

# NF- $\kappa$ B, SUMO VE UBIKİTİNASYON İLİŞKİSİ

## *NF- $\kappa$ B, SUMO AND UBIQUITINATION RELATIONSHIP*

Melis Şen<sup>1</sup>, Ulaş Ay<sup>1</sup>, Ece Akbayır<sup>1</sup>, Seray Şenyar<sup>1</sup>, Erdem Tüzün<sup>1</sup>,  
Cem İsmail Küçükali<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi,  
İstanbul, Türkiye

**Sorumlu Yazar** : Cem İsmail Küçükali

**Yazışma adresi** : Sinirbilim Anabilim Dalı,

Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,

İstanbul Üniversitesi Vakıf Gureba Cad.

Çapa, Fatih 34390, İstanbul/Türkiye

**E-mail adres** : cemsmile@gmail.com

## ÖZET

NF- $\kappa$ B, DNA'ya doğrudan bağlanarak genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. İmmünette, hücre sağkalımında, hücre çoğalmasında, öğrenme ve bellek süreçlerinde görevlidir.

Post-translasyonel modifikasyonda görevli olan SUMO proteini eksprese edilen proteinlerin fonksiyonlarını düzenler ve memelilerde dört adet homoloğu bulunmaktadır.

Bir diğer posttranslasyonel modifikasyonda görevli olan protein ise ubiquitindir. Birçok biyolojik yolda yer alır ve işaretlediği proteinleri proteozom sistemine yönlendirerek yıkımını sağlar.

Bu derlemede NF- $\kappa$ B, SUMO ve ubiquitin proteinlerinden ve birbirleriyle olan ilişkilerinden bahsedilecektir.

**Anahtar Kelimeler:** NF- $\kappa$ B, SUMO, Sumoylasyon, Ubikitin, Ubikitinasyon, Ubikitin-proteozom sistemi.

## ABSTRACT

*NF- $\kappa$ B is a transcription factor that regulates the expression of genes by directly binding to DNA. It's involved in immune system, cell survival, cell proliferation, learning and memory processes.*

*The SUMO protein, which is involved in post-translational modification, regulates the function of exogenous proteins and there are four homologs in mammals.*

*Another protein involved in post-translational modification is ubiquitin. It is involved in many biological pathways and leads the marked proteins to destruction by directing them to the proteosome system.*

*In this review NF- $\kappa$ B, SUMO and ubiquitin proteins and their relationship to each other will be discussed.*

**Keywords:** NF- $\kappa$ B, SUMO, Sumolation, Ubiquitin, Ubiquitination, Ubiquitin-Proteosome system.

## 1. GİRİŞ

**Nükleer Faktör Kappa (NF-κB)**, ilk olarak Sen ve Baltimore adlı bilim insanlarının yaptıkları çalışma ile tanımlanmıştır (2). NF-κB, Rel domaini içeren ve memeli genomunda beş alt birimden (p52, p50, RelA, RelB, c-Rel) oluşan bir protein ailesidir (5; 8). Dinlenme durumunda inaktif monomerler şeklinde bulunan NF-κB, sinyal uyarımları sonrasında üç farklı yolak üzerinden aktive olur. Bu yollar; geleneksel (canonical), geleneksel olmayan (non-canonical) ve DNA hasarında devreye giren yollar olarak sıralanır. (8).

Ökaryotik hücrelerde eksprese edilen small ubiquitin-related modifier (SUMO) canlı yaşamı için önemli olan posttranslasyonel modifikasyonda görevli proteinlerdir (14). SUMO proteinlerinin bağlandığı çok sayıda hedef hücresi vardır ve hedef hücrelere bağlanarak protein-protein ve protein-DNA ilişkilerini düzenler, hücre içi lokalizasyonları değiştirir ve hücreyi ubiquitin kaynaklı bozulmalardan korur (15). Sumolasyon; SUMO protein ailesinden birinin hedef proteinlerdeki lizin grupları ile oluşturdukları geri dönüşümlü kovalent bağları ifade etmektedir (24).

1978'de (31) tanımlanan ubiquitin 76 aminoasit içeren ve post-translasyonel olarak proteinleri işaretleyerek degradasyona götüren regülatör bir proteindir. Hedef proteinleri ubiquitinle işaretleme olayına ubiquitinasyon denir.

Ubikitinasyon, NF-κB yolları dahil biyolojik birçok yolağında düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (43).

Dinlenme durumunda NF-κB'nin sitozolde inaktivasyonunun sağlanmasında SUMO-1'in etkili olduğu ve NF-κB'nin düzenleyici mekanizmasında rol oynadığı tespit edilmiştir (53).

SUMO ve ubiquitinasyon yapısal olarak birbirine oldukça benzemekle birlikte fonksiyonel açıdan oldukça farklıdır ve fonksiyonlarını yerine getirirken birbirleriyle doğrudan ya da dolaylı ilişki içindedir (60;61).

Bu derlemede NF-κB, SUMO ve ubiquitin proteinlerinin fonksiyonlarından ve birbirleriyle doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilerinden bahsedilmesi ve ileri zamanlarda yapılacak çalışmalara

yön vermesi amacıyla genel bir literatür taraması yapılmış ve toplanan bilgiler değerlendirilmiştir.

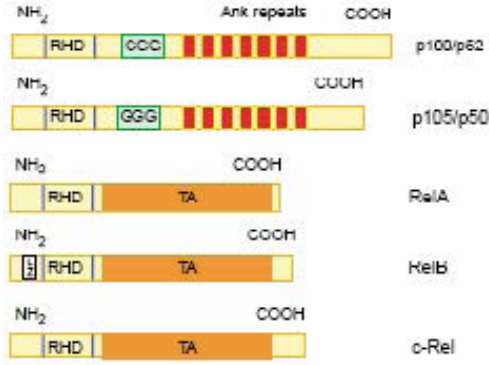
## 2. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κB)

Evrimin erken evrelerinde ortaya çıkan NF-κB; *Drosophila* ve *Mollusca* dahil pek çok canlıda bulunmaktadır (1) ve ilk olarak Sen ve Baltimore adlı bilim insanlarının yaptıkları çalışma ile tanımlanmıştır. İmmüoglobülin  $\mu$  ve  $\kappa$  güçlendirici dizilere bağlanan proteinleri bulmak amacıyla yapılan bu çalışma sonucunda *O* ve *B* olmak üzere iki farklı dizi bulunmuştur. NF-κB'nin bu dizilerden *B* dizisine bağlandığı ve  $\kappa$  hafif zincirinin ekspresyonunu sağlayan proteinlerden biri olduğu gösterilmiştir (2).

NF-κB, DNA'ya doğrudan bağlanarak gen ekspresyonu kontrolünde rol oynadığı için bir transkripsiyon faktörüdür. Ayrıca NF-κB hormonlar gibi çeşitli uyarıcı moleküller tarafından aktive olan ve çok sayıda genin transkripsiyonunu düzenleyen sinyal yolağı olarak görev yapar (3). NF-κB, B ve T lenfositleri, büyüme faktörleri, monositler, makrofajlar, keratinosit ve fibroblastlar tarafından eksprese edilip (4); sitokinler kemokinler, sitokin reseptörleri, stres proteinleri, büyüme faktörleri, lökosit adezyon molekülleri, immün düzenleyiciler gibi bağışıklıkta etkin olan çok sayıda genin (5) uyarılabilir ekspresyonu için önemli bir düzenleyici proteindir (4; 5). Yapılan ve yapılmakta olan pek çok çalışma ile NF-κB'yi bağlayan bölgeler bulduran ve dolayısıyla NF-κB ile ilişkilendirilen yüzlerce gen bulunmuştur. Bu bölgelerin varlığı NF-κB'nin olası görevlerini aydınlatmak için önemlidir. Bu bölgelerin varlığı NF-κB'nin hematopoez, transformasyon, hücre proliferasyonu, immünite, hücre sağkalımı, metastaz, anjiogenez ve invazyon gibi görevleri olduğunu göstermektedir (6). Merkezi sinir sisteminde de NF-κB'nin varlığı ve önemi tespit edilmiştir. Beyinde serebral kortekste, hipokampus (granül ve piramidal hücrelerde), serebellumda ve hipotalamusta bulunur. Beyinde bulunan NF-κB'nin nöronal plastisitede, öğrenmede, ve bellek oluşumunda görev aldığı bilinmektedir. Ayrıca nöronların proapoptotik ya da antiapoptotik etkilerine aracılık ederler (7). NF-κB'nin olağan dışı aktivasyonu ve inhibisyonu metabolik, inflamatuvar ve nörodejeneratif ve kanser gibi pek çok hastalığın patofizyolojik süreçlerinde rol oynar (5-7).

## 2.1 NF- $\kappa$ B'nin Aktivasyonu

NF- $\kappa$ B, Rel domaini içeren ve memeli genomunda beş alt birimden (p52, p50, RelA, RelB, c-Rel) olu-



**Şekil 1: NF- $\kappa$ B alt birimleri ve oluşturdukları dimerler** (RHD: Rel domain bölgesi, GGG: Glisince zengin bölge, Ank: Ankrin tekrarları, TA: Transaktivasyon bölgesi)(9)

NF- $\kappa$ B ailesi üyelerinin ortak bulundurduğu bölge, immünoglobülin benzeri tekrar bölgeleri içeren ve NF- $\kappa$ B'nin DNA'ya bağlanmasını, alt birimlerle dimerizasyonunu ve çekirdeğe taşınımı sağlayan Rel-domain bölgesidir. Beş farklı alt birimden yalnızca iki alt birim (p50 ve p52) prekürsörler şeklinde sentezlenir ve işlemlenmeler sonucunda aktive olurlar. P50 alt birimi, prekürsörü olan p105'in devamlı proteolitik işlenmesi sonucu oluşurken; p52 alt birimi ise prekürsörü olan p100'ün fosforilasyon ve ubiquitinasyon basamakları sonucu oluşur. Her iki alt birim de TA bölgesi içermediği için transkripsiyonel açıdan inaktiftir. Bunun tersine RelA, RelB ve cRel alt birimleri hücrede prekürsörü olmadan sentezlenirler ve TA bölgesi içerdikleri için hedef genlerin transkripsiyonunu başlatırlar (8). NF- $\kappa$ B ailesi üyelerinin homo- ve heterodimerizasyonu ile Şekil 1'de gösterildiği gibi 15 farklı transkripsiyon faktörü oluşturabilmektedir. p50-RelA; p52-RelA; RelA-RelA; cRel-RelA; cRel-cRel; p50cRel-cRel; p52-cRel; p50-RelB; p52-RelB dimerleri hücrede transkripsiyonel aktivatördür (9). TA bölgesi içermeyen p50 ve p52'nin homo ve heterodimer formları ise transkripsiyonel açıdan inaktiftir (8; 9). RelA-RelB; cRel-RelB; RelB-RelB dimerleri ise DNA'ya bağlanamaz (9).

NF- $\kappa$ B aktive olabilmesi için alt birimlerin dimerizasyonu 3 farklı yolakla gerçekleşir. Bu yollar; geleneksel (canonical), alternatif (non-canonical)

şan bir protein ailesidir (5; 8). Normal koşullarda hücrede inaktif halde bulunan NF- $\kappa$ B'nin aktive olabilmesi için bu alt birimlerin homodimer ya da heterodimer oluşturması gerekir (8).

ve DNA hasarı durumunda devreye giren yollarlardır. NF- $\kappa$ B alt birimleri ve oluşturdukları dimerler Şekil 1'de gösterilmiştir.

### 2.1.a Geleneksel (Canonical) Yolak ile NF- $\kappa$ B Aktivasyonu

Geleneksel yolak, immün yanıtta inflamasyonun düzenlenmesi için lenfoid hücrelerin çoğalmasından ve yıkımından sorumludur (9). En sık görülen aktif formlardan biri olan p50/RelA dimeri bu yolla oluşur. NF- $\kappa$ B dimerleri (p50/RelA) dinlenim durumundayken I $\kappa$ B adı verilen inhibitör proteinlere bağlı olduğu için inaktif formdadır ve DNA'ya bağlanamaz. İnaktif formdaki bu dimerler, proinflamatuar sitokinlerce (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  vb.) veya LPS ile uyarılarak inflamatuvar stimülasyon sağlanır. Ardından dimerleri inaktif formda tutan I $\kappa$ B proteinleri inhibitör kappab kinaz (IKK) enzimi tarafından fosforillenir (9; 10). Bu olay I $\kappa$ B'yi ubiquitinasyona hazır hale getirir ve ubiquitinasyondan sonra I $\kappa$ B'nin ubiquitin-proteozom sistem aracılığı ile degradasyonu gerçekleşir. Sitoplazmada I $\kappa$ B/ NF- $\kappa$ B kompleksinde serbest kalan NF- $\kappa$ B(p50/RelA dimeri) nükleer lokalizasyon sinyali ile çekirdeğe geçer (8).

### 2.1.b Geleneksel Olmayan (Non-canonical) Yolak ile NF- $\kappa$ B Aktivasyonu

Geleneksel olmayan yolak, immün yanıtta görevli olan lenfoid organların gelişiminden sorumludur.

En sık görülen diğer bir aktif form olan p52/RelB dimeri bu yolakla aktive olur. Geleneksel olmayan yolak geleneksel yolağa göre daha yavaş bir kinetiğe sahiptir. Bu yüzden bu yolakta görülen p52/RelB dimer aktivitesi geç gerçekleşir, ancak daha uzun süreli aktivasyon sağlanır. Sitoplazmada dinlenme durumunda inaktif form şeklinde bulunan p100/RelB dimeri, lenfotoksin β, B-hücre aktive edici faktör (BAFF) ve CD40 ligandları varlığında stimüle olur (8; 9). Ayrıca yapılan çalışmalarla bu uyarıcıların geleneksel yolağı da aktive ettiği gösterilmiştir (11). p52 monomerinin öncülü olan p100, IKK homodimeri tarafından fosforile edilir. Bu fosforilasyon sonucunda p100'ün p52'ye dönüşümü gerçekleşir ve transkripsiyonel açıdan aktif olan p52/RelB dimeri serbest hale gelir ve nükleer lokalizasyon sinyali ile çekirdeğe geçer (8; 9; 11)

### 2.1.c DNA Hasarı Sonucu NF-κB Aktivasyonu

DNA hasarına karşı oluşan cevapta bu yolak sorumludur (1). Bu yolakta, geleneksel ve geleneksel yoldan farklı olarak IKK aktivitesine gerek yoktur. Özellikle DNA'nın çift zincir kırık hasarıyla devreye giren bu yolağın iki paralel süreci vardır. İlk olarak PIDD adı verilen ve 'ölüm (death)' bölgesi içeren p53 ile uyarılan protein aktive olur ve çekirdeğe geçer. Çekirdekte bulunan IKK/NEMO'nun, bir çeşit kinaz olan RIP1 (Reseptörler etkileşen protein 1) ile birleşip kompleks oluşturması ve SUMO ve ubikitin yoluyla modifikasyonu bu yolaktaki ilk süreci oluşturur. İkinci süreçte ise SUMO ve ubikitin yoluyla modifiye edilen IKK/NEMO kompleksi sitozole geçer ve IKK'yi aktive ederek NF-κB aktivasyonunu sağlar (8).

### 2.2 NF-κB'nin İnhibisyonu

Aktive olup çekirdeğe geçen NF-κB, transkripsiyon faktörü olarak görevini yaptıktan sonra tekrar sitozole geçer. Sitozolda dinlenme durumundayken NF-κB ile etkileşen ve onun inhibe hale gelmesini sağlayan inhibitör kappa B (IκB) proteinleridir. IκB proteinlerinin NF-κB ile protein-protein etkileşimleri, hem IκB'nin yapısında bulunan ankrin tekrarları sayesinde olur. IκB'nin ankrin tekrarları, NF-κB'nin yapısında bulunan RHD'ye bağlanarak NF-κB'nin çekirdek lokalizasyon sinyalini tanıyan bölgenin maskelenmesini sağlar (1; 8; 11)

Doğal süreçte inhibisyonun yanısıra çeşitli ilaçlar, dışardan alınan doğal maddeler ve bazı hastalıklar sonucunda da NF-κB inhibisyonu gerçekleşir. NF-κB aktivasyonunun inhibisyonu kanser, koroner kaynaklı kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Örneğin kırmızı şaraptaki resveratrol maddesi NF-κB aktivitesini inhibe eder. Bu özelliği sayesinde koroner kalp hastalıkları ve bazı kanser türlerinde ölüm oranlarını düşürebileceği düşünülmektedir (12). Ayrıca Umezawa ve arkadaşları tarafından dizayn edilen antibiyotik kökenli DHMEQ (dehidroksymethyl-epoxyquinomicin) maddesi kanser hücrelerinde aktive olmuş NF-κB'yi inhibe etmektedir (13).

## 3. SUMO

SUMO, ökaryotik hücrelerde eksprese edilen ve canlı yaşamı için önemli olan proteinlerdir (14). SUMO proteinleri çok sayıda hücresel hedefe bağlanır. Böylelikle protein-protein ve protein-DNA ilişkilerini modüle eder, hücre içi lokalizasyonları değiştirir ve hücreyi ubikitin kaynaklı bozulmalardan korur (15).

### 3.1. SUMO Çeşitleri, Özellikleri, Görevleri

Memelilerde bugüne kadar dört adet SUMO homologu belirlenmiştir. Bunlar SUMO-1, SUMO-2, SUMO-3 ve SUMO-4 olarak sınıflandırılmaktadır. SUMO2 ve SUMO-3 birbirlerine dizilim olarak %95 oranında benzerken, SUMO-1 ile yalnızca %50 oranında benzerliğe sahiptirler (16). SUMO-1 hücre içerisinde proteinlere bağlı (conjugated) halde bulunurken; SUMO-2/3 genellikle serbest halde bulunur (17). Ayrıca, SUMO-1 bağının bozulması (de-conjugation) SUMO-2/3 bağının bozulma sürecinden daha yavaş olur (18). SUMO-1 genellikle çekirdek zarı ve çekirdekte bulunurken, SUMO-2/3 çekirdek sıvısı içinde bulunmaktadı (19). SUMO-1 ve SUMO-2/3 aynı substratları modifiye ettikleri gibi yalnızca SUMO-1 ve yalnızca SUMO-2/3 tarafından modifiye edilen substratlar da bulunmaktadır ve çalışmalar SUMO-1 ile SUMO-2/3'ün fonksiyonel olarak birbirlerinden oldukça farklı olduğunu göstermiştir (17). SUMO-1 mono-Sumolasyon zinciri oluştururken; SUMO-2/3 poli-Sumolasyon zinciri oluşturmaktadır (20) ve SUMO-1'in SUMO-2/3'ün polimer zincirinde terminal uç görevi görmektedir (21). Ayrıca SUMO-1, ubikitin bağlanmasında

paralel üç basamaklı enzimatik yollar aracılığıyla çeşitli hücrel substratlarla kovalent bağ oluşturmaktadır ve SUMO-1 modifikasyonu bazı proteinlerin transkripsiyonel aktivitelerini etkilerken, bazı substratların SUMO-1 modifikasyonu ise hücrel lokalizasyonu etkilemektedir (22). SUMO-2/3'ün ise çevresel strese karşı hücrenin verdiği tepkide görev aldığı düşünülmektedir (20). Öte yandan en son bulunan SUMO-4 proteinine dair henüz çok fazla bilgi edinilememiştir. Elde edilen bulgularda ise SUMO-4 proteininin SUMO-2 proteini ile %86 oranında benzerlik gösterdiği görülmüştür (17). Bununla birlikte SUMO-4 proteininin sınırlı sayıda ekspresyonları olduğu ve en fazla ekspresyonunun böbrek, lenf ve dalakta bulunduğu belirlenmiştir (23).

### 3.2. Sumolasyon

Sumolasyon; SUMO protein ailesinden birinin hedef proteinlerdeki lizin grupları ile oluşturdukları geri dönüşümlü kovalent bağları ifade etmektedir. Sumolasyon ile ilgili yapılan bugüne kadarki çalışmalarda 100'ün üzerinde hedef protein olduğu belirlenmiştir (24). Bununla birlikte, yapılan bazı çalışmalarda çok sayıdaki proteinin SUMO'larla kovalent olmayan bağlar da oluşturduğu görülmüştür. Bu tür bağlanmada SIM (Sumo interaction motif) adı verilen araçların görev aldığı bulunmuştur. SIM aracılığı ile oluşan bağlar özellikle sinir hücrelerine ait proteinlerde ve sinaptik proteinlerde bulunmaktadır (25). Hedef proteinlerle oluşturulan tüm bu bağlar ise proteinin işlevi sırasında zamansal ve mekansal düzenleme sağlamaktadır ve hücrenin canlılığı için büyük önem taşımaktadır (24). Ayrıca yapılan araştırmalar, nöronal sumolasyon döngüsünde oluşan bozulmaların pek çok hastalığa zemin hazırladığına işaret etmektedir (26).

### 3.3. Sumolasyon Döngüsü

Sumolasyon döngüsü; konjugasyon ve ayrışmadan oluşur. Döngüye, hedef proteinlerin sumolasyonunda görev alan E1 (aktive edici), E2 (SUMO-özümlü konjuge edici Ubc9), E3 (SUMO-ligaz) gibi enzimler de katılır (27; 28). Döngüdeki bağlanma sürecinin başlaması memelilerde SAE1 ve SAE2 heterodimeri olan E1 enziminin SUMO proteinlerini ATP'ye bağımlı bir şekilde aktive etmesiyle başlar (29). Bu aktivasyon sırasında

SUMO proteininin C-terminalindeki glisin kalıntısı ve SAE2'nin aktif bölgesindeki sistein kalıntısı arasında tiyoester bağı kurulur. Ardından SUMO proteini, bu tiyoester bağı sayesinde bağlanma enzimi olan Ubc9'un aktif sistein bölgesine geçer (29; 30). E3 ligaz enzimleri ise SUMO yüklenmiş Ubc9 geni ile substrat proteinleri arasında köprü görevi görür. Ayrıca, SUMO transferinin sağlanması için SUMO-Ubc9 tiyoester bağını tutar (28).

Sumolasyonun olgunlaşması SENP enzimleri ile gerçekleşir ve yine SENP enzimleri ile ayrışır. Memelilerde birden fazla SENP enzimi bulunmaktadır. SENP1 ve SENP2 enzimleri SUMO proteinlerinin hücrel olgunlaşmasından sorumludur ve SUMO-1 ve SUMO-2/3 proteinleri ile substratları arasında kurulan bağların ayrışmasında görev alır.

SENP3/5 enzimleri monomerik SUMO2/3 proteinlerinin substratlarından ayrışmasından sorumlu iken; SENP6/7, SUMO-2/3 protein zincirlerinin düzenlenmesinde görev alır (28).

## 4. UBİKİTİN

Ubikitin 76 aminoasit içeren ve post-translasyonel olarak proteinleri işaretleyerek degradasyona götüren regülatör bir proteindir. İlk olarak 1978'de (31) tanımlanan bu protein biyolojik birçok yolakta rol oynamaktadır. Bu biyolojik yollar özellikle protein fonksiyonlarını düzenlemektedir ve sisteminin bozulması birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

### 4.1 Ubikitinasyon ve Ubikitin Döngüsü

Ubikitinasyon post-translasyonel bir modifikasyondur ve temel amacı proteinlerin işaretlenerek 26S proteozomlarda degradasyona uğramasıdır. Birbirini izleyen iki yoldan oluşur. Bunlar; birden fazla ubikitin molekülü ile substratın işaretlenmesi ve işaretlenmiş proteinin proteozom kompleksi tarafından parçalanması ve serbest ve yeniden kullanılabilir ubikitin salınmasıdır.

Ubikitin sistemine bakıldığında 3 farklı enzim yardımıyla C-terminalinden substrat proteine veya kendisine kovalent olarak bağlanmaktadır. Bu üç enzim E1 (aktivatör enzim), E2 (konjugatör enzim) ve E3 (bağlayıcı enzim)'dir (32; 33). İlk olarak E1 yüksek enerjili thiol ester ara maddesinin, E1-S\*, üretilmesi için ATP-aracılı bir reaksiyon ile ubikitini



aktive eder. Aktive olan ubikitin, birkaç E2 enzimin-den biri ile (ubikitin taşıyıcı proteinler veya UBC; ubikitin eşlenikli enzimler) yüksek enerjili tiol ara maddesi, E2-S\* ubikitin, ile ubikitin-protein li-gaz ailesi üyesi olan E3'e spesifik olarak bağlanan substrata taşınır. E3 enziminin sınıfları vardır. En büyük aile olan RING-finger içeren tipler aktif olan ubikitini E2'den E3'e bağlı olan substrata direkt olarak taşınımını sağlar. HECT domainli E3'lerde ise aktive olmuş ubikitin E2'den E3 üzerindeki aktif sistein rezidüsüne transfer edilir, yüksek enerjili tiol ara maddesi olan E3-S\* oluşur ve sonrasında ligaz bağlı substrata taşınır. Burada önemli noktalardan biri bu regülasyonun protein fosforilasyonuna bağlı olarak gerçekleşmesidir. Fosforilasyon E3'ün ligazı tanımada veya E3 enzim aktivitesinin kontrolünde rol oynayabilmektedir. Ubikitinasyonun bir özelliği ubikitin genellekle, bir kovalent izopeptit bağ oluşturmak için substrat içerisindeki yedi lizin kalıntısından birinin bir ε-NH<sub>2</sub> grubuna aktarılması ve bazı durumlarda ise substratın N-terminaline bağlanmasıdır. Diğer önemli bir özelliği ise ilk ubikitin α-amino terminaline veya bu yedi lizin rezidüsünden birine birden fazla ubikitin molekülünün bağlanabilmesidir. Hangi lizin rezidüsünün kullanıldığına bağlı olarak farklı tip ve uzunluklarda ubikitin zincirleri oluşur ve bu bağlantıların ubikitinde M1, K6, K11, K27, K29, K33, K48 veya K63 bölgelerinde oluşabilir (34; 35).

Ubikitinasyon çeşitlerine bakıldığında son yapılan çalışmalar önceden bilinen bilgileri değiştirmiştir (34). Önceki bilgilere göre mono, multi-mono ve poliubikitinasyon tipleri bulunmaktadır. Ancak günümüzde protein mono-ubikitinasyonunun düz veya modifiye ubikitin ile oluşabileceği ve zincirler homotipik (bir bağlantı tipi) veya heterotipik olabileceği bilinmektedir. İkincisi, zincirlerin bir bağlanma tipi ile dallanmamış ikinci bir yapı oluşturabileceği ve bunlara ve alternatif olarak da bir zincirdeki bir ubikitin molekülü, birden fazla lizin rezidüsünde ubikitinleşebilir ve 'çatallı' olarak da bilinen bir 'dallı' yapı oluşturabileceği bilinmektedir (36). Bu farklı bağlantı türleri, Ub-bağlayıcı proteinler tarafından spesifik olarak tanınan sinyaller olarak işlev görür ve bu sinyal sonuçta hücre sel yanıtı belirler veya modifiye edilmiş proteinin enzimatik aktivitesini, lokalizasyonunu ve stabilitesini değiştirerek düzenler (37).

#### 4.2 Ubikitin-Proteozom Sistemi (UPS)

Proteozom, poliubikitinlenen proteinleri kısa peptidlere indirgeyen çok etkenli bir proteazdır ve katalitik aktiviteyi taşıyan bir 20S çekirdek parçacığı (CP) ve bir düzenleyici 19S düzenleyici/regülatör partikül (RP) olmak üzere iki alt birim-den oluşurlar.

Ubikitinlenen proteinler 20 kadar özel ubiki-tin bağlanma bölgeleri/domainleri (UBD) ta-rafından tanınırlar (38). Proteozomlar da ken-di yapılarında en az iki ubikitin tanıyan bölge içerirler ve ubikitinlenen proteinleri taşımak için de adaptör/taşıyıcı proteinler kullanırlar. Proteozomun 26S alt biriminin proteolitik iş-levlerini 20S'lik çoklu alt birimi üstlenir (39). Bu alt birim birden fazla peptidaz aktivitesi ve ka-talitik görev üstlenir. Kendi içinde α7-β7 yapıla-rını bulundurur (40). Hedef proteinlerin komp-leksin aktif bölgesine girişi sadece açılmış ve uzatılmış polipeptidlere erişimi sağlayan α-bi-rimleri tarafından korunmaktadır. Proteolitik et-kinlik ise β-birimleri ile sınırlandırılmıştır. 19S düzenleyici partikül 20S'yi proteinleri teşvik etmekten sorumludur. 19S düzenleyici ATPazların birincil işlevi, substratların yıkım odasına girme-sini engelleyen 20S'deki kapıyı açmaktır (41). ATP hidrolizi ile hedef proteinlerin tanınması, bunların açılması, hedef proteinin proteozom odacığına translokasyonu da ATPaz işlevlerine dahildir.

USP'ler (Ubiquitin-spesifik proteazlar) geri dö-nüştürülen ubikitin kısımlarını parçalar ve pep-tidazlar da β-birimlerinde substratları peptid-lere parçalar ve proteozomdan dışarı salarlar. Substratın parçalanmasından sonra substrattan türeyen kısa peptidlere ek olarak yeniden kulla-nılabilir ubikitin de serbest bırakılır. Bu peptidler ayrıca sitosolik amino ve karboksipeptidazlar ta-rafından serbest amino asitler haline de indirgenir. Böylece ubikitinlenen proteinler kısaca UBD içe-ren reseptörler tarafından tanınır ve proteaz ai-lesinden deubikitinazlar (DUB) ile ubikitin modifikasyonları kaldırılır (34).

Ubikitin-proteozom sistemi bu işlevlerle hücre döngüsü, farklılaşma ve gelişim, stres ve hücre dışı düzenleyicilere yanıt, nöral ağların morfoge-nezi, hücre yüzey reseptörlerinin ve sinyal iletim yollarının modülasyonu, DNA onarımı, immün

ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesi, anti-jen yapımı, organellerin biyogenezi, apoptoz ve proteinlerin düz katlanmış halinin bütünlüğünün korunmasında, iyon kanalları ve salgı yollarının düzenlenmesi gibi birçok temel hücresele düzenlemede görev almaktadır (Kimya alanında Nobel Ödülü, 2004. Aaron Ciechanover, Ayram Herskko ve Irwin Rose).

Ayrıca bu proteolitik sistemler hücre homeostazını bozabilen yanlış katlanmış ve zarar görmüş proteinleri, birleşmemiş polipeptid zincirlerini, kısa-ömürlü düzenleyici proteinleri ve oksidatif stres ve mutasyon sonucu oluşmuş anormal proteinleri tanıyıp parçalarlar (42).

### 5. Ubikitinasyon ve NF-κB İlişkisi

Ubikitinasyon, NF-κB yollarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (43). NF-κB bağışıklık yanıtına, inflamasyona ve apoptoza katılan bir transkripsiyon faktörüdür ve NF-κB'nin etkinleşmesi için çeşitli ubikitinasyon işlemleri gereklidir (44). Uyarılmamış hücrelerde NF-κB, IκB'ye (inhibitör κB) bağlanır ve sitoplazmada tutulur. Uyarımdan sonra IκB, IκB kinaz (IKK) kompleksi (IKKα ve IKKβ) tarafından fosforillenir. Daha sonra fosforilize edilen IκB ubikitine edilir ve 26S proteazomu tarafından degrade edilir. Böylelikle NF-κB'nin çekitdekte yer değiştirmesine izin verilir ve burada bol miktarda gen ekspresyonu regüle edilir (43; 45; 46).

IKK kompleksinin düzenleyici alt birimi olan NEMO'nun ubikitinasyon sinyalini IKK aktivasyonuna dönüştürmede en önemli faktörlerden birisi olduğu düşünülmektedir. NEMO'nun bağlanma alanı olarak içerdiği NUB ve ZF bölgelerindeki mutasyonlar NEMO defisitli hücrelerde NEMO'nun NF-κB aktivasyonunu kurtarma yeteneğini bozduğu tespit edilmiştir (47; 48).

Son yıllarda yapılan araştırmalar NF-κB yollarındaki ubikitinasyonun rolü üzerine yoğunlaşmıştır. NF-κB kanser başta olmak üzere birçok hastalığın patogeneğinde rol oynayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Bu nedenle NF-κB aktivitesini kontrol eden moleküler mekanizmaların (özellikle de ubikitinasyon süreçlerinin) anlaşılması birçok hastalık için olası terapötik hedeflerin belirlenmesi açısından önem arz etmektedir (43; 49).

### 6. SUMO ve NF-κB İlişkisi

NF-κB düzenlenmesine katıldığı ilk belirlenen SUMO modifikasyonuna uğramış protein IκBa'dır (50). Bu NF-κB inhibitörü hem NF-κB'nin başlangıç aktivasyonunun düzenlenmesinde hem de bu aktivasyonun hücre dışı sinyallere karşı cevap verilmesi sırasında sürdürülmesinde görev alır. NF-κB'nin başlangıç aktivasyonu, IκBa'nın degradasyonu ile gerçekleşir (51). IκBa'nın degradasyonu ise serin 32 ve 36'nın fosforilasyonu sonucu oluşmaktadır (52). Öte yandan SUMO-1 proteininin sumoylasyonu serin 32 ve 36'nın fosforilasyonu üzerinden ubikitinlenmiş olan lizin 21'de gerçekleşir. Bu nedenle SUMO-1 ile modifiye edilen IκBa ubikitinlenemez ve böylelikle bozulmaya uğramaz. Ayrıca IκBa'nın SUMO-1 ile modifikasyonu sırasında fosforilasyona gerek duyulmaması ve SUMO-1'in aşırı ekspresyonu NF-κB'ye bağımlı transkripsiyonu engeller. Bu nedenle SUMO-1 ubikitine bağlı protein bozulmasının antagonisti olarak görülür (53).

### 7. SUMO ve Ubikitin İlişkisi

Yaklaşık 20 yıl önce keşfedilen ve ubikitin ile %18 benzerlik gösteren SUMO, mayalardan memelilere kadar çoğu canlının hücrelerinde korunmakta ancak canlılar arasında SUMO genlerinin sayısı büyük ölçüde değişmektedir. İnsan genomunda SUMO1-2-3-4 olmak üzere dört farklı SUMO bulunmaktadır (54; 55). Üçüoyutlu yapılarının %48 benzerliğinden dolayı 101 aminoasit ve 12 kDa'dan oluşan SUMO1 ve 9 kDa'dan oluşan ubikitin birbirleriyle ilişkilendirilmiştir (20). SUMO ve ubikitin arasındaki temel fark SUMO'nun genişletilmiş N-terminal yapısında bulunmasıdır. SUMOların her birinin N- ve C-terminal uzantıları mevcuttur ve N-terminal uzantıları ubikitinden çok daha uzundur (56). N-terminal uzantısının biyolojik rolü fonksiyonları tam olarak aydınlatılmamış olsa da C-terminal uzantısının SUMO aktive edici enzim (SAE1/2) ile doğrudan temas için anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (54; 57). SAE1 ve SAE2 U-şeklinde bir heterodimer kompleks oluşturur. Daha sonra SUMO'nun da kovalent bağla bu heterodimere bağlanmasıyla birlikte SAE1/2-SUMO yapısı oluşur. Bu yapının oluşumuyla aktive edici enzim SUMO'yu SUMO E2'ye bağlayan enzim Ubc9'a transfer eder. Birçok E2 enzimi içeren ubikitin yolağının aksine



Ubc9, SUMO için tek konjuge edici enzimdir ve dört SUMO ile de çalışır (54; 57). Ayrıca ubikitinasyonunda ubikitinin substrata aktarımı için mutlaka bir E3 ubikitin ligazı gerekirken sumolasyon in vitro halde ligaz ihtiyacı olmaksızın kolayca meydana gelebilmektedir (15). İnsan genomunda yaklaşık 600 ubikitin ligaz geni olduğu düşünüldüğünde çok daha fazla sayıda SUMO ligazı tanımlanmaya devam etmektedir (54; 58). SUMO ligazları hem in vitro hem de in vivo olarak SUMOlasyonu arttırmakta ve substrat seçimini etkilemektedir (59).

Fonksiyonel olarak bakıldığında sumolasyon ubikitinden daha çeşitli bir değiştiricidir. Proteinaz bozunumu için proteinleri hedeflemede önemli bir role sahip olan ubikitinasyonun aksine sumolasyon proteinleri doğrudan proteazoma hedeflemez. Bunun yerine sumolasyonun ortak bir lizin kalıntısı için ubikitinasyon ile rekabet ederek proteozomal bozunmayı bloke ettiği substrat örnekleri kullanılmaktadır (54; 60; 61).

Her ne kadar çeşitli özelliklere sahip olsalar da SUMO ve ubikitin, DNA hasar tanımada ve onarımın çeşitli yollarını düzenleme ve koordine etmede (62; 63) ve replikasyonda ve replikasyon stresinin düzenlenmesinde (64) genom istikrarını korumak için çeşitli hücresele olaylarda görev alırlar.

## 8. SONUÇ

Bu derlemede transkripsiyon faktörü olan NF-κB ve posttranslasyonel modifikasyonları sağlayan proteinler olan ubikitin ve SUMO'dan bahsedilmiştir. Bu üç farklı proteinin organizmadaki görevlerinden ve birbirleriyle olan ilişkilerine değinilmiştir. Yapılan literatür incelemesi sonucunda; NF-κB aktivasyonunun düzenlenmesinde ubikitinasyonun ve sonrasında proteozom sistemi ile degradasyonun gerekli olduğu bulunmuştur. Ayrıca yine NF-κB'nin düzenlenmesinde SUMO-1 proteinin görevinden bahsedilmiş ve IκBα'nın SUMO-1 ile sumolasyonu, NF-κB'nin aktive olmasını engellediği belirtilmiştir. Son olarak yapısal olarak iki benzer ancak fonksiyonel açıdan farklı iki protein olan SUMO ve ubikitin de birbirleriyle doğrudan ilişki içindedir. Sumolasyona uğramış proteinlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için bir veya daha fazla spesifik Ub-Kinaz'ın var olduğu saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında bu üç protein de birbiriyile doğrudan ilişki içindedir. Fa-

kat bu üç protein için hala aydınlatılmamış moleküler mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaların aydınlatılmasıyla birlikte birbirleriyle olan ilişkilerin daha iyi anlaşılması mümkün olacaktır.

## KAYNAKÇA

1. Schmitz ML, Mattioli I, Buss H, Kracht M. NF-κB: A multifaceted transcription factor regulated at several levels. *Chem Bio Chem* 2004; 5: 1348-1358.
2. Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* 1988; 46: 705- 716.
3. Zhang L, Badgwell DB, Bevers JJ, Schlessinger K, Murray PJ, Levy DE, Watowich SS. IL-6 signaling via the STAT3/SOCS3 pathways: Functional analysis of the conserved STAT3 N-domain. *Mol Cell Biochem* 2006; 288 (1-2): 179-189.
4. Sun XF, Zhang H. NFκB and NFκBI polymorphisms in relation to susceptibility of tumour and other diseases. *Histol Histopathol* 2007; 22: 1387-1398.
5. Dalmızrak A, Kosova B. TANK proteininin sinyal iletimindeki fonksiyonel analizi. Yüksek Lisans Tezi, İzmir 2005.
6. Ekinci Ö, Memis L. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında nükleer faktör kappa B immünohistokimyasal ekspresyonunun prognozla ilişkisi. *Gazi Tıp Dergisi* 2008; 19 (1): 1-5.
7. Camandola S, Mattson MP. NF-κB as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11 (2): 123-131.
8. Calzado MA, Bacher S, Schmitz ML. NF-κB inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer. *Curr Med Chem* 2007; 14: 367-376.
9. Hoffman A, Baltimore D. Circuitry of nuclear factor κB signalling. *Immunol Rev* 2006; 210: 171-186.
10. Ling L, Cao Z, Goeddel DV. NF-kappaB-inducing kinase activates IKKalpha by phosphorylation of Ser-176. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 3792-3797.

11. Lindström TM, Bennett PR. The role of nuclear factor kappa B in human labour. *Reproduction* 2005; 130: 569-581.
12. Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *The J Clin Invest* 2001; 107 (2): 135-142.
13. Umezawa K. Inhibition of tumor growth by NF- $\kappa$ B inhibitors. *Cancer Sci* 2006; 97 (10): 990-995
14. Melchior F, Schergaut M, Pichler A. SUMO: ligases, isopeptidases and nuclear pores. *Trends in Biochem Sci* 2003; 28: 612-618.
15. Melchior F. SUMO – nonclassical ubiquitin. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000; 16: 591-626.
16. Kamitani T, Kito K, Nguyen HP, Fukuda-Kamitani T, Yeh ET. Characterization of a second member of the sentrin family of ubiquitin-like proteins. *J Biol Chem* 1998; 273 (18): 11349-11353.
17. Saitoh H, Hinchey J. Functional Heterogeneity of small ubiquitin-related protein modifiers SUMO-1 versus SUMO-2/3. *J Biol Chem* 2000; 275: 6252-6258.
18. Kolli N, Mikolajczyk J, Drag M, Mukhopadhyay D, Moffatt N, Dasso M, Salvesen G, Wilkinson KD. Distribution and paralog specificity of mammalian deSUMOylating enzymes. *Biochem J* 2010; 430: 335-344.
19. Ayaydin F, Dasso M. Distinct in vivo dynamics of vertebrate SUMO paralogues. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 5208-5218.
20. Tatham MH, Jaffray E, Vaughan OA, Desterro JMP, Botting CH, Naismith JH, Hay RT. Polymeric Chains of SUMO-2 and SUMO-3 are conjugated to protein substrates by SAE1/SAE2 and Ubc9. *J Bio Chem* 2001; 276 (38): 35368-35374.
21. Matic I, van Hagen M, Schimmel J, Macek B, Ogg SC, Tatham MH, Hay RT, Lamond AI, Mann M, Vertegaal ACO. In vivo identification of human small ubiquitin-like modifier polymerization sites by high accuracy mass spectrometry and an in vitro to in vivo strategy. *Moll Cell Preotomics* 2008; 7: 132-144.
22. Rodriguez MS, Desterro JM, Lain S, Midgley CA, Lane DP, Hay RT. SUMO-1 modification activates the transcriptional response of p53. *EMBO J* 1999; 15: 6455-6461.
23. Bohren KM, Nadkarni V, Song JH, Gabby KH, Owerbach D. A M55V polymorphism in a novel SUMO gene (SUMO-4) differentially activates heat shock transcription factors and is associated with susceptibility to type I diabetes mellitus. *J Biol Chem* 2004; 279: 27233-27238.
24. Martin S, Wilkinson KA, Nishimune A, Henly JM. Emerging extracellular roles of protein SUMOylation in neuronal function and dysfunction. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8 (12): 948-959.
25. Song J, Durrin LK, Wilkinson TA, Krontiris TG, Chen Y. Identification of a SUMO-binding motif that recognizes SUMO-modified proteins. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 14373-14378.
26. Hayashi T, Seki M, Maeda D, Wang W, Kawabe Y, Seki T, Saitoh H, Fukugawa T, Yagi H, Enomoto T. Ubc9 is essential for viability of higher eukaryotic cells. *Exp Cell Res* 2002; 280 (2): 212-221.
27. Wilkinson KA, Nakamura Y, Henley JM. Targets and consequences of protein SUMOylation in neurons. *Brain Res Rev* 2010; 64 (1): 195-212.
28. Wilkinson KA, Henley JM. Mechanisms, regulation and consequences of protein SUMOylation *Biochem J* 2012; 428 (2): 133-145.
29. Gong L, Li B, Millas S, Yeh ET. Molecular cloning and characterization of human AOS1 and UBA2, components of the sentrin-activating enzyme complex. *FEBS Lett* 1999; 448: 185-189.
30. Johnson ES, Blobel G. Ubc9p is the conjugating enzyme for the ubiquitin-like protein Smt3p. *J Biol Chem* 1997; 272: 26799-26802.
31. Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 1998; 67, 425-479.
32. Varshavsky A. The early history of the ubiquitin field. *Protein Sci* 2006; 15 (3): 647-654.

33. Clague MJ, Heride C, Urbe S. The demographics of the ubiquitin system. *Trends Cell Biol* 2015; 25: 417-426.
34. Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem* 2012; 81: 203-229.
35. Ikeda F, Dikic I. Atypical ubiquitin chains: new molecular signals. *Protein modifications: beyond the usual suspects' review series. EMBO Rep* 2008; 9: 536 – 542
36. Swatek KN, Komander D. Ubiquitin modifications, *Cell Res* 2016; 26: 399–422.
37. Husnjak K, Dikic I. Ubiquitin-binding proteins: decoders of ubiquitin-mediated cellular functions. *Annu Rev Biochem* 2012; 81: 291-322.
38. Hurley JH, Lee S, Prag G. Ubiquitin-binding domains. *Biochem J* 2006; 399:361-372.
39. Sun Y. Targeting E3 ubiquitin ligases for cancer therapy. *Cancer Biol Ther* 2003; 2 (6): 623-629.
40. Finley D. Recognition and processing of ubiquitin-protein conjugates by the proteasome. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 477-513.
41. Smith DM, Chang SC, Park S, Finley D, Cheng Y, Goldberg AL. Docking of the proteasomal ATPases' carboxyl termini in the 20S proteasome's alpha ring opens the gate for substrate entry. *Mol Cell* 2007; 27 (5): 731-744.
42. Ciechanover A, Schwartz AL. The ubiquitin system: pathogenesis of human diseases and drug targeting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* 2004; 1695: 3-17.
43. Chen J, Chen JZ. Regulation of NF- $\kappa$ B by Ubiquitination. *Curr Opin Immunol* 2013; 25 (1): 4-12.
44. Skaug B, Jiang X, Chen ZJ. The role of ubiquitin in NF-kappaB regulatory pathways. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 769-796.
45. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NFkB activity. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 621-663.
46. Etzioni A, Ciechanover A, Pikarsky E. Immune defects caused by mutations in the ubiquitin system. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 743-753.
47. Wu CJ, Conze DB, Li T, Srinivasula SM, Ashwell JD. Sensing of Lys 63-linked polyubiquitination by NEMO is a key event in NF-kappaB activation. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 398-406.
48. Ea CK, Deng L, Xia ZP, Pineda G, Chen ZJ. Activation of IKK by TNFalpha requires site-specific ubiquitination of RIP1 and polyubiquitin binding by NEMO. *Mol Cell* 2006; 22: 245-257.
49. Terzic J, Dikic I. Interplay between ubiquitin networks and NF- $\kappa$ B signaling. *Period Biol* 2011; 113 (1): 1-6.
50. Desterro JM, Rodriguez MS, Hay RT. SUMO-1 modification of I $\kappa$ Balpha inhibits NF-kappa-B activation. *Mol Cell* 1998; 2: 233-239.
51. Hayden MS, Ghosh S. Signalling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004; 18: 2195-2224.
52. Chen Z, Hagler J, Palombella VJ, Melandri F, Scherer D, Ballard D, Maniatis T. Signal-induced site-specific phosphorylation targets I $\kappa$ Balpha to the ubiquitin-proteasome pathway. *Genes Dev* 1995; 9: 1586-1697.
53. Magnani M, Crinelli R, Bianchi M, Antonelli A. The ubiquitin-dependent proteolytic system and other potential targets for the modulation of nuclear factor-kb (NF-kb). *Curr Drug Targets* 2000; 1: 387-399.
54. Wilson WG. SUMO regulation of cellular processes, advances in experimental medicine and biology. Springer, Berlin, Germany, 2nd ed. 2017; pp 1-12.
55. Chen A, Mannen H, Li SS. Characterization of mouse ubiquitin-like SMT3A and SMT3B cDNAs and gene/pseudogenes. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 46: 1161-1174.
56. Bayer P, Arndt A, Metzger S, Mahajan R, Melchior F, Jaenicke R, Becker J. Structure determination of the small ubiquitin-related modifier SUMO-1. *J Mol Biol* 1998; 280: 275-286.
57. Lois LM, Lima CD. Structures of the SUMO E1 provide mechanistic insights into SUMO activation and E2 recruitment to E1. *EMBO J* 2005; 24: 439-451.

58. Deshaies RJ, Joazeiro CA. RING domain E3 ubiquitin ligases. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 399-434.
59. Gareau JR, Lima CD. The SUMO pathway: Emerging mechanisms that shape specificity, conjugation and recognition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 861-871.
60. Escobar-Ramirez A, Vercoutter-Edouart AS, Mortuaire M, Huvent I, Hardivillé S, Hoedt E, Lefebvre T, Pierce A. Modification by SUMOylation Controls Both the Transcriptional Activity and the Stability of Delta-Lactoferrin. *PLoS one*, DOI:10.1371/journal.pone.0129965, Jun 15, 2015.
61. Klenk C, Humrich J, Quitterer U, Lohse MJ. SUMO-1 controls the protein stability and the biological function of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 2006; 281: 8357-8364.
62. Jackson SP, Durocher D. Regulation of DNA damage responses by ubiquitin and SUMO. *Mol Cell* 2013; 49: 795-807.
63. Nie M, Aslanian A, Prudden J, Heideker J, Vashisht AA, Wohlschlegel JA, Yates JR, Boddy MN. Dual recruitment of Cdc48 (p97)-Ufd1-Npl4 ubiquitin-selective segregase by small ubiquitin-like modifier protein (SUMO) and ubiquitin in SUMO-targeted ubiquitin ligase-mediated genome stability functions. *J Biol Chem* 2012; 287 (35): 29610-29619.
64. Ulrich HD. Ubiquitin and SUMO in DNA repair at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125: 249-254.