

Regulace exprese

Úvod (tok genetické informace, skladba lidského genomu, velikost - porovnání s jinými organismy, úrovně regulace)

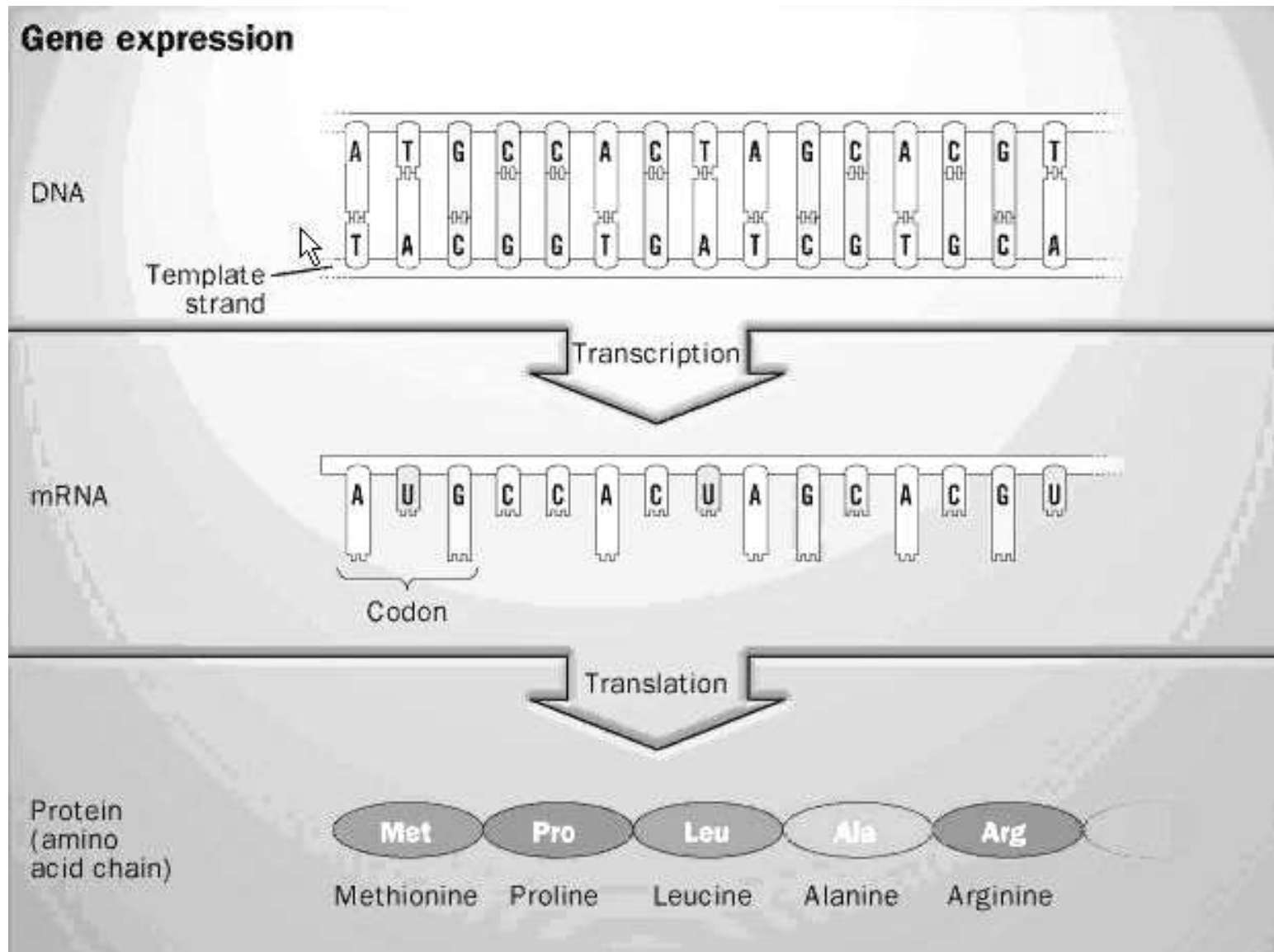
Porovnání regulace transkripce u pro- a eukaryot

Regulace transkripce na úrovni genetického kódu

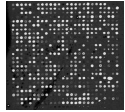
Regulace na úrovni chromatinu a jádra

Úroveň sestřihu, translace, degradace RNA a proteinu

Genetický kód a tok genetické informace



Počty genů u různých organismů

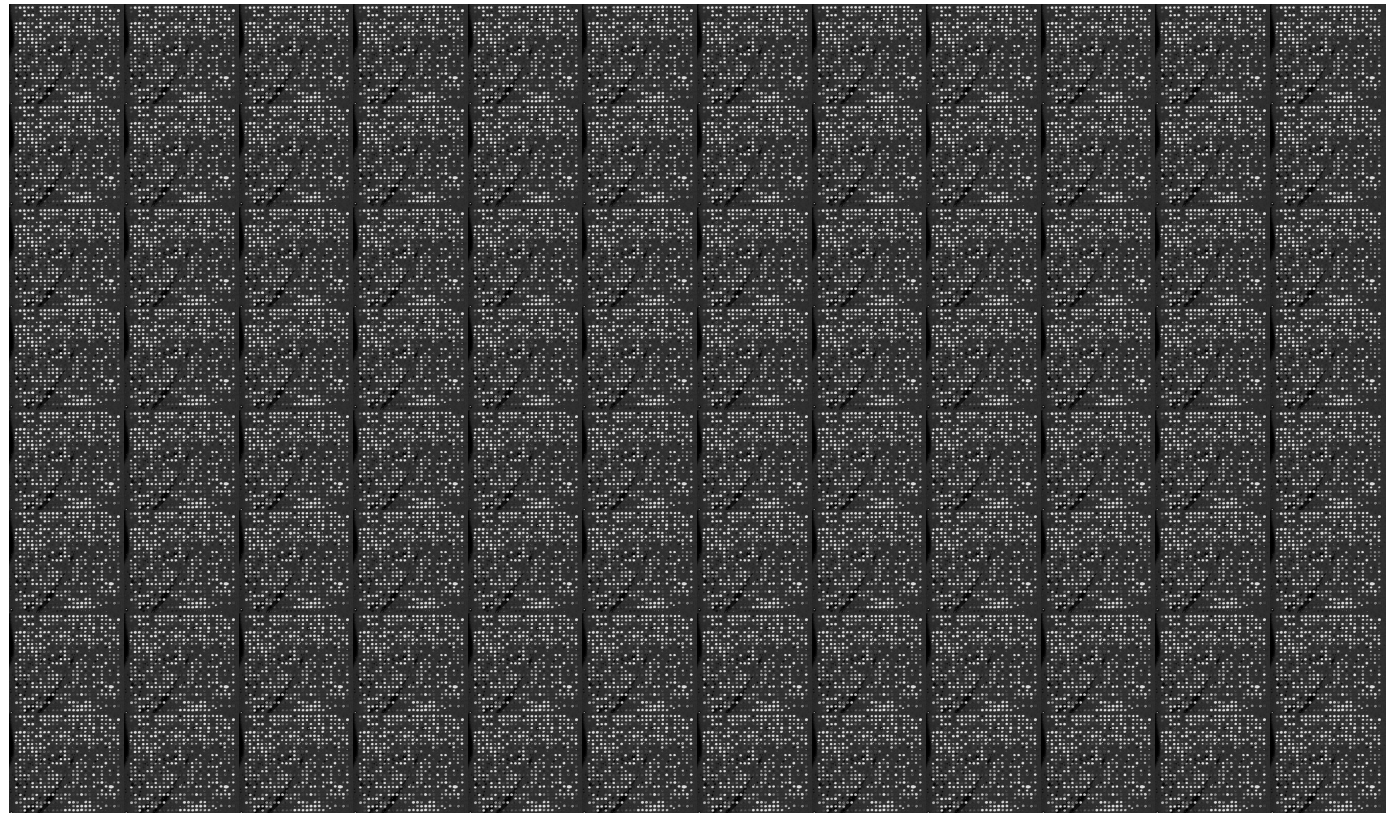


Mycoplasma (600)



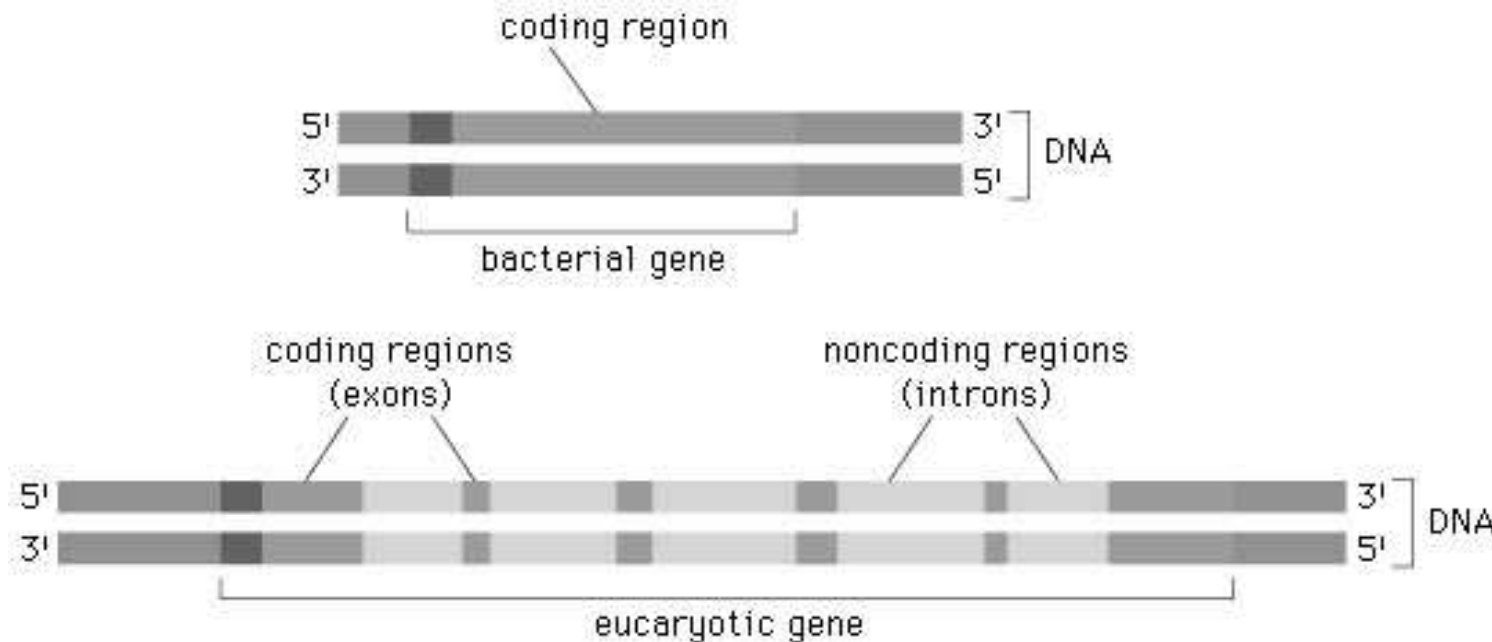
Escherichia coli (4000)

*člověk
+ vyšší
organismy
(30 000)*



Skladba genů u pro- a eukaryot

Genom eukaryot obsahuje mezi kodujícími sekvencemi řadu nekódujících oblastí - intronů



©1998 GARLAND PUBLISHING

Geny : prům. velikost 10-15 kb ale variabilní od stovek bp- Mb (tRNA – Dys); exony činí od 100% až po 0.6% (Dys)

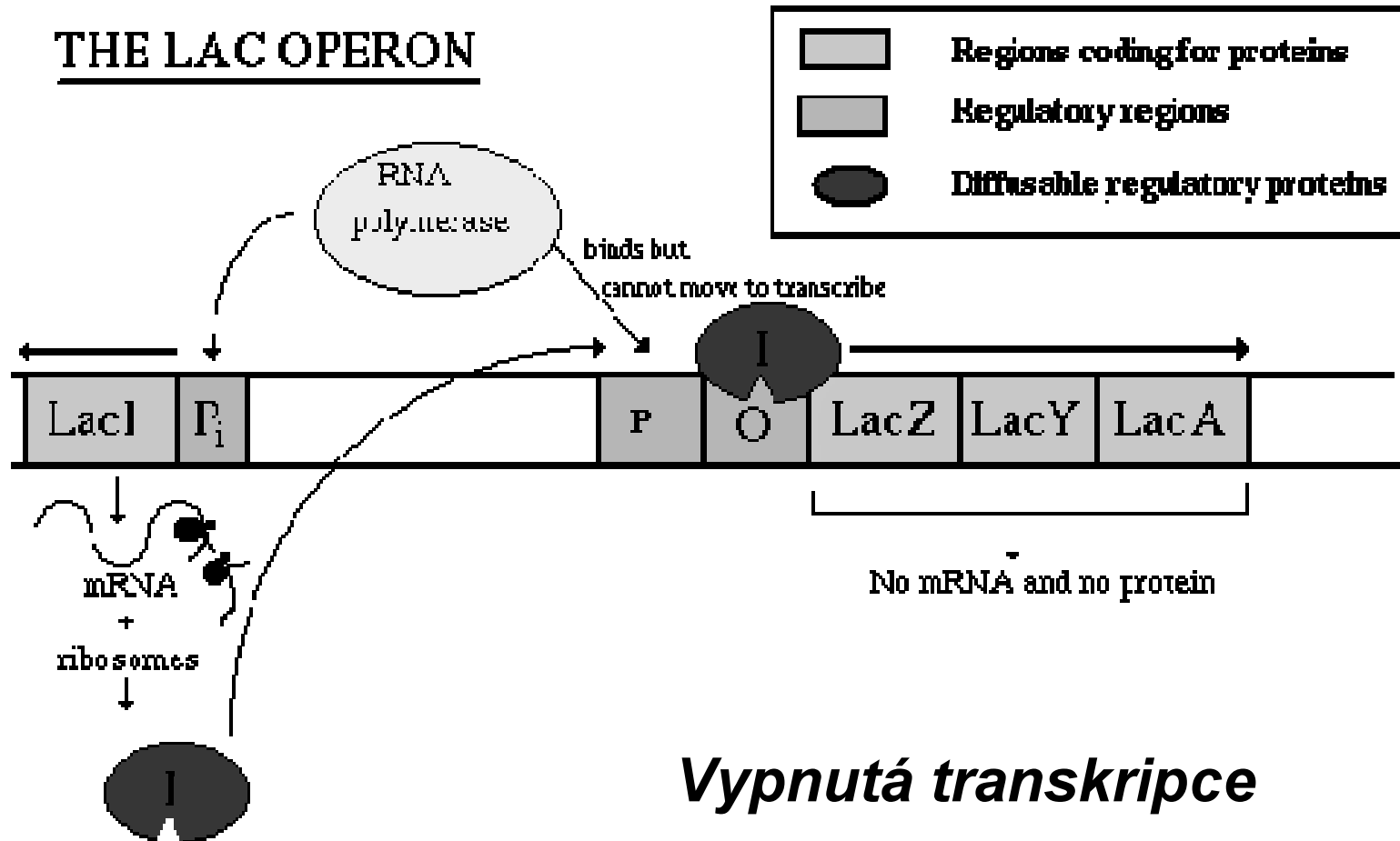
Introny jsou velmi variabilní: 0-118 na gen (u colagenu); délka 0.5 kb pro β -globin až po 30 kb pro dystrofin

Rozdíly v regulaci u pro- a eukaryot

- **Expese u prokaryot je typicky regulována v rámci operonu – souboru kontrolních sekvencí v bezprostřední blízkosti protein-kódující sekvence**
- **Eukaryotické geny jsou rovněž regulovány souborem kontrolních sekvencí, které se nacházejí poblíž protein-kódující sekvence, ale operony zde neexistují.**
- **V eukaryotických buňkách je jádro – regulace je komplexnější (transkripce a translace jsou odděleny).**
- **Introny se u bakterií téměř nevyskytují a regulace sestřihem se uplatňuje pouze u eukaryot**
- **Existuje krátkodobá a dlouhodobá regulace transkripce.**

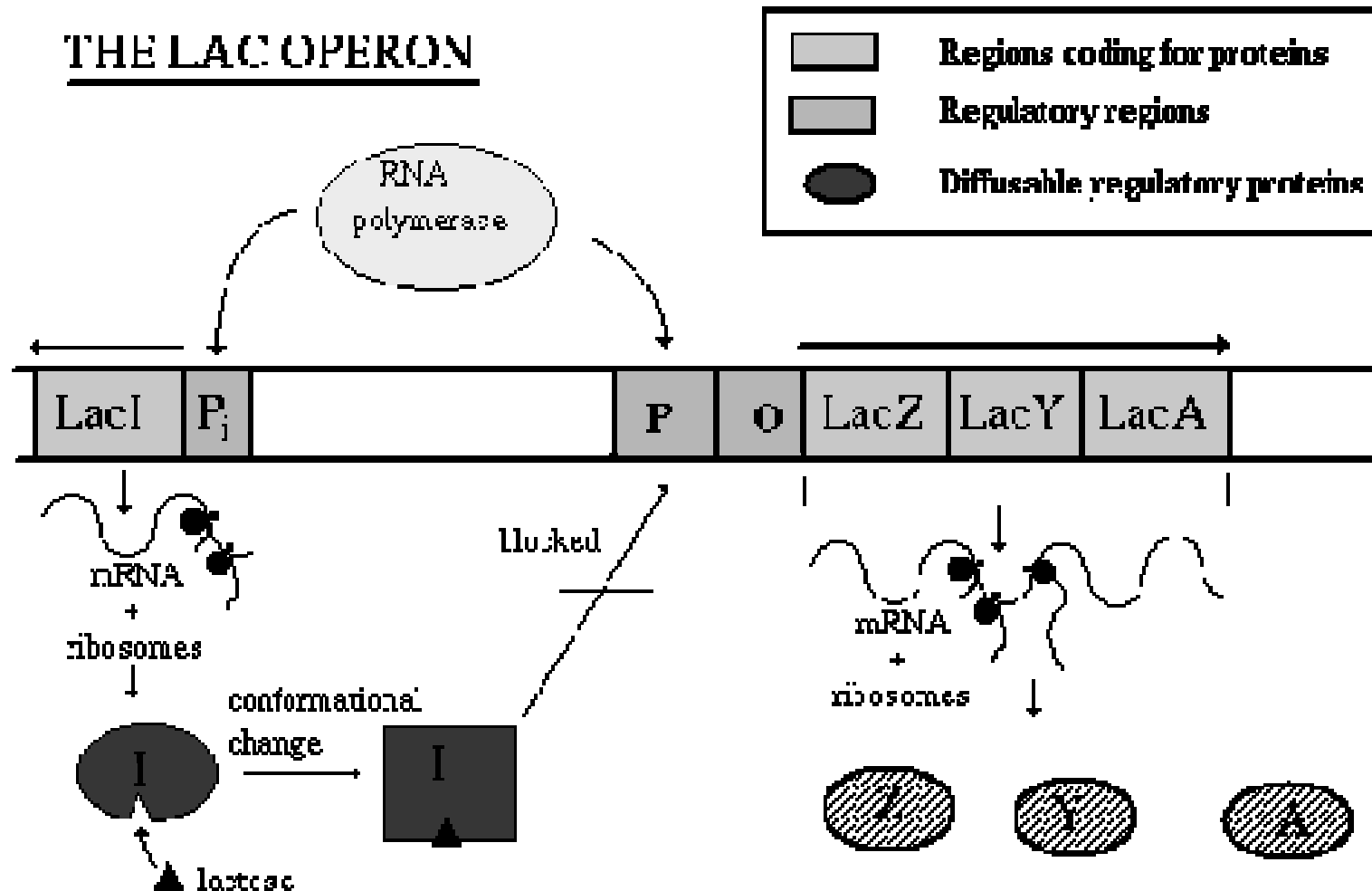
Regulace transkripce u prokaryot

THE LAC OPERON



Regulace transkripce u prokaryot

THE LAC OPERON



Zapnutá transkripce

Mitochondriální a jaderný genom

Mitochondriální (MCH) genom člověka (Anderson 1981) 14.5 kb, 0.5% celého genomu, dědí se výhradně od matky, při dělení buňky MCH DNA segreguje náhodně, 37 genů – syntéza na MCH ribosomech (vlastní rRNA a tRNA); MCH genom je kompaktní - kódující

Jaderný genom u člověka

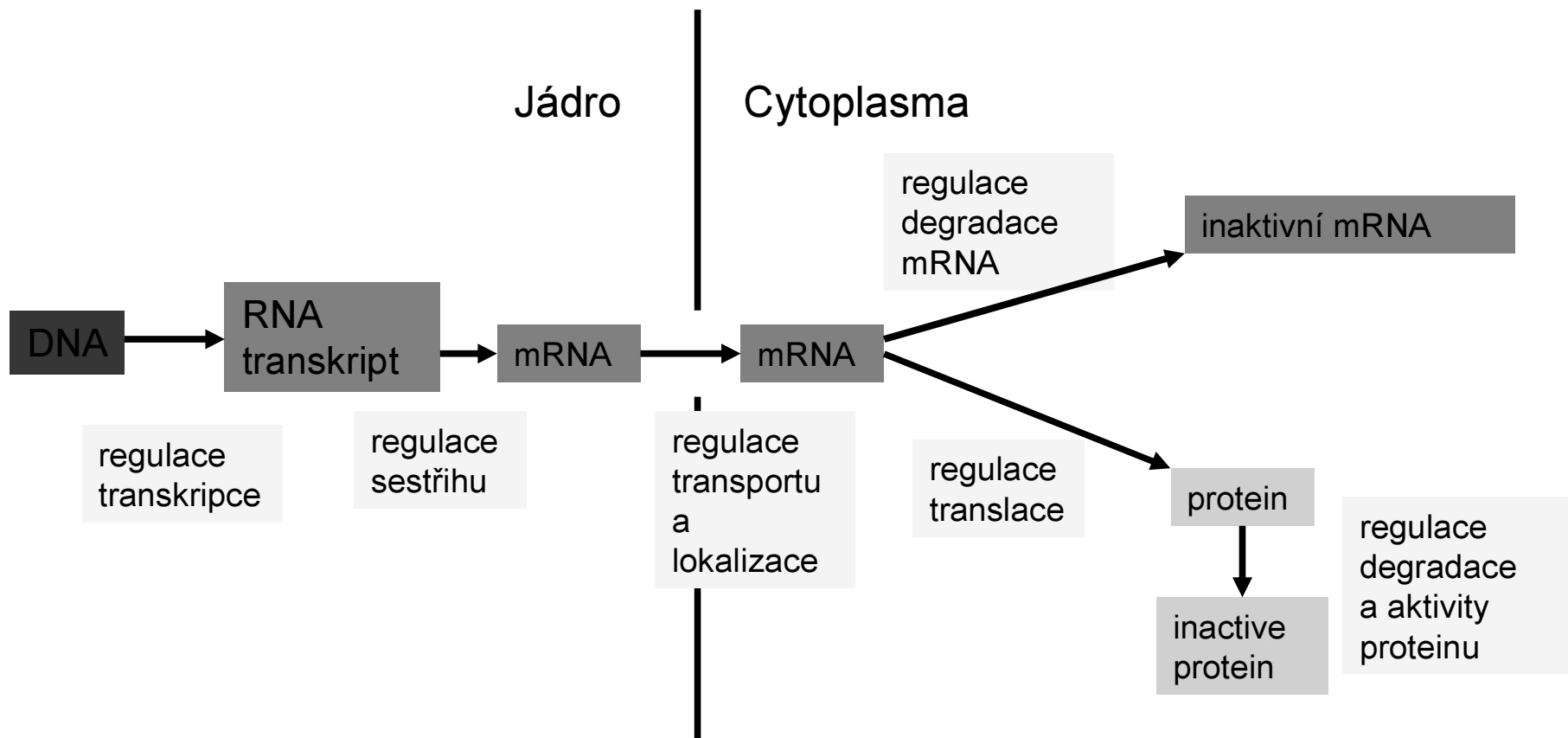
24 různých molekul, 22 autosomů, 2 pohlavní chr., velikost 50-250 Mb, 30 000 genů

70% tvoří sekvence mající určitý vztah ke kódující DNA (včetně intronů a regulačních oblastí)

10% tvoří repetice (např. Alu sekvence)

10% tvoří transpozony

Možnosti regulace exprese u eukaryot



Regulace transkripce u eukaryot

***Regulace na úrovni prvotního kódu DNA
vazba transkripčních faktorů a aktivačních elementů k
DNA***

Regulace na úrovni chromatinu

- reverzibilní modifikace struktury***
- modifikace DNA, event. histonů dědičně přenášená z
buňky na buňku***

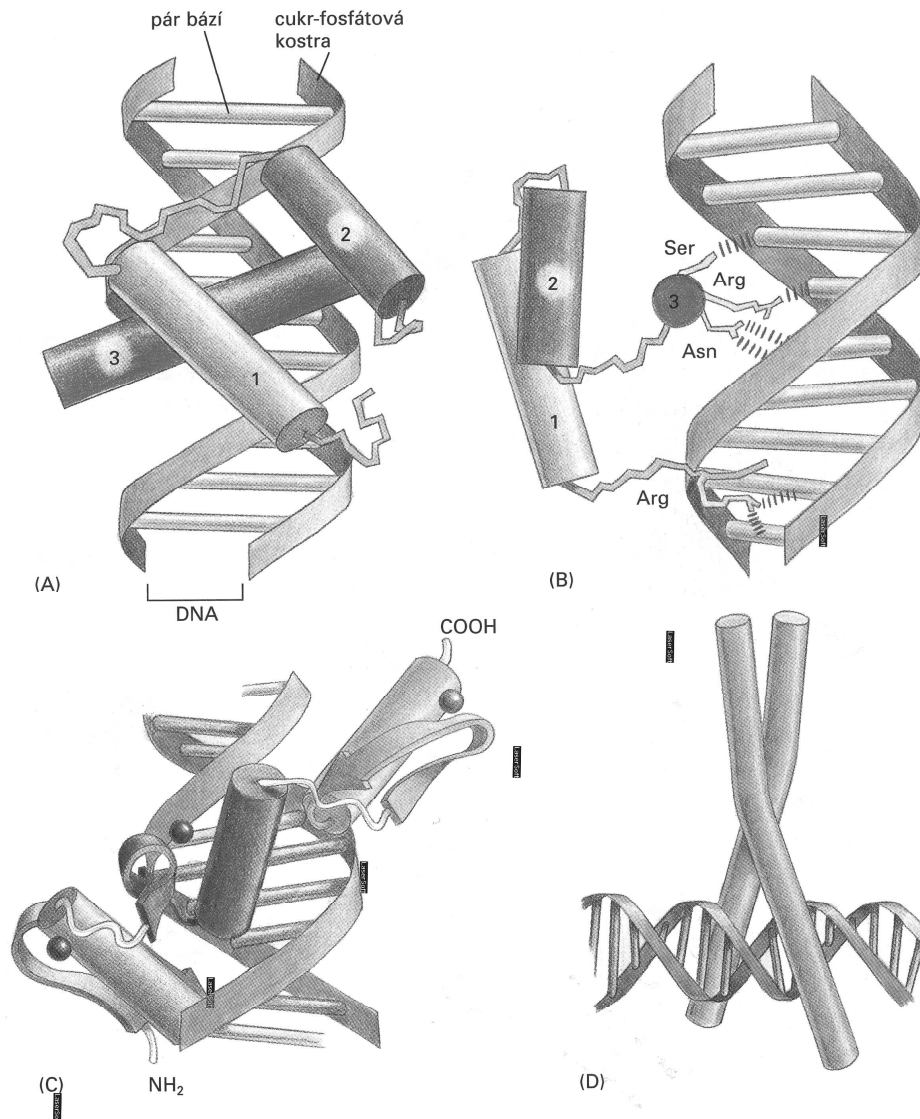
***Regulace na úrovni globální struktury
chromosomová teritoria a genom jako celek mají určité
uspořádání, které modifikuje transkripci***

Regulace transkripce u eukaryot

Regulace krátkodobá exprese se mění rychle jako reakce na potřeby buňky nebo na vnější faktory

Regulace dlouhodobá geny důležité z hlediska vývoje nebo diferenciaci

Základem regulace je vazba proteinů na DNA

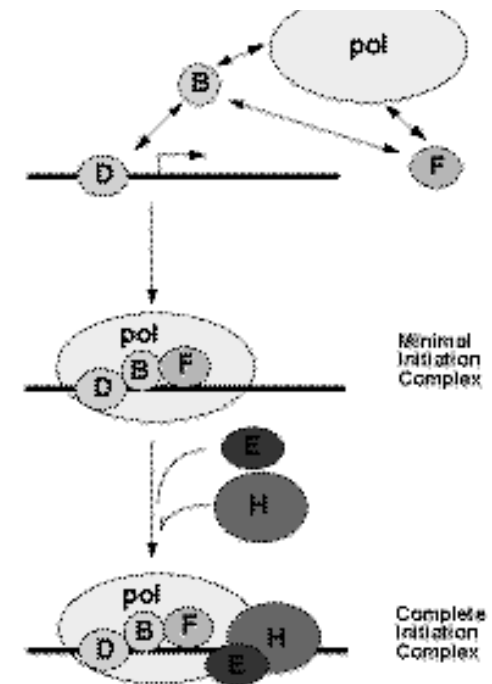
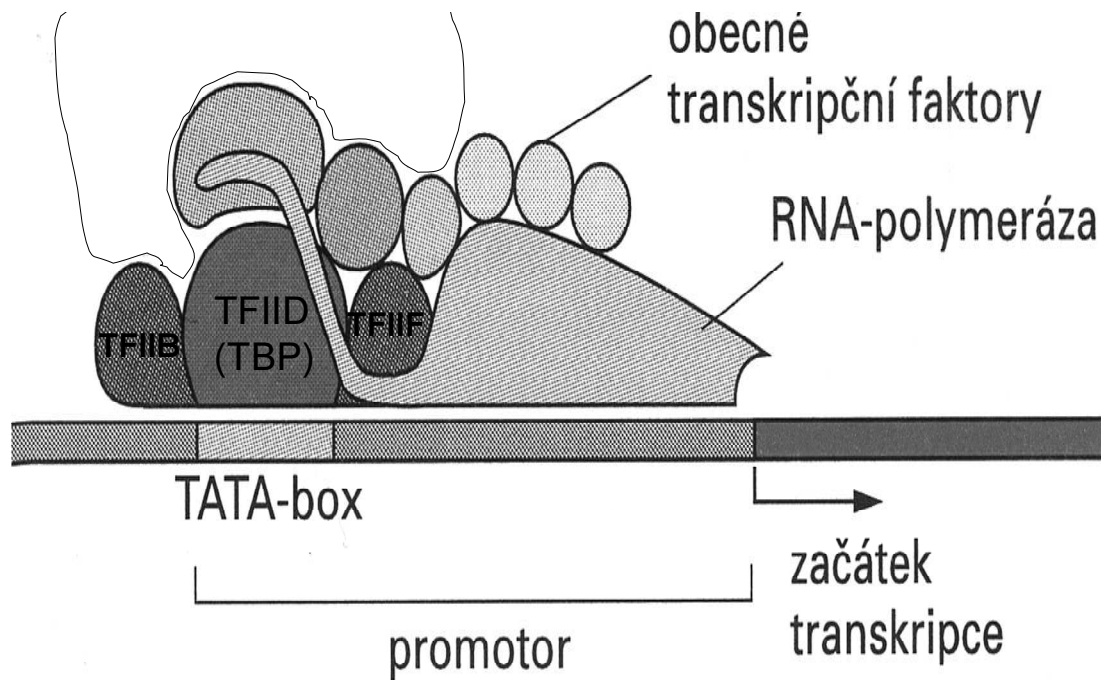


Vazba se uskutečňuje prostřednictvím interakce proteinu s DNA. Jsou známy různé strukturní motivy proteinů, které specificky vážou na DNA

- Homeodoména
- Motiv zinkového palce
- Leucinový zip

Promotor a transkripční komplex

Regulace na úrovni prvotního kódu DNA - promotoru

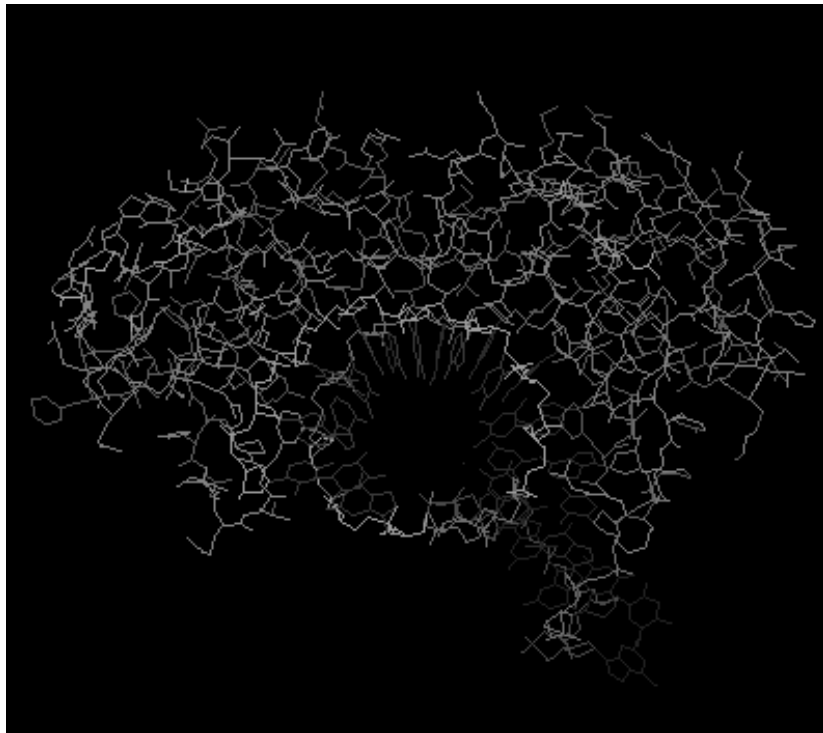


- Promotor se nachází před počátkem transkripce
- Některé promotory určují kde začne transkripce (např. TATA), jiné toto místo neurčují
- Specifické TF se vážou na specifické promotory
- Gen může mít jeden nebo více promotorů
- Promotory mohou být pozitivně nebo negativně ovlivněny

Transkripční komplex

Regulace na úrovni prvotního kódu DNA

D – TFIID je multi-komponentní faktor, který rozpozná a váže se k promotoru DNA. Obsahuje TBP (TATA binding protein), který se váže k TATA sekvenci. Vazba TFIID k DNA je prvním krokem při iniciaci transkripce



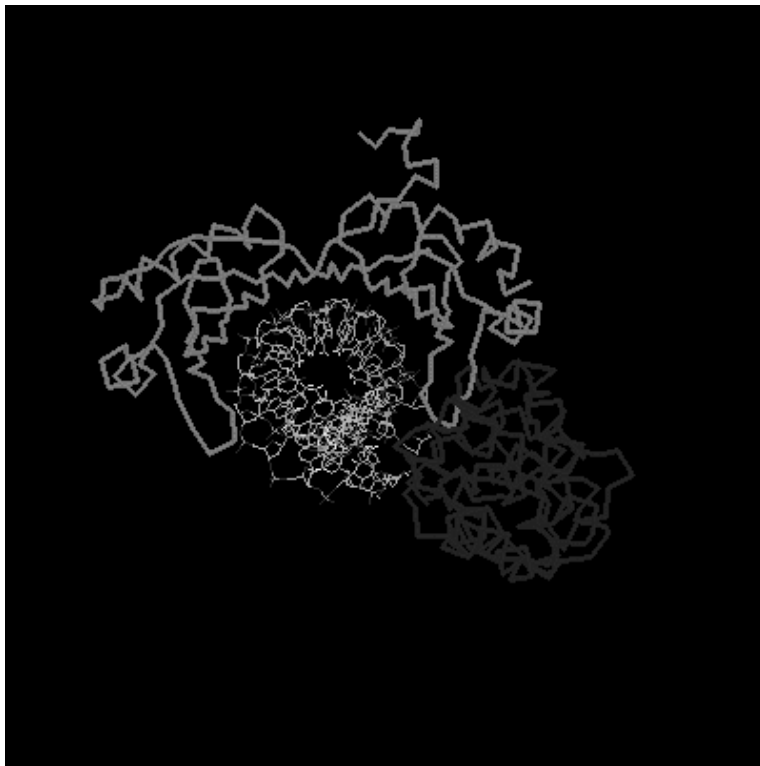
TBP protein navázaný k DNA

Transkripční komplex

Regulace na úrovni prvotního kódu DNA

B – TFIIIB – váže se k TBP a k RNA polymeráze II

stabilizuje vazbu TBP k TATA elementu, nutný pro asociaci RNA polymerázy II k iniciačnímu komplexu



Struktura TFIIIB proteinu navázaného k TBP-TATA komplexu

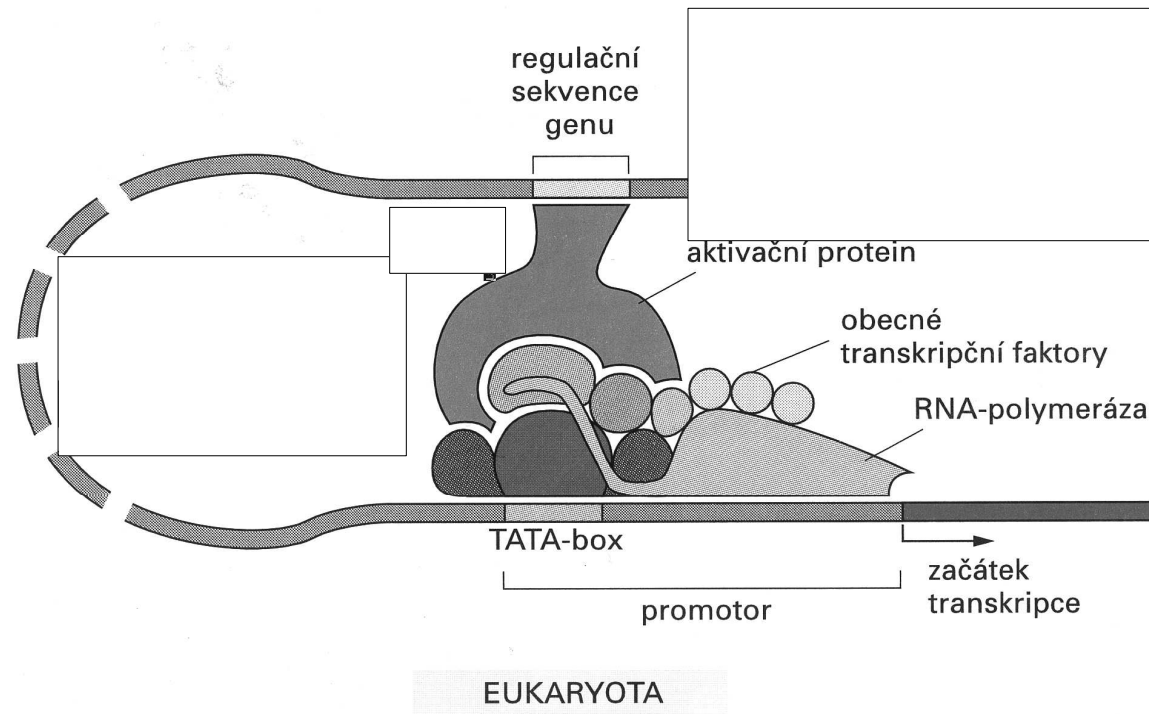
Transkripční komplex

Regulace na úrovni prvotního kódu DNA

TFIIF má dvě podjednotky a váže se k RNA polymerase II – je potřebný pro stabilní vazbu polymerázy k promotorovému komplexu

TFIIH má 6 nebo více podjednotek, váže se k DNA prostřednictvím TFII E a umožňuje polymeráze opustit promotor (přejít do elongačního režimu)

Enhancery a aktivátory transkripce



Některé proteiny mohou mít dvě nebo více úrovní exprese, přičemž vyšší úroveň zajišťují aktivační proteiny, které mají dvě domény – vazebnou k DNA a aktivační. Vazebná sekvence se může nacházet daleko od regulovaného genu

Enhancery

Enhancery jsou krátké sekvence regulující transkripci na větší vzdálenost

- mohou se nacházet před i za místem transkripce***
- aktivační proteiny mají doménu pomocí níž se vážou specificky na enhancer a doménu aktivační***
- DNA může vytvářet smyčky, které umožní interakci aktivačního proteinu s transkripčním komplexem***
- interakce regulačních proteinů určuje zda bude transkripce aktivována (může být také utlumena)***

Enhancers - příklad

Příkladem jednoduché regulace u eukaryot je regulace steroidními hormony kdy jeden typ buněk organismu indukuje transkripci u jiných buněk

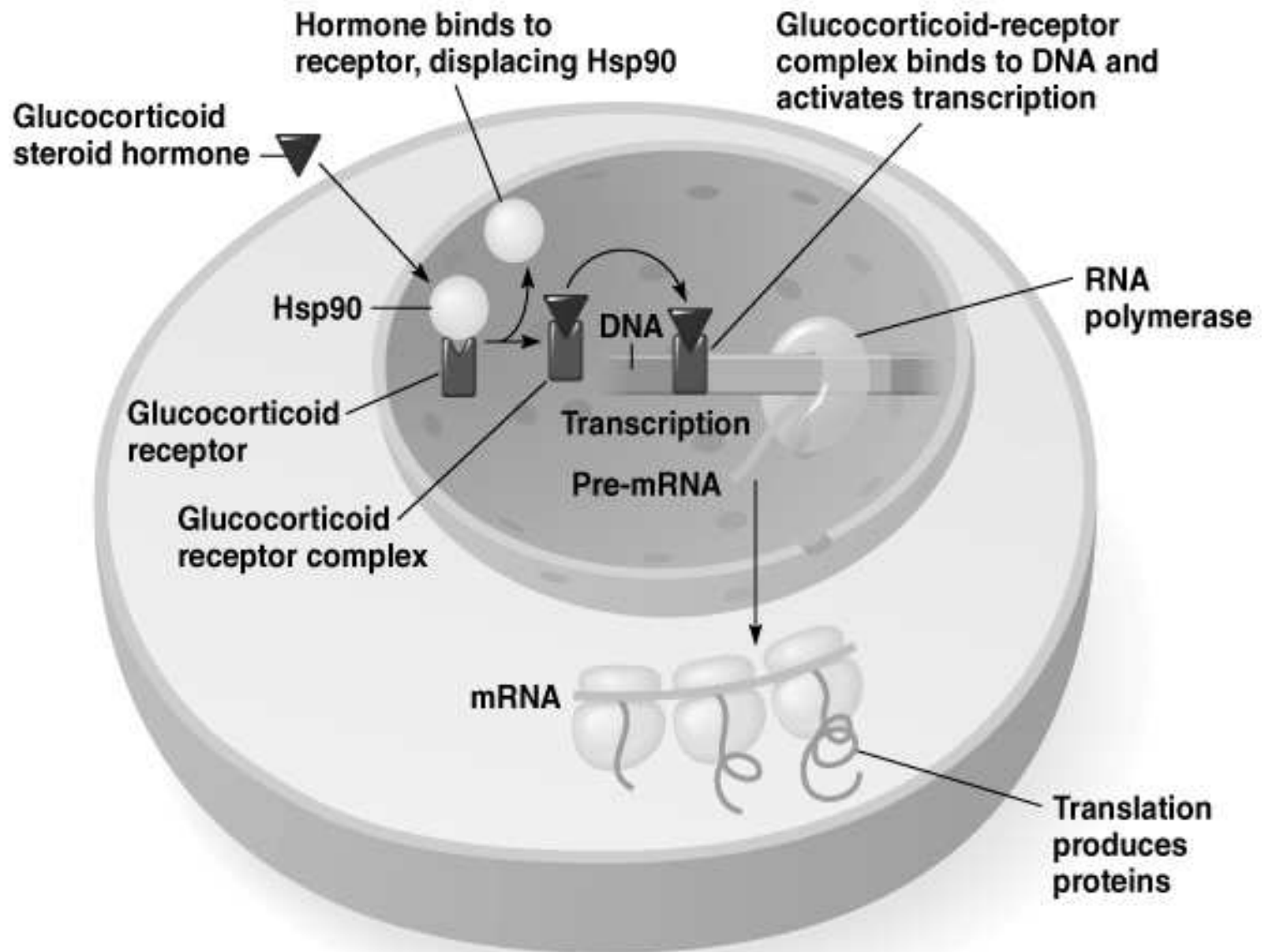
- geny regulované steroidními hormony mají enhancers HRE – hormone response elements

- HRE se nacházejí v mnoha kopiích

- při absenci hormonu je jaderný receptor vázán na chaperon

- přítomností hormonu se odstraní chaperon, změněný receptor se váže na enhancer

Enhancery - příklad



Role chromatinu při regulaci transkripce

Histony blokují přístup k DNA – histony a proteiny, jež se specificky vážou k promotorům vzájemně soutěží o místo na promotorech

Problém je řešen pomocí aktivačních proteinů a „remodeling factors“

- ***aktivační proteiny blokují histony a umožňují tak TF vazbu k promotorům***
- ***přítomnost „remodeling“ proteinů nebo acetylace histonů vede ke snížení vazby histonů na DNA***

„Remodeling factors“

- 1) faktory ovlivňující konformaci nukleosomů a jejich polohu***
- 2) faktory chemicky modifikující histony (na N-koncích) a DNA – mohou regulovat transkripci dědičně***

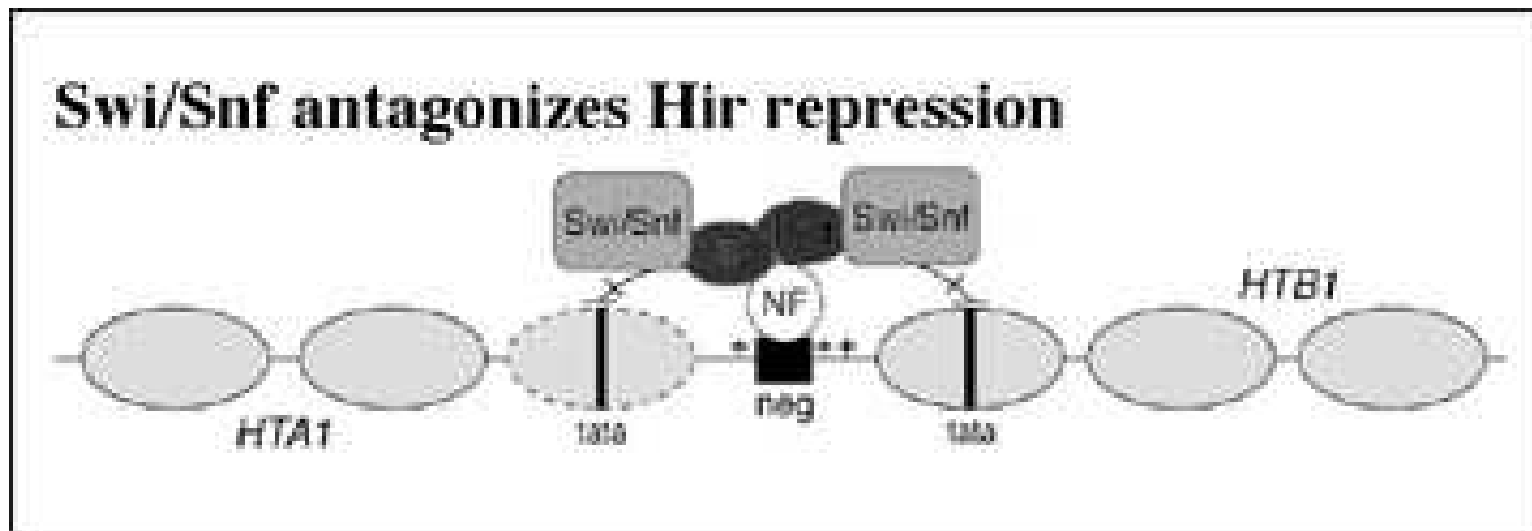
Role chromatinu při regulaci transkripce

„Remodeling factors“

1) faktory ovlivňující konformaci nukleosomů a jejich polohu

Zde patří Swi/Snf komplex, který využívá energii ATP, aby rozrušil vazbu histonů na DNA.

Příklad – transkripce genů HTA1 a HTB1 u kvasinek vyžaduje vazbu proteinů Swi/Snf, jež způsobují odtržení nukleosomů



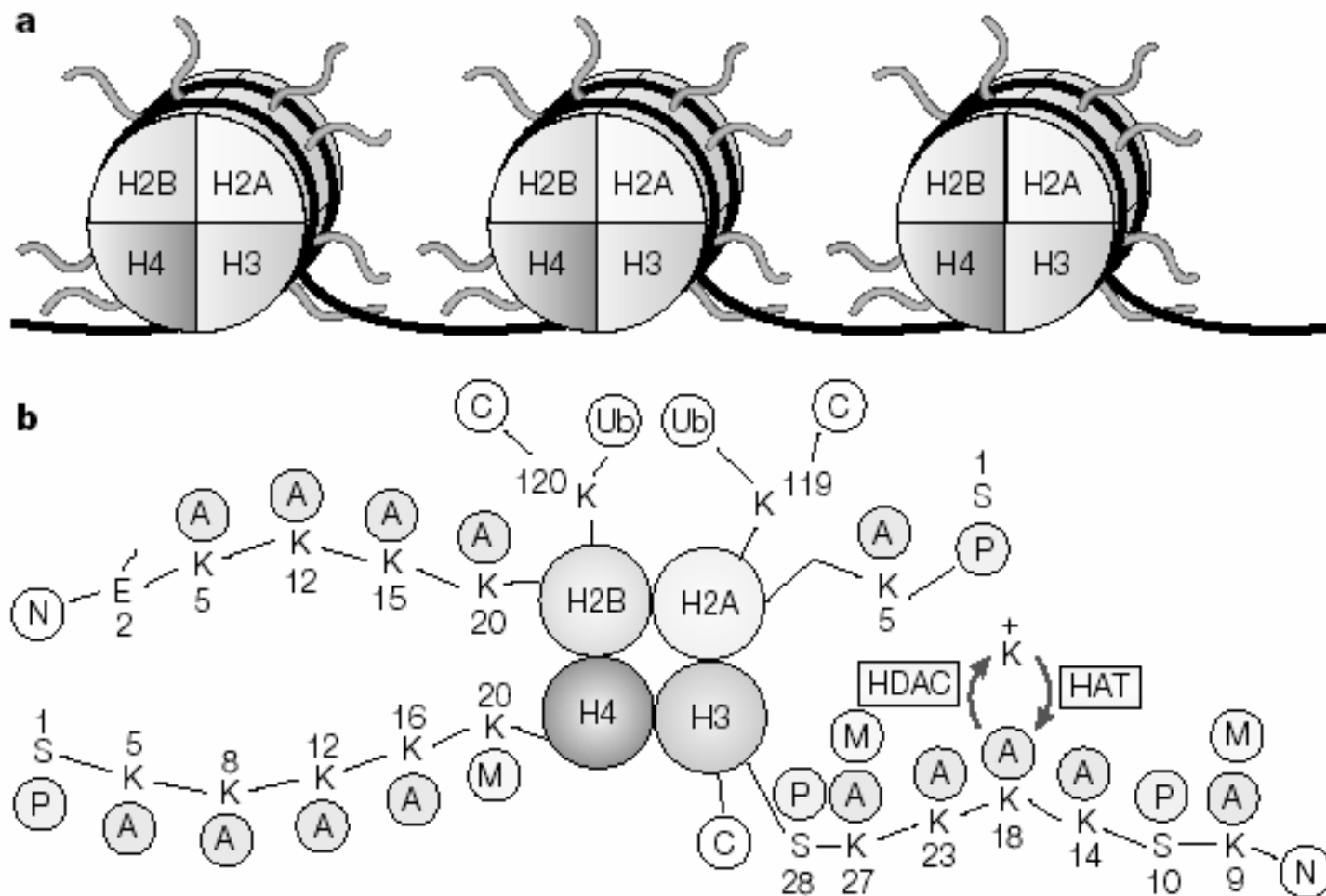
Role chromatinu při regulaci transkripce

„Remodeling factors“

2) faktory chemicky modifikující histony (na N-koncích) a DNA – mohou regulovat transkripci dědičně

Zde patří HAT (histon acetylázy) a HDAC (histon deacetylázy). Acetylace histonů vede k zastínění jejich kladného náboje a tím k rozvolnění kondensované struktury chromatinu. Je známo několik skupin HAT i HDAC.

Modifikace histonů



Modifikace histonů

Modifikace N-konce H3

nemodifikován
acetylován (14)
acetylován (9)
metylován (9)
fosforylován (9, 28)
fosforylován (9)+
acetylován (14)
metylován+
acetylován+
fosforylován

význam

umlčení genu?
aktivní gen
ztráta funkce
umlčení genu (vznik heterochromatinu)
v mitóze nebo meioze

gen je aktivní

???

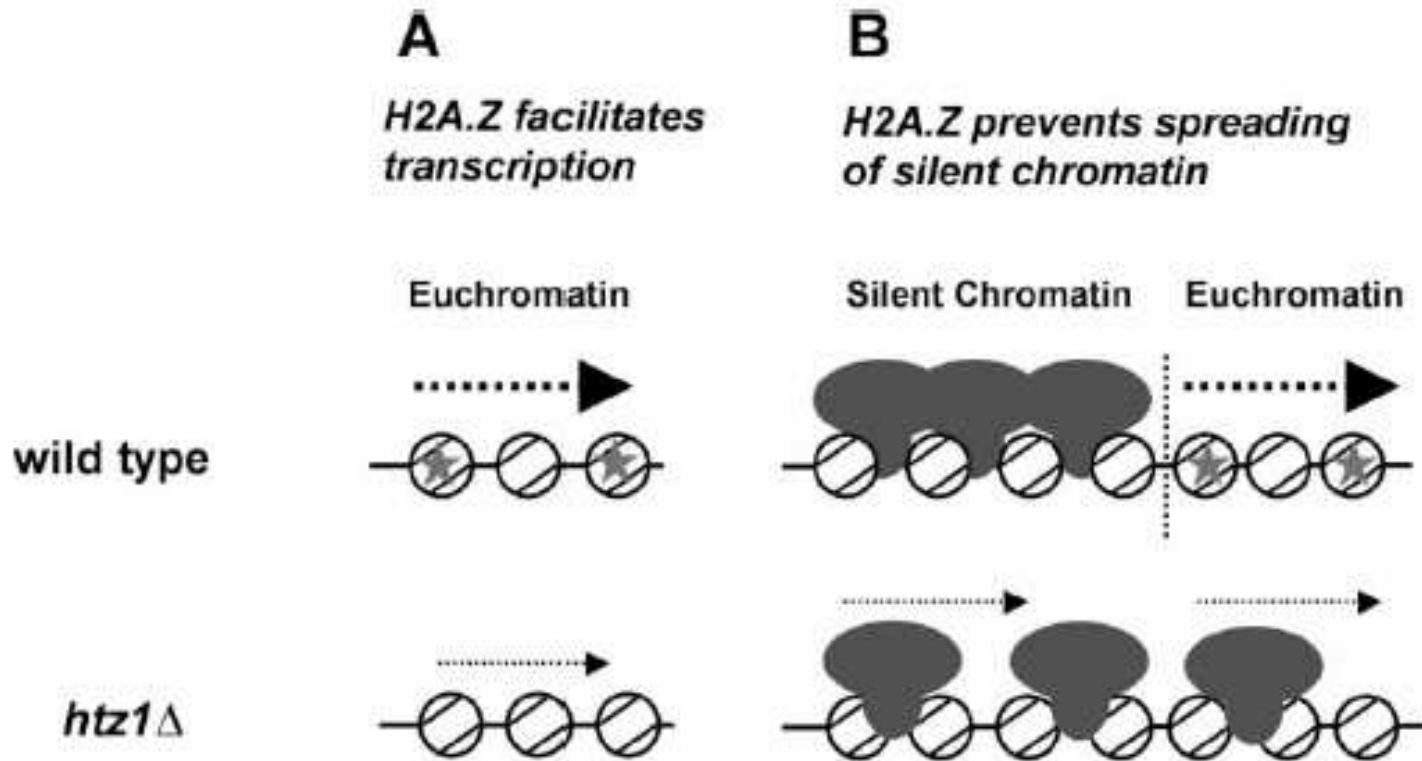
Modifikace N-konce H4

nemodifikován
acetylován (8, 16)

význam

umlčení genu?
gen je aktivní

Variantní forma histonu H2A.Z umožňuje transkripci a znemožňuje formování heterochromatinu (Meneghini, 2003)



Úloha acetylace histonů při regulaci transkripce

Histon Acetyl Transferázy – vztah mezi acetylací histonů a transkripční aktivitou je znám už 30 let, mechanismy jsou objevovány v průběhu několika posledních let.

Dělí se do několika skupin dle vysoce zakonzervovaných strukturních motivů. Acetylace není náhodná – HAT pracují v součinnosti s aktivátory a TF, což vede k tomu, že jsou acetylovány jen určité geny.

Table 1 | **Characteristics of histone acetyltransferase families**

HAT group*	HAT (and complexes associated with it)	Histones acetylated by HAT complex	Interactions with other HATS
GNAT	GCN5 (SAGA, ADA, A2)	H3, H2B	p300, CBP
	PCAF (PCAF)		
	HAT1 (HATB)	H3, H4	p300, CBP
	ELP3 (elongator)	H4, H2A	
MYST	HPA2		
	ESA1 (NUA4)	H2A, H4	
	MOF (MSL)	H4	
	SAS2		
	SAS3 (NUA3)	H3	
	MORF		
p300/CBP	TIP60		
	HBO1 (ORC)	H3, H4	
	p300 CBP		PCAF, GCN5 PCAF, GCN5

Úloha acetylace histonů při regulaci transkripce

Histone DeAcetylation Complexes – 3 skupiny, zmenšují stupeň acetylace, což má za následek změny ve struktuře chromatinu, a to vede k utlumení transkripce, které může být funkčně specifické. Např. HDAC4 a HDAC5 (nikoliv však HDAC1 nebo HDAC3) inhibují myogenesi (přes asociaci s MEF2)

Table 2 | **Characteristics of histone deacetylases**

HDAC group	Yeast HDAC*	Inhibitor sensitivity†	Human HDAC	Inhibitor sensitivity†
Class I	Rpd3	S	HDAC1	S
			HDAC2	S
			HDAC3	S
			HDAC8	S
Class II [§]	Hda1	S	HDAC4	S
			HDAC5	S
			HDAC6	S
			HDAC7	S
			HDAC9	S
Class III	Sir2 Hst1 Hst2 Hst3 Hst4	NS ND ND ND ND	SIRT1	ND
			SIRT2	ND
			SIRT3	ND
			SIRT4	ND
			SIRT5	ND
			SIRT6 SIRT7	ND ND

Úloha acetylace histonů při regulaci transkripce

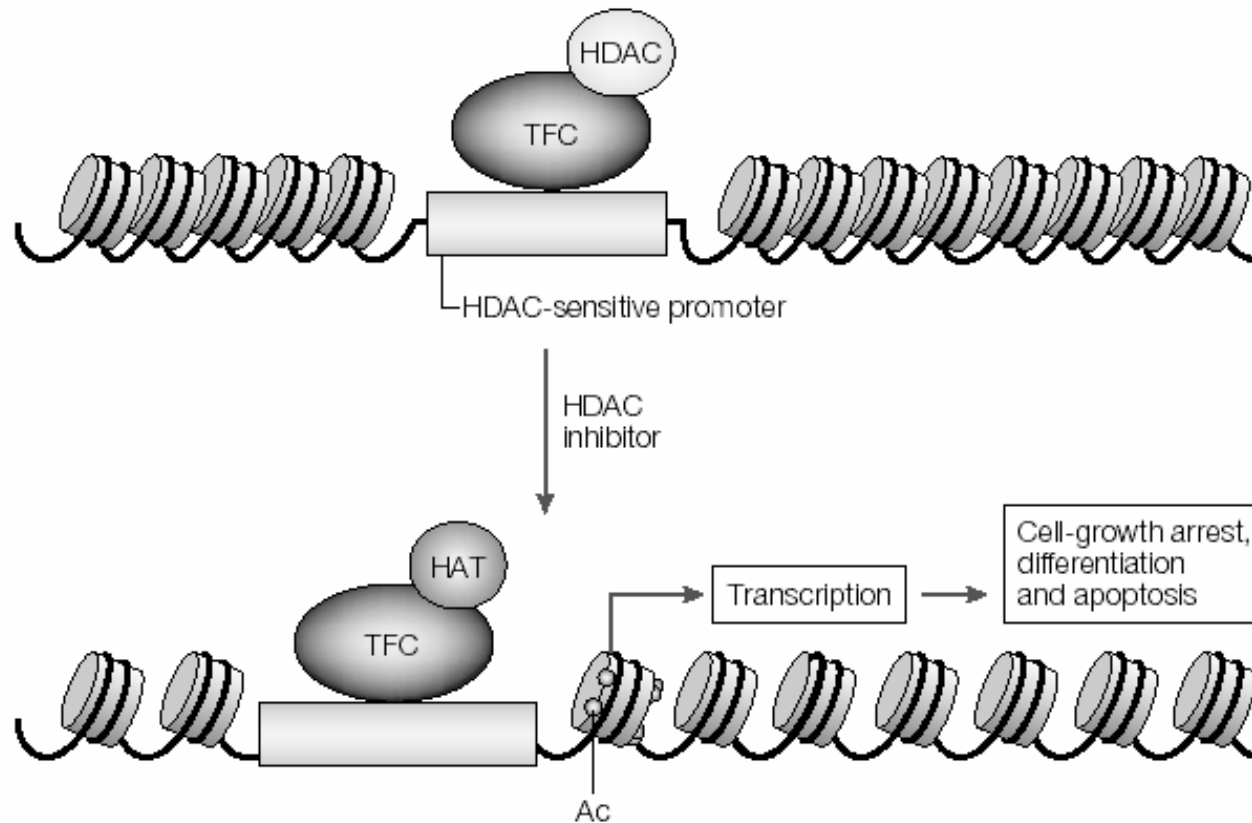
Acetylace u nádorů je změněná

HAT – změněny u nádorů, např. p300 u kolorektálních a epiteliálních nádorů, CBP mutován u Rubinsteinova syndromu, kde je zvýšené riziko zhoubných nádorů, ztráta heterozygosity byla nalezena u glioblastomů, translokace byly nalezeny u hematoblastóz.

HDAC mohou zprostředkovat funkci onkogenního produktu translokace u leukémií a lymfomů. Např. PML-RARa onkoprotein tlumí transkripci řady genů asociací s HDAC komplexem. Podobně u non-Hodginova lymfomu a AML M2.

Úloha acetylace histonů při regulaci transkripce

HDAC +TF se sekvenčně specificky vážou k určitým promotorům, což znemožňuje transkripci. Inhibice HDACu pak vede k acetylaci a expresi daného genu.



Úloha acetylace histonů při regulaci transkripce

Příklad mechanismu protinádorového působení TSA: Inhibitor HDAC, TSA, indukuje expresi inhibitoru cyklin dependentní kinázy (p21) a ta blokuje kinázovou aktivitu a způsobuje blok buněk v G1 fázi cyklu, což vede k diferenciaci buněk. Změna exprese po přidání TSA u nádorových buněk se týká pouze 2% genů – účinek je vysoce specifický.

Geny indukované TSA nebo SAHA

funkce

CDKN1A, p21

inhibitor kinázy p21, blok v G1

CDKN2A, p16

regulátor proliferace

TBP2

regulátor proliferace

gelsolin

tumor supresor

TERT

katalytická podjednotka telomerázy

Komplexní regulace transkripce u eukaryot

Regulace na úrovni chromatinu - enhancery

Enhancery jsou relativně krátké úseky DNA obsahující vazebná místa pro aktivátory. Ty pak pomáhají vázat komplex RNA polymerasy II a proteiny modifikující chromatin cílového genu.

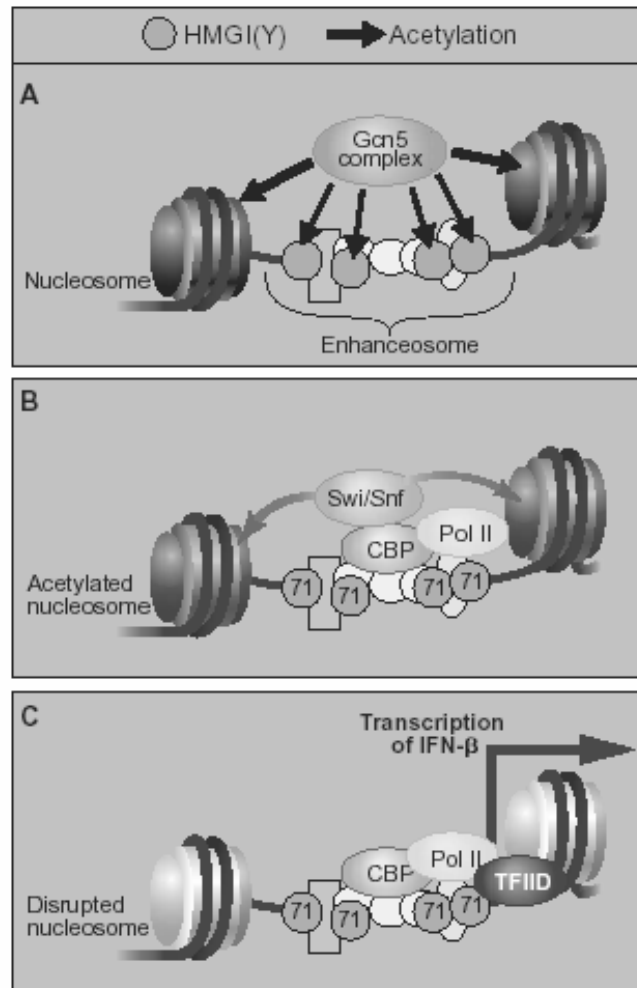
Enhancery ovlivňují transkripci na velkou vzdálenost, před i za promotorem cílového genu, aktivátory jsou často omezeny na specifické buněčné typy, jsou aktivní pouze během určitých fází vývoje a přesně reagují na vlivy prostředí.

Existují 2 typy enhancerů:

- 1) modulární, kde každý aktivátor působí sám za sebe – to umožňuje různorodost regulace exprese, evoluční flexibilitu apod.***
- 2) synergické, kde je potřebná přítomnost všech složek pro aktivaci transkripce – tento soubor aktivátorů se nazývá „enhanceosome“ a umožňuje reakci typu ano-ne***

Komplexní regulace transkripce u eukaryot

Příklad enhanceosomu:



IFN- β enhanceosome umožňuje rychlé přepnutí transkripce typu ano-ne.

A – aktivátory, HMG proteiny a HAT komplex se seskupí mezi nukleosomy

B – stabilizovaný enhanceosome – acetylace HMG na 71 lysinu a histonů (modře) – váže CBP a Pol II, a dále Swi/Snf faktor modifikující nukleosomy

C – Swi/Snf odsunou nukleosomy, naváže se TFIID faktor a gen může být intenzívně transkribován.

Epigenetická regulace exprese

Epigenetika zahrnuje jevy související s dědičnou modifikací struktury a transkripce chromatinu jež navazuje zejména na:

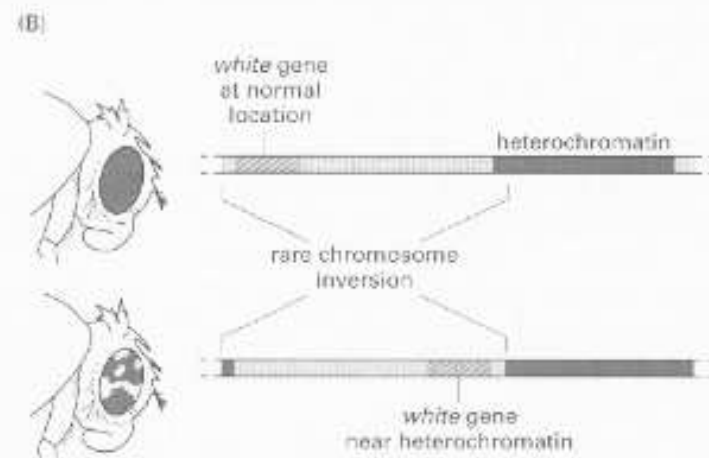
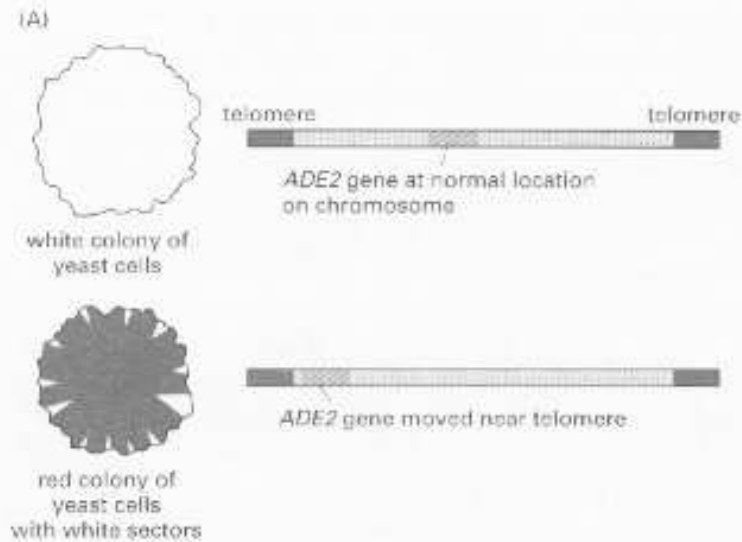
- modifikace histonů

- metylaci DNA

Patří zde PEV, umlčování genů heterochromatinem, regulace vývoje a diferenciacce Polycom and trithorax proteiny, imprinting a další jevy.

Nepatří zde vliv vnějších faktorů na expresi buněk.

„Position effect“ u kvasinek a Drosophily



Po ozáření se u *Drosophily* objevila mutace při níž se červené facety očí změnily zčásti na bílé. Cytogenetická analýza ukázala, že došlo k inverzi chromosomu, kdy se gen označený jako „white“ přesunul do blízkosti heterochromatinu.

Jev bylo možno potlačit nebo naopak zesílit. Časem bylo nalezeno 50 genů modifikujících tento fenomén – Su(var) nebo E(var).

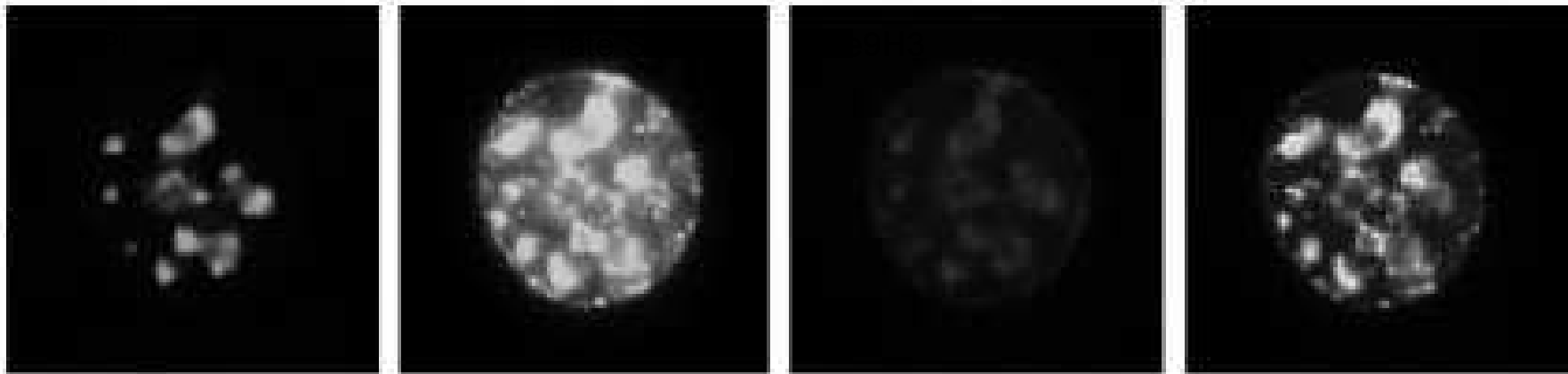
Nejlépe charakterizovaným modifikátorem je HP1 protein. HP1 obsahuje evolučně stálou chromo doménu, která se vyskytuje také u vývojového regulátoru Polycom (PC) proteinu.

Dalším je pak SUV39H1, který je příbuzný trithorax (TRX) proteinům a zajišťuje metylaci H3-K9.

Úloha heterochromatinu při řízení exprese

Heterochromatin - tmavě zbarvená část chromatinu,

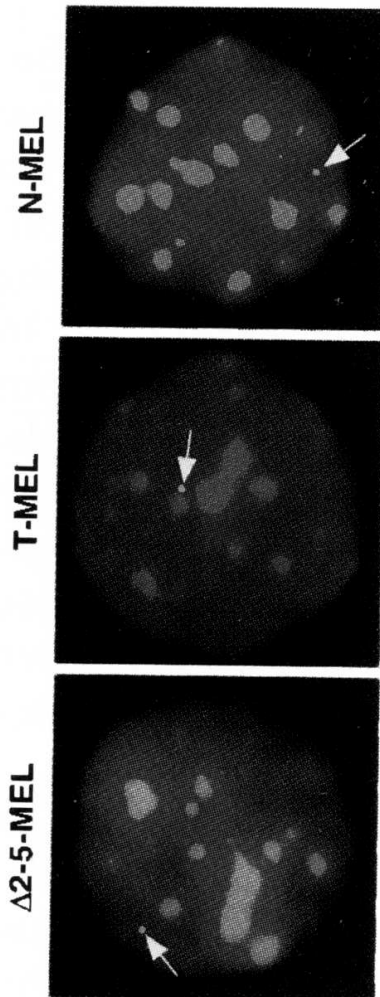
- kondensovaná po dobu buněčného cyklu
- nachází se hlavně v centromerických a telomerických oblastech
- je genově chudý,
- obsahuje repetitivní sekvence
- nachází se většinou na okraji jádra
- DNA v heterochromatinu je špatně přístupná pro transkripční faktory,
- histony jsou málo acetylovány a hodně metylovány na H3-K9
- obsahuje HP1 protein vázaný na metylovaný H3-K9



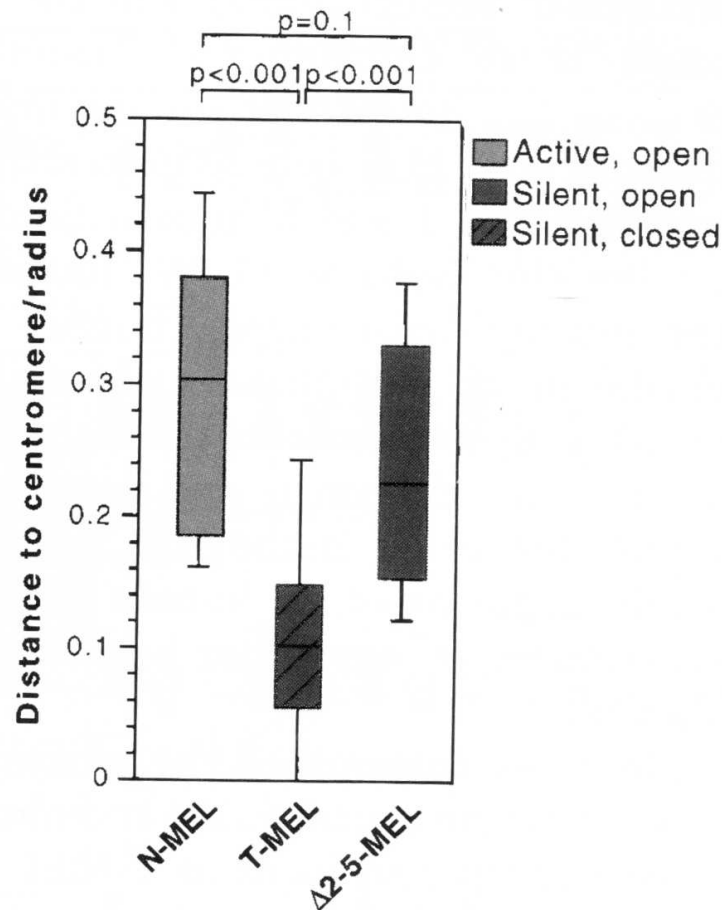
Úloha heterochromatinu při řízení exprese

Dvoustupňová regulace exprese (Francastel et al., 1999)

A



B



Měřena vzdálenost genu od nejbližší oblasti heterochromatinu pro 3 typy buně

T-MEL – exprese umlčená gen je blízko heterochromatinu

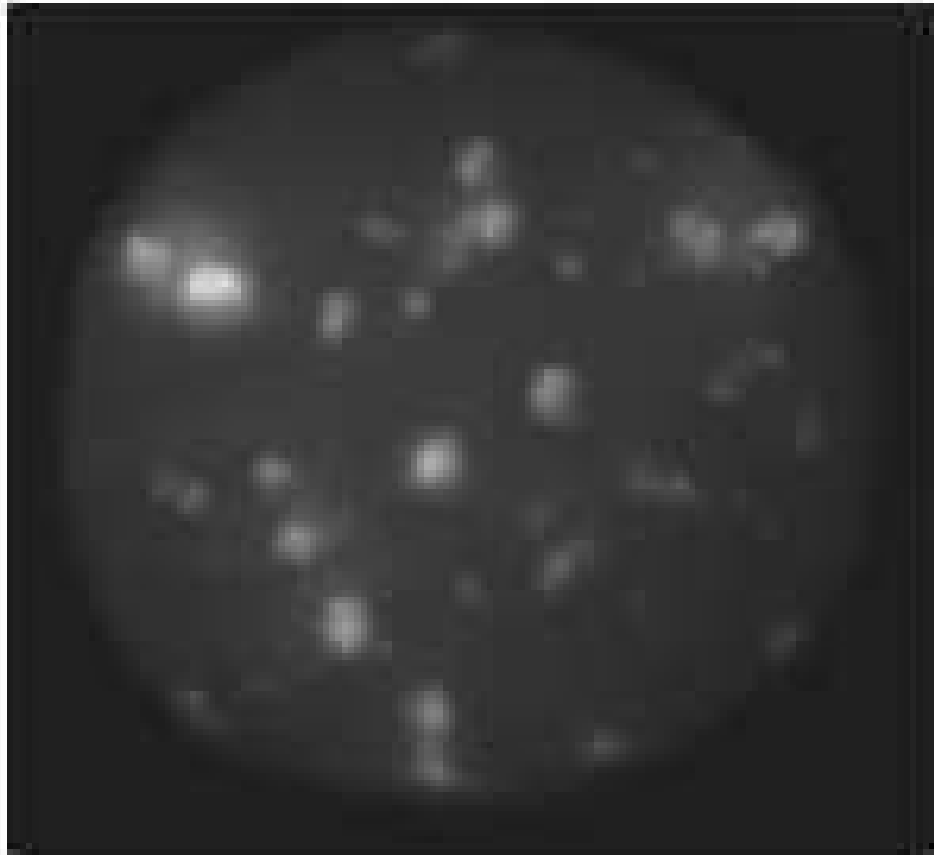
Struktura se může otevřít - dole a k expresi ještě nemusí dojít

N-MEL – struktura je otevřená, gen je aktivní

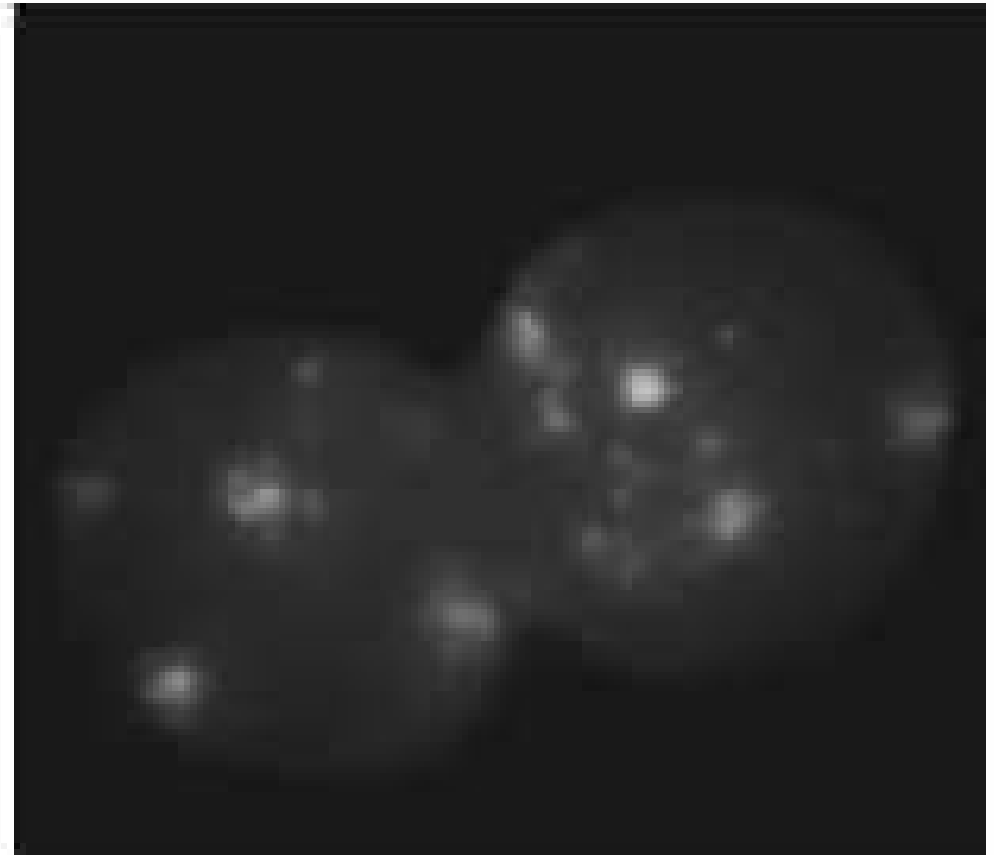
Úloha heterochromatinu při řízení exprese

Vzdálenost Rb genů k chromocentrum (Bártová et al., 2000)

Buňky HL-60

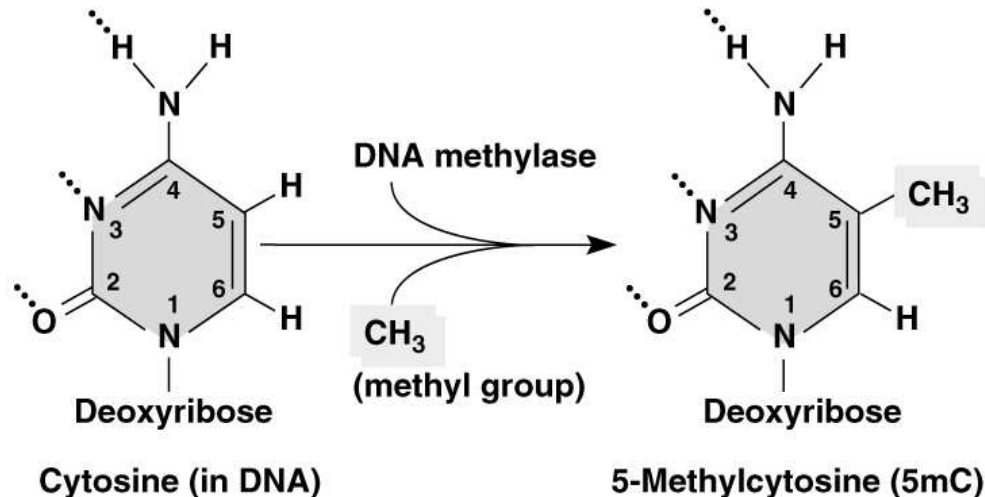


Granulocyty



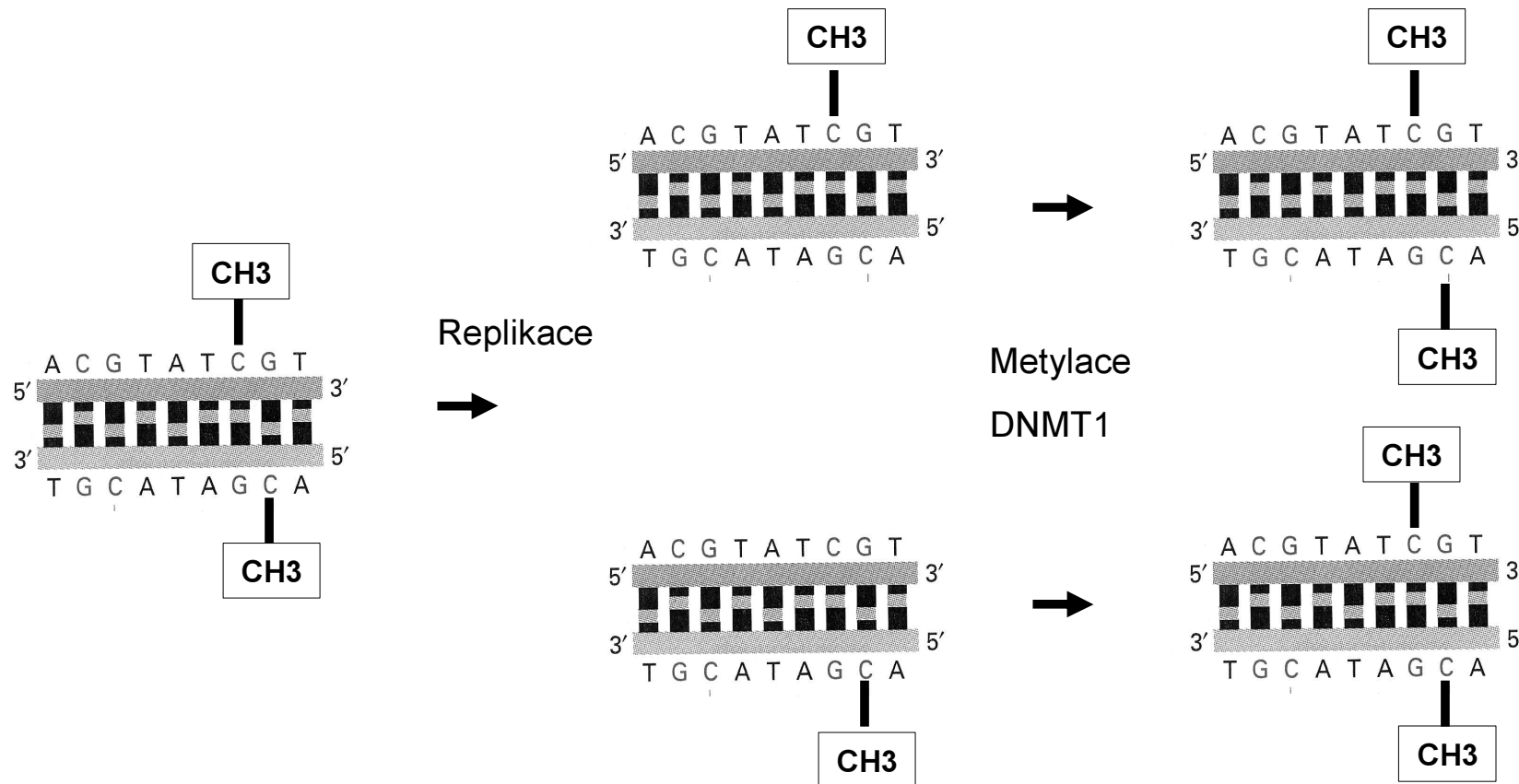
Metylace DNA

- Existují enzymy metylující de novo (DNMT3a a DNMT3b)
- Existují enzymy, které metylují druhý řetězec DNA podle prvního („maintenance methylaes“) – ty jsou odpovědné za dědičnost metylace
- Existuje demetyláza, která odstraní metylaci z DNA.
- Metylace DNA nastává nejčastěji v symetrických CG sekvencích (CpG islands), které se nacházejí u poloviny lidských genů



transfer metylové skupiny
S-adenosylmethioninu na 5-tou pozici
cytosinu

Zachování metylace při replikaci „udržovací metylázou“



Metylace DNA je důležitá

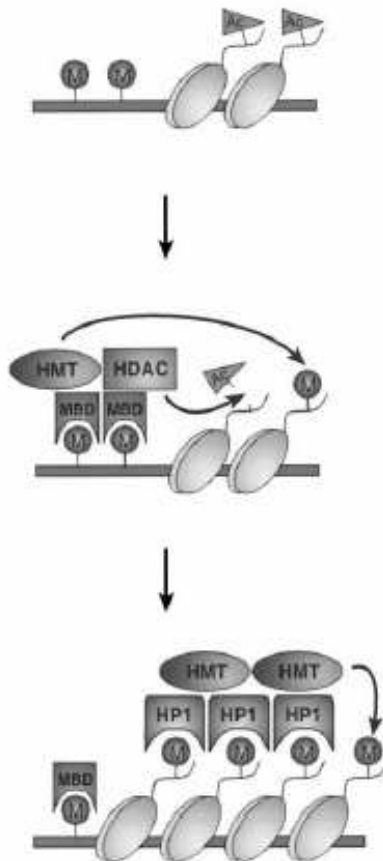
- Methylace DNA se nachází hojně u zhoubných nádorů (jak u onkogenů tak i u tumor supresorových genů)**
- Poškození metyláz (mutací) vede k těžkým onemocněním (bez methyltransferáz se embryo nevyvine)**

Úloha metylace při řízení transkripce

- Transkripčně aktivní geny obsahují podstatně menší hladinu metylované DNA ve srovnání s inaktivními geny,
- Inaktivní chromatin je obvykle metylován (např. inaktivní X-chromosom nebo inaktivované supresorové geny u nádorů)
- Chromatin v místě metylace DNA je kondensovanější a brání přístupu TF
- Promotory, které nemají CpG ostrůvky, mohou být citlivé na metylaci jednotlivých cytosinů – TF mohou být metylačně závislé (např. AP-2), existují však proteiny, které se vážou pouze na metylovanou DNA

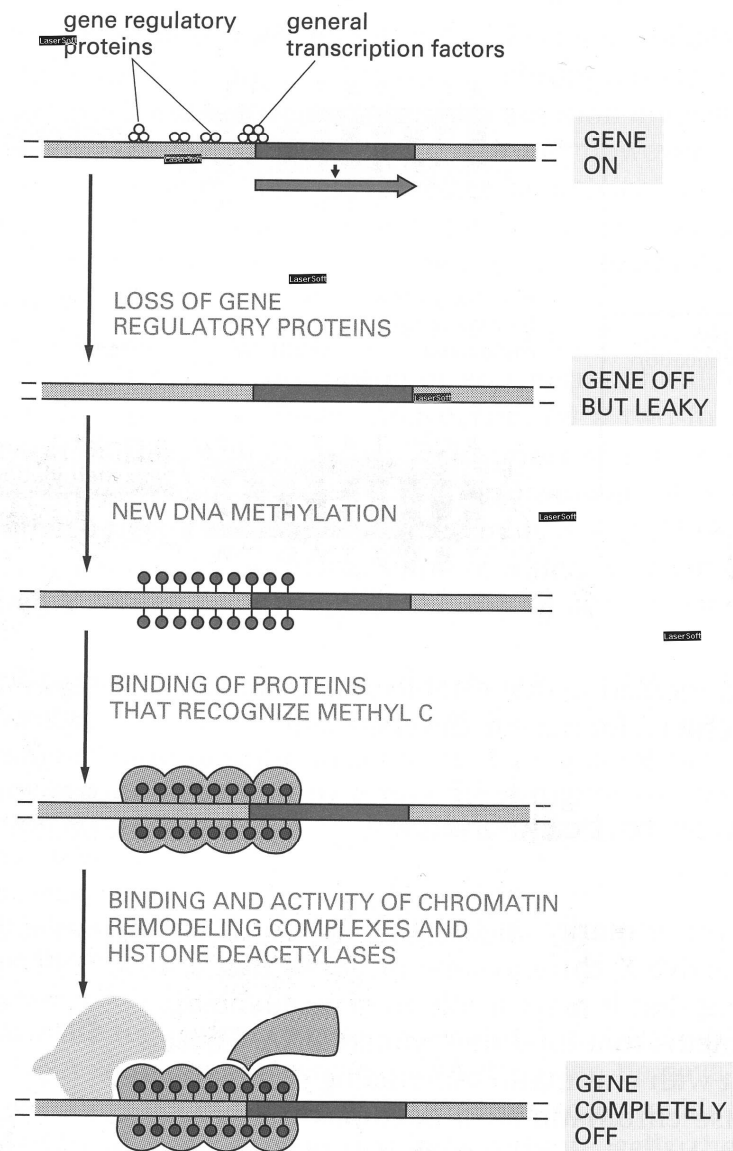
Mechanismus jak metylace DNA vede ke kondensovanému chromatinu

Induction of silent chromatin
by DNA methylation signals



DNA metylace usnadňuje vazbu HDAC komplexů (přes MBP – methyl binding proteins) a histon metylázy (HMT). Tyto enzymy odstraní Ac skupinu a přidají M skupinu na H3-K9, která je rozpoznána HP1 proteinem. Tento stav je dále šířen vazbou histon metyltransferáza na HP1.

Umlčení exprese genu metylací de novo



Úloha PcG a trxG proteinů při řízení vývoje

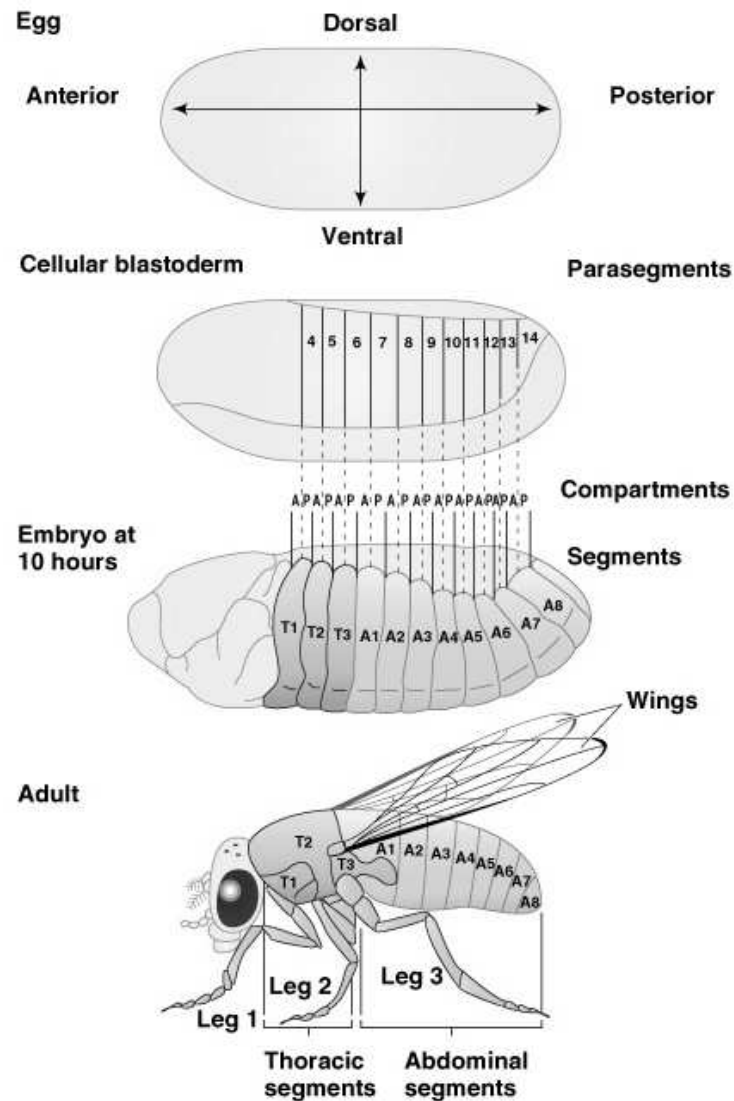
Ontogeneze je kontrolována důmyslnou kaskádou genů, jež zahrnují transkripční faktory nejprve rozdělující embryo do větších domén a následně do jemnějších podjednotek. Identita jednotlivých částí těla je dána určitým TF.

U *Drosophily* tyto TF tvoří tzv. HOM-C komplex, u obratlovců je to Hox komplex.

Stabilní expresi těchto TF zajišťují PcG proteiny (udržují geny v reprimovaném stavu) a trxG proteiny (udržují aktivní stav). Mechanismus, kterým se tak děje zahrnuje modulaci struktury chromatinu.

Existují významné paralely mezi regulací vývoje a umlčováním genů prostřednictvím modifikace chromatinu. Některé PcG proteiny mají HDAC aktivitu a naopak trxG proteiny mají HAT aktivitu.

Úloha PcG a trxG proteinů při řízení vývoje

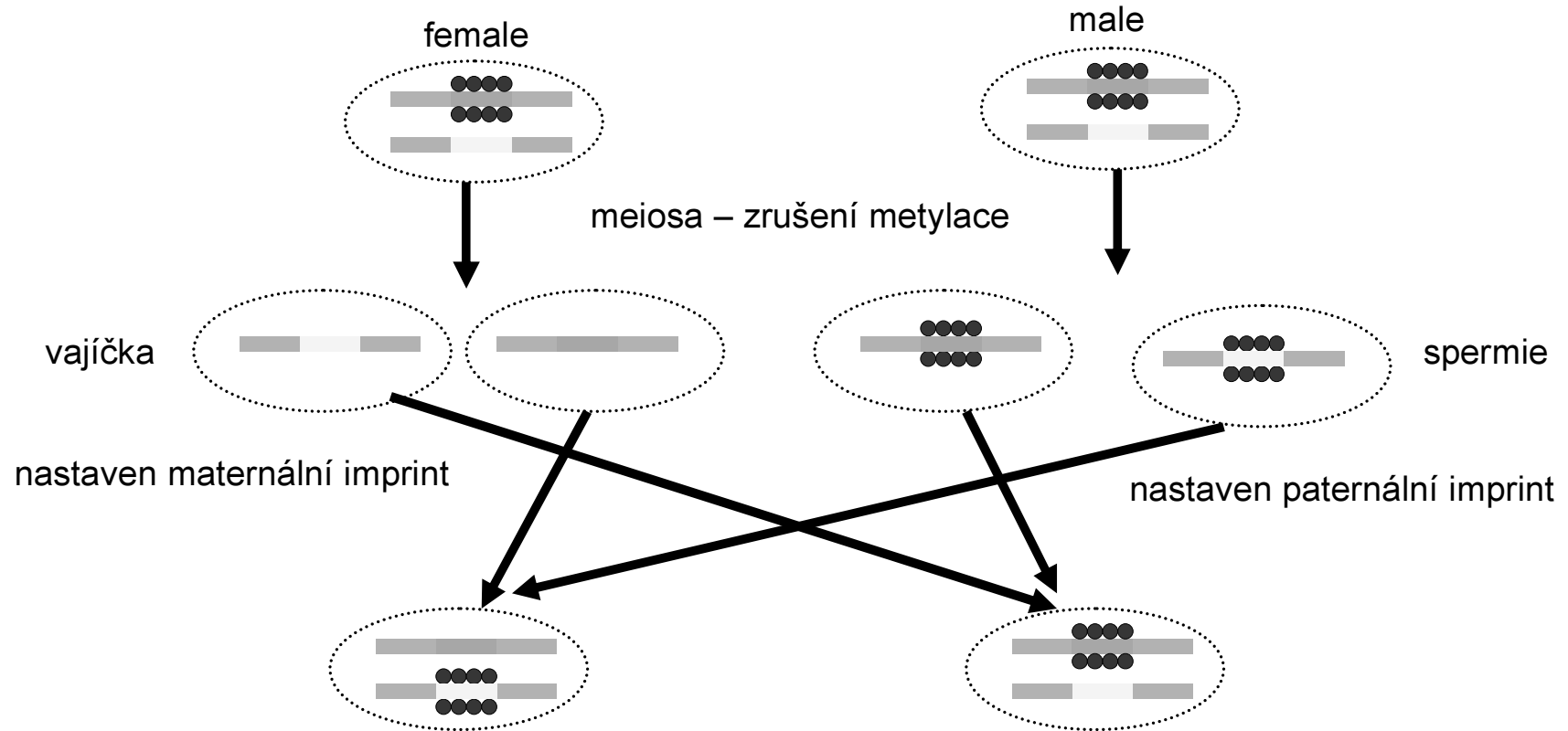


Molekulární gradienty v anterior-posteriorálním a dorso-ventrálním směru vedou k formování parasegmentů a poté segmentů u embrya i dospělého jedince

V každém segmentu je exprimován jiný řídicí protein

Segmentace u embrya a dospělého jedince

Imprinting – geny označené DNA metylací



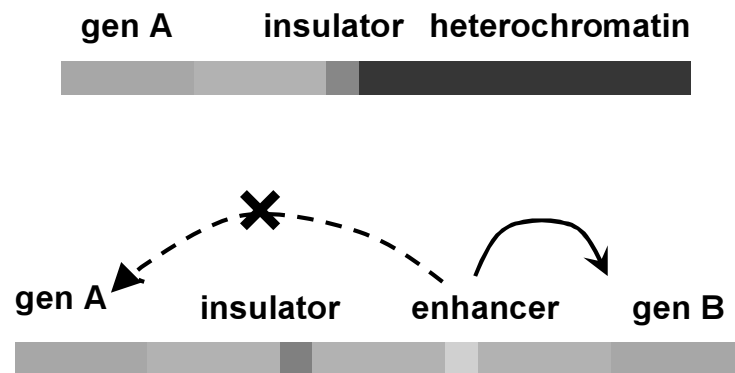
V některých případe může exprese genů záviset na tom, zda je gen zděděn od otce nebo od matky (př. růstový faktor IGF2 je exprimován pouze podle alely otce; je-li mutovaná – zakrslý jedinec, je-li mutovaná alela matky, růst je normální).

Insulator – hraniční element

Vzhledem k působení aktivátorů na velkou vzdálenost, musí být jejich vliv oddělen (aby si nepřekážely). To zprostředkovávají insulatory – elementy jež vážou proteiny, které

1) chrání geny před šířením heterochromatinu (jejich přenos společně s genem do blízkosti heterochromatinu vyloučí PEV)

2) blokuje funkci enhancerů (pokud se nacházejí mezi enhancerem a cílovým genem)



gen A není ovlivněn blízkým heterochromatinem

gen A není ovlivněn enhancerem, zatímco gen B je

Regulace exprese lidského genomu

Úvod (tok genetické informace, skladba lidského genomu, velikost - porovnání s jinými organismy, úrovně regulace)

Porovnání regulace transkripce u pro- a eukaryot

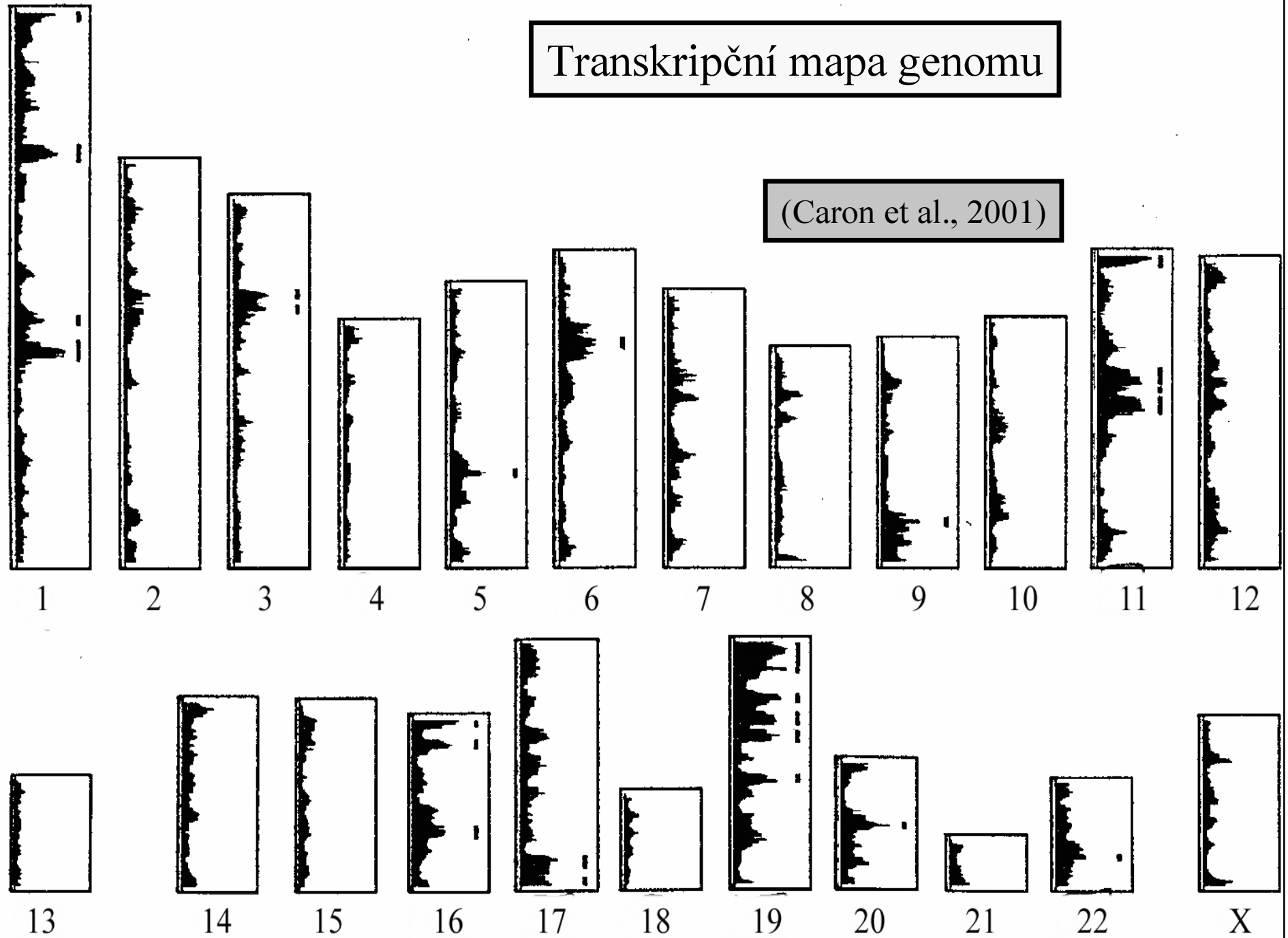
Regulace transkripce na úrovni genetického kódu

Regulace na úrovni chromatinu a jádra

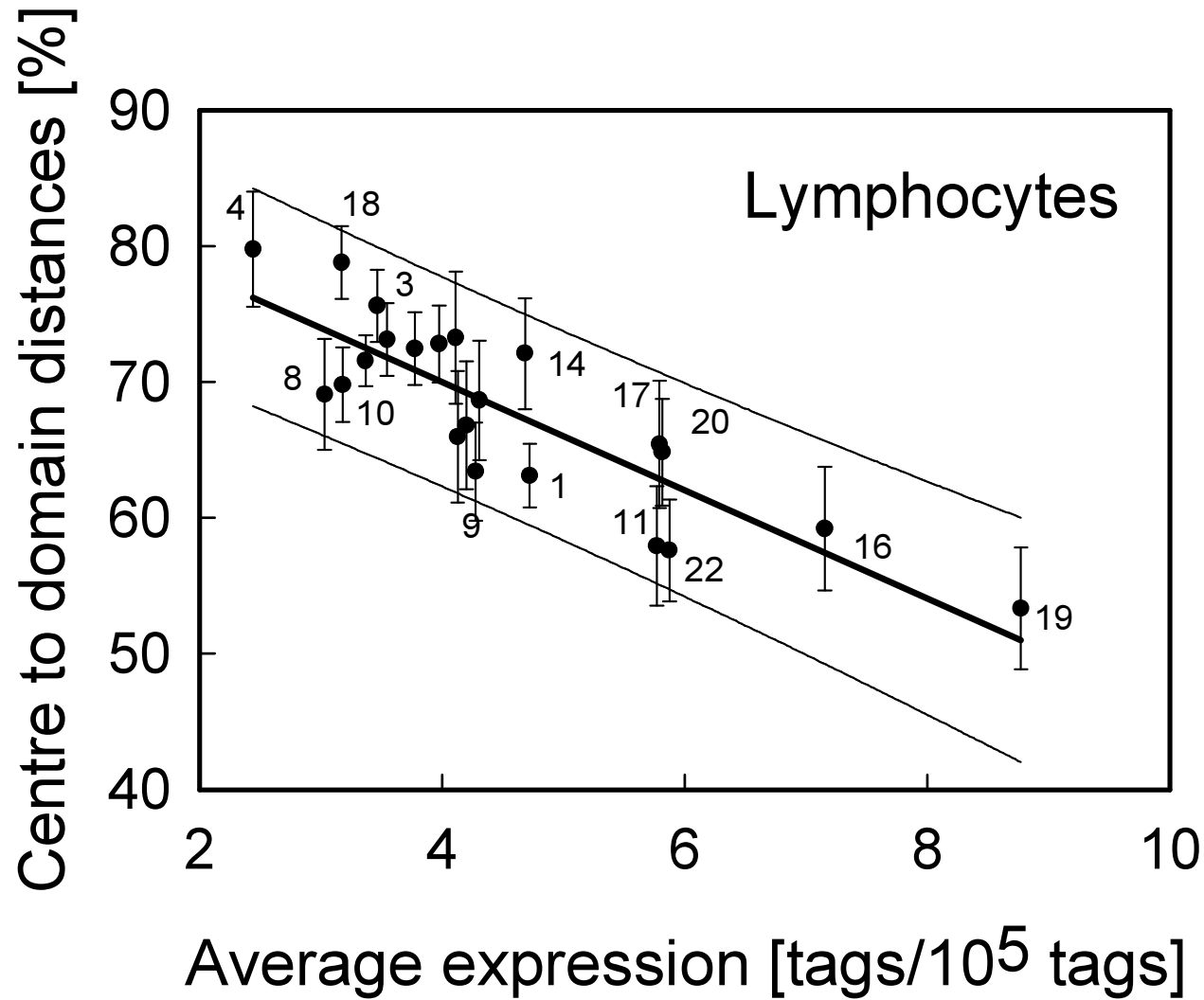
Úroveň sestřihu, translace, degradace RNA a proteinu

Transkripční mapa genomu

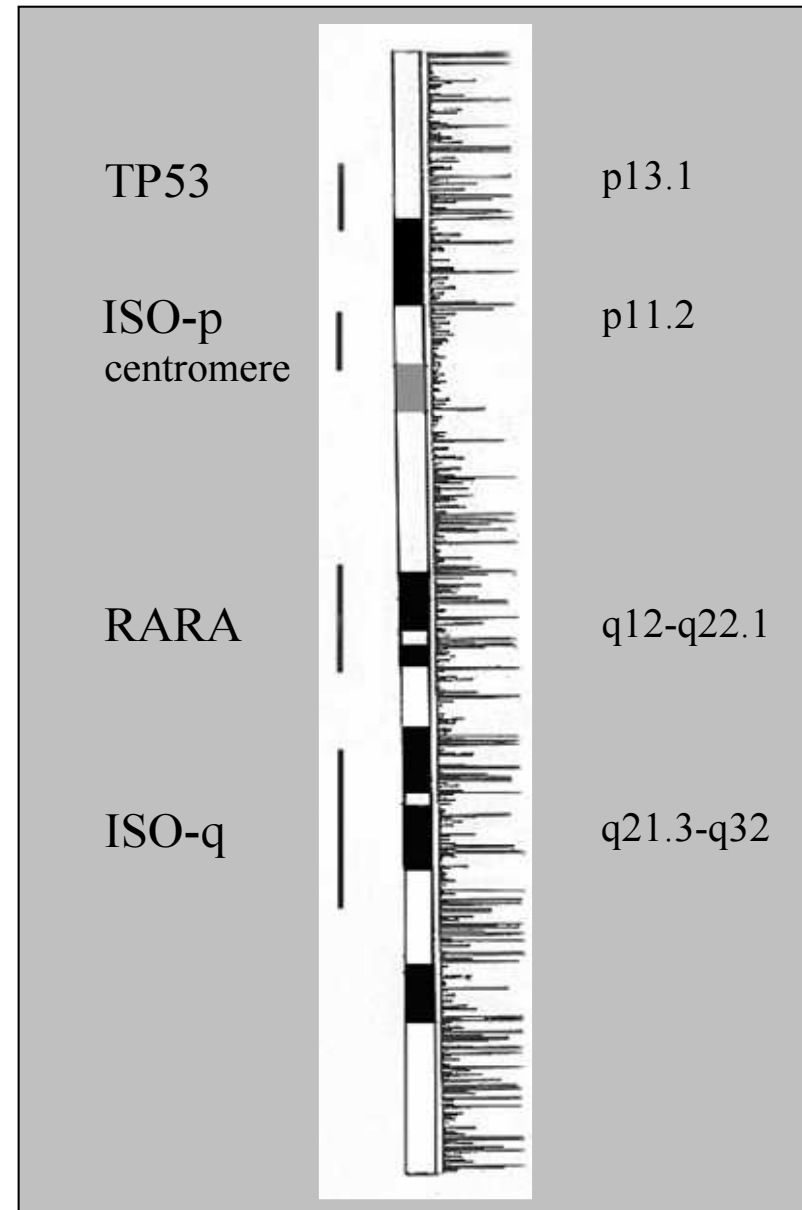
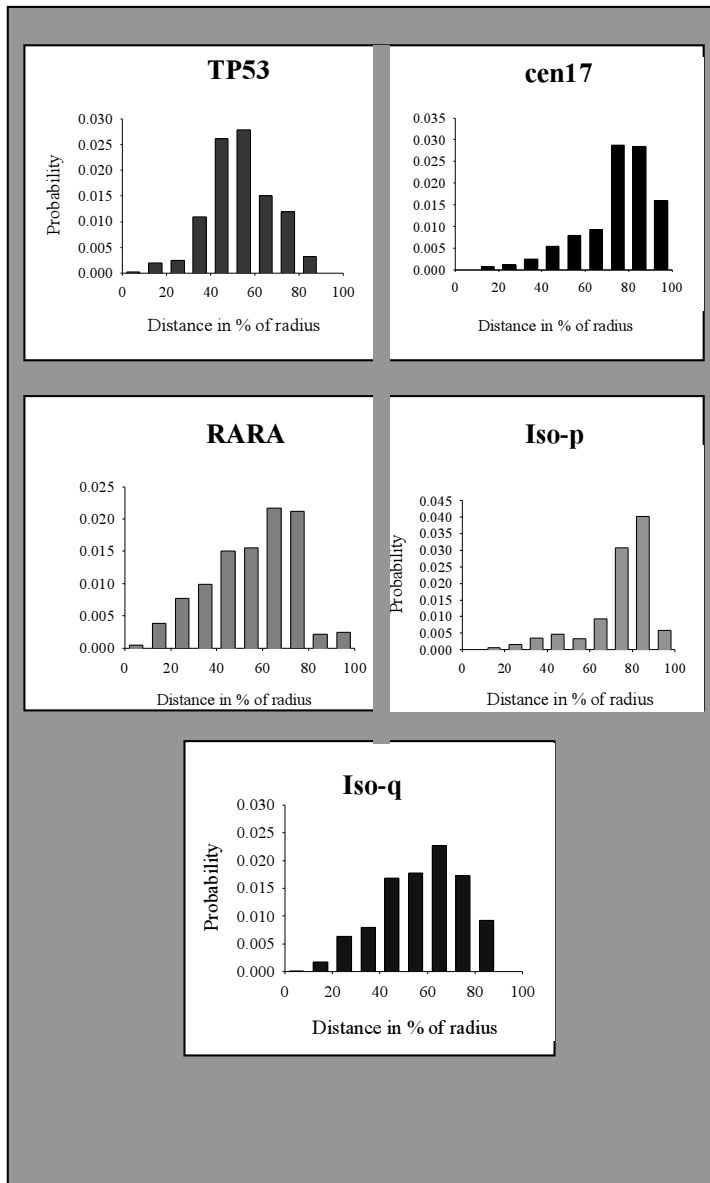
(Caron et al., 2001)



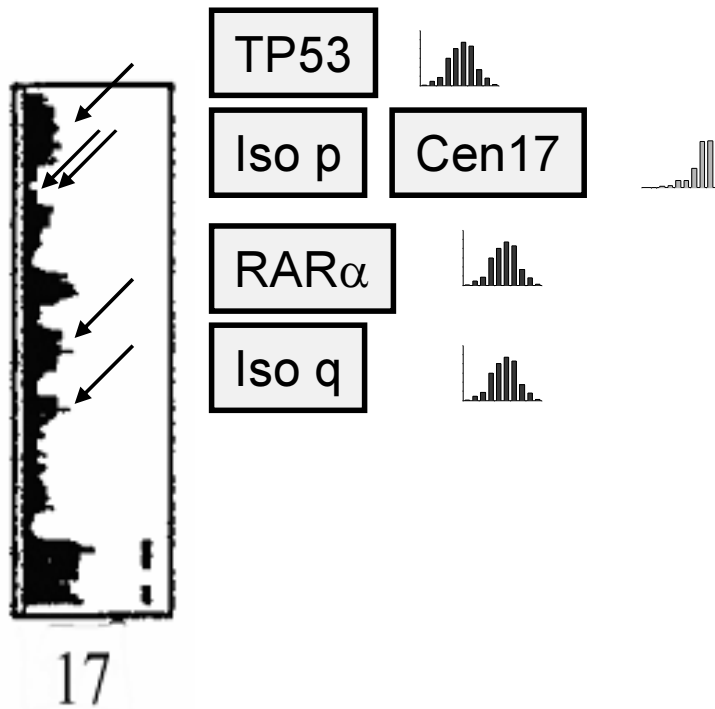
Positions of all chromosomes in nuclei of different cell types



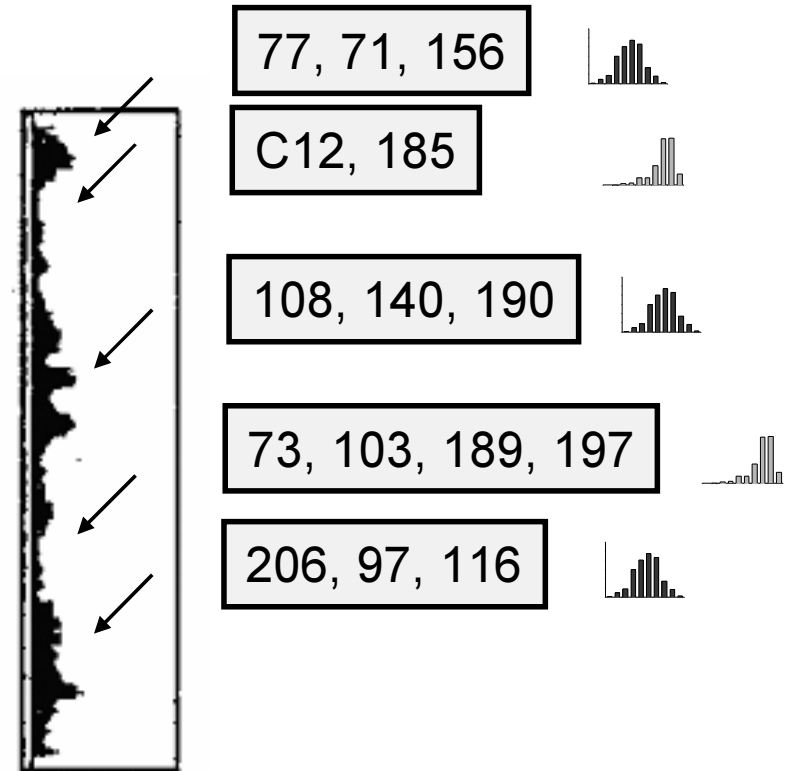
Umístění genetických elementů HSA 17 vzhledem ke středu jádra a jejich umístění na transkripční mapě



Umístění genetických elementů HSA 17 a HSA 12 na transkripčních mapách chromosomů

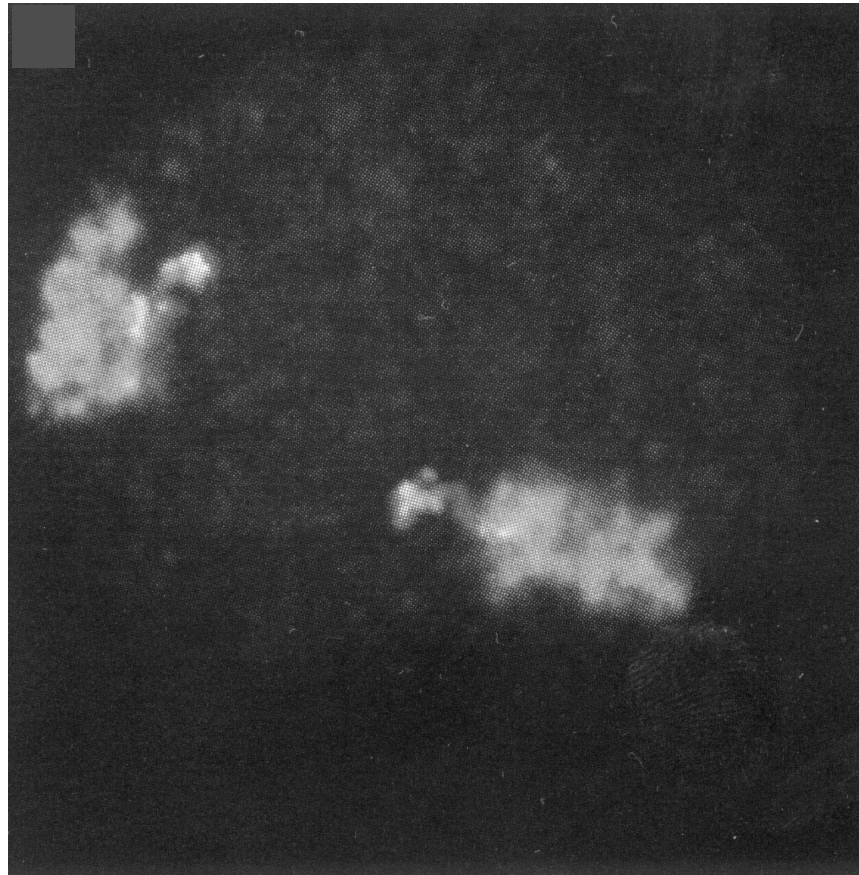


Lukášová et al., 2002



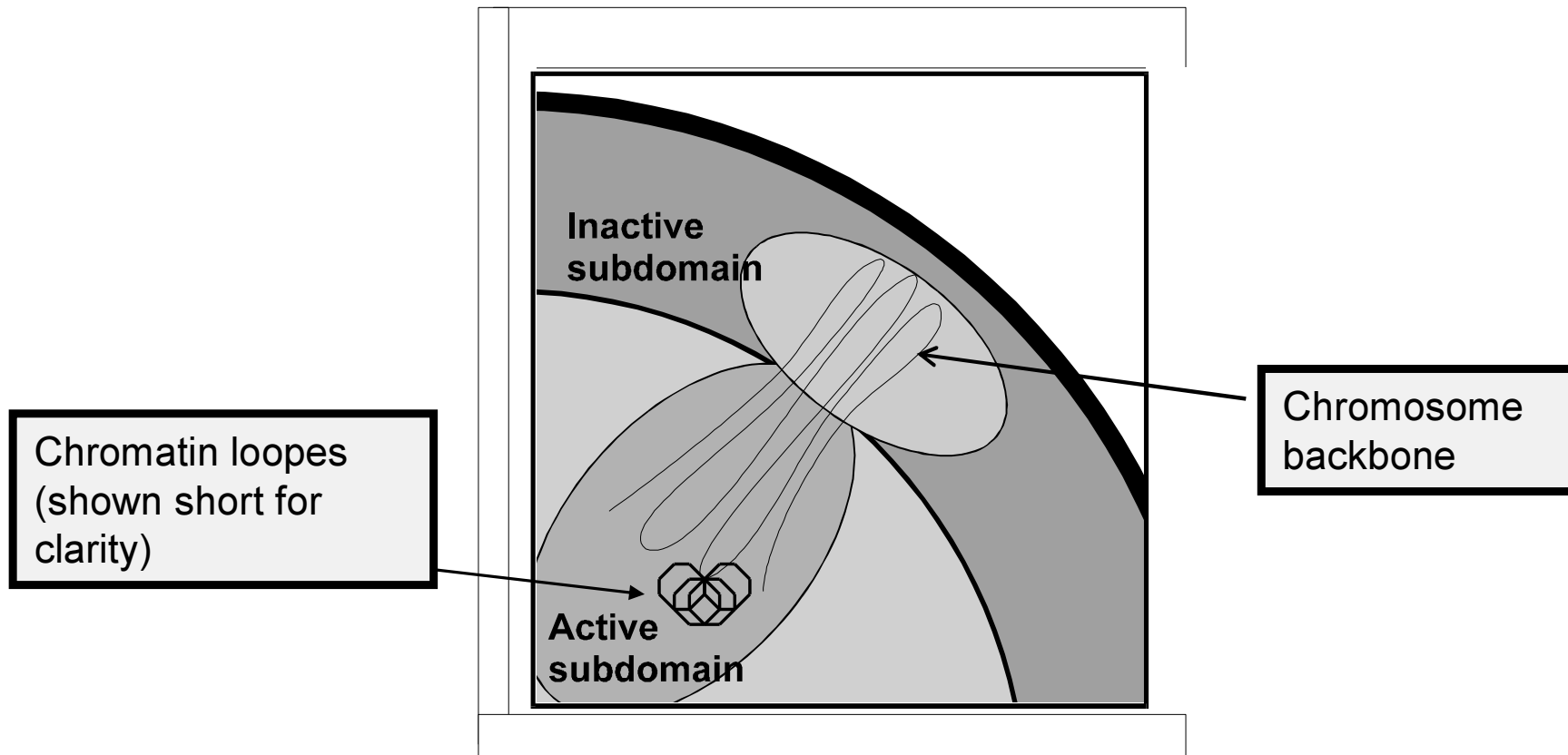
Okumura et al., 2000

Vliv genové exprese na strukturu chromosomových teritorií



Volpi et al., JCS, 2000

Schéma interfázního chromosomu



Chromosomy jsou polární s aktivní (dekondensovanou) doménou uvnitř a neaktivní (kondensovanou) doménou na okraji jádra. Toto uspořádání se v zásadě vytvoří v telofázi/G1 fázi a zůstává v průběhu cyklu neměnné. Tím se nastaví expresní profil buňky. Je dáno metylací DNA???

Regulace exprese lidského genomu

Úvod (tok genetické informace, skladba lidského genomu, velikost - porovnání s jinými organismy, úrovně regulace)

Porovnání regulace transkripce u pro- a eukaryot

Regulace transkripce na úrovni genetického kódu

Regulace na úrovni chromatinu a jádra

Úroveň sestřihu, translace, degradace RNA a proteinu

Regulace exprese na úrovni zpracování mRNA se uplatňuje v různých tkáních

Existuje několik regulačních mechanismů:

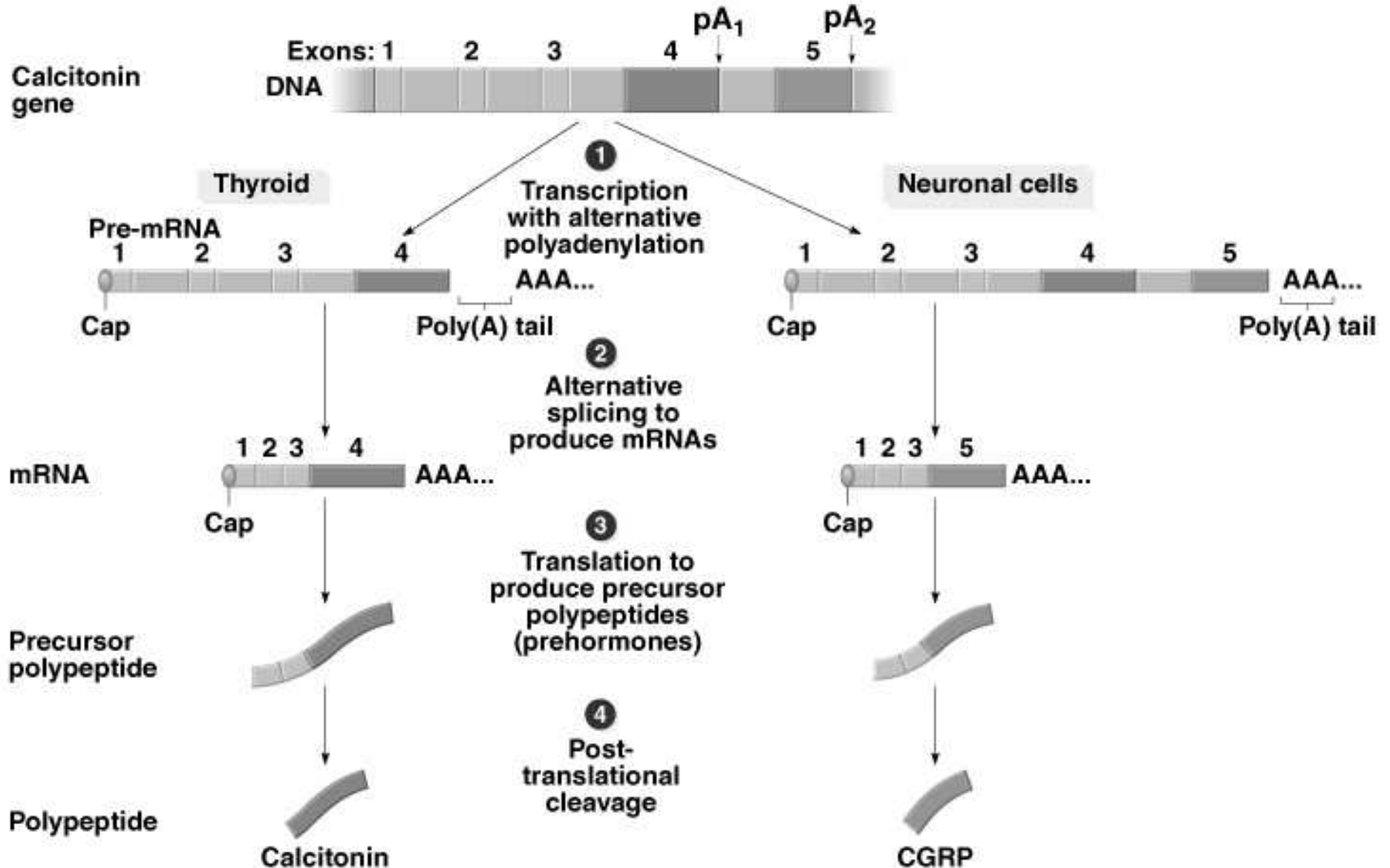
**Alternativní polyadenylace – podle toho kde se přidá polyA
konec (jeden gen může dát proteiny zcela odlišné funkce)**

**Alternativní sestřih – podle toho, který exon je začleněn do
konečné mRNA**

**Úprava kódu mRNA – např. začlenění odlišného kodonu
(např. alipoprotein B v játrech a ve střevě)**

Tyto mechanismy mohou fungovat i současně

Alternativní polyadenylace a sestřih u genu calcitoninu v buňkách štítné žlázy a v nervových buňkách



Transport mRNA

Transport mRNA v buňkách eukaryot je regulován

Zhruba polovina mRNA je degradována ještě v jádře buňky

Hotová mRNA prochází jadernými póry do cytoplasmy, ale mechanismus a jeho kontrola nejsou známy.

Regulace na úrovni translace

mRNA může být uskladněná (s krátkým polyA koncem) a translace může být indukovaná.

Uskladněná mRNA je chráněná proteiny, které inhibují translaci.

Polyadenylové konce navozují translaci.

Specifické mRNA jsou označeny pro deadenylaci a pak „uskladněny“ s krátkými poly(A) konci.

Aktivace začíná enzymatickým přidáním polyadenylového konce (150 jednotek)

Kontrola degradace mRNA

Všechny RNA v cytoplasmě jsou časem degradovány.

tRNA a rRNA jsou relativně stabilní, mRNA má variabilní stabilitu (minuty až měsíce)

Stabilita se může změnit jako odpověď na regulující signál.

Různé sekvence a procesy ovlivňují poločas rozpadu mRNA:

- **AU-bohaté elementy**
- **Sekundární struktura**
- **Odstranění poly(A) konce**
- **Odstranění čepičky na 5' -konci**
- **Rozštípnutí mRNA a degradace fragmentu**

Kontrola degradace proteinu

Proteiny mohou být krátce nebo dlouze žijící (proteiny oční čočky)

Degradaci proteinu předchází ubiquitinace – ubiquitin se naváže na proteiny určené k degradaci.

Aminokyselina N-konce proteinu určuje jeho stabilitu (určuje pravděpodobnosti navázání ubiquitinu):

- Arg, Lys, Phe, Leu, Trp** **1/2 life ≤ 3**
minutes
- Cys, Ala, Ser, Thr, Gly, Val, Pro, Met** **1/2 life ≥ 20**
hours