

# EL PROTEOSOMA: SU INTERREGULACIÓN CON EL CITOESQUELETO DE ACTINA Y SUS ALTERACIONES EN PATOLOGÍAS\*

David Martínez Pastor, Karla A. Gómez Ceja, Marcela Sosa Garrocho y Marina Macías Silva

Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México. \*Autor de correspondencia correo E: dpastor@ifc.unam.mx

## RESUMEN

La proteostasis u homeostasis de las proteínas es un proceso importante para la función normal de las células, en el cual la degradación de proteínas es clave. El Sistema Ubicuitina-Proteosoma (UPS) es uno de los principales mecanismos a cargo de la degradación de múltiples proteínas celulares. El funcionamiento adecuado y eficiente del UPS depende de una fuerte y estricta regulación en su ensamblado. Cambios en la polaridad celular y en la dinámica del citoesqueleto de actina se relacionan con la regulación en la estabilidad de las proteínas, al controlar a algunos componentes del UPS. Esta revisión resume y analiza la información reciente sobre la interregulación del proteosoma con la dinámica del citoesqueleto de actina con el fin de entender su relevancia en la homeostasis celular. Además, incluye evidencia de que el mal funcionamiento del UPS conduce al desarrollo de diversas enfermedades humanas, por lo que actualmente el proteosoma se considera un importante blanco terapéutico.

## ABSTRACT

The proteostasis or protein homeostasis is an important process for normal cellular function in which the protein degradation is crucial. The Ubiquitin-Proteasome System (UPS) degrades many proteins in cells. UPS efficient function depends on a tight regulation of UPS assembly. Recently, changes on cell polarity and actin cytoskeleton dynamics have been shown to be related to protein stability regulation by controlling some UPS components. This review describes and analyzes recent information on the interregulation between the proteasome and actin cytoskeleton dynamic to understand its relevance in cellular homeostasis. Furthermore, it gives evidence UPS malfunction leads to the development of various human diseases; thus, the proteosome is currently considered an important therapeutic target.

## INTRODUCCIÓN

La proteostasis u homeostasis del proteoma (proteínas totales de la célula) es un proceso que mantiene el buen funcionamiento de las proteínas y de las células. La proteostasis implica complejos procesos de regulación que influyen en el destino de una proteína desde su síntesis hasta su degradación. En la proteostasis, las chaperonas y moléculas acompañantes son proteínas que participan en la regulación de la síntesis de proteínas

y en los procesos postraduccionales, así como en el plegamiento, el ensamblado de complejos y en los procesos de degradación de las proteínas. La degradación de proteínas es un proceso esencial para el buen funcionamiento celular y es llevada a cabo en organismos eucariotas por diferentes mecanismos; uno de los principales es el sistema ubiquitina-proteosoma (UPS, del inglés *ubiquitin-proteasome system*). El UPS no solo es esencial para la homeostasis general de las proteínas (proteostasis) y de los aminoácidos, sino que

## PALABRAS

### CLAVE:

Sistema Ubicuitina-Proteosoma (UPS), citoesqueleto de actina, estabilidad de proteínas, proteosoma.

### KEY WORDS:

Ubiquitin-Proteasome System (UPS), actin cytoskeleton, protein stability, proteosome.

además controla una gran cantidad de procesos celulares tan esenciales como el ciclo celular, la replicación del DNA (del inglés, *deoxyribonucleic acid*), la transcripción, la transducción de señales y las respuestas al estrés, entre otras. El UPS es crucial para la homeostasis celular, ya que su mal funcionamiento contribuye al desarrollo de diversas enfermedades humanas, como son el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas y las infecciosas, entre otras. La inhibición de la función del proteosoma mediante compuestos químicos puede desencadenar diferentes mecanismos que inducen muerte celular; sin embargo, algunos inhibidores sirven también como herramientas para estudiar y comprender diversos aspectos de la fisiología celular y de los mecanismos implicados en el desarrollo de algunas enfermedades relacionadas con el mal funcionamiento del proteosoma.

El sistema UPS reconoce a las proteínas que han sido modificadas químicamente por ubiquitinación, un proceso que se lleva a cabo a través de varias reacciones químicas en forma ordenada y secuencial, catalizadas por enzimas que activan y fijan a una o más proteínas de ubiquitina a una proteína blanco; cabe señalar que la ubiquitina es una proteína globular pequeña de 8 kDa, que es ubicua en los eucariontes. La unión covalente de la ubiquitina o de polímeros de ubiquitina a las proteínas blanco puede causar su relocalización a diferentes sitios en la célula, modificar su actividad, o bien promover o evitar uniones entre proteínas, aunque principalmente es considerada como una señal para la degradación de las proteínas a través del proteosoma.

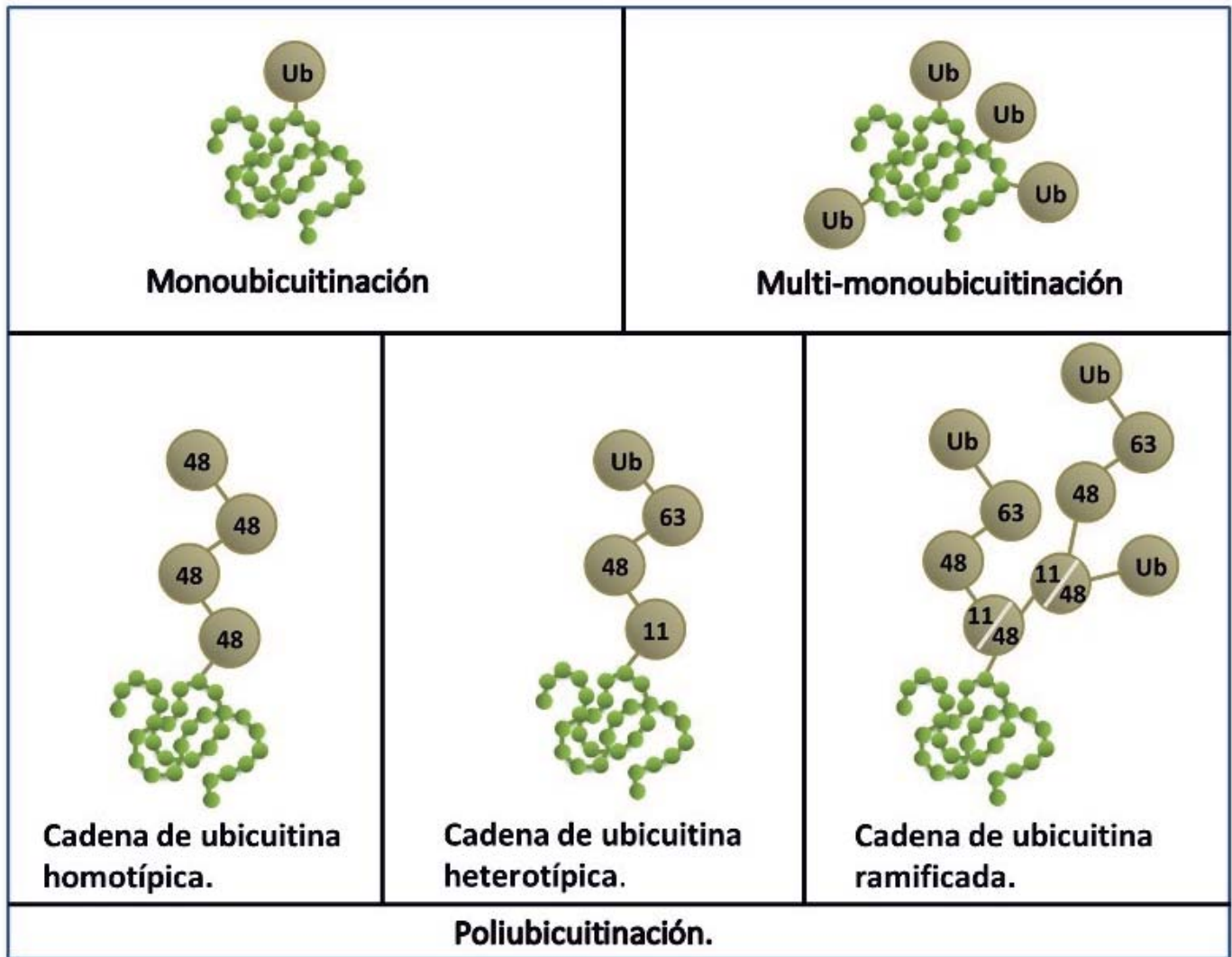
El proteosoma es un gran complejo proteico, compuesto principalmente por dos subcomplejos diferentes: el 20S y el 26S, en donde la S es la abreviatura de *Svedberg* que corresponde al coeficiente de sedimentación de una partícula o macromolécula; S es una unidad de medida de tamaño que se utiliza en la centrifugación. La localización subcelular del proteosoma depende del estado fisiológico de la célula y se distribuye tanto en el citoplasma como en el núcleo. Además, diversas modificaciones postraduccionales (PTMs, del inglés *post-translational modification*), es decir, la adición covalente de diferentes grupos químicos, regulan al proteosoma para su adecuado ensamblado y funcionamiento. En el 2004, el Premio Nobel fue otorgado a los descubridores de la ubiquitinación, los investigadores Aaron Ciechanover, Avram Herskó e Irwin Rose. Este reconocimiento deja clara la importancia de este proceso.

Las células pueden presentar diferentes morfologías, así como una distribución diferencial de las moléculas presentes en su membrana plasmática

(polaridad celular), dependiendo del tejido al que pertenezcan. La morfología y la polaridad celular dependen de la organización de su citoesqueleto, que es una compleja red de proteínas que pueden organizarse en diferentes estructuras tridimensionales. En particular, el citoesqueleto de actina está formado principalmente por la forma filamentosa de la proteína actina (F-actina), que es la forma polimérica de la actina. La actina es una proteína globular (G-actina) que se puede organizar en polímeros (F-actina) de diferentes longitudes. Reportes recientes muestran que el UPS puede controlar la polaridad celular al regular la dinámica del citoesqueleto de actina, es decir, su transición entre los estados de G-actina y F-actina. Además, los cambios en la dinámica del citoesqueleto de actina se relacionan con la regulación de la estabilidad de ciertas proteínas, como por ejemplo, la F-actina puede secuestrar a ligasas de ubiquitina tipo E3, que son enzimas que catalizan la ubiquitinación, impidiendo así la poliubiquitinación y la degradación de sus proteínas blanco. Por lo tanto, este artículo se ha enfocado en una de las áreas menos estudiadas del UPS que implica la interregulación del proteosoma con el citoesqueleto de actina, así como en describir la relación que existe entre las alteraciones en el funcionamiento del proteosoma y el desarrollo de algunas enfermedades.

### Sistema Ubiquitina-Proteosoma (UPS)

El UPS es un sistema complejo que actúa mediante una serie de enzimas específicas que activan y unen moléculas de ubiquitina a una proteína blanco, mediante el proceso de ubiquitinación. La ubiquitinación consiste en la unión covalente de una molécula de ubiquitina a un residuo de lisina (Lys o K) presente en una proteína blanco, a través de reacciones químicas catalizadas por las enzimas E1, E2 y E3 que activan y transfieren a las moléculas de ubiquitina de una a otra hasta que llega a la proteína blanco, que es la que será reconocida por el proteosoma para su degradación. La ubiquitinación se puede presentar como monoubiquitinación (unión de una sola molécula de ubiquitina), multi-monoubiquitinación (unión de varias ubiquitinas a distintos sitios) o poliubiquitinación (unión de una cadena de poliubiquitinas de diferente longitud) (Fig. 1). La principal señal de degradación de una proteína por el proteosoma es la formación de cadenas de poliubiquitina unidas a la proteína blanco; sin embargo, en algunos casos, la monoubiquitinación de la proteína blanco puede ser una marca suficiente para el reconocimiento de las proteínas ubiquitinadas por el proteosoma. De esta manera, el proteosoma funciona como



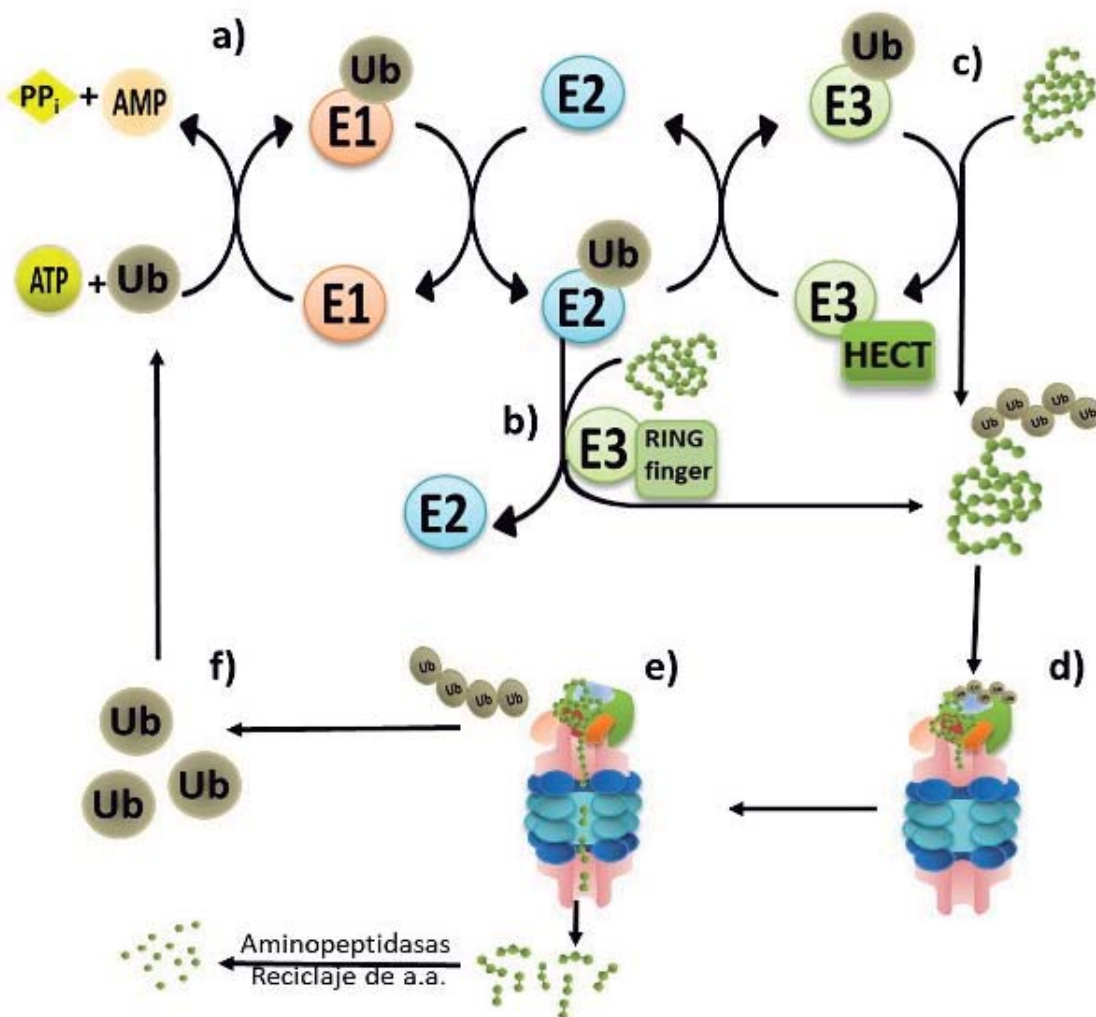
**Figura 1. Representación esquemática de los diferentes tipos de ubiquitinación que puede presentar una proteína blanco.** Las modificaciones de los sustratos van desde la adición de una sola molécula de ubiquitina (monoubicuitinación) hasta complejas cadenas poliméricas de ubiquitina (poliubiquitinación) y los diferentes tipos de ubiquitinación suelen provocar distintos efectos en las proteínas modificadas.

un modulador del proteoma eucariota y degrada numerosas proteínas reguladoras, así como polipéptidos dañados o mal plegados (1).

En la mayoría de las proteínas blanco se ha determinado que la primer ubiquitina de la cadena de poliubiquitinas es conjugada, a través de su residuo de glicina 76 (Gly76 o G76) de su extremo C-terminal, con el grupo amino ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>) libre de un residuo de lisina presente dentro de la cadena polipeptídica blanco o sustrato (2). La poliubiquitinación inicia cuando el extremo C-terminal de una segunda molécula de ubiquitina se une covalentemente a una de las siete lisinas (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63) presentes en la primer molécula de ubiquitina unida a la proteína blanco. Este proceso de adición de ubiquitinas se repite

sucesivamente para generar cadenas de poliubiquitina de diferente longitud unidas a las proteínas blanco (2). La poliubiquitinación generada por la unión de varias ubiquitinas, a través de sus K48 o sus K29, es la que está asociada principalmente con la degradación de proteínas vía el proteosoma (2).

En el UPS, la ubiquitina se activa primero por la enzima activadora de ubiquitina (E1) en presencia de ATP (adenosín trifosfato); posteriormente, la ubiquitina se transfiere desde la enzima E1 a la enzima conjugadora de ubiquitina E2. La enzima E2 transporta, transitoriamente, la molécula de ubiquitina activada y la puede transferir directamente a la proteína blanco, la cual está específicamente unida a un miembro de la familia de las proteínas



**Figura 2. El Sistema Ubicuitina-Proteosoma (UPS).** **a)** La ubiquitina (Ub) es primero activada por la enzima E1 activadora de Ub en presencia de ATP; posteriormente, la Ub es transferida de E1 a la E2 conjugadora de Ub. **b)** Las ligasas E3 de Ub de la familia RING finger reclutan a E2 y a un sustrato para transferir la Ub de E2 al sustrato. **c)** Para las ligasas E3 de Ub tipo HECT, la catálisis involucra la unión covalente de la Ub a la E3 antes de la unión sustrato. **d)** Los sustratos ubiquitinados interactúan con múltiples receptores para Ub en el proteosoma. **e)** En este acoplamiento el sustrato o uno de sus extremos está más cercano a la entrada del proteosoma, acelerando el inicio de la translocación y la consiguiente degradación en péptidos cortos que luego se descomponen en aminoácidos por las aminopeptidasas (APP). Las moléculas de Ub son eliminadas del sustrato por las enzimas deubiquitininas (DUB) antes de la degradación del sustrato en el proteosoma. **f)** Las moléculas de Ub libres se reciclan para otra ronda de ubiquitinación.

conocidas como ligasas de ubiquitina E3 (Fig. 2). Esto ocurre cuando la enzima E3 pertenece a la familia de ligasas tipo *RING finger*; así la ligasa E3 transfiere la ubiquitina activada de E2 a un residuo de lisina de la proteína blanco o a una ubiquitina de la cadena de poliubiquitinas. Dentro este proceso de marcaje de las proteínas, un punto importante es el reconocimiento específico de la proteína blanco por una de la amplia variedad de enzimas tipo E3, de las cuales se han identificado más de 600 isoformas en humanos. En el caso de las ligasas E3 que contienen un dominio HECT, la ubiquitina

activada se transfiere primero a la ligasa E3, antes de conjugarse con el sustrato unido a E3. Este mecanismo de tres pasos inicia en todas las reacciones de ubiquitinación conocidas, independientemente de si la ubiquitina unida a la proteína blanco promoverá su proteólisis a través del proteosoma, su endocitosis, o algún otro destino (3).

La proteína blanco, una vez ubiquitinada, se une al complejo del proteosoma 26S y ahí se degrada en péptidos cortos; éstos se liberan y posteriormente se descomponen en aminoácidos por acción de las aminopeptidasas (APP), las cuales son enzimas que

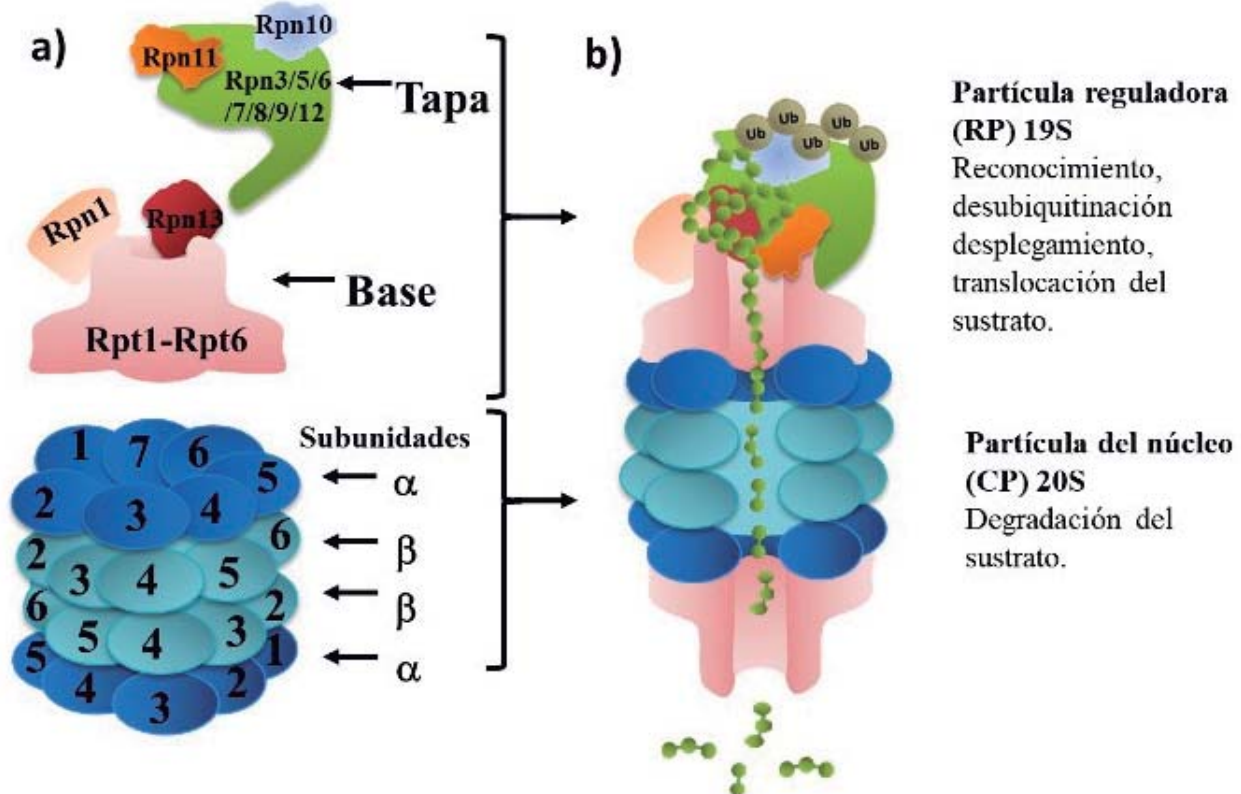
cortan los enlaces peptídicos entre los aminoácidos, y finalmente los aminoácidos son reciclados. Las moléculas de monoubiquitina y poliubiquitina suelen ser eliminadas de la proteína blanco en el proteosoma, por enzimas deubiquitininas (DUBs), justo antes de la degradación del polipéptido. Con relación a esto, la ubiquitinación puede modularse mediante aproximadamente 100 diferentes DUBs que eliminan o recortan las cadenas de ubiquitina de la proteína ubiquitinada, permitiendo así un reciclaje de las moléculas de ubiquitina (4, 5).

### Estructura, ensamblado y localización subcelular del proteosoma

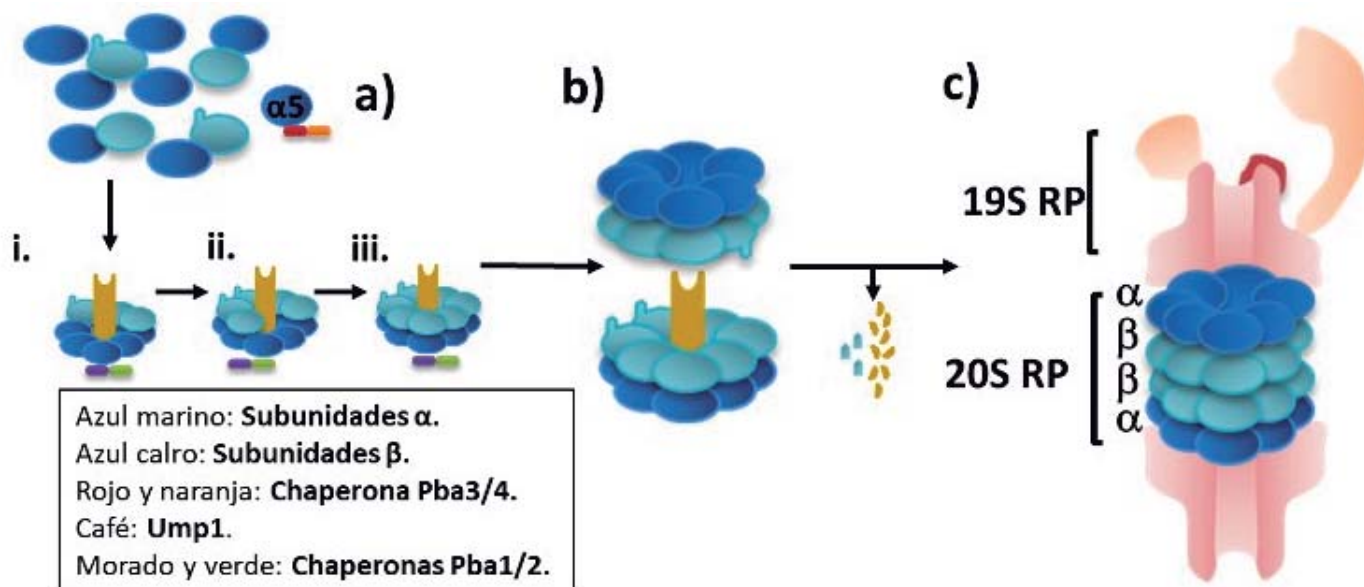
El proteosoma eucariótico 26S es un gran complejo proteico de aproximadamente 2.5 mega daltones (MDa), conformado por múltiples subunidades que degradan a las proteínas previamente marcadas con ubiquitina en la célula. Este complejo proteolítico consta de dos subcomplejos diferentes: la partícula del núcleo 20S (CP, del inglés *core particle*) y la partícula reguladora 19S (RP, del inglés *regulatory particle*). La RP puede estar posicionada en uno o

ambos extremos de la CP, incorporando al proteosoma una estructura de cubierta o tapa simple (RP1-CP) o de tapa doble (RP2-CP), respectivamente (Fig. 3) (3). La CP contiene los sitios proteolíticos del proteosoma; mientras que la RP funciona para reconocer, desplegar, desubiquitinar y luego translocar a la proteína blanco a la cámara interna de degradación de la CP. Cabe mencionar que aunque no se ensamble el complejo 26S, el proteosoma tiene actividad catalítica pero no reconoce a las proteínas ubiquitinadas.

La RP comprende dos subcomplejos, la base y la tapa. La base se conforma por tres subunidades (no-ATPasas): la proteína Rpn2, las subunidades motoras Rpt1-Rpt6 y las subunidades de unión a ubiquitina Rpn1 y Rpn13, las cuales proporcionan múltiples sitios de unión para la ubiquitina y para las proteínas similares a la ubiquitina (UBL, del inglés ubiquitin-like proteins); mientras que la tapa se encuentra conformada por las proteínas Rpn3, Rpn5, Rpn6, Rpn7, Rpn8, Rpn9, Rpn12 y Sem, y la DUB Rpn11. El receptor de ubiquitina Rpn10 se encuentra junto con la tapa, pero no se considera parte de la base ni de la tapa, sino que sirve de puente entre



**Figura 3. Características estructurales del proteosoma. a)** El proteosoma 26S se conforma por dos subcomplejos, las subunidades de la tapa y de la base (parte superior), las cuales a su vez están conformadas por la interacción de varias proteínas. El anillo catalítico está conformado en su mayoría por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ . **b)** En el proteosoma maduro, la partícula reguladora (RP) 19S y la partícula del núcleo (CP) 20S presentan funciones específicas.



**Figura 4. Ensamblado del proteosoma 20S.** **a)** Formación del anillo  $\alpha$  y del anillo  $\beta$ : Un anillo  $\alpha$  se forma con la ayuda de la chaperona Pba3/Pba4 (específicamente a la subunidad  $\alpha 5$ ). El anillo  $\alpha$  sirve de plataforma para el ensamblado del anillo  $\beta$ . **i.** El complejo intermediario 15S contiene un anillo  $\alpha$  completo, las subunidades  $\beta 2, \beta 3, \beta 4$  y dos chaperonas: Pba1/Pba2 (morado y verde) y Ump1 (café). **ii.** El complejo intermediario  $\beta 7$  está compuesto por un anillo  $\alpha$  completo, un anillo  $\beta$  incompleto (sin la subunidad  $\beta 7$ ), Pba1/Pba2 y Ump1. **iii.** La mitad del proteosoma tiene un anillo  $\alpha$  y un anillo  $\beta$  completos, pero todavía está asociado con las chaperonas Pba1/Pba2 y Ump1. **b)** La dimerización de los semiproteosomas forman el preholoproteosoma que todavía es inmaduro. En el proteosoma maduro se produce el procesamiento autocatalítico de los propéptidos de la subunidad  $\beta$  y la degradación de la chaperona Ump1. Las chaperonas Pba1/Pba2 se liberan al madurar el proteosoma. **c)** Este proceso produce un CP funcional capaz de degradar a las proteínas ubiquitinadas. La subunidad 19S RP se sitúa a los extremos de la subunidad 20S CP en forma de un barril compuesto de dos subunidades  $\alpha$  y dos subunidades  $\beta$ .

ambos subcomplejos para atrapar a los sustratos proteicos para ejercer la fuerza de tracción mecánica para el desdoblamiento y posteriormente para translocar a la proteína desdoblada a la partícula del núcleo (6).

En la estrecha cámara proteolítica del CP se produce la degradación de las proteínas blanco; ésta está conformada de un cilindro en forma de barril que contiene subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  dispuestas en cuatro anillos heteroheptaméricos apilados. Los dos anillos  $\alpha$  exteriores funcionan como una puerta que impide el acceso incontrolado a la cámara proteolítica dentro de los dos anillos  $\beta$ . La puerta está formada por las colas aminoterminales (N) fuertemente entrelazadas de las subunidades  $\alpha$ , que bloquean la entrada de sustratos. Entre las siete subunidades  $\beta$ , sólo  $\beta 1, \beta 2$  y  $\beta 5$  tienen actividad proteolítica:  $\beta 1$  del tipo caspasa (enzima que corta a las proteínas en los enlaces peptídicos después de los residuos de ácido aspártico),  $\beta 2$  del tipo tripsina (enzima que corta a las proteínas en los enlaces peptídicos después de los residuos de lisinas o argininas) y  $\beta 5$  del tipo quimotripsina (enzima que corta a las proteínas preferentemente en los enlaces peptídi-

cos antes de residuos hidrofóbicos como tirosina, triptófano y fenilalanina) (6). El ensamblado del proteosoma es un proceso complejo que involucra una serie de pasos que incluyen la formación del anillo  $\alpha$  y el anillo  $\beta$ , la dimerización del proteosoma medio y su maduración (Fig. 4). La estructura del CP está conformada por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , que se sintetizan como polipéptidos libres (6, 7).

El proteosoma 26S es responsable de la degradación de proteínas tanto en el citosol como en el núcleo; sin embargo, el proteosoma también se ha encontrado asociado con los centrosomas, con algunos elementos del citoesqueleto (por ejemplo, con los filamentos intermedios, filamentos de actina y complejos de actina-miosina) y en la superficie exterior del retículo endoplásmico y de la envoltura nuclear. En mamíferos se ha encontrado que los proteosomas son transportados lentamente del citosol al núcleo a través de la envoltura nuclear intacta, pero son llevados principalmente al núcleo durante la mitosis, cuando la envoltura nuclear se desintegra y cuando se vuelve a ensamblar (8, 9).

La localización del proteosoma depende del tipo de célula, de la fase del ciclo celular y de las con-

diciones metabólicas; por ejemplo, en la levadura *S. pombe* en fisión, el proteosoma se localiza en la periferia nuclear durante toda la mitosis, mientras que se dispersa en el núcleo durante la primera división meiótica. Sin embargo, el proteosoma se observa en la interfaz entre los dos núcleos durante la segunda división meiótica (10). La proporción relativa del proteosoma nuclear/citoplásmico varía mucho y probablemente depende del tipo de célula, así como de las condiciones de crecimiento, la densidad celular, la fijación y el método de ensayo utilizado para su detección (11).

El proteosoma está distribuido por toda la célula y desempeña funciones importantes en ciertos centros proteolíticos dentro de la célula, como por ejemplo en el centrosoma, que es la estructura en donde se inicia la nucleación para el ensamblado de los microtúbulos, los cuales son componentes del citoesqueleto formados por polímeros de la proteína tubulina. Muchas veces las proteínas celulares destinadas a la degradación son depositadas en el centrosoma a través del sistema de transporte mediado por microtúbulos (11, 12).

El proteosoma es responsable también de la degradación de proteínas en el núcleo y su localización nuclear se debe a que algunas de las subunidades contienen señales de localización nuclear (NLS, del inglés *nuclear localization signals*). En el núcleo, el proteosoma puede asociarse con estructuras denominadas cuerpos PML (del inglés, *promyelocytic myeloid leukemia*). Los cuerpos PML son estructuras enriquecidas con la proteína PML, presentes en el núcleo y en la zona pericentrosomal del citoplasma, que pueden funcionar como centros proteolíticos de la célula ya que están enriquecidos de componentes del UPS. En condiciones de una proteólisis deteriorada, el proteosoma y las proteínas ubicuitinadas se acumulan aún más en estos lugares, formando agregados proteicos organizados denominados agregosomas (12).

### **Vías de señalización y modificaciones postraduccionales que controlan al proteosoma**

Poco se sabe sobre la regulación del proteosoma por distintas vías de señalización. Sin embargo, numerosos estudios realizados en diferentes tipos de células, indican que varias subunidades del proteosoma son modificadas por PTMs, pero en el caso de muchas de ellas ni siquiera se ha descifrado su efecto sobre el proteosoma, ni se ha identificado el sitio o la subunidad modificados. Por ejemplo, en la levadura, la localización del proteosoma cambia drásticamente durante el envejecimiento, posiblemente en respuesta a la alteración de los requisitos de actividad del proteosoma, mientras

que las células jóvenes en división son capaces de relocalizar eficientemente a los proteosomas del núcleo al citoplasma y de formar gránulos de almacenamiento de proteosomas (PSG del inglés, *proteasome storage granules*) que son estructuras citoplasmáticas similares a los agregados de proteínas dañadas. En contraste, las células viejas en división son menos eficientes en la relocalización del proteosoma y tienen menos PSG. Estos cambios en la localización del proteosoma se relacionan con la acetilación N-terminal de sus subunidades, por las N-acetil-transferasas (13). En las enfermedades neurodegenerativas es común la formación de agregados proteicos anormales y tóxicos, que se consideran el factor principal de la aparición y progresión de estas enfermedades. Las neuronas envejecidas presentan un marcado aumento de los niveles de proteínas agregadas, lo que puede conducir a un aumento de la muerte celular en regiones específicas del cerebro (14).

Diversas enzimas, como algunas cinasas (catalizan la fosforilación o transferencia de grupos fosfato del ATP a moléculas blanco como las proteínas) y fosfatasas (catalizan la desfosforilación o remoción de grupos fosfato de moléculas fosforiladas como las proteínas) regulan al proteosoma para su adecuado ensamblado. Estas enzimas pueden formar parte de complejos reguladores que interactúan con el proteosoma y que dan lugar a complejos proteosómicos funcionalmente distintos. En este sentido, el interferón gamma regula el aumento de la función de tres subunidades catalíticas del proteosoma 20S, mientras que disminuye el nivel funcional del proteosoma 26S al desestabilizarlo por la desfosforilación de la subunidad C8 (15).

No está del todo claro si la fosforilación diferencial de las subunidades del proteosoma modula su actividad y si de esta manera también se regula la degradación de las proteínas. Lo que se conoce es que la fosforilación es esencial para el ensamblado del RP con el CP. Una de las primeras cinasas que se reportó que fosforilaba a las subunidades del proteosoma es la proteína cinasa dependiente del AMP cíclico (PKA), específicamente a la serina 120 (S120) de la subunidad motora Rpt6, la cual es desfosforilada por la proteína fosfatasa 1- $\gamma$  (PP1 $\gamma$ ) (15). En este sentido, en la enfermedad de Huntington, una enfermedad neurodegenerativa causada por la expansión de una repetición de la secuencia CAG (C=Citocina, A=Adenina, G=Guanina) en el gen de la Huntingtina (HTT), se produce una regulación anormal de la vía del cAMP/PKA. Por lo tanto, una menor actividad de la PKA se asocia con el deterioro del proteosoma; dado que las subunidades reguladoras de la PKA (PKA-Rs) son sustratos del proteosoma, el dete-

rioro del proteosoma provocado por la alteración en el gen HTT causa la acumulación de PKA-Rs y en consecuencia, se inhibe la actividad de la PKA. Por el contrario, la activación de la PKA aumenta la fosforilación de la subunidad motora Rpt6, lo cual regula al proteosoma 26S, posiblemente facilitando la interacción entre Rpt6 y la subunidad  $\alpha 2$  de CP (16). Por otro lado, la fosforilación de la proteína Rpn6, que es parte de la tapa de la RP, se asoció con un aumento en los niveles del proteosoma 26S, especialmente del RP-CP, lo que coincide con la función propuesta de Rpn6 como mediador de la asociación RP-CP (17). El primer indicio de que el ensamblado de las subunidades del RP podría estar altamente regulado se logró mediante la identificación de una chaperona tipo RAC (del inglés, *RP assembly chaperones*), llamada Adc17, que ensambla la RP de la levadura. Adc17 fue identificada como un potente supresor de los defectos del proteosoma causados por una mutación en Rpt6 del tipo termosensible; es decir que solo se presenta un fenotipo en respuesta a cambios en la temperatura. La vía que controla la expresión de Adc17 inducida por el estrés, como el choque térmico y el estrés de retículo endoplasmático (RE), implica la señalización a través de la proteína cinasa de proteínas llamada TOR (del inglés, *target of rapamycin*), la cual es un complejo que responde al estrés y a los niveles de nutrientes necesarios para el crecimiento celular; TOR adapta el metabolismo a las necesidades de la célula, y la disponibilidad de aminoácidos es uno de los desencadenantes de su activación. La inhibición del complejo 1 de TOR (TORC1) es suficiente para aumentar los niveles de Adc17 y esta inducción depende de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAP cinasa) llamada Mpk1 (del inglés, *mitogen-activated protein kinase 1*). Además, un aumento coordinado de las RAC, por ejemplo, Nas2, Nas6, Hsm3 y Rpn14, es esencial para aumentar el ensamblado del proteosoma y para la supervivencia de la célula en condiciones difíciles que requieren una mayor capacidad proteolítica. Mpk1 coordina la expresión de las RAC y de las subunidades del proteosoma a nivel transcripcional, para aumentar la abundancia del proteosoma y mejorar la proteólisis. La proteína mTOR de mamíferos y ERK5 (del inglés, *extracellular signal-regulated kinase 5*), también conocida como MAPK7 (homólogo de Mpk1), regulan a las RAC y el ensamblado del proteosoma 26S en las células de mamíferos (3).

La vía del complejo de reconocimiento de dominios transmembranales (TRC, del inglés *TMD recognition complex*) controla la inserción en la membrana de las proteínas ancladas a lípidos y

también se ha propuesto que regula el ensamblado de la CP. La eliminación del TRC40 o de la proteína BAG6, dos componentes del TRC en mamíferos, conduce a defectos en el ensamblado de la CP. Con relación a esto, se ha propuesto que TRC40 y BAG6 pueden facilitar la incorporación de las subunidades  $\beta$  al anillo  $\alpha$  o bien estabilizar a los intermediarios del ensamblado de la CP (3).

Por otra parte, un RNA no codificante del tipo microRNA llamado miR-101 también regula el ensamblado del proteosoma. El miR-101 se dirige al RNAm que codifica a la proteína POMP, la chaperona de ensamblado del CP, para disminuir rápidamente sus niveles y así inhibir el ensamblado del proteosoma. El miR-101 es un potente supresor de tumores y sus acciones sugieren una posible relación entre el ensamblado del proteosoma y el cáncer (3). La fosfatasa que contiene un dominio de ubiquitina llamada UBLCP1 (del inglés, *ubiquitin-like domain-containing CTD phosphatase 1*), regula el ensamblado del proteosoma mediante la unión a Rpn1 a través de su dominio UBL, y al desfosforilar a la subunidad Rpt1 de la superfamilia de ATPasa AAA+ (del inglés, *ATPases associated with diverse cellular activities*). Además, UBLCP1 es una fosfatasa del proteosoma que regula el ensamblado del proteosoma nuclear, especialmente la asociación entre el RP y el CP (18, 19). Por otro lado, la ADP-ribosilación es una PTM que implica la transferencia de ADP-ribosa a un sustrato y se ha visto que regula a una proteína de unión al proteosoma, la PI31. La proteína PI31 unida a ADP-ribosa se asocia selectivamente con dos RAC, dp27 y dS5b, para promover el ensamblado del proteosoma 26S (3).

### **Interregulación entre el proteosoma y el citoesqueleto de actina**

La actina es una proteína altamente conservada entre los eucariotas; participa en diversos procesos biológicos, como el transporte de vesículas, la endocitosis, la motilidad celular, la citocinesis y en determinar la forma y la polarización de la célula. La actina funciona en su forma filamentosa (F-actina) y como monómeros globulares (G-actina). La polimerización de la actina en F-actina puede ser iniciada por cualquiera de los dos factores de nucleación principales: 1) las forminas, que inician la formación de filamentos y haces largos y no ramificados de actina, y 2) los complejos Arp2/3 que inducen la formación de mallas ramificadas de filamentos de actina.

Existen tres isoformas de actina en los vertebrados: la esquelética o  $\alpha$ -actina, y las no musculares como las  $\beta$  y  $\gamma$ -actinas (20). Aunque la actina



es una de las proteínas más abundantes en el citosol de las células de mamíferos, su presencia en el compartimento nuclear ha tomado relevancia en los últimos años, tras descubrirse que las tensiones celulares inducen la localización nuclear y alteran la estructura de la actina, de manera que su importación y exportación nuclear está altamente regulada. En el núcleo, la actina puede funcionar como monómero o polímero, formando incluso estructuras filamentosas muy largas. Por ejemplo, en la línea celular de fibroblastos embrionarios de ratón NIH3T3 se pueden ensamblar largos filamentos de la actina en estructuras organizadas tipo red dentro de compartimentos nucleares intactos en respuesta a ligandos extracelulares (20). La actina nuclear regula la actividad de las RNA polimerasas, de varios factores de transcripción específicos, de ciertos complejos de remodelación de la cromatina y de las desacetilasas de histonas o HDACs (enzimas que eliminan los grupos acetilo de los residuos de lisina en las histonas), influyendo en la programación transcripcional y en la reparación de daños en el DNA. Además, la actina interviene en el movimiento, en la organización de la cromatina y participa en la meiosis y la mitosis. La estructura y la integridad de la envoltura nuclear y de los compartimentos subnucleares también están reguladas por la actina nuclear (21).

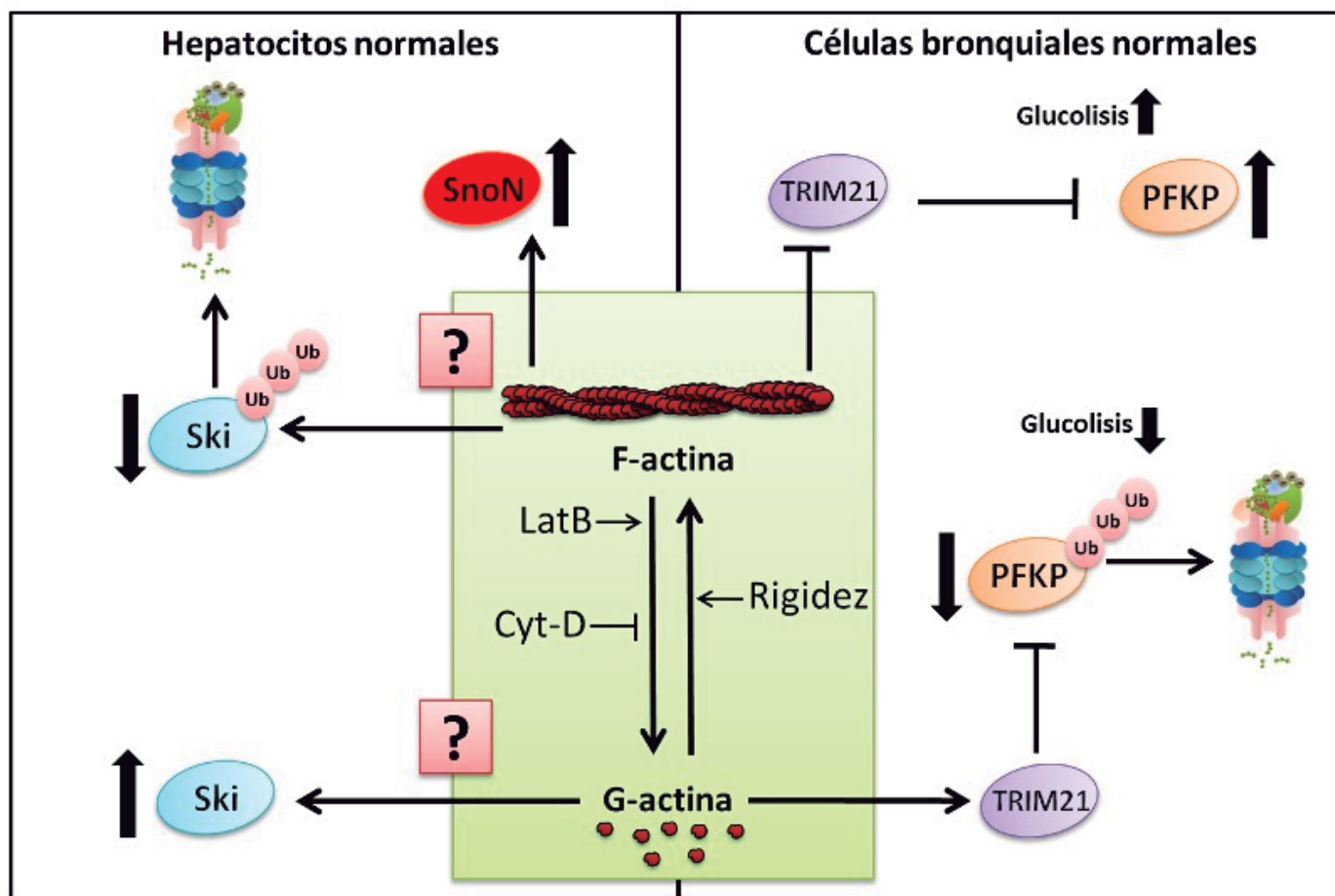
Es posible que tanto en el citoplasma como en el núcleo exista una interacción entre el proteosoma y la actina. De esta manera, la conexión entre la función proteosomal y el citoesqueleto de actina ha sido de interés para algunos grupos de investigación en años recientes. En este sentido, se ha reportado que el UPS regula la dinámica de la actina y controla la polaridad celular. Por ejemplo, en las neuronas, el proteosoma se elimina activamente de los conos de crecimiento para aumentar la acumulación de proteínas que desencadenan la polimerización del citoesqueleto y, por tanto, promueven su extensión. Además, la inhibición del proteosoma desencadena la formación de múltiples axones, por lo que las neuronas pierden su fenotipo polarizado (22, 23). Mientras que en los linfocitos T, la segregación asimétrica del proteosoma en las células hijas es mediada por la proteína de polaridad PKC (cinasa de serinas y treoninas) necesaria para promover su diferenciación (24). En este sentido, los linfocitos llevan a cabo las respuestas humorales mediante el reconocimiento de antígenos fijados en la superficie de las células presentadoras de antígenos, como las células dendríticas foliculares o los macrófagos, formando un dominio conocido como sinapsis inmunitaria. Con relación a esto, Ibañez-Vega *et al.* en el 2019 investigaron si la distribución polarizada del pro-

teosoma y su actividad regulan el establecimiento de una sinapsis inmune funcional, reportando que los linfocitos B en reposo acumulan al proteosoma activo en su centrosoma, que es reclutado a la sinapsis inmune tras la activación (24).

El inmunoproteosoma es importante principalmente en las células del sistema inmune y se encarga de degradar proteínas ubicuitinadas en el citoplasma, principalmente en células expuestas a un estrés oxidativo o a estímulos proinflamatorios. El uso de inhibidores del proteosoma ha ayudado a profundizar en su estudio. La inhibición farmacológica de la actividad quimiotróptica del proteosoma, utilizando MG132 o epoxomicina, induce una acumulación de actina en el centrosoma, impidiendo su desprendimiento del núcleo y su posterior relocalización en la sinapsis inmune junto con los lisosomas. En consecuencia, en estas condiciones, la extracción y presentación de antígenos se ven severamente afectadas. La inhibición de la actividad del proteosoma también se asoció con una disminución del reclutamiento de actina y de los factores Arp2/3 en la membrana sináptica. Esta relación estrecha entre la función proteosomal y la actina conduce a una distribución de las proteínas de señalización en las células B que permite su buen funcionamiento (24).

Existen estudios que relacionan los cambios en la dinámica del citoesqueleto de actina con la regulación en la estabilidad de proteínas relevantes en la señalización y en distintos procesos celulares. En este sentido, Caligaris *et al.* reportaron un hallazgo novedoso sobre la estabilidad de dos co-factores transcripcionales: Ski y SnoN, ambos participan inhibiendo la vía de señalización de la citocina TGF- $\beta$ . Estas dos proteínas son reguladas diferencialmente por la adhesión celular y por cambios en la dinámica del citoesqueleto de actina en los hepatocitos normales por mecanismos que se sugiere que se pierden en las células de hepatoma. De manera interesante, mientras que la inhibición de la dinámica del citoesqueleto de actina por el tratamiento con citocalasina D (Cyt-D) induce una rápida y fuerte degradación de la proteína Ski, al mismo tiempo promueve la estabilización de la proteína SnoN (Fig. 5) (25, 26). Esta regulación diferencial mediada por el citoesqueleto de actina de las dos proteínas controla diferentes conjuntos de genes responsivos al TGF- $\beta$  en los hepatocitos normales, mientras que en las células de hepatoma la regulación de la estabilidad de las proteínas Ski y SnoN mediada por la dinámica del citoesqueleto de actina se pierde o se modifica profundamente (27).

Otro estudio interesante describe la regulación mecánica de la glucólisis a través de cambios en la



**Figura 5. Cambios en la dinámica del citoesqueleto de actina regulan la estabilidad de proteínas y su degradación vía el proteosoma. a)** En hepatocitos normales, la modulación de la dinámica del citoesqueleto de actina por el tratamiento con citocalasina D (Cyt-D) induce una rápida y fuerte degradación de la proteína Ski (cofactor transcripcional), mientras que se estabiliza la proteína SnoN (cofactor transcripcional). Promover un estado de G-actina conlleva a un aumento de la estabilidad de Ski. Sin embargo, el mecanismo molecular de cómo se llevan a cabo estos fenómenos no se conoce (signos de interrogación). **b)** Mecanismo molecular que regula la glicólisis por procesos mecánicos, la formación de la F-actina secuestra espacialmente a la ligasa E3 de ubiquitina TRIM21, reduciendo el acceso a su sustrato, la enzima PFKP, lo que resulta en una glucólisis elevada. En superficies de adhesión suaves que permiten la relajación del citoesqueleto de actina, la ligasa E3 se libera, la PFKP se degrada y disminuyen las tasas glucolíticas. Es interesante que estos mecanismos tanto en **a)** como en **b)** se pierdan en las células cancerosas.

arquitectura del citoesqueleto y mediante la degradación de la enzima fosfofructocinasa (PFK), específicamente la isoforma de PFKP, la cual es modulada por la ligasa E3 de ubiquitina llamada TRIM21. Esta ligasa E3 es una proteína que contiene un motivo tripartito, es decir que contiene tres dominios: un dominio *RING finger*, un dominio *B-box zinc finger* y una región *coiled-coil*. Este reporte muestra que la formación de la F-actina y de las fibras de estrés permite secuestrar espacialmente a TRIM21, reduciendo así su acceso a sustratos como la PFKP, lo cual resulta en un aumento sostenido de la glucólisis. En ciertas condiciones mecánicas como es la adhesión de células a sustratos suaves que per-

miten la relajación del citoesqueleto de actomiosina (asociación de la proteína miosina a la F-actina), la ligasa TRIM21 se libera, la PFKP se degrada y, por lo tanto, se reducen las tasas glucolíticas. Mientras que en las células transformadas de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLCs), la regulación mecánica de la glicólisis se pierde por la presencia de haces gruesos de F-actina que resisten los cambios en las señales mecánicas extracelulares (28). De esta manera, el control de la degradación de proteínas mediante el secuestro de ligasas E3 por el citoesqueleto puede ser un mecanismo generalizado de la proteostasis fisiológica que se altera durante la enfermedad (29).

## Alteraciones del proteosoma asociadas a patologías

Las proteínas actúan en una manera espacio-temporal muy precisa y el UPS es parte central de su regulación. La disfunción de este sistema favorece el progreso de diversas enfermedades humanas como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas e infecciosas, el síndrome metabólico, los desórdenes autoinmunes e inflamatorios, y las distrofias musculares, entre otros padecimientos. El UPS, además de ejercer un control en la abundancia de las proteínas, identifica y destruye proteínas aberrantes o con defectos en su plegamiento que pueden ser tóxicas para la célula. Los dos efectos más observados y desencadenados por un mal funcionamiento del proteosoma son la estabilización o acumulación de una proteína blanco (ganancia de función) o la remoción excesiva o incontrolable de alguna proteína (pérdida de función) (30).

En muchos tipos de cáncer, diferentes ligasas de ubiquitina tipo E3 están desreguladas por diferentes mecanismos, por lo que su expresión, así como la de sus proteínas blanco desencadenan una "sub-regulación" de las actividades supresoras de tumores y una "sobre-regulación" de las actividades pro-oncogénicas. Por ejemplo, en varias líneas celulares cancerosas, una mutación en MDM2 (ligasa de ubiquitina E3) favorece la acumulación y el incremento de la ubiquitinación y por lo tanto la degradación del supresor tumoral p53. De manera general p53 activa la expresión del gen *mdm2*, como parte de un circuito de retroalimentación autoregulatorio (31). En otro caso, la proteína asociada E6 (ligasa de ubiquitina E3), cuya actividad es sobreestimada por el virus del papiloma humano (VPH), promueve la destrucción de su blanco principal p53, promoviendo el desarrollo del tumor (32). La proteína APC (del inglés, *adenomatous polyposis coli*) regula la fosforilación y la ubiquitinación del co-regulador transcripcional  $\beta$ -catenina de la ruta Wnt. Un defecto en la función de APC conlleva a la patología poliposis adenomatosa familiar, la cual es una afección genética que se caracteriza por la aparición de más de 100 pólipos de colon adenomatosos (masas celulares que se desarrollan en la membrana mucosa del intestino grueso) y predispone a padecer cáncer colorrectal (33). El defecto en APC lleva a la acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo celular por una disminución en su degradación vía el proteosoma, lo que favorece señales de crecimiento celular. En otro estudio se muestra que mutaciones en la ligasa E3 de ubiquitina pVHL (del inglés, *von Hippel-Lindau tumor suppressor*) desencadenan tumores altamente vascularizados en riñón, páncreas y sistema nervioso central (33, 34).

Existen enfermedades relacionadas con fallas en la degradación de proteínas o con una acumulación aberrante de una proteína específica; por ejemplo, la proteína antigénica-1 de EBV (virus de Epstein-Barr) que está asociada a enfermedades como el linfoma de Burkitt, tiene una mutación que le da resistencia a la degradación por el UPS. Por otro lado, una mutación en el canal de cloro CFTR (del inglés, *cystic fibrosis transmembrane regulator*) produce su retención en el RE, donde es degradado rápida y eficientemente. Sin embargo, a pesar de que la proteína sigue siendo funcional, se evita que ésta llegue a la membrana celular, desencadenando el desarrollo de la fibrosis quística (33).

Muchas de las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la acumulación de proteínas mal plegadas que afectan la conectividad y la plasticidad neuronal; por ejemplo, en la enfermedad de Parkinson se encuentran en el cerebro acumulaciones aberrantes de las proteínas  $\alpha$ -sinucleína y sinfilina-1 (cuerpos de Lewis) (35). La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la acumulación de la proteína  $\beta$ -amiloides (formando placas extracelulares) y de la proteína tau hiperfosforilada. Estas enfermedades presentan además una excesiva generación de especies reactivas de nitrógeno (RNS) y especies reactivas de oxígeno (ROS) que contribuyen al daño y a la muerte celular (35, 36).

La pérdida del balance entre la ubiquitinación y la desubiquitinación también puede verse afectada y de esta manera alterar fuertemente los procesos celulares. Los desbalances en las actividades de las DUBs están involucrados en múltiples enfermedades como el cáncer, los desórdenes degenerativos y las infecciones microbianas. Por ejemplo, alteraciones en la desubiquitinasa USP7 da como resultado un fenotipo neurológico relacionado al Síndrome Schaaf-Yang, cuyos individuos muestran un desarrollo intelectual tardío y autismo (37, 38).

La actividad del proteosoma decrece durante el proceso de envejecimiento, ya sea por cambios en la expresión de algunos componentes o en la susceptibilidad proteolítica de sus sustratos. Los síndromes progeroides son enfermedades poco frecuentes que causan envejecimiento prematuro y acortan la esperanza de vida. En estos síndromes se observa la presencia de mutaciones que afectan las interacciones con las proteínas del sistema UPS; por ejemplo, la Anemia de Fanconi presenta una mutación que interfiere con la monoubiquitinación de la proteína FANCD2. Otros síndromes progeroides incluyen al Síndrome de Werner y al Síndrome de Rothmund-Thomson (38).

## Inhibidores químicos del proteosoma

La función del proteosoma es esencial para la homeostasis celular ya que regula diferentes procesos fisiológicos, por lo que al inhibir al proteosoma se pueden desencadenar diferentes mecanismos que inducen la muerte celular. Entre estos mecanismos se encuentran la inducción de estrés en el RE, la inhibición de la vía de NF- $\kappa$ B, la inducción de proteínas pro-apoptóticas y la inducción de autofagia. Hay diversos inhibidores del proteosoma que han servido como herramientas moleculares para estudiar y comprender aspectos de la regulación celular, los mecanismos de desarrollo de enfermedades y la vigilancia inmunitaria (39).


La mayoría de los inhibidores del proteosoma son derivados de péptidos que se unen al sitio catalítico de las subunidades  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 5. Aunque el proteosoma tiene muchos sitios activos, no es necesario inhibir a todos, tan solo con la inhibición del sitio  $\beta$ 5 o su mutación se provoca una gran reducción en su actividad. Los primeros inhibidores fueron los tripéptidos de aldehídos como el MG132, el cual inhibe la subunidad catalítica  $\beta$ 5. Este inhibidor es ampliamente usado en investigación por su bajo costo y su rápida acción reversible (40). El bortezomib (PS-341), un ácido dipéptido borónico, actúa como inhibidor reversible del sitio activo  $\beta$ 5 del proteosoma. En el 2003, el bortezomib fue aprobado por la FDA (del inglés, *food and drug administration*) para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple. El carfilzomib pertenece a los inhibidores clasificados como epoxicetonas y es usado solo o en combinación con inmunomoduladores para el tratamiento del mieloma múltiple recién diagnosticado (NDMM) y del mieloma múltiple refractario recidivante o refractario (RRMM). Las epoxicetonas son productos de la reacción química entre aldehídos y cetonas, con una función importante como inhibidores de la actividad quimiotróptica del proteosoma. El carfilzomib se une de manera irreversible a la subunidad  $\beta$ 5 del proteosoma, formando un aducto covalente en el sitio activo. El ixazomib es el primer inhibidor oral del proteosoma, el cual se une a la subunidad  $\beta$ 5 de manera reversible (41, 42). Así, el proteosoma está llamando la atención como un blanco farmacológico prometedor. Sin embargo, es importante considerar que los inhibidores del proteosoma aprobados para uso clínico presentan efectos secundarios, como son la neuropatía periférica y la toxicidad hematológica, así como fatiga, vómito, diarrea y disnea, entre otros (43).

## Conclusiones y perspectivas

El proceso coordinado que utiliza el UPS para la degradación de las proteínas ha revolucionado nuestro conocimiento de la degradación intracelular de las proteínas. Este sistema muestra un alto grado de especificidad hacia sus numerosos sustratos y durante mucho tiempo se creía que la actividad del UPS se limitaba al citosol, pero ahora se tiene bien clara su funcionalidad en el núcleo. Por otro lado, la regulación del proteosoma por diferentes vías de señalización para su adecuado ensamblado y su óptima funcionalidad es muy compleja; sin embargo, las modificaciones postraduccionales son un requisito fundamental para ambos procesos. Además, se ha demostrado que el UPS y la dinámica del citoesqueleto de actina cooperan en la regulación de la estabilidad de ciertas proteínas, secuestrando ligasas E3 de ubiquitina por la F-actina, e impidiendo a ligasas E3 realizar su acción de poliubiquitar a sus sustratos, evitando de esta manera su degradación vía el proteosoma. Sin embargo, la interacción de varios componentes del UPS con la actina abre un abanico de posibles mecanismos de acción, dejando un prometedor campo de estudio sobre este tema.

Es importante mencionar que la relevancia en comprender el funcionamiento y la regulación del UPS radica en dar solución a las condiciones patológicas que genera el mal funcionamiento de este sistema, como el desarrollo de enfermedades humanas tan comunes como el cáncer, los síndromes metabólicos, los desórdenes autoinmunes e inflamatorios, entre otros. Actualmente, el proteosoma toma relevancia como un blanco farmacológico prometedor para tratar diferentes patologías. Sin embargo, a pesar de que existen diversos inhibidores del UPS de naturaleza química diversa, las investigaciones actualmente se centran en el desarrollo de un compuesto específico y funcional, con mínimos efectos secundarios.

## Agradecimientos

Nuestro trabajo estuvo apoyado por el proyecto No. IN208118 de PAPIIT/DGAPA/UNAM y por el proyecto No. 304023 de CONACyT. D.M.P. es estudiante de Doctorado y K.A.G.C. es estudiante de maestría, ambos del Programa de Ciencias Bioquímicas de la UNAM, con apoyo de becas de CONACyT. 

## REFERENCIAS

1. Budenholzer L, Cheng CL, Yanjie, Hochstrasser M. Proteasome Structure and Assembly, *J Mol Biol.* 2017; 429 (22):3500-24.
2. Ciechanover A, Ben-Saadon R. N-terminal ubiquitination: more protein substrates join in, *Trends Cell Biol.* 2004; 14 (3):103-6.
3. Rousseau A, Bertolotti A. Regulation of proteasome assembly and activity in health and disease, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018; 19 (11):697-712.
4. Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination, *Annu Rev Biochem.* 2001; 70:503-33.
5. Yau R, Rape M. The increasing complexity of the ubiquitin code, *Nat Cell Biol.* 2016; 18 (6):579-86.
6. Bard JAM, Goodall EA, Greene ER, Jonsson E, Dong KC, Martin A. Structure and Function of the 26S Proteasome, *Annu Rev Biochem.* 2018; 87:697-724.
7. Kunjappu MJ, Hochstrasser M. Assembly of the 20S proteasome, *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1843 (1):2-12.
8. Wójcik C, De Martino GN. Intracellular localization of proteasomes, *Int J Biochem Cell Biol.* 2003; 35 (5):579-89.
9. Enenkel C, Lehmann A, Kloetzel PM. GFP-labelling of 26S proteasomes in living yeast: insight into proteasomal functions at the nuclear envelope/rough ER, *Mol Biol Rep.* 1999; 26 (1-2) :131-5.
10. Wilkinson CR, Wallace M, Morphew M, Perry P, Allshire R, Javerzat JP, McIntosh JR, Gordon C. Localization of the 26S proteasome during mitosis and meiosis in fission yeast, *EMBO J.* 1998; 17 (22):6465-76.
11. Machiels BM, Henfling ME, Broers JL, Hendil KB, Ramaekers FC. Changes in immunocytochemical detectability of proteasome epitopes depending on cell growth and fixation conditions of lung cancer cell lines, *Eur J Cell Biol.* 1995; 66 (3):282-92.
12. Wang Y, Le WD. Autophagy and Ubiquitin-Proteasome System, *Adv Exp Med Biol* 2019; 1206:527-50.
13. Van Deventer S, Menendez-Benito V, van Leeuwen F, Neefjes J. N-terminal acetylation and replicative age affect proteasome localization and cell fitness during aging, *J Cell Sci.* 2015; 128 (1):109-17.
14. Im E, Chung KC. Precise assembly and regulation of 26S proteasome and correlation between proteasome dysfunction and neurodegenerative diseases, *BMB Rep.* 2016; 49 (9):459-73.
15. Bose S, Stratford FLL, Broadfoot KI, Mason GGF, Rivett AJ. Phosphorylation of 20S proteasome alpha subunit C8 ( $\alpha$ 7) stabilizes the 26S proteasome and plays a role in the regulation of proteasome complexes by  $\gamma$ -interferon, *Biochem. J.* 2004; 378 (Pt 1):177-84.
16. Lin JT, Chang WC, Chen HM, Lai HL, Chen CY, Tao MH, Chern Y. Regulation of feedback between protein kinase A and the proteasome system worsens Huntington's disease, *Mol Cell Biol.* 2013; 33 (5):1073-84.
17. VerPlank JJS, Lokireddy S, Zhao J, Goldberg AL. 26S proteasomes are rapidly activated by diverse hormones and physiological states that raise cAMP and cause Rpn6 phosphorylation, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116 (10):4228-37.
18. Collins GA, Goldberg AL. The Logic of the 26S Proteasome, *Cell.* 2017; 169 (5):792-806.
19. Liu X, Xiao W, Zhang Y, Wiley SE, Zuo T, Zheng Y, Chen N, Chen L, Wang X, Zheng Y, Huang L, Lin S, Murphy AN, Dixon JE, Xu P, Guo X. Reversible phosphorylation of Rpn1 regulates 26S proteasome assembly and function, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117 (1):328-36.
20. Onishi M, Pecani K, Jones 4th T, Pringle JR, Cross F. F-actin homeostasis through transcriptional regulation and proteasome-mediated proteolysis, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018; 115 (28):E6487-96.
21. Plessner M, Melak M, Chinchilla P, Baarlink C, Grosse R. Nuclear F-actin formation and reorganization upon cell spreading, *J Biol Chem.* 2015; 290 (18):11209-16.
22. Kelsch DJ, Tootle TL. Nuclear Actin: From Discovery to Function, *Anat Rec (Hoboken).* 2018; 301 (12):1999-2013.
23. Bórquez DA, González-Billault C. Regulation of cell polarity by controlled proteolytic systems, *Biol Res.* 2011; 44 (1):35-41.
24. Ibañez-Vega J, Del Valle Batalla F, Saez JJ, Soza A, Yuseff MI. Proteasome Dependent Actin Remodeling Facilitates Antigen Extraction at the Immune Synapse of B Cells, *Front Immunol.* 2019; 10:225.
25. Caligaris C, Vázquez-Victorio G, Sosa-Garrocho M, Ríos-López DG, Marín-Hernández A, Macías-Silva M. Actin-cytoskeleton polymerization

- differentially controls the stability of Ski and SnoN co-repressors in normal but not in transformed hepatocytes, *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1850 (9):1832-41.
26. Vázquez-Victorio G, Caligaris C, Del Valle-Espinosa E, Sosa-Garrocho M, González-Arenas NR, Reyes-Cruz G, Briones-Orta MA, Macías-Silva M. Novel regulation of Ski protein stability and endosomal sorting by actin cytoskeleton dynamics in hepatocytes, *J Biol Chem*. 2015; 290 (7):4487-99.
  27. Melchionna R, Trono P, Tocci A, Nisticò P. Actin Cytoskeleton and Regulation of TGF-beta Signaling: Exploring Their Links. *Biomolecules*. 2021; 11 (2):336.
  28. Park JS, Burckhardt CJ, Lazcano R, Solis LM, Isogai T, Li L, Chen CS, Gao B, Minna JD, Bachoo R, DeBerardinis RJ, Danuser G. Mechanical regulation of glycolysis via cytoskeleton architecture, *Nature*. 2020; 578 (7796):621-626.
  29. Wu HQ, Baker D, Ovaa H. Small molecules that target the ubiquitin system, *Biochem Soc Trans*. 2020; 48 (2):479-97.
  30. Senft D, Qi J. and Ronai ZA. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy, *Nature Rev Cancer*. 2018; 18 (2):69-88.
  31. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53, *Nature*. 1997; 387 (6630):296-9.
  32. Martinez-Zapien D, Ruiz FX, Poirson J, Mitschler A, Ramirez J, Forster A, Cousido-Siah A, Masson M, Vande Pol S, Podjarny A, Travé G, Zanier K. Structure of the E6/E6AP/p53 complex required for HPV-mediated degradation of p53, *Nature*. 2016; 529(7587):541-5.
  33. Ciechanover A, Schwartz AL. Ubiquitin-mediated degradation of cellular proteins in health and disease, *Hepatology*. 2002; 35(1):3-6.
  34. Popovic D, Vucic D and Dikic I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment, *Nature Med*. 2014; 20 (11):1242-53.
  35. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muentner M, Baptista M, Miller D, Blacato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K. alpha-synuclein locus triplication causes Parkinson's disease, *Science*. 2003; 302 (5646):841.
  36. Bertolotti A. The ubiquitin-proteasome system in neurodegenerative diseases: more than the usual suspects, *Protein Chaperones and Protection from Neurodegenerative Diseases*, First Edition. 2011; by John Wiley & Sons, Inc.
  37. Hao YH, Fountain MD Jr, Fon Tacer K, Xia F, Bi W, Kang SH, Patel A, Rosenfeld JA, Le Caignec C, Isidor B, Krantz ID, Noon SE, Pfothenhauer JP, Morgan TM, Moran R, Pedersen RC, Saenz MS, Schaaf CP, Potts PR. USP7 acts as a molecular rheostat to promote WASH-dependent endosomal protein recycling and is mutated in a human neurodevelopmental disorder, *Mol Cell*. 2015; 59 (6):956-69.
  38. Grillari J. Post-translational modification of cellular proteins by ubiquitin and ubiquitin-like molecules: role in cellular senescence and ageing, In: Tavernarakis N. (eds) *Protein Metabolism and Homeostasis in Aging*, *Adv Exp Med Biol*. 2010; 694:172-96.
  39. Roeten MSF, Cloos J, Jansen G. Positioning of proteasome inhibitors in therapy of solid malignancies, *Cancer Chemother Pharmacol*. 2018; 81 (2):227-43.
  40. Kisselev AF, Goldberg AL. Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates, *Chem Biol*. 2001; 8 (8):739-58.
  41. Thibaudeau TA, Smith DM A. Practical Review of Proteasome, *Pharmacol Rev*. 2019; 71 (2):170-97.
  42. Nunes AT, Annunziata CM. Proteasome inhibitors: structure and function, *Semin Oncol*. 2017; 44 (6):377-80.
  43. Okazuka K, Ishida T. Proteasome inhibitors for multiple myeloma, *Jpn J Clin Oncol*. 2018; 48 (9):785-93.