

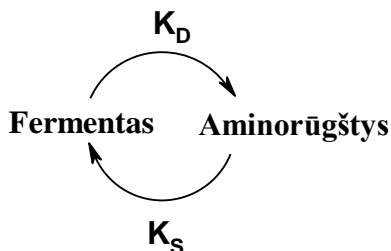
## ENZIMOLOGIJA

### FERMENTŲ KIEKIO LĄSTELĖJE REGULIACIJA

Grįžtamo ryšio represija yra toks neigiamo grįžtamo ryšio kontrolės atvejis, kai tam tikras metabolitas gali reguliuoti fermento kiekį ląstelėje, keisdamas jo sintezės greitį. Fermentai, kurių sintezės greitis ląstelėje pastovus, nepriklauso nuo aplinkos sąlygų, vadinami **konstitutyviais (house keeping)**. **Indukuojamų** arba **adaptyvių** fermentų sintezės greitis kinta priklausomai nuo sąlygų. Jų sintezės reguliacija vyksta genetiniame lygmenyje, veikiant induktoriams (aktyvikliams), kuriais gali būti atitinkami substratai ar metabolitai, taip pat hormonai. Tam tikras fermentas gali būti konstitutyviu vienoje ląstelėje ir indukuojamu - kitose.

#### FERMENTŲ APYVARTA (Enzyme turnover).

Kaip bet kurios kitos medžiagos, taip ir fermentų koncentracija ląstelėje tam tikru laiko momentu yra sąlygota jų sintezės ir degradacijos greičių dinaminės pusiausvyros. Fermentų sintezės ir skaidymo vyksmai kartu sudaro *fermentų apyvartą*, kuri vyksta visuose gyvuose organizmuose. Žmogaus organizme dietologinių tyrimų būdu fermentų apyvarta nustatyta maždaug prieš 100 metų. Absolūtus fermento kiekis lemiamas jo sintezės greičio  $K_S$  ir degradacijos greičio  $K_D$ :



Fermento kiekis gali didėti dėl  $K_S$  didėjimo, dėl  $K_D$  mažėjimo (arba dėl abiejų kartu), ir atvirkščiai. Visoms gyvybės formoms bendra tai, jog baltymų sintezę ir skaidymą vykdo skirtingos fermentinės sistemos, reguliuojamos nepriklausomai viena nuo kitos. Baltymų sintezės reguliacija iširta gerai, skaidymo fermentinėmis sistemomis susidomėta gerokai vėliau. Šiuo metu aišku, kad nuo skaidymo procesų fermentų kiekis ląstelėje priklauso ne mažiau, nei nuo jų sintezės.

#### Fermentų sintezės valdymas

Fermentų sintezė gali būti valdoma pačiais įvairiausiasiais etapais:

1. Transkripcijos lygmenyje - transkripcijos iniciacijos metu T/I - ši fazė lemia ar bus transkribuojamas tam tikras genas, o jei bus, tai koku dažniu;
2. Posttranskripcinių procesų (RNR brendimas, pernaša, skaidymas) lygmenyje - lemia pirminio RNR transkripto virtimo į transliuojamos iRNR kelią ir greitį;
3. Transliacijos lygmenyje - ar tam tikra iRNR bus transliuojama, koku dažniu ir kurį laiką;
4. Posttransliacinių procesų metu (posttransliacinis brendimas, eisimas, natyvos konformacijos įgavimas (šaperonai), stabilumą užtikrinančios modifikacijos).

Aprašyti retesni papildomos genetinės reguliacijos mechanizmai, veikiantys tik kai kuriose ląstelėse:

- 1) atranki genų amplifikacija - kuomet tam tikra genomo dalis specifiskai padauginama, didinant konkrečių genų rinkinių kopijų skaičių - tuo būdu didinama šių genų ekspresija.

Pvz., globino genų skaičius eritroidinėse ląstelėse, varliagyvių ovocitų ribosominės RNR genai, drosofilos choriono (kiaušinėlio apvalkalo) baltymai.

2) DNR sekų persitvarkymai (antikūnių gamybos metu).

### FERMENTŲ SINTEZĖS INDUKCIJA ir REPRESIJA

Genų ekspresija gali būti reguliuojama įvairiuose lygmenyse, tačiau pagrindinė reguliacija vyksta T/I etape. Papildomai T/I reguliuojama aktyvinančių ar represuojančių baltymų. Tokio pobūdžio reguliacija labai detalai ištirta *E.coli lac operono* veiklai. Šis operonas koduoja laktozės metabolizmo fermentus -  $\beta$ -galaktozidazę, laktozės permeazę ir tiogalaktozidtrans-acetilazę. Kai *E. coli* augimo terpėje yra Glu, laktozės metabolizmo fermentų lygis labai žemas. Lac operono ekspresija pasireiškia tik bakterijas perkėlus į terpę, kurioje yra laktozės, tačiau nėra Glu - tada trijų minėtų fermentų aktyvumas per kelias minutes atsiranda citoplazmoje, o per 15 min jų aktyvumas padidėja iki 1000 k. - tai susiję su naujų fermentų molekulių sinteze. Jei į terpę pridedama Glu, per kelias minutes lac operono veikimas sustabdomas.

Šis pavyzdys iliustruoja bendrą bakterinių ląstelių sugebėjimą sintezuoti savitus fermentus, citoplazmoje atsiradus mažo molekulinio svorio medžiagoms, vadinamoms **induktoriais**. Nesant induktoriaus, paprastai indukuojamų fermentų koncentracija ląstelėje labai žema (bazinė koncentracija). Daugelis induktorių yra fermentų substratai (nors ne visi substratai gali būti induktoriais). Tačiau induktoriais kartais gali būti ir substratų analogai, kurie patys nėra fermentų veikiami - tokie induktoriai vadinami **neapmokamais induktoriais** (gratuitous). Lac operono neapmokamas induktorius yra izopropil- $\beta$ -D-tiogalaktozė. Neapmokami induktoriai naudojami genų ekspresijos tyrimams. Ląstelių atsako į induktorių laipsnis yra individualus, lemiamas genetinių faktorių, o fermentų kiekis induktorių poveikyje gali kisti nuo 2 iki 1000 kartų. Indukcija būdinga ir eukariotams (indukuojamų fermentų pavyzdžiai: Trp pirolazė, Thre dehidratazė, Tyr: $\alpha$ -ketoglutarato transaminazė, invertazė, ureos ciklo fermentai, HMG-KoA reduktazė, citochromas P450), tačiau bakterijų yra nuodugniau ištirta.

Priešingas indukcijai reiškinys yra fermentų sintezės **represija**, kuri pasireiškia, kai metabolitai stabdo juos sintezuojančių fermentų sintezę. Maža molekulė, stabdanti savo sintezės fermentų transkripciją, vadinama **korepresorium arba represorium**. Pvz., *Salmonella tyhimurium* Hys priedas represuoja visų jo sintezės kelio fermentų sintezę. Tokia represija vadinama koordinuota produkto represija. Jeigu represoriaus koncentracijai sumažėjus, fermento sintezė vėl atsistato, toks reiškinys vadinamas **derepresija**, ji taip pat gali būti koordinuota arba ne. Kartais kataboliniuose keliuose represija pasireiškia taip, kad koks nors metabolitas stabdo kito metabolito apykaitoje dalyvaujančių fermentų sintezę (taip Glu stabdo lac operono transkripciją) - tai vadinama **katabolitine represija**. Šakotose sekose gali pasireikšti multikovalentinė represija, kai fermentų sintezė sustabdoma, tik kai visų išsišaojusios biosintetinės sekos galutinių produktų koncentracija tampa pakankamai didelė.

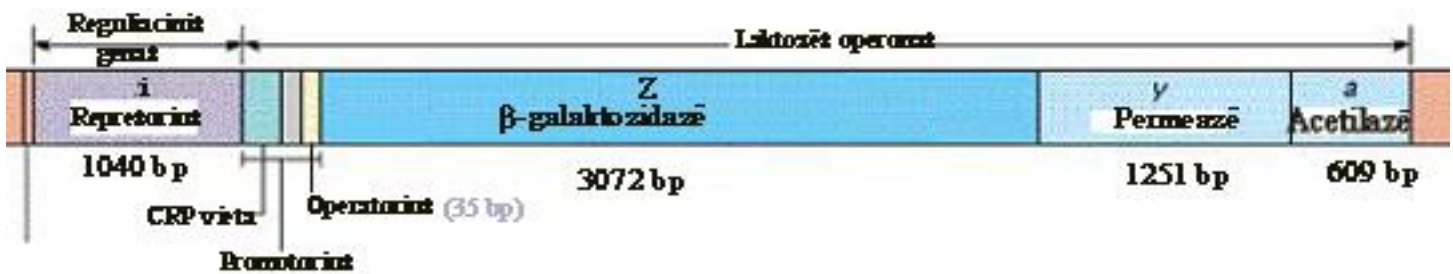
#### Lac operonas.

Už šio operono veikimo išaiškinimą F. Jacob ir J. Monod 1965 m. suteikta Nobelio premija

Vienaląsčių organizmų genetinė reguliacija nukreipta metabolizmo pritaikymui gyventi besikeičiančiose aplinkos sąlygose (pvz., keičiantis maisto šaltiniui). Bakterijose

transkripcijos vienetas gali būti sudarytas iš kelių genų (operonas). Transkripcija prasideda, RNR polimerazei susijungus su specifine operono seka, vadinama promotoriumi, kuris būna nutolęs per 10-35 bazių porų (bp) į priekį (-10 -35) nuo transkripcijos iniciacijos vietos. RNR polimerazę sudaro 5 subvienetai ( $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  ir  $\sigma^{70}$ ). Pirmiausia su dar neatsiskyrusiomis DNR grandimis jungiasi RNR polimerazės  $\sigma^{70}$  subvienetas. Po jo prisijungimo DNR grandys atsiskiria viena nuo kitos maždaug 12-13 bp apie transkripcijos pradžios tašką. Taip sudaromas “atviras kompleksas”. T/I dažnumas (kartais/min) vadinamas promotoriaus jėga. Jį lemia  $\sigma^{70}$  subvieneto giminingumas savitai promotoriaus sekai, “atviro komplekso” susiformavimo ir RNR polimerazės nuslinkimo tolyn nuo promotoriaus greičiai. Visi šie procesai lemiami promotoriaus sekos. *E.coli* būdingos ir kitos RNR polimerazės formos, vietoje  $\sigma^{70}$  turinčios kiek kitokio specifiškumo subvienetus -  $\sigma^{28}$ ,  $\sigma^{32}$ ,  $\sigma^{38}$ ,  $\sigma^{54}$ . Šių subvienetų atpažįstamos sekos gali būti labai nutolusios nuo +1 (vadinamųjų enhanserių srityse). Trūkstant maisto *Bac. subtilis* sintetina papildomus  $\sigma$  faktorius, atpažįstančius genus, kurie reikalingi sporos vystymuisi.

Be struktūrinių genų X, Y, Z, promotoriaus P ir operatoriaus O, lac operono veiklai svarbi reguliacinė seka I, kuri gali būti net kitoje DNR molekulėje. Nuo jos transkribuojamas iRNR produktas yra reguliacinis baltymas - represorius R.



Pav. 1. Lac operono schema

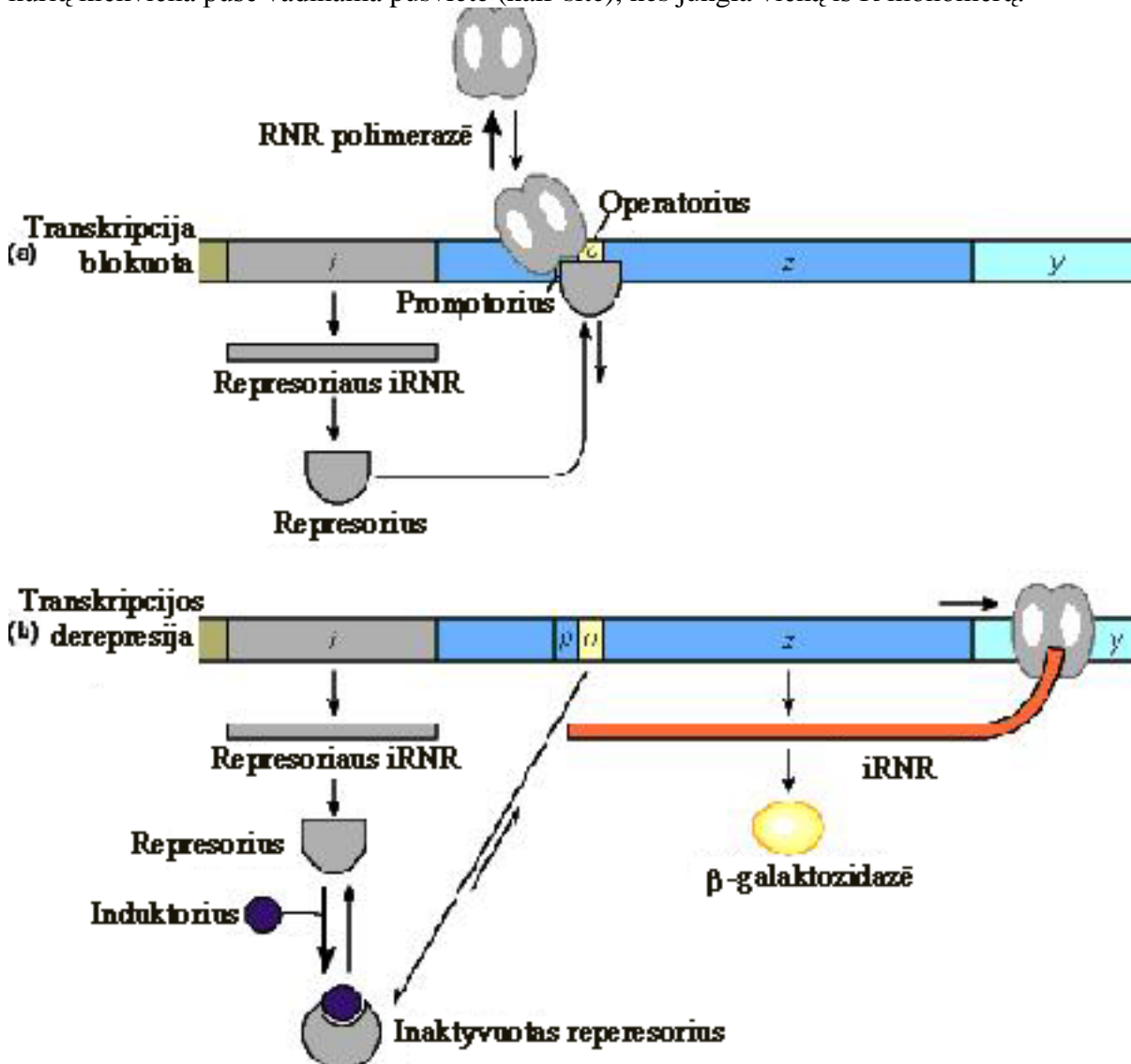
R gali tvirtai jungtis su O ir 1) erdviškai blokuoti RNR polimerazės susijungimą su O (inhibuoti atviro komplekso susidarymą) arba 2) stabdyti tolesnį RNR polimerazės judėjimą nuo P. Lac operono sritis, sudaryta iš O ir P, vadinama kontrolės sritimi. Šioje srityje yra trijų baltymų surišimo vietos - RNR polimerazės, lac represoriaus ir CAP baltymo (surišančio c-AMP). Transkripcijos pradžios vieta žymima +1.

Promotoriaus jėgą priklauso nuo:

- 1) tam tikrų promotoriaus sekų (-10 -35 srityje) giminingumas RNR polimerazės  $\sigma^{70}$  subvienetui. Nors RNR polimerazės specifiškumas platus (ji atpažįsta labai įvairių promotorių sekas), net vienos nukleotidų poros pakeitimas gali žymiai atsiliiepti iniciacijos dažniui (jį didinti ar mažinti). Taip pat susirišimą keičia  $\sigma^{70}$  subvieneto mutacijos. Izoliuotas  $\sigma^{70}$  subvienetas negali rištis su P - tam trukdo jo laisvas N-galas, kuris RNR polimerazėje panaudojamas sąveikai su kitais subvienetais. PO to, kai RNR polimerazė transkribuoja apie 10 nukleotidų porų,  $\sigma^{70}$  subvienetas atpalaiduojamas. Jis yra tik iniciacijos (atpažinimo) faktorius, tolesnis jo susirišimas su RNR polimeraze elongacijai nereikalingas. Elongaciją toliau vykdo RNR polimerazės “šerdis” -  $2\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ .

- 2) Dar viena sąveika, svarbi transkripcijos greičiui, yra RNR polimerazės  $\alpha$  subvienetų susirišimas su P -40 -60 sritimi. Nustatyta, jog šiai sąveikai susilpnėjus mutacijų pasekoje transkripcijos greitis labai sumažėja.

**Baltymai - represoriai.** Daugelis represorių R yra dimeriniai baltymai, gebantys tvirtai rištis su tam tikra nukleotidų seka O srityje. Daugelis O sričių yra inversinės sekos, kurių kiekviena pusė vadinama pusviete (half-site), nes jungia vieną iš R monomerų.



Pav. 2. Lac-operono represoriaus veikimas

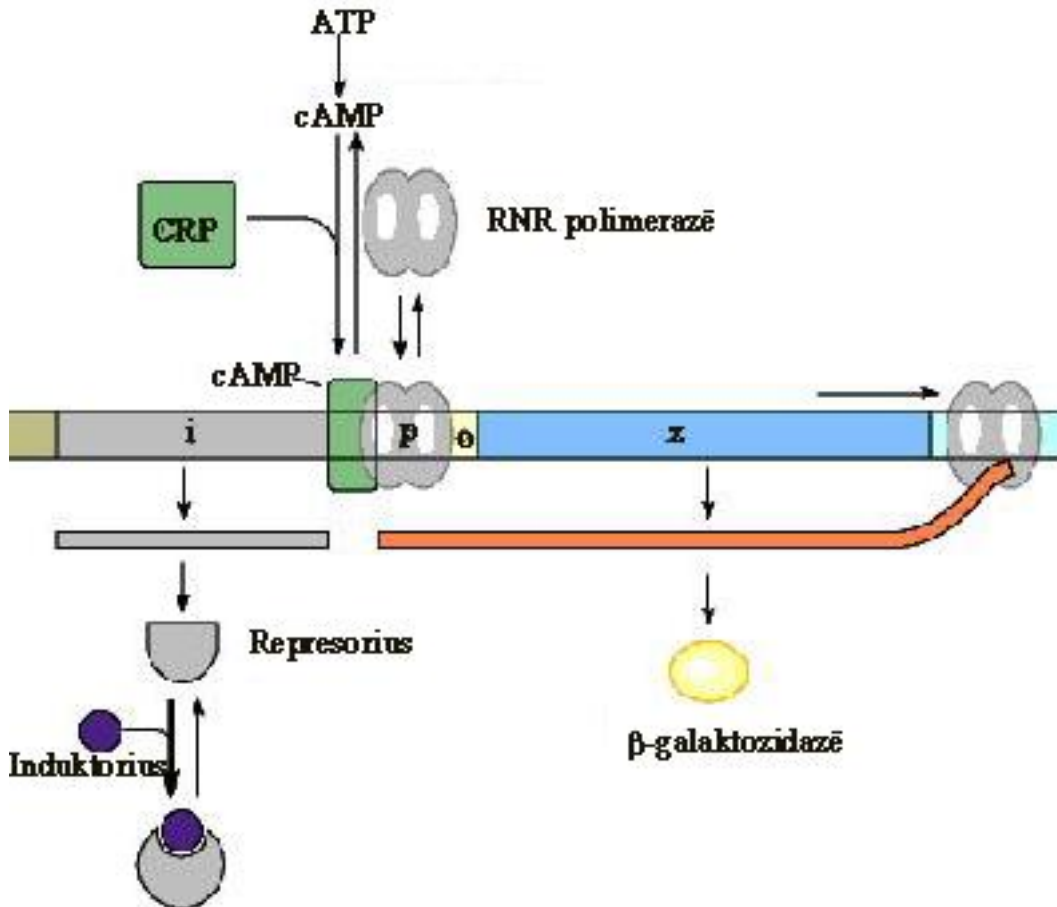
Kiekviename R subviename yra savita struktūra – “atpažinimo” arba “sekos skaitymo” spiralė (t.y.  $\alpha$ -spiralė). Jei monomerai asocijuoti į dimerą, atstumai tarp jų “atpažinimo” spiralių tiksliai atitinka atstumą tarp dviejų didžiųjų DNR griovelių O srityje. “Atpažinimo” spiralės specifiskai rišasi su tais grioveliais. Galimos papildomos sąveikos tarp R ir mažųjų griovelių, be to, R molekulės gale esantis struktūrinis elementas spiralė-lankos-spiralė papildomai sustiprina O-R susirišimą hidrofobinės sąveikos pagalba. Kartu visos sąveikos užtikrina labai

tvirtą O ir R susirišimą (Kd apie  $10^{-8}$  -  $10^{-11}$  M). O sekos mutacijos sumažina represoriaus giminingumą O ir todėl gali sąlygoti konstitutyvią operono ekspresiją. RNR polimerazės ir R susirišimo su DNR vietos persikloja O srityje -5 +20, todėl R trukdo normaliai transkripcijos eigai.

Be operono, R būdingas sugebėjimas tvirtai rištis su mažos M induktoriais bei jų analogais. Taip lac represorius aukštu giminingumu rišasi su laktoze. Induktoriaus susirišimas su R sukelia alosterinį R konformacijos pokytį, dėl kurio R giminingumas O labai sumažėja. Lac operono atveju toks R susirišimas su laktoze sąlygoja R atsiskyrimą nuo O ir operono indukciją. Galimi ir kitokie atvejai - Trp represorius rišasi su O tik kuomet jis surištas su Trp (šiuo atveju Trp sąlygoja operono represiją). Nustatyta, kad Trp prisijungimas prie R sukelia 8 Å dydžio atitolimą tarp atpažinimo spiralių ir tokia konformacija tiksliai atitinka atstumą tarp DNR griovelių O srityje, todėl įvyksta R susirišimas.

### Teigiama lac operono kontrolė c-AMP-CAP baltymu.

Tam tikras genetinis mechanizmas sąlygoja Glu, kaip substrato pirmenybę kitų substratų atžvilgiu *E. coli* bakterijose. Jokie kiti cukrai nenaudojami, kol terpėje yra Glu, nes jų metabolizme dalyvaujančių fermentų ekspresija vyksta, tik pilnai sunaudojus Glu. Buvo manoma, kad kažkoks Glu tarpinės apykaitos produktas yra šių fermentų sintezės represorius, todėl šis reiškinys įgavo katabolinės represijos pavadinimą. Vėliau buvo išaiškintas jo mechanizmas. Pasirodo, jog išsekus Glu (kai *E.coli*) pradeda badauti, ląstelės citoplazmoje pasirodo c-AMP (pav. 3).



Pav. 3. Teigiama lac-operono reguliacija c-AMP

Tai yra bakterijų “Glu badavimo” simptomas. Pastebėta, kad c-AMP analogų priedai sukelia daugelio operonų (lac-, maltozės, arabinozės) ekspresiją, net kuomet yra Glu perteklius. C-AMP poveikiui tarpininkauja **catabolite activator protein** (CAP) baltymas, dar vadinamas c-AMP receptoriumi (CRP, žr. pav. 3). Šis baltymas jungiasi su c-AMP. Jų komplekso susijungimas su P sritimi būtinas lac-operono ekspresijai. CAP jungimo vietos yra prieš RNR polimerazės jungimo vietą ir jų mutacijos sukelia ryškų lac-operono ekspresijos mažėjimą.

Panagrinėkime keletą galimų substratų buvimo *E. coli* maitinimo terpėje situacijų:

1. +Glu -lact: lac iRNR nesusidaro dėl neigiamos lac represoriaus kontrolės.
2. + Glu +lact: R pašalinamas nuo O, tačiau c-AMP lygis žemas, todėl c-AMP-CAP nesusijungęs su P.
3. -Glu+lact: sąlygoja maksimalią lac-operono transkripciją, nes R nesujungtas su O, o c-AMP-CAP sujungimas gerina RNR polimerazės jungimąsi su P.

Kaip daugelis bakterijų R, CAP yra dimeras su dviem atpažinimo spiralėm, tačiau jis vienas nesijungia su P stipriai. c-AMP-CAP kompleksas turi jungimosi su P ir jungimosi su RNR polimerazės  $\alpha$  subvienetu centrus (šių centrų mutacijos ryškiai sumažina CAP efektyvumą). RNR polimerazės ir c-AMP-CAP kompleksas susijungimas su P yra kooperatyvus - vieno iš šių baltymų sujungimas labai padidina kito jungimą. Skirtingai nuo kitų žinomų bakterijų represorių, c-AMP-CAP labai keičia DNR molekulės struktūrą - ją išlenkia apie save. RNR-polimerazė ir c-AMP-CAP labai nežymiai vienas su kitu sąveikauja, kai nėra DNR. Tačiau kai yra visi trys komplekso komponentai, jų sąveika daug kartų stipresnė. Tai stabilizuoja RNR polimerazės susijungimą su P, atvirąjį kompleksą ir aktyvina visų kitų etapų vyksmą.

Lac-operono reguliacijos bendrieji bruožai pasireiškia daugelyje P. Ištyrus didelį kiekį P, išryškėja kiekvienam P būdingos specifinės detalės. Pvz., Gal operono aktyvatorius c-AMP-CAP su RNR polimeraze jungiasi visai kitoje jos vietoje, nei lac-operono atveju. Kai kurie R gali veikti keletą skirtingų operonų. Pvz., Trp represorius Trp operono ekspresija slopina 70 k., aroH (aromatinių aminorūgščių) - 2 k., o Trp R (savo paties geną) - 3 kartus. Tokie koordinuoti reguliuojami operonai sudaro **reguloną**. To paties R efektyvumo įvairiems operonams skirtumus gali lemti tų operonų sekų skirtingas giminingumas R (nei vieno iš minėtų 3 operonų sekų jungimasis su Trp R nėra optimalus) - tai gali užtikrinti norimo lygio represiją.

### **Eukariotų genetinė reguliacija**

Vienaląsčių eukariotų (mielės) genų ekspresija kontroliuojama, panašiai kaip prokariotų – kad užtikrinti prisitaikymą prie kintančios aplinkos. Daugialąsčių organizmų viduląstelinė terpė žymiai pastovesnė, todėl genų, atsakančių į aplinkos pokyčius, dalis mažesnė. Čia pagrindinis geninės kontrolės tikslas – ląstelių diferenciacijos, audinių vystymosi ir funkcionavimo užtikrinimas. Reikiami genai turi būti aktyvuojami tam tikru momentu kai kurių tipų ląstelėse, sudarančiose vieną organizmą. Vystymosi pokyčiai negrįžtami ir atitinka viso organizmo, o ne vienos ląstelės poreikius. Sudėtingesnių eukariotų išsivystymui būtinas apie 50000 genų savalaikis įsijungimas. Nors eukariotuose kontroliuojamos įvairios ekspresijos stadijos, labiausiai paplitusi kontrolės forma, kaip ir bakterijose, yra kontrolė transkripcijos (TK) iniciacijos stadijoje – ir būtent tokia kontrolė sąlygoja tai, kad vieni genai

transkribuojami vienose ląstelėse tačiau neveikia kitose. Baziniai reguliacijos principai panašūs į prokariotų, bet eukariotuose ji žymiai sudėtingesnė:

1) *Trijų tipų RNR polimerazės transkribuoja skirtingas RNR rūšis.* Jų struktūra sudėtingesnė – be šerđinių subvienetų, analogiškų E. coli  $\beta$ ,  $\beta'$  ir  $\lambda$  subvienetams, visi iš jų turi papildomus 10 – 13 subvienetų, iš jų 6 kartojasi visose pol. Visi subvienetai svarbūs normaliam funkcionavimui.

Pol I – branduolėlyje sintetina pre rRNR (procesingas – 28s, 18s ir 5.8s rRNR)

Pol II – visas iRNR (struktūrinius genus) + mažos RNR reikalingos splaisingui.

Pol II C- gale yra l. svarbi 7 a.r. pasikartojanti seka (CTD) – mielėse kartojasi 26 k., žinduoliuose – 52 k. greit augančiose ląstelėse šios sekos Ser ir Tyr fosforilinti.

Pol III – branduolėlio išorėje – 53 rRNR + tRNR + 1 maža RNR splaisingui + dar kelios neaiškios f-jos.

2) *Kontrolinių elementų įvairovė daug didesnė:*

a) “stipriuose” greit transkribuojamuose genuose yra labai konservatyvi seka - **TATA box** ( $\approx$  25 – 35 n nuo +1 augaluose ir gyvūnuose ir  $\approx$  100 n mielėse), kuri veikia kaip promotorius – nustato Pol II poziciją nuo kurios ji turi pradėti TK.

b) **Iniciatorius** – yra prieš pat +1 (-6 ÷ -3) – l. specifinė seka.

c) **GC turtingos sekos** genuose neturinčiuose griežtos iniciacijos vietos. jų TK produktai – įv. ilgio pre iRNR su alternatyviais 5' galais. Tokie genai transkribuojami labai lėtai. GC sekos yra apie 100 – 200 n prieš +1.

d) **Promotoriui artimi elementai (PPE)** (papildomos trumpos sekos) – jie turi būti l. arti +1, kitaip neveikia. Nuotolis tarp TATA ir PPE gali varijuoti iki tam tikros ribos.

e) **Didintojai (enhancers)** – sekos (g.b.  $> 1$ ) daug kartų stimuliuojančios TK g.b. l. nutolusios nuo +1 (pan į E. coli  $\sigma^{54}$ ). Jų buvimo tiksli vieta nėra svarbi – g.b. už ar prieš promotorių, struktūrinį geną, be stiprinimas nepriklauso nuo sekos orientacijos – gali būt invertuojamos be efektyvumo pokyčio. Didintojai specifiški – veikia tik tam tikrose ląstelėse – pvz. imunoglobulinų sintezės didintojai veikia tik baltymus limfocituose.

3) **Eu- iniciacijos kompleksas** l. sudėtingas apie 40 baltymų griežtai apibrėžta tvarka susirenka į kompleksą, kuris yra beveik ribosomos dydžio (75%), kurio masė apie 25 mln D. iniciacijos komplekso baltymai sąveikauja ir su reguliaciniais baltymais. Atviro komplekso susidarymui reikalinga ATP hidrolizė. Stimuliuojama aktyvatorių ir inhibuojama represorių. Aktyvatoriai gali rištis su:

a) **Didintojais** – jie ilgi ir su jais gali rištis keletas baltymų; daugelis jų po to rišqsi su iniciacijos komplekso baltymais ir dėl to sisidaro DNR kilpos, nes didintojai toli nuo +1.

b) **PPE**

TK reguliuojama kombinuotai, veikiant vienu metu daugeliui aktyvatorių ir represorių, susirišusių su (a) ir (b). Transkripcijos faktoriai (TF) turi dviejų rūšių domenų a) DNR surišančius, b) kitus baltymus surišančius – šie l. svarbūs reguliacijai, kuri vyksta per baltymo – baltymo sąveiką. Keli (b) g. b. sujungti su (a) geno judria baltymine seka.

TF klasifikuojami pagal struktūrą: 1) homeobox; 2) zink finger; 3) forkhead; 4) leucine – zipper; 5) helix – loop – helix. (b) domenai pasižymi didele įvairove, nors g. b. ir bendrų motyvų. Daugelis TF multimeriniai, galimi heterodimerai su skirtingom (a) kombinacijom.

Enhanceosoma – didintojo (enhanserio) srityje susidarantis nukleoproteininis kompleksas, kuriame dėka paviršinių sąveikų tarp baltymo - baltymo ir baltymo – DNR veikia sinergistiniai efektai ( $>$  nei adityvus surišimas sekančių subvienetų ar komplekso narių). Be

to, enhanceosoma susidaro ant apytiksliai 100 b. p. ilgio DNR fragmento daugiastadijinio proceso pagalba – pirmiausia prie chromatino jungiasi baltymai – aktyvatoriai (kooperatyvi sąveika), kurie specifiškai nukleotidų sekoms, ir DNR išlenkiantys ir išvyniojantys baltymai. Tokia stabili struktūra suformuoja papildomus sąveikos su komplementariais koaktyviais ir su pol II kompleksu – enhanceosoma tarsi prilimpa prie iniciacijos kompleksu ir susiformuoja transkriptosoma. Reciprokinis poveikis visoje transkriptosomoje – ne tik enhanceosoma prijungia pol mašineriją ir ją aktyvuoja, bet pastaroji palengvina enhanceosomos susirinkimą. Tokios sąveikos teikia energiją chromatino išvyniojimui. Enhanserio specifiškumą gali lemti skirtinga jo sudedamųjų narių sudėtis.

Eu-TK kompleksas sudarytas iš pol II; 6 TF: TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIIF, TFIIFH; koaktyvatorių – pvz. TAF (TFIID subvienetas), USA, CBP ir pan.

Visi aktyvatoriai atsidūrę ant promotoriaus pasižymi sugebėjimu aplink save sulipdyti aktyvų TK kompleksą, jo sudėtis ir išsidėstymas gali skirtis įvairiuose kompleksuose ir taip gali būti reguliuojamas.

Genai, transkribuojami specifiškai tik tam tikruose ląstelių tipuose (pvz. hepatocituose) turi kontrolines sritis tiems TF, kurie sintetunami tose ląstelėse, taip pat ir universaliems TF. Konkrečios detalės, kaip tai reguliuojama, dar neištirtos.

Kai kurių genų ekspresija reguliuojama hormonų. Kai kada TF būna steroidinių hormonų receptoriai, kurie nesant hormonams yra prisijungę inhibitorius. Kiti atvirkščiai rišasi su DNR kaip represoriai, kol nėra hormonų.

### **LASTELĖS BALTYMŲ SKAIDYMAS**

Baltymų gyvavimo laikas ląstelėje yra ribotas. Daugelis jų po tam tikro laiko pažeidžiami – oksiduojami, denatūruojami, vyksta jų proteolizė, kitos negrįžtamos modifikacijos. Dar neseniai manyta, kad ląstelėje ardomi tik nenormalūs, pažeisti baltymai. Dabar žinoma kita svarbi baltymų skaidymo funkcija – ląstelės vyksmų valdymo. A. Ciechanoveriui, A. Herškui ir I. Rousui (Aaron Ciechanover, Avram Herskko, Irwin Rose) 2004 m. skirta Nobelio premija už baltymų skaidymo būdo ir svarbos išaiškinimą.

Ląstelėje tam tikrų baltymų kiekis keičiamas ne tik valdant jų sintezės greitį, bet ir juos naikinant. Tai yra vienas iš potransliacinio valdymo mechanizmų, lemiančių fermentų veiklą ląstelėje per jų apyvartos pokyčius.

Baltymų stabilumas ląstelėje apibūdinamas jų gyvavimo pusperiodžiu – tai yra laikas, per kurį pusė baltymo molekulių sunaikinama. Baltymų gyvavimo pusperiodis labai skirtingas, gali svyruoti nuo kelių minučių iki daug parų.

#### **Baltymų gyvavimo pusperiodis**

Baltymai	Gyvavimo pusperiodis, val.
<b>Trumpai gyvuojantys:</b>	
α-2 represorius	0,1
Ornitino dekarboksilazė	0,2
RNR polimerazė	1,3
Tirozino aminotransferazė	2,0
Serino dehidratazė	4,0
PEP karboksilazė	5,0
<b>Ilgai gyvuojantys:</b>	
Aldolazė	118



Gliceraldehyd-3-fosfato dehidrogenazė	130
Citochromas b	130
Laktato dehidrogenazė	130
Citochromas c	150

Valdymo fermentai gyvuoja trumpai, o konstitutyvūs baltymai – daug ilgiau. Labai nestabilūs yra transkripcijos veiksniai, ciklinai, G-baltymai, onkogenų produktai ir vėžio slopintojai. Atvirkščiai, akies vyzdžio ląstelių baltymai labai stabilūs, jie nekeičiami visą gyvenimą. Hemoglobino gyvavimo pusperiodis yra 60 dienų. Tačiau jeigu į jo molekulę dėl tam tikrų priežasčių įjungiamos netinkamos aminorūgštys, baltymas suardomas per 10 min.

Labai greitas atlikusių funkciją baltymų pašalinimas užtikrinamas proteolizinio skaidymo citozolyje būdu. Taip skaidant ląstelėje labai greitai sumažinama tam tikrų baltymų. Tai negrįžtamas procesas, todėl užtikrinamas visiškas biologinės jų funkcijos nutraukimas.

Eukariotų ir prokariotų ląstelėse baltymai skaidomi hidrolizės būdu. Tačiau eukariotų baltymų hidrolizės sistemos yra sudėtingesnės. Bendra prokariotų ir eukariotų baltymų degradacijos savybė – abiem atvejais peptidiniam ryšiui suardyti būtina ATP hidrolizė. Kitas bendrumas – abiejų tipų ląstelėse baltymų hidrolizę katalizuoja fermentai **proteazės**. Atsižvelgiant į esminę aktyvaus centro aminorūgštį ir metalo jonų svarbą, proteazės skirstomos į serino (Ser), cisteino (Cys), asparto (Asp), treonino (Thr) ir metalo proteazes. Didelė dalis aminorūgščių, susidariusių baltymų hidrolizės metu, vėl naudojamos baltymų sintezei (reciklinimas). Kiti skaidymo produktai pašalinami iš ląstelės išskyrimo būdu. Baltymų skaidymo greičio kitimas priklauso nuo mitybos (badaujant didėja) ir hormonų poveikio.

Ląstelių viduje veikia kitos proteazės nei aukštesniųjų stuburinių virškinimo sistemoje. Nesavitas baltymų skaidymas ląstelei būtų labai pavojingas. Evoliucijos laikotarpiu susidarė tam tikros baltymų skaidymo struktūros, užtikrinančios savitumą, ypač eukariotų ląstelėse. Šiose ląstelėse baltymai nesavitai skaidomi lizosomų viduje, tačiau baltymų patekimas į lizosomas atrankus. Citozolyje vyksta savita nuo ATP-priklausoma proteolizė.

### **Prokariotų baltymų skaidymas**

Prokariotų baltymai suardomi paprasčiau nei eukariotų. Šiuose organizmuose yra kelios proteazės, priskiriamos prie šiluminio šoko baltymų (Hsp) šeimos. *E. coli* ląstelėse apie 80 proc. nuo ATP priklausomos proteolizės atlieka šios proteazės:

(1) **Lon proteazė**. Tai citoplazmos serino proteazė, kuri šalina DNR reparacijos fermentus, atlikusius savo funkcijas, kai kurių genų reguliatorius, nenormalius (beprasmius ar netinkamus) baltymus, taip pat visus denatūruotus baltymus. Ji veikia kartu su kitais Hsp šeimos baltymais, stabdančiais denatūruojamų baltymų agregaciją. Lon proteazę sudaro keturi vienodi subvienetai. Ji hidrolizuoja baltymus iki trumpų (5–20 aminorūgščių ilgio) peptidų. ATP jos veikimui nebūtinus, jeigu baltyminis substratas denatūruotas. Kepenų mitochondrijų užpilde nustatyta labai panaši (58 proc. homologiška) proteazė. Manoma, kad ji *in vivo* degraduoja  $F_1F_0$ -ATPazės  $\square$ ,  $\square$  ir  $\square$  subvienetus. Lon geno delecija sukelia mitochondrijų kvėpavimo sutrikimus.

(2) **Clp A/P proteazė** (Clp angl. k. – *caseinolytic protease*) vadinama kazeinolizine proteaze, nes pirmą kartą buvo nustatyta pagal pieno baltymo kazeino hidrolizę. Tai

citoplazmos serino proteazė, kuri suardo apie 15 proc. nenormalių baltymų. Ši proteazė būdinga prokariotams ir eukariotams, turi labai konservatyvias sekas. Ji skaido baltymus, kurių yra pakitusios aminorūgštys, trumpesnius peptidus. Šios proteazės struktūra daug sudėtingesnė. ClpA/P kompleksą sudaro apie 20 subvienetų:

1. Katalizinis subvienetas **Clp P**, kurį sudaro du septynių subvienetų žiedai;
2. Nuo ATP priklausomas reguliacinis subvienetas **CplA** (vienas šešių subvienetų žiedas).

Ši proteazė gali turėti ClpB arba ClpX subvienetų. **Cpl B** yra indukuojamas temperatūros.

(3) **FtsH** (angl. k. – *filamentous temperature-sensitive cell division*) yra plazminės membranos 71 kDa baltymas, turintis nukleotidus jungiančių sekų citozolio domene. Tai nuo ATP priklausoma metalo ( $Zn^{2+}$ ) proteazė.

Kokie signalai valdo šių proteazių aktyvumą? Baltymų stabilumą lemia jų N-galo seka. **A. Varšavskio** (A. Varshavsky) **N-galo taisyklė** 1992 m. nustatyta, atsižvelgiant į *E. coli* ir mielių baltymų stabilumo tyrimų duomenis. Keisdami  $\beta$ -galaktozidazės N-galo seką, mokslininkai nustatė, kad Arg, Lys, Phe, Leu, Asp buvimas šioje molekulės dalyje didina baltymo jautrumą skaidymui. Buvo padaryta išvada, kad šios proteazės atpažįsta N-galinę seką (9.3 lentelė).

#### **Baltymų N-galo aminorūgštys ir baltymų gyvavimo pusperiodis**

Stabilizuojamosios, daugiau kaip 20 val.	Destabilizuojamosios	Labai destabilizuojamosios
Met	Ile ~30 min.	Phe ~3 min.
Ser	Glu ~30 min.	Leu ~3 min.
Ala	Tyr ~10 min.	Asp ~3 min.
Thr	Gln ~10 min.	Lys ~3 min.
Val		Arg ~2 min.
Gly		

Ištyrus 208 ilgai gyvuojančius baltymus, buvo nustatyta, kad jų visų N-gale yra sekos, sudarytos iš stabilizuojamųjų aminorūgščių (9.3 lentelė). Vėliau buvo nustatytos ir kitos baltymų stabilumą lemiančios sekos. N-galo taisyklė galioja ir eukariotams.

#### **Eukariotų baltymų skaidymas**

Proteoliziniai virškinimo fermentai (tripsinas, chimotripsinas, pepsinas, elastazė) svarbūs maistinių baltymų hidrolizei virškinimo sistemoje. Tačiau šie fermentai nedalyvauja ląstelės baltymų apyvartoje. Baltymų hidrolizė eukariotų ląstelės viduje vyksta keliais būdais:

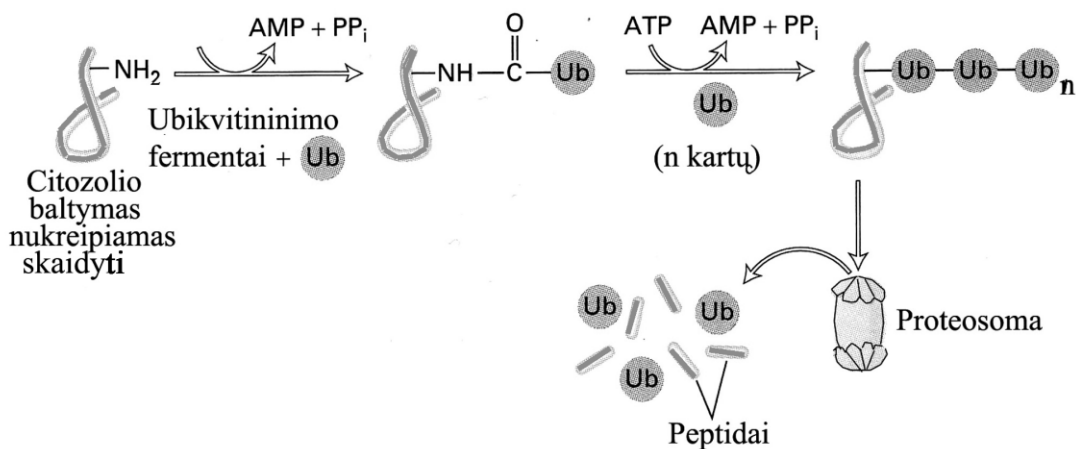
1. **Baltymai nesavitai skaidomi lizosomose.** Į lizosomas baltymai gali patekti įvairiais būdais (tam tikrais atvejais jie patenka savitai). Skiriamoji lizosominio virškinimo savybė – hidrolizinius fermentus ir jų substratus nuo kitos ląstelės dalies skiria lizosomos membrana. Lizosomos sunaikina membranų baltymus (pvz., po autofagijos) ir baltymus, patekusius į ląstelę endocitozės būdu.

Lizosominį baltymų skaidymą savitai slopina antimaliarinis vaistas **chlorochinonas** ir peptidinis antibiotikas **antipainas**. Jie mažina lizosomų turinio rūgštingumą. Anksčiau buvo teigiama, kad lizosomos yra svarbiausios proteolizei. Tačiau jau 1970 m. paaiškėjo, kad lizosomoms visai neveikiant (nuslopinus lizosomų fermentus), ląstelėse baltymai dideliu greičiu ir savitai skaidomi.

2. **Citozolinis (nelizosominis) ląstelės baltymų skaidymas.** Ląstelės proteolizė daugiausia vyksta kitais būdais ne lizosomose. Žinomos nuo  $\text{Ca}^{2+}$  priklausomos proteazės – **kalpainai**, turintys savitus aktyviklius ir inhibitorius. Tačiau jų galimos funkcijos tik tiriamos. **Goldžio komplekso ir endoplazminio tinklo proteazės** hidrolizuoja peptidinius fragmentus baltymų brendimo metu. Apoptozės metu aktyvinama virtinė savitų ląstelės mirtį įvykdančių proteazių, **kaspazių**. Jos hidrolizuoja baltymus substratus ir lemia būdingus apoptozei morfologinius pokyčius. Tačiau pati svarbiausia iš proteazių, atliekančių greitą, savitą ir valdomą baltymų skaidymą, yra didelė oligomerinė **26S proteosoma**. Jos hidrolizinį aktyvumą lemiantys aktyvieji centrai atskirti nuo citozolio kitu būdu nei lizosomų hidrolazės: jie yra vidinėje cilindrinės baltyminės struktūros ertmėje. Proteolizės savitumą lemia 26S proteosomos sąveika su baltymu ubikvitinu, todėl ši ATP naudojanti proteolizės sistema dar vadinama **ubikvitino sistema**.

#### Ubikvitino/26S proteosomos sistema (nustatyta 1988 m.).

Varšavskis (A. Varshavsky) su bendradarbiais nustatė savitą eukariotų baltymų **ubikvitiną** (Ub, angl. k. – *ubiquitin*), svarbų savitam baltymų skaidymui. Ub yra pats konservatyviausias (mielių ir žinduolių Ub skiriasi tik 3 aminorūgštimis) iš visų žinomų baltymų. Tai mažos molekulinės masės ( $M_m = 8451$ ) 76 aminorūgščių ilgio baltymas. Jo turi visos eukariotinės ląstelės (todėl pavadintas ubikvitinu). Ląstelėje Ub gali būti laisvas arba prisijungęs prie kitų baltymų. Ub prijungimas (ubikvitininimas) yra baltymo „pažymėjimas sunaikinti“. Prie kitų baltymų Ub jungiasi izopeptidiniu ryšiu: Ub C-galo glicinas grįžtamai ir savitai jungiasi su žymimo baltymo Lys- $\epsilon$ - $\text{NH}_2$  grupe. Vienos Ub molekulės nepakanka skaidymo signalui sudaryti, tai gali būti tik rūšiavimo signalas. Prie skaidymui nukreipiamo baltymo jungiama poli-Ub grandinė (9.6 pav.), kuri dažnai būna išsišakojusi.



#### Baltymų kovalentinė modifikacija ubikvitinu (Ub) yra nukreipimo proteolizei 26S

proteosomoje žymė

Susidarant poli-Ub, kiti Ub monomerai gali būti jungiami prie jau prijungto Ub Lys-ε-NH<sub>2</sub> grupių, kurios yra 29, 48 ir 63 padėčių. Ub jungimas prie pirmų dviejų padėčių Lys turi skaidymo žymės prasmę, tačiau nuo 63 padėties prasidedanti grandinė lemia kitoki baltymų likimą.

Sąveika su poli-Ub yra būtina greitai suardyti šalinamus baltymus. Tokią sąveiką lemia trys fermentai:

1. **Aktyvinantis fermentas E<sub>1</sub>** katalizuoja energiją naudojančias reakcijas, kurių metu Ub aktyvinamas, prijungiant jį prie fermento E<sub>1</sub>:  
$$\text{Ub} + \text{ATP} \rightarrow \text{E}_1\text{-Ub}^* + \text{AMP} + \text{PP}_i \text{ (pirofosfatas)}$$
2. Vėliau Ub jungiasi su kitu, **konjuguojančiu, fermentu E<sub>2</sub>**: Ub<sup>\*</sup>-E<sub>2</sub>. Šis fermentas savitai jungia ubikvitiną prie žymimų baltymų Lys-ε-NH<sub>2</sub> grupės, gali būti ubikvitininamos kelios Lys grupės iš karto.
3. E<sub>2</sub> dažnai reikalingas papildomas veiksnys **E<sub>3</sub> (Ub-ligazė)**.  
$$\text{E}_2\text{-Ub} + \text{S (+E}_3) \rightarrow \text{E}_2 + \text{S-Ub (+E}_3)$$

Substrato pažinimą lemia E<sub>2</sub> ir E<sub>3</sub> heterodimerai. Prie pirmosios Ub grupės jungiamos kitos Ub molekulės – taip formuojama šakotoji struktūra, kurią atpažįsta 26S proteazė. Kai nuo ATP priklausoma 26S proteazė suardo žymėtąjį baltymą, Ub būna laisvas kitam skaidymo ciklui.

Eukariotams taip pat galioja N-galo taisyklė. Tačiau yra daugiau elementų, svarbių 26S proteosomai atpažinti proteolizei skirtą baltymą. Tam tikri proteosomos hidrolizuojami baltymai turi trumpas labai konservatyvias sekas, vadinamas **ardymo dėžėmis** (angl. k. – *destruction box*). Kiti baltymai turi **PEST sekų**, kuriose yra daug aminorūgščių – Pro, Asp, Gln, Ser ir Tre. Šių sekų delecijos didina baltymų stabilumą. Baltymo molekulėje gali būti keli kartotiniai ar pasklidę skaidymo signalai.

26S proteazės substratų atpažinimą palengvina papildomi baltymai, atpažįstantys skaidymo signalų sekas ir nukreipiantys į jas Ub-ligazę. Labai greitai šalinamų ciklinų ubikvitininimo pagalbiniai baltymai vadinami **F-dėžiu** (angl. k. – *F-box*) baltymais. Jų susijungimas su substratais valdomas fosforilavimo būdu. Tam tikrų baltymų klasių atpažinimo baltymai yra skirtingi.

Reguliacijos požiūriu labai svarbus yra baltymų modifikacijos ubikvitinu grįžtamumas. Susidariusios ant baltymų poli-Ub grandinės yra labai kintamos, prie jų gali būti greitai jungiamos ar nuo jų šalinamos Ub liekanos. Baltymų ubikvitilinimo laipsnį lemia sudėtingai valdoma pusiausvyra tarp ubikvitilinimo ir deubikvitilinimo reakcijų. Tai atlieka deubikvitilinimo fermentai. Jie, keisdami baltymų ubikvitilinimo laipsnį, keičia jų skaidymo 26 S proteosomoje tikimybę.

Laštelėje yra Ub grandinių, turinčių laisvą C-galą. Tai gali būti 26S proteosomos produktas, likęs po baltymų skaidymo (poli-Ub 26S proteosoma neskaido). Be to, E<sub>2</sub> fermentai gali sintezuoti tokius fragmentus. 26S proteosoma atpažįsta ir jungia poli-Ub grandines, todėl laisvosios poli-Ub konkurenciškai slopina poli-Ub-baltymų skaidymą. Tai užtikrina, kad proteolizės greitis nebūtų didesnis už substratų ubikvitilinimo greitį.

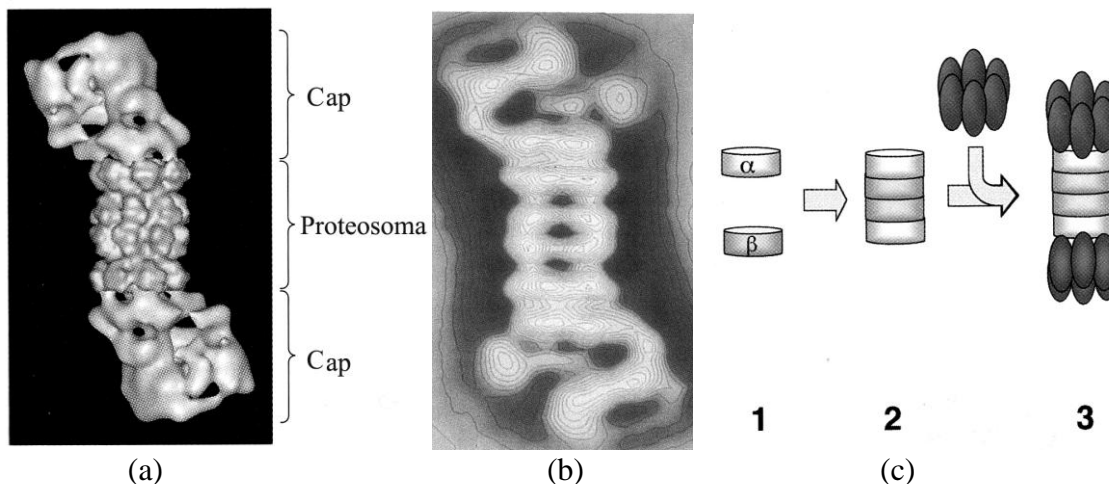
### 26S proteosoma – ląstelės „šiukšlių mašina“

Tipiškoje ląstelėje yra apie 30000 proteosomų. Jų veikimo sutrikimai (tiek padidėjęs, tiek sumažėjęs aktyvumas) gali sukelti tam tikras ligas, susijusias su neveiklių baltymų susikaupimu.

26S proteosoma yra didelis (2500 kDa) baltyminis kompleksas, sudarytas iš dviejų dalių (9.7 pav.):

1. Šerdį sudaro 20S multikatalizinis kompleksas – 28 subvienetų ATPazė, panaši į ClpA.
2. Du papildomi valdymo 19S kompleksai, kitaip vadinami Cap arba PA700. Kiekvieną iš jų sudaro 15 subvienetų (25÷110 kDa), kurių asociacija su 20S kataliziniu kompleksu priklauso nuo ATP.

26S proteosomos šerdis yra tarsi tuščias cilindras (14,8 nm ilgio ir 11,3 nm skersmens), kurio gale yra skylė Ub-baltymui įeiti. Cilindrą (700 kDa, 9.7 pav., c2) sudaro keturi dviejų rūšių (iš  $\alpha$  ir  $\beta$  subvienetų) žiedai po septynis vienodus subvienetus (35–100 kDa):  $\alpha_7\beta_7\beta_7\alpha_7$ . Centriniam plyšyje tarp  $\beta$  subvienetų yra 14 aktyvių centrų. Aktyvaus centro aminorūgštis yra treoninas Thr. Kitame proteosomos gale yra skylė šalinti proteolizės produktus, trumpus peptidus (nors gali būti, kad produktai šalinami per cilindro sienas). Mielių 20S katalizinio komplekso genų mutacijos yra mirštamoms.



26S proteosomos modelis (a), elektroninės difrakcijos nuotrauka (b) ir susirinkimo schema (c)

Viena 20S šerdis, gaunama pašalinus valdymo kompleksus, negali skaidyti Ub-baltymų, tik kai kuriuos denatūruotus baltymus. Tai tik katalizinė 26S šerdis. Ub-baltymui atpažinti ir išvynioti būtini 19S-Cap kompleksai. Jiems būdingas ATPazinis aktyvumas. Šeši jų subvienetai vadinami AAA-ATPazėmis, nes jie suteikia 26S proteazei savitumo Ub, ATP ir išardo tretinę baltymo struktūrą prieš jam patenkant į komplekso šerdį (angl. k. – *unfoldase*), stumia išvyniotą baltymą į vidinę 20S komplekso ertmę. Taip pat 19S subvienetuose yra izopeptidazių, šalinančių nuo baltymų laisvą Ub arba poli-Ub šakas.

Aktyvią 26S proteosomą sudaro 20S šerdis ir du 19S Ub jungimo kompleksai. Tarp 20S ir 26S formų ląstelėje nusistovi pusiausvyra. Baltymai skaidomi tokia seka:

1. Ub-baltymas prijungiamas prie 19S komplekso atpažinimo subvieneto.
2. Baltymai išvyniojami (naudojama ATP hidrolizės energija) ir pernešami 20S šerdies aktyvaus centro link, tuo metu Ub grandinės iš dalies šalinamos.
3. Substratas skaidomas į mažus peptidus, kurie išeina pro sienas.
4. Poli-Ub šalinamas nuo baltymų likučių.

Proteosomos 20 S šerdis gali sąveikauti ir su kitu valdymo kompleksu, vadinamu PA28, arba 11S kompleksu, kuris skatina peptidazinį 20S aktyvumą, prisijungęs prie jos galo. Tokios struktūros proteosoma svarbi antigenų brendimui. Ląstelės ekstraktuose yra ir nesimetriškų kompleksų, kurių viename 20S subvieneto gale yra prisijungęs 19S, kitame – 11S valdymo kompleksai.

Kaip ir molekuliniais šaperonams, sudėtingai ir daugiafunkcei Ub-proteosomos komplekso veiklai padeda daug pagalbinių baltymų, turinčių giminingumą Ub lemiančių motyvų (UBA, UIM, UBD ir UBX).

**Citozolinio baltymų skaidymo biologinė funkcija.** Baltymų skaidymas valdomas labai tiksliai ir sudėtingai. Ilgiau veikiantys baltymai skaidomi lizosomose, o trumpiau gyvuojantys suardomi 26S proteosomoje. Ub sistema lemia fermentų ir valdymo baltymų kiekio kitimus, vadinasi, ji valdo pagrindinius metabolitų srautus. Todėl nuo Ub priklausanti proteolizė labai svarbi, reguliuojant ląstelės funkcijas. Nuo Ub sistemos priklauso transkripcijos veiksniai, ciklinai, auglių supresoriaus p53, proteinkinazių, imuninės sistemos ir ląstelių paviršiaus receptorių kiekis. Ub funkcijos nėra vien baltymų nukreipimas proteolizei į 26S proteosomą:

1. Tam tikra prasme ubikvitinas gali būti laikomas šaperonu, nes jis reikalingas, kad tinkamai susirinktų ribosomų baltymai. Ub padeda įgyti reikiamą erdvinę struktūrą tam tikrų limfocitų receptoriams ląstelių paviršiuje.
2. Ub valdo transkripciją. Ub pažymėjus, nuo DNR šalinami histonai (H<sub>2A</sub>). Atrankusis jų skaidymas būtinas transkripcijai sukelti. Tam tikrų transkripcijos veiksmų brendimui būtinas Ub /26S proteosominis skėlimas.
3. Ubikvitino sistema valdo ląstelės dalijimosi ciklą, nes savitai skaido ciklą reguliuojančius baltymus ciklinus. Nuo Ub priklausomas ciklinų sunaikinimas lemia ląstelės perėjimą iš M fazės į G1 fazę.
4. Ub reikalingas ląstelių diferenciacijai. Subrendę eritrocitai daugeliu požymių skiriasi nuo tinklinių (eritroidinių) ląstelių. Jie neturi mitochondrijų, glikolizinio aktyvumo. Šių ląstelių brendimo metu mitochondrijos išnyksta atrankiosios proteolizės būdu, veikiant Ub sistemai. Taigi Ub sistema dalyvauja ne tik ardant baltymus, bet ir organeles. Ta pati sistema atrankiai pašalina heksokinazės izofermentą ir sustabdo glikolizę.
5. Ub ir vėžys. Vėžio supresoriaus p53 koncentracija sumažėja ląstelėse, užkrėstose žmogaus papilomos virusu (HPV), nors iRNR ir baltymų sintezės greitis nekinta. Virusas koduoja baltymą E<sub>6</sub>, kuris skatina nuo Ub priklausomą p53 skaidymą, susijungdamas su E<sub>2</sub> ir E<sub>1</sub> fermentais, kurie vėliau jungiasi su p53 ir jį pažymi Ub. Sumažėjus p53 kiekiui ląstelėje, atsiranda vėžys.
6. Ub ir atsakas į stresą. Normalios būsenos ląstelės Hsp transkripcijos veiksmus greitai naikina nuo Ub priklausanti 26S proteosoma. Streso būsenos metu daugėja nenormalių baltymų paviršių, kurie konkuruoja su Hsp transkripcijos veiksmiais kaip

Ub-26S proteosomos substratai. Todėl Hsp transkripcijos veiksnių ląstelėje staiga daugėja, tai sukelia greitą Hsp indukciją.

7. Ub ir senėjimas. Viena iš ląstelės senėjimo priežasčių yra sumažėjęs 26S proteosomos pajėgumas. Tai lemia neveiklių baltyminių darinių kaupimąsi ląstelėje.

Apibendrinant, Ub-26S proteosoma svarbi esminėms ląstelės funkcijoms: termotolerancijai, atsakui į stresą, adaptacijai, diferenciacijai, ciklo kontrolei, imuniniam atsakui, nenormaliems baltymams šalinti. 1994–1996 m. buvo atrasti proteosomų slopikliai. Jie lengvai patenka į ląstelę ir savitai slopina baltymų skaidymo kelius. Šie slopikliai pirmiausia pritaikyti moksliniams tyrimams. Tiriamos galimybės juos vartoti gydant, nes proteosomų veiklos sutrikimai sukelia ligas. Proteosomų slopikliai mažina imuninį atsaką, jie gali būti vartojami vėžiui gydyti, nes sukelia apoptozę.