

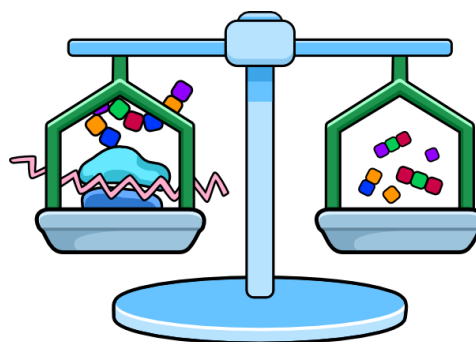
WIELKA ENCYKLOPEDIA DEGRADACJI BIAŁEK

Wielka Encyklopedia Degradacji Białek zawiera **dziewięć haseł**, które przedstawiają **mechanizmy degradacji białek** i nowe **terapię oparte na celowanej degradacji białek**.

1. Homeostaza białek: równowaga między tworzeniem i degradacją

Jak powstają białka

Białka są cząsteczkami odpowiedzialnymi za wykonywanie wielu niezbędnych funkcji w komórce. Ich tworzenie rozpoczyna się od przepisania DNA na mRNA (ang. *messenger RNA*; matrycowy RNA) w procesie nazywanym transkrypcją. Tak powstała cząsteczka mRNA służy jako szablon do syntezy białek, czyli procesu translacji, który odbywa się przy udziale rybosomów. Podczas translacji aminokwasy łączą się i tworzą łańcuch polipeptydowy, który formuje się w funkcjonalną strukturę białka. Ludzka komórka może wytwarzać do ok. 20.000 różnych białek.



Równowaga między syntezą białek i ich degradacją jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania komórek: po lewej – synteza białek pokazana jest przez rybosom tworzący łańcuch aminokwasów na podstawie mRNA (ang. messenger RNA; matrycowy RNA); po prawej – degradacja białek przedstawiona jako białko rozbite na krótkie łańcuchy aminokwasowe.

Jak degradowane są białka

Utrzymanie homeostazy (równowagi) białek wymaga skutecznych mechanizmów ich degradacji. Każde białko trwa określony czas w komórce - kilka minut lub nawet lata. Białka mogą się jednak niepoprawnie uformować lub zawierać niewłaściwe aminokwasy co sprawia, że ich terminowe i prawidłowe usunięcie ma podstawowe znaczenie dla właściwego funkcjonowania komórek.

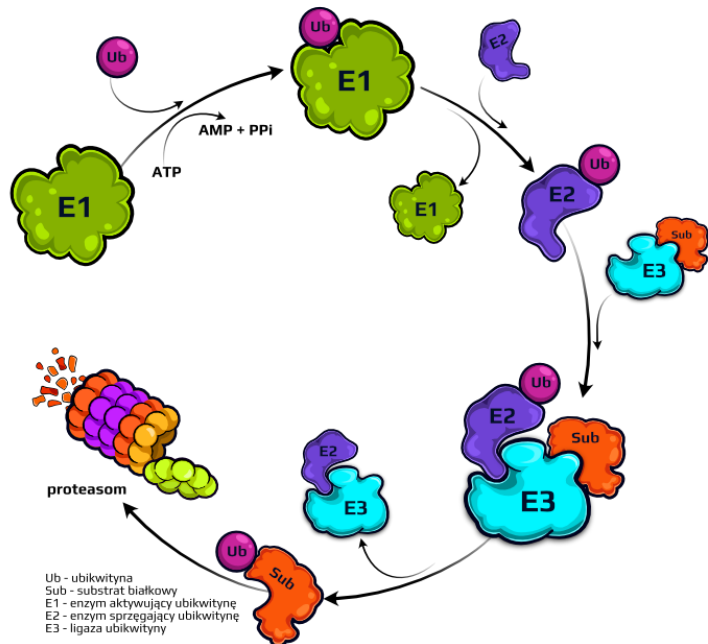
Wyróżniamy trzy główne szlaki degradacji:

- autofagia: polega na pochłanianiu białek przez wyspecjalizowane pęcherzyki wewnątrzkomórkowe zwane „autofagosomami”. Łączą się one następnie z lizosomami (organellami otoczonymi błoną lipidowo-białkową, które pełnią rolę układu trawiennego), gdzie białka są rozkładane na krótkie łańcuchy aminokwasowe lub pojedyncze aminokwasy, które mogą być ponownie użyte jako budulec nowych białek;
- pęcherzyki zewnątrzkomórkowe: komórki mogą uwalniać na zewnątrz małe pęcherzyki, np. egzosomy, zawierające niechciane lub nadmiarowe białka. Egzosomy są następnie pobierane przez inne komórki, a znajdujące się w nich białka ulegają degradacji, co zapewnia ich usunięcie ze środowiska komórkowego;
- system ubikwityna-proteasom: białka przeznaczone do degradacji są znakowane małym białkiem, zwanym ubikwityną, którą rozpoznaje proteasom, pełniący funkcję komórkowego centrum recyklingu, i rozkłada na krótkie łańcuchy aminokwasowe, które mogą być ponownie przetworzone przez komórkę.

2. System ubikwityna-proteasom

W naszej grze pokazujemy funkcjonowanie systemu ubikwityna-proteasom (UPS). Obejmuje on kaskadę enzymów, w skład której wchodzi: E1 – enzym aktywujący ubikwitynę; E2 – enzym sprzęgający ubikwitynę i E3 – ligazę ubikwityny, które współpracują ze sobą w celu przyłączenia ubikwityny do białka docelowego. Proces ten, nazwany ubikwitynacją, powoduje, że białka są rozpoznawane, a następnie degradowane przez proteasom. Proteasom działa jak komórkowe centrum recyklingu, rozbijając białka znakowane ubikwityną na krótkie łańcuchy aminokwasowe, które mogą być ponownie wykorzystane przez komórkę, np. do syntezy nowych białek.

UPS odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy białek przez kontrolę ich poziomu i eliminację niepożądanych przez komórkę białek. W ten sposób reguluje różne procesy molekularne, jak: cykl komórkowy, przekazywanie sygnałów, naprawa DNA. Mutacje składowych UPS mogą prowadzić do nagromadzenia białek, zaburzyć funkcje komórkowe i przyczynić się do rozwoju różnych chorób, w tym: raka, choroby Alzheimera i choroby Parkinsona.

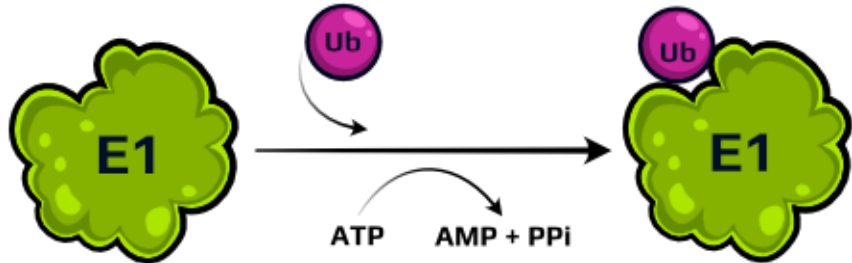


System ubikwityna-proteasom używa kaskady enzymów do selektywnego znakowania białek ubikwityną, co umożliwia proteasomowi ich degradowanie.

Odkrycia systemu ubikwityna-proteasom dokonali: Aaron Ciechanover, Avram Hershko i Irwin Rose i za swoje przełomowe badania otrzymali w 2004 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii. Ich praca zrewolucjonizowała nasze rozumienie degradacji białek w komórkach, w tym tak ważnej roli UPS w komórce i jego wpływu na zdrowie.

3. Enzym E1

Czy ubiquityna magicznie pojawia się na enzymie E2? Oczywiście, że nie! Chociaż nie ma o tym mowy w grze, to niezbędna jest najpierw aktywacja ubiquityny przez enzym E1. Mechanizm ten polega na związaniu przez ten enzym zarówno cząsteczki ubiquityny, jak i ATP (adenozyno-5'-trifosforanu), co powoduje zmianę kształtu enzymu E1 i umożliwia powstanie wysokoenergetycznego wiązania między nim a cząsteczką ubiquityny.

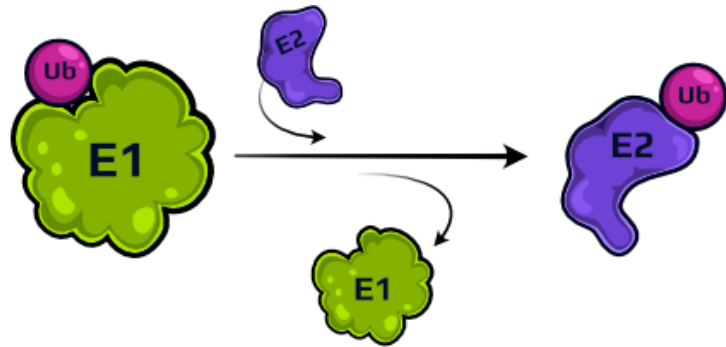


Enzym E1 inicjuje pierwszy krok ubiquitynacji przez aktywację i wiązanie ubiquityny.

Występuje tylko kilka rodzajów enzymów E1 w komórce, jednak ich mutacje mogą prowadzić do upośledzonej aktywacji ubiquityny, co skutkuje zaburzeniem degradacji białek. Takie rozregulowanie pracy enzymów E1 powiązane z kilkoma chorobami, na przykład z dziecięcym rdzeniowym zanikiem mięśni (XL-SMA), poważnym zaburzeniem neurodegeneracyjnym związanym z chromosomem X.

4. Enzym E2

Enzymy sprzęgające ubiquitynę E2, których jest 30 – 40 rodzajów, przenoszą aktywowaną ubiquitynę z enzymów E1 na białka docelowe. Proces ten przebiega następująco: enzym E2 wytwarza tymczasowe wysokoenergetyczne wiązanie z aktywowaną ubiquityną, a następnie do współpracy przystępuje ligaza ubiquityny E3, która pośredniczy w przeniesieniu ubiquityny na białka docelowe.



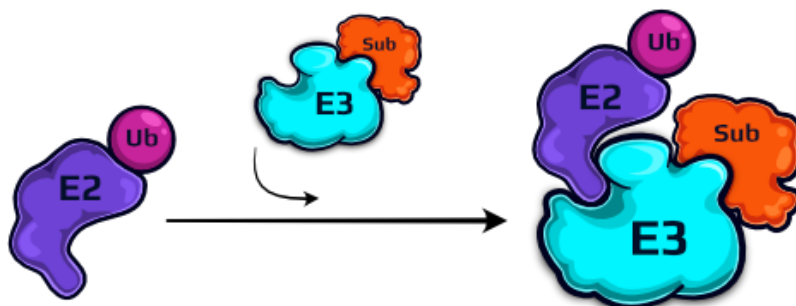
Drugi etap procesu ubiquitynacji polega na przeniesieniu ubiquityny.

Niepoprawne działanie enzymów E2, podobnie jak enzymów E1, wywołuje różne choroby, w tym: nowotwory, niepełnosprawność intelektualną sprzężoną z chromosomem X czy niedokrwistość Fanconiego.

5. Enzym E3

Ligazy ubikwityny E3 pośredniczą w przenoszeniu ubikwityny z enzymów E2 na określone białka docelowe, co zapewnia ich specyficzną i kontrolowaną ubikwitynację. Szacuje się, że u ludzi występuje 600 – 1000 rodzajów enzymów E3.

Skąd ligazy E3 „wiedzą”, które białko wybrać do degradacji? Niektóre z nich rozpoznają białka docelowe przez identyfikację krótkich sekwencji aminokwasów (charakterystycznej pierwotnej struktury białka) na ich powierzchni, zwanych „degronami”. Co ważne, ligazy E3 wykazują specyficzność wobec różnych



Trzeci i ostatni etap ubikwitynacji polega na rozpoznaniu docelowego białka przez ligazę ubikwityny E3, która doprowadza białko docelowe w pobliże enzymu E2 w celu przyłączenia do niego ubikwityny.

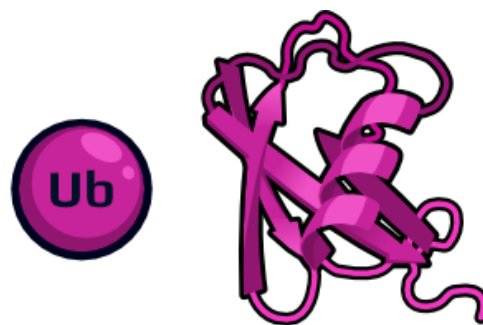
degronów, umożliwiając precyzyjne wiązanie określonych białek. Ligazy E3 mogą również wykrywać nieprawidłowo uformowane białka, które często odślaniają swoje hydrofobowe aminokwasy, i kierować je do ubikwitynacji, zapobiegając tym samym agregacji (zlepianiu) szkodliwych białek. Ligazy E3 mogą również ulegać autoubikwitynacji, czyli regulować własną aktywność, stabilność i interakcje z białkami.

Czy kompleks utworzony przez enzym E2, E3 i białko docelowe zawsze rozpada się po każdej ubikwitynacji? W komórce większość procesów jest bardzo dynamiczna, a na stabilność kompleksu ma wpływ wiele czynników, jak choćby siła wiązań chemicznych czy pH. Dlatego w grze można zaobserwować pewną losowość, na przykład czasem po ubikwitynacji ligaza E3 pozostanie związana z białkiem docelowym.

Nieprawidłowe funkcjonowanie ligaz E3 przyczynia się do różnych chorób. Przykładem może być mutacja genu parkiny kodującego ligazę E3, co wiąże się z dziedziczną postacią choroby Parkinsona. Ponadto defekty ligazy E3 MDM2 wywołują kilka nowotworów, takich jak: rak piersi, jelita grubego, płuc i mięsaki tkanek miękkich.

6. Ubikwityna

Ubikwityna to małe, 76-aminokwasowe białko, o charakterystycznej strukturze przestrzennej. Jest wysoce zachowana ewolucyjnie i występuje u wszystkich eukariontów (organizmów zbudowanych z komórek zawierających jądro komórkowe), stąd jej nazwa „wszechobecna” od angielskiego słowa *ubiquitous*. Przyłączenie ubikwityny do białka docelowego, czyli ubikwitynacja, jest rodzajem modyfikacji potranslacyjnej, co oznacza, że jest formą zmiany chemicznej zachodzącej w białkach po ich syntezie. Przyłączenie tylko jednej ubikwityny zwykle nie wystarcza do rozpoczęcia degradacji - ubikwitynacja powtarza się, aż łańcuch cząsteczek ubikwityny zostanie przyłączony do białka docelowego, co służy jako sygnał dla proteasomu - komórkowego centrum recyklingu - do rozpoczęcia jego niszczenia.



Ubikwityna, przedstawiona w grze jako kolistą cząsteczka wraz z jej rzeczywistą strukturą krystalograficzną.

Najczęściej ubikwityna przyłączana jest przez wiązanie peptydowe z lizyną do białek docelowych. Jednak istnieje również tzw. niekanoniczna ubikwitynacja na innych aminokwasach, jak: tyrozyna, seryna czy cysteina, gdzie wiązanie ubikwityny z białkiem docelowym jest bardziej niestabilne, a jego rola słabo poznana.

Chociaż podstawową funkcją ubikwitynacji jest kierowanie białek do degradacji za pośrednictwem proteasomu, to bierze również udział w innych procesach komórkowych, w tym w: naprawie DNA, autofagii, przenoszeniu sygnałów i transporcie białek.

7. Proteasom

Proteasom służy jako komórkowe centrum recyklingu doprowadzając do degradacji niechcianych lub uszkodzonych białek. Jest to duży kompleks białkowy, składający się z wielu podjednostek ułożonych w strukturę w kształcie beczki.



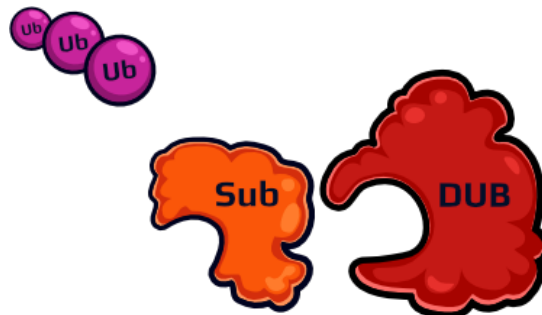
Proteasom, komórkowe centrum recyklingu, rozpoznaje ubikwitynowane białka i przeprowadza ich degradację.

Proteasom rozpoznaje ubikwitynowane białka i przeprowadza proteolizę, tzn. rozbija białka na krótkie łańcuchy aminokwasów, które mogą być ponownie użyte do syntezy nowych białek. Co ciekawe, gdy proteasom degraduje białko, to w większości przypadków ubikwityny zostają uwolnione przez enzymy deubikwitynujące, dzięki czemu można je ponownie wykorzystać w procesie ubikwitynacji.

8. Enzym deubikwitynujący

Enzymy deubikwitynujące (DUB) odcinają ubikwityny z białek i odwracają lub modulują proces ubikwitynacji. Istnieją różne klasy DUB, o odmiennej specyficzności względem różnych wiązań ubikwityny czy substratów.

Choć w naszej grze DUB jest antagonistą, to prawidłowa deubikwitynacja jest równie ważna jak ubikwitynacja, ponieważ pozwala na utrzymanie równowagi białek w komórce. Aktywność enzymatyczna DUB może być hamowana przez małe związki chemiczne – jest to atrakcyjna strategia rozwoju leków, ponieważ DUB mają duży wpływ na rozwój nowotworów i innych chorób.

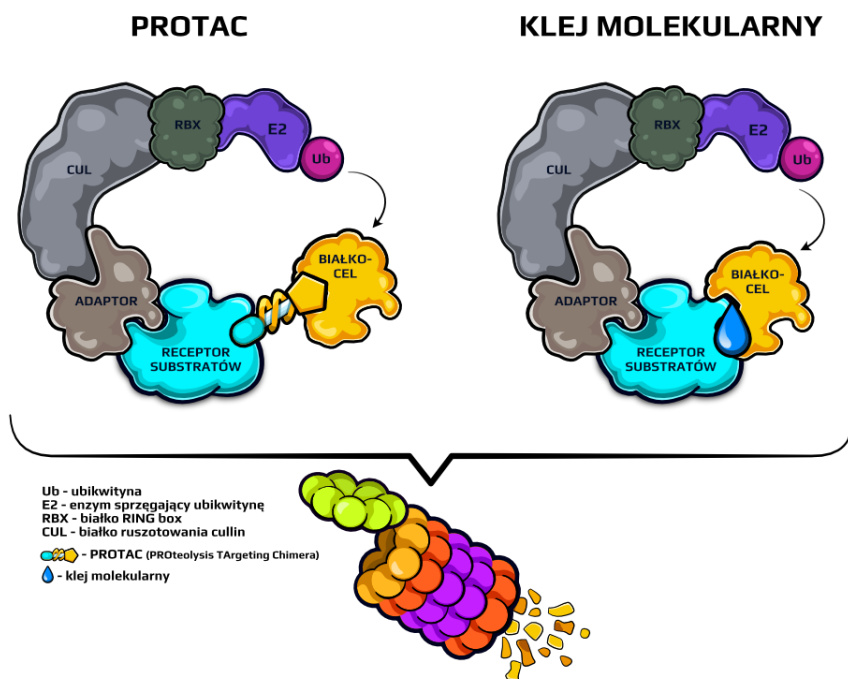


Enzym deubikwitynujący (DUB) enzymatycznie odcina ubikwitynę od białek, odwracając tym samym proces ubikwitynacji.

9. Celowana degradacja białek

Wykorzystajmy nasze własne szlaki degradacji komórkowej do walki z rakiem!

Co by było, gdybyśmy mogli wykorzystać nasz własny system ubikwityna-proteasom i dostosować go do usunięcia „toksycznych” białek wywołujących chorobę? Cóż, nie jest to już science fiction – tak działają nowoczesne terapie celowanej degradacji białek (ang. *targeted protein degradation* – TPD). Strategia jest prosta: naukowcy projektują związki pozwalające ligazom E3 na wiązanie białek, które nie są przez nie standardowo rozpoznawane. Następnie ligazy E3 doprowadzają je do enzymów E2, co skutkuje ubikwitynacją białek i degradacją przez proteasom. Dwie główne klasy związków, wykorzystujących mechanizmy celowanej degradacji białek, to: kleje molekularne i PROTAC (ang. *PROteolysis TARgeting Chimeras*). Kleje molekularne są małymi cząsteczkami wzmacniającymi interakcje między ligazą E3 a wybranym białkiem; PROTAC natomiast składa się z dwóch części: jedna rozpoznaje określoną ligazę E3, a druga – wybrane białko.



Kleje molekularne i PROTAC to dwa różne podejścia do celowanej degradacji białek: kleje molekularne są małymi cząsteczkami, wzmacniającymi interakcje między ligazą E3 a docelowym białkiem; PROTAC są związkami złożonymi z dwóch komponentów, w których jedna część rozpoznaje specyficzną ligazę E3, a druga – wybrane białko. Oba podejścia skutkują ubiquitynacją docelowego białka i prowadzą ostatecznie do jego degradacji. Choć nie pokazujemy tego w grze, to zarówno kleje molekularne, jak i PROTAC często korzystają z dużych kompleksów ligaz E3, w szczególności z ich podjednostek odpowiedzialnych za rozpoznawanie substratów: białek von Hippel-Lindau (VHL) lub cereblonu (CRBN).

Celowana degradacja białek w medycynie

Kleje molekularne, na przykład: lenalidomid lub pomalidomid, odniosły już sukces kliniczny – są stosowane w leczeniu nowotworów, takich jak szpiczak mnogi. Kilkanaście związków PROTAC jest obecnie przedmiotem zaawansowanych badań klinicznych, m.in. przeciw rakom piersi czy prostaty.

Metody celowanej degradacji umożliwiają niszczenie białek powodujących choroby, w tym białek onkogennych i wiążą się z nimi ogromne nadzieje na zastosowanie w terapii wielu chorób. Technologie te mają tak ogromny potencjał, ponieważ umożliwiają celowanie w białka, które wcześniej uważano za niemożliwe do zablokowania tradycyjnymi lekami. Mimo to metody te nie są pozbawione wad, na przykład związki PROTAC ze względu na rozmiar nie mogą przekroczyć bariery krew–mózg, ich synteza chemiczna jest skomplikowana, czy też mogą prowadzić do niezamierzonej degradacji białek innych niż docelowe, wywołując tym skutki uboczne. Powadzone są obecnie liczne badania nad optymalizacją działania klejów molekularnych i związków PROTAC, a także nad identyfikacją nowych ligaz E3, które mogą pośredniczyć w celowanej degradacji, i ich białek – celów do zniszczenia. Dzięki poszerzeniu możliwości tej techniki, naukowcy mogą opracować nowe terapie, zarówno schorzeń cywilizacyjnych, jak i chorób rzadkich.