

УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

© 2023 г. У. И. Поденкова¹, И. В. Зубарев¹, А. Н. Томилин¹, А. С. Цимоха¹, *

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: atsimokha@incras.ru

Поступила в редакцию 30.11.2022 г.

После доработки 05.12.2022 г.

Принята к публикации 05.12.2022 г.

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) демонстрируют уникальную способность к непрерывному самообновлению и дифференцировке во все типы соматических клеток. Понимание механизмов, контролирующих эти свойства, приблизит к эффективному и безопасному использованию ЭСК и иПСК в клеточной терапии. Недавние совокупные данные подчеркнули важность протеостаза в поддержании функции ЭСК. Настоящий обзор посвящен роли убиквитин-протеасомной системы (УПС) – ключевого участника сети протеостаза – в регуляции плюрипотентности и дифференцировки ЭСК и иПСК.

Ключевые слова: деубиквитиназы, дифференцировка, плюрипотентность, протеасома, убиквитин-лигазы, убиквитин-протеасомная система, эмбриональные стволовые клетки

DOI: 10.31857/S0041377123030069, **EDN:** VDOROR

Плюрипотентные клетки внутренней клеточной массы (ВКМ) бластоцисты способны дифференцироваться во все эмбриональные и экстраэмбриональные ткани. Клетки ВКМ бластоцисты, культивируемые в лабораторных условиях, получили название эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) (Thomson et al., 1998; Abu-Dawud et al., 2018). Работами последних лет установлена способность ЭСК противостоять повреждающим факторам, которые могли бы привести к выходу из состояния плюрипотентности и старению (Young, 2011). Так, показано, что ЭСК имеют пониженную частоту мутаций, что способствует большей стабильности генома, и продуцируют гораздо меньше радикалов кислорода по сравнению с дифференцированными клетками (Saretzki et al., 2004; Sinenko et al., 2021). Эти свойства ЭСК в значительной степени обеспечиваются усиленной активностью защитных систем клетки. К плюрипотентным стволовым клеткам (ПСК) относятся как ЭСК, так и индуцированные ПСК (иПСК). иПСК впервые были получены в результате генетического репрограммирования соматических клеток в 2006 г. с помощью экзогенной экспрессии факторов транскрипции Oct4, Sox2, Klf4 и c-Мус (Takahashi, Yamanaka, 2006). Научившись поддерживать плюрипотентное состояние в условиях лаборатории и культивировать ЭСК и иПСК неограничен-

ное время *in vitro*, ученые получили новые возможности для более подробного исследования как состояния плюрипотентности, так и выхода из него, в том числе посредством изучения функций отдельных генов.

В настоящее время очевидны большие перспективы применения ПСК в четырех основных областях: биологии развития, регенеративной и трансплантационной медицине, моделировании заболеваний и разработке лекарственных препаратов. Поскольку в основе многих заболеваний лежат генетические нарушения, моделирование таких заболеваний может быть облегчено путем изучения конкретных генотипов в подходящем экспериментальном контексте. Так, огромный потенциал ПСК для моделирования заболеваний человека был быстро реализован с появлением работ, в которых с помощью генетических модификаций в ПСК были получены модельные *in vitro* системы, позволяющие изучать ассоциированный с определенной мутацией фенотип. ПСК человека используют также и для моделирования хромосомных нарушений путем изоляции спонтанно возникающих в культуре анеуплоидных клеток, например, клеток с моносомией по X-хромосоме, характерной для синдрома Тернера (Urbach, Benvenisty, 2009). В настоящее время ЭСК успешно использовали для создания моделей хромосомных и моногенных заболеваний человека, таких как синдром Дауна и синдром Тернера (Biancotti et al., 2010), а также сложных психических заболеваний, включающих расстрой-

Принятые сокращения: ПСК – плюрипотентные стволовые клетки; иПСК – индуцированные ПСК; УПС – убиквитин-протеасомная система; ЭСК – эмбриональные стволовые клетки.

ства аутистического спектра и шизофрению (Pak et al., 2015).

Разработаны протоколы получения мезэнцефальных дофаминовых нейронов из ПСК, которые успешно приживаются и устраняют двигательные нарушения после трансплантации в модели болезни Паркинсона у крыс (Alekseenko et al., 2022). Терапия на основе ПСК таких заболеваний сетчатки, как возрастная дегенерация желтого пятна и Болезнь Штаргардта, также может обеспечить безопасное и эффективное лечение, поскольку не было зарегистрировано серьезных побочных эффектов и свидетельств аномального роста клеток или образования опухоли при трансплантации полученных из ПСК клеток в глаза пациентов (Schwartz et al., 2015; Liu et al., 2018). Активно исследуется возможность использования панкреатических клеток-предшественников или инсулин-секретирующих клеток, полученных из ЭСК человека в терапии диабета. На модельных животных было показано, что такие клетки способны секретировать инсулин в ответ на глюкозу и снижать высвобождение инсулина для предотвращения гипогликемии (Rezania et al., 2014).

Помимо этого, интенсивно разрабатываются стратегии применения ПСК для скрининга лекарств, где одним из направлений является исследование токсичности препаратов. Этот подход включает дифференцировку ПСК человека в клетки ткани, на которую воздействует исследуемый препарат, а затем проведение дозозависимого анализа токсичности. Многие подобные исследования сосредоточены на кардиомиоцитах и гепатоцитах, полученных из ПСК, поскольку применение лекарственных препаратов часто сопровождается неблагоприятными последствиями для сердца или печени (Behbahan et al., 2011).

Несмотря на большой потенциал применения ПСК, необходимо решить многочисленные проблемы, чтобы эффективно реализовать все преимущества технологии плюрипотентных стволовых клеток в регенеративной медицине и при разработке лекарственных препаратов. Так, например, для того чтобы клеточные системы считались надежной моделью для скрининга лекарств, требуется определить, действительно ли на основе результатов таких исследований можно предсказать токсичность лекарств, сравнимую с той, которая наблюдается во время приема препаратов при развитии заболевания *in vivo*. Кроме того, различные методы культивирования ПСК могут изменить эпигенетический статус клеток (Young et al., 2001). Другой критической проблемой клеточной терапии на основе ПСК является иммунное отторжение реципиентами аллогенных клеток, полученных из ПСК человека, что заставляет использовать иммуносупрессоры для подавления реакции, вызванной трансплантацией (Fu, 2014). Еще одним препятствием применения ПСК в регенеративной медицине является риск онкогенеза, по-

скольку трансплантируемые клетки могут содержать фракцию недифференцированных клеток, которые способны индуцировать образование тератом (Schuldiner et al., 2001; Fujikawa et al., 2005; Cao et al., 2006).

В связи с этим, одной из основных целей исследований стволовых клеток является разработка и стандартизация простых и надежных методов дифференцировки, чтобы свести к минимуму существенную неоднородность дифференцируемых культур и научиться получать стабильные клеточные линии. Большинство существующих протоколов были разработаны на основе наших знаний о релевантных для различных этапов развития дифференцировки сигналах, выявленных в моделях животных. Тем не менее, чтобы полностью понять сложность сигналов и генетических программ, которые контролируют дифференцировку каждого отдельного типа клеток, необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, можно заключить, что на пути к безопасному и эффективному использованию ПСК необходимо всестороннее изучить биологию стволовых клеток, в том числе особенности работы внутриклеточных систем регуляции поддержания клеточной плюрипотентности и дифференцировки. Одной из таких систем является убиквитин-протеасомная система (УПС) деградации белков, которая осуществляет большую часть регулируемого протеолиза в клетке, тем самым играя роль важного регулятора многих клеточных процессов. В последние годы появляется все больше свидетельств того, что функционирование УПС имеет большое значение в регуляции плюрипотентности и дифференцировки ПСК (Buckley et al., 2012; Okita, Nakayama, 2012; Vilchez et al., 2012a; Селенина и др., 2017; Choi, Baek, 2018; Noormohammadi et al., 2018).

УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА (УПС)

УПС действует как основная протеолитическая система клетки, которая, деградируя регуляторные белки (например, циклины, вовлеченные в контроль клеточного цикла, и транскрипционные факторы) и аномальные белки (неправильно свернутые, старые или поврежденные), играет важную роль в различных клеточных процессах, включая контроль качества белков (протеостаз), клеточный цикл, презентацию антигена при иммунном ответе, апоптоз и клеточный сигналинг (Konstantinova et al., 2008). Функции УПС можно разделить на две части — убиквитинирование (деубиквитинирование) и деградацию. Основными функциональными элементами УПС являются: белок убиквитин, ферменты E1, E2 и E3, а также протеасомы.

В настоящее время термин “протеасома” охватывает все семейство отдельных комплексов, которые имеют общее протеолитическое ядро (коровую часть 20S) и различаются присоединенными к ним

активаторами протеасом (Budenholzer et al., 2017). Каждый из таких протеасомных комплексов играет определенную роль в контроле функций клетки, а регуляторы протеасом, как особые белки, взаимодействующие с протеасомами, могут служить для более тонкой подстройки функции протеасом в соответствии с потребностями клетки (Mogozov, Karrov, 2018). Например, в последние годы активно разрабатываются ингибиторы протеасом, которые инактивируют их каталитические активные центры и эффективно блокируют деградацию белков в клетке, что приводит к подавлению пролиферации и апоптозу (Meiners et al., 2008). Соответственно, активность протеасомы является ключевой детерминантой почти всех клеточных процессов, от пролиферации и выживания клеток до дифференцировки и иммунных ответов, что делает протеасомы эффективной терапевтической мишенью для лечения рака и других заболеваний, таких как сердечно-сосудистые, нейродегенеративные, легочные и аутоиммунные (Drews, Taegtmeier, 2014; Meiners et al., 2014; Ciechanover, Kwon, 2015; Zhang et al., 2020; Yadav et al., 2022).

Протеолитическим “ядром” УПС является 26S-протеасома, которая лежит в основе убиквитин-зависимой протеасомной деградации белка в клетке (Budenholzer et al., 2017). Интактная 26S-протеасома — это АТФ-зависимый протеолитический комплекс с молекулярной массой около 2.5 МДа, состоящий из коровой 20S-протеасомы и одного или двух 19S-регуляторных комплексов (Dahlmann, 2005).

20S-частицы эволюционно высококонсервативны и в клетке широко представлены в цитоплазме и ядре в свободной от регуляторов форме (Fabre et al., 2015). Протеасома 20S состоит из 28 субъединиц α - и β -типа, которые образуют стопку из четырех гептамерных колец (α 1-7, β 1-7, β 1-7, α 1-7) (Groll et al., 1997). Два внешних кольца состоят из семи гомологичных α -субъединиц, а два внутренних — из семи подобных консервативных β -субъединиц (рис. 1). α -Субъединицы протеасомы имеют высококонсервативные N-концевые удлинения, отсутствующие в β -субъединицах, которые образуют ворота, контролирующие прохождение субстрата через центральный канал α -кольца (Groll et al., 2000). В отсутствие активаторов ворота чаще всего находятся в закрытой конформации (Osmulski et al., 2009). Центральные кольца 20S-протеасомы из субъединиц β -типа формируют протеолитическую полость, где осуществляется гидролиз белка. Известно, что пептидные связи субстрата гидролизуются N-терминальным остатком треонина (Thr1), который присутствует в β -субъединицах (Seemuller et al., 1995). Интересно, что в гомологах 20S-протеасом архей все β -субъединицы являются идентичными, а у высших эукариот деградация субстрата является более специфичной, и только три из семи субъединиц β -типа — β 1 (*PSMB6*), β 2 (*PSMB7*) и β 5 (*PSMB5*) — протеолитически активны по типу каспазы, трипсина и химотрип-

сина соответственно (Groll et al., 2005). Эти, так называемые “стандартные” или “конститутивные” каталитические субъединицы, образуют стандартную 20S-протеасому, которая конститутивно присутствует во всех клетках.

В клетках млекопитающих было описано несколько вариантов коровых частиц протеасом, в которых активные субъединицы “конститутивной” 20S-протеасомы были замещены индуцибельными или тканеспецифическими паралогами (рис. 1). Иммунопротеасома является наиболее изученным из этих вариантов; в данной конфигурации происходит замена трех конститутивных β -субъединиц на индуцибельные β 1i, β 2i и β 5i (Bai et al., 2014). Существуют также промежуточные типы протеасом (рис. 1), что, как предполагают, ведет к увеличению пептидного разнообразия для презентации антигена (Kammerl et al., 2016). Другой альтернативной изоформой коровой частицы является тимус-специфическая протеасома или тимопропротеасома (рис. 1), в которой субъединица β 5t обладает сниженной химотрипсин-подобной активностью по сравнению с β 5 и β 5i. Тимопропротеасома играет важную роль в позитивном отборе иммунных CD8⁺-Т-клеток (Murata et al., 2008). Известен еще один вариант коровой протеасомы — сперматопротеасома — содержащая альтернативную α -субъединицу α 4s, которая синтезируется исключительно в мужских половых клетках после их дифференцировки в сперматоциты (Qian et al., 2013; Uechi et al., 2014). Показано, что сперматопротеасомы в комплексе с регулятором PA200, участвуют в сперматогенезе и осуществляют убиквитин-независимую деградацию ацетилованных гистонов (Qian et al., 2013).

Для распознавания убиквитинированных белков 26S-протеасомой и подготовки их к деградации (выбор и связывание субстрата, отщепление убиквитина, разворачивание и перенос субстрата в протеолитическую камеру 20S-частицы) существуют регуляторные комплексы. Комплекс 19S (PA700) имеет молекулярную массу около 1 МДа и состоит из АТФазных и не-АТФазных субъединиц (рис. 1). Согласно биохимическим и структурным исследованиям, 19S-частица состоит из двух субкомплексов: “основания” и “крышки” (Glickman et al., 1998). Было показано, что основание 19S-частицы имеет форму гексамерного кольца из шести АТФаз (*regulatory particle triple A proteins Rpt1–6*), двух адаптерных белков (*Rpn1, Rpn2*) и двух рецепторов убиквитина (*Rpn10, Rpn13*) и контактирует с внешним α -кольцом 20S-частицы. Предполагается, что эти АТФазы AAA-семейства участвуют в линеаризации и транслокации белковых субстратов в протеолитическую полость 20S-частицы (Zhang et al., 2007). К настоящему времени показано, что субъединицы, расположенные в верхней части кольца, такие как Rpt3 и Rpt4, вносят больший вклад в связывание и транслокацию субстратов по сравнению с субъединицами, расположенными ниже в кольце, такими как Rpt1 и Rpt2 (Beckwith et al., 2013). Крышка регуляторно-

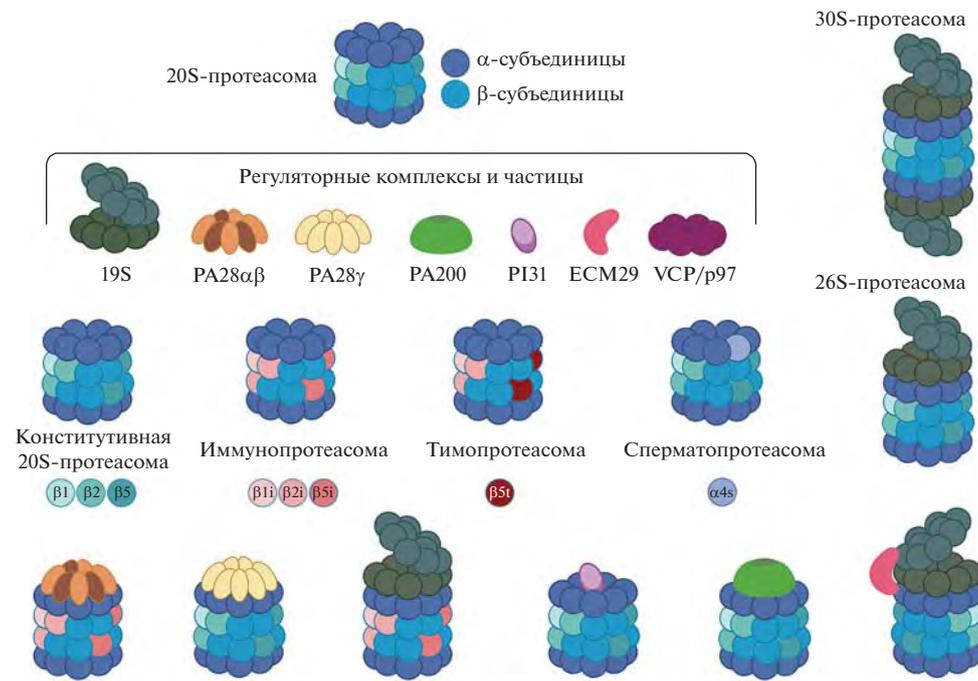


Рис. 1. Схематическое изображение организации протеасом. По составу каталитических субъединиц 20S-протеасомы делятся на конститутивные ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 5$), иммунопротеасомы ($\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$), тимопроотеасомы ($\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5t$). Сперматопротеасомы имеют уникальную субъединицу $\alpha 4s$. Протеасомы 20S находятся в клетке без регулятора (“свободные”) или могут связывать один или два активатора 19S, формируя 26S- или 30S-протеасомы, которые осуществляют убиквитин-зависимый протеолиз в клетке. Протеасомы 20S могут связываться также с регуляторами PA28 $\alpha\beta$, PA28 γ и PA200 и, вероятно, с PI31. Гибридные формы протеасом несут два разных регулятора.

Рис. 1 и 2 выполнены с помощью сервиса BioRender (<https://biorender.com>).

го комплекса 19S является структурой из восьми не-АТФазных субъединиц Rpn (Regulatory particle non-ATPases) – Rpn3, Rpn5–9 и Rpn11–12 (Finley et al., 1998; Glickman et al., 1998; Smalle, Vierstra, 2004). Субъединицы Rpn10 и Rpn13 осуществляют захват полиубиквитинированных белков, а субъединица Rpn11 является Zn^{2+} -зависимым деубиквитинирующим ферментом (Verma et al., 2002; Yao, Cohen, 2002). Для большинства субъединиц крышки функции не установлены, однако известно, что она способна распознавать полиубиквитиновые цепи, так как протеасома осуществляет протеолиз убиквитинированных белков только в присутствии этой крышки (Glickman et al., 1998).

Регуляторный комплекс PA28 (11S) обнаружен только у высших эукариот и имеет структуру гептамерного кольца, собранную из гомологичных субъединиц двух типов PA28 α и PA28 β и отдельного, но родственного белка, называемого PA28 γ , который также известен как антиген Ki (Fort et al., 2015). Подобно иммунным субъединицам 20S-протеасом, синтез α - и β -субъединиц PA28-активатора стимулируется IFN- γ ; известно также, что иммунопротеасомы часто ассоциированы с активатором PA28 $\alpha\beta$ (Fabre et al., 2015). Согласно существующим данным, связывание 20S-протеасомы с PA28 $\alpha\beta$ вызывает резкое увеличение образования небольших олигопеп-

тидов, подходящих для презентации главного комплекса гистосовместимости МНС I (Casacio et al., 2001; Saric et al., 2002). 20S-протеасомы в комплексе PA28 $\alpha\beta$ осуществляют также деградацию окисленных белков (Pickering, Davies, 2012).

С 20S-протеасомами могут связываться и другие регуляторные комплексы и белки, причем 20S-протеасомы в такой конфигурации опосредуют убиквитин-независимую деградацию субстрата (Stadtmueller, Hill, 2011; Jiang et al., 2018). К таким регуляторам 20S-протеасомы относят активатор PA200, играющий роль в репарации ДНК и поддержании нормального сперматогенеза в семенниках, ингибитор протеасомы PI31 и взаимодействующие с протеасомой белки ECM29 или VCP/p97 (рис. 1). С каждым из этих регуляторов потенциально может связываться 20S-протеасома, образуя так называемые гибридные протеасомные комплексы. Теоретически комбинация всех возможных взаимодействий ядра 20S с различными активаторами и регуляторами дает 56 возможных протеасомных комплексов (Wang et al., 2020). Несмотря на то, что пока еще нет систематических доказательств существования и функциональной значимости всех этих комплексов, можно предполагать, что каждый из них обладает способностью деградировать специфические белки в раз-

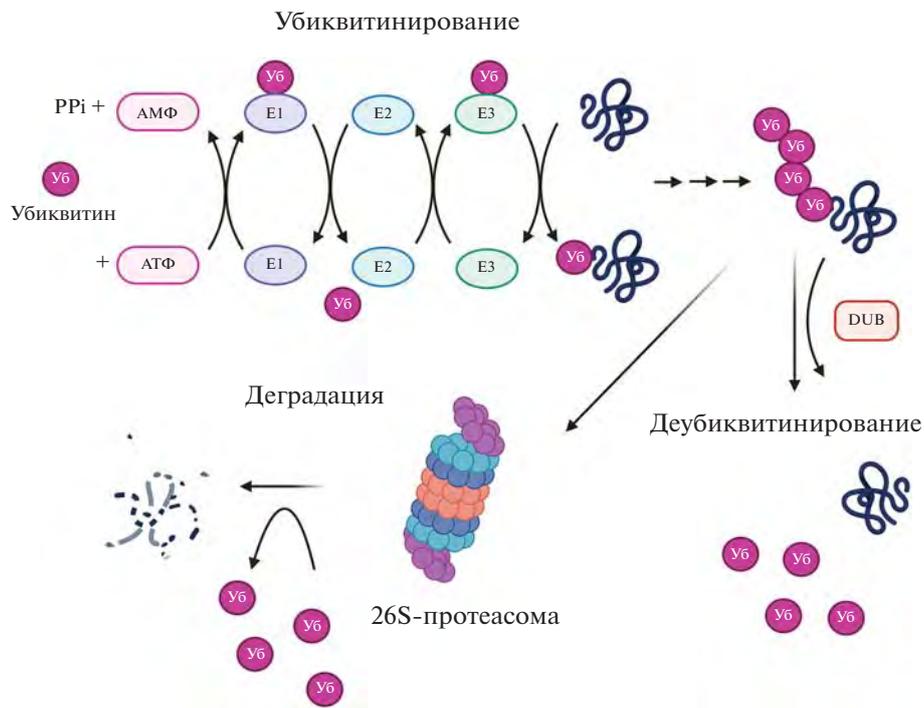


Рис. 2. Схематичное изображение убиквитин-зависимой деградации белкового субстрата протеасомой. Убиквитинирование белкового субстрата осуществляется в результате АТФ-зависимого ковалентного присоединения убиквитина (Ub) каскадом убиквитин-активирующих ферментов (E1), убиквитин-конъюгирующих ферментов (E2) и убиквитинлигазы (E3). Повторяющиеся действия этих трех ферментов вызывают полиубиквитинирование субстрата с последующей его деградацией протеасомой и высвобождением свободных молекул убиквитина. Полиубиквитинированные субстраты также могут быть деубиквитинированы ферментами, называемыми деубиквитидазами (DUB), что приводит к высвобождению свободных молекул убиквитина и субстрата.

личных субклеточных сайтах или модулировать функцию протеасом определенным образом.

Известно, что селективное присоединение убиквитина — эволюционно консервативного белка из 76 аминокислотных остатков — зачастую является начальным сигналом для деградации белка (Nandi et al., 2006). Убиквитинирование — это присоединение одной или нескольких молекул убиквитина к белкам-субстратам, обеспечивающее селективную деградацию полиубиквитинированных субстратов, а также регулирующее локализацию, функциональную активность и белок-белковые взаимодействия. Ковалентное присоединение убиквитина к целевому белку осуществляется с образованием изопептидной связи между глицином на карбоксильном конце убиквитина и внутренним лизином на субстрате. Дополнительные фрагменты убиквитина последовательно добавляются друг к другу с образованием полиубиквитиновой цепи, которая функционирует как маркер распознавания для протеасомы (рис. 2).

Убиквитинирование белка осуществляется в три последовательных этапа с участием трех ферментов: E1, E2 и E3 (Hershko, Ciechanover, 1992). Каскад убиквитинирования начинается с АТФ-зависимой активации убиквитина убиквитин-активирующим ферментом E1. Убиквитин присоединяется к внут-

реннему остатку Cys фермента E1 через промежуточный тиоловый эфир, генерирующий E1-S-убиквитин. Затем убиквитин переносится на убиквитин-конъюгирующий фермент E2. На третьем этапе добавление убиквитина к белковому субстрату катализируется убиквитинлигазой E3. Важно отметить, что цепочки убиквитина могут быть удалены с белка-субстрата под действием группы белков, называемых деубиквитирующими ферментами или деубиквитидазами (DUB), представляющих из себя металло- и цистеиновые протеазы (He et al., 2016).

Высокая специфичность и селективность УПС заключается в разнообразии различных убиквитинлигаз E3, которые могут распознавать определенный субстрат (Hershko, Ciechanover, 1998). Одним из наиболее важных паттернов распознавания является “дестабилизирующая” N-концевая аминокислота, такая как аргинин и лизин. Эти уникальные N-концевые остатки могут определять период полужизни внутриклеточного белка; это явление получило название “правило N-конца”. Помимо субстратов, активность самой УПС могут модулировать множество факторов, таких как гормоны щитовидной железы, глюкокортикоидные стероиды, цитокины и белки, экспрессируемые в злокачественных клетках, такие как, например, фактор, индуцирующий протеолиз (PIF).

УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА И ПЛЮРИПОТЕНТНОСТЬ

ЭСК способны давать начало всем клеточным типам, представленным в организме, что подразумевает существование жесткого контроля самообновления и плюрипотентности, включающего в себя транскрипционные факторы, сигнальные каскады, микроРНК, взаимодействующие с системой регуляторных белков и белков, вовлеченных в формирование структуры хроматина, свойственной плюрипотентным клеткам (Meshorer, Misteli, 2006). Недавние исследования показали, что УПС играет важную и сложную роль в контроле плюрипотентности за счет динамической регуляции количества белков, включая факторы транскрипции стволовых клеток. Как было отмечено выше, специфичность работы УПС обеспечивается большим количеством разнообразных убиквитинлигаз.

В настоящее время ежегодно появляются исследования, сообщающие об идентификации все новых E3-убиквитинлигаз, которые работают посредством взаимодействия с факторами плюрипотентности Oct4, Sox2, Nanog, Klf4 и др., а также с другими участниками ключевых сигнальных путей. Так, стабильность и транскрипционная активность Oct4 регулируются E3-убиквитинлигазой Itch (Liao et al., 2013). Интересно, что хотя Itch-опосредованное убиквитинирование способствует деградации Oct4 протеасомами, тем не менее, эта модификация на молекулярном уровне увеличивает аффинность связывания Oct4 с генами-мишенями и, таким образом, повышает его транскрипционную активность. Функционирование Itch необходимо для поддержания и индукции плюрипотентности, поскольку истощение этой убиквитинлигазы приводит к дифференцировке ЭСК мыши и снижает эффективность образования iPSC (Liao et al., 2013).

Другая E3-лигаза, Wwp2, может взаимодействовать как с Oct4, так и с Sox2, что приводит к протеолизу этих факторов и, соответственно, к дифференцировке ЭСК человека и мыши (Fang et al., 2014; Xu et al., 2009). Было отмечено, однако, что ЭСК, полученные от Wwp2-дефицитных мышей, имели типичную для ЭСК морфологию и экспрессировали нормальные уровни факторов плюрипотентности (Oct4, Sox2 и Klf4), поэтому Wwp2-опосредованное убиквитинирование Oct4 кажется необязательным для поддержания плюрипотентности, но критичным для детерминации клеточной судьбы и перепрограммирования (Li et al., 2018). Убиквитинлигаза FBXW7 также контролирует плюрипотентность ЭСК, регулируя стабильность белка c-Myc, и действует как ключевой регулятор дифференцировки ЭСК, поскольку подавление экспрессии FBXW7 ингибирует дифференцировку этих клеток и усиливает клеточное перепрограммирование (Buckley et al., 2012; Okita et al., 2012). Кроме того, показано, что E3-убиквитинлигаза FBXW8 способствует полиубиквитинированию Nanog и его последующей деградации

протеасомами, что также приводит к дифференцировке ЭСК мыши (Kim et al., 2014).

Все основные пост-трансляционные модификации белков, включая убиквитинирование, являются обратимыми благодаря работе определенных ферментов. Очевидно, что для поддержания “стволовости” ПСК или же, наоборот, для направления в дифференцировку процессы убиквитинирования и деубиквитинирования ключевых факторов плюрипотентности и других участников сигнальных каскадов должны происходить своевременно и хорошо скоординированным образом. В масштабном исследовании с помощью скрининга интерферирующих РНК, нацеленных на компоненты УПС, удалось идентифицировать значительное количество убиквитинирующих и деубиквитинирующих ферментов, необходимых для регуляции плюрипотентности и дифференцировки ЭСК мыши, что свидетельствует о важности обоих способов регуляции (Buckley et al., 2012). Недавние исследования показали, что ключевой фактор c-Myc может стабилизироваться за счет деубиквитинирования с помощью DUB-ферментов Usp28, Usp36 и Usp37 (Diefenbacher et al., 2015; Pan et al., 2015; Sun et al., 2015). Субъединица “крышки” 19S-регулятора протеасомы Rpn11 также обладает деубиквитинирующей активностью, а при подавлении экспрессии Rpn11 в ЭСК мыши наблюдали значительное снижение белка Oct4 в сочетании с морфологическими изменениями клеток (Buckley et al., 2012). Идентифицирована еще одна DUB, необходимая для поддержания плюрипотентного состояния ЭСК, Usp21, истощение которой в ЭСК мыши приводит к деградации фактора плюрипотентности Nanog и к дифференцировке клеток (Liu et al., 2016).

Белок Dppa3 (также известный как Stella или PGC7) играет решающую роль в раннем эмбриональном развитии, модулируя программу транскрипции и регулируя эпигенетическую модификацию (Nakamura et al., 2007, 2012; Liu et al., 2012;). Помимо роли в эмбриогенезе, Dppa3 неодинаково экспрессируется в ЭСК: наивные ЭСК экспрессируют Dppa3 на более высоком уровне, чем праймированные клетки (Hayashi et al., 2008; Sang et al., 2019), что предполагает роль Dppa3 в поддержании именно наивного состояния плюрипотентности. Состояния плюрипотентности подробно описаны в недавней обзорной работе Гордеева с коллегами (2021). Согласно последним данным, важным фактором в поддержании плюрипотентности является взаимодействие белка Dppa3 с компонентами УПС (Zhao et al., 2022). Установлено, что белок Dppa3 может служить субстратом для протеасомной деградации и конкурировать за связывание протеасомой с другими белками, что приводит к накоплению в клетке последних. Так, увеличение экспрессии Dppa3 в ЭСК сопровождалось накоплением E3-убиквитин-лигазы Uhrf1 и фактора плюрипотентности Nanog (Zhao et al., 2022).

Известно, что ПСК демонстрируют уникальный эпигенетический ландшафт, который в значительной степени выражен модификациями гистонов (Bernstein et al., 2006; Mattout, Meshorer, 2010). По сравнению с метилированием и ацетилированием гистонов, информация о корреляции между убиквитинированием и плюрипотентностью ограничена, однако существуют свидетельства о вовлеченности компонентов УПС в регуляцию плюрипотентности на эпигенетическом уровне. Например, моноубиквитинирование гистона H2A в положении K119 коррелирует с репрессией транскрипции (Nakagawa et al., 2008; Zhou et al., 2008). Этот сигнал может быть опосредован E3-убиквитинлигазой Ring1A/1B и является критическим для поддержания недифференцированного состояния ЭСК, поскольку двойная делеция Ring1A и Ring1B приводит к дифференцировке ЭСК (de Napoles et al., 2004; Endoh et al., 2008; van der Stoep et al., 2008; Weitzman et al., 2010). Другая E3-убиквитинлигаза Dzip3 также может моноубиквитинировать гистон H2A в положении K119 и специфически действует на области промотора генов в ЭСК, связанных с дифференцировкой, посредством регуляции организации 3D-хроматина (Inoue et al., 2015).

В исследованиях транскриптомных профилей ЭСК человека и мыши гены, кодирующие компоненты УПС были выявлены среди высоко экспрессируемых, что также подтверждает важную роль УПС в индукции и поддержании плюрипотентности (Sato et al., 2003; Babaie et al., 2007; Zhou et al., 2009). Изучение особенностей протеома ЭСК человека позволило идентифицировать около 60 наиболее активно синтезируемых белков, большинство из которых являются шаперонами и компонентами УПС (Baharvand et al., 2006), что свидетельствует в пользу большого значения протеостаза в поддержании идентичности стволовых клеток. Для ЭСК человека характерна повышенная протеасомная активность (Buckley et al., 2012; Vilchez et al., 2012a), что указывает на тесную связь между протеостазом и идентичностью ЭСК. В ЭСК человека активность протеасом индуцируется высокими уровнями Rpn6 (*PSMD11*) – каркасной субъединицы 19S-регулятора, которая способствует сборке активных протеасом. Повышенную экспрессию Rpn6 (*PSMD11*), в свою очередь, строго регулирует фактор транскрипции FOXO4 (Vilchez et al., 2012a, 2012b, 2013).

Таким образом, в настоящее время накоплено немало данных, подтверждающих ключевую роль УПС в регуляции плюрипотентности. Однако нет сомнений в необходимости проведения исследований, уточняющих механизмы индукции клеточной плюрипотентности, а также развития понимания как именно УПС регулирует различные состояния плюрипотентности, такие как наивное и праймированное.

УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭСК

Дифференцировка ЭСК управляется самоусиливающимися регуляторными петлями, работающими параллельно как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне. Менее известно о пост-трансляционных механизмах регуляции дифференцировки, включая возможное участие в них УПС. На уровне посттрансляционной модификаций белков УПС управляет несколькими процессами, среди которых следует выделить полиубиквитинирование белков, которое контролирует пул сигнальных белков, и факторов транскрипции в ЭСК. Некоторые из этих факторов транскрипции (Oct4, Nanog и cMyc) известны как регуляторы плюрипотентности, связанные с поддержанием плюрипотентности и баланса между самообновлением и дифференцировкой. Как было отмечено ранее, высокая скорость и субстратная специфичность – характерные черты протеолиза, опосредованного УПС, и, следовательно, эта система идеально подходит для ремоделирования протеома ЭСК во время перехода от плюрипотентного состояния к дифференцированному. В настоящее время появляется все больше свидетельств важной роли компонентов УПС в этом процессе (Buckley et al., 2012; Suresh et al., 2016; Werner et al., 2017; Wang et al., 2019).

С одной стороны, УПС осуществляет регуляцию различных сигнальных путей, включая регулирующие плюрипотентность и дифференцировку ЭСК: LIF/JAK/Stat3, Fgf/MAPK, TGFβ/Activin/Nodal, Wnt/β-catenin, Bmp и Notch (Miyazono, 2000; Zhang, Laiho, 2003; Ng, Surani, 2011; Hatakeyama, 2012; Voutsadakis, 2012; Gao et al., 2014; Dutta et al., 2021). Так, например, путь JAK–STAT, играющий ключевую роль в поддержании плюрипотентности ЭСК мыши, модулируется несколькими посттрансляционными модификациями, включая фосфорилирование, ацетилирование и убиквитинирование. Было установлено, что E3-лигаза Trim8 посредством Hsp90β взаимодействует с фактором STAT3 и селективно подавляет транскрипцию Nanog, поддерживая плюрипотентное состояние ЭСК мыши (Okumura et al., 2010). Для E3-лигазы c-Cbl показана регуляция остеобластной дифференцировки мезенхимных стволовых клеток посредством контроля протеасомной деградации и активности фактора STAT5 (Dieudonne et al., 2013).

С другой стороны, УПС играет роль и в поддержании физиологических уровней основных факторов плюрипотентности в ЭСК (Choi, Baek, 2018). В недавней работе показано, что E3-убиквитинлигаза Stub1 функционирует как ключевой протеостатический регулятор белков Sox2, Oct4 и Nanog в ЭСК мыши (Al Mamun et al., 2022). Этот фермент опосредует протеасомную деградацию факторов плюрипотентности, катализируя их полиубиквитинирование. Дефицит Stub1 усиливал репрограммирование соматических клеток и задерживал дифференциров-

ку ЭСК, тогда как его повышенная экспрессия запускала дифференцировку ЭСК мышцы. Кроме того, было продемонстрировано, что E3-убиквитинлигазы β -TrCP1 и β -TrCP2 способны распознавать и убиквитинировать транскрипционный фактор Tscr21 в ЭСК мышцы, который является центральным игроком в поддержании наивной плюрипотентности (Zhang et al., 2021). Сверхэкспрессия генов β -TrCP приводила к снижению уровня белка Tscr21 и инициировала дифференцировку ЭСК.

Известно, что ЭСК поддерживают высокую геномную пластичность, которая важна для их способности вставать на различные пути дифференцировки, и посттранскрипционные модификации гистонов играют ключевую роль в поддержании этой пластичности. Например, показано, что E3-лигаза Rnf2 и DUB-фермент Usp44 регулируют дифференцировку ЭСК путем модуляции моноубиквитинирования гистона H2B (Fuchs et al., 2012). Активность E3-лигазы Rnf12/RLIM также регулирует дифференцировку ЭСК мышцы в нейроны (Bustos et al., 2018). E3-лигаза Lin41 взаимодействует с белком p53, контролируя количество последнего посредством его убиквитинирования и последующей деградации в протеасоме; также Lin41 противодействует p53-зависимым проапоптотическим и продифференцировочным ответам (Nguyen et al., 2017). Поскольку Lin41-дефицитные мыши обнаруживают дефекты закрытия нервной трубки, можно предполагать, что Lin41 является критическим для регуляции функций p53 в спецификации судьбы клеток и выживаемости во время раннего развития мозга (Nguyen et al., 2017).

Кроме того, результаты исследований эмбриогенеза *Caenorhabditis elegans* демонстрируют участие E3-лигаз в управлении процессом дифференцировки и указывают на то, что убиквитин-опосредованная деградация белка приводит к выбору в сторону дифференцировки (Du et al., 2015). Так, для двух E3-лигаз были идентифицированы три субстрат-связывающих белка: LIN-23/ β -TrCP, FBXB-3 и ZYG-11/ZYG-11B, которые управляют прогрессией дифференцировки во время развития эндомезодермы. Предполагается, что эти E3-лигазы функционируют через многофункциональный белок OMA-1, способствуя деградации транскрипционного фактора SKN-1 (ортолога белков Nrf/CNC млекопитающих).

В других исследованиях на модели дифференцировки миобластов, первичных сателлитных клеток мышцы и человека *in vitro* было показано, что активность E3-лигазы семейства Cullin необходима на каждом этапе дифференцировки мышечных клеток (Blondelle et al., 2017). Интересно, что E3-лигаза Itch является решающим регуляторным фактором в дифференцировке T-лимфоцитов (Xiao et al., 2014). Кроме того, было продемонстрировано, что Itch положительно регулирует такую дифференцировку путем стимуляции конъюгации убиквитина с транскрипционным фактором Foxo1 и последующей деграда-

ции Foxo1. Сверхэкспрессия E3-лигазы Nrdp1 в В-клетках мышцы приводила к значительному снижению уровней рецепторов EPO, IL-3 и RAR α и ослабляла дифференцировку (Jing et al., 2008). Лигаза Trim23 играет критическую роль в дифференцировке адипоцитов, стабилизируя ядерный рецептор PPAR γ (Watanabe et al., 2015). Ddb1, компонент убиквитин-лигазы CUL4-DDB1, высоко экспрессируется в мультипотентных гематопоэтических предшественниках, и его делеция приводит к отмене гемопоэза (Gao et al., 2015). Снижение экспрессии Ddb1 активирует путь Trp53 и приводит к значительному влиянию на прогрессирование клеточного цикла и быстрый апоптоз гемопоэтических стволовых клеток. Наоборот, истощение Ddb1 в ЭСК приводит к инициации дифференцировки, но не к апоптозу.

Ингибирование активности протеасом в миобластах мышцы индуцировало остеобластную дифференцировку путем модификации активности Runx2, что свидетельствует о функции протеасом в контроле деградации факторов транскрипции, связанных с остеогенной дифференцировкой (Uyama et al., 2012).

С другой стороны, клетки, проходящие через дифференцировку, сталкиваются с активацией процессов окисления, что приводит к увеличению пула окисленных белков. Так, например, было обнаружено, что ЭСК мышцы содержат относительно высокий уровень карбонилированных белков и конечных продуктов гликирования, но после дифференцировки *in vitro* такое повреждение эффективно устраняется (Hernebring et al., 2006). Важно, что данное явление наблюдали и при сравнении содержания окисленных белков в ВКМ бластоцист и клетках, дифференцированных в трофэктодерму, что свидетельствует о том, что устранение повреждения белков происходит также и во время нормального эмбрионального развития. Примечательно, что удаление окислительно модифицированных белков во время дифференцировки ЭСК мышцы было связано с повышенной экспрессией протеасомного активатора PA28 и иммуносубъединиц протеасомы (Hernebring et al., 2013). Так, нокдаун PA28 препятствовал удалению поврежденных белков, подтверждая, что регулятор протеасомы PA28 играет важную роль в элиминации поврежденных белков при переходе от самообновления к дифференцировке клеток (Hernebring et al., 2013).

Интересно, что повышение уровня иммунопротеасом было также обнаружено при дифференцировке скелетных мышц, а нокдаун иммуносубъединицы протеасом LMP2/ β 1i (*PSMB9*) или использование специфических для иммунопротеасомы ингибиторов предотвращало дифференцировку клеток скелетных мышц (Cui et al., 2014). Кроме того, подавление иммунопротеасомной активности увеличивало пул окисленных белков и проапоптотических белков. Эти результаты указывают на усиление окислительной среды во время дифференцировки,

равно как и на важную роль иммуннопротеасом в удалении окисленных белков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПСК обладают уникальными транскриптомными, эпигеномными и протеомными характеристиками, которые обеспечиваются работой высокоточной регуляторной сети. Кроме того, эти клетки характеризуются усиленной активностью защитных клеточных систем, включая УПС. УПС регулирует протеостаз клетки, и, тем самым, играет одну из определяющих ролей в поддержании плюрипотентности и в дифференцировке ПСК посредством координации уровней транскрипционных факторов плюрипотентности и участников регуляторных сетей с помощью убиквитинирования ферментами E1, E2 и E3 и деубиквитинирования DUB-ферментами, а также за счет модуляции экспрессии, активности и субстратной специфичности протеасомных комплексов. Совместная работа ферментов E1, E2 и E3 с одной стороны, и DUB, с другой, обеспечивает определенный баланс между протеолизом и стабилизацией факторов плюрипотентности и других ключевых факторов и, тем самым, определяет судьбу ПСК — поддержание плюрипотентного состояния или выход из него в процесс дифференцировки.

Известно, что ЭСК намного более чувствительны к манипуляциям с сетью протеостаза (например, к ингибированию протеасом) чем дифференцированные клетки (Vilchez et al., 2012a). Это можно объяснить, в частности, накоплением поврежденных белков вследствие инактивации протеасом и, следовательно, запуском гибели ЭСК. Кроме того, самоподдержание ЭСК также требует высокой строгости и точности протеостаза, в то время как его дисфункция может запускать проапоптотические сигналы до того, как начнут накапливаться поврежденные белки.

С каждым годом благодаря появлению новых высокотехнологичных подходов и высокопроизводительных скрининговых исследований растет понимание роли УПС в поддержании плюрипотентности ПСК и в их дифференцировке, однако, остается все еще много нерешенных вопросов. Как, например, убиквитинирование и деубиквитинирование динамически регулирует различные состояния плюрипотентности, такие как наивное, формативное и праймированное (Гордеев и др., 2021). Какие механизмы обеспечивают модуляцию работы различных форм протеасомных комплексов в различных состояниях плюрипотентности и в разных направлениях дифференцировки? Дальнейшее изучение протеостаза и его регуляции поможет ответить на эти и другие вопросы, достичь лучшего понимания биологии ПСК, а также привести к разработке новых подходов к модуляции клеточной спецификации и дифференцировки.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 22-14-00390).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Авторы не проводили эксперименты с участием животных или человека.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

У.И. Поденкова, И.В. Зубарев: написание основной части работы, подбор литературы (внесли равный вклад в подготовку статьи). У.И. Поденкова и А.С. Цимоха: подготовка иллюстраций. А.С. Цимоха: подбор литературы, написание заключения; А.Н. Томилин и А.С. Цимоха: редактирование и правки текста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гордеев М.Н., Бахмет Е.И., Томилин А.Н. 2021. Динамика плюрипотентности в эмбриогенезе и в культуре. Онтогенез. Т. 52. № 6. С. 429. (Gordeev M., Bakhmet E., Tomilin A. 2021. Pluripotency dynamics during embryogenesis and in cell culture. Russ. J. Dev. Biol. V. 52. № 6. P. 379.)
<https://doi.org/10.1134/S1062360421060059>
- Селенина А.В., Цимоха А.С., Томилин А.Н. 2017. Протеасомы в регуляции белкового гомеостаза плюрипотентных стволовых клеток. Acta Naturae. Т. 9. № 3. С. 42. (Selenina A.V., Tsimokha A.S., Tomilin A.N. 2017. Proteasomes in protein homeostasis of pluripotent stem cells. Acta Naturae. V. 9. № 3. P. 42.)
- Abu-Dawud R., Graffmann N., Ferber S., Wruck W., Adjaye J. 2018. Pluripotent stem cells: induction and self-renewal. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. V. 373. P. 20170213.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0213>
- Al Mamun M.M., Khan M.R., Zhu Y., Zhang Y., Zhou S., Xu R., Bukhari I., Thorne R.F., Li J., Zhang X.D. 2022. Stub1 maintains proteostasis of master transcription factors in embryonic stem cells. Cell Rep. V. 39. P. 110919.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110919>
- Alekseenko Z., Dias J.M., Adler A.F., Kozhevnikova M., van Lunteren J.A., Nolbrant S., Jeggari A., Vasylovska S., Yoshitake T., Kehr J. 2022. Robust derivation of transplantable dopamine neurons from human pluripotent stem cells by timed retinoic acid delivery. Nature Commun. V.13. P. 1.
<https://doi.org/10.1038/s41467-022-30777-8>
- Babaie Y., Herwig R., Greber B., Brink T.C., Wruck W., Groth D., Lehrach H., Burdon T., Adjaye J. 2007. Analysis of Oct4-dependent transcriptional networks regulating self-renewal and pluripotency in human embryonic stem cells. Stem Cells. V. 25. P. 500.
<https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0426>
- Baharvand H., Hajheidari M., Ashtiani S.K., Salekdeh G.H. 2006. Proteomic signature of human embryonic stem cells.

- Proteomics. V. 6. P. 3544.
<https://doi.org/10.1002/pmic.200500844>
- Bai M., Zhao X., Sahara K., Ohte Y., Hirano Y., Kaneko T., Yashiroda H., Murata S. 2014. Assembly mechanisms of specialized core particles of the proteasome. *Biomolecules*. V. 4. P. 662.
<https://doi.org/10.3390/biom4030662>
- Beckwith R., Estrin E., Worden E.J., Martin A. 2013. Reconstitution of the 26S proteasome reveals functional asymmetries in its AAA+ unfoldase. *Nat. Struct. Mol. Biol.* V. 20. P. 1164.
<https://doi.org/10.1038/nsmb.2659>
- Behbahan I.S., Duan Y., Lam A., Khoobyari S., Ma X., Ahuja T.P., Zern M.A. 2011. New approaches in the differentiation of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells toward hepatocytes. *Stem Cell Rev. Rep.* V. 7. P. 748.
<https://doi.org/10.1007/s12015-010-9216-4>
- Bernstein B.E., Mikkelsen T.S., Xie X., Kamal M., Huebert D.J., Cuff J., Fry B., Meissner A., Wernig M., Plath K. 2006. A bivalent chromatin structure marks key developmental genes in embryonic stem cells. *Cell*. V. 125. P. 315.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.041>
- Biancotti J.C., Narwani K., Buehler N., Mandefro B., Golan-Lev T., Yanuka O., Clark A., Hill D., Benvenisty N., Lavon N. 2010. Human embryonic stem cells as models for aneuploid chromosomal syndromes. *Stem Cells*. V. 28. P. 1530.
<https://doi.org/10.1002/stem.483>
- Blondelle J., Shapiro P., Domenighetti A.A., Lange S. 2017. Cullin E3 ligase activity is required for myoblast differentiation. *J. Mol. Biol.* V. 429. P. 1045.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.02.012>
- Buckley S.M., Aranda-Orgilles B., Strikoudis A., Apostolou E., Loizou E., Moran-Crusio K., Farnsworth C.L., Koller A.A., Dasgupta R., Silva J.C., Stadtfeld M., Hochedlinger K., Chen E.I., Aifantis I. 2012. Regulation of pluripotency and cellular reprogramming by the ubiquitin-proteasome system. *Cell Stem Cell*. V. 11. P. 783.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.09.011>
- Budenholzer L., Cheng C.L., Li Y., Hochstrasser M. 2017. Proteasome Structure and Assembly. *J. Mol. Biol.* V. 429. P. 3500.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2017.05.027>
- Bustos F., Segarra-Fas A., Chaugule V.K., Brandenburg L., Branigan E., Toth R., Macartney T., Knebel A., Hay R.T., Walden H. 2018. RNF12 X-linked intellectual disability mutations disrupt E3 ligase activity and neural differentiation. *Cell Rep.* V. 23. P. 1599.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.022>
- Cao F., Lin S., Xie X., Ray P., Patel M., Zhang X., Drukker M., Dylla S.J., Connolly A.J., Chen X. 2006. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. *Circulation*. V. 113. P. 1005.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.588954>
- Cascio P., Hilton C., Kisselev A.F., Rock K.L., Goldberg A.L. 2001. 26S proteasomes and immunoproteasomes produce mainly N-extended versions of an antigenic peptide. *EMBO J.* V. 20. P. 2357.
<https://doi.org/10.1093/emboj/20.10.2357>
- Choi J., Baek K.H. 2018. Cellular functions of stem cell factors mediated by the ubiquitin-proteasome system. *Cell. Mol. Life Sci.* V. 75. P. 1947.
<https://doi.org/10.1007/s00018-018-2770-7>
- Ciechanover A., Kwon Y.T. 2015. Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies. *Exp. Mol. Med.* V. 47. P. e147.
<https://doi.org/10.1038/emm.2014.117>
- Cui Z., Hwang S.M., Gomes A.V. 2014. Identification of the immunoproteasome as a novel regulator of skeletal muscle differentiation. *Mol. Cell. Biol.* V. 34. P. 96.
<https://doi.org/10.1128/MCB.00622-13>
- Dahlmann B. 2005. Proteasomes. *Essays Biochem.* V. 41. P. 31.
<https://doi.org/10.1042/EB0410031>
- de Napoles M., Mermoud J.E., Wakao R., Tang Y.A., Endoh M., Appanah R., Nesterova T.B., Silva J., Otte A.P., Vidal M. 2004. Polycomb group proteins Ring1A/B link ubiquitylation of histone H2A to heritable gene silencing and X inactivation. *Dev. Cell*. V. 7. P. 663.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.10.005>
- Diefenbacher M.E., Chakraborty A., Blake S.M., Mitter R., Popov N., Eilers M., Behrens A. 2015. Usp28 counteracts Fbw7 in intestinal homeostasis and cancer. *Cancer Res.* V. 75. P. 1181.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-1726>
- Dieudonne F.-X., Sévère N., Biosse-Duplan M., Weng J.-J., Su Y., Marie P.J. 2013. Promotion of osteoblast differentiation in mesenchymal cells through Cbl-mediated control of STAT5 activity. *Stem Cells*. V. 31. P. 1340.
<https://doi.org/10.1002/stem.1380>
- Draws O., Taegtmeyer H. 2014. Targeting the ubiquitin-proteasome system in heart disease: the basis for new therapeutic strategies. *Antioxid. Redox. Signal.* V. 21. P. 2322.
<https://doi.org/10.1089/ars.2013.5823>
- Du Z., He F., Yu Z., Bowerman B., Bao Z. 2015. E3 ubiquitin ligases promote progression of differentiation during C. elegans embryogenesis. *Dev. Biol.* V. 398. P. 267.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.12.009>
- Dutta D., Sharma V., Mutsuddi M., Mukherjee A. 2021. Regulation of Notch signaling by E3 ubiquitin ligases. *FEBS J.* V. 289. P. 937.
<https://doi.org/10.1111/febs.15792>
- Endoh M., Endo T.A., Endoh T., Fujimura Y.-I., Ohara O., Toyoda T., Otte A.P., Okano M., Brockdorff N., Vidal M. 2008. Polycomb group proteins Ring1A/B are functionally linked to the core transcriptional regulatory circuitry to maintain ES cell identity. *Development*. V. 135. P. 1513.
<https://doi.org/10.1242/dev.014340>
- Fabre B., Lambour T., Garrigues L., Amalric F., Vigneron N., Menneteau T., Stella A., Monsarrat B., Van den Eynde B., Burllet-Schiltz O. 2015. Deciphering preferential interactions within supramolecular protein complexes: the proteasome case. *Mol. Syst. Biol.* V. 11. P. 771.
<https://doi.org/10.15252/msb.20145497>
- Fang L., Zhang L., Wei W., Jin X., Wang P., Tong Y., Li J., Du J.X., Wong J. 2014. A methylation-phosphorylation switch determines Sox2 stability and function in ESC maintenance or differentiation. *Mol. Cell*. V. 55. P. 537.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.06.018>
- Finley D., Tanaka K., Mann C., Feldmann H., Hochstrasser M., Vierstra R., Johnston S., Hampton R., Haber J., McCusker J., Silver P., Frontali L., Thorsness P., Varshavsky A., Byers B. et al. 1998. Unified nomenclature for subunits of the Saccharomyces cerevisiae proteasome regulatory particle. *Trends Biochem. Sci.* V. 23. P. 244.
[https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(98\)01222-5](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(98)01222-5)

- Fort P., Kajava A.V., Delsuc F., Coux O. 2015. Evolution of proteasome regulators in eukaryotes. *Genome Biol. Evol.* V. 7. P. 1363.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evv068>
- Fu X. 2014. The immunogenicity of cells derived from induced pluripotent stem cells. *Cell. Mol. Immunol.* V. 11. P. 14.
<https://doi.org/10.1038/cmi.2013.60>
- Fuchs G., Shema E., Vesterman R., Kotler E., Wolchinsky Z., Wilder S., Golomb L., Pribluda A., Zhang F., Haj-Yahya M., Feldmesser E., Brik A., Yu X., Hanna J., Aberdam D., Domany E., Oren M. 2012. RNF20 and USP44 regulate stem cell differentiation by modulating H2B monoubiquitylation. *Mol. Cell.* V. 46. P. 662.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.05.023>
- Fujikawa T., Oh S.-H., Pi L., Hatch H.M., Shupe T., Petersen B.E. 2005. Teratoma formation leads to failure of treatment for type I diabetes using embryonic stem cell-derived insulin-producing cells. *Am. J. Pathol.* V. 166. P. 1781.
[https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62488-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62488-1)
- Gao C., Xiao G., Hu J. 2014. Regulation of Wnt/ β -catenin signaling by posttranslational modifications. *Cell Biosci.* V. 4. P. 13.
<https://doi.org/10.1186/2045-3701-4-13>
- Gao J., Buckley S.M., Cimmino L., Guillamot M., Strikoudis A., Cang Y., Goff S.P., Aifantis I. 2015. The CUL4-DDB1 ubiquitin ligase complex controls adult and embryonic stem cell differentiation and homeostasis. *Elife.* V. 4. P. e07539.
<https://doi.org/10.7554/eLife.07539>
- Glickman M.H., Rubin D.M., Coux O., Wefes I., Pfeifer G., Cjeka Z., Baumeister W., Fried V.A., Finley D. 1998. A subcomplex of the proteasome regulatory particle required for ubiquitin-conjugate degradation and related to the COP9-signalosome and eIF3. *Cell.* V. 94. P. 615.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81603-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81603-7)
- Groll M., Bajorek M., Kohler A., Moroder L., Rubin D.M., Huber R., Glickman M.H., Finley D. 2000. A gated channel into the proteasome core particle. *Nat. Struct. Biol.* V. 7. P. 1062.
<https://doi.org/10.1038/80992>
- Groll M., Bochtler M., Brandstetter H., Clausen T., Huber R. 2005. Molecular machines for protein degradation. *Chem-biochem.* V. 6. P. 222.
<https://doi.org/10.1002/cbic.200400313>
- Groll M., Ditzel L., Lowe J., Stock D., Bochtler M., Bartunik H.D., Huber R. 1997. Structure of 20S proteasome from yeast at 2.4 Å resolution. *Nature.* V. 386. P. 463.
<https://doi.org/10.1038/386463a0>
- Hatakeyama S. 2012. Ubiquitin-mediated regulation of JAK-STAT signaling in embryonic stem cells. *JAKSTAT.* V. 1. P. 168.
<https://doi.org/10.4161/jkst.21560>
- Hayashi K., de Sousa Lopes S.M.C., Tang F., Surani M.A. 2008. Dynamic equilibrium and heterogeneity of mouse pluripotent stem cells with distinct functional and epigenetic states. *Cell Stem Cell.* V. 3. P. 391.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.027>
- He M., Zhou Z., Shah A.A., Zou H., Tao J., Chen Q., Wan Y. 2016. The emerging role of deubiquitinating enzymes in genomic integrity, diseases, and therapeutics. *Cell Biosci.* V. 6. P. 62.
<https://doi.org/10.1186/s13578-016-0127-1>
- Hernebring M., Brolen G., Aguilaniu H., Semb H., Nystrom T. 2006. Elimination of damaged proteins during differentiation of embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 103. P. 7700.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0510944103>
- Hernebring M., Fredriksson A., Liljevald M., Cvijovic M., Norrman K., Wiseman J., Semb H., Nystrom T. 2013. Removal of damaged proteins during ES cell fate specification requires the proteasome activator PA28. *Sci. Rep.* V. 3. P. 1381.
<https://doi.org/10.1038/srep01381>
- Hershko A., Ciechanover A. 1992. The ubiquitin system for protein degradation. *Annu. Rev. Biochem.* V. 61. P. 761.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.61.070192.003553>
- Hershko A., Ciechanover A. 1998. The ubiquitin system. *Annu. Rev. Biochem.* V. 67. P. 425.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.425>
- Inoue D., Aihara H., Sato T., Mizusaki H., Doiguchi M., Higashi M., Imamura Y., Yoneda M., Miyanishi T., Fujii S. 2015. Dzip3 regulates developmental genes in mouse embryonic stem cells by reorganizing 3D chromatin conformation. *Sci. Rep.* V. 5. P. 16567.
<https://doi.org/10.1038/srep16567>
- Jiang T.X., Zhao M., Qiu X.B. 2018. Substrate receptors of proteasomes. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* V. 93. P. 1765.
<https://doi.org/10.1111/brv.12419>
- Jing X., Infante J., Nachtman R.G., Jurecic R. 2008. E3 ligase FLRF (Rnf41) regulates differentiation of hematopoietic progenitors by governing steady-state levels of cytokine and retinoic acid receptors. *Exp. Hematol.* V. 36. P. 1110.
<https://doi.org/10.1016/j.exphem.2008.04.001>
- Kammerl I.E., Dann A., Mossina A., Brech D., Lukas C., Vosyka O., Nathan P., Conlon T.M., Wagner D.E., Overkleeft H.S. 2016. Impairment of immunoproteasome function by cigarette smoke and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* V. 193. P. 1230.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201506-1122OC>
- Kim S.-H., Kim M.O., Cho Y.-Y., Yao K., Kim D.J., Jeong C.-H., Yu D.H., Bae K.B., Cho E.J., Jung S.K. 2014. ERK1 phosphorylates Nanog to regulate protein stability and stem cell self-renewal. *Stem Cell Res.* V. 13. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2014.04.001>
- Konstantinova I.M., Tsimokha A.S., Mittenberg A.G. 2008. Role of proteasomes in cellular regulation. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* V. 267. P. 59.
[https://doi.org/10.1016/S1937-6448\(08\)00602-3](https://doi.org/10.1016/S1937-6448(08)00602-3)
- Li S., Xiao F., Zhang J., Sun X., Wang H., Zeng Y., Hu J., Tang F., Gu J., Zhao Y., Jin Y., Liao B. 2018. Disruption of OCT4 ubiquitination increases OCT4 protein stability and ASH2L-B-mediated H3K4 methylation promoting pluripotency acquisition. *Stem Cell Reports.* V. 11. P. 973.
<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.09.001>
- Liao B., Zhong X., Xu H., Xiao F., Fang Z., Gu J., Chen Y., Zhao Y., Jin Y. 2013. Itch, an E3 ligase of Oct4, is required for embryonic stem cell self-renewal and pluripotency induction. *J. Cell. Physiol.* V. 228. P. 1443.
<https://doi.org/10.1002/jcp.24297>
- Liu X., Yao Y., Ding H., Han C., Chen Y., Zhang Y., Wang C., Zhang X., Zhang Y., Zhai Y. 2016. USP21 deubiquitylates Nanog to regulate protein stability and stem cell pluripotency. *Signal Transduct. Target. Ther.* V. 1. P. 16024.
<https://doi.org/10.1038/sigtrans.2016.24>

- Liu Y.-J., Nakamura T., Nakano T. 2012. Essential role of DP-PA3 for chromatin condensation in mouse oocytogenesis. *Biol. Reprod.* V. 86. P. 40.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.095018>
- Liu Y., Xu H.W., Wang L., Li S.Y., Zhao C.J., Hao J., Li Q.Y., Zhao T.T., Wu W., Wang Y. 2018. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium transplants as a potential treatment for wet age-related macular degeneration. *Cell Discov.* V. 4. P. 50.
<https://doi.org/10.1038/s41421-018-0053-y>
- Mattout A., Meshorer E. 2010. Chromatin plasticity and genome organization in pluripotent embryonic stem cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* V. 22. P. 334.
<https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.02.001>
- Meiners S., Keller I.E., Semren N., Caniard A. 2014. Regulation of the proteasome: evaluating the lung proteasome as a new therapeutic target. *Antioxid. Redox. Signal.* V. 21. P. 2364.
<https://doi.org/10.1089/ars.2013.5798>
- Meiners S., Ludwig A., Stangl V., Stangl K. 2008. Proteasome inhibitors: poisons and remedies. *Med. Res. Rev.* V. 28. P. 309.
<https://doi.org/10.1002/med.20111>
- Meshorer E., Misteli T. 2006. Chromatin in pluripotent embryonic stem cells and differentiation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* V. 7. P. 540.
<https://doi.org/10.1038/nrm1938>
- Miyazono K. 2000. TGF- β signaling by Smad proteins. *Cytokine Growth Factor Rev.* V. 11. P. 15.
[https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(99\)00025-8](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(99)00025-8)
- Morozov A.V., Karpov V.L. 2018. Biological consequences of structural and functional proteasome diversity. *Heliyon.* V. 4. P. e00894.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00894>
- Murata S., Takahama Y., Tanaka K. 2008. Thymoproteasome: probable role in generating positively selecting peptides. *Curr. Opin. Immunol.* V. 20. P. 192.
<https://doi.org/10.1016/j.coi.2008.03.002>
- Nakagawa T., Kajitani T., Togo S., Masuko N., Ohdan H., Hishikawa Y., Koji T., Matsuyama T., Ikura T., Muramatsu M. 2008. Deubiquitylation of histone H2A activates transcriptional initiation via trans-histone cross-talk with H3K4 di- and trimethylation. *Genes Dev.* V. 22. P. 37.
<https://doi.org/10.1101/gad.1609708>
- Nakamura T., Arai Y., Umehara H., Masuhara M., Kimura T., Taniguchi H., Sekimoto T., Ikawa M., Yoneda Y., Okabe M. 2007. PGC7/Stella protects against DNA demethylation in early embryogenesis. *Nat. Cell Biol.* V. 9. P. 64.
<https://doi.org/10.1038/ncb1519>
- Nakamura T., Liu Y.-J., Nakashima H., Umehara H., Inoue K., Matoba S., Tachibana M., Ogura A., Shinkai Y., Nakano T. 2012. PGC7 binds histone H3K9me2 to protect against conversion of 5mC to 5hmC in early embryos. *Nature.* V. 486. P. 415.
<https://doi.org/10.1038/nature11093>
- Nandi D., Tahiliani P., Kumar A., Chandu D. 2006. The ubiquitin-proteasome system. *J. Biosci.* V. 31. P. 137.
<https://doi.org/10.1007/BF02705243>
- Ng H.-H., Surani M.A. 2011. The transcriptional and signalling networks of pluripotency. *Nat. Cell Biol.* V. 13. P. 490.
<https://doi.org/10.1038/ncb0511-490>
- Nguyen D.T.T., Richter D., Michel G., Mitschka S., Kolanus W., Cuevas E., Wulczyn F.G. 2017. The ubiquitin ligase LIN41/TRIM71 targets p53 to antagonize cell death and differentiation pathways during stem cell differentiation. *Cell Death Differ.* V. 24. P. 1063.
<https://doi.org/10.1038/cdd.2017.54>
- Noormohammadi A., Calculli G., Gutierrez-Garcia R., Khodakarami A., Koyuncu S., Vilchez D. 2018. Mechanisms of protein homeostasis (proteostasis) maintain stem cell identity in mammalian pluripotent stem cells. *Cell. Mol. Life Sci.* V. 75. P. 275.
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2602-1>
- Okita Y., Matsumoto A., Yumimoto K., Isoshita R., Nakayama K.I. 2012. Increased efficiency in the generation of induced pluripotent stem cells by Fbxw7 ablation. *Genes Cells.* V. 17. P. 768.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2012.01626.x>
- Okita Y., Nakayama K.I. 2012. UPS delivers pluripotency. *Cell Stem Cell.* V. 11. P. 728.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.11.009>
- Okumura F., Matsunaga Y., Katayama Y., Nakayama K.I., Hatakeyama S. 2010. TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3. *J. Cell Sci.* V. 123. P. 2238.
<https://doi.org/10.1242/jcs.068981>
- Osmulski P.A., Hochstrasser M., Gaczynska M. 2009. A tetrahedral transition state at the active sites of the 20S proteasome is coupled to opening of the alpha-ring channel. *Structure.* V. 17. P. 1137.
<https://doi.org/10.1016/j.str.2009.06.011>
- Pak C., Danko T., Zhang Y., Aoto J., Anderson G., Maxeiner S., Yi F., Wernig M., Südhof T.C. 2015. Human neuropsychiatric disease modeling using conditional deletion reveals synaptic transmission defects caused by heterozygous mutations in NRXN1. *Cell Stem Cell.* V. 17. P. 316.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.07.017>
- Pan J., Deng Q., Jiang C., Wang X., Niu T., Li H., Chen T., Jin J., Pan W., Cai X., Yang X., Lu M., Xiao J., Wang P. 2015. USP37 directly deubiquitinates and stabilizes c-Myc in lung cancer. *Oncogene.* V. 34. P. 3957.
<https://doi.org/10.1038/onc.2014.327>
- Pickering A.M., Davies K.J. 2012. Degradation of damaged proteins: the main function of the 20S proteasome. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* V. 109. P. 227.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397863-9.00006-7>
- Qian M.X., Pang Y., Liu C.H., Haratake K., Du B.Y., Ji D.Y., Wang G.F., Zhu Q.Q., Song W., Yu Y., Zhang X.X., Huang H.T., Miao S., Chen L.B., Zhang Z.H., Liang Y.N. et al. 2013. Acetylation-mediated proteasomal degradation of core histones during DNA repair and spermatogenesis. *Cell.* V. 153. P. 1012.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.032>
- Rezania A., Bruin J.E., Arora P., Rubin A., Batushansky I., Asadi A., O'dwyer S., Quiskamp N., Mojibian M., Albrecht T. 2014. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* V. 32. P. 1121.
<https://doi.org/10.1038/nbt.3033>
- Sang H., Wang D., Zhao S., Zhang J., Zhang Y., Xu J., Chen X., Nie Y., Zhang K., Zhang S. 2019. Dppa3 is critical for Lin28a-regulated ES cells naïve-primed state conversion. *J. Mol. Cell Biol.* V. 11. P. 474.
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjy069>
- Saretzki G., Armstrong L., Leake A., Lako M., von Zglinicki T. 2004. Stress defense in murine embryonic stem cells is su-

- terior to that of various differentiated murine cells. *Stem Cells*. V. 22. P. 962.
<https://doi.org/10.1634/stemcells.22-6-962>
- Saric T., Chang S.-C., Hattori A., York I.A., Markant S., Rock K.L., Tsujimoto M., Goldberg A.L. 2002. An IFN- γ -induced aminopeptidase in the ER, ERAP1, trims precursors to MHC class I-presented peptides. *Nat. Immunol.* V. 3. P. 1169.
<https://doi.org/10.1038/ni859>
- Sato N., Sanjuan I.M., Heke M., Uchida M., Naef F., Brivanlou A.H. 2003. Molecular signature of human embryonic stem cells and its comparison with the mouse. *Dev. Biol.* V. 260. P. 404.
[https://doi.org/10.1016/s0012-1606\(03\)00256-2](https://doi.org/10.1016/s0012-1606(03)00256-2)
- Schuldiner M., Eiges R., Eden A., Yanuka O., Itskovitz-Eldor J., Goldstein R.S., Benvenisty N. 2001. Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. *Brain Res.* V. 913. P. 201.
[https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)02776-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)02776-7)
- Schwartz S.D., Regillo C.D., Lam B.L., Elliott D., Rosenfeld P.J., Gregori N.Z., Hubschman J.-P., Davis J.L., Heilwell G., Spirn M. 2015. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet*. V. 385. P. 509.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61376-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61376-3)
- Seemuller E., Lupas A., Stock D., Lowe J., Huber R., Baumeister W. 1995. Proteasome from *Thermoplasma acidophilum*: a threonine protease. *Science*. V. 268. P. 579.
<https://doi.org/10.1126/science.7725107>
- Sinenko S.A., Starkova T.Y., Kuzmin A.A., Tomilin A.N. 2021. Physiological signaling functions of reactive oxygen species in stem cells: From flies to man. *Front. Cell Dev. Biol.* V. 9. P. 714370.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.714370>
- Smalle J., Vierstra R.D. 2004. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.* V. 55. P. 555.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141801>
- Stadtmueller B.M., Hill C.P. 2011. Proteasome activators. *Mol. Cell*. V. 41. P. 8.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.12.020>
- Sun X.X., He X., Yin L., Komada M., Sears R.C., Dai M.S. 2015. The nucleolar ubiquitin-specific protease USP36 deubiquitinates and stabilizes c-Myc. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 112. P. 3734.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1411713112>
- Suresh B., Lee J., Kim K.S., Ramakrishna S. 2016. The importance of ubiquitination and deubiquitination in cellular reprogramming. *Stem Cells Int.* V. 2016. P. 6705927.
<https://doi.org/10.1155/2016/6705927>
- Takahashi K., Yamanaka S. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. V. 126. P. 663.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Marshall V.S., Jones J.M. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. V. 282. P. 1145.
<https://doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>
- Uechi H., Hamazaki J., Murata S. 2014. Characterization of the testis-specific proteasome subunit alpha4s in mammals. *J. Biol. Chem.* V. 289. P. 12365.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M114.558866>
- Urbach A., Benvenisty N. 2009. Studying early lethality of 45, XO (Turner's syndrome) embryos using human embryonic stem cells. *PLoS One*. V. 4. P. e4175.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004175>
- Uyama M., Sato M.M., Kawanami M., Tamura M. 2012. Regulation of osteoblastic differentiation by the proteasome inhibitor bortezomib. *Genes Cells*. V. 17. P. 548.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2012.01611.x>
- van der Stoop P., Boutsma E.A., Hulsman D., Noback S., Heimerikx M., Kerkhoven R.M., Voncken J.W., Wessels L.F., van Lohuizen M. 2008. Ubiquitin E3 ligase Ring1b/Rnf2 of polycomb repressive complex 1 contributes to stable maintenance of mouse embryonic stem cells. *PLoS One*. V. 3. P. e2235.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002235>
- Verma R., Aravind L., Oania R., McDonald W.H., Yates J.R., 3rd, Koonin E.V., Deshaies R.J. 2002. Role of Rpn11 metalloprotease in deubiquitination and degradation by the 26S proteasome. *Science*. V. 298. P. 611.
<https://doi.org/10.1126/science.1075898>
- Vilchez D., Boyer L., Lutz M., Merkwirth C., Morantte I., Tse C., Spencer B., Page L., Masliah E., Berggren W.T., Gage F.H., Dillin A. 2013. FOXO4 is necessary for neural differentiation of human embryonic stem cells. *Aging Cell*. V. 12. P. 518.
<https://doi.org/10.1111/accel.12067>
- Vilchez D., Boyer L., Morantte I., Lutz M., Merkwirth C., Joyce D., Spencer B., Page L., Masliah E., Berggren W.T., Gage F.H., Dillin A. 2012a. Increased proteasome activity in human embryonic stem cells is regulated by PSMD11. *Nature*. V. 489. P. 304.
<https://doi.org/10.1038/nature11468>
- Vilchez D., Morantte I., Liu Z., Douglas P.M., Merkwirth C., Rodrigues A.P., Manning G., Dillin A. 2012b. RPN-6 determines *C. elegans* longevity under proteotoxic stress conditions. *Nature*. V. 489. P. 263.
<https://doi.org/10.1038/nature11315>
- Voutsadakis I.A. 2012. The ubiquitin-proteasome system and signal transduction pathways regulating epithelial mesenchymal transition of cancer. *J. Biomed. Sci.* V. 19. P. 67.
<https://doi.org/10.1186/1423-0127-19-67>
- Wang D., Bu F., Zhang W. 2019. The role of ubiquitination in regulating embryonic stem cell maintenance and cancer development. *Int. J. Mol. Sci.* V. 20. P. 2667.
<https://doi.org/10.3390/ijms20112667>
- Wang X., Meul T., Meiners S. 2020. Exploring the proteasome system: a novel concept of proteasome inhibition and regulation. *Pharmacol. Ther.* V. 211. P. 107526.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107526>
- Watanabe M., Takahashi H., Saeki Y., Ozaki T., Itoh S., Suzuki M., Mizushima W., Tanaka K., Hatakeyama S. 2015. The E3 ubiquitin ligase TRIM23 regulates adipocyte differentiation via stabilization of the adipogenic activator PPAR γ . *Elife*. V. 4. P. e05615.
<https://doi.org/10.7554/eLife.05615>
- Weitzman M.D., Lilley C.E., Chaurushiya M.S. 2010. Genomes in conflict: maintaining genome integrity during virus infection. *Annu. Rev. Microbiol.* V. 64. P. 61.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134016>

- Werner A., Manford A.G., Rape M. 2017. Ubiquitin-dependent regulation of stem cell biology. *Trends Cell Biol.* V. 27. P. 568.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.04.002>
- Xiao N., Eto D., Elly C., Peng G., Crotty S., Liu Y.-C. 2014. The E3 ubiquitin ligase Itch is required for the differentiation of follicular helper T cells. *Nat. Immunol.* V. 15. P. 657.
<https://doi.org/10.1038/ni.2912>
- Xu H., Wang W., Li C., Yu H., Yang A., Wang B., Jin Y. 2009. WWP2 promotes degradation of transcription factor OCT4 in human embryonic stem cells. *Cell Res.* V. 19. P. 561.
<https://doi.org/10.1038/cr.2009.31>
- Yadav D., Lee J.Y., Puranik N., Chauhan P.S., Chavda V., Jin J.-O., Lee P.C. 2022. Modulating the ubiquitin–proteasome system: a therapeutic strategy for autoimmune diseases. *Cells.* V. 11. P. 1093.
<https://doi.org/10.3390/cells11071093>
- Yao T., Cohen R.E. 2002. A cryptic protease couples deubiquitination and degradation by the proteasome. *Nature.* V. 419. P. 403.
<https://doi.org/10.1038/nature01071>
- Young L.E., Fernandes K., McEvoy T.G., Butterwith S.C., Gutierrez C.G., Carolan C., Broadbent P.J., Robinson J.J., Wilmut I., Sinclair K.D. 2001. Epigenetic change in IGF2R is associated with fetal overgrowth after sheep embryo culture. *Nat. Genet.* V. 27. P. 153.
<https://doi.org/10.1038/84769>
- Young R.A. 2011. Control of the embryonic stem cell state. *Cell.* V. 144. P. 940.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.01.032>
- 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.* V. 282. P. 22460.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M702439200>
- Zhang F., Laiho M. 2003. On and off: proteasome and TGF-beta signaling. *Exp. Cell Res.* V. 291. P. 275.
<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2003.07.007>
- Zhang X., Linder S., Bazzaro M. 2020. Drug development targeting the ubiquitin–proteasome system (UPS) for the treatment of human cancers. *Cancers.* V. 12. P. 902.
<https://doi.org/10.3390/cancers12040902>
- Zhang Y., Ding H., Wang X., Wang X., Wan S., Xu A., Gan R., Ye S.-D. 2021. MK2 promotes Tfcp2l1 degradation via β -TrCP ubiquitin ligase to regulate mouse embryonic stem cell self-renewal. *Cell Rep.* V. 37. P. 109949.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109949>
- Zhao S., Zhang C., Xu J., Liu S., Yu L., Chen S., Wen H., Li Z., Liu N. 2022. Dppa3 facilitates self-renewal of embryonic stem cells by stabilization of pluripotent factors. *Stem Cell Res. Ther.* V. 13. P. 169.
<https://doi.org/10.1186/s13287-022-02846-8>
- Zhou L., Mideros S.X., Bao L., Hanlon R., Arredondo F.D., Tripathy S., Krampis K., Jerauld A., Evans C., St Martin S.K. 2009. Infection and genotype remodel the entire soybean transcriptome. *BMC Genomics.* V. 10. P. 49.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-49>
- Zhou W., Zhu P., Wang J., Pascual G., Ohgi K.A., Lozach J., Glass C.K., Rosenfeld M.G. 2008. Histone H2A monoubiquitination represses transcription by inhibiting RNA polymerase II transcriptional elongation. *Mol. Cell.* V. 29. P. 69.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.11.002>

Ubiquitin–Proteasome System in Cell Pluripotency and Differentiation

U. I. Podenkova^a, I. V. Zubarev^a, A. N. Tomilin^a, and A. S. Tsimokha^a, *

^aInstitute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia

*e-mail: atsimokha@incras.ru

Pluripotent stem cells (PSCs), represented primarily by embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells (iPSCs), have a unique ability to self-renew and differentiate into all types of somatic cells. Dissecting molecular mechanisms controlling these properties is important for an efficient and safe introduction of PSCs into clinics. Growing evidence indicates that the proteostasis plays a central role in PSCs fate decisions. This review focuses on the role of the ubiquitin–proteasome system, a key member of the proteostasis network, in the regulation of pluripotency and differentiation of PSCs.

Keywords: deubiquitinases, differentiation, embryonic stem cells, pluripotency, proteasome, ubiquitin ligases, ubiquitin–proteasome system