

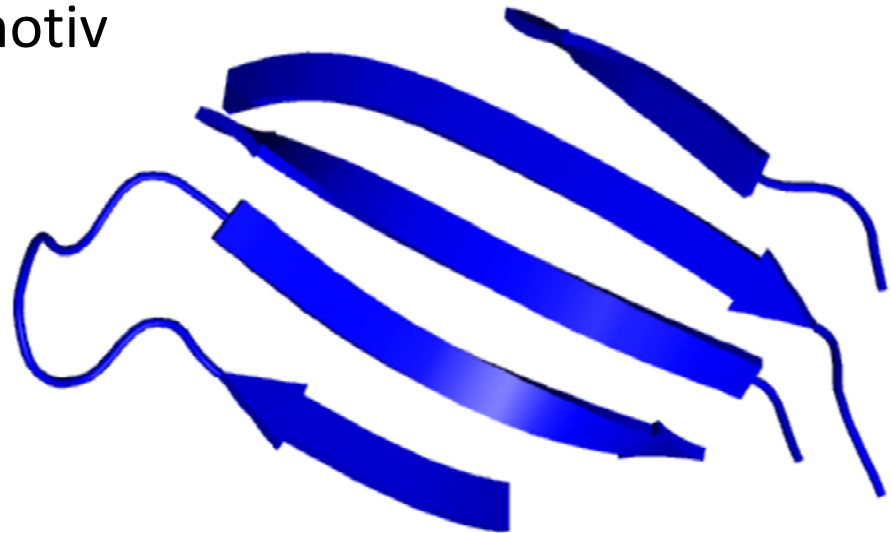
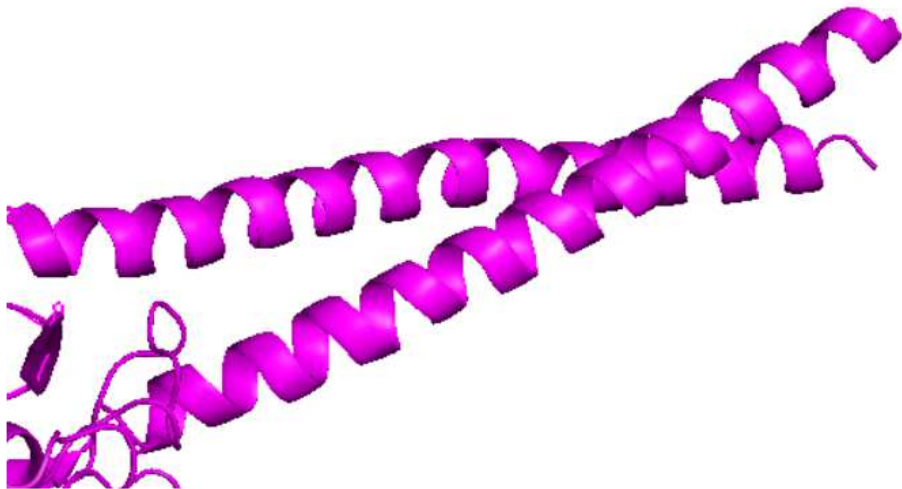
Ubikvitony

Marek Adamus

30.3.2017

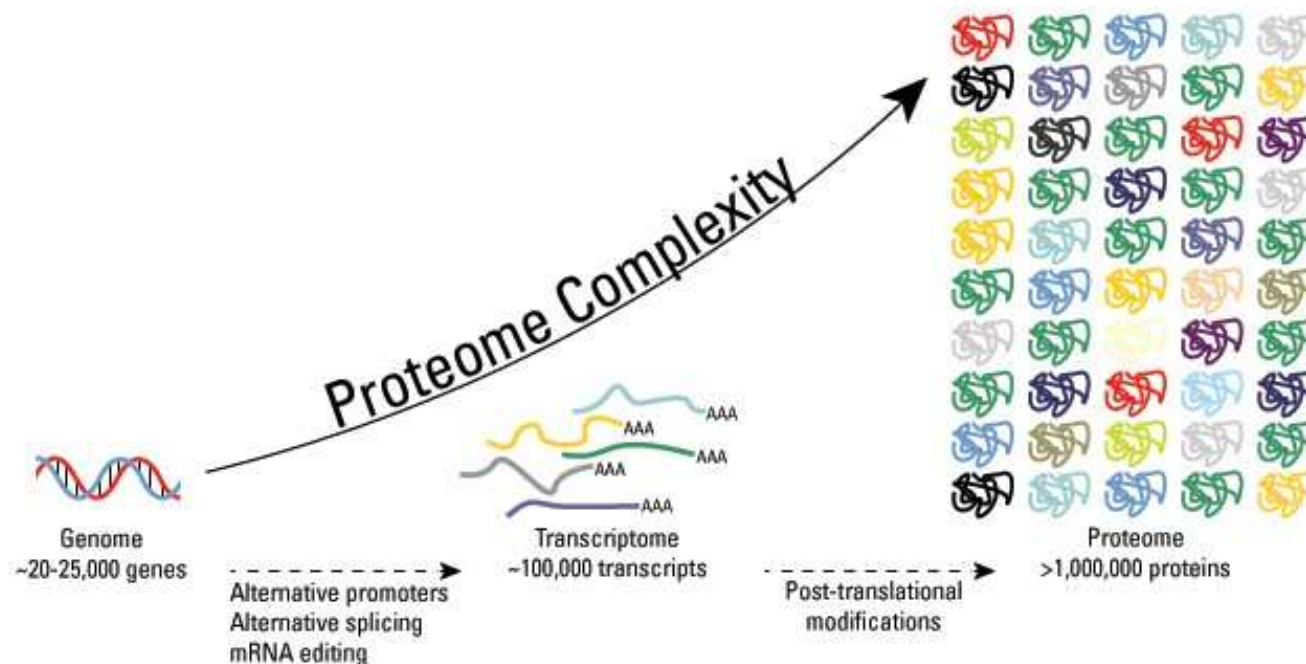
Opakování

- **dědičnost:**
 - autosomální vs. gonosolmání, dominantní vs. recesivní
- **struktury proteinů**
 - α -šroubovice / α -helix
 - β -skládaný list / β -sheet
 - fold – prostorové uspořádání, motiv



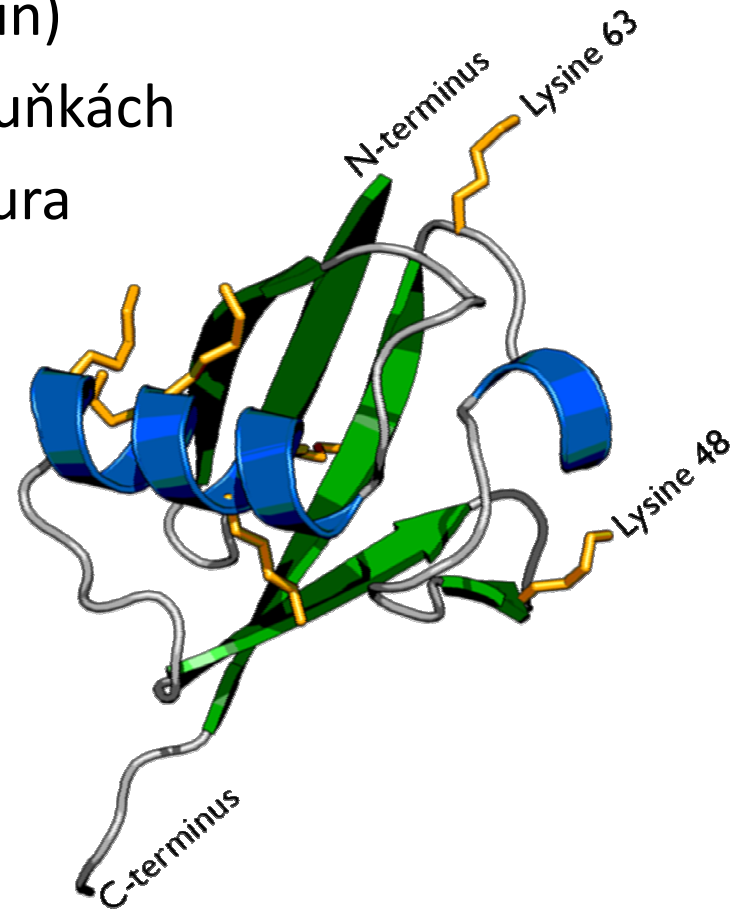
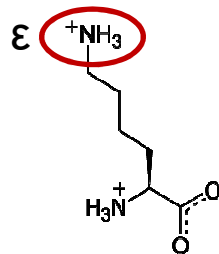
Post-translační Modifikace Proteinů

- (jen) **eukaryotické** buňky
- mnohonásobné zvýšení variability proteinů a jejich komplexů
- stabilizace, transport, lokalizace, aktivace...
- fosforylace, glykosylace, acetylace, **ubikvitinace**...



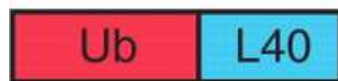
Ubikvitin

- *ubique* = všudypřítomný
- A. Ciechanover, A. Hershko, a I. Rose – Nobelova cena 2004
- malý **protein** (8,5 kDa, 76 aminokyselin)
- nachází se ve **všech** eukaryotických buňkách
- vysoce **konzervovaná** primární struktura
- vlastnosti:
 - flexibilní **C-konec**
 - **připojení** na ϵ -aminoskupinu **lysiny**
 - lysiny v sekvenci ubikvitinu
 - **isopeptidová** vazba



Exprese Ubikvitinu

- **nevzniká samostatně**, ale vždy jako fúzní / polyprotein
- jsou známy **4 geny** pro ubikvitin u lidí
- **ubikvitin-ribozomální** protein (Ub_{L40} a Ub_{S27})
 - regulace množství ubikvitinu dle translační aktivity
- **polyubikvitin**
 - odpověď na stresové podmínky



Ub_{L40}



Ub_{S27}



Polyubiquitin

(tandem repeat of Ub unit)

Ubikviton

- a covalently attachable or genetically built-in ubiquitin superfold

Welchman *et al.*, Nature Reviews, 2005

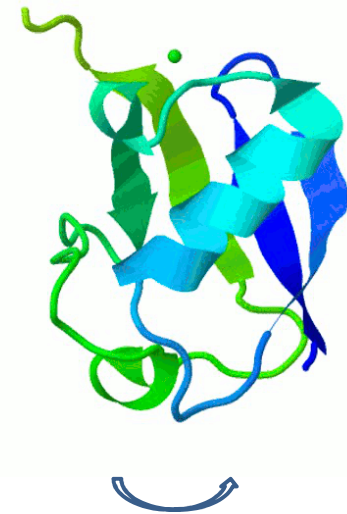
- ubikvitony – proteiny obsahující „ β -grasp fold“



Ubikvitin

SUMO-1

NEDD8

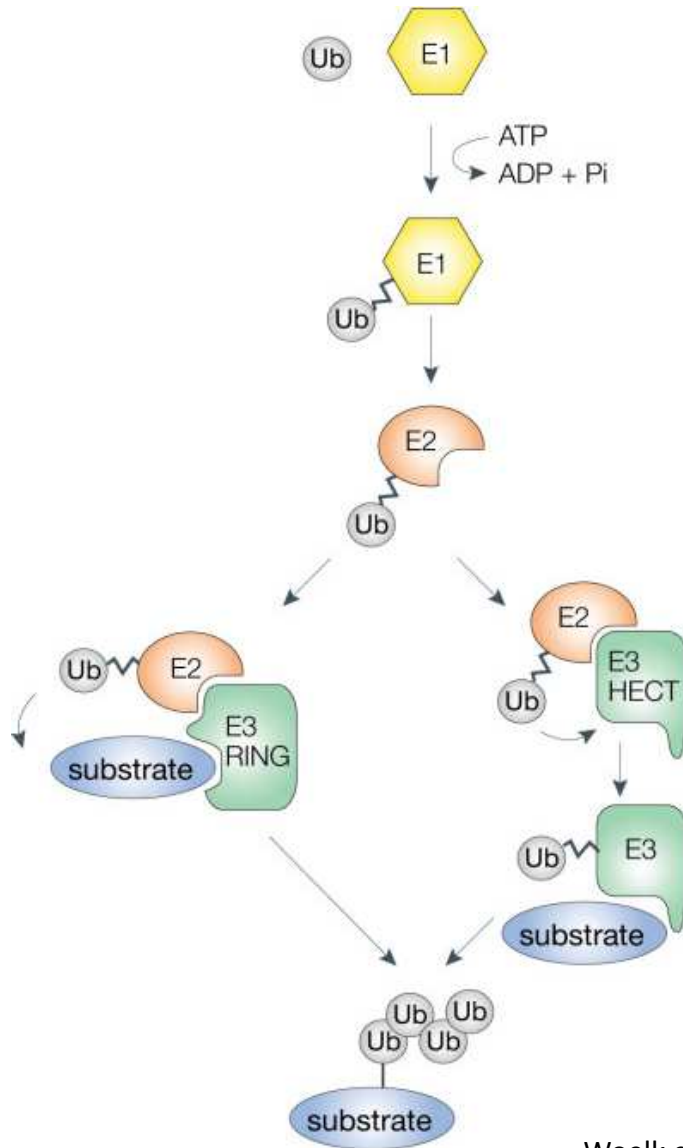


Ubikvitony

Modifier	Identity (%)	E1a	E2a	Comments
Ubiquitin	100	Uba1& Uba6	many	Protein degradation, histone regulation
NEDD8	55	Uba3-Ula1	Ubc12	Substrates: cullins, p53
SUMO1-4	18	Uba2-Aos1	Ubc9	Transcriptional regulation, protein localization
Urm1	ND	Uba4	–	Related to MoaD, ThiS; β -grasp fold
ISG15	32/37	Ube1L	UbcH8	Interferon response
UFM1	ND	Uba5	Ufc1	β -grasp fold
FUBI/MNSF β	38	–	–	Derived from ribosomal protein precursor
FAT10	32/40	Uba6	–	Ubiquitin-independent degradation
Ubl-1	40	–	–	Nematode ribosomal protein precursor
BUBL1, 2	variable (up to 80%)	–	–	Putative autoprocessed proteins (ciliates)

Hochstrasser, 2009
Ponder *et al.*, 2007

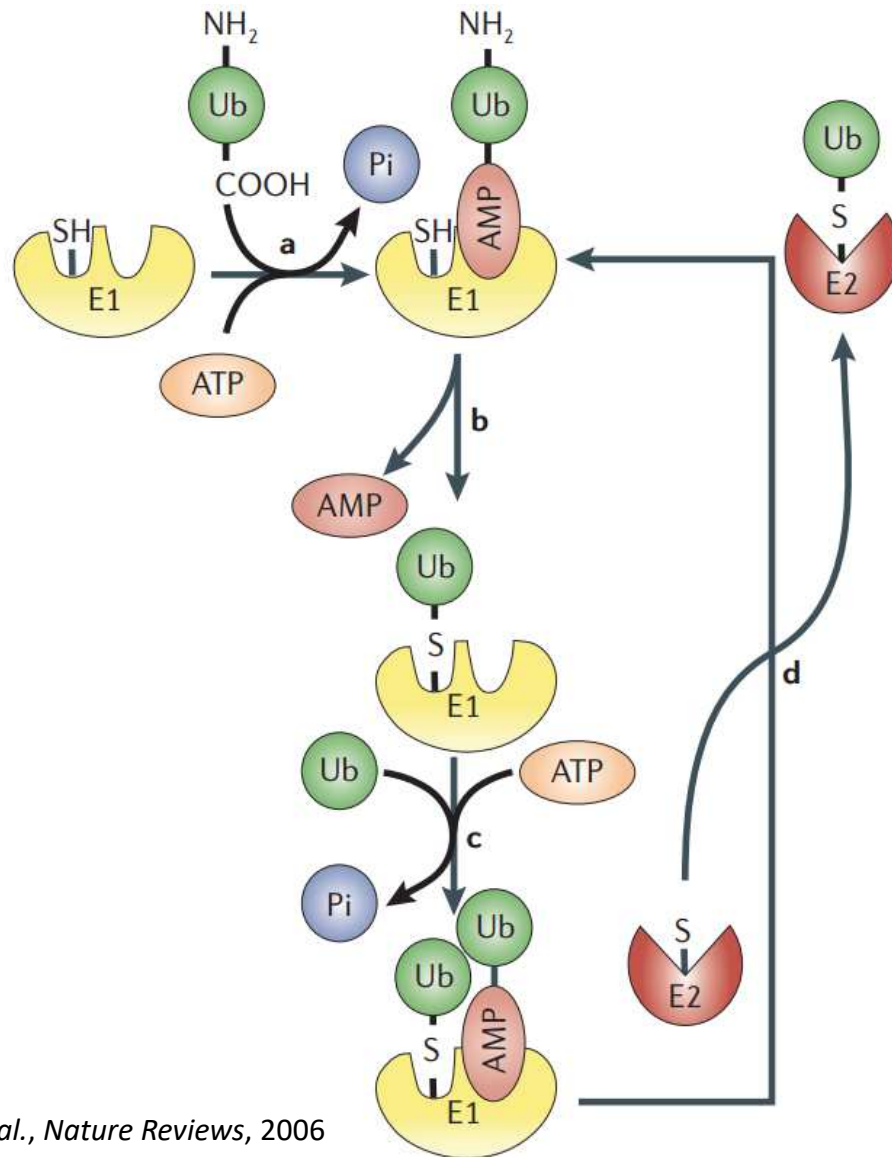
Konjugace Ubikvitinu



Lidé:

- E1 – 2 enzymy (UBA1, UBA6)
- E2 – 35
- E3 – 600 - 1000
- regulace na několika úrovních

Konjugace Ubikvitinu – E1 a E2



A: aktivace ubikvitonu

B: přesun ubikvitonu na Cys
v aktivním místě E1

C: vazba **dalšího**
aktivovaného ubikvitonu

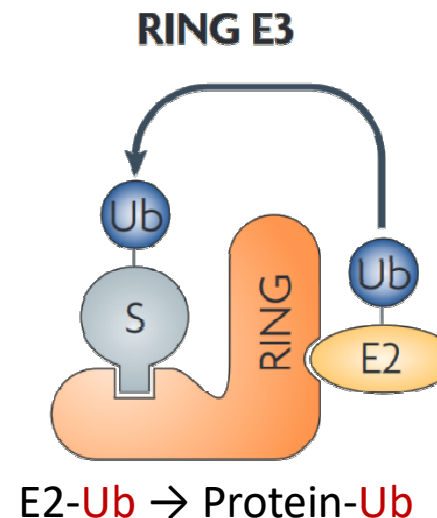
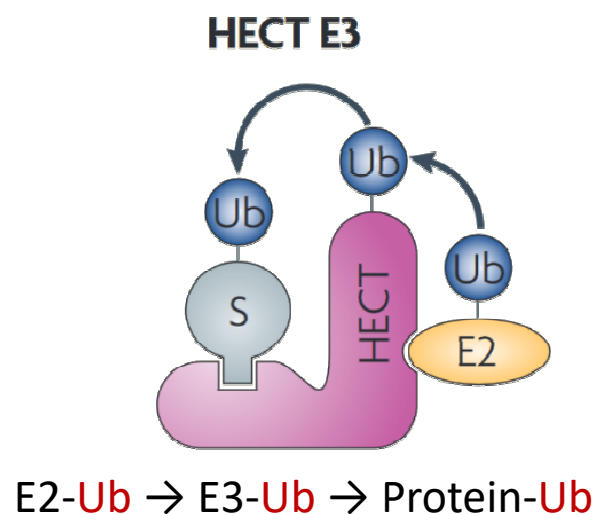
D: přesun z Cys **E1** na Cys **E2**

Konjugace Ubikvitinu – E3

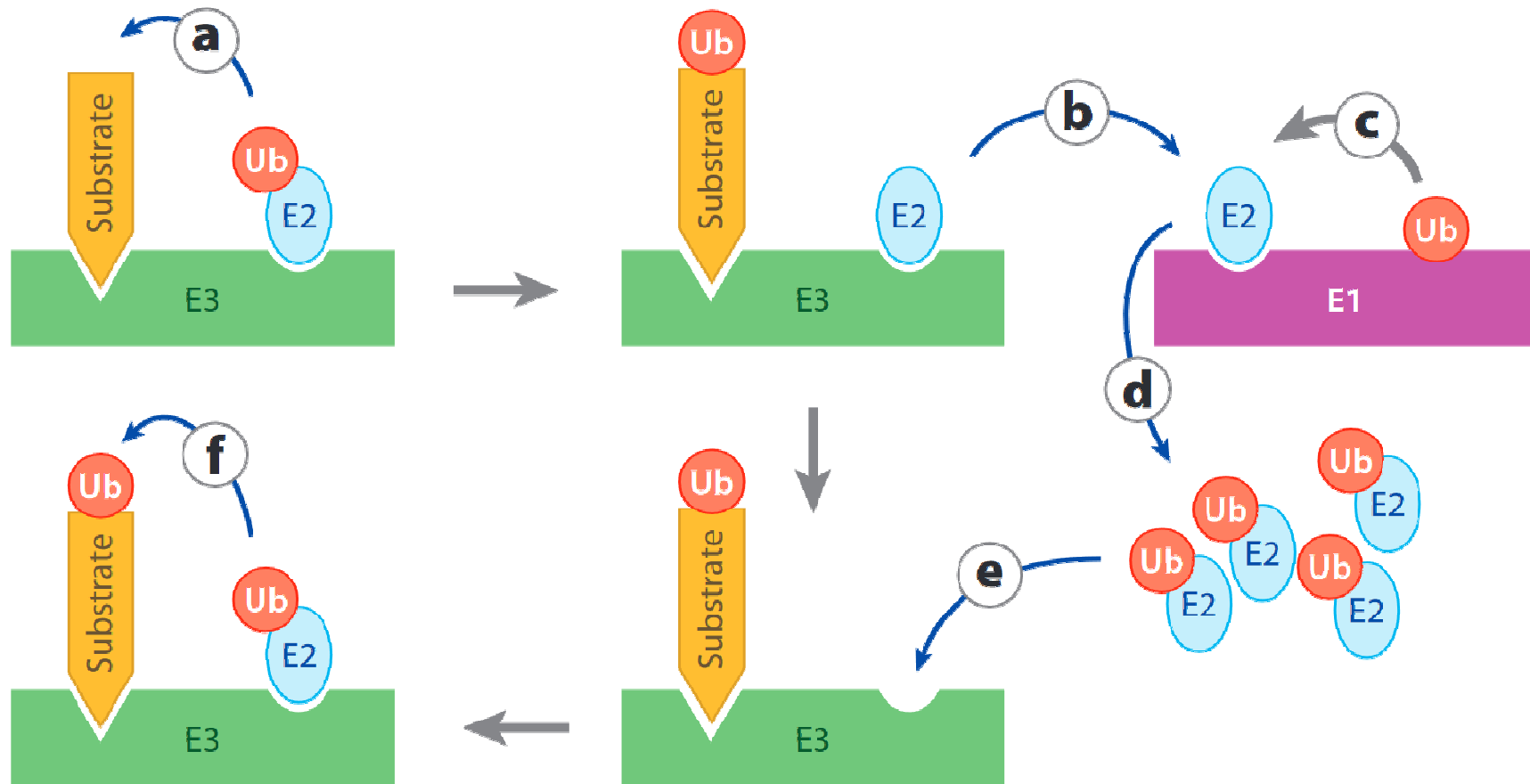
- E3 ubikvitin ligasy specificky rozeznávají **koncové proteiny**
- vazebná místa pro **E2** a **protein**

2 hlavní třídy:

- RING (**R**eally **I**nteresting **N**ew **G**ene) E3 ligasy (až 95%)
- HECT (**H**omologous to **E**6-AP **C**arboxy **T**erminus) E3 ligasy

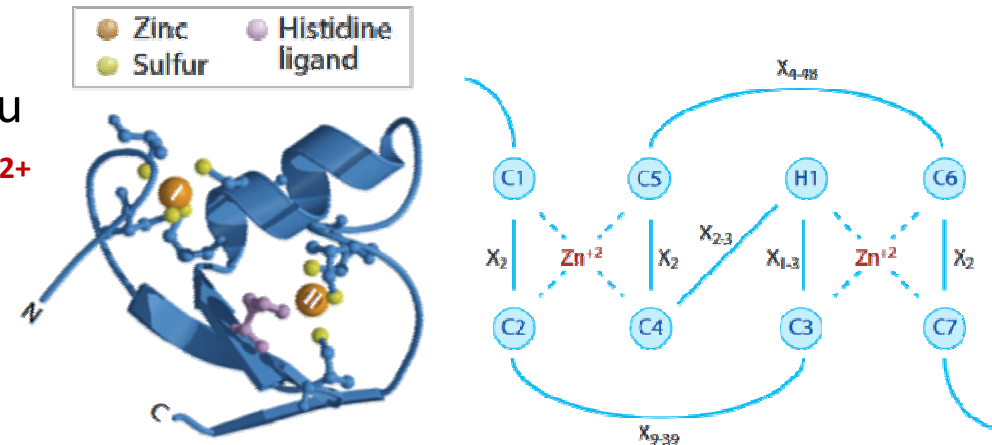


RING E3 Ligasy



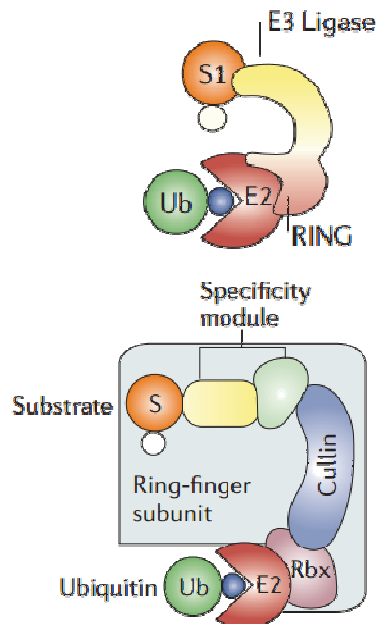
RING E3 Ligasy

- obsahují **RING** (RING finger) doménu
 - 6 – 7 **Cys** a 1 – 2 **His** koordinuje 2 **Zn²⁺**
- RING doména se váže s E2



Deshaies et al., *An. Rev. of Biochemistry*, 2009

2 velké podskupiny:

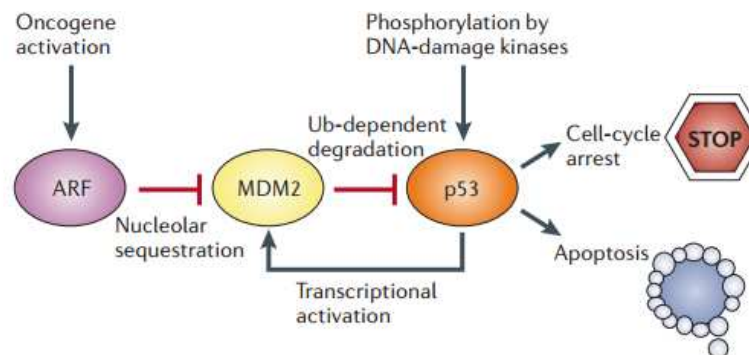


- jednoduché** RING E3 ligasy
 - RING doména a substrát vazebná doména se nachází na stejném polypeptidu
- složené** RING E3 ligasy
 - tvořené několika **modulárními** podjednotkami
 - tzv. **cullin**-RING E3 – RING box protein (RBX1 a 2) + **Cullin** + substrát rozeznávající proteiny

Nalepa et al., *Nature Reviews*, 2006

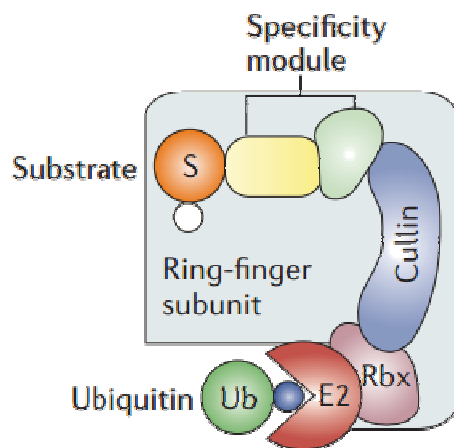
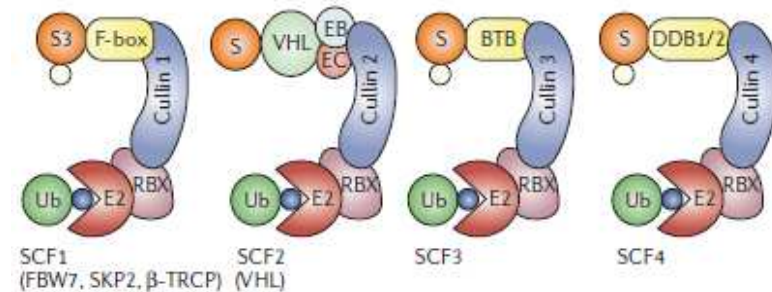
Jednoduché RING E3 Ligasy

- **p53 (TP53)** – „strážce genomu“
 - odpověď buňky na stres – zastavení buněčného cyklu, indukce apoptosy
 - přes 50 % známých typů rakovin má defekt ve funkci p53
- **MDM2** (Mouse Double Minute 2 homolog) – **E3 ligasa**
 - hlavní regulační prvek **stresové odpovědi** mediované p53
 - **p53** indukuje expresi **MDM2** → **MDM2** inhibuje expresi **p53**
 - fyzické nasednutí na DNA a inhibice transkripce
 - podpora transportu p53 z jádra
 - **ubikvitinace** p53 – indukce degradace
 - Deaktivace MDM2 – cílená léčba aktivací p53 a následně apoptosy
 - Nutlin, RITA, PRIMA-1 (II. fáze klinických testů – 2012)

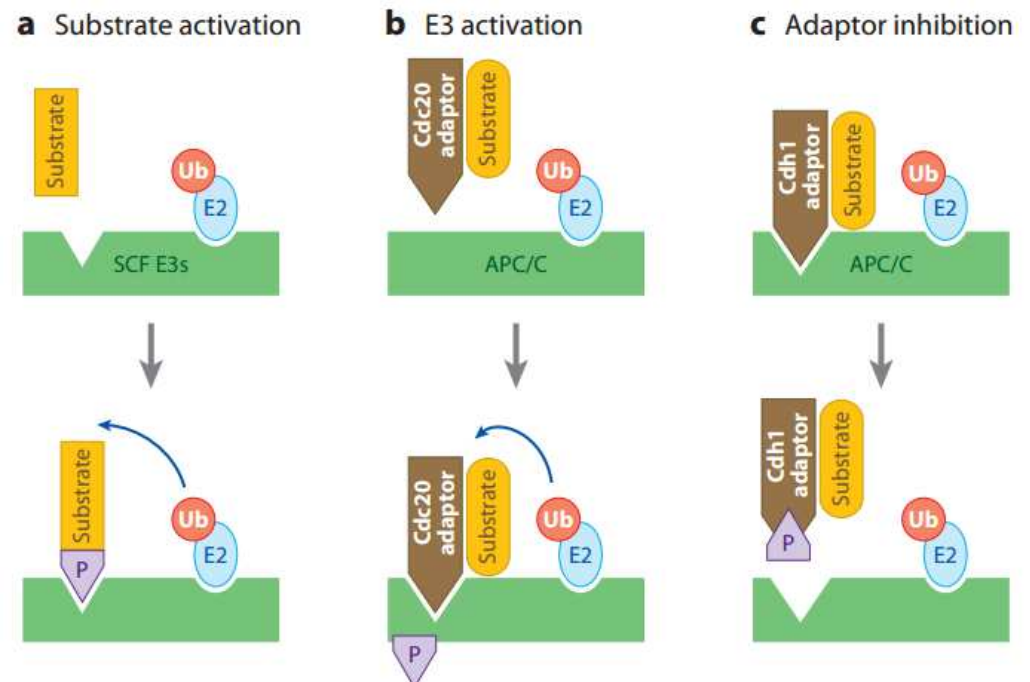


Cullin-RING E3 Ligasy

- E3 ubikvitin ligasový komplex
- **Culliny**
 - hydrofóbní proteiny
 - tvoří lešení pro další podjednotky
 - je známo 7 cullin proteinů u člověka
- **RING box protein**
 - RBX1 a RBX2
- substrát specifické proteiny



Nalepa *et al.*, *Nature Reviews*, 2006

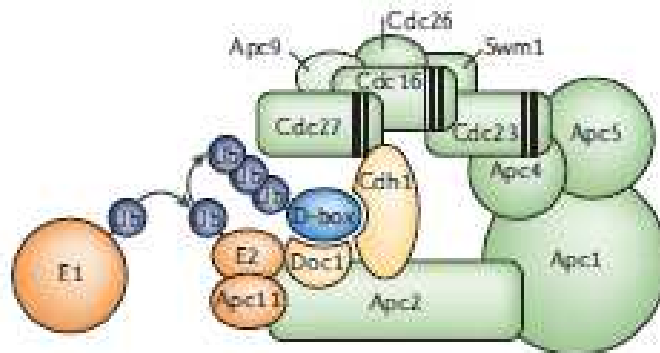


Deshaies *et al.*, *An. Rev. of Biochemistry*, 2009

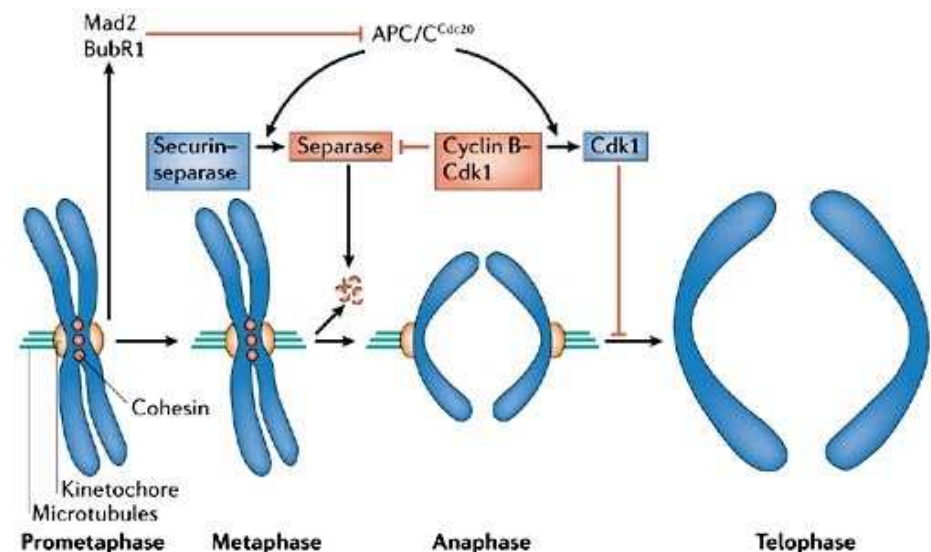
Cullin-RING E3 Ligasy

- **APC/C** (Anaphase Promoting Complex/Cyclosome) – **E3 ligasa**
 - **komplex** složený z (asi) 12 podjednotek a několika koaktivátorů – **1,5 MDa**
 - obsahuje **cullin** podjednotku (Apc2) a **RING** podjednotku (Apc11)
 - pro vazbu substrátu nezbytné koaktivátory Cdc20 a Cdh1
 - **nezbytný** pro správný průběh **buněčného cyklu**, rozdělení sesterských chromatid v anafázi...
 - ubikvitinace **securinu** → aktivace **separasy** → štěpení **kohezinu** → rozdělení sesterských chromatid k opačným pólům buňky

Vertebrates
Subunits
APC1/TSG24
APC2
CDC27/APC3
APC4
APC5
CDC16/APC6
APC7
CDC23/APC8
DOC1/APC10
APC11
CDC26
SWM1/APC13



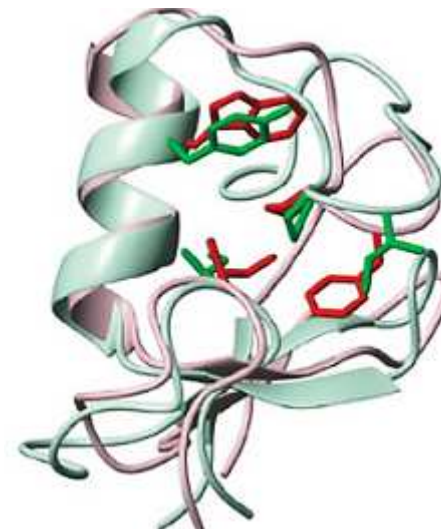
Peters, *Nature Reviews*, 2006



U-Box E3 Ligasy

- strukturní motiv **podobný RING** schopný **vázat E2** ligasy
- konformace založena na **vodíkových můstcích**, neváže Zn^{2+}
- **CHIP** (C terminus of HSC70-Interacting Protein) / **STUB1** (STIP1 homology and U-Box containing protein 1)
 - rozeznává HSP70 a HSC70
 - ubikvitinuje **nesprávně složené** proteiny → degradace
 - asociace s parkinem – podporuje jeho ubikvitinační aktivitu
 - disfunkce CHIP spojená s **ataxií** – porucha koordinace pohybů

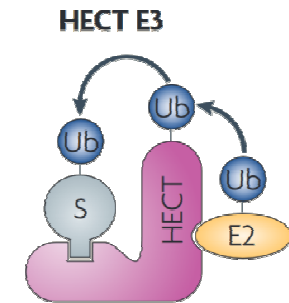
- Cystická Fibróza – degradace nesprávně složeného CFTR
- CFTR – chloridový ABC transportér (česky: transmembránový regulátor vodivosti 😊)



- U-box (zelená)
- RING (fialová)

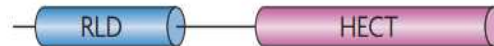
HECT E3 Ligasy

- **HECT** (Homologous to E6-AP Carboxy Terminus)
- zhruba **28** HECT E3 u člověka
 - HECT doména se skládá ze 350 aminokyselin u C-konce prot.
 - obsahuje katalytický Cys → vazba ubikvitinu

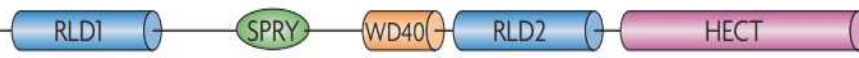


HERC family (six members)

Small HERCs



Large HERCs
(for example, HERC1)



Nedd4 family
(nine members)

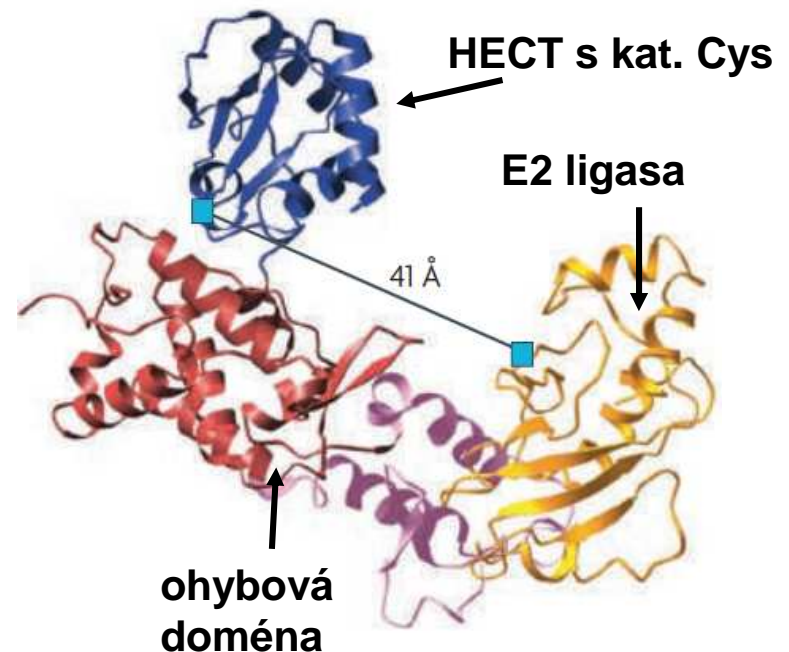


Other HECTs

E6AP, HECTD2 and KIAA0614



TRIP12



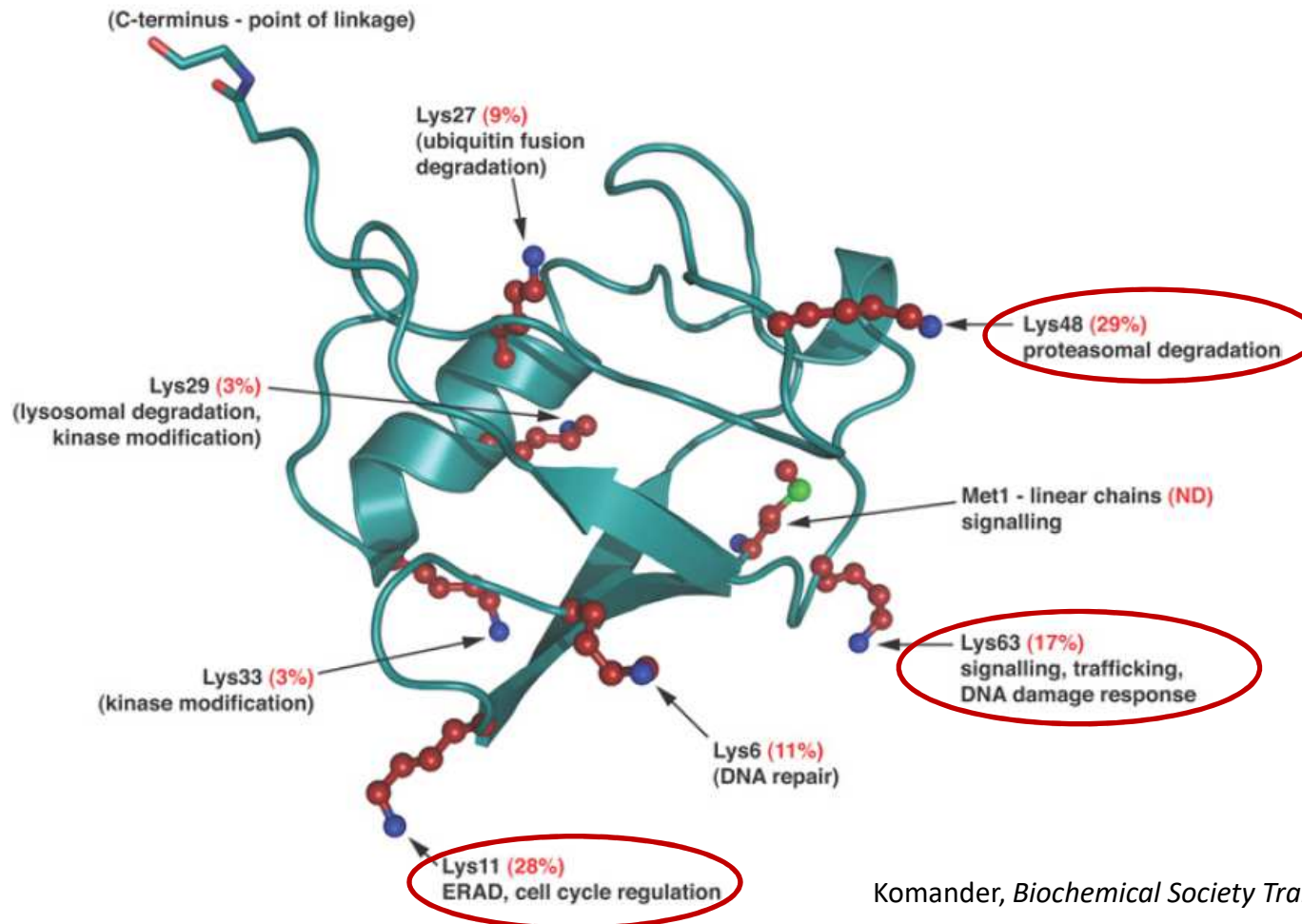
HECT E3 Ligasy

- **E6-AP** ubikvitin ligasa
- **rakovina děložního čípku**
 - HPV (Human PapillomaVirus) nese gen pro protein **E6**
 - **E6** je exprimován v hostitelské buňce a **váže se na E6-AP**
 - E6-AP **ubikvitinuje p53** a napomáhá vzniku rakoviny
- **Angelmanův syndrom**
 - exprese E6-AP není rovnocenná – varianta genu zděděná po linii otce je umlčována
 - **v mozku** je exprimována převážně **matčina** alela
 - mutace genu vedoucí k nefunkčnímu proteinu → syndrom
 - poruchy vývoje intelektu, epileptické záchvaty, záchvaty smíchu

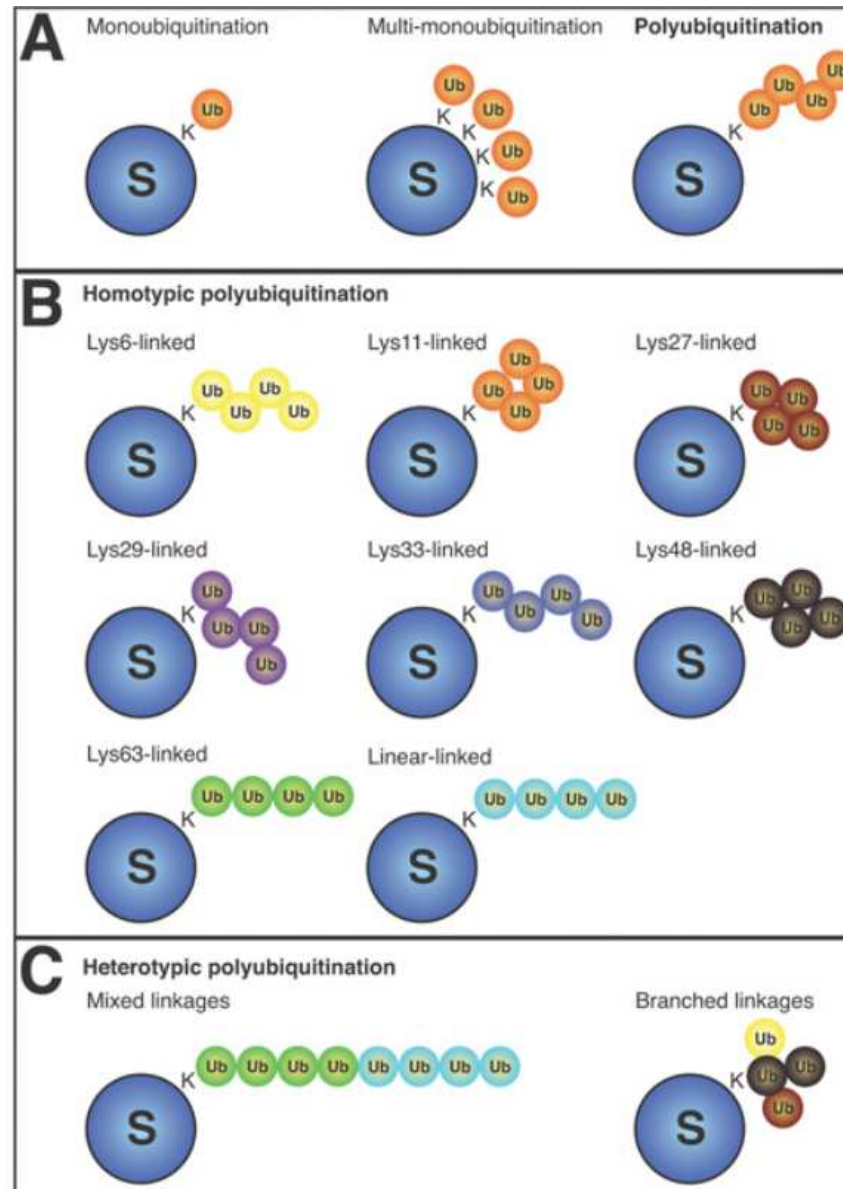


Varianty Ubikvitinací

- polyubikvitinové řetězce – **běžnější** oproti monoubikvitinacím
- ubikvitin – 7 lysinů a C-konec pro připojení dalšího ubikvitinu

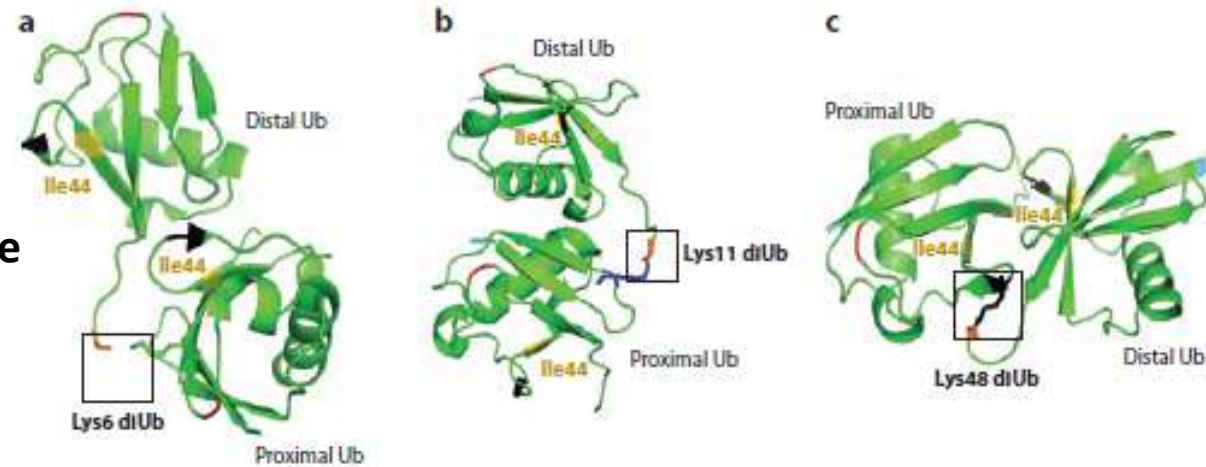


Varianty Ubikvitinací

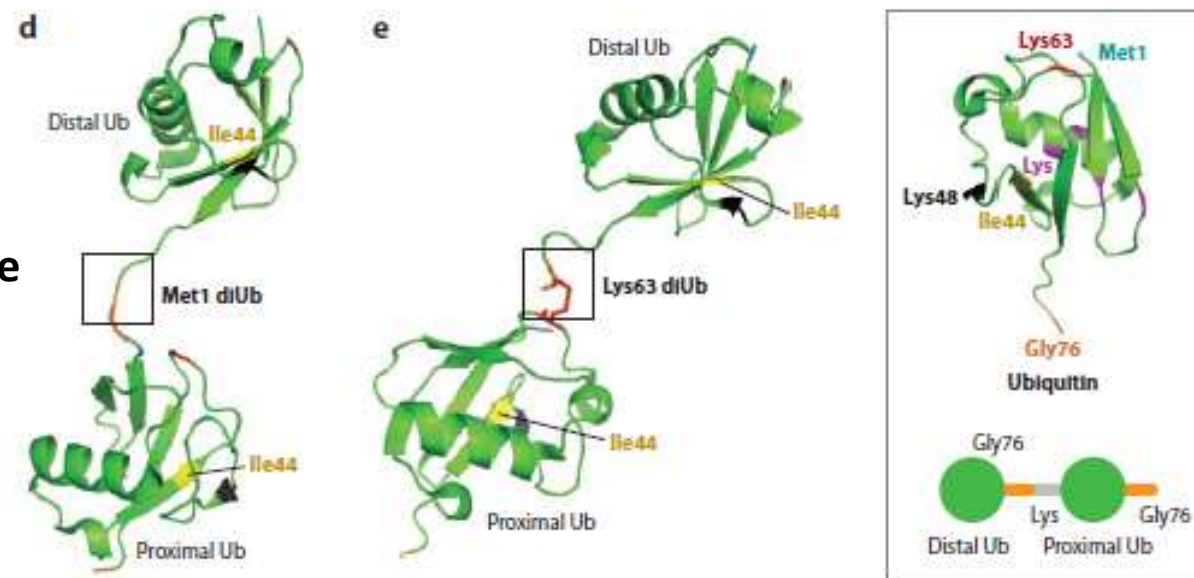


Varianty Ubikvitinací

- Uzavřená konformace

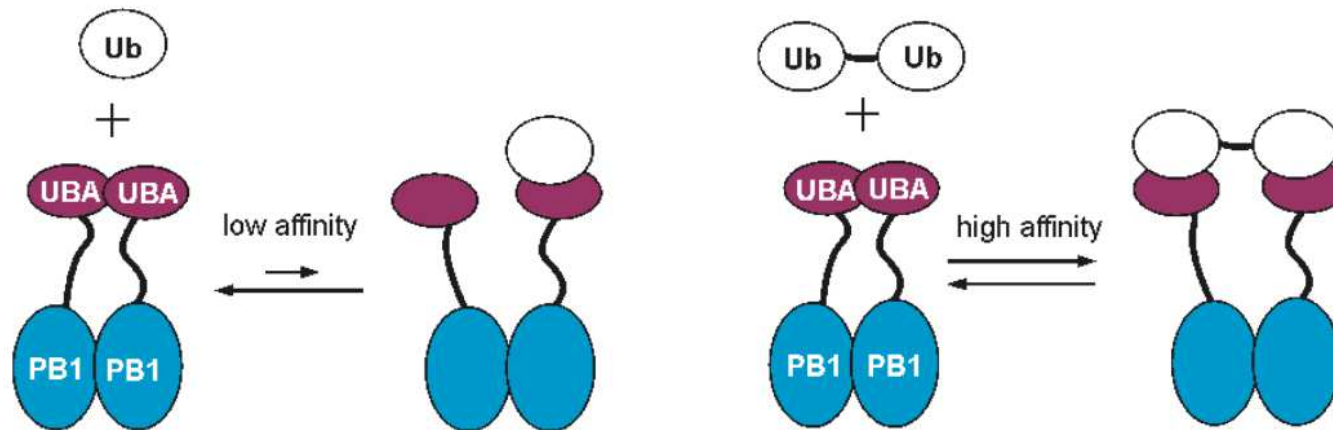


- Otevřená konformace



Důsledek Připojení Ubikvitinu

- připojení ubikvitinu přes **flexibilní C-konec**
- neovlivňuje (většinou) konjugovaný protein přímo
→ slouží jako **povrch** pro protein-proteinové **interakce**
- interakční partner obsahuje **UBD** (Ubiquitin Binding Domain)
 - je známo 20 rodin s rozdílnou topologií UBD místa
 - ubikvitin obsahuje **hydrofobní místo** kolem *Ile46* → **vazebné místo** pro UBD (zvažováno i *Ile36, Leu8, Val70*)



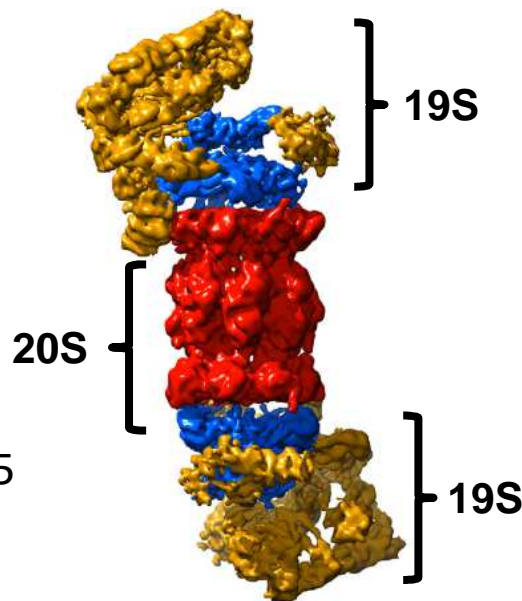
Degradace Proteinů v 26S Proteasomu

- velký (2 MDa) **multiproteinový komplex** – až 60 podjednotek)
- hlavní dráha pro **specifickou** degradaci proteinů
- odstranění proteinů konjugovaných s **Lys48** ubikvitinovým řetězcem
- rozeznáván je řetězec **4 a více ubikvitinů**

- **skládá ze 2 subkomplexů:**

- **20S centrální subkomplex**

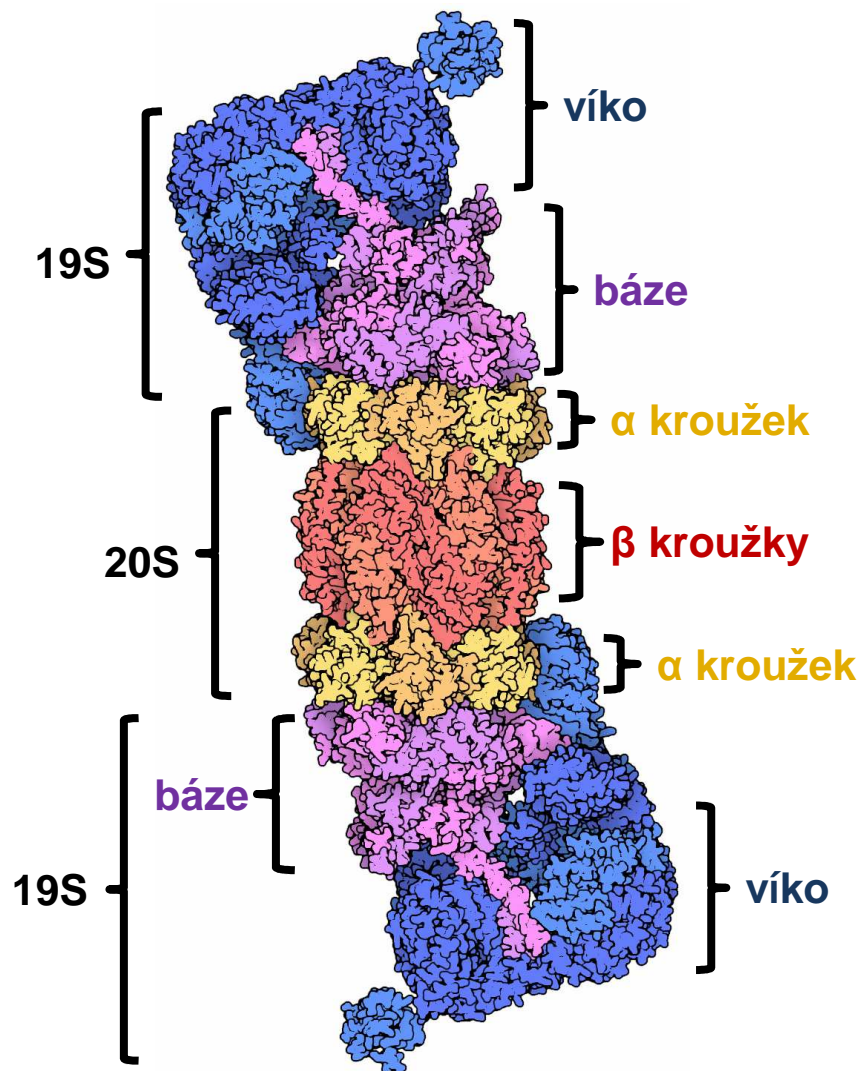
- tvar soudku s katalytickým místem uvnitř
 - Tvořen 4 kroužky ze 7 podjednotek v uspořádání $\alpha_7\beta_7\beta_7\alpha_7$
 - proteolytické pouze $\beta_{1,2}$ a 5



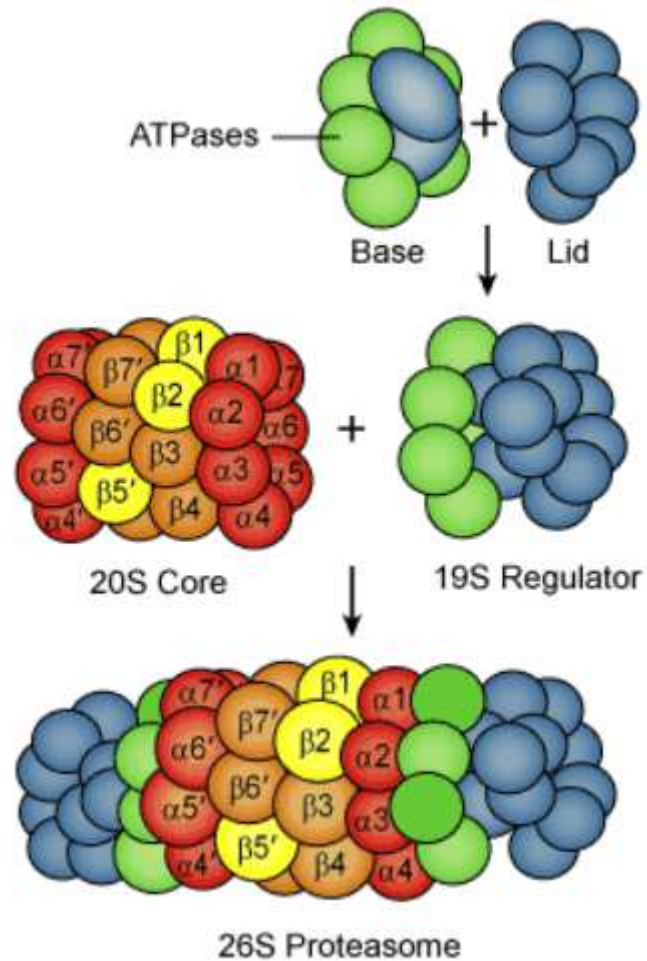
- **19S regulační subkomplex**

- skládá se z nejméně 18 podjednotek, které tvoří víko a základnu (bázi)
 - báze – hexamer ATPáz → rozmotávání 3D struktury peptidu za spotřeby ATP
 - víko – váže a odštěpuje ubikvitin z proteinu

Architektura 26S Proteasomu



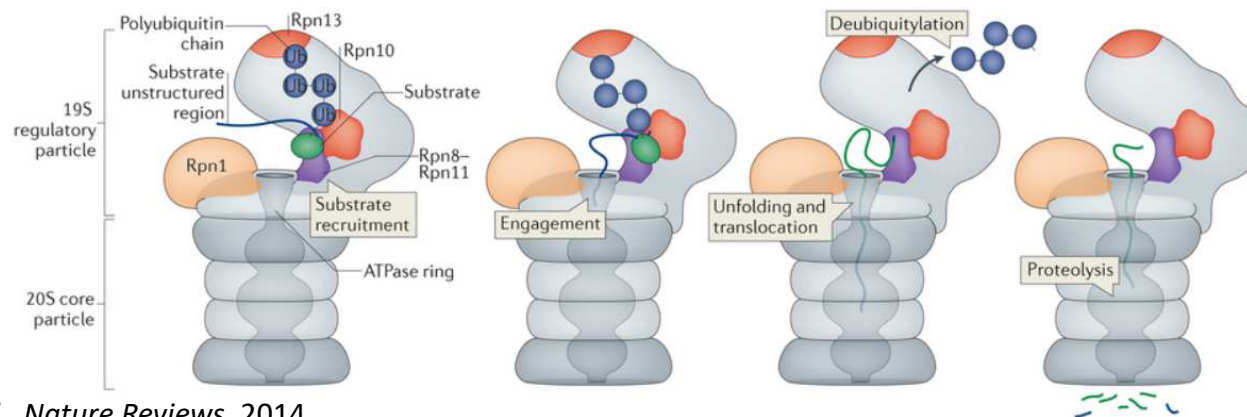
<http://pdb101.rcsb.org/motm/166>



<http://www.bostonbiochem.com/products/proteasome>

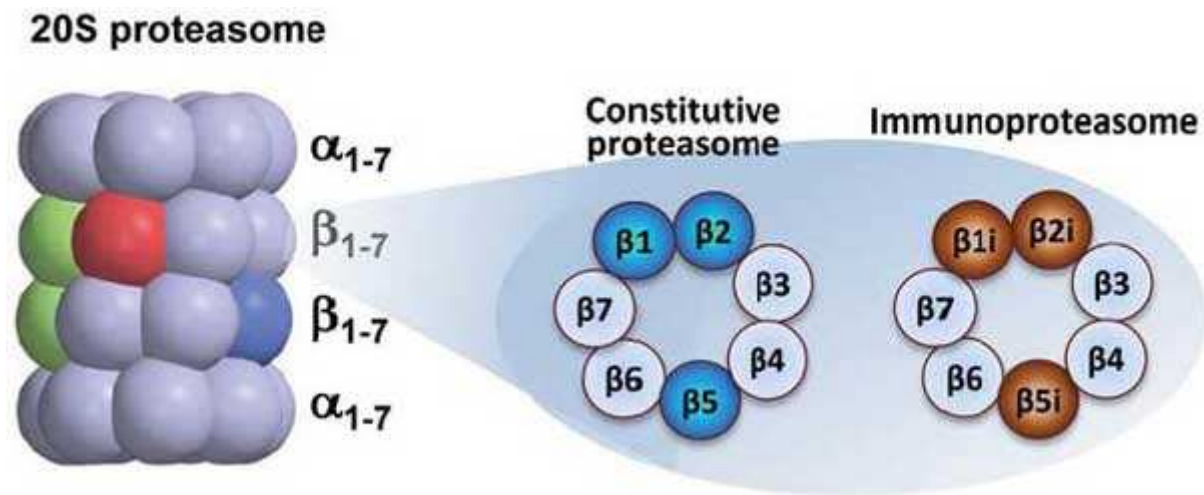
Průběh Degradace

1. protein určený k degradaci je označen **K48** typem ubikvitinace
2. ubikvitinový **K48** řetězec je rozeznán **proteasomem 26S**
 - jsou rozeznávány řetězce o délce **4 a více** ubikvitinů
3. **ATPasy** v 19S podjednotce postupně **rozruší prostorové uspořádání** proteinu
4. (částečně) linearizovaný protein **vstupuje do 20S** podjednotky
5. celkem 6 míst s proteolytickou aktivitou **štěpí protein**
 - specifické štěpení za hydrofobní, kyselou a bazickou aminokyselinou
 - v aktivním místě obsahují Thr (nukleofilní atak)
6. **vznikají** nejčastěji 7-9 aminokyselin dlouhé **peptidy**, které jsou po uvolnění dále štěpeny v cytosolu na jednotlivé **aminokyseliny**
7. ubikvitin je před vstupem do 20S **odštěpován a recyklován**



Imunoproteasom

- **speciální typ** proteasomu – odlišný typ proteolytických 20S β podjednotek
- výsledkem štěpení jsou delší **peptidy** vhodné pro imunitní odpověď
- peptidy jsou prezentovány na povrchu buňky vázané v rámci MHC třídy I (major histocompatibility complex)
- MHC I jsou rozpoznávány cytotoxickými T-lymfocyty



Miller et al., *Current Cancer Drug Targets*, 2016

- 11S podjednotka – vazba místo 19S podjednotky (víko)
 - navození konformační změny

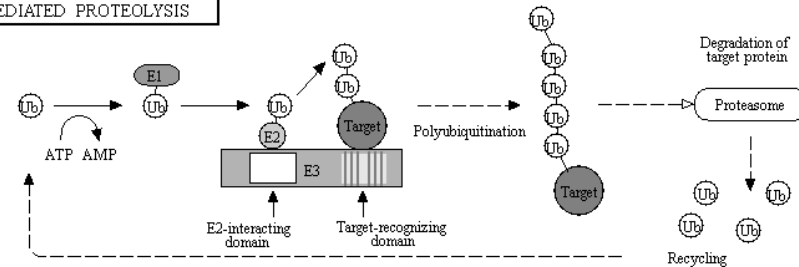
Nemoci Spojené s Proteasomem

- Parkinsonova choroba
 - 1. **juvenilní typ**
 - autosomálně recesivní forma Parkinsonovy choroby
 - mutace v genu *PARK2* vede k neaktivní formě parkinu (součást E3) → nedochází k degradaci cílových substrátů proteasomem
 - kumulace těchto proteinů vede k apoptóze neuronů syntetizujících dopamin
 - 2. **spojená s Lewyho tělísky**
 - autosomálně dominantní forma PC
 - mutace / multiplikace genu *SNCA* pro α -synuclein → nesprávná degradace / zvýšená koncentrace vede k inhibici 26S proteasomu
 - Lewyho tělíska – shluky konjugovaného α -synucleinu uvnitř neuronů
- Lewy Body Dementia
 - podobné PC, postiženy jsou neurony produkující acetylcholin

Přehled K48 Ubikvitinace

- degradace proteinů pomocí konjugace s ubikvitinem u člověka

UBIQUITIN MEDIATED PROTEOLYSIS



E1
(Ubiquitin-activating enzyme)

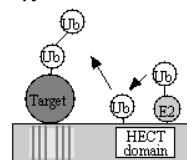
UBE1	UBLE1A	UBLE1B	UBE1C
------	--------	--------	-------

E2
(Ubiquitin-conjugating enzyme)

UBE2A	UBE2B	UBE2C	UBE2D	UBE2E	UBE2F	UBE2G1	UBE2G2	UBE2H
UBE2I	UBE2J1	UBE2J2	UBE2L3	UBE2L6	UBE2M	UBE2N	UBE2O	
UBE2Q	UBE2R	UBE2S	UBE2U	UBE2W	UBE2Z	HIP2	APC11CN	

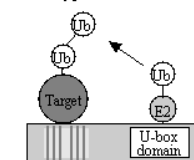
E3
(Ubiquitin ligase)

HECT type E3



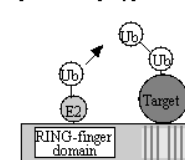
E6AP	UBE3B	UBE3C	Smurf	Itch
WWP1	WWP2	TRIP12	NEDD4	ARF-BP1
EDD1	HERC1	HERC2	HERC3	HERC4

U-box type E3



UBE4A	UBE4B	CHIP
CYC4	PRP19	UIP5

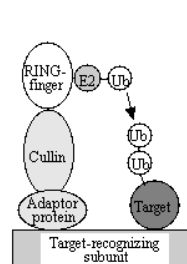
single RING-finger type E3



Mdm2	CBL	Parkin	SHAH-1	PML	TRAF6	MEKK1
COP1	PIRH2	clAPs	PIAS	SYVN	NHLRC1	AIRE
MGRN1	BRCA1	FANCL	MID1	Trim32	Trim37	

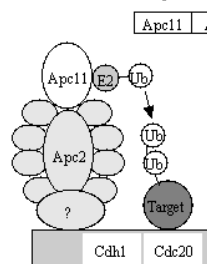
multi subunit RING-finger type E3

Cullin-Rbx E3



	RING finger	Cullin	Adaptor protein	Target recognizing subunit
SCF complex	RBX1	Cul1	Skp1	F-box
ECV complex	RBX1	Cul2	EloB EloC	VHLbox
Cul3 complex	RBX1	Cul3		BTB
Cul4 complex	RBX1	Cul4	DDB1	DCAF
ECS complex	RBX2	Cul5	EloB EloC	SOCSbox
Cul7 complex	RBX1	Cul7	Skp1	F-boxw8

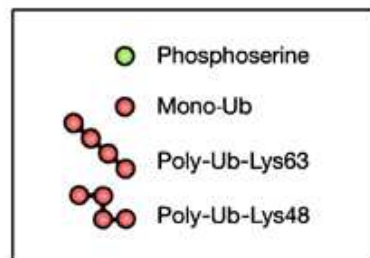
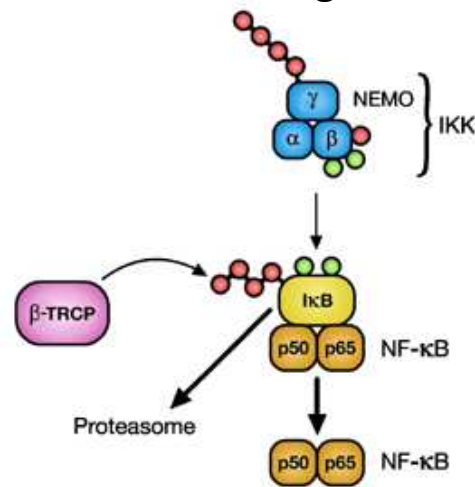
APC/C



	RING finger	Cullin	Adaptor protein	Target recognizing subunit	Other subunits
APC/C	Apc11	Apc2	?	Cdc20	Apc1 Apc3 Apc4 Apc5 Apc6 Apc7 Apc8 Apc9 Apc10 Apc12 Apc13
				Cdh1	
				Cdh1	Cdc20

Ubikvitinace K63

- nevedou nutně k degradaci proteinu
- **NF-κB** (nuclear factor kappa-B)
 - regulace odpovědi na buněčný stres, podíl na produkci imunoglobulinů
 - velmi konzervovaná signalizační dráha

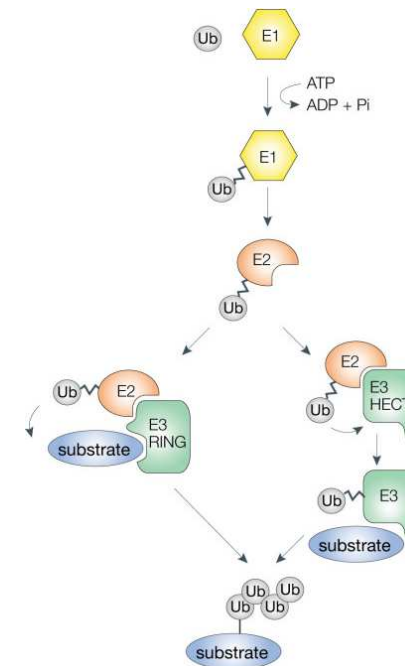


- **NF-κB** se skládá z podjednotek p50, p65 a inhibiční **IκB**
1. IκB kinasa (**IKK**) je **ubikvitinována K63** řetězcem
 2. na ubikvitin nasedá kinasa a **fosforyluje β** podjednotku **IKK**
 3. **fosforylovaná β IKK** je **monoubikvitována**
 4. tím dochází k aktivaci **IKK** a **fosforylaci IκB**
 5. **fosforylovaná IκB** je **ubikvitinována K48** řetězcem a degradována v proteasomu
 6. **NF-κB** se váže na promotory pro RNA polymerasu a pomáhá indukovat transkripci
 7. **IκB** je rovněž indukována, což vede k následné inhibici **NF-κB**
- *zajímavost:* HIV nese ve své sekvenci místa pro nasedání NF-κB

SUMO

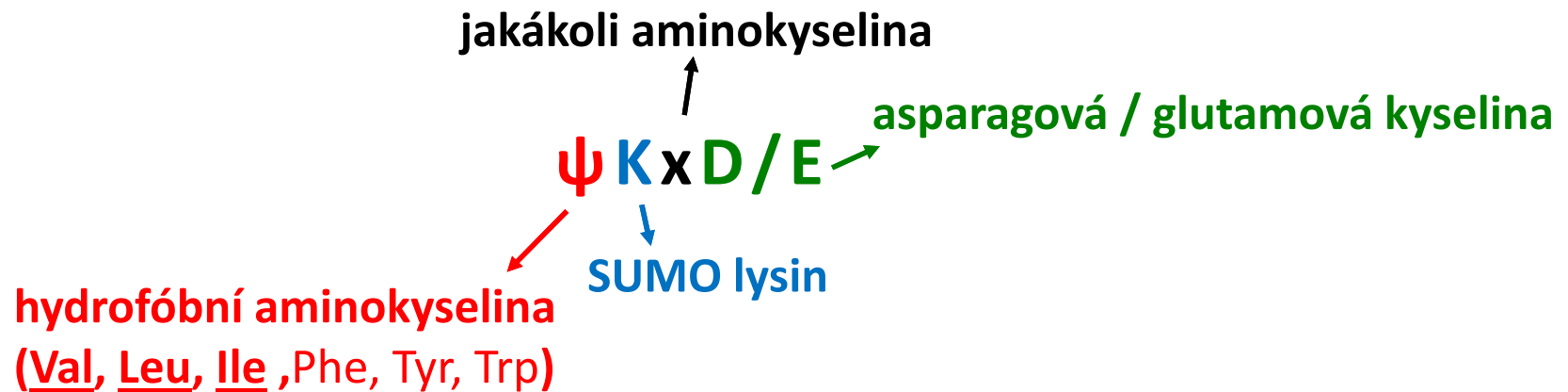
- **small ubiquitin-like modifier**
- malý protein (12 kDa, 100 aminokyselin), u člověka **4 varianty** – SUMO-1,2,3,4
- SUMO-1 **netvoří řetězce** a konjuguje s proteiny za **fyziologických** podmínek
- SUMO-2,3 konjuguje za **stresových** podmínek
- SUMO-2,3 sekvenčně podobné, SUMO-4 téměř výhradně v ledvinách
- **průběh** sumoylace je **podobný ubikvitinaci** (E1 → E2 → E3 → protein)

Protein family	Yeast (<i>S. cerevisiae</i>)	Mammals
SUMO E1 (activating enzyme)	Aos1	SAE1
	Uba2	SAE2
SUMO E2 (conjugating enzyme)	Ubc9	Ubc9
SUMO E3 (ligase)	Siz1	PIAS1
	Siz2	PIAS3
	Mms21	Mms21
		PIAS α
		PIAS β
		PIAS γ
		RanBP2
		...



SUMO

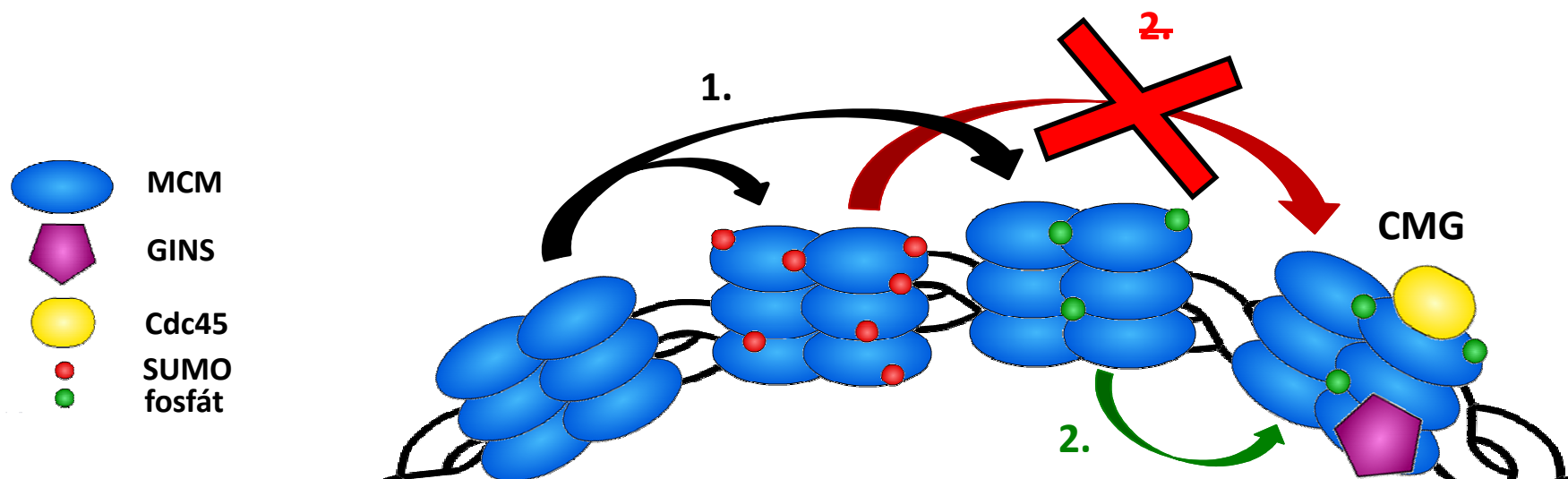
- konsenzuální sekvence pro SUMO-2,3



- SUMO interaguje se SIM (SUMO-interacting motif)
 - SIM je méně konzervovaný – 3-4 hydrofobní aminokyseliny následuje blízká, záporně nabitá oblast (Asp, Glu; fosforylovaný Ser, Thr)
- SUMO může stericky bránit interakci, působit jako interakční povrch, působit jako induktor interakce

Sumoylace Komplexu MCM

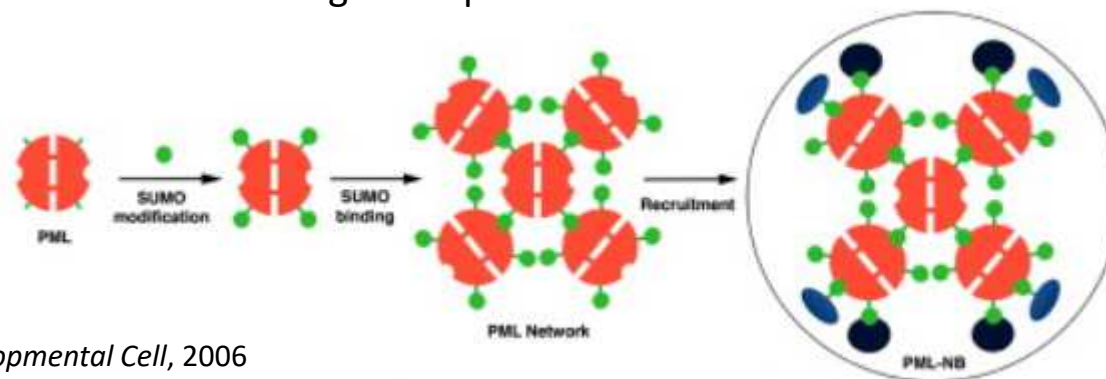
- **MCM** (minichromosome maintenance complex) - podjednotky Mcm2-7
 - součástí helikasového podkomplexu, který je součástí replisomu
- **MCM** nasedá na **DNA** (na „počátek replikace“) → dochází k **fosforylaci** Mcm4 → vazba dalších 2 kofaktorů **Cdc45** a **GIN5** a vznik CMG replisomové helikasy
- po nasednutí DNA může být **MCM sumoylován** → nedochází k **fosforylaci** → ochrana před předčasným rozplétáním **DNA**
- **desumoylací MCM** může dojít k **fosforylaci** a sestavení **CMG**



Sumoylace PML jaderných tělísek

- **jaderná tělíška** – malé kruhové útvary v jádře buněk
- důležité pro regulaci transkripce, senescence, virové odpovědi, reakce na stres
- **PML** (promyelocytic leukemia) protein – obsahuje **SIM** motiv a **SUMO** lysiny
- PML protein tvoří homodimer, který **agreguje sumoylací** a interakcí se SIM
- tato síť následně skrze SIM interaguje s další řadou proteinů

- **akutní promyeloidní leukémie**
 - zapříčiněna z 98 % fúzí PML-RARA (retinoic acid receptor alpha)
 - léčba As_2O_3 – arsen indukuje tvorbu disulfidických můstků a zesíťování PML-RARA
 - SUMO dependentní ubikvitin ligasa rozezná sumoylace jako signál k degradaci
 - dochází k ubikvitinaci a degradaci proteasomem



Srovnání SUMO a Ubikvitinu

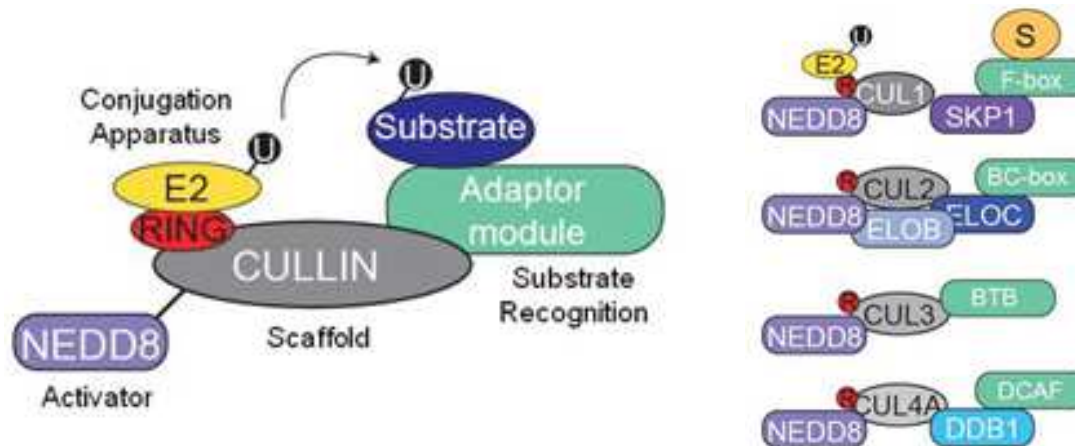
- proteiny mohou být modifikovány SUMO nebo ubikvitinem, případně obojím
- připojení SUMO a ubikvitinu má odlišný efekt
- SUMO může s ubikvitinem soutěžit o Lys

Protein	Function	Role of SUMOylation	Role of ubiquitination	Common lysine? ^a
IKB α	Signal transduction/ Inhibition of NF κ B	Stabilizes IKB α by competition with ubiquitin	Promotes proteasome-mediated degradation	yes
NEMO	Signal transduction/ IKK regulation	Promotes nuclear localization	Required for IKK activation	
γ PCNA	DNA replication and repair	Regulates DNA repair during replication	Monoubiquitination promotes translesion DNA repair; polyubiquitination promotes error free DNA repair	yes
PML	Tumor suppressor	Regulates subnuclear localization; required for integrity of nuclear bodies	Promotes proteasome-mediated degradation	
p53	Transcription factor/ tumor suppressor	Variable effects observed; reduces transcriptional activation in some contexts	Promotes proteasome-mediated degradation	
Glucocorticoid receptor (GR)	Transcription factor	Reduces transcriptional activation dependent on promoter context	Promotes proteasome-mediated degradation	
c-Myb	Transcription factor	Reduces transcriptional activation	Promotes proteasome-mediated degradation	
HDAC-1	Histone deacetylase/ transcriptional corepressor	Promotes deacetylase activity and transcriptional repression	Promotes proteasome-mediated degradation	

^aIndicates that competition by ubiquitin and SUMO for a common lysine in the substrate protein has been reported to impact activity.

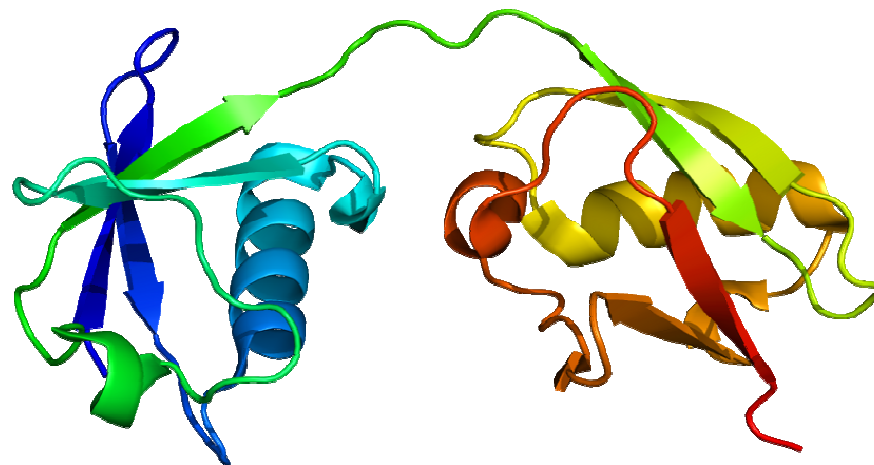
NEDD8

- **NEDD8** (Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 8)
- 81 aminokyselin, 9 kDa, 60 % sekvenční podobnost s ubikvitinem
- nezbytný pro většinu cullin RING E3 ligas
- váže se na cullinové jádro, čímž umožní interakci s E2
- neddylace probíhá téměř analogicky k ubikvitinaci – před konjugací dochází k maturaci NEDD8 odštěpením 5 aminokyselin od C-konce proteinu



ISG15

- **ISG15** (Interferon stimulated gene 15)
- 165 aminokyselin, 17 kDa, 2 domény, 29 a 31 % sekvenční podobnost s ubikvitinem
- přítomný pouze u vyšších eukaryot
- u člověka podobně jako NEDD8 přítomen v cytoplasmě v neaktivní formě, maturace odstraněním krátkého úseku na C-konci proteinu
 - například ryby mají pouze aktivní formu
- exprese indukována interferony, součástí dráhy odpovědi na virové infekce



PDB: 1Z2M

Ubikvitin D

- **Ubikvitin D (FAT10)**
- podobný **ISG15** – obsahuje 2 domény spojené linkerem
- **není** podrobně prozkoumaný
- společně s NUB1L (NEDD8 ultimate buster 1-long) je schopen vyvolat **degradaci** proteinu **v 26S proteasomu**
- pravděpodobně funguje v opozici k neddylaci

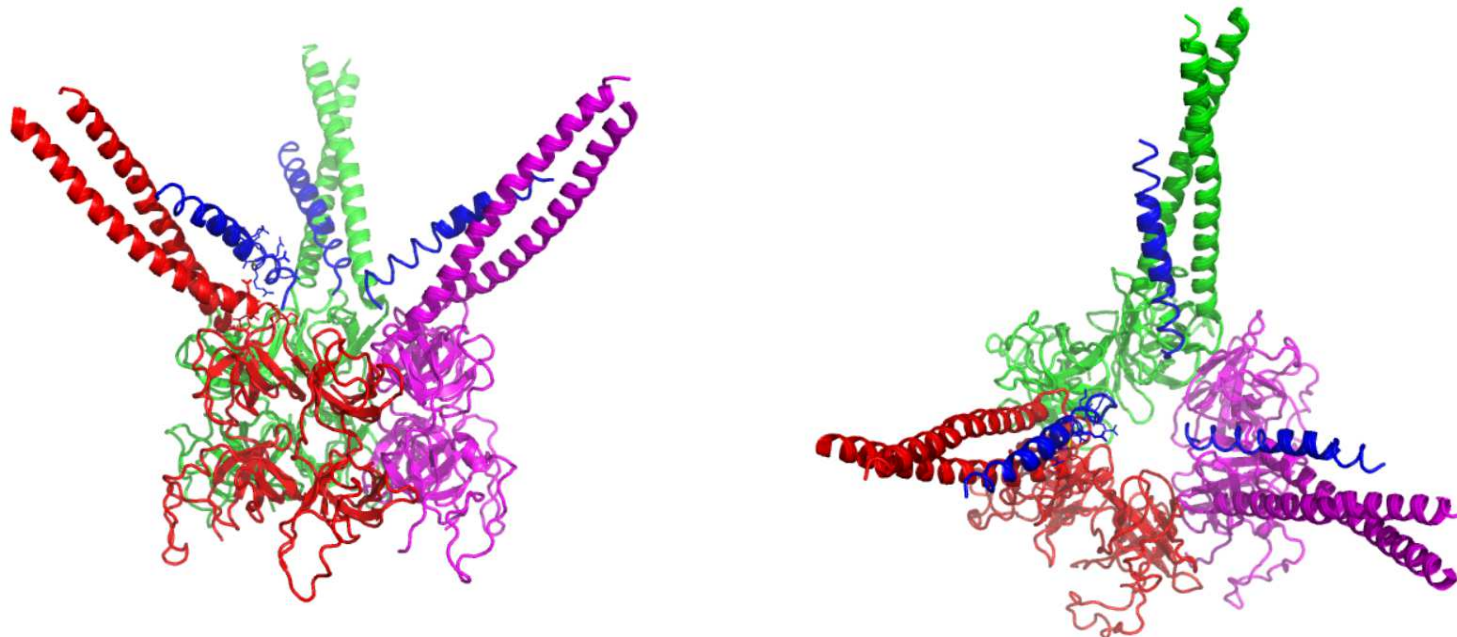
- **HIVAN** (HIV-associated nephropathy)
- jedna z **nejčastějších** příčin úmrtí HIV pozitivních pacientů
- HIV **Vpr** protein **indukuje** expresi **FAT10** v renálních buňkách a způsobuje **deregulaci buněčného cyklu** a **apoptosu**
- navíc Vpr interaguje s FAT10 a je kolokalizován v mitochondriích
- inhibice FAT10 brání Vpr indukované apoptose



Pup



- **Pup** – „prokaryotický ubikvitin“
- produkt *PUP* genu u bakterií kmene **aktinomyceta** (aktinobakterie)
 - nejběžnější zástupce v půdě, zahrnuje mnoho patogenů (*Mycobacterium leprae*, tuberculosis)
- 60 - 70 aminokyselin, 7 kDa, **nesdílí** sekvenční ani strukturní motiv s ubikvitinem
- **nemá** konzervovaný motiv, C-konec vykazuje sekvenční homologii
- spíše **rozvolněný, hydrofobní interakce u C-konce** mohou vytvářet šroubovice



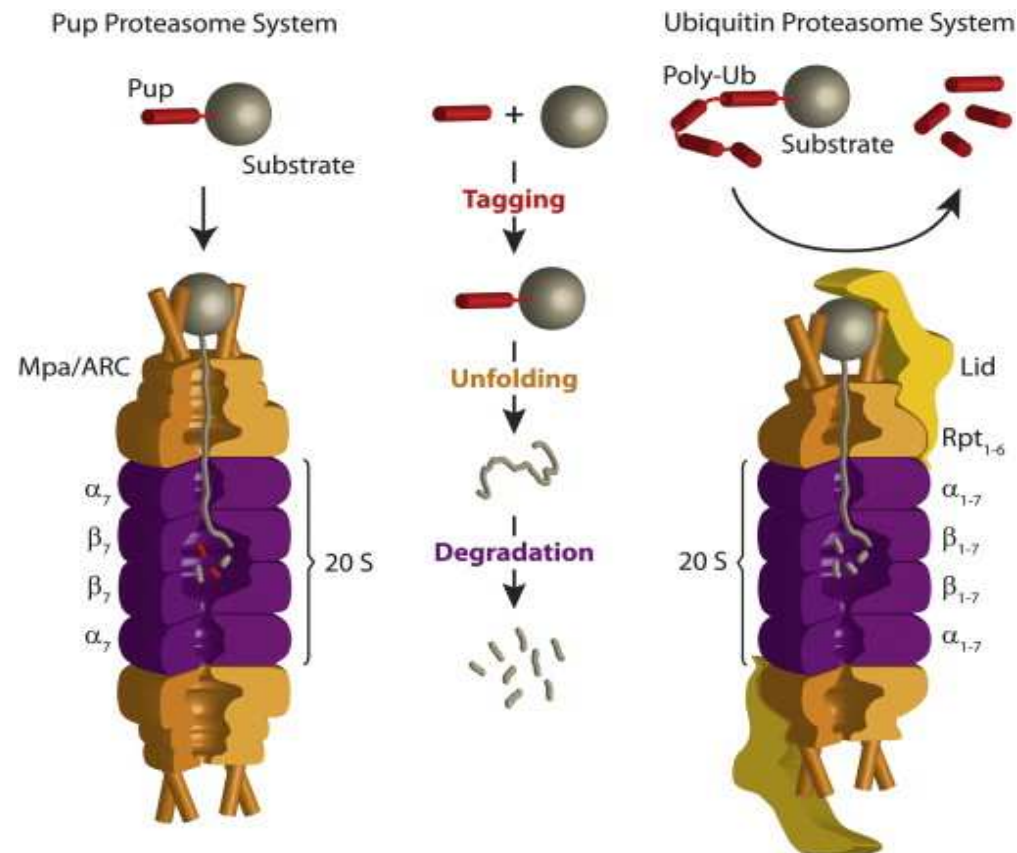
PDB: 3M9D



Pup



- **pupylace** – připojení **Pup** proteinu na lysin cílového proteinu
- pupylovaný protein je následně **degradován** prokaryotickým proteasomem
- pouze 1 pupylační enzym PufA a 1 depupylační Dop
- tato dráha **není esenciální** – úloha a vznik proteasomu v bakteriích?



Co si pamatuji z přednášky?

- Co je to ubikvitin?
- Jaký je rozdíl mezi pojmy ubikvitin a ubikviton?
- Jak probíhá ubikvitinace?
- Co se může dít s proteinem po ubikvitinaci?
- Jsou nějaké proteiny podobné ubikvitinu?
- Existuje ubikvitin nebo ubikvitinu podobny protein u prokaryot?