ETV5, которые избыточно экспрессируются при раке простаты (Vitari et al., 2011). Эти факты свидетельствуют в пользу онкосупрессирующей роли COP1. В связи с этим роль COP1 в процессе опухолевой трансформации, по-видимому, зависит от типа ткани и конкретных условий окружающей среды.

Белки CARP1 и CARP2

Белки семейства CARP (caspase-8- and caspase-10-associated RING proteins) были впервые описаны как ингибиторы апоптоза, связывающие и регулирующие DED-доменсодержащие каспазы (McDonald, El-Deiry, 2004).

Белок CARP1 также имеет названия RFI (RING finger homologous to inhibitor of apoptosis protein [IAP]) и RNF34. Белок CARP2 — продукт альтернативного сплайсинга гена *CARP1*, который также называется RNFL1 (RING finger and FYVE-like domain containing 1), RNF189 и RNF34L (RNF34-like). Белки семейства CARP включают в свой состав аминоконцевой домен FYVE-type zinc finger, два домена CID (caspase-interacting domains) в середине и C-концевой домен RING finger (Sasaki et al., 2002; Coumilleau et al., 2004).

Важно отметить, что белки CARP1 и CARP2 взаимодействуют с p53 и убиквитинилируют его в отсутствие Mdm2, приводя к последующей протеасомной деградации. Примечательно, что подобно Pirh2 белки CARP могут регулировать фосфорилированный и соответственно активированный p53. Например, при повреждении ДНК за счет обработки клеток ингибитором ДНК-топоизомеразы (адриамицином) происходит фосфорилирование p53 по Ser-20, при этом повышенная экспрессия белков CARP1 и CARP2 препятствует накоплению p53 в клетках. Таким образом, способность CARP регулировать активность фосфорилированного p53 дает основание рассматривать его как онкоген, который способен подавлять активность p53, вызываемую химиотерапией. Помимо этого, показано, что экспрессия белков CARP повышается при таких злокачественных новообразованиях, как рак пищевода (Yang et al., 2007).

Белок ARF-BP1

Белок ARF является альтернативным транскриптом онкосупрессорного локуса *Ink4a/ARF* (Lowe, Sherr, 2003; Sherr, 2006). Известно, что ARF ингибирует рост клеток в ответ на активацию онкогенов, зачастую используя p53-зависимый путь. Белок ARF напрямую взаимодействует с Mdm2, удерживая его в цитоплазме, не позволяя осуществлять деградацию p53. Такой механизм подавления активности Mdm2 приводит к стабилизации p53 и активации его онкосупрессорной функции.

Белок ARF-BP1 (ARF-binding protein 1) представляет собой самую большую по размеру E3-убиквитинлигазу (около 500 кДа), содержащую в своем составе HECT-домен. Эта лигаза была описана как главный белок, связывающийся с ARF в клетках человека (Chen et al., 2005; Zhong et al., 2005).

ARF-BP1 также имеет другие названия: HectH9 (HECT homologous protein 9), UREB1 (upstream regulatory element-binding protein 1), LASU1 (large structure of UREB1), Mule (MCL-1 ubiquitin ligase E3) и HUWE1 (HECT, UBA, and WWE domain-containing protein 1) (Adhikary et al., 2005; Chen et al., 2005; Liu et al., 2005; Zhong et al., 2005).

Как и Mdm2, ARF-BP1 непосредственно связывается с p53 и убиквитинилирует его. Важно отметить, что в присутствии ARF убиквитинлигазная активность ARF-BP1 ингибируется. Было показано, что снижение экспрессии ARF-BP1 с помощью РНК-интерференции приводит к стабилизации p53 и индуцирует апоптоз (Chen et al.,

2005). В свою очередь экспрессия ARF приводит к ингибированию роста даже в клеточных линиях, нокаутных одновременно по двум генам — *p53* и *Mdm2*. Это говорит о том, что онкосупрессорная функция ARF осуществляется независимо от p53 и Mdm2 (Weber et al., 2000; Kuo et al., 2003). Более того, подавление ARF-BP1 приводит к остановке роста клеток даже в линиях с отсутствующим геном *TP53*. Таким образом, по-видимому, ARF-BP1 является не только убиквитинлигазой для p53, но также является главной мишенью для белка ARF, который функционирует как p53-зависимый и независимый онкосупрессор (Weber et al., 2000; Kuo et al., 2003).

Гиперэкспрессия ARF-BP1 характерна для множества опухолевых тканей, в том числе клеточных линий рака молочной железы (Yoon et al., 2004; Adhikary et al., 2005). Примечательно, что дефекты в белке ARF-BP1 являются также причиной умственной отсталости типа синдрома Тернера (MRXST, mental retardation syndromic X-linked Turner type), известной еще как синдром умственной отсталости и макроцефалии (Froyen et al., 2008). Было показано, что нокауты по *arf-bp1* нежизнеспособны, а опыты по селективному выключению гена *arf-bp1* в бета-клетках поджелудочной железы мышей показали, что потеря *arf-bp1* приводит к развитию диабета (Kon et al., 2012). Вероятнее всего, плейотропность фенотипов инактивации ARF-BP1 обусловлена множественностью его мишеней убиквитинилирования, которые играют важную роль в различных биологических процессах.

Белок TOPORS

TOPORS — белок, связывающийся с топоизомеразой II. Этот белок известен еще и как p53BP3 (так как способен связываться с p53), и как LUN, который активно экспрессируется в тканях легких (Haluska et al., 1999; Chu et al., 2001). Структурными особенностями этого белка являются наличие аминоконцевого RING finger-домена, расположенного в центральной части молекулы, Arg/Ser-богатого мотива, включая NLS, а также 5 PEST-мотивов: 3 в аминоконцевой части и 2 — в карбоксильной. В норме TOPORS активно экспрессируется во многих тканях, в то время как при аденокарциномах прямой кишки, легких и мозга его количество в клетках снижено, что говорит о его онкосупрессорной функции (Saleem et al., 2004).

Это первый из описанных белков, сочетающих в себе убиквитинлигазную и сумолигазную активность. Он способен как убиквитинилировать, так и сумоилировать p53 (Weger et al., 2005). Белок сумо (Sumo, Small Ubiquitin-like Modifier) является структурным гомологом убиквитина и также ковалентно модифицирует остатки лизинов. Более того, в зависимости от его конкретной изоформы (Sumo-1 или Sumo-2/3) может происходить либо только моносумоилирование (в случае Sumo-1), либо олигосумоилирование (в случае Sumo-2/3) с образованием полисумоилированных цепочек (Geiss-Friedlander, Melchior, 2007).

Показано, что убиквитинилирование p53, опосредованное TOPORS, вызывает его последующую протеасомную деградацию, но не так активно, как в случае убиквитинилирования за счет Mdm2 (Rajendara et al., 2004). Напротив, избыточная экспрессия TOPORS стабилизирует p53, приводя к активации генов *p21* и *Bax*, что вызывает остановку клеточного цикла и апоптоз. В ответ на повреждение ДНК идет накопление TOPORS, что способст-

вует активации p53-опосредованного апоптоза в раковых клетках. Эти данные говорят об онкосупрессорной функции данного белка (Lin et al., 2005). Подтверждением этой гипотезы служит тот факт, что экспрессия TOPORS подвержена негативной регуляции во время образования и метастазирования рака легких. Однако до сих пор остается неясным, каким образом убиквитинлигазная активность TOPORS связана с его онкосупрессирующей функцией (Oyanagi et al., 2004; Saleem et al., 2004).

Синовиолин

Синовиолин (synoviolin) — синовиальный ингибитор апоптоза 1 (трансмембранный ингибитор апоптоза), расположенный в мембране эндоплазматического ретикулаума (ЭР). Это E3-убиквитинлигаза, впервые обнаруженная у дрожжей. Синовиолин еще известен как HRD1 (hydroxymethyl glutaryl CoA reductase degradation 1), так как его субстратом является фермент гидроксиметилглутарилкоэнзим-А-редуктаза. Белок состоит из аминоконцевого трансмембранного домена, центрального RING finger-домена и карбоксильного цитоплазматического домена (Kaneko et al., 2002; Amano et al., 2003; Nadar et al., 2003). Синовиолин депонирует p53 в структуры ЭР, что приводит к убиквитинилированию p53 и его протеасомной деградации (Yamasaki et al., 2006, 2007). Было показано, что обработка клеток человека малыми интерферирующими РНК, специфически подавляющими экспрессию синовиолина, в значительной степени продлевало жизнь p53 в этих клетках. Результаты этих экспериментов совпадали с данными, полученными на мышях, нокаутированных по синовиолину (Yamasaki et al., 2006, 2007).

Показано, что при мутациях в RING-домене синовиолин теряет способность убиквитинилировать p53 (Yamasaki et al., 2006). Так как активность синовиолина в свою очередь регулируется белками IRE (серин-треониновой киназой и эндонуклеазой) и ATF6 (транскрипционным фактором), которые реагируют на стресс ЭР, можно сделать вывод о том, что активность p53 при стрессе ЭР ингибируется через синовиолин (Yamasaki et al., 2007).

Белок CHIP

CHIP (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein) — кофактор, регулирующий функцию цитоплазматических шаперонов Hsc/Hsp70. Он содержит аминоконцевой TRP-домен и U-box-домен на C-конце, который по своей структуре похож на RING finger-домен (Min et al., 2008). Основной функцией CHIP является убиквитинилирование неправильно сложенных белков (McDonough, Patterson, 2003). Помимо этого, он вовлечен в образование белковых агрегатов, характерных для многих нейродегенеративных заболеваний. Однако само образование агрегатов представляется очень сложным и малоизученным процессом (Love, Grossman, 2012).

CHIP, действуя совместно с шаперонами Hsp70 и Hsp90, убиквитинилирует p53, что приводит к его деградации в протеасомах. Таким образом, снижением уровня белка p53 осуществляется негативная регуляция p53-опосредованной транскрипции (Esser et al., 2005). Основное отличие CHIP от остальных p53-модифицирующих убиквитинлигаз состоит в том, что он взаимодействует только с мутантными вариантами p53.

Механизмы регуляции активности CHIP еще не до конца изучены, однако недавние исследования показали связь белков, участвующих в кальциевом сигналинге, с CHIP-опосредованной деградацией p53. Так, например, избыточная экспрессия белка Ca²⁺/S100 препятствует убиквитинилированию мутантной формы p53 CHIP-шаперонным комплексом (Shimamoto et al., 2012).

Другими белками, ассоциированными с шаперонами и подвергающимися CHIP-опосредованному убиквитинилированию, являются глюкокортикоидный рецептор (Connell et al., 2000; Demand et al., 2001), онкогенная рецепторная тирозинкиназа ErbB (Xu et al., 2002), муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости (Meacham et al., 2000) и гиперфосфорилированный таубелок (Petrucci et al., 2004; Shimura et al., 2004).

Белковый комплекс SCF^{JFK}

SCF (Skp1-Cull1-F-box) представляет собой убиквитинлигазный комплекс, состоящий из четырех белков — Skp1, Cull1/Cdc53, Roc1/Rbx1/Hrt1 и белка F-box. Белок Cull1 (куллин 1) выполняет функцию каркаса, связывая своим карбоксильным концом белок Rbx1, который необходим для привлечения E2-убиквитинлигазы. Аминоконец куллина взаимодействует с белком Skp1, который в свою очередь связывает белок F-box, отвечающий за специфичность к субстрату (Cardozo, Pagano, 2004).

У человека обнаружено 68 различных белков F-box, однако JFK (just one F-box- and Kelch-domain contain protein) — единственный из них, который содержит в своем составе домен Кельха. Эти повторяющиеся домены формируют структуру из антипараллельных бета-поверхностей, позволяющую осуществлять белок-белковые взаимодействия. JFK еще имеет название FBXO42 (F-box protein 42).

В составе комплекса SCF белок JFK участвует в негативной регуляции p53. При этом он распознает только те молекулы p53, которые фосфорилированы в центральном ДНК-связывающем домене. Более того, JFK не способен связываться с p53, в котором присутствуют точечные мутации S149A/T150V/T155V, обнаруженные в некоторых типах опухолей шеи, легких и поджелудочной железы (Satiya et al., 2013). Таким образом, JFK специфически способствует разрушению p53 дикого типа и сохраняет мутантный p53, что дает основания предполагать, что JFK является протоонкогеном.

Известно, что экспрессия самого JFK регулируется p53 и таким образом осуществляется система взаимной обратной регуляции этих двух белков.

При подавлении экспрессии JFK за счет РНК-интерференции p53 стабилизируется, что приводит к остановке клеточного цикла и запуску апоптоза. Так как SCF-лигазы играют критическую роль в контроле клеточного цикла, в частности перехода из G₁- в S-фазу, можно предположить, что JFK отвечает за прогрессию клеточного цикла за счет регуляции уровня p53 в нормальных клетках (Sun et al., 2009).

Белок MKRN1

Ген *MKRN1* (Makorin RING finger protein 1) принадлежит к семейству генов *MKRN*, которые обычно не содержат в своем составе интронов и не подвергаются имп-

ринтингу. В отличие от других членов этого семейства *MKRN1* представляет собой первый обнаруженный ген, содержащий в своем составе интрон.

Белок *MKRN1* имеет еще название RNF61. Как и *Mdm2*, он убиквитинилирует p53 в нормальных условиях. Интересным является тот факт, что при повреждении ДНК *MKRN1* убиквитинилирует в основном не сам p53, а его мишень — ген p21 (ингибитор клеточного цикла), что в свою очередь является сигналом для запуска p53-опосредованного апоптоза (Lee et al., 2009).

Белки TRIM24 и TRIM39

Для белков семейства TRIM (tripartite motif protein) характерно присутствие в своем составе аминоконцевого тройного мотива, состоящего из RING-домена, одного или двух В-бок-доменов и альфа-спирального домена (Nisole et al., 2005). Белок TRIM24 помимо тройного мотива имеет также PHD-домен и бромодомен на карбоксильном конце. Эти домены отвечают за связывание с ДНК и позволяют TRIM24 выполнять функцию супрессора транскрипции. Фермент TRIM24 является убиквитинлигазой, специфически модифицирующей p53, что приводит к его деградации за счет протеасом. Исследования, выполненные на плодовых мушках *Drosophila*, нокаутах по гену *bonus* (гомологу *TRIM24*), выявили повышенное содержание D-p53 в клетках этих организмов и высокий уровень апоптоза относительно контроля (Allton et al., 2009). Соответственно можно предполагать, что гомолог TRIM24 у *Drosophila* участвует в деградации p53.

При этом необходимо отметить, что аттенуация экспрессии гена *TRIM24* у мышей, несмотря на стабилизацию p53, приводит к повышенной пролиферации гепатоцитов. Этот фенотип связывают с нарушением сигнального пути, в котором в норме TRIM24 ингибирует транскрипцию генов-мишеней α -рецептора ретиноевой кислоты, экспрессия которых приводит к повышенной пролиферации. Гиперпролиферация гепатоцитов у таких мышей приводит к образованию гепатокарцином (Хуе et al., 2007). Эти данные говорят о неоднозначной роли TRIM24 в процессе онкогенеза и свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в этой области.

Другой белок, TRIM39, представляет собой убиквитинлигазу, которая способна ингибировать комплекс стимуляции анафазы APC/C при повреждениях ДНК, приводя к остановке клеточного цикла (Huang et al., 2012).

Показано, что TRIM39 способен полиубиквитинилировать p53 *in vitro* и *in vivo*, что является сигналом для его последующей протеасомной деградации (Zhang et al., 2012). При сниженной экспрессии TRIM39 наблюдается увеличение количества p53 и увеличение периода его полужизни в клетке. Данное событие сопровождается повышением экспрессии p21 — эффектора p53. Интересным представляется факт, что в опухолевых клетках, нечувствительных к терапии ингибиторами *Mdm2*, инактивация TRIM39 тем не менее способствует повышению уровня апоптоза (Zhang et al., 2012).

Таким образом, белки TRIM24, TRIM39, а возможно, и другие члены этого семейства являются потенциальными мишенями для терапии злокачественных новообразований, нечувствительных к препаратам против *Mdm2*.

E3-убиквитинлигазы, не участвующие в протеасомной деградации p53

Все описанные выше E3-лигазы убиквитинилируют p53 для дальнейшей его деградации в протеасомах. Помимо этого, в клетках млекопитающих существуют такие E3-лигазы, которые катализируют убиквитинилирование p53, но не вызывают протеасомной деградации последнего.

Стоит еще раз подчеркнуть, что, как правило, деградации в протеасомах предшествует полиубиквитинилирование p53, в то время как моноубиквитинилирование не связано с разрушением в протеасомах.

Ubc3 в основном работает как E2-фермент, участвующий в синтезе полиубиквитиновых цепей, связанных с Lys-63, однако он способен проявлять и E3-убиквитинлигазную активность в отсутствие E3-посредников, модифицируя p53 по Lys-48 и Lys-63 (Laine et al., 2006). Избыточная экспрессия Ubc3 стабилизирует p53, увеличивая период его полужизни, что свидетельствует о стабилизирующей функции протеасомнезависимого убиквитинилирования (Lee, Gu, 2010).

Белок WWP1 (WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1) убиквитинилирует p53, приводя к стабилизации последнего (Laine, Ronai, 2006). Показано, что избыточная экспрессия WWP1 вызывает изменение локализации p53 в клетке — он экспортируется из ядра в цитоплазму.

В обратном направлении действует E4F1 (E4F transcription factor 1). Олигоубиквитинилируя p53, фактор не только удерживает p53 в ядре, но и способствует связыванию его с хроматином (Le Cam et al., 2006). Примечательно, что E4F1 убиквитинилирует p53 по остаткам лизинов, которые также являются мишенями для ацетилтрансферазы PCAF и отличаются от сайтов убиквитинилирования для *Mdm2*. Соответственно убиквитинилирование лизиновых остатков (K319, 320 и 321) за счет E4F1 приводит к активации p53 и остановке клеточного цикла (Lee et al., 2012).

Белок MSL2 (male-specific lethal 2) представляет собой еще одну недавно описанную E3-убиквитинлигазу, которая модифицирует p53. Подобно *Mdm2* она моноубиквитинилирует p53 по Lys351 и Lys357, активируя его транспорт из ядра в цитоплазму (Kruse, Gu, 2009).

Показано, что куллин 7, гомолог белка PARC, удерживающего p53 в цитоплазме, способен моно- и диубиквитинилировать p53, снижая его трансактивационную способность, но не вызывая при этом его деградации на уровне белка (Andrew et al., 2006). Независимые исследования ставят под вопрос данные об участии куллина 7 в убиквитинилировании p53, хотя и подтверждают, что куллин 7 является ингибитором транскрипционной активности p53. По-видимому, существуют альтернативный, убиквитиннезависимый механизм ингибирования p53 за счет куллина 7 (Jung et al., 2007).

Так, например, было показано, что куллин 7 вызывает олигомеризацию p53 в цитоплазме (Kaustov et al., 2007), что может приводить к снижению эффективности его транспорта в ядро, поскольку известно, что тетрамеры p53 хуже импортируются в ядро по сравнению с его отдельными мономерами (Liang, Claker, 2001). Таким образом, куллин 7 потенциально способен регулировать активность транскрипционного фактора p53 за счет влияния на его олигомеризацию (Jung et al., 2007).

Убиквитинилирование p63 и p73

Белки p63 и p73 являются структурными гомологами p53. Все три члена семейства транскрипционных факторов p53 имеют сходную доменную структуру: в их состав входят аминоконцевой трансактивационный домен, центральный ДНК-связывающий домен и олигомеризационный домен в карбоксильном конце. Сходство аминокислотной последовательности ДНК-связывающих доменов у p63 и p53 составляет 60 %, а у p73 и p53 — 63 % (Levrero et al., 2000).

Известно, что белок p63 играет важную роль в формировании различных типов эпителиев (Mills et al., 1999; Yang et al., 1999; Senoo et al., 2007), а мыши-нокауты по соответствующему гену гибнут в неонатальном периоде (Mills 1999; Yang et al., 1999). Нокауты по гену *p73* жизнеспособны, однако у них наблюдаются значительные дефекты в развитии центральной нервной системы (Pozniak 2000).

Благодаря структурной гомологии между членами семейства белки p53, p63 и p73 способны образовывать не только гомо-, но и гетероолигомеры между собой, связываться с ДНК, трансактивировать гены-мишени p53 и участвовать в процессах апоптоза, клеточного старения и остановке клеточного цикла в ответ на повреждения ДНК (Jost et al., 1997; De Laurenzi et al., 1998; Yang et al., 1998; Melino et al., 2004; Keyes et al., 2005). Например, для p73 было показано, что он, как и p53, способен активировать проапоптотический ген *PUMA* (p53up-regulated modulator of apoptosis).

Белки p63 и p73 наряду с p53 способны активировать ген, кодирующий тирозинкиназу EphA2, которая участвует в ингибировании клеточной адгезии и пролиферации, а также является проапоптотическим белком (Dohn et al., 2001a). Помимо этого, общими мишенями для белков семейства p53 являются p21 (активатор апоптоза и онкосупрессор) (Lee, La Thangue, 1999; Dohn et al., 2001b), белок GADD45 (growth arrest and DNA damage inducible protein), участвующий в остановке клеточного цикла и активации репарации ДНК (Lee, La Thangue, 1999; Yu et al., 1999), и многие другие белки, играющие важную роль в процессах, протекающих в клетке (Levrero et al., 2000; Harms et al., 2004).

Необходимо отметить, что мутантные формы p53 также связываются с белками p63 и p73 и вызывают аберрантную активацию генов-мишеней, отвечающих, наоборот, за выживание раковых клеток (Oren, Rotter, 2010). Таким образом, взаимодействия p53 с p63 и p73 играют двоякую роль в выживании и пролиферации раковых клеток: ассоциация с диким типом p53 приводит к апоптозу, а с мутантным p53 — к выживанию (Gaiddon et al., 2001; Strano et al., 2002; Liu et al., 2011; Neilsen et al., 2011; Martynova et al., 2012).

В регуляции активности p63 и p73, как и p53, важную роль играют E3-убиквитинлигазы. Некоторые из них являются общими для всех членов p53-семейства. Так, Mdm2 и MdmX — главные убиквитинлигазы, регулирующие p53, способны также связываться и с p73. Однако это взаимодействие не приводит к убиквитинилированию и протеасомной деградации p73 (Ongkeko et al., 1999; Kadakia et al., 2001). Результатом убиквитинилирования является перемещение p73 в межхроматиновые гранулы — спеклы, где активность p73 как транскрипционного фактора ингибируется за счет блокировки взаимодействия с p300/CBP и другими кофакторами транскрипции (Dobbelstein et al., 1999; Zeng et al., 1999).

По поводу взаимодействия Mdm2 и MdmX с p63 существуют противоречивые сообщения. Некоторые исследователи сообщают об отсутствии взаимодействия между p63 и Mdm2/MdmX (Wang et al., 2001; Okada et al., 2002), в то время как другие обнаруживают в клетках комплексы p63 с Mdm2 и предлагают различные, иногда противоречащие друг другу гипотезы влияния Mdm2 на p63. Так, существует предположение о том, что Mdm2 ингибирует апоптотическую функцию p63, активируя его экспорт из ядра (Kadakia et al., 2001), в то же время другие исследователи сообщают о повышении уровня транскрипции p63 в результате взаимодействия с Mdm2, делая вывод о том, что Mdm2 способствует активации p63 (Calabrò et al., 2002).

Известно, что в аминокислотной последовательности p63 присутствует мотив, отвечающий за взаимодействие с Mdm2, что свидетельствует в пользу существования комплекса p63 с Mdm2 в клетке. Однако данные экспериментов по молекулярному моделированию позволяют предположить, что аминокислоты в аминоконцевой части белка могут существенно ослаблять, если не полностью разрушать это взаимодействие (Madhumalar et al., 2009). Соответственно вопрос о функциональной значимости взаимодействия между p63 и Mdm2 остается открытым.

Белок WWP1 представляет собой еще одну общую убиквитинлигазу для всех белков семейства p53. WWP1, связываясь с мотивом PY (богатым пролином), располагающимся в карбоксильном конце белка p63, убиквитинилирует последний с последующей протеасомной деградацией всего белка (Li et al., 2008b). Присутствие такого же мотива в структуре p73 также позволяет предположить возможность его связывания с WWP1 (Collavin et al., 2010).

Для p73 показано, что он также является мишенью другой E3-лигазы, Pirh2, которая вызывает его полиубиквитинилирование и последующую протеасомную деградацию. При нокауте гена *Pirh2* происходит восстановление p73-опосредованной транскрипции генов, отвечающих за супрессию роста клеток (Jung et al., 2011; Wu et al., 2011).

E3-убиквитинлигаза ИТСН специфически связывается с p63 и p73, но не с p53, полиубиквитинилирует их, вызывая деградацию в протеасомах. При нормальных физиологических условиях ИТСН поддерживает низкий уровень p63 и p73, в то время как при генотоксическом стрессе количество p63 и p73 в клетке увеличивается, что может происходить в результате ингибирования убиквитин-лигазной активности ИТСН (Rossi et al., 2005; Rossi et al., 2006).

Известно также, что при стрессе взаимодействие между p73 и ИТСН разрушается белком YAP-1 (Yes-associated protein 1), который конкурирует с ИТСН за связывание p73. Таким образом контролируется количество белка p73 в условиях генотоксического стресса (Levy et al., 2007). Известно, что YAP-1 также способен связываться и с p63 (Strano et al., 2001). Тем не менее пока непонятно, влияет ли YAP-1 на взаимодействие между p63 и ИТСН по тому же механизму, что и в случае p73. Если бы это было так, то YAP-1 можно было бы считать главным регулятором активности p63/p73, осуществляющим свою функцию независимо от p53 (Collavin et al., 2010).

Заключение

К настоящему времени у млекопитающих открыто около 20 различных E3-убиквитинлигаз, мишенью которых являются белки семейства p53. По своей функции

все они могут быть разделены на две группы: к первой группе можно отнести ферменты, отвечающие за деградацию p53 в протеасомах, а ко второй — ферменты, отвечающие за независимую от протеасом регуляцию активности p53, например за его локализацию в клетке (см. таблицу). При том что в настоящее время известно 617 различных E3-убиквитинлигаз (Li et al., 2008a), вполне вероятно, что будут найдены новые E3-лигазы, убиквити-нилирующие p53 в ответ на определенные условия.

Очевидно, что убиквити-нирование и модификации p53 убиквитин-подобными белками активно используются клеткой как в нормальном физиологическом состоянии, так и в условиях стресса, однако не все стороны этих процессов одинаково хорошо изучены. Принимая во внимание ключевую роль p53 в защите организма от неконтролируемого деления клеток, можно утверждать, что каждая деталь в процессе управления активностью p53 важна и может сыграть решающую роль в поиске способов контроля и коррекции опухолеобразования.

Поэтому важно не только идентифицировать новые E3-убиквитинлигазы, катализирующие убиквити-нирование p53, но и определить специфические условия, при которых активна та или иная E3-лигаза, а также механизмы регуляции ее активности по отношению к p53. Полученная информация позволит более рационально подходить к дизайну фармакологических ингибиторов определенных убиквитинлигаз для усиления онкосупрессорного действия p53 в опухолевых клетках.

Список литературы

Adhikary S., Marinoni F., Hock A., Hulleman E., Popov N., Beier R., Bernard S., Quarto M., Capra M., Goettig S. 2005. The ubiquitin ligase HectH9 regulates transcriptional activation by Myc and is essential for tumor cell proliferation. *Cell*: 123 : 409—421.

Akakura S., Yoshida M., Yoneda Y., Horinouchi S. 2001. A role for Hsc70 in regulating nucleocytoplasmic transport of a temperature-sensitive p53 (p53Val-135). *J. Biol. Chem.* 276 : 14 649—14 657.

Allton K., Jain A. K., Herz H.-M., Tsai W.-W., Jung S. Y., Qin J., Bergmann A., Johnson R. L., Barton M. C. 2009. Trim24 targets endogenous p53 for degradation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 106 : 11 612—11 616.

Amano T., Yamasaki S., Yagishita N., Tsuchimochi K., Shin H., Kawahara K.-i., Aratani S., Fujita H., Zhang L., Ikeda R. 2003. Synoviolin/Hrd1, an E3 ubiquitin ligase, as a novel pathogenic factor for arthropathy. *Genes Develop.* 17 : 2436—2449.

Anderson C. W., Appella E., Bradshaw R., Dennis E. 2011. Signaling to the p53 tumor suppressor through pathways activated by genotoxic and nongenotoxic stress. In: *Regulation in organella and cell compartment signaling*. New York. Acad. Press. 235—254.

Andrews P., He Y., Xiong Y. 2006. Cytoplasmic localized ubiquitin ligase cullin 7 binds to p53 and promotes cell growth by antagonizing p53 function. *Oncogene.* 25 : 4534—4548.

Barboza J. A., Iwakuma T., Terzian T., El-Naggar A. K., Lozano G. 2008. Mdm2 and Mdm4 loss regulates distinct p53 activities. *Mol. Cancer Res.* 6 : 947—954.

Barlev N. A., Liu L., Chehab N. H., Mansfield K., Harris K. G., Halazonetis T. D., Berger S. L. 2001. Acetylation of p53 activates transcription through recruitment of coactivators/histone acetyltransferases. *Mol. Cell.* 8 : 1243.

Beitel L., Elhaji Y., Lumbroso R., Wing S., Panet-Raymond V., Gottlieb B., Pinsky L., Trifiro M. 2002. Cloning and characterization of an androgen receptor N-terminal-interacting protein with ubiquitin-protein ligase activity. *J. Mol. Endocrinol.* 29 : 41—60.

Bianchi E., Denti S., Catena R., Rossetti G., Polo S., Gasparini S., Putignano S., Rogge L., Pardi R. 2003. Characterization of

human constitutive photomorphogenesis protein 1, a RING finger ubiquitin ligase that interacts with Jun transcription factors and modulates their transcriptional activity. *J. Biol. Chem.* 278 : 19 682—19 690.

Brooks C. L., Gu W. 2011. P53 regulation by ubiquitin. *FEBS Lett.* 585 : 2803—2809.

Bueso-Ramos C. E., Yang Y., McCown P., Stass S., Albitar M. 1993. The human MDM-2 oncogene is overexpressed in leukemias. *Blood.* 82 : 2617—2623.

Calabrò V., Mansueto G., Parisi T., Vivo M., Calogero R. A., La Mantia G. 2002. The human MDM2 oncoprotein increases the transcriptional activity and the protein level of the p53 homolog p63. *J. Biol. Chem.* 277 : 2674—2681.

Cardozo T., Pagano M. 2004. The SCF ubiquitin ligase: insights into a molecular machine. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 5 : 739—751.

Chavez-Reyes A., Parant J. M., Amelse L. L., de Oca Luna R. M., Korsmeyer S. J., Lozano G. 2003. Switching mechanisms of cell death in mdm2 and mdm4-null mice by deletion of p53 downstream targets. *Cancer Res.* 63 : 8664—8669.

Chen D., Kon N., Li M., Zhang W., Qin J., Gu W. 2005. ARF-BP1/Mule is a critical mediator of the ARF tumor suppressor. *Cell.* 121 : 1071—1083.

Chu D., Kakazu N., Gorriñ-Rivas M. J., Lu H.-P., Kawata M., Abe T., Ueda K., Adachi Y. 2001. Cloning and characterization of LUN, a novel ring finger protein that is highly expressed in lung and specifically binds to a palindromic sequence. *J. Biol. Chem.* 276 : 14 004—14 013.

Collavin L., Lunardi A., Del Sal G. 2010. P53-family proteins and their regulators: hubs and spokes in tumor suppression. *Cell Death Differentiation.* 17 : 901—911.

Connell P., Ballinger C. A., Jiang J., Wu Y., Thompson L. J., Höhfeld J., Patterson C. 2000. The co-chaperone CHIP regulates protein triage decisions mediated by heat-shock proteins. *Nature Cell Biol.* 3 : 93—96.

Coumailleu F., Das V., Alcover A., Raposo G., Vandormael-Pournin S., Le Bras S., Baldacci P., Dautry-Varsat A., Babinet C., Cohen-Tannoudji M. 2004. Over-expression of Rifylin, a new RING finger and FYVE-like domain-containing protein, inhibits recycling from the endocytic recycling compartment. *Mol. Biol. Cell.* 15 : 4444—4456.

Cummins J. M., Vogelstein B. 2004. HAUSP is required for p53 destabilization. *Cell Cycle.* 3 : 687—690.

Deisenroth C., Zhang Y. 2010. Ribosome biogenesis surveillance: probing the ribosomal protein-Mdm2-p53 pathway. *Oncogene.* 29 : 4253—4260.

De Laurenzi V., Costanzo A., Barcaroli D., Terrinoni A., Falco M., Annicchiarico-Petruzzelli M., Levrero M., Melino G. 1998. Two new p73 splice variants, γ and δ , with different transcriptional activity. *J. Exp. Med.* 188 : 1763—1768.

Demand J., Alberti S., Patterson C., Höhfeld J. 2001. Cooperation of a ubiquitin domain protein and an E3 ubiquitin ligase during chaperone/proteasome coupling. *Curr. Biol.* 11 : 1569—1577.

Deng X.-W., Cadpar T., Quail P. H. 1991. Cop1: a regulatory locus involved in light-controlled development and gene expression in *Arabidopsis*. *Genes Develop.* 5 : 1172—1182.

Di Ventura B., Funaya C., Antony C., Knop M., Serrano L. 2008. Reconstitution of Mdm2-dependent post-translational modifications of p53 in yeast. *PLoS ONE.* 3 : e1507.

Dobbelstein M., Wienzek S., Koenig C., Roth J. 1999. Inactivation of the p53-homologue p73 by the mdm2-oncoprotein. *Oncogene.* 18 : 2101—2106.

Dohn M., Jiang J., Chen X. 2001a. Receptor tyrosine kinase EphA2 is regulated by p53-family proteins and induces apoptosis. *Oncogene.* 20 : 6503.

Dohn M., Zhang S., Chen X. 2001b. P63alpha and DeltaNp63alpha can induce cell cycle arrest and apoptosis and differentially regulate p53 target genes. *Oncogene.* 20 : 3193—3205.

Dornan D., Dheddah S., Newton K., Ince W., Frantz G. D., Dowd P., Koeppen H., Dixit V. M., French D. M. 2004a. COP1, the negative regulator of p53, is overexpressed in breast and ovarian adenocarcinomas. *Cancer Res.* 64 : 7226—7230.

- Dornan D., Shimizu H., Mah A., Dudhela T., Eby M., O'Rourke K., Seshagiri S., Dixit V. M. 2006. ATM engages autodegradation of the E3 ubiquitin ligase COP1 after DNA damage. *Science Signaling*. 313 : 1122—1126.
- Dornan D., Wertz I., Shimizu H., Arnott D., Frantz G. D., Dowd P., O'Rourke K., Koepfen H., Dixit V. M. 2004b. The ubiquitin ligase COP1 is a critical negative regulator of p53. *Nature*. 429 : 86—92.
- Duan S., Yao Z., Hou D., Wu Z., Zhu W.-g., Wu M. 2007. Phosphorylation of Pirh2 by calmodulin-dependent kinase II impairs its ability to ubiquitinate p53. *EMBO J.* 26 : 3062—3074.
- Duan W., Gao L., Wu X., Zhang Y., Otterson G. A., Villalona-Calero M. A. 2006. Differential response between the p53 ubiquitin-protein ligases Pirh2 and Mdm2 following DNA damage in human cancer cells. *Exp. Cell Res.* 312 : 3370—3378.
- Esser C., Scheffner M., Höhfeld J. 2005. The chaperone-associated ubiquitin ligase CHIP is able to target p53 for proteasomal degradation. *J. Biol. Chem.* 280 : 27 443—27 448.
- Fang S., Jensen J. P., Ludwig R. L., Vousden K. H., Weissman A. M. 2000. Mdm2 is a RING finger-dependent ubiquitin protein ligase for itself and p53. *J. Biol. Chem.* 275 : 8945—8951.
- Fedorova O. A., Moiseeva T. N., Nikiforova A. A., Tsimokha A. S., Livinskaya V. A., Hodson M., Bottrill A., Evteeva I. N., Ermolayeva J. B., Kuznetsova I. M. 2011. Proteomic analysis of the 20S proteasome (PSMA3)-interacting proteins reveals a functional link between the proteasome and mRNA metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 416 : 258—265.
- Feng Z., Hu W., de Stanchina E., Teresky A. K., Jin S., Lowe S., Levine A. J. 2007. The regulation of AMPK β 1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways. *Cancer Res.* 67 : 3043—3053.
- Finch R. A., Donoviel D. B., Potter D., Shi M., Fan A., Freed D. D., Wang C.-Y., Zambrowicz B. P., Ramirez-Solis R., Sands A. T. 2002. Mdmx is a negative regulator of p53 activity *in vivo*. *Cancer Res.* 62 : 3221—3225.
- Froyen G., Corbett M., Vandewalle J., Jarvela I., Lawrence O., Meldrum C., Bauters M., Govaerts K., Vandeleur L., Van Esch H. 2008. Submicroscopic duplications of the hydroxysteroid dehydrogenase HSD17B10 and the E3 ubiquitin ligase HUWE1 are associated with mental retardation. *Amer. J. Hum. Genet.* 82 : 432—443.
- Gaiddon C., Lokshin M., Ahn J., Zhang T., Prives C. 2001. A subset of tumor-derived mutant forms of p53 down-regulate p63 and p73 through a direct interaction with the p53 core domain. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 1874—1887.
- Geiss-Friedlander R., Melchior F. 2007. Concepts in sumoylation: a decade on. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8 : 947—956.
- Goldberg Z., Sionov R. V., Berger M., Zwang Y., Perets R., Van Etten R. A., Oren M., Taya Y., Haupt Y. 2002. Tyrosine phosphorylation of Mdm2 by c-Abl: implications for p53 regulation. *EMBO J.* 21 : 3715—3727.
- Grossman S. R., Deato M. E., Brignone C., Chan H. M., Kung A. L., Tagami H., Nakatani Y., Livingston D. M. 2003. Polyubiquitination of p53 by a ubiquitin ligase activity of p300. *Science Signaling*. 300 : 342—344.
- Gu W., Roeder R. G. 1997. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell*. 90 : 595—606.
- Hakem A., Bohgaki M., Lemmers B., Tai E., Salmena L., Matysiak-Zablocki E., Jung Y.-S., Karaskova J., Kaustov L., Duan S. 2011. Role of Pirh2 in mediating the regulation of p53 and c-Myc. *PLoS Gen.* 7 : e1002360.
- Haluska P., Saleem A., Rasheed Z., Ahmed F., Su E. W., Liu L. F., Rubin E. H. 1999. Interaction between human topoisomerase I and a novel RING finger/arginine-serine protein. *Nucleic Acids Res.* 27 : 2538—2544.
- Harms K., Nozell S., Chen X. 2004. The common and distinct target genes of the p63 family transcriptional factors. *Cell. Mol. Life Sci.* 61 : 822—842.
- Haupt Y., Maya R., Karaz A., Oren M. 1997. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature*. 387 : 296—299.
- Hershko A., Ciechanover A. 1998. The ubiquitin system. *Ann. Rev. Biochem.* 67 : 425—479.
- Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B., Harris C. C. 1991. P53 mutation in human cancers. *Science*. 253 : 49—53.
- Honda R., Tanaka H., Yasuda H. 1997. Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett.* 420 : 25—27.
- Huang N.-J., Zhang L., Tang W., Chen C., Yang C.-S., Kornbluth S. 2012. The Trim39 ubiquitin ligase inhibits APC/CCdh1-mediated degradation of the Bax activator MOAP-1. *J. Cell Biol.* 197 : 361—367.
- Jones S. N., Roe A. E., Donehower L. A., Bradley A. 1995. Rescue of embryonic lethality in Mdm2-deficient mice by absence of p53. *Nature*. 378 : 206—208.
- Jost C. A., Marin M. C., Kaelin W. G., jr. 1997. P73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature*. 389 : 191—194.
- Jung P., Verdoodt B., Bailey A., Yates J. R., Menssen A., Hermeeking H. 2007. Induction of cullin 7 by DNA damage attenuates p53 function. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 104 : 11 388—11 393.
- Jung Y.-S., Qian Y., Chen X. 2011. The p53 tumor suppressor is targeted by Pirh2 RING finger E3 ubiquitin ligase for the proteasome-dependent degradation. *J. Biol. Chem.* 286 : 35 388—35 395.
- Kadalkia M., Slader C., Berberich S. J. 2001. Regulation of p63 function by Mdm2 and MdmX. *DNA Cell Biol.* 20 : 321—330.
- Kamijo T., Weber J. D., Zambetti G., Zindy F., Roussel M. F., Sherr C. J. 1998. Functional and physical interactions of the ARF tumor suppressor with p53 and Mdm2. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95 : 8292—8297.
- Kamijo T., Zindy F., Roussel M. F., Quelle D. E., Downing J. R., Ashmun R. A., Grosveld G., Sherr C. J. 1997. Tumor suppression at the mouse INK4a locus mediated by the alternative reading frame product p19 ARF. *Cell*. 91 : 649—659.
- Kaneko M., Ishiguro M., Niinuma Y., Uesugi M., Nomura Y. 2002. Human HRD1 protects against ER stress-induced apoptosis through ER-associated degradation. *FEBS Lett.* 532 : 147—152.
- Kaustov L., Lukin J., Lemak A., Duan S., Ho M., Doherty R., Penn I. Z., Arrowsmith C. 2007. The conserved CPH domains of Cul7 and PARC are protein-protein interaction modules that bind the tetramerization domain of p53. *J. Biol. Chem.* 282 : 11 300—11 307.
- Kawaguchi Y., Ito A., Appella E., Yao T.-P. 2006. Charge modification at multiple C-terminal lysine residues regulates p53 oligomerization and its nucleus-cytoplasm trafficking. *J. Biol. Chem.* 281 : 1394—1400.
- Keyes W. M., Wu Y., Vogel H., Guo X., Lowe S. W., Mills A. A. 2005. P63 deficiency activates a program, of cellular senescence and leads to accelerated aging. *Genes Develop.* 19 : 1986—1999.
- Khosravi R., Maya R., Gottlieb T., Oren M., Shiloh Y., Shkedy D. 1999. Rapid ATM-dependent phosphorylation of MDM2 precedes p53 accumulation in response to DNA damage. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 14 973—14 977.
- Kon N., Zhong J., Qiang L., Accili D., Gu W. 2012. Inactivation of arf-bp1 induces p53 activation and diabetic phenotypes in mice. *J. Biol. Chem.* 287 : 5102—5111.
- Kruse J.-P., Gu W. 2009. MSL2 promotes Mdm2-independent cytoplasmic localization of p53. *J. Biol. Chem.* 284 : 3250—3263.
- Kubbutat M. H., Jones S. N., Vousden K. H. 1997. Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature*. 387 : 299—303.
- Kulichkova V. A., Fedorova O. A., Tsimokha A. S., Moiseeva T. N., Bottrill A., Lezina L., Gauze L. N., Konstantinova I. M., Mittenberg A. G., Barlev N. A. 2010. 26S proteasome exhibits endoribonuclease activity controlled by extra-cellular stimuli. *Cell Cycle*. 9 : 840—849.
- Kulikova R., Boehme K. A., Blattner C. 2005. Glycogen synthase kinase 3-dependent phosphorylation of Mdm2 regulates p53 abundance. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 7170—7180.
- Kuo M.-L., Duncavage E. J., Mathew R., den Besten W., Pei D., Naeve D., Yamamoto T., Cheng C., Sherr C. J., Roussel M. F. 2003. Arf induces p53-dependent and independent antiproliferative genes. *Cancer Res.* 63 : 1046—1053.

- Laine A., Ronai Z. E. 2006. Regulation of p53 localization and transcription by the HECT domain E3 ligase WWP1. *Oncogene*. 26 : 1477—1483.
- Laine A., Topisirovic I., Zhai D., Reed J. C., Borden K. L., Ronai Z. e. 2006. Regulation of p53 localization and activity Ubc13. *Mol. Cell. Biol.* 26 : 8901—8913.
- Le Cam L., Linares L. K., Paul C., Julien E., Lacroix M., Hatchi E., Triboulet R., Bossis G., Shmueli A., Rodriguez M. S., Coux O., Sardet C. 2006. E4F1 is an atypical ubiquitin ligase that modulates p53 effector functions independently of degradation. *Cell*. 127 : 775—788.
- Lee C.-W., La Thangue N. B. 1999. Promoter specificity and stability control of the p53-related protein p73. *Oncogene*. 18 : 4171—4181.
- Lee E.-W., Lee M.-S., Camus S., Ghim J., Yang M.-R., Oh W., Ha N.-C., Lane D. P., Song J. 2009. Differential regulation of p53 and p21 by MKRN1 E3 ligase controls cell cycle arrest and apoptosis. *EMBO J.* 28 : 2100—2113.
- Lee J. T., Gu W. 2010. The multiple levels of regulation by p53 ubiquitination. *Cell Death Differentiation*. 17 : 86—92.
- Lee S. W., Seong M. W., Jeon Y. J., Chung C. H. 2012. Ubiquitin E3 ligases controlling p53 stability. *Animal Cells Systems*. 16 : 173—182.
- Leng R. P., Lin Y., Ma W., Wu H., Lemmers B., Chung S., Parrant J. M., Lozano G., Hakem R., Benchimol S. 2003. Pirh2, a p53-induced ubiquitin-protein ligase, promotes p53 degradation. *Cell*. 112 : 779—791.
- Levine A. J., Momand J., Finlay C. A. 1991. The p53 tumour suppressor gene. *Nature*. 351 : 453.
- Levretero M., De Laurenzi V., Costanzo A., Gong J., Wang J., Melino G. 2000. The p53/p63/p73 family of transcription factors: overlapping and distinct functions. *J. Cell Sci.* 113 : 1661—1670.
- Levy D., Adamovich Y., Reuven N., Shaul Y. 2007. The Yes-associated protein 1 stabilized p73 by preventing Itch-mediated ubiquitination of p73. *Cell Death Differentiation*. 14 : 743—751.
- Li M., Brooks C. L., Kon N., Gu W. 2004. A dynamic role of HAUSP in the p53-Mdm2 pathway. *Mol. Cell*. 13 : 879—886.
- Li M., Brooks C. L., Wu-Baer F., Chen D., Baer R., Gu W. 2003. Mono-versus polyubiquitination: differential control of p53 fate by Mdm2. *Science Signaling*. 302 : 1972—1975.
- Li M., Chen D., Shiloh A., Luo J., Nikolaev A. Y., Qin J., Gu W. 2002. Deubiquitination of p53 by HAUSP is an important pathway for p53 stabilization. *Nature*. 416 : 648—653.
- Li Q., Lin S., Wang X., Lian G., Lu Z., Guo H., Ruan K., Wang Y., Ye Z., Han J. 2009. Axin determines cell fate by controlling the p53 activation threshold after DNA damage. *Nature Cell Biol.* 11 (9) : 1128—1134.
- Li W., Bengtson M. H., Ulbrich A., Matsuda A., Reddy V. A., Orth A., Chanda S. K., Batalov S., Joazeiro C. A. 2008a. Genome-wide and functional annotation of human E3 ubiquitin ligases identifies MULAN, a mitochondrial E3 that regulates the organelle's dynamics and signaling. *PLoS ONE*. 3 : e1487.
- Li Y., Zhou Z., Chen C. 2008b. WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 targets p63 transcription factor ubiquitin-mediated proteasomal degradation and regulates apoptosis. *Cell Death Differentiation*. 15 : 1941—1951.
- Liang S. H., Clarke M. F. 2001. Regulation of p53 localization. *Eur. J. Biochem.* 268 : 2779—2783.
- Lin L., Ozaki T., Takada Y., Kageyama H., Nakamura Y., Hata A., Zhang J.-H., Simonds W. F., Nakagawara A., Koseki H. 2005. Topors, a p53 and topoisomerase I-binding RING finger protein, is a coactivator of p53 in growth suppression induced by DNA damage. *Oncogene*. 24 : 3385—3396.
- Liu K., Ling S., Lin W.-C. 2011. TopBP1 mediates mutant p53 gain of function through NF-Y and p63/p73. *Mol. Cell. Biol.* 31 : 4464—4481.
- Liu Z., Oughtred R., Wing S. S. 2005. Characterization of E3Histone, a novel testis ubiquitin protein ligase which transcribes histones. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 2819—2831.
- Love I. M., Grossman S. R. 2012. It takes 15 to tango making sense of the many ubiquitin ligases of p53. *Genes Cancer*. 3 : 249—263.
- Lowe S. W., Sherr C. J. 2003. Tumor suppression by *Ink4a—Arf*: progress and puzzles. *Curr. Opin. Gen. Develop.* 13 : 77—83.
- Madhumalar A., Jun L. H., Brown C. J., Lane D. P., Verma C. S. 2009. Design of a novel MDM2 binding peptide based on the p53 family. *Cell Cycle*. 8 : 2828—2836.
- Martynova E., Pozzi S., Basile V., Dolfini D., Zambelli F., Imbriano C., Pavesi G., Mantovani R. 2012. Gain-of-function p53 mutants have widespread genomic locations partially overlapping with p63. *Oncotarget*. 3 : 132.
- Maya R., Balass M., Kim S.-T., Shkedy D., Leal J.-F. M., Shifman O., Moas M., Buschmann T., Ronai Z., Shiloh Y. 2001. ATM-dependent phosphorylation of Mdm2 on serine 395: role in p53 activation by DNA damage. *Genes Develop.* 15 : 1067—1077.
- Mayo L. D., Donner D. B. 2001. A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway promotes transcription of Mdm2 from the cytoplasm to the nucleus. *Science Signaling*. 98 : 11 598.
- Mayo L. D., Turchi J. J., Berberich S. J. 1997. Mdm-2 phosphorylation by DNA-dependent protein kinase prevents interaction with p53. *Cancer Res.* 57 : 5013—5016.
- McDonald E. R., El-Deiry W. S. 2004. Suppression of caspase-8 and -10-associated RING proteins results in sensitization to death ligands and inhibition of tumor cell growth. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 6170—6175.
- McDonough H., Patterson C. 2003. CHIP: a link between the chaperone and proteasome systems. *Cell Stress Chaperones*. 8 : 303—308.
- Meacham G. C., Patterson C., Zhang W., Younger J. M., Cyr D. M. 2000. The Hsc70 co-chaperone CHIP targets immature CFTR for proteasomal degradation. *Nature Cell Biol.* 3 : 100—105.
- Meek D. W., Anderson C. W. 2009. Posttranslational modification of p53: cooperative integrators of function. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a000950.
- Meek D. W., Knippschild U. 2003. Posttranslational modification of MDM2. *Mol. Cancer Res.* 1 : 1017—1026.
- Melino G., Bernassola F., Ranalli M., Yee K., Zong W. X., Corazzari M., Knight R. A., Green D. R., Thompson C., Vousden K. H. 2004. P73 induces apoptosis via PUMA transactivational and Bax mitochondrial transcription. *J. Biol. Chem.* 279 : 8076—8083.
- Menendez D., Inga A., Resnick M. A. 2009. The expanding universe of p53 targets. *Nature Rev. Cancer*. 9 : 724—737.
- Migliorini D., Denchi E. L., Danovi D., Jochemsen A., Capillo M., Gobbi A., Helin K., Pelicci P. G., Marine J.-C. 2002. Mdm4 (Mdmx) regulates p53-induced growth arrest and neuronal cell death during early embryonic mouse development. *Mol. Cell. Biol.* 22 : 5527—5538.
- Mills A. A., Zheng B., Wang X.-J., Vogel H., Roop D. R., Bradley A. 1999. P63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature*. 398 : 708—713.
- Min J.-N., Whaley R. A., Sharpless N. E., Lockyer P., Portbury A. L., Patterson C. 2008. CHIP deficiency decreases longevity, with accelerated aging phenotypes accompanied by altered protein quality control. *Mol. Cell. Biol.* 28 : 4018—4025.
- Mittenberg A. G., Moiseeva T., Barlev N. 2008. Role of proteasomes in transcription and their regulation by covalent modifications. *Front. Biosci.* 13 : 7184—7192.
- Montenarh M. 1992. Biochemical properties of the growth suppressor/oncoprotein p53. *Oncogene*. 7 : 1673.
- Morgunkova A., Barlev N. A. 2006. Lysine methylation goes global. *Cell Cycle*. 5 : 1308—1312.
- Nadav E., Shmueli A., Barr H., Gonen H., Ciechanover A., Reiss Y. 2003. A novel mammalian endoplasmic reticulum ubiquitin ligase homologous to the yeast Hrd1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 303 : 91—97.
- Nielsen P. M., Noll J. E., Suetani R. J., Schulz R. B., Al-Ejeh F., Evdokiou A., Lane D. P., Callen D. F. 2011. Mutant p53 uses p63 as a molecular chaperone to alter gene expression and induce a pro-invasive secretome. *Oncotarget*. 2 : 1203.
- Nisole S., Stoye J. P., Saïb A. 2005. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence. *Nature Rev. Microbiol.* 3 : 799—808.

- Okada Y., Osada M., Kurata S.-i., Sato S., Aisaki K.-i., Kageyama Y., Kihara K., Ikawa Y., Katoh I. 2002. P53 gene family p51 (p63)-encoded, secondary transactivator p51B (TAp63 α) occurs without forming an immunoprecipitable complex with MDM2, but responds to genotoxic stress by accumulation. *Exp. Cell Res.* 276 : 194—200.
- Oliner J., Kinzler K., Meltzer P., George D., Vogelstein B. 1992. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature.* 358 (6381) : 80—83.
- Ongkeko W. M., Wang X. Q., Siu W. Y., Lau A. W., Yamashita K., Harris A. L., Cox L. S., Poon R. Y. 1999. MDM2 and MDMX bind and stabilize the p53-related protein p73. *Curr. Biol.* 9 : 829—832.
- Oren M., Rotter V. 2010. Mutant p53 gain-of-function in cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a001107.
- Oyanagi H., Takenaka K., Ishikawa S., Kawano Y., Adachi Y., Ueda K., Wada H., Tanaka F. 2004. Expression of LUN gene that encodes a novel RING finger protein is correlated with development and progression of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 46 (1) : 21—28.
- Parant J., Chavez-Reyes A., Little N. A., Yan W., Reinke V., Jochemsen A. G., Lozano G. 2001. Rescue of embryonic lethality in Mdm4-null mice by loss of Trp53 suggests a nonoverlapping pathway with MDM2 to regulate p53. *Nature Gen.* 29 : 92—95.
- Petruccioli L., Dickson D., Kehoe K., Taylor J., Snyder H., Grover A., De Lucia M., McGowan E., Lewis J., Prihar G. 2004. CHIP and Hsp70 regulate tau ubiquitination, degradation and aggregation. *Hum. Mol. Genet.* 13 : 703—714.
- Pickart C. M. 2001. Mechanisms underlying ubiquitination. *Ann. Rev. Biochem.* 70 (1) : 503—533.
- Pomerantz J., Schreiber-Agus N., Liégeois N. J., Silverman A., Alland L., Chin L., Potes J., Chen K., Orlow I., Lee H.-W. 1998. The *Ink4a* tumor suppressor gene product, p19^{arf}, interacts with MDM2 and neutralizes MDM2's inhibition of p53. *Cell.* 92 : 713—723.
- Poyurovsky M. V., Priest C., Kentsis A., Borden K. L., Pan Z.-Q., Pavletich N., Prives C. 2006. The Mdm2 RING domain C-terminus is required for supramolecular assembly and ubiquitin ligase activity. *EMBO J.* 26 : 90—101.
- Pozniak C. D., Radinovic S., Yang A., McKeon F., Kaplan D. R., Miller F. D. 2000. An anti-apoptotic role for the p53 family member, p73, during developmental neuron death. *Science Signaling.* 289 : 304—306.
- Rajendra R., Malegaonkar D., Pungaliya P., Marshal H., Rasheed Z., Brownell J., Liu F., Lutzker S., Saleem A., Rubin E. H. 2004. Topors functions as an E3 ubiquitin ligase with specific E2 enzymes and ubiquitinates p53. *J. Biol. Chem.* 279 : 36 440—36 444.
- Rodriguez M. S., Desterro J. M., Lain S., Lane D. P., Hay R. T. 2000. Multiple C-terminal lysine residues target p53 for ubiquitin-proteasome-mediated degradation. *Mol. Cell. Biol.* 20 : 8458—8467.
- Rossi M., Aqeilan R. I., Neale M., Candi E., Salomoni P., Knight R. A., Croce C. M., Melino G. 2006. The E3 ubiquitin ligase Itch controls the protein stability of p63. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103 : 12 753—12 758.
- Rossi M., De Laurenzi V., Munarriz E., Green D. R., Liu Y.-C., Vousden K. H., Cesareni G., Melino G. 2005. The ubiquitin—protein ligase Itch regulates p73 stability. *EMBO J.* 24 : 836—848.
- Roth J., Dobbelsstein M., Freedman D. A., Shenk T., Levine A. J. 1998. Nucleo-cytoplasmic shuttling of the hdm2 oncoprotein regulates the levels of the p53 protein via a pathway used by the human immunodeficiency virus rev protein. *EMBO J.* 17 : 554—564.
- Sakaguchi K., Herrera J. E., Saito S. i., Miki T., Bustin M., Vassilev A., Anderson C. W., Appella E. 1998. DNA damage activates p53 through a phosphorylation—acetylation cascade. *Genes Develop.* 12 : 2831—2841.
- Saleem A., Dutta J., Malegaonkar D., Rasheed F., Rasheed Z., Rajendra R., Marshall H., Luo M., Li H., Rubin E. H. 2004. The topoisomerase I- and p53-binding protein topors is differentially expressed in normal and malignant human tissues and may function as a tumor suppressor. *Oncogene.* 23 : 5293—5300.
- Sasaki S., Nakamura T., Arakawa H., Mori M., Watanabe T., Nagawa H., Croce C. M. 2002. Isolation and characterization of a novel gene, hRFI, preferentially expressed in esophageal cancer. *Oncogene.* 21 : 5024.
- Sattija Y. K., Bhardwaj A., Das S. 2013. A portrayal of E3 ubiquitin ligases and deubiquitylases in cancer. *Int. J. Cancer.* (In press.)
- Scheffner M., Huibregtse J. M., Vierstra R. D., Howley P. M. 1993. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell.* 75 : 495—505.
- Senoo M., Pinto F., Crum C. P., McKeon F. 2007. P63 is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia. *Cell.* 129 : 523—536.
- Sheng Y., Laister R. C., Lemak A., Wu B., Tai E., Duans S., Lukin J., Sunnerhagen M., Srisailam S., Karra M. 2008. Molecular basis of Pirh2-mediated p53 ubiquitylation. *Nature Struct. Mol. Biol.* 15 : 1334—1342.
- Sherr C. J. 2001. The INK4a/ARF network in tumour suppression. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2 : 731—737.
- Sherr C. J. 2006. Divorcing ARF and p53: an unsettled case. *Nature Rev. Cancer.* 6 : 663—673.
- Shi D., Pop M. S., Kulikov R., Love I. M., Kung A. L., Grossman S. R. 2009. CBP and p300 are cytoplasmic E4 polyubiquitin ligases for p53. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 106 : 16 275—16 280.
- Shimamoto S., Kubota Y., Yamaguchi F., Tokumitsu H., Kobayashi R. 2013. Cs²⁺ S100 proteins act as upstream regulators of the chaperone-associated ubiquitin ligase CHIP (C terminus of Hsc70-interacting protein). *J. Biol. Chem.* 288 : 7158—7168.
- Shimura H., Schwartz D., Gygi S. P., Kosik K. S. 2004. CHIP—Hsc70 complex ubiquitinates phosphorylated tau and enhances cell survival. *J. Biol. Chem.* 279 : 4869—4876.
- Shvarts A., Steegenga W., Riteco N., Van Laar T., Dekker P., Bazuine M., Van Ham R., van Oordt W. V. D. H., Hateboer G., van der Eb A. 1996. MDMX: a novel p53-binding proteins with some functional properties of MDM2. *EMBO J.* 15 : 5349—5357.
- Sims R. J., Reinberg D. 2008. Is there a code embedded in proteins that is based on post-transcriptional modifications? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9 : 815—820.
- Sionov R. V., Coen S., Goldberg Z., Berger M., Bercovich B., Ben-Neriah Y., Ciechanover A., Haupt Y. 2001. c-Abl regulates p53 levels under normal and stress conditions by preventing its nuclear export and ubiquitination. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 5869—5878.
- Stad R., Little N. A., Xirodimas D. P., Frenk R., van der Eb A. J., Lane D. P., Saville M. K., Jochemsen A. G. 2001. Mdmx stabilizes p53 and Mdm2 via two distinct mechanisms. *EMBO Reports.* 2 : 1029—1034.
- Strano S., Fontemaggi G., Costanzo A., Rizzo M. G., Monti O., Baccarini A., Del Sal G., Levrero M., Sacchi A., Oren M. 2002. Physical interaction with human tumor-derived p53 mutants inhibits p63 activities. *J. Biol. Chem.* 277 : 18 817—18 826.
- Strano S., Munarriz E., Rossi M., Castagnoli L., Shaul Y., Sacchi A., Oren M., Sudol M., Cesareni G., Blandino G. 2001. Physical interaction with Yes-associated protein enhances p73 transcriptional activity. *J. Biol. Chem.* 276 : 15 164—15 173.
- Sui G., Shi Y., Brignone C., Wall N. R., Yin P., Donohoe M., Luke M. P., Calvo D., Grossman S. R., Shi Y. 2004. Yin Yang 1 is a negative regulator of p53. *Cell.* 117 : 859—872.
- Sun L., Shi L., Li W., Yu W., Liang J., Zhang H., Yang X., Wang Y., Li R., Yao X. 2009. JFK, a Kelch domain-containing F-box protein, links the SCF complex to p53 regulation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 106 : 10 195—10 200.
- Tang J., Qu L.-K., Zhang J., Wang W., Michaelson J. S., Denghardt Y. Y., El-Deiry W. S., Yang X. 2006. Critical role for Daxx in regulating Mdm2. *Nature Cell Biol.* 8 : 855—862.
- Thut C. J., Goodrich J. A., Tjian R. 1997. Repression of p53-mediated transcription by MDM2: a dual mechanism. *Genes Develop.* 11 : 1974—1986.
- Tombs R. M., Mikkelsen R. B., Jarvic W. D., Grant S. 1999. Downregulation of δ CaM kinase II in human tumor cells. *Biochem. biophys. acta.* 1452 : 1—11.
- Tsvetkov P., Reuven N., Shaul Y. 2009. Ubiquitin-independent p53 proteasomal degradation. *Cell Death Differentiation.* 17 : 103—108.

- Vitari A. C., Leong K. G., Newton K., Yee C., O'Rourke K., Liu J., Phu L., Vij R., Ferrando R., Couto S. S. 2011. COP1 is a tumour suppressor that causes degradation of ETS transcriptional factors. *Nature*. 474 : 403—406.
- Vogelstein B., Kinzler K. W. 1992. P53 function and dysfunction. *Cell*. 70 : 523—526.
- Vogelstein B., Lane D., Levine A. J. 2000. Surfing the p53 network. *Nature*. 408 : 307—310.
- Vousden K. H., Prives C. 2009. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell*. 137 : 413—431.
- Wade M., Wahl G. M. 2009. Targeting Mdm2 and Mdmx in cancer therapy: better living through medicinal chemistry? *Mol. Cancer Res.* 7 : 1—11.
- Wang C., Ivanov A., Chen L., Fredericks W. J. 2005. MDM2 interaction with nuclear corepressor KAP1 contributes to p53 inactivation. *EMBO J.* 24 : 3279—3290.
- Wang X., Arooz T., Siu W. Y., Chiu C. H., Lau A., Yamashita K., Poon R. Y. 2001. MDM2 and MDMX can interact differently with ARF and members of the p53 family. *FEBS Lett.* 490 : 202—208.
- Wang Z., Yang B., Dong L., Peng B., He X., Liu W. 2011. A novel oncoprotein Pirh2: rising from the shadow of MDM2. *Cancer Sci.* 102 : 909—917.
- Weber J. D., Jeffers J. R., Reh J. E., Randle D. H., Lozano G., Roussel M. F., Sherr C. J., Zambetti G. P. 2000. P53-independent functions of the p19ARF tumor suppressor. *Genes Devel.* 14 : 2358—2365.
- Weger S., Hammer E., Heilbronn R. 2005. Topors acts as a SUMO-1 E3 ligase for p53 *in vitro* and *in vivo*. *FEBS Lett.* 579 : 5007—5012.
- Wertz I. E., O'Rourke K. M., Zhang Z., Dornan D., Arnott D., Deshaies R. J., Dixit V. M. 2004. Human De-ubiquitinase-1 regulates c-Jun by assembling a CUL4A ubiquitin ligase. *Science Signaling*. 303 : 1371.
- Wu H., Abou Z. R., Flores E. R., Leng R. P. 2011. Pirh2, a ubiquitin E3 ligase, inhibits p73 transcriptional activity by promoting its ubiquitination. *Mol. Cancer Res.* 9 : 1780—1790.
- Xu W., Marcu M., Yuan X., Mimnaugh E., Patterson C., Neckers L. 2002. Chaperone-dependent E3 ubiquitin ligase CHIP mediates a degradative pathway for c-ErbB2/Neu. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 12 847—12 852.
- Xue W., Zender L., Miething C., Dickins R. A., Hernandez E., Krizhanovskiy V., Cordon-Cardo C., Lowe S. W. 2007. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature*. 445 : 656—660.
- Yamasaki S., Yagishita N., Nishioka K., Nakajima T. 2007. The role of synoviolin in crosstalk between endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and p53 pathway. *Cell Cycle*. 6 : 1319—1323.
- Yamasaki S., Yagishita N., Sasaki T., Nakazawa M., Kato Y., Yamadera T., Bae E., Toriyama S., Ikeda R., Zhang L. 2006. Cytoplasmic destruction of p53 by the endoplasmic reticulum-resident ubiquitin ligase «Synoviolin». *EMBO J.* 26 : 113—122.
- Yang A., Kaghad M., Wang Y., Gillett E., Fleming M. D., Dötsch V., Andrews N. C., Caput D., McKeon F. 1998. P63, a p53 homolog a 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol. Cell*. 2 : 305.
- Yang A., Schweitzer R., Sun D., Kaghad M., Walker N., Bronson R. T., Tabin C., Sharpe A., Caput D., Crum C. 1999. P53 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature*. 398 : 714—718.
- Yang W., Rozan L., McDonald E. R., Navaraj A., Liu J. J., Mathew E. M., Wang W., Dicker D. T., El-Deiry W. S. 2007. CARPs are ubiquitin ligases that promote MDM2-independent p53 and phospho-p53ser20 degradation. *J. Biol. Chem.* 282 : 3273—3281.
- Yi C., Wang H., Wei N., Deng X. W. 2002. An initial biochemical and cell biological characterization of the mammalian homologue of a central plant developmental switch, COP1. *BMC Cell Biol.* 3 : 30.
- Ying H., Xiao Z.-X. J. 2006. Targeting retinoblastoma protein for degradation by proteasomes. *Cell Cycle*. 5 : 506—508.
- Yoon S. Y., Lee Y., Kim J. H., Chung A.-S., Joo J. H., Kim C.-N., Kim N.-S., Choe I. S., Kim J. W. 2004. Over-expression of human UREB1 in colorectal cancer: HECT domain of human UREB1 inhibits the activity of tumor suppressor p53 protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326 : 7—17.
- Yu J., Zhang L., Hwang P. M., Rago C., Kinzler K. W., Vogelstein B. 1999. Identification and classification of p53-regulated genes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 14 517—14 522.
- Zeng X., Chen L., Jost C. A., Maya R., Keller D., Wang X., Kaelin W. G., Oren M., Chen J., Lu H. 1999. MDM2 suppresses p73 degradation. *Mol. Cell. Biol.* 19 : 3257—3266.
- Zhang L., Huang N.-J., Chen C., Tang W., Kornbluth S. 2012. Ubiquitylation of p53 by the APC/C inhibitor Trim39. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 109 : 20 931—20 936.
- Zhang Y., Xiong Y., Yarbrough W. G. 1998. ARF promotes MDM2 degradation and stabilizes p53: ARF-INK4a locus deletion impairs both the Rb and p53 tumor suppression pathways. *Cell*. 92 : 725—734.
- Zhong Q., Gao W., Du F., Wang X. 2005. Mule/ARF-BP1, a BH3-only E3 ubiquitin ligase, catalyzes the polyubiquitination of Mcl-1 and regulates apoptosis. *Cell*. 121 : 1085—1095.

Поступила 31 V 2013

THE ROLE OF DIFFERENT E3 UBIQUITIN LIGASES IN REGULATION OF THE P53 TUMOR SUPPRESSOR PROTEIN

A. A. Daks,¹ D. Melino,^{1,2} N. A. Barlev^{1-3,*}

¹ St. Petersburg State Institute of Technology, ² Leicester University, Great Britain, and ³ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; * e-mail: nick.a.barlev@gmail.com

Ubiquitin-dependent proteasomal degradation is one of the major pathways of non-lysosomal protein degradation in the cell. The ubiquitination process involves several enzymatic reactions and includes the following enzymes: E1 — activating, E2 — conjugating, and the third — E3 — ligating enzymes. E3 ligases determine the specificity of ubiquitination reaction, i. e. what target protein will be subjected to the covalent modification by ubiquitins.

The p53b tumor suppressor protein is one of the most intensively studied over the past several decades. Regulation of its activity is a complex and multi-level process that involves many factors. Ubiquitination is one of the major post-translational modifications of p53, and plays a fundamental role in the control of p53 function, its amount, activity and subcellular localization.

This review is focused on p53-specific E3 ubiquitin ligases that are potential targets for cancer therapy using small molecule inhibitors.