

РОЛЬ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНОЙ СИСТЕМЫ В БИОЛОГИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Обзор

© 2023 А.В. Буров, А.А. Родин, В.Л. Карпов, А.В. Морозов*

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: runkel@inbox.ru*

Поступила в редакцию 11.09.2023

После доработки 17.11.2023

Принята к публикации 18.11.2023

Селективная деградация клеточных белков с участием убиквитин-протеасомной системы является одним из ключевых регуляторных механизмов в эукариотических клетках. Накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что убиквитин-протеасомная система участвует в регуляции фундаментальных процессов в стволовых клетках млекопитающих, включая пролиферацию, дифференцировку, миграцию, старение и программируемую гибель клеток. Регуляция может осуществляться либо путем протеолитической деградации ключевых транскрипционных факторов и белков сигнальных путей, либо путем посттрансляционных модификаций белков-мишеней убиквитином или другими убиквитинподобными модификаторами. Исследования молекулярных механизмов поддержания протеостаза в стволовых клетках имеют большое значение для разработки новых терапевтических подходов, направленных на лечение аутоиммунных, онкологических, нейродегенеративных и других социально-значимых патологий. Данный обзор охватывает актуальные данные о функции убиквитин-протеасомной системы в стволовых клетках.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стволовые клетки, убиквитин-протеасомная система, протеасома.

DOI: 10.31857/S0320972523120060, **EDN:** NKAUYX

ВВЕДЕНИЕ

Стволовые клетки (СК) представляют собой неспециализированные клетки организма, которые могут дифференцироваться в различные типы клеток в зависимости от условий среды (рис. 1). Это свойство СК позволяет как формироваться живым организмам в процессе эмбриогенеза, так и в процессе жизнедеятельности обеспечивать самообновление и регенерацию тканей и органов [1]. Стволовыми клетками обладают многие виды многоклеточных организмов. Существует множество видов СК, которые принято разделять по потенциалу дифференцировки и способности к самообновлению, то есть количеству типов клеток, в которые они могут дифференцироваться, и способности сохранять свое неспе-

циализированное состояние (рис. 1) [2]. Таким образом, на примере человека СК в организме можно разделить на: тотипотентные стволовые клетки, плюрипотентные стволовые клетки (ПСК), мультипотентные стволовые клетки и унипотентные клетки, где тотипотентные и плюрипотентные стволовые клетки способны превращаться в клетки любого типа зрелого организма, а унипотентные клетки — лишь в определенный тип клеток (рис. 1). При патологии в организме могут возникать опухолевые стволовые клетки (ОСК), которые в контексте опухоли обладают свойствами нормальных СК, что позволяет поддерживать жизне-способность, стимулировать развитие новых, а также влиять на лекарственную устойчивость новообразований. Также существует возможность искусственного создания СК из зрелых

Принятые сокращения: ГКГС — главный комплекс гистосовместимости; ГСКС — гемопоэтические стволовые клетки; МСК — мезенхимальные стволовые клетки; ОСК — опухолевые стволовые клетки; ПСК — плюрипотентные стволовые клетки; иПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; УПС — убиквитин-протеасомная система; СК — стволовые клетки; ЭСК — эмбриональные стволовые клетки.

* Адресат для корреспонденции.

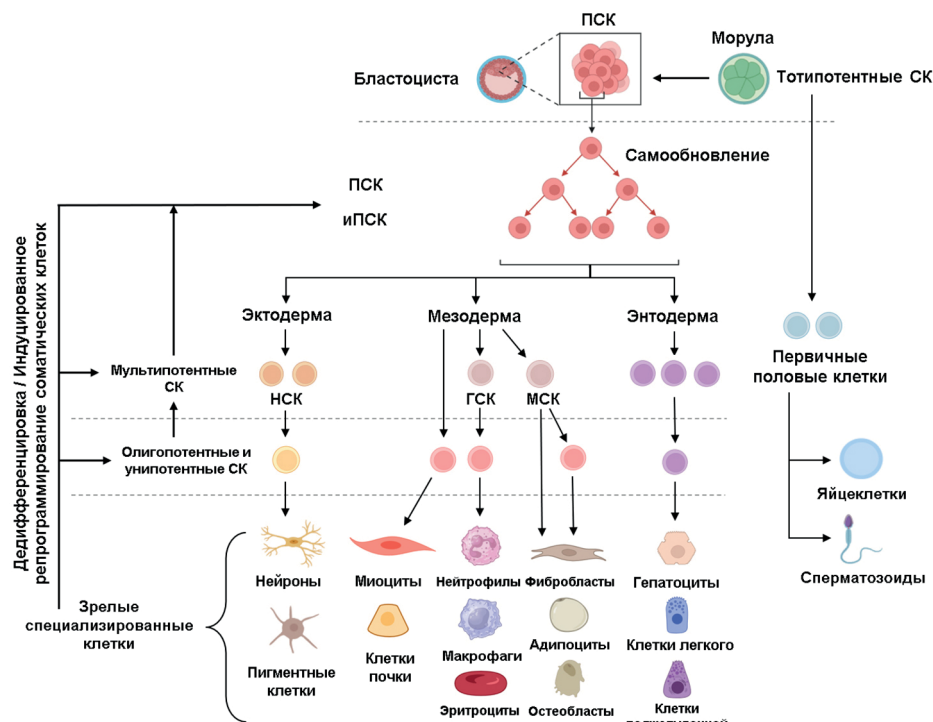


Рис. 1. Иерархия, виды и направления дифференцировки стволовых клеток, СК — стволовые клетки; ПСК — плюрипотентные стволовые клетки; иПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; МСК — мезенхимальные стволовые клетки; НСК — нейральные стволовые клетки; ГСК — гемопоэтические стволовые клетки

клеток организма путем воздействия различных генетических и химических факторов на клетки; примером таких клеток являются индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК). Как и ПСК, иПСК способны давать начало большинству типов органов и тканей организма.

Характерной чертой СК являются активный метаболизм, высокий уровень транскрипции и синтеза белка, что требует наличия высокоорганизованной протеолитической системы. Данную функцию выполняют система аутофагии и убиквитин-протеасомная система (УПС). Если система аутофагии преимущественно отвечает за утилизацию белковых агрегатов и органелл, то УПС имеет более широкий функционал. Как и в других клетках организма, в СК УПС активно участвует в регуляции экспрессии генов, метаболических и энергетических процессах, осуществляя посттрансляционные модификации транскрипционных факторов, регулирует темп пролиферации и переход клеток к апоптозу, участвует в передаче внутриклеточных и межклеточных сигналов и др. [3].

В целом, УПС оказывает большое влияние на функциональный статус СК, в зависимости от условий либо поддерживая недифференцированное состояние, либо способствуя на-

правлению клетки на путь дифференцировки. Данная регуляторная система имеет сложную организацию, поэтому определение четкой роли УПС в биологии СК позволит вывести на новый уровень биоинженерные подходы к изучению стволовых клеток и их применение в медицине.

ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК

СК обладают двумя универсальными свойствами: способность к самообновлению и способность к преобразованию в специализированные клетки, формирующие зрелые ткани и органы, то есть способность к дифференцировке (рис. 1). Эти свойства проявляются СК при делении двух типов: симметричном, когда СК лишь воспроизводят свои недифференцированные клоны, и асимметричном, когда в процессе деления получается одна более специализированная клетка и одна недифференцированная. Функциональное состояние и дифференцировочный потенциал СК отличается на разных стадиях развития организма. На начальных стадиях развития (стадия зиготы и морулы) организм состоит из тотипотентных клеток, каждая из которых имеет

неограниченный потенциал к делению и способна в случае изоляции дать начало новому организму. На эмбриональном этапе (стадия бластоцисты и последующие стадии формирования зародыша) дифференцировочный потенциал СК снижается. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) становятся плюрипотентными, что означает лишь их способность к универсальной дифференцировке в любой из типов клеток зрелого организма [4]. В ходе дальнейшего онтогенеза дифференцировочный потенциал большинства ПСК ограничивается еще сильнее, они трансформируются в зрелые тканеспецифичные стволовые клетки (постнатальные СК). К таким зрелым стволовым клеткам можно отнести мультипотентные и унипотентные стволовые клетки. Примером мультипотентных клеток могут служить мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и гемопоэтические стволовые клетки (ГСК). ГСК способны давать начало всем видам миелоидных и лимфоидных клеток (рис. 1). МСК имеют возможность хондрогенной, остеогенной и адипогенной дифференцировки. Унипотентные стволовые клетки представляют собой тканеспецифичные клетки-предшественники, их отличием является очень узкая возможность дифференцировки всего в один тип клеток и ограниченная возможность самообновления, то есть они делятся определенное количество раз [5]. Благодаря своим уникальным свойствам в поддержании функционального статуса ткани, иммуномодулирующим функциям, способности к хоумингу и др. СК являются объектом пристального изучения с целью применения в области регенеративной медицины, тканевой инженерии и терапии многих онкологических и нейродегенеративных заболеваний [1, 6]. Особое внимание привлекает возможность получения иПСК из соматических клеток путем искусственного репрограммирования (рис. 1). Такой подход позволяет получить СК, обладающие дифференцировочным потенциалом и свойствами, аналогичными ПСК, и использовать их как для изучения *in vitro* в качестве универсального модельного объекта, так и для применения в медицинской практике, например, трансплантологии [2, 7]. Подобная пластичность СК была бы невозможна без сложной внутриклеточной системы контроля пролиферации. Баланс между процессами дифференцировки, старения и клеточной гибели поддерживается в первую очередь за счет скоординированной работы большого количества транскрипционных факторов. При этом уровень экспрессии генов многих факторов транскрипции кос-

венно регулируется внутриклеточными протеолитическими системами, в том числе убиквитин-протеасомной системой. Данная система работает и в цитоплазме, и в клеточном ядре, осуществляя селективный протеолиз белковых молекул. Неоднократно было показано участие УПС в поддержании потенции СК [8, 9], однако функции УПС в СК на этом не ограничиваются. УПС также активно участвует в процессе дифференцировки, задавая вектор развития СК [10, 11]. Интенсивность протеолиза в СК с участием УПС и скорость дифференцировки зависит от концентрации макроэргических субстратов в клетке, а также от баланса между анаэробными и аэробными катаболическими процессами [12]. Хотя считается, что в основном клетки используют гликолиз, было показано, что *in vitro* для ЭСК характерен высокий уровень окислительного фосфорилирования и продукции АТР с участием митохондрий [13]. Для МСК и ГСК в недифференцированном состоянии покоя характерна высокая гликолитическая активность, которая почти полностью обеспечивает клетки АТР [14]. АТР в комплексе с двухвалентными ионами, в первую очередь ионами магния Mg^{2+} , оказывает влияние на работу УПС [15]. Поэтому в случае повреждения элементов электронно-транспортной цепи митохондрий происходит снижение концентрации АТР в цитозоле, что приводит к снижению АТР-зависимого протеолиза с участием УПС. Следствием этих молекулярных событий может стать преждевременная дифференцировка или даже старение и переход СК к апоптозу. Для более детального понимания работы УПС в СК необходимо рассмотреть ее основные функциональные элементы, непосредственно осуществляющие протеолиз, а также механизмы, регулирующие этот процесс.

УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНАЯ СИСТЕМА

Поддержание динамического равновесия в протеоме является необходимым условием для нормального метаболизма и долгосрочного обеспечения жизнедеятельности любого типа клеток и органов [16]. В клетках эукариот эту функцию выполняет УПС.

УПС — высокоорганизованная система, включающая в себя множество макромолекулярных компонентов. Результат согласованных взаимодействий этих молекул проявляется в избирательном мечении и последующей деградации белков [17]. Селективность протеолиза

обеспечивается убиквитинированием — посттрансляционной модификацией белков, представляющей собой ковалентное присоединение молекулы убиквитина.

Убиквитин — это белок массой 8,5 кДа, который играет важнейшую роль в регуляции таких процессов, как прохождение клеточного цикла, клеточная дифференцировка, апоптоз, репарация ДНК и др. [18] В процессе убиквитинирования задействованы 3 группы специфических ферментов: E1 — убиквитин-активирующий фермент, E2 — убиквитин-сопрягающие ферменты и E3 — убиквитин-лигазы, осуществляющие перенос молекул убиквитина на конкретные субстраты [19]. В ходе убиквитинирования белок обретает молекулярную метку, чаще всего представляющую собой полиубиквитиновую цепь, мономеры которой соединены между собой изопептидными связями. Следует отметить, что наличие специфической полиубиквитиновой цепи на молекуле белка далеко не всегда приводит к его протеолизу [20, 21]. Тем не менее присоединение большинства типов убиквитиновых цепей, в том числе и моноубиквитинирование, так или иначе опосредует деградацию белка [22]. Помимо убиквитиновой метки, в составе белка для его эффективной деградации должен присутствовать неструктурированный участок — дегрон [23].

Дальнейшие химические преобразования субстрата обеспечиваются работой протеасом — макромолекулярных белковых комплексов, обладающих протеолитической активностью. Протеасомы осуществляют протеолиз белковых субстратов с образованием коротких пептидов, которые в дальнейшем с участием пептидаз могут разрушаться до отдельных аминокислот [24] либо могут выполнять функции биологически активных сигнальных молекул как внутри, так и вне клетки [25, 26]. Протеасомы являются основной функциональной единицей УПС, так как непосредственно осуществляют протеолиз, однако для них характерно высокое структурное разнообразие. Это разнообразие обеспечивается встраиванием в протеасому альтернативных каталитических субъединиц, взаимодействием с различными регуляторными белковыми комплексами, а также посттрансляционными модификациями ее компонентов [27].

Основным структурным элементом в составе протеасомного комплекса является 20S-протеасома. Это высококонсервативный белковый комплекс, наличие которого в клетках характерно как для эукариотических, так и для некоторых прокариотических организ-

мов [28]. 20S-Протеасома эукариот представляет собой симметричную бочка-подобную структуру ($M = 700$ кДа), состоящую из четырех уложенных друг на друга гептамерных колец [29]. Каждое из двух внешних колец включает в себя α -субъединицы ($\alpha 1$ – $\alpha 7$), выполняющие структурную функцию, а также предотвращающие случайный доступ субстрата во внутреннюю протеолитическую камеру, образованную двумя кольцами β -субъединиц ($\beta 1$ – $\beta 7$) [27, 29, 30]. По три из семи β -субъединиц в каждом из внутренних колец протеасом эукариот обладают специфической каталитической активностью за счет наличия активного остатка треонина на *N*-конце полипептидной цепи [31]. В составе конститутивной 20S-протеасомы $\beta 1$ -субъединица осуществляет гидролиз пептидной связи после кислых остатков (каспазаподобная активность), $\beta 2$ -субъединица — после основных (трипсинподобная активность), а $\beta 5$ -субъединица — после гидрофобных остатков (химотрипсинподобная активность) [17, 32].

Убиквитин-зависимый протеолиз подразумевает ассоциацию 20S-протеасомы с одним или двумя 19S-регуляторами, такой комплекс называют 26S-протеасомой [33]. Субъединицы регулятора осуществляют распознавание, деубиквитинирование, разворачивание молекулы субстрата и ее протаскивание в каталитическую камеру 20S-протеасомы [34, 35]. Помимо 19S-регулятора, обратимо присоединяться к внешним кольцам α -субъединиц 20S-протеасомы может и ряд других регуляторов, таких как PA28 $\alpha\beta$, PA28 γ , PA200 и PI31. Причем не исключено одновременное присоединение двух различных регуляторов к одной 20S-протеасоме, и в этом случае образуется так называемая гибридная протеасома [36, 37]. В целом, функция протеасомных регуляторов заключается в обеспечении субстратной специфичности и облегчении доступа субстратов в протеолитическую камеру протеасомы [38].

У большинства челюстноротых (за исключением птиц), помимо наличия или отсутствия ассоциированного регулятора, структура и активность 20S-протеасом может изменяться за счет встраивания неканонических каталитических субъединиц, которые являются гомологами конститутивных субъединиц [39]. В определенных типах клеток (например, иммунных клетках) постоянно экспрессируются так называемые иммунные субъединицы $\beta 1i$ (LMP2), $\beta 2i$ (MECL-1) и $\beta 5i$ (LMP7) [40]. При сборке протеасомы они могут встраиваться в оба β -кольца вместо своих конститутивных гомологов, образуя тем самым иммунопротеасомы [40].

При этом в клетках, которые в норме не экспрессируют иммунные субъединицы, возможна индукция их экспрессии под действием таких провоспалительных цитокинов, как интерферон гамма (ИФН- γ) и фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) [41–43]. Субъединица $\beta 2i$ проявляет трипсинподобную активность, а субъединицы $\beta 1i$ и $\beta 5i$ — химотрипсинподобную [44]. Соответственно, в отличие от конститутивной 20S-протеасомы, иммунопротеасома обладает существенно сниженной каспазаподобной активностью, при этом проявляет повышенную химотрипсинподобную активность. Поэтому, по сравнению с конститутивными протеасомами, иммунопротеасомы более эффективно продуцируют пептиды, С-конец которых представлен аминокислотой с гидрофобным радикалом. Это позволяет данным пептидам впоследствии связываться с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) первого класса, что является ключевым этапом на пути презентации антигена на поверхности клетки и обуславливает важную роль иммунопротеасом при воспалительных процессах и инфекциях [45].

Помимо иммунопротеасом, также существует ряд других неканонических форм протеасом, образующихся за счет комбинаторного встраивания альтернативных субъединиц. Важной характеристикой тотального пула протеасом в клетке является процентное содержание и относительная активность той или иной формы 20S-протеасом. При этом данный показатель является динамичным, и пул протеасом меняется в ходе онтогенеза, в том числе и при дифференцировке СК [46]. По всей вероятности, варианты форм протеасом выполняют специфические функции, при этом некоторые из них привязаны к определенному типу ткани в организме [47]. Так, например, тимопротеасомы можно найти в эпителиальных клетках кортикального слоя тимуса [48]. Такие протеасомы, помимо $\beta 1i$ и $\beta 2i$, включают в свой состав также уникальную каталитическую субъединицу $\beta 5t$ и играют важную роль в положительной селекции Т-лимфоцитов [41, 48–50]. Было показано, что *de novo* экспрессия тимопротеасом в МСК значительно увеличивает их терапевтический потенциал в качестве противоопухолевой вакцины, активирующей CD8⁺ Т-лимфоциты [51].

Очевидно, что такая вариативность в структуре, возможность присоединения регуляторов обеспечивают высокую функциональную мобильность УПС. Это подтверждается тем, что протеасомы осуществляют протеолитическую регуляцию огромного числа сиг-

нальных биохимических путей. В то же время высокий уровень организации УПС сопряжен с риском развития различных патологий в случае нарушения работы протеолитической системы. Мутации в генах УПС могут приводить к развитию онкологических, нейродегенеративных, аутоиммунных и метаболических заболеваний [52]. Учитывая вышесказанное, неудивительно, что УПС в СК принимает участие в регуляции дифференцировки. На сегодняшний день активно исследуется то, как именно и за счет протеолиза каких белковых молекул протеасомы влияют на интенсивность пролиферации и реализацию дифференцировочного потенциала СК.

ФУНКЦИИ УПС В СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ

Поддержание недифференцированного состояния СК. Регуляция процесса дифференцировки СК и возможность получения иПСК путем репрограммирования соматических клеток давно привлекают внимание научного сообщества. Несмотря на активное изучение этого вопроса и попытки выявить генетические и эпигенетические закономерности развития СК [53], универсальные механизмы, определяющие пролиферативный статус СК, остаются не до конца понятными. Во многом дифференцировка СК зависит от взаимодействий белков внутри клетки, в том числе от убиквитинирования и селективного протеолиза ряда транскрипционных факторов. Так, убиквитинирование и протеасомная деградация ключевых транскрипционных факторов NANOG, OCT-3/4, SOX2, KLF4, C-MYC, LIN28 в СК определяют судьбу клеток, поддержание недифференцированного состояния и запуск процесса дифференцировки [9, 11, 54, 55] (таблица). Селективный протеолиз транскрипционных факторов — не единственный механизм, реализуемый УПС в регуляции поддержания потенциальности СК. УПС также исполняет роль главной системы контроля качества при накоплении в клетке поврежденных и неправильно свернутых белков. Показано, что в ЭСК активность убиквитин-зависимого протеолиза повышена и зависит от уровня экспрессии гена *PSMD11*, который кодирует одну из субъединиц 19S-регулятора протеасом, что может иметь значение для защиты клеток от протеотоксического стресса (таблица) [56]. При этом при дифференцировке уровень экспрессии *PSMD11* и активность протеасом существенно снижались [56].

Для зрелых мышечных СК в условиях искусственного нокаута другой субъединицы 19S-регулятора (Rpt3) была показана утрата способности участвовать в регенерации поврежденной мышечной ткани (таблица) [57]. Более того, для ПСК, по сравнению с их более дифференцированными потомками, характерен более высокий уровень экспрессии генов таких E3-убиквитинлигаз, как HERC2, UBE3A, UBR7 и RNF181 (таблица) [58], что, по-видимому, играет роль в поддержании баланса содержания эндогенных регуляторных белков. Для поддержания гомеостаза клеткой непрерывный процесс убиквитинирования белков должен быть сбалансирован обратным процессом – деубиквитинированием. Действительно, активность деубиквитинирующих ферментов также влияет на поддержание потенциальности СК и процесс их дифференцировки. Так, например, было показано, что в ЭСК деубиквитинирование и, как следствие, стабилизация транскрипционного фактора NANOG, приводит к поддержанию недифференцированного состояния клеток [59]. В нейральных стволовых клетках (НСК) активность деубиквитиназы USP7 предотвращает деградацию транскрипционного фактора REST, участвующего в поддержании потенциальности. Нокаут гена, кодирующего USP7, приводит к быстрой убиквитин-зависимой протеолитической деградации REST и немедленной дифференцировке НСК [60]. Также была показана роль деубиквитиназы USP44 в поддержании плюрипотентного состояния ЭСК [61]. USP44 предотвращает накопление убиквитинированных гистонов H2B в ядрах ЭСК, что позволяет клеткам оставаться в плюрипотентном состоянии. Переход к дифференцировке сопряжен с падением экспрессии USP44 и повышением количества убиквитинированного гистона H2B [61]. Данный пример указывает на то, что деубиквитинирующие ферменты могут регулировать процесс дифференцировки не только за счет прямого взаимодействия с транскрипционными факторами, а также за счет модификации гистонов в областях, ассоциированных с промоторами транскрипционных факторов. Еще одним подтверждением данной гипотезы служит участие деубиквитиназы USP21 в экспрессии генов, регулируемых NANOG [59], а также USP22 – в экспрессии гена, кодирующего ключевой фактор плюрипотентности (SOX2). USP22 специфично связывается и осуществляет деубиквитинирование гистонов в промоторных областях гена *SOX2*, тем самым снижая уровень транскрипции гена, стимулируя процесс диффе-

ренцировки [62]. Таким образом, во многих ПСК смещение баланса между процессами убиквитинирования и деубиквитинирования отражается на статусе этих клеток, зачастую приводя к их дифференцировке.

Все это указывает на важную роль убиквитин-зависимого протеолиза, однако в случае общего нарушения протеостаза активно функционируют и свободные 20S-протеасомы, осуществляя убиквитин-независимый протеолиз [63]. Также было показано, что воздействие на МСК специфического ингибитора протеасом Mgl32 приводит к ускоренному старению клеток, что, в свою очередь, обычно является причиной снижения дифференцировочного потенциала СК, что, например, может проявляться в утрате остеогенного и хондрогенного потенциала и усилении адипогенной дифференцировки у старых МСК [64, 65]. Это подтверждается данными, указывающими на то, что в МСК снижение пролиферативного потенциала сопряжено с падением активности и уровня экспрессии конститутивных протеасом [66]. Таким образом, нарушения в работе УПС приводят к быстрому клеточному старению и, в случае СК, к снижению дифференцировочного потенциала.

В целом, стабильная работа УПС необходима для поддержания потенциальности всех типов СК, от ЭСК до зрелых прогениторных клеток, а УПС-зависимое поддержание протеостаза – одно из главных условий нормального функционирования стволовых клеток [8].

Роль УПС в дифференцировке СК. УПС принимает активное участие в дифферен-

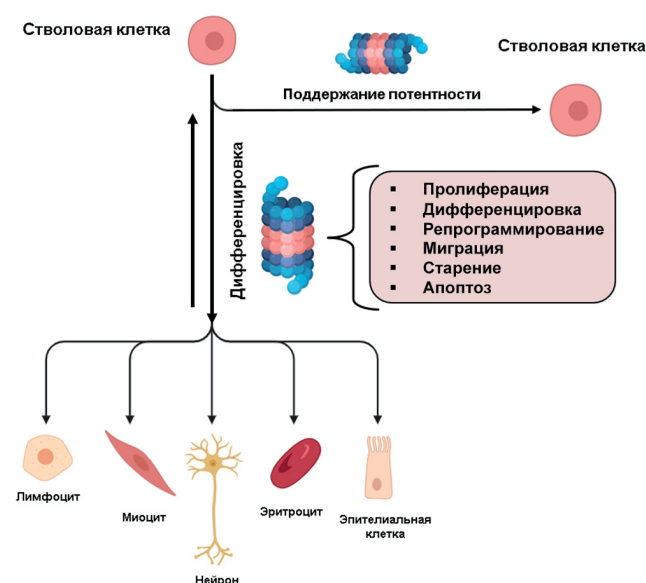


Рис. 2. Роль протеасом в дифференцировке и поддержании потенциальности СК

Функции различных компонентов УПС в стволовых клетках

Тип клеток	Компонент УПС	Функция	Ссылка
Плюрипотентные			
ЭСК/иПСК	субъединицы 19S-регулятора протеасом Rpn11/Rpn6 и E3-убиквитинлигазы FBXW7, FBXW8	поддержание плюрипотентного состояния/индукция дифференцировки	[9, 54–56]
	субъединица 19S-регулятора протеасом Rpn6 (<i>PSMD11</i>)	поддержание протеостаза и контроль пролиферации	[56]
	HECT – E3-убиквитинлигазы (HERC2, UBE3A) и RING – E3-убиквитинлигазы (UBR7, RNF181)	поддержание стабильного общего уровня синтеза белка, созревания рРНК, контроль работы теломеразы и регуляция гликолитического метаболизма в клетке	[58]
	деубиквитинирующий фермент USP44	деубиквитинирование гистона H2B, модуляция экспрессии <i>OCT4</i> и <i>NANOG</i>	[61]
	деубиквитинирующий фермент USP21	стабилизация NANOG, деубиквитинирование гистона H2A	[59]
	деубиквитинирующий фермент USP22	деубиквитинирование гистона H2B, ассоциированного с промотором гена <i>SOX2</i>	[60]
	E3-убиквитинлигаза RNF20	убиквитинирование гистона H2B, негативная регуляция экспрессии генов, кодирующих C-FOS и C-MYC	[61, 71]
	регулятор протеасом PA28αβ, иммунные протеасомы	деградация окисленных и поврежденных белков	[72, 77]
Мультипотентные и унипотентные			
МСК	субъединицы 20S-протеасом β5/β2	стимуляция самообновления, контроль активности транскрипционных факторов, определяющих плюрипотентное состояние СК	[66]
	E3-убиквитинлигаза RNF40	убиквитинирование гистона H2B, позитивная регуляция экспрессии генов дифференцировки	[70]
ГСК	иммунная субъединица протеасом β5i	контроль эффективности презентации антигенов в составе ГКГС первого класса	[76]
	E3-убиквитинлигаза c-Cbl	убиквитинирование транскрипционных факторов NOTCH, C-KIT и STAT5	[68]
НСК	убиквитин-модифицирующий фермент UBA1	дифференцировка мотонейронов	[10]
	деубиквитинирующий фермент USP7	предотвращение протеолитической деградации транскрипционного фактора REST и перехода к дифференцировке	[60]
мышечные СК	субъединица 19S-регулятора протеасом Rpt3	поддержание высокой активности убиквитин-зависимого протеолиза, обеспечение выживания СК и эффективной дифференцировки	[57]
эпидермальные СК	E3-убиквитинлигаза Smurf2	убиквитинирование β-катенина и модуляция дифференцировки	[69]

цировке СК (рис. 2). Гомеостаз на тканевом уровне требует постоянного обновления состарившихся и поврежденных клеток. Эту функцию на себя берут соответствующие зрелые резидентные СК. Чтобы находиться в балансе между пролиферацией, дифференцировкой, старением и апоптозом, эти СК должны иметь систему, способную интегрировать все сигналы внутренней и внешней среды и трансформировать их в соответствующие регуляторные молекулярные преобразования. УПС принимает непосредственное участие в этом процессе и здесь также большую роль играет убиквитинирование транскрипционных факторов [67]. Так, например, в ГСК повышение уровня экспрессии гена, кодирующего E3-лигазу c-Cbl, сопряжено с переходом к дифференцировке. Данная E3-лигаза убиквитинирует и направляет на протеасомную деградацию транскрипционные факторы NOTCH, C-KIT и STAT5, которые предотвращают выход из недифференцированного состояния (таблица) [68]. В эпидермальных СК E3-лигаза SMURF2 модулирует дифференцировку клеток путем убиквитинирования β -катенина [69]. Помимо убиквитинирования транскрипционных факторов, важную роль в запуске дифференцировки также играют соответствующие модификации гистонов. Так, например, в МСК по ходу дифференцировки возрастает уровень экспрессии E3-лигазы RNF40, которая катализирует присоединение убиквитина к гистону H2B [70]. Внесение этой модификации приводит к формированию открытого хроматина и повышению уровня экспрессии генов дифференцировки. То же самое происходит с участием E3-лигазы RNF20, но она при дифференцировке негативно регулирует экспрессию протоонкогенов C-FOS и C-MYC (таблица) [61, 71].

Помимо динамических изменений в работе E3-лигаз, по ходу дифференцировки может изменяться уровень убиквитинирования компонентов УПС. Было показано, что в ходе дифференцировки ИПСК в мотонейроны в клетках значительно возрастает количество убиквитинированного белка UBA1 (E1), а обработка клеток специфическим ингибитором UBA1 приводит к снижению эффективности дифференцировки и выживаемости мотонейронов (таблица) [10]. Стоит также отметить, что в мышинных ЭСК при дифференцировке было выявлено повышение экспрессии иммунных протеасом, а также протеасом, несущих регулятор PA28 $\alpha\beta$, что было связано с уменьшением количества окисленных и поврежденных белков [72].

УПС, ОПУХОЛЕВЫЕ СК И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА

Биология СК тесно связана с биологией злокачественных опухолей, поскольку формирование опухоли всегда начинается с локальной группы клеток, которые претерпевают злокачественную трансформацию и впоследствии дают начало всем остальным клеткам опухоли. Такие клетки называют опухолевыми стволовыми клетками. Метаболизм ОСК представляет особый интерес, поскольку именно эти клетки могут выжить в ходе цитостатической терапии и стать причиной рецидива, дав начало вторичной опухоли [73]. Как и в нормальных СК, в ОСК убиквитин-протеасомная система играет важную роль, однако было показано, что в ОСК, по сравнению с другими клетками опухоли, активность протеасом снижена и не так активно идет селективный убиквитин-зависимый протеолиз [74, 75]. По-видимому, это общая черта для ОСК в различных типах опухолей. Изучение механизмов регуляции пролиферации ОСК с участием УПС может пролить свет на закономерности формирования опухолей и помочь в разработке соответствующих терапевтических подходов.

Перспективным применением СК является регенеративная медицина и клеточная терапия, подразумевающая трансплантацию СК. Данный подход используют для замещения поврежденных тканей и регенерации отдельных органов пациентов. Этот метод применялся неоднократно и показал многообещающие результаты на этапе клинических испытаний в случае таких заболеваний, как сахарный диабет, хронический миелоидный лейкоз, цирроз печени и легочный фиброз [1]. Однако есть ряд ограничений, не позволяющих повсеместно применять методы регенеративной медицины. Во-первых, трансплантация СК в случае нарушения молекулярных механизмов контроля пролиферации в пересаженных клетках может привести к формированию опухоли в теле реципиента [1]. Во-вторых, пересадка чужеродных клеток может вызывать у реципиента иммунную реакцию, что также может быть связано с протеолитической активностью иммунопротеасом. В СК иммунопротеасомы участвуют в процессе презентации антигенов в составе ГКГС первого класса, а полиморфизм генов иммунных субъединиц (в частности, гена *PSMB8*, кодирующего $\beta 5i$ -субъединицу) может влиять на эффективность трансплантации ГСК и вызывать аутоиммунные реакции (таблица) [76]. При этом в ходе дифференцировки в некоторых СК экспрессия генов

иммунных субъединиц, а также активность самих иммунных протеасом повышаются, однако не до конца ясно, что здесь является причиной, а что — следствием [72, 77]. Так или иначе, стволовые клетки являются важным инструментом для изучения органогенеза и регенеративных способностей организма. Они также являются хорошей моделью для изучения патогенетических механизмов развития множества заболеваний и дают возможность разработки биологических моделей для изучения новых фармакологических препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разные типы СК обладают различным потенциалом к пролиферации и дифференцировке. УПС является неотъемлемым элементом метаболизма любой клетки, в том числе и СК, однако особый интерес представляет ее функциональная нагрузка в недифференцированных СК. УПС в СК участвует в сохранении недифференцированного состояния, а также поддерживает хрупкий баланс между пролиферацией, дифференцировкой, старением и апоптозом. В СК УПС осуществляет деградацию большинства белков (в том числе окисленных и поврежденных), регулирует клеточный цикл и активность транскрипционных факторов с помощью E3-убиквитинлигаз, а также деубиквитирующих ферментов. В связи с двойкой функцией УПС ингибирование активности протеасом в СК может привести к разным последствиям в зависимости

от условий. С одной стороны, эффект может проявиться в негативной регуляции факторов стволовости и активации факторов, направляющих СК на путь дифференцировки, с другой стороны, метаболизм клетки может сильно пострадать и вместо дифференцировки приведет к преждевременному старению и апоптозу СК. В этой связи необходимо иметь ясное представление о том, за счет каких молекулярных механизмов в СК поддерживается данный баланс. Это также позволит более детально изучить биологию СК, включая ОСК, и найти новые подходы к терапии социально-значимых заболеваний. Понимание роли УПС в целом и ее компонентов по отдельности в репрограммировании и трансдифференцировке СК позволит добиться значительного прогресса в прикладных областях медицины, включая регенеративную медицину, заместительную клеточную терапию и скрининг лекарственных препаратов.

Вклад авторов. А.В. Буров, А.А. Родин — написание текста; А.В. Морозов, В.Л. Карпов — редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, Соглашение № 075-15-2020-773.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kolios, G., and Moodley, Y. (2013) Introduction to stem cells and regenerative medicine, *Respiration*, **85**, 3-10, doi: 10.1159/000345615.
2. Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., and Rybak, Z. (2019) Stem cells: past, present, and future, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**, 68, doi: 10.1186/s13287-019-1165-5.
3. Selenina, A. V., Tsimokha, A. S., and Tomilin, A. N. (2017) Proteasomes in protein homeostasis of pluripotent stem cells, *Acta Naturae*, **9**, 39-47, doi: 10.32607/20758251-2017-9-3-39-47.
4. Chagastelles, P. C., and Nardi, N. B. (2011) Biology of stem cells: an overview, *Kidney Int. Suppl.*, **1**, 63-67, doi: 10.1038/kisup.2011.15.
5. Preston, S. L., Alison, M. R., Forbes, S. J., Direkze, N. C., Poulson, R., and Wright, N. A. (2003) The new stem cell biology: something for everyone, *Mol. Pathol.*, **56**, 86-96, doi: 10.1136/mp.56.2.86.
6. Lim, S. K., and Khoo, B. Y. (2021) An overview of mesenchymal stem cells and their potential therapeutic benefits in cancer therapy, *Oncol. Lett.*, **22**, 785, doi: 10.3892/ol.2021.13046.
7. Apostolou, E., Blau, H., Chien, K., Lancaster, M. A., Tata, P. R., Trompouki, E., Watt, F. M., Zeng, Y. A., and Zernicka-Goetz, M. (2023) Progress and challenges in stem cell biology, *Nat. Cell Biol.*, **25**, 203-206, doi: 10.1038/s41556-023-01087-y.
8. Naujokat, C., and Sarić, T. (2007) Concise review: role and function of the ubiquitin-proteasome system in mammalian stem and progenitor cells, *Stem Cells*, **25**, 2408-2418, doi: 10.1634/stemcells.2007-0255.
9. Okita, Y., and Nakayama, K. I. (2012) UPS delivers pluripotency, *Cell Stem Cell*, **11**, 728-730, doi: 10.1016/j.stem.2012.11.009.
10. Bax, M., McKenna, J., Do-Ha, D., Stevens, C. H., Higginbottom, S., Balez, R., Cabral-da-Silva, M. E. C.,

- Farrawell, N. E., Engel, M., Poronnik, P., Yerbury, J. J., Saunders, D. N., and Ooi, L. (2019) The ubiquitin proteasome system is a key regulator of pluripotent stem cell survival and motor neuron differentiation, *Cells*, **8**, 581, doi: 10.3390/cells8060581.
11. Choi, J., and Baek, K. H. (2018) Cellular functions of stem cell factors mediated by the ubiquitin-proteasome system, *Cell. Mol. Life Sci.*, **75**, 1947-1957, doi: 10.1007/s00018-018-2770-7.
 12. Hu, C., Fan, L., Cen, P., Chen, E., Jiang, Z., and Li, L. (2016) Energy metabolism plays a critical role in stem cell maintenance and differentiation, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 253, doi: 10.3390/ijms17020253.
 13. Birket, M. J., Orr, A. L., Gerencser, A. A., Madden, D. T., Vitelli, C., Swistowski, A., Brand, M. D., and Zeng, X. (2011) A reduction in ATP demand and mitochondrial activity with neural differentiation of human embryonic stem cells, *J. Cell. Sci.*, **124**, 348-358, doi: 10.1242/jcs.072272.
 14. Fillmore, N., Huqi, A., Jaswal, J. S., Mori, J., Paulin, R., Haromy, A., Onay-Besikci, A., Ionescu, L., Thébaud, B., Michelakis, E., and Lopaschuk, G. D. (2015) Effect of fatty acids on human bone marrow mesenchymal stem cell energy metabolism and survival, *PLoS One*, **10**, e0120257, doi: 10.1371/journal.pone.0120257.
 15. Morozov, A., Astakhova, T., Erokhov, P., and Karpov, V. (2022) The ATP/Mg²⁺ balance affects the degradation of short fluorogenic substrates by the 20S proteasome, *Methods Protoc.*, **5**, 15, doi: 10.3390/mps5010015.
 16. Dikic, I. (2017) Proteasomal and autophagic degradation systems, *Annu. Rev. Biochem.*, **86**, 193-224, doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-044908.
 17. Cohen-Kaplan, V., Livneh, I., Avni, N., Cohen-Rosenzweig, C., and Ciechanover, A. (2016) The ubiquitin-proteasome system and autophagy: coordinated and independent activities, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **79**, 403-418, doi: 10.1016/j.biocel.2016.07.019.
 18. Finley, D., and Varshavsky, A. (1985) The ubiquitin system: functions and mechanisms, *Trends Biochem. Sci.*, **10**, 343-347, doi: 10.1016/0968-0004(85)90108-2.
 19. Ciechanover, A., and Kwon, Y. (2015) Degradation of misfolded proteins in neurodegenerative diseases: therapeutic targets and strategies, *Exp. Mol. Med.*, **47**, e147, doi: 10.1038/emmm.2014.117.
 20. Yau, R., and Rape, M. (2016) The increasing complexity of the ubiquitin code, *Nat. Cell Biol.*, **18**, 579-586, doi: 10.1038/ncb3358.
 21. Swatek, K. N., and Komander, D. (2016) Ubiquitin modifications, *Cell Res.*, **26**, 399-422, doi: 10.1038/cr.2016.39.
 22. Braten, O., Livneh, I., Ziv, T., Admon, A., Kehat, I., Caspi, L. H., Gonen, H., Bercovich, B., Godzik, A., Jahandideh, S., Jaroszewski, L., Sommer, T., Kwon, Y. T., Guharoy, M., Tompa, P., and Ciechanover, A. (2016) Numerous proteins with unique characteristics are degraded by the 26S proteasome following monoubiquitination, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, E4639-E4647, doi: 10.1073/pnas.1608644113.
 23. Collins, G. A., and Goldberg, A. L. (2017) The logic of the 26S proteasome, *Cell*, **169**, 792-806, doi: 10.1016/j.cell.2017.04.023.
 24. Reits, E., Griekspoor, A., Neijssen, J., Groothuis, T., Jalink, K., Van Veelen, P., Janssen, H., Calafat, J., Drijfhout, J. W., and Neefjes, J. (2003) Peptide diffusion, protection, and degradation in nuclear and cytoplasmic compartments before antigen presentation by MHC class I, *Immunity*, **18**, 97-108, doi: 10.1016/s1074-7613(02)00511-3.
 25. De Araujo, C. B., Heimann, A. S., Remer, R. A., Russo, L. C., Colquhoun, A., Forti, F. L., and Ferro, E. S. (2019) Intracellular peptides in cell biology and pharmacology, *Biomolecules*, **9**, 150, doi: 10.3390/biom9040150.
 26. Ramachandran, K. V., and Margolis, S. S. (2017) A mammalian nervous-system-specific plasma membrane proteasome complex that modulates neuronal function, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 419-430, doi: 10.1038/nsmb.3389.
 27. Finley, D., Chen, X., and Walters, K. J. (2016) Gates, channels, and switches: elements of the proteasome machine, *Trends Biochem. Sci.*, **41**, 77-93, doi: 10.1016/j.tibs.2015.10.009.
 28. Humbard, M. A., and Maupin-Furlow, J. A. (2013) Prokaryotic proteasomes: nanocompartments of degradation, *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 321-334, doi: 10.1159/000351348.
 29. Budenholzer, L., Cheng, C. L., Li, Y., and Hochstrasser, M. (2017) Proteasome structure and assembly, *J. Mol. Biol.*, **429**, 3500-3524, doi: 10.1016/j.jmb.2017.05.027.
 30. Groll, M., Ditzel, L., Löwe, J., Stock, D., Bochtler, M., Bartunik, H. D., and Huber, R. (1997) Structure of 20S proteasome from yeast at 2.4 Å resolution, *Nature*, **386**, 463-471, doi: 10.1038/386463a0.
 31. Glickman, M. H., and Ciechanover, A. (2002) The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction, *Physiol. Rev.*, **82**, 373-428, doi: 10.1152/physrev.00027.2001.
 32. Rousseau, A., and Bertolotti, A. (2018) Regulation of proteasome assembly and activity in health and disease, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 697-712, doi: 10.1038/s41580-018-0040-z.
 33. Tanaka, K. (2009) The proteasome: overview of structure and functions, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, **85**, 12-36, doi: 10.2183/pjab.85.12.
 34. Lu, Y., Lee, B. H., King, R. W., Finley, D., and Kirschner, M. W. (2015) Substrate degradation by the proteasome: a single-molecule kinetic analysis, *Science*, **348**, 1250834, doi: 10.1126/science.1250834.
 35. Liu, C. W., and Jacobson, A. D. (2013) Functions of the 19S complex in proteasomal degradation,

- Trends Biochem. Sci.*, **38**, 103-110, doi: 10.1016/j.tibs.2012.11.009.
36. Blickwedehl, J., Agarwal, M., Seong, C., Pandita, R. K., Melendy, T., Sung, P., Pandita, T. K., and Bangia, N. (2008) Role for proteasome activator PA200 and postglutamyl proteasome activity in genomic stability, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 16165-16170, doi: 10.1073/pnas.0803145105.
 37. Bochmann, I., Ebstein, F., Lehmann, A., Wohlschlaeger, J., Sixt, S. U., Kloetzel, P. M., and Dahlmann, B. (2014) T lymphocytes export proteasomes by way of microparticles: a possible mechanism for generation of extracellular proteasomes, *J. Cell Mol. Med.*, **18**, 59-68, doi: 10.1111/jcmm.12160.
 38. Morozov, A. V., and Karpov, V. L. (2018) Biological consequences of structural and functional proteasome diversity, *Heliyon*, **4**, e00894, doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00894.
 39. Ferrington, D. A., and Gregerson, D. S. (2012) Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, **109**, 75-112, doi: 10.1016/B978-0-12-397863-9.00003-1.
 40. Kammerl, I. E., and Meiners, S. (2016) Proteasome function shapes innate and adaptive immune responses, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **311**, L328-L336, doi: 10.1152/ajplung.00156.2016.
 41. Murata, S., Takahama, Y., Kasahara, M., and Tanaka, K. (2018) The immunoproteasome and thymoproteasome: functions, evolution and human disease, *Nat. Immunol.*, **19**, 923-931, doi: 10.1038/s41590-018-0186-z.
 42. Kimura, H., Caturegli, P., Takahashi, M., and Suzuki, K. (2015) New Insights into the function of the immunoproteasome in immune and nonimmune cells, *J. Immunol. Res.*, **2015**, 541984, doi: 10.1155/2015/541984.
 43. Lundh, M., Bugliani, M., Dahlby, T., Chou, D. H., Wagner, B., Ghiasi, S. M., De Tata, V., Chen, Z., Lund, M. N., Davies, M. J., Marchetti, P., and Mandrup-Poulsen, T. (2017) The immunoproteasome is induced by cytokines and regulates apoptosis in human islets, *J. Endocrinol.*, **233**, 369-379, doi: 10.1530/JOE-17-0110.
 44. Johnston-Carey, H. K., Pomatto, L. C., and Davies, K. J. (2015) The immunoproteasome in oxidative stress, aging, and disease, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **51**, 268-281, doi: 10.3109/10409238.2016.1172554.
 45. Ebstein, F., Textoris-Taube, K., Keller, C., Golnik, R., Vigneron, N., Van den Eynde, B. J., Schuler-Thurner, B., Schadendorf, D., Lorenz, F. K., Uckert, W., Urban, S., Lehmann, A., Albrecht-Koepke, N., Janek, K., Henklein, P., Niewianda, A., Kloetzel, P. M., and Mishto, M. (2016) Proteasomes generate spliced epitopes by two different mechanisms and as efficiently as non-spliced epitopes, *Sci. Rep.*, **6**, 24032, doi: 10.1038/srep24032.
 46. Rodin, A., Morozov, A., Andreeva, N., Funikov, S., Burov, A., Belyavsky, A., and Karpov, V. (2021) Reorganization of the proteasome pool in mesenchymal stem cells during aging in culture. Abstract, *FEBS Open Bio*, **11**, 345, doi: 10.1002/2211-5463.13205.
 47. Kniepert, A., and Groettrup, M. (2014) The unique functions of tissue-specific proteasomes, *Trends Biochem. Sci.*, **39**, 17-24, doi: 10.1016/j.tibs.2013.10.004.
 48. Murata, S., Sasaki, K., Kishimoto, T., Niwa, S., Hayashi, H., Takahama, Y., and Tanaka, K. (2007) Regulation of CD8⁺ T cell development by thymus-specific proteasomes, *Science*, **316**, 1349-1353, doi: 10.1126/science.1141915.
 49. Kincaid, E. Z., Murata, S., Tanaka, K., and Rock, K. L. (2016) Specialized proteasome subunits have an essential role in the thymic selection of CD8⁺ T cells, *Nat Immunol.*, **17**, 938-945, doi: 10.1038/ni.3480.
 50. Widjaja, C. E., Olvera, J. G., Metz, P. J., Phan, A. T., Savas, J. N., de Bruin, G., Leestemaker, Y., Berkers, C. R., de Jong, A., Florea, B. I., Fisch, K., Lopez, J., Kim, S. H., Garcia, D. A., Searles, S., Bui, J. D., Chang, A. N., Yates, J. R., Goldrath, A. W., Overkleeft, H. S., Ovaa, H., and Chang, J. T. (2017) Proteasome activity regulates CD8⁺ T lymphocyte metabolism and fate specification, *J. Clin. Invest.*, **127**, 3609-3623, doi: 10.1172/JCI90895.
 51. Bikorimana, J. P., El-Hachem, N., El-Kadiry, A. E., Abusarah, J., Salame, N., Shammaa, R., and Rafei, M. (2021) Thymoproteasome-expressing mesenchymal stromal cells confer protective anti-tumor immunity via cross-priming of endogenous dendritic cells, *Front. Immunol.*, **11**, 596303, doi: 10.3389/fimmu.2020.596303.
 52. Ciechanover, A. (2005) Intracellular protein degradation: from a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting, *Cell Death Differ.*, **12**, 1178-1190, doi: 10.1038/sj.cdd.4401692.
 53. Yamanaka, S. (2012) Induced pluripotent stem cells: past, present, and future, *Cell Stem Cell*, **10**, 678-684, doi: 10.1016/j.stem.2012.05.005.
 54. Kim, S. H., Kim, M. O., Cho, Y. Y., Yao, K., Kim, D. J., Jeong, C. H., Yu, D. H., Bae, K. B., Cho, E. J., Jung, S. K., Lee, M. H., Chen, H., Kim, J. Y., Bode, A. M., and Dong, Z. (2014) ERK1 phosphorylates Nanog to regulate protein stability and stem cell self-renewal, *Stem Cell Res.*, **13**, 1-11, doi: 10.1016/j.scr.2014.04.001.
 55. Buckley, S. M., Aranda-Orgilles, B., Strikoudis, A., Apostolou, E., Loizou, E., Moran-Crusio, K., Farnsworth, C. L., Koller, A. A., Dasgupta, R., Silva, J. C., Stadtfeld, M., Hochedlinger, K., Chen, E. I., and Aifantis, I. (2012) Regulation of pluripotency and cellular reprogramming by the ubiquitin-proteasome system, *Cell Stem Cell*, **11**, 783-798, doi: 10.1016/j.stem.2012.09.011.
 56. Vilchez, D., Boyer, L., Morante, I., Lutz, M., Merkwrith, C., Joyce, D., Spencer, B., Page, L., Masliah, E., Berggren, W. T., Gage, F. H., and Dillin, D. (2014) Proteasome activity is required for the maintenance of pluripotency in mouse embryonic stem cells, *Cell*, **157**, 111-122, doi: 10.1016/j.cell.2014.02.011.

- A. (2012) Increased proteasome activity in human embryonic stem cells is regulated by PSMD11, *Nature*, **489**, 304-308, doi: 10.1038/nature11468.
57. Kitajima, Y., Suzuki, N., Nunomiya, A., Osana, S., Yoshioka, K., Tashiro, Y., Takahashi, R., Ono, Y., Aoki, M., and Nagatomi, R. (2018) The ubiquitin-proteasome system is indispensable for the maintenance of muscle stem cells, *Stem Cell Rep.*, **11**, 1523-1538, doi: 10.1016/j.stemcr.2018.10.009.
58. Saez, I., Koyuncu, S., Gutierrez-Garcia, R., Dieterich, C., and Vilchez, D. (2018) Insights into the ubiquitin-proteasome system of human embryonic stem cells, *Sci. Rep.*, **8**, 4092, doi: 10.1038/s41598-018-22384-9.
59. Jin, J., Liu, J., Chen, C., Liu, Z., Jiang, C., Chu, H., Pan, W., Wang, X., Zhang, L., Li, B., Jiang, C., Ge, X., Xie, X., and Wang, P. (2016) The deubiquitinase USP21 maintains the stemness of mouse embryonic stem cells via stabilization of Nanog, *Nat. Commun.*, **7**, 13594, doi: 10.1038/ncomms13594.
60. Huang, Z., Wu, Q., Guryanova, O. A., Cheng, L., Shou, W., Rich, J. N., and Bao, S. (2011) Deubiquitylase HAUSP stabilizes REST and promotes maintenance of neural progenitor cells, *Nat. Cell. Biol.*, **13**, 142-152, doi: 10.1038/ncb2153.
61. Fuchs, G., Shema, E., Vesterman, R., Kotler, E., Wolchinsky, Z., Wilder, S., Golomb, L., Pribluda, A., Zhang, F., Haj-Yahya, M., Feldmesser, E., Brik, A., Yu, X., Hanna, J., Aberdam, D., Domany, E., and Oren, M. (2015) RNF20 and USP44 regulate stem cell differentiation by modulating H2B monoubiquitylation, *Mol. Cell.*, **46**, 662-673, doi: 10.1016/j.molcel.2012.05.023.
62. Sussman, R. T., Stanek, T. J., Estes, P., Gearhart, J. D., Knudsen, K. E., and McMahon, S. B. (2013) The epigenetic modifier ubiquitin-specific protease 22 (USP22) regulates embryonic stem cell differentiation via transcriptional repression of sex-determining region Y-box 2 (SOX2), *J. Biol. Chem.*, **288**, 24234-24246, doi: 10.1074/jbc.M113.469783.
63. Raynes, R., Pomatto, L. C., and Davies, K. J. (2016) Degradation of oxidized proteins by the proteasome: distinguishing between the 20S, 26S, and immunoproteasome proteolytic pathways, *Mol. Aspects Med.*, **50**, 41-55, doi: 10.1016/j.mam.2016.05.001.
64. Lu, L., Song, H. F., Zhang, W. G., Liu, X. Q., Zhu, Q., Cheng, X. L., Yang, G. J., Li, A., and Xiao, Z. C. (2012) Potential role of 20S proteasome in maintaining stem cell integrity of human bone marrow stromal cells in prolonged culture expansion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **422**, 121-127, doi: 10.1016/j.bbrc.2012.04.119.
65. Vacanti, V., Kong, E., Suzuki, G., Sato, K., Canty, J. M., and Lee, T. (2005) Phenotypic changes of adult porcine mesenchymal stem cells induced by prolonged passaging in culture, *J. Cell. Physiol.*, **205**, 194-201, doi: 10.1002/jcp.20376.
66. Kapetanou, M., Chondrogianni, N., Petrakis, S., Koliakos, G., and Gonos, E. S. (2017) Proteasome activation enhances stemness and lifespan of human mesenchymal stem cells, *Free Radic. Biol. Med.*, **103**, 226-235, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.035.
67. Strikoudis, A., Guillaumot, M., and Aifantis, I. (2014) Regulation of stem cell function by protein ubiquitylation, *EMBO Rep.*, **15**, 365-382, doi: 10.1002/embr.201338373.
68. Rathinam, C., Thien, C. B., Langdon, W. Y., Gu, H., and Flavell, R. A. (2008) The E3 ubiquitin ligase c-Cbl restricts development and functions of hematopoietic stem cells, *Genes Dev.*, **22**, 992-997, doi: 10.1101/gad.1651408.
69. Han, G., Li, A. G., Liang, Y. Y., Owens, P., He, W., Lu, S., Yoshimatsu, Y., Wang, D., Ten Dijke, P., Lin, X., and Wang, X. J. (2006) Smad7-induced beta-catenin degradation alters epidermal appendage development, *Dev. Cell*, **11**, 301-312, doi: 10.1016/j.devcel.2006.06.014.
70. Karpiuk, O., Najafova, Z., Kramer, F., Hennion, M., Galonska, C., König, A., Snaidero, N., Vogel, T., Shchebet, A., Begus-Nahrmann, Y., Kassem, M., Simons, M., Shcherbata, H., Beissbarth, T., and Johnsen, S. A. (2012) The histone H2B monoubiquitination regulatory pathway is required for differentiation of multipotent stem cells, *Mol. Cell*, **46**, 705-713, doi: 10.1016/j.molcel.2012.05.022.
71. Shema, E., Tirosh, I., Aylon, Y., Huang, J., Ye, C., Moskovits, N., Raver-Shapira, N., Minsky, N., Pirngruber, J., Tarcic, G., Hublarova, P., Moyal, L., Gana-Weisz, M., Shiloh, Y., Yarden, Y., Johnsen, S. A., Vojtesek, B., Berger, S. L., and Oren, M. (2008) The histone H2B-specific ubiquitin ligase RNF20/hBRE1 acts as a putative tumor suppressor through selective regulation of gene expression, *Genes Dev.*, **22**, 2664-2476, doi: 10.1101/gad.1703008.
72. Hernebring, M., Fredriksson, Å., Liljevald, M., Cvijovic, M., Norrman, K., Wiseman, J., Semb, H., and Nyström, T. (2013) Removal of damaged proteins during ES cell fate specification requires the proteasome activator PA28, *Sci. Rep.*, **3**, 1381, doi: 10.1038/srep01381.
73. Balayan, V., and Guddati, A. K. (2022) Tumor dormancy: biologic and therapeutic implications, *World J. Oncol.*, **13**, 8-19, doi: 10.14740/wjon1419.
74. Lenos, K. J., and Vermeulen, L. (2016) Cancer stem cells don't waste their time cleaning-low proteasome activity, a marker for cancer stem cell function, *Ann. Transl. Med.*, **4**, 519, doi: 10.21037/atm.2016.11.81.
75. Voutsadakis, I. A. (2017) Proteasome expression and activity in cancer and cancer stem cells, *Tumour Biol.*, **39**, 1010428317692248, doi: 10.1177/1010428317692248.
76. Mossallam, G. I., Fattah, R. A., Bokhary, M., Moneer, M., and Mahmoud, H. K. (2021) LMP7 polymorphism may modify the presentation and clin-

- ical impact of minor histocompatibility antigens in matched related hematopoietic stem cell transplantation, *Cell Immunol.*, **364**, 104329, doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104329.
77. Schröter, F., and Adjaye, J. (2014) The proteasome complex and the maintenance of pluripotency: sustain the fate by mopping up? *Stem Cell Res. Ther.*, **5**, 24, doi: 10.1186/scrt413.

ROLE OF UBIQUITIN-PROTEASOME SYSTEM IN STEM CELL BIOLOGY

Review

A. V. Burov, A. A. Rodin, V. L. Karpov, and A. V. Morozov*

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
119991 Moscow, Russia; e-mail: runkel@inbox.ru*

Selective degradation of cellular proteins by the ubiquitin –proteasome system is one of the key regulatory mechanisms in eukaryotic cells. Accumulating data indicate that the ubiquitin – proteasome system is involved in the regulation of fundamental processes in mammalian stem cells, including proliferation, differentiation, cell migration, aging and programmed cell death. Regulation can be carried out either by proteolytic degradation of key transcription factors and signaling pathway proteins, or by posttranslational modifications of target proteins with ubiquitin or other ubiquitin-like modifiers. Studies of the molecular mechanisms of proteostasis maintenance in stem cells are of great importance for the development of new therapeutic approaches aimed at the treatment of autoimmune and neurodegenerative diseases, cancer and other socially significant pathologies. This review covers current data on the function of the ubiquitin-proteasome system in stem cells.

Keywords: stem cells, ubiquitin-proteasome system, proteasome