

Posttranslasyonel Modifikasyon ve Protein Fonksiyonu

Abdullah YALÇIN

Geliş Tarihi: 03.07.2012
Kabul Tarihi: 17.09.2012

Özet: Birçok protein fonksiyon gösterebilmesi için posttranslasyonel modifikasyon (PTM) adı verilen bir işleme tabi tutulur. PTM, proteinlerin yersel ve zamansal regülasyonunda ve proteinler tarafından gerçekleştirilen önemli hücresel faaliyetlerin kontrolünde ökaryotik ve prokaryotik hücreler tarafından kullanılan önemli bir araçtır. Herhangi bir zamanda herhangi bir proteinin maruz kaldığı PTM sayısı ve tipi çok fazla olabilir. Ökaryotik hücrelerde sık karşılaşılan ve nispeten detaylı olarak çalışılmış PTM tipleri olarak fosforilasyon, glikozilasyon, asetilasyon, açilasyon, prenilasyon, metilasyon, ubiquitilasyon ve proteolitik parçalanma sayılabilir. Bu tip PTM'leri gerçekleştiren enzimlerin sayısı binleri bulmaktadır. PTM ve bu işlemde görevli enzimlerin iyi kavranması ve çalışılması bize, protein fonksiyonu ve hastalıklarla ilişkili anormal PTM'lerin anlaşılması için daha iyi fırsatlar sunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Posttranslasyonel modifikasyon, glikozilasyon, fosforilasyon, prenilasyon, ubiquitilasyon, proteolitik parçalanma.

Posttranslational Modifications and Protein Function

Abstract: Many proteins undergo a process called posttranslational modification (PTM) in order to acquire functional capabilities. PTM of proteins provide prokaryotic and eukaryotic cells with highly versatile tools and tricks, which can be used in the spatial and temporal regulation of key proteins and variety of cellular processes controlled by proteins. The number and types of posttranslational modifications (PTMs) that a protein can accommodate at any given time can be staggering. The major types of PTMs frequently observed and well-studied in eukaryotic cells include phosphorylation, glycosylation, acetylation, acylation, prenylation, methylation, ubiquitylation, and proteolytic cleavage. Enzymes dedicated to protein modifications are in the orders of thousands. An understanding of types and levels of PTMs of proteins and enzymes dedicated to this process should provide us with better opportunities to study protein function and diseases associated with aberrant modification of proteins.

Key Words: Posttranslational modification, glycosylation, phosphorylation, prenylation, ubiquitylation, proteolytic cleavage.

Giriş

Memelilerin genomunda 30,000'den daha az sayıda gen kodlanmasına rağmen, hücrenin protein envanteri (proteom) genom temelinde yapılan tahminden çok daha fazla sayıda (>1.000.000) protein içermektedir. Buna yol açan işlemler arasında (i) protein translasyonu-

nun ribozom tarafından farklı bölgelerden başlatılması, (ii) mRNA editlenmesi (splicing) ve (iii) proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonu (PTM) sayılabilir. Bu derlemede, hücrelerin protein fonksiyon ve çeşitliliğini artırmak üzere kullanılan araçlardan biri olan PTM üzerinde durulacaktır.

Protein sentezi (protein translasyonu) fonksiyonel bir protein üretimi ile eş anlamlı değildir. Polipeptidler, fonksiyon gösterebilmesi için belirli üç boyutlu yapılara dönüşmek zorundadırlar. Buna ek olarak ta, birçok proteinin fonksiyonel özellik kazanabilmesi için PTM adı verilen işlemlere tabi tutulması gerekmektedir. Bu tip modifikasyonlar arasında örnek olarak fosfat ve metil gibi küçük moleküllerin ya da karbonhidrat ve lipid gibi büyük ve karmaşık moleküllerin kovalent olarak bağlanması sayılabilir^{8,14}. Modifikasyon için kullanılan moleküller protein üzerindeki belirli amino asitlere enzimler aracılığı ile bağlanır. Genel olarak bu tip modifikasyonlar reversibl yani geri dönüşümlüdür. Modifikasyonların uzaklaştırılması spesifik enzimler tarafından gerçekleştirilir. Böyle bir strateji hücreye örneğin bir uyarı karşısında hızlı bir şekilde (genellikle saniyeler ve dakikalar içinde) proteinlerin aktivitesini regüle etme olanağını verir. Bir diğer PTM tipi ise peptid bağının parçalanmasıdır ki (proteolitik parçalanma olarak ta bilinir) bu işlem irreversibl yani geri dönüşümsüzdür. Bu işlem çoğunlukla proteaz adı verilen enzimler tarafından daha az sıklıkla da otokataliz ile gerçekleştirilir⁸⁰. PTM işlemleri hücrenin farklı organellerinde (örneğin çekirdek, sitoplazma, golgi vs.) gerçekleşebilir. Modifikasyonun tipine de bağlı olarak, PTM genellikle çabuk, geri-dönüşümlü, zamana ve yere bağlıdır^{59,63,65,70,77}.

PTM farklı hücresel işlemlerde farklı amaçlarda kullanılır. Bunlar arasında en bilinenleri (i) enzim regülasyonu, (ii) proteinlerin hücre içi lokalizasyonu, (iii) protein-protein etkileşimi, (iv) hücre içi sinyal iletimi ve (v) hücre bölünmesi sayılabilir. Hücre içinde gerçekleşen PTM çeşitinin yüzlerce olduğu tahmin edilmektedir^{61,63,66,78}. En fazla gözlemlenen ve nispeten iyi çalışılmış PTM'ler arasında fosfat, metil ve hidroksil gibi kimyasal grupların eklenmesi, lipid ve şeker gibi daha kompleks grupların eklenmesi ve ubiquitin gibi küçük peptidlerin eklenmesi sayılabilir⁶⁵. Bazı proteinler aynı anda birden fazla ve farklı tipte PTM taşıyabilir. Örnek olarak, kütle spektrofotometre analizleri p53 tümör supresörünün 50 farklı amino asitinde farklı tiplerde modifikasyona (fosforilasyon, asetilasyon, metilasyon vb.) uğradığını ortaya çıkarmıştır⁴⁷. Herhangi bir anda bir protein üzerinde bulunan PTM çeşit ve sayısının o proteinin nasıl fonksiyon göstereceğini belirleyeceği farz edilirse, PTM işlemlerinin p53 gibi bir protein üzerindeki etkisinin oldukça karmaşık olabileceği kolaylıkla anlaşılır.

Posttranslasyonel Modifikasyon Tipleri

1. Fosforilasyon

Fosforilasyon (ve defosforilasyon) sinyal iletişiminde kullanılan proteinlerin regülasyonu için en fazla kullanılan PTM çeşiti olup, hücre biyolojisi ve organizmanın bütün yönlerini etkiler. Memeli hücrelerindeki proteinlerin % 30'unun kinaz adı verilen enzimler tarafından fosforlandığı bilinmektedir³¹. Protein fosforilasyonu proteinin enzimatik aktivitesini, hücre içi lokalizasyonunu ve/veya diğer proteinlerle bağlanmasını etkileyerek protein fonksiyonunu düzenlemektedir^{3,25,31,38,55,63}. Ancak bütün amino asitler kinazlar için substrat özelliği taşımazlar. Ökaryotlarda, serin (Ser), treonin (Thr) ve tirozin (Tyr) amino asitleri fosforilasyona tabi olabilirken, bazı bakteri ve mantarlardan izole edilen proteinlerde de (histidin (His) ve asparajin (Asn) amino asitlerinde) fosforilasyona rastlanmıştır^{20,54, 60,65}. Kinazlar bu amino asitleri ancak konsensus dizisi adı verilen belirli amino asitlerle çevrelenince fosforlar. (Örneğin, siklin bağımlı kinaz-1 [CDK1] olarak bilinen bir kinaz hedef proteindeki serin amino asitini ancak arjinin, lizin, prolin gibi bir amino asit ile ya da herhangi bir yüklü amino asitçe çevrelenirse fosforlar.) Amino asite çift negatif yüklü tetrahedral bir fosfat grubunun eklenmesi proteinlerin genellikle üç boyutlu yapısında bir değişikliğe yol açarak sinyal iletişiminin başlamasını ya da durmasını sağlar. Buna örnek olarak mitojen-uyarılı protein kinaz (MAPK) ve insülin reseptörü (IR) gibi membrana bağlı reseptör tirozin kinazlar verilebilir⁸⁰. İnsülinin IR aracılığı ile sinyal iletişimini başlatabilmesi için IR'nin karboksi-(C) ucunda belirli tirozin amino asitlerinde fosforlanması gerekmektedir. Deneysel ya da genetik olarak bu tirozin amino asitlerinin mutasyonu insülin direnci adı verilen kanda yüksek glikoz ve yağ asitleri ile karakterize bir duruma yol açmaktadır^{34,48,76}. Glikojen fosforilaz, aktivitesi posttranslasyonel olarak regüle edilen binlerce enzimden biridir. Bu enzimin 14.serin amino asitinde (Ser14) fosforlanması aktivasyona yol açar^{35,36}. Adrenerjik sistemin uyarılmasından sonra (örneğin korkuya bağlı olarak epinefrin hormonunun reseptörüne bağlanması ile başlayan olaylar) kandaki glikoz seviyesindeki hızlı artma diğer olayların yanında kısmen de olsa glikojen fosforilaz enziminin fosforilasyonuna bağlıdır^{1,23,26,32,37,74}. Diğer taraftan bazı enzimlerin belli amino asitlerde fosforilasyonu, o enzimin inaktif konformasyona dönmesine yol açar. Glikojen sentaz Ser641'de fosforlanınca inaktif konformasyona döner. Epinefrin

Ser641'in fosforilasyonunu indüklerken, insülin inhibe eder^{5,12,33,56,86}. Bu verilen iki örnek, fosforilasyonun, birbirinin tersi yönünde çalışan iki metabolik yola ait (glikojen sentezi ve parçalanması) iki önemli enzimin aktivitesini nasıl farklı şekilde etkilediğini göstermektedir.

Enzim aktivitesinin regülasyonu yanında fosforilasyon, protein-protein etkileşimi ve proteinlerin hücre içi lokalizasyonu gibi işlemleri de etkilemektedir. Örneğin, retinonlastoma proteininin (pRb) fiziksel olarak E2F olarak bilinen transkripsiyon faktörlerine bağlanması E2F proteinlerinin fonksiyonunu engelleyerek DNA replikasyonu ve hücre bölünmesinin inhibisyonuna yol açar^{7,22,51}. DNA replikasyonu için, pRb proteininin belli bazı amino asitlerde (Ser780 and Ser807) siklin-bağımlı kinazlar tarafından fosforilasyonu gerekmektedir. Fosforlanan pRb, E2F proteinlerine affinitesini kaybeder. Hücreler PTM olarak fosforilasyonu bazen proteinleri hücrenin bir kompartmanından diğerine hızlıca taşımak için kullanır. Örneğin siklin D1 proteininin glikojen sentaz-3β tarafından 286. pozisyonundaki treonin amino asitinde fosforlanması bu proteinin çekirdek ve sitoplazma arasında yeniden dağılımını kontrol eden bir sinyal görevi görür^{2,15,24,83,84}. Bazen de, bazı amino asitlerin belli bir şekilde PTM'si, diğer bazı amino asitlerin PTM'si için ön koşuldur. Örneğin, p53 proteininin bazı lizin amino asitlerinde histon asetil transferazlar tarafından asetillenmesi için önceden Ser15 pozisyonunda Ataxia telangiectasia mutated kinaz (ATM) ve Ataxia telangiectasia/Rad3-related kinase (ATR) enzimleri tarafından fosforlanması gerekir^{31,40,47}.

2. Glikozilasyon

Glikozilasyon ökaryotlarda ikinci sıklıkla görülen PTM'dir. Glikoproteinlere (kovalent olarak bağlanmış karbonhidrat bulduran proteinler) bakterilerde de rastlanmıştır⁴⁹. Hemen hemen bütün hücre yüzey proteinleri (örneğin kan grubu antijenleri) ve salgılanan proteinler glikozillenmiş durumdadır³⁹. Glikoproteinlerin translasyonu endoplazmik retikulum (ER)'da devam eder ve karbonhidratların eklenmesi translasyon ile eş zamanlı gerçekleşir. Amino asit ile şeker grubu arasında bağın tipine göre iki farklı glikozilasyondan bahsedilebilir: *N*-bağlı glikozilasyon ve *O*-bağlı glikozilasyon. *N*-bağlı glikozilasyon bir asparajin (Asn) amino asitinin amino (NH₂) grubu ile spesifik bir karbonhidrat grubu arasındadır. Asn-Xaa-Ser sekans motifi (Xaa prolin dışındaki herhangi bir amino asit) bu tipte bir PTM için konsensus

sekansı olarak kabul edilmektedir. *N*-bağlı glikozilasyon ER'de oligosakkaril transferaz adı verilen enzimler tarafından gerçekleştirilir^{9,68,71}. Oligosakkaritler öncelikle dolikol piro-fosfat adı verilen özel bir lipite tutturularak bir dizi membran ilişkili glikozil transferazlar tarafından sentezlenir⁸⁰. Sentezlenen oligosakkarit ünitesi oligosakkaril transferazlar için sentezlenmekte olan polipeptit zincirinin özel bir asparajin kalıntısına eklenmek üzere substrat görevi görür⁸. *O*-bağlı glikozilasyon, karbonhidrat molekülünün serin ya da treonin amino asitinin hidroksil grubuna (OH) eklenmesi ile karakterizedir^{8,9,11,30,50}. Genellikle golgi'de gerçekleşir. *O*-bağlı glikozilasyon için kullanılan oligosakkarit zincirleri *N*-bağlı glikozilasyon ile karşılaştırılınca genellikle daha kısa ve daha basit yapıdadır^{39,63,80}.

Glikozilasyon ER'de proteinlerin katlanıp üç boyutlu yapısını kazanması, proteinlerin gerekli hücre içi kompartmanlara taşınması ve hücrelerin birbirleri ile etkileşiminde tanınma noktaları olarak rol alır¹⁴. Glikozilasyonun önemi en iyi şekilde proteinlerin anormal glikozilasyonu ile karakterize hastalıklarda anlaşılabilir. Konjenital muskuler distrofi olarak bilinen hastalığın en belirgin özelliklerinden biri, kas hücrelerinin ekstrasellüler matriks ile bağlantısının azalması ya da yok olmasıdır. α-distrofin adlı proteinin glikozilasyonunun olmaması ya da eksikliği bu proteinin ekstrasellüler matrikste bulunan lamin proteinine bağlanmasını bozar. Bu durum, kas hücresi ile ekstrasellüler matriks arasındaki bağın zayıflamasına yol açar⁶². Glikozilasyon ayrıca antijen tanınması, enfeksiyon ve immünitete önemli rol alır. Örneğin Newcastle virusunun hemaglutinin-nöyraminidaz proteininin *N*-bağlı glikozilasyonu bu virusun virulansında önemli rol oynar. Glikozile olan amino asitlerin mutasyonu virulans azalmaya neden olur⁵⁸. İmmunoglobulin ve T hücrelerinin üzerindeki CD8 reseptörleri gibi hücre yüzeyi antijen tanıma reseptörleri glikoprotein tabiatındadır¹³. Glikozile olmuş hücre yüzeyi proteinlerinin enfeksiyonlara karşı bariyer görevi gördükleri bilinmektedir. Organ boşluklarında salgılanan mukus glikoproteinlerce zengin olup fizikokimyasal sensör ve bariyer görevi görür. Bu glikoproteinler örneğin barsak epitel hücrelerini kimyasal, biyolojik ve fiziksel etkenlerden korur⁵².

Son olarak, özel bir glikozilasyon tipinin lizozomal proteinlerin görev yerlerine taşınmasındaki görevinden bahsedilebilir. Eğer bir protein lizozomda görevli ise o protein genellikle

N-bağlı glikozillenmiştir ve oligosakkarit zinciri mutlaka mannoz içerir⁶⁷. Mannoza golgi de *N*-asetil glukozamin fosfotransferaz tarafından fosforlanır. Bu adım proteini lizozoma taşıyan veziküllerdeki mannoz-6-fosfat reseptörüne bağlanma için gereklidir. I-hücre (I-cell) hastalığı olarak bilinen özel bir durum mannozün fosforilasyonu için gerekli *N*-asetil glukozamin fosfotransferaz enziminin yokluğundan kaynaklanmaktadır^{27,46}.

3. Asetilasyon

Proteinlerin asetilasyonu fosforilasyona benzer bir işlev görür. Histon ve p53 gibi bazı proteinlerin belli amino asitlerdeki asetilasyonu gen transkripsiyonunu etkileyen epigenetik kodun bir parçası olarak görülmektedir^{10,29,40,47,85}. Lizin amino asitinin asetilasyon yolu ile nötralize edilmesi ilgili proteinlerin fonksiyonunu ve diğer proteinlerle olan fiziksel bağlanmasını etkileyebilir. Histonların asetilasyonu, gen transkripsiyonunu ve DNA replikasyonunu etkiler^{39,85}. Örneğin asetillenmiş lizin aminoasitleri spesifik olarak transkripsiyon faktörleri olarak görev yapan bromo-domein proteinleri tarafından tanınır⁶³. Böylece, histon uçlarının asetilasyonu, nükleozom bölgelerindeki genlerin transkripsiyonunu kontrol eden transkripsiyon ve replikasyon faktörlerinin aktivitesini etkiler⁸⁰. Kanser gibi bazı hastalıklarda histon asetilasyon seviyelerini kontrol eden enzimlerin (histon asetil transferazlar ve histon deasetilazlar) aktivitelerinde değişiklikler gözlenmiştir. Bu nedenle bu enzimlerin aktivitesinin kimyasallar yardımı ile regüle edilmesi bir tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir.

4. Açılasyon

Açılasyon ile proteinlerin PTM'si protein yapısını, lokalizasyonu ve fonksiyonunu etkilemektedir. En yaygın olarak miristik asit (C14) ve palmitik asit (C16) zincirleri açılasyon amacı ile kullanılmaktadır^{63,80}. Bir yağ asiti grubunun proteine eklenmesi, ilgili proteinin hücre membranının sitoplazmik yüzeyine yapılandırılmasında sıklıkla kullanılan bir stratejidir. Çoğunlukla yağ asiti ile proteinlerin modifikasyonu spesifik enzimlerin aktivasyonuna yol açar⁵³. Miristik asit zincirinin proteinlerin *N*-ucuna bağlanması miristoil-CoA:protein *N*-miristoiltransferaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Yüzden fazla proteinin bu şekilde modifiye edildiği bilinmektedir. Bunlara örnek olarak src ailesi tirozin kinazlar ve c-Abl verilebilir⁶⁴. Palmitik asit zincirleri proteinlerin sistein amino asitleri-

nin sülfidril grubuna palmitoil transferazlar tarafından eklenir. Hücre dışına salgılanan Hedgehog ve Wnt gibi proteinlerin palmitik asit ile modifikasyonu membran-bağlı O-açıl transferazlar tarafından gerçekleştirilir. Dönüşümlü palmitoilyasyon ve depalmitoilyasyon geçici olarak proteinlerin membran ile ilişkisini sağlar ve farklı kompartmanlardan sinyal iletimine olanak verir^{6,17,46,64}. Palmitik asitin doymuş bir zincire sahip olması proteinlerin membranlarda lipid raftları adı verilen bölgelerde lokalize olmasını sağlar. Bu durum ras gibi hücre içi sinyal ileti görevi olan proteinlerde sıklıkla gözlenir. C-Abl ve ras gibi tümöre yolağan proteinlerin yoğun açılasyonu kanserlerde sık görülmektedir. Bu nedenle açılasyona yol açan enzimler moleküler tedavi amacı ile değerlendirilmektedir^{19,42,64}.

5. Prenilasyon

Bazı proteinlerin C-uçlarındaki belirli sistein amino asitlerine farnesil, dolikol ve geranilgeranil gibi prenil molekülleri eklenir. Bu proteinler çoğunlukla korunmuş CAAX-kutusu olarak bilinen bir amino-asit dizisi içerir (C: Sistein; A: Herhangi bir alifatik amino asit; X: Herhangi bir amino asit)^{4,6,17,81}. Böyle bir modifikasyon membran proteinlerinde sıklıkla gözlenir. Prenilasyon, hidrofilik proteinlerin hidrofobik membrana bağlanmasını kolaylaştırır ve prenil grubunu tanıyan proteinlerle etkileşimini sağlar⁶³. Prenilasyon, Ras, Rho ve G-protein ilişkili reseptörler gibi bazı proteinlerin aktivitesi için zorunlu bir adımdır^{4,73,81,82}. Prenilasyon oldukça kompleks bir işlem olup farnesil transferaz ve geranil transferaz gibi enzimlerin aktivitesine gereksinim duyulur. Modifikasyonu takiben protein membranın iç katmanına tutunur^{6,16,42}. Ras proteini, prenilasyona tabi olan proteinler arasında en iyi bilinenlerden biridir^{4,81}. Mutasyon çalışmaları prenilasyonunun ras onkoproteininin fonksiyonu için ne kadar önemli olduğunu ortaya koymuştur. Çünkü prenilasyona tabi olamayacak şekilde mutasyona uğratılmış ras geni onkojenik transformasyon kabiliyetini kaybetmektedir⁴³. Bu nedenle, prenilasyonda rol oynayan enzimlerin kanser tedavisinde potansiyel bir hedef olarak düşünülmesi şaşırtıcı değildir^{81,82}.

6. Glikozil fosfatidil inozitol (GPI) ile modifikasyon

GPI kompleksi bir glikofosfolipit olup proteinlerin hücre yüzeyine tutunmasında önemli rol oynar^{53,57,63}. GPI, amid bağı yardımı ile ER'de proteinlerin C-ucuna bağlanır. Böylelikle

proteinler membrana iki yağ asiti yardımı ile bağlanmış olur. Proteinlerin hücre yüzeyine GPI ile bağlanması oldukça karmaşık, metabolik olarak pahalı ve enerji gerektiren bir işlemdir⁵⁷. Bütün membran proteinleri için olduğu gibi, GPI ile modifiye olacak proteinlerin translasyonu ER`de devam eder. ER`de transle edilip hücre yüzeyinde eksprese edilmek üzere salgı veziküllerine yüklenen proteinlerin yüzde 10-20'si GPI ile modifiye olur. GPI sentezi ve GPI'nın proteinlere kovalent olarak eklenmesi proteinlerin N-bağlı glikozilasyonuna benzer^{8,19,57}.

GPI ile modifikasyona uğrayan hücre yüzeyi proteinleri arasında hücre yüzeyi reseptörleri (folat reseptörü ve CD14), hücre adhezyon molekülleri (sinir adhezyon molekül izoformları, karsinoembryonik antijen, fasciclin I), hücre yüzey hidrolazları (alkalen fosfataz), komplement regüle edici proteinler (CD55), prion proteini ve protozoa kılıf proteinleri sayılabilir⁵⁷. GPI sentezi eksikliğininembriyonik ölüm ile sonuçlanması, mannozil transferaz PIG-M eksikliğinde hepatik ve postal damarların trombozunun gözlemlenmesi proteinlerin GPI ile modifikasyonunun ne kadar önemli olduğunu göstermektedir^{18,19,57}.

7. Metilasyon

Proteinlerin metil transferaz enzimleri tarafından metillenmesi protein aktivite ve yapısını etkilemektedir⁶¹. Lizin, arjinin ve löysin aminoasitlerinin metillendiği bilinmektedir. Histon gibi DNA`ya bağlanan proteinlerin metilasyonu iyi bilinmektedir^{29,61,85}. Histon uçlarının metilasyonu genetik kodun bir parçası olarak görülmektedir ve genlerin transkripsiyonal aktivitesini etkiler. Bazı durumlarda aynı amino asite birden fazla metil grubu eklenebilir. (Tek bir lizin amino asitine üç adet metil grubu eklenebilir.)^{29,61,80}. Histon dışındaki proteinlerin de metillendiği bilinmektedir. Örneğin, fosfoprotein fosfataz 2A (PP2A)`nın metilasyon durumu bu proteinin aktivitesini etkiler ve insulin iletiminde oldukça önemlidir²⁹. PP2A`nın C-ucundaki 309. pozisyondaki löysin aminoasitinin metilasyonu, bu enzimin sitoplazmada insulin sinyal iletiminde ve çekirdekte hücre siklusunda görevli olan substratlara affinitesinin düzenlenmesinde belirleyicidir.

8. Ubiquitilasyon

Ubiquitilasyon birçok hücresel faaliyetin düzenlenmesinde önemlidir. Bunlar arasında protein parçalanması, sinyal iletişimi, hücre içi lokalizasyon ve DNA tamiri sayılabilir^{21,38}.

Ubiquitilasyon 76 aminoasitten oluşan ubiquitin adlı proteininin hedef proteine kovalent olarak bağlanması ile gerçekleşir. Hedef proteine bağlanma lizin amino asiti aracılığı ile olur. Bu işlem sırası ile üç farklı enzimin etkisi ile gerçekleşir: E1-ubiquitin aktive edici enzim, E2-ubiquitin konjuge edici enzim ve E3-ubiquitin ligaz. Hedef protein spesifitesi E3 enzimi tarafından belirlenir^{21,38,41,72,85}. Ökaryotlarda birkaç yüz E3-ubiquitin ligaz enzimi tanımlanmıştır⁸⁰.

Proteinlerin ubiquitilasyonunun bilinen en iyi fonksiyonu ilgili proteinlerin 26S proteazomlar tarafından parçalanmak üzere bir sinyal görevi görmesidir³⁹. Bir proteinin bu şekilde proteazomda parçalanması için genellikle birden fazla ubiquitin uç uca kovalent olarak bağlanması gerekir (poliubiquitilasyon). Poliubiquitilasyon ubiquitin proteinleri üzerindeki spesifik bir lizin amino asiti (genellikle lizin48) aracılığı ile olur^{41,72}. Bunun yanında ubiquitilasyon, bazı patojenler tarafından konak organizmadaki bazı faktörleri yeniden düzenlemek için de yaygın olarak kullanılır. Bazı patojen proteinleri E3 enzimi aktivitesi görünken bazı patojenler konak organizmadaki E3 enzimlerin aktivitesini değiştirirler ve yeni protein hedeflere yönlendirirler. Örneğin, insan papilloma virus (HPV)`un bazı serotiplerinin (örneğin tip 16 ve 18) E6 onkoproteinleri, konak organizmada spesifik bir E3-ligaz tarafından p53 proteininin poliubiquitilasyonunu indükleyerek parçalanmasını sağlar ve böylece onkojenik transformasyona katkıda bulunur. Bu nedenle, ubiquitilasyon patojenlere karşı ilaç geliştirilmesinde önemli bir moleküler hedef olabilir⁶⁵.

9. Proteolitik parçalanma

Diğer PTM tiplerinin aksine proteolitik parçalanma amino asite kovalent bağlanma gerektirmez. Bu işlem proteaz adı verilen enzimler tarafından spesifik peptit bağlarının parçalanması ile gerçekleşir. Daha az sıklıkla da olsa proteolitik parçalanma otokataliz yolu ile de gerçekleşir. Bazı proteinlerin bu şekilde kısmen parçalanması onların lokalizasyon, aktivite ve yarı ömürlerini etkiler^{45,80}. Bu şekildeki modifikasyon salgılanan enzimler arasında sıklıkla gözlemlenir. Bunlara örnek olarak sindirimde görevli tripsin ve kimotripsin verilebilir. Bu enzimler pankreasta zimojenler olarak ta bilinen inaktif prekürsörler olarak sentezlenir (tripsinojen ve kimotripsinojen). Proteazdan zengin barsak ortamına salgılanan zimojenler kısmi proteolitik parçalanmaya uğrayarak aktif formlarına dönüşürler. Bu şekilde etki yerlerine ulaşmaya

kadar aktif hale gelmelerinin önlenmesi yapıldıkları organ ya da dokuyu sindirmelerinin engellenmesi için gereklidir²⁸. Proteolitik parçalanma ile aktif hale geçme enzimler dışında protein yapısındaki bazı hormonlarda da görülür. Buna örnek olarak insulin verilebilir. Büyük bir prekürsör olarak sentezlenen insulin iki farklı katalitik parçalanma ile aktif hale gelir. İlk sentezlendiği hali ile insulin (preproinsulin) ER'ye yönelmesini ve orada transle olmasını sağlayan bir N-uç sekansına sahiptir. Bu kısmın ER'ye transfer sırasında uzaklaştırılması proinsulin olarak ta bilinen ikinci bir prekürsörün ortaya çıkmasına yol açar. Hücre dışında ikinci bir katalitik parçalanma ile iç kısımdan bir peptid daha uzaklaştırılır ve insulin, iki zincirin disulfid bağı ile tutunmasından ibaret olan son şeklini alır⁴⁵.

Sonuç

Bilinen 200'den fazla PTM olayının işlenmesi bu derlemenin sınırlarını aşar. (Daha kapsamlı bilgi için 79 nolu referansa bakınız.) Bunun yerine bu derlemede, fosforilasyon, glikozilasyon, lipidasyon, ubiquitilasyon, metilasyon ve proteolitik parçalanma gibi kısmen iyi bilinen ve sık karşılaşılan PTM'ler üzerinde durulmuştur. Bu modifikasyonlar protein fonksiyonunu, protein stabilitesini, proteinlerin hücre içi lokalizasyonunu ve protein-protein etkileşimini önemli oranda etkiler. Disülfid bağı oluşumu, ADP-ribozilasyon, transglutaminasyon, sülfasyon ve sumolasyon gibi PTM'ler de oldukça yaygın olup protein aktivite ve fonksiyonunu etkiler^{44,61,69,75,78}.

Proteinlerin PTM'si sıkı bir şekilde düzenlenen son derece karmaşık bir işlemdir. Bu işlemin olması bir enzim ve substrattan daha fazlasını gerektirir. Hemen daima bir başlatıcı/uyarıcı vardır. (Örneğin, hücre içi kalsiyum seviyelerindeki artış bazı proteinlerin modifikasyonu için bir uyarıcı sinyaldir.) Buna ek olarak, PTM'yi gerçekleştiren enzim çoğu zaman kendisi bir çeşit PTM'ye ihtiyaç duyar. Yine, birçok protein arka arkaya birden fazla sayıda ve tipte PTM'ye tabi olabilir. Örneğin p53, 50 kadar farklı tip ve sayıda PTM'ye tabi olur⁴⁷. Histonların uçlarındaki lizin aminoasitlerinin çoklu metilasyonu ve asetilasyonu, serin amino asitlerinin fosforilasyonu ve N-ucu ubiquitilasyonu aynı anda görülebilir. Kısaca, PTM olayları, genom tarafından kopyalanan kısıtlı sayıdaki proteinin fonksiyonel kapasite ve çeşitliliğini arttırırken; hücre içi işlemlerin bir-

birleri ile bağlantısının sağlanması ve sinyal iletiminin düzenlenmesi gibi olaylarda belirleyici rol oynar⁸⁰.

Kaynaklar

1. Akatsuka, A., Singh, T.J., Huang, K.P., 1984. Phosphorylation of rat liver glycogen synthase by phosphorylase kinase. *J Biol Chem* 259, 7878-7883.
2. Alt, J.R., Gladden, A.B., Diehl, J.A., 2002. p21(Cip1) Promotes cyclin D1 nuclear accumulation via direct inhibition of nuclear export. *J Biol Chem* 277, 8517-8523.
3. Annan, R.S., Zappacosta, F., 2005. Protein posttranslational modifications: phosphorylation site analysis using mass spectrometry. *Methods Biochem Anal* 45, 85-106.
4. Arozarena, I., Calvo, F., Crespo, P., 2011. Ras, an actor on many stages: posttranslational modifications, localization, and site-specified events. *Genes Cancer* 2, 182-194.
5. Bai, G., Zhang, Z.J., Werner, R., Nuttal, F.Q., Tan, A.W., Lee, E.Y., 1990. The primary structure of rat liver glycogen synthase deduced by cDNA cloning. Absence of phosphorylation sites 1a and 1b. *J Biol Chem* 265, 7843-7848.
6. Basso, A.D., Kirschmeier, P., Bishop, W.R., 2006. Lipid posttranslational modifications. Farnesyl transferase inhibitors. *J Lipid Res* 47, 15-31.
7. Bauzon, F., Zhu, L., 2010. Racing to block tumorigenesis after pRb loss: an innocuous point mutation wins with synthetic lethality. *Cell Cycle* 9, 2118-2123.
8. Blom, N., Sicheritz-Ponten, T., Gupta, R., Gammeltoft, S., Brunak, S., 2004. Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics* 4, 1633-1649.
9. Braakman, I., Bulleid, N.J., 2011. Protein folding and modification in the mammalian endoplasmic reticulum. *Annu Rev Biochem* 80, 71-99.
10. Burlingame, A.L., Zhang, X., Chalkley, R.J., 2005. Mass spectrometric analysis of histone posttranslational modifications. *Methods* 36, 383-394.
11. Carpenter, G.H., Proctor, G.B., 1999. O-linked glycosylation occurs on basic parotid salivary proline-rich proteins. *Oral Microbiol Immunol* 14, 309-315.
12. Case, N., Thomas, J., Sen, B., Styner, M., Xie, Z., Galibor, K., Rubin, J., 2011. Mechanical regulation of glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) in mesenchymal stem cells is dependent on Akt protein serine 473 phosphorylation via mTORC2 protein. *J Biol Chem* 286, 39450-39456.

13. Classon, B.J., Brown, M.H., Garnett, D., Somoza, C., Barclay, A.N., Willis, A.C., Williams, A.F., 1992. The hinge region of the CD8 alpha chain: structure, antigenicity, and utility in expression of immunoglobulin superfamily domains. *Int Immunol* 4, 215-225.
14. Cooper, G.M., 2000. *The Cell: A Molecular Approach*. Sunderland (MA): Sinauer Associates. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9839/>)
15. Diehl, J.A., Cheng, M., Roussel, M.F., Sherr, C.J., 1998. Glycogen synthase kinase-3beta regulates cyclin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev* 12, 3499-3511.
16. Dolence, J.M., Poulter, C.D., 1995. A mechanism for posttranslational modifications of proteins by yeast protein farnesyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 5008-5011.
17. Eastman, R.T., Buckner, F.S., Yokoyama, K., Gelb, M.H., Van Voorhis, W.C., 2006. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. Fighting parasitic disease by blocking protein farnesylation. *J Lipid Res* 47, 233-240.
18. Eisenhaber, B., Eisenhaber, F., 2007. Posttranslational modifications and subcellular localization signals: indicators of sequence regions without inherent 3D structure? *Curr Protein Pept Sci* 8, 197-203.
19. Eisenhaber, F., Eisenhaber, B., Kubina, W., Maurer-Stroh, S., Neuberger, G., Schneider, G., Wildpaner, M., 2003. Prediction of lipid posttranslational modifications and localization signals from protein sequences: big-Pi, NMT and PTS1. *Nucleic Acids Res* 31, 3631-3634.
20. Freitas, M., Axelsson, L.G., Cayuela, C., Midtvedt, T., Trugnan, G., 2005. Indigenous microbes and their soluble factors differentially modulate intestinal glycosylation steps in vivo. Use of a "lectin assay" to survey in vivo glycosylation changes. *Histochem Cell Biol* 124, 423-433.
21. Fuchs, O., Neuwirtova, R., 2006. [Ubiquitins, proteasomes, sumoylation and application today and in future for cancer and other diseases therapy II. Sumoylation and neddylation as posttranslational modifications of proteins and their ubiquitinylation and its significance]. *Vnitr Lek* 52, 619-627.
22. Funayama, R., Ishikawa, F., 2007. Cellular senescence and chromatin structure. *Chromosoma* 116, 431-440.
23. Garina, D.V., Kuz'mina, V.V., Gerasimov, Y.V., 2007. The effect of epinephrine on feeding and motion patterns in goldfish *Carassius auratus* (L.). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 148, 544-549.
24. Germain, D., Russell, A., Thompson, A., Hendley, J., 2000. Ubiquitination of free cyclin D1 is independent of phosphorylation on threonine 286. *J Biol Chem* 275, 12074-12079.
25. Hale, B.G., Knebel, A., Botting, C.H., Galloway, C.S., Precious, B.L., Jackson, D., Elliot, R.M., Randall, R.E., 2009. CDK/ERK-mediated phosphorylation of the human influenza A virus NS1 protein at threonine-215. *Virology* 383, 6-11.
26. Hallenbeck, P.C., Walsh, D.A., 1986. Control of phosphorylase kinase in the isolated glycogen particle by Ca²⁺-Mg²⁺ synergistic activation and cAMP-dependent phosphorylation. *J Biol Chem* 261, 5442-5449.
27. Lau, P.P., Van Handel, M., Larvin, M., McMahon, M.J., Geokas, M.C., 1990. Proteolytic degradation of human recombinant proinsulin/insulin by sera from acute pancreatitis patients and complete inhibition by Eglin-C. *Pancreas* 5, 17-26.
28. Lodish, H., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J., 2000. *Molecular Cell Biology*. New York: W. H. Freeman
29. Israel, M., Schwartz, L., 2011. The metabolic advantage of tumor cells. *Mol Cancer* 10, 70.
30. Issad, T., Masson, E., Pagesy, P., 2010. O-GlcNAc modification, insulin signaling and diabetic complications. *Diabetes Metab* 36, 423-435.
31. Jacob, T., Van den Broeke, C., Favoreel, H.W., 2011. Viral serine/threonine protein kinases. *J Virol* 85, 1158-1173.
32. Jensen, J., Gronning-Wang, L.M., Jebens, E., Whitehead, J.B., Zorec, R., Shepherd, P.R., 2008. Adrenaline potentiates insulin-stimulated PKB activation in the rat fast-twitch epitrochlearis muscle without affecting IRS-1-associated PI 3-kinase activity. *Pflugers Arch* 456, 969-978.
33. Jensen, J., Ruge, T., Lai, Y.C., Svensson, M.K., Eriksson, J.W., 2011. Effects of adrenaline on whole-body glucose metabolism and insulin-mediated regulation of glycogen synthase and PKB phosphorylation in human skeletal muscle. *Metabolism* 60, 215-226.
34. Jiang, S., Fang, Q., Zhang, F., Weisz, O.A., 2011. Functional characterization of insulin receptor gene mutations contributing to Rabson-Mendenhall syndrome - phenotypic heterogeneity of insulin receptor gene mutations. *Endocr J* 58, 931-940.
35. Johnson, L.N. 1992. Glycogen phosphorylase: control by phosphorylation and allosteric effectors. *FASEB J* 6, 2274-2282.
36. Johnson, L.N., Hu, S.H., Barford, D., 1992. Catalytic mechanism of glycogen phosphorylase. *Faraday Discuss*, 131-142.
37. Kikuchi, K., Yamada, T., Sugi, H., 2009. Effects of adrenaline on glycogenolysis in resting

- anaerobic frog muscles studied by ^{31}P -NMR. *J Physiol Sci* 59, 439-446.
38. Ko, H.S., Lee, Y., Shin, J.H., Karuppagounder, S. S., Gadag, B.S., Koleske, A.J., Pletnikova, O., Troncoso, J.C., Dawson, V.L., Dawson, T.M., 2010. Phosphorylation by the c-Abl protein tyrosine kinase inhibits parkin's ubiquitination and protective function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 16691-16696.
 39. Krueger, K.E., Srivastava, S., 2006. Posttranslational protein modifications: current implications for cancer detection, prevention, and therapeutics. *Mol Cell Proteomics* 5, 1799-1810.
 40. Kruse, J.P., Gu, W., 2008. SnapShot: p53 posttranslational modifications. *Cell* 133, 930-930 e931.
 41. Kutuk, O., Letai, A., 2008. Regulation of Bcl-2 family proteins by posttranslational modifications. *Curr Mol Med* 8, 102-118.
 42. Lane, K.T., Beese, L.S., 2006. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. Structural biology of protein farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase type I. *J Lipid Res* 47, 681-699.
 43. Leung, K.F., Baron, R., Seabra, M.C., 2006. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. geranylgeranylation of Rab GTPases. *J Lipid Res* 47, 467-475.
 44. Lippens, G., Landrieu, I., Hanouille, X., 2008. Studying posttranslational modifications by in-cell NMR. *Chem Biol* 15, 311-312.
 45. Lodish, H.F., 2000. Molecular cell biology. 4th ed. New York, NY ; Basingstoke: Freeman.
 46. Lu, J.Y., Hofmann, S.L., 2006. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. Lysosomal metabolism of lipid-modified proteins. *J Lipid Res* 47, 1352-1357.
 47. Meek, D.W., Anderson, C.W., 2009. Posttranslational modification of p53: cooperative integrators of function. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 1, a000950.
 48. Meng, X., Kondo, M., Morino, K., Fuke, T., Obata, T., Yoshizaki, T., Ugi, S., Nishio, Y., Maeda, S., Araki, E., Kashiwaqi, A., Maegawa, H., 2010. Transcription factor AP-2beta: a negative regulator of IRS-1 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun* 392, 526-532.
 49. Messner, P., 1997. Bacterial glycoproteins. *Glycoconj J* 14, 3-11.
 50. Metallo, C.M., Vander Heiden, M.G., 2010. Metabolism strikes back: metabolic flux regulates cell signaling. *Genes Dev* 24, 2717-2722.
 51. Moody, C.A., Laimins, L.A., 2010. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 10, 550-560.
 52. Moran, A.P., Gupta, A., Joshi, L., 2011. Sweet-talk: role of host glycosylation in bacterial pathogenesis of the gastrointestinal tract. *Gut* 60, 1412-1425.
 53. Nelson, D.L., Cox, M.M., Lehninger, A.L., 2008. *Lehninger principles of biochemistry*. 5th ed. New York; Basingstoke: W.H. Freeman.
 54. Ng, S.Y., Chaban, B., Jarrell, K.F., 2006. Archaeal flagella, bacterial flagella and type IV pili: a comparison of genes and posttranslational modifications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 11, 167-191.
 55. Nyman, U., Vlachos, P., Cascante, A., Hermanson, O., Zhivotovsky, B., Joseph, B., 2009. Protein kinase C-dependent phosphorylation regulates the cell cycle-inhibitory function of the p73 carboxy terminus transactivation domain. *Mol Cell Biol* 29, 1814-1825.
 56. Onishi, T., Iwashita, H., Uno, Y., Kunitomo, J., Saitoh, M., Kimura, E., Fujita, H., Uchiyama, N., Kori, M., Takizawa, M., 2011. A novel glycogen synthase kinase-3 inhibitor 2-methyl-5-(3-{4-[(S)-methylsulfinyl]phenyl}-1-benzofuran-5-yl)-1,3,4-oxadiazole decreases tau phosphorylation and ameliorates cognitive deficits in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 119, 1330-1340.
 57. Orlean, P., Menon, A.K., 2007. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. GPI anchoring of protein in yeast and mammalian cells, or: how we learned to stop worrying and love glycopospholipids. *J Lipid Res* 48, 993-1011.
 58. Panda, A., Elankumaran, S., Krishnamurthy, S., Huang, Z., Samal, S.K., 2004. Loss of N-linked glycosylation from the hemagglutinin-neuraminidase protein alters virulence of Newcastle disease virus. *J Virol* 78, 4965-4975.
 59. Plessmann, U., Reiter-Owona, I., Lechtreck, K.F., 2004. Posttranslational modifications of alpha-tubulin of *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res* 94, 386-389.
 60. Pusztai, A., Ewen, S.W., Grant, G., Peumans, W.J., Van Damme, E.J., Coates, M.E., Bardocz, S., 1995. Lectins and also bacteria modify the glycosylation of gut surface receptors in the rat. *Glycoconj J* 12, 22-35.
 61. Rattan, S.I., Derventzi, A., Clark, B.F., 1992. Protein synthesis, posttranslational modifications, and aging. *Ann N Y Acad Sci* 663, 48-62.
 62. Reed, U.C., 2009. Congenital muscular dystrophy. Part I: a review of phenotypical and diagnostic aspects. *Arq Neuropsiquiatr* 67, 144-168.
 63. Reinders, J., Sickmann, A., 2007. Modificomics: posttranslational modifications beyond protein phosphorylation and glycosylation. *Biomol Eng* 24, 169-177.

64. Resh, M.D., 2012. Targeting protein lipidation in disease. *Trends Mol Med* 18, 206-214.
65. Ribet, D., Cossart, P., 2010. Pathogen-mediated posttranslational modifications: A re-emerging field. *Cell* 143, 694-702.
66. Robers, M.B., Horton, R.A., Bercher, M.R., Vogel, K.W., Machleidt, T., 2008. High-throughput cellular assays for regulated posttranslational modifications. *Anal Biochem* 372, 189-197.
67. Rohrer, J., Kornfeld, R., 2001. Lysosomal hydrolase mannose 6-phosphate uncovering enzyme resides in the trans-Golgi network. *Mol Biol Cell* 12, 1623-1631.
68. Roth, J., Zuber, C., Park, S., Jang, I., Lee, Y., Kysela, K.G., Le Fourn, V., Santimaria, R., Guhl, B., Cho, J.W., 2010. Protein N-glycosylation, protein folding, and protein quality control. *Mol Cells* 30, 497-506.
69. Savitski, M.F., Savitski, M.M., 2010. Unbiased detection of posttranslational modifications using mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 673, 203-210.
70. Schratzenholz, A., Soskic, V., Groebe, K., 2010. Synchronization of posttranslational modifications during aging: Time is a crucial biological dimension. *Ann N Y Acad Sci* 1197, 118-128.
71. Schwarz, F., Aebi, M., 2011. Mechanisms and principles of N-linked protein glycosylation. *Curr Opin Struct Biol* 21, 576-582.
72. Shaheen, M., Shanmugam, I., Hromas, R., 2010. The Role of PCNA Posttranslational Modifications in Translesion Synthesis. *J Nucleic Acids* 2010.
73. Shao, J., Sheng, H., DuBois, R.N., Beauchamp, R.D., 2000. Oncogenic Ras-mediated cell growth arrest and apoptosis are associated with increased ubiquitin-dependent cyclin D1 degradation. *J Biol Chem* 275, 22916-22924.
74. Singh, T.J., Akatsuka, A., Huang, K.P., 1984. Comparison of the phosphorylation of rabbit skeletal muscle phosphorylase kinase by cAMP-dependent protein kinase and cAMP-independent glycogen synthase (casein) kinase-1. *J Biol Chem* 259, 12857-12864.
75. Takao, T., Shimizu, T., Ikegami, S., Shimonishi, Y., 1997. High-sensitivity mass spectrometry for analysis of posttranslational modifications. *J Protein Chem* 16, 409-413.
76. Tandon, R., Kapoor, S., Vali, S. Senthil, V., Nithya, D., Venkataramanan, R., Sharma, A., Talwadkar, A., Ray, A., Bhatnagar, P.K., Dastidar, S.G., 2011. Dual epidermal growth factor receptor (EGFR)/insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) inhibitor: a novel approach for overcoming resistance in anticancer treatment. *Eur J Pharmacol* 667, 56-65.
77. Varela, R., Martinez-Costas, J., Mallo, M., Benavente, J., 1996. Intracellular posttranslational modifications of S1133 avian reovirus proteins. *J Virol* 70, 2974-2981.
78. Veenstra, T.D., 2003. Proteome analysis of posttranslational modifications. *Adv Protein Chem* 65, 161-194.
79. Walsh, C.T., 2005. *Posttranslational Modifications of Proteins: Expanding Nature's Inventory*. Colorado: Roberts and Company Publishers.
80. Walsh, C.T., Garneau-Tsodikova, S., Gatto, G.J., 2005. Protein posttranslational modifications: the chemistry of proteome diversifications. *Angew Chem Int Ed Engl* 44, 7342-7372.
81. Wright, L.P., Philips, M.R., 2006. Thematic review series: lipid posttranslational modifications. CAAX modification and membrane targeting of Ras. *J Lipid Res* 47, 883-891.
82. Yamada-Okabe, T., Doi, R., Yamada-Okabe, H., 1996. Normal and transforming Ras are differently regulated for posttranslational modifications. *J Cell Biochem* 61, 172-181.
83. Yang, K., Guo, Y., Stacey, W.C. Harwalkar, J., Fretthold, J., Hitomi, M., Stacey, D.W., 2006. Glycogen synthase kinase 3 has a limited role in cell cycle regulation of cyclin D1 levels. *BMC Cell Biol* 7, 33.
84. Yang, W., Zhang, Y., Li, Y., Wu, Z., Zhu, D., 2007. Myostatin induces cyclin D1 degradation to cause cell cycle arrest through a phosphatidylinositol 3-kinase/AKT/GSK-3 beta pathway and is antagonized by insulin-like growth factor 1. *J Biol Chem* 282, 3799-3808.
85. Yang, X.J., Seto, E., 2008. Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications. *Mol Cell* 31, 449-461.
86. Yao, X.Q., Zhang, X.X., Yin, Y.Y., Liu, B., Luo, D.J., Liu, D., Chen, N.N., Ni, Z.F., Wang, X., Wang, Q., Wang, J.Z., Liu, G.P., 2011. Glycogen synthase kinase-3beta regulates Tyr307 phosphorylation of protein phosphatase-2A via protein tyrosine phosphatase 1B but not Src. *Biochem J* 437, 335-344.

