

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

BEATA KLISZCZ¹, ANNA OSINKA², EWA WACŁAWEK², ANDRZEJ KASPRZAK¹, DOROTA WŁOGA²

¹Pracownia Białek Motorycznych Zakład Biochemii ²Pracownia Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek Zakład Biologii Komórki Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN Pasteura 3, 02-093 Warszawa E-mail: d.wloga@nencki.gov.pl a.kasprzak@nencki.gov.pl

MODYFIKACJE POTRANSLACYJNE TUBULINY*

WPROWADZENIE

Komórki eukariotyczne tworzą złożoną sieć włókien białkowych, tzw. cytoszkielet, który utrzymuje kształt komórek, umożliwia transport wewnątrzkomórkowy, przemieszczanie organelli, polaryzację komórek, ich podział i ruch. Obok filamentów aktynowych i filamentów pośrednich, podstawowym elementem cytoszkieletu komórek eukariotycz-nych są mikrotubule. Struktury te są polimerami przypominającymi kształtem rurki, o średnicy zewnętrznej około 25 nm i średnicy wewnętrznej około 16 nm, zbudowanymi z heterodimerów α- i β- tubuliny (DESAI i MITCHISON 1997). Mimo podobnego schematu budowy, mikrotubule wykazują znaczne zróżnicowanie w odporności na działanie czynników chemicznych (np. taksol, nokodazol), fizycznych (niska temperatura), mechanicznych oraz w tempie polimeryzacji zarówno in vitro, jak i in vivo. Różnice te obserwowano nie tylko pomiędzy mikrotubulami pochodzącymi z różnych organizmów, ale również pomiędzy mikrotubulami pochodzącymi z tkanek tego samego organizmu, a nawet z różnych części tej samej komórki. Sugeruje to, że pomimo podobnej budowy strukturalnej mikrotubul, istnieją czynniki, które wpływają znacząco na ich właściwości. Są to: (i) rodzaj izotypów α - i β - tubuliny wbudowywanych w mikrotubule (LUDUEÑA

1993), (ii) rodzaj i poziom modyfikacji potranslacyjnych tubuliny w mikrotubulach (VERHEY I GAERTIG 2007) oraz (iii) oddziaływania pomiędzy mikrotubulami a białkami towarzyszącymi mikrotubulom (LYLE i współaut. 2009a, b).

Tubuliny są białkami silnie zachowanymi w toku ewolucji. Genomy większości organizmów kodują więcej niż jeden izotyp α- i βtubuliny, a poziom ekspresji poszczególnych izotypów tubuliny jest różny w zależności od typu tkanki. Poszczególne izotypy tubuliny różnią się głównie fragmentem obejmującym około 20 ostatnich aminokwasów białka, tzw. ogonem karboksylowym. Niektóre izotypy tubuliny moga być niezbędne do polimeryzacji specyficznych struktur mikrotubularnych. Przykładowo, powstanie prawidłowych aksonem rzęsek Drosophila (NIELSEN i współaut. 2001) lub 15-protofilamentowych mikrotubul w neuronach czuciowych obleńca C. elegans (CUEVA i współaut. 2012) wymaga ekspresji specyficznych izotypów tubuliny.

Obecność różnych izotypów a- i β - tubuliny w mikrotubuli jest często tylko pierwotnym źródłem zróżnicowania mikrotubul. Różnice w budowie aminokwasowej poszczególnych izotypów mogą decydować o możliwości wystąpienia specyficznych modyfikacji potranslacyjnych tubuliny (np. u *C. elegans* tylko a-tubulina MEC12 może ulegać acetylacji) (FUKUSHIGE i wspólaut. 1999). Z kolei

*Przygotowanie niniejszej publikacji było finansowane ze środków projektów Narodowego Centrum Nauki: 2014/13/B/ NZ1/03995 (A.K.) i 2014/14/M/NZ3/00511 (D.W.)

Słowa kluczowe: acetylacja, detyrozynacja, poliaminacja, glutamylacja, glicylacja

poziom modyfikacji potranslacyjnych może regulować oddziaływania mikrotubul z różnymi rodzajami białek MIP (ang. microtubule interacting protein), w tym z białkami strukturalnymi, białkami tnącymi mikrotubule i białkami motorycznymi, np. niektóre kinezyny (VERHEY i GAERTIG 2007).

POTRANSLACYJNE MODYFIKACJE TUBULINY

Potranslacyjne przyłączenie grup funkcyjnych do cząsteczki białka, czyli tzw. modyfikacje potranslacyjne, wpływają na właściwości ogromnej liczby białek, w tym aktyny (patrz REDOWICZ w tym zeszycie KOSMOSU) i tubuliny. W przypadku mikrotubul postuluje się, że modyfikacje potranslacyjne tubuliny wbudowanej w mikrotubule tworzą specyficzne "znaki" na powierzchni mikrotubul, nazwane kodem tubulinowym (VERHEY i GA-ERTIG 2007), przez analogię do kodu histonowego (STRAHL i ALLIS 2000). Uważa się, że przyłączone do tubuliny grupy funkcyjne są rozpoznawane i "interpretowane" przez białka MIP, i w efekcie wpływają bezpośrednio lub pośrednio (tj. przez białka MIP, zależnie od właściwości MIP) na właściwości mikrotubul (VERHEY i GAERTIG 2007). Zmiany poziomu i typu modyfikacji potranslacyjnych tubuliny w czasie (np. zależnie od stadium cyklu komórkowego lub stopnia zróżnicowania komórki) i przestrzeni (tj. w różnych częściach komórki) umożliwiają nie tylko miejscową regulację właściwości mikrotubul, ale również specyficzne rozpoznawanie mikrotubul lub ich fragmentów przez strukturalne białka MAP (ang. microtubule associated protein), białka tnące mikrotubule lub białka motoryczne (JANKE i BULIŃSKI 2011, YU i współaut. 2015, SONG i BRADY 2015, WLOGA i współaut. 2017).

Dotychczas zidentyfikowano kilkanaście różnych modyfikacji potranslacyjnych tubuliny: acetylację (L'HERNAULT i ROSENBAUM 1985, LEDIZET i PIPERNO 1987), arginylację (WONG i współaut. 2007), fosforylację (EIP-PER 1972, PIRAS i PIRAS 1975), glicylację (RE-DEKER i współaut. 1994), glikozylację (HINO i współaut. 2003, CICCHILLITTI i współaut. 2008), glutamylację (EDDE i współaut. 1990), metylację (PARK i współaut. 2016), palmitylację (CARON 1997, OZOLS i CARON 1997, ZAMBITO i WOLFF 1997), poliaminację (SONG



Ryc. 1. Modyfikacje potranslacyjne tubuliny.

Schemat przedstawia fragment mikrotubuli oraz heterodimery α - i β -tubuliny (przykładowe zaznaczono czerwoną ramką), (A) przed przyłączeniem do mikrotubuli (polimeryzacja), (B) wbudowane w mikrotubulę (w przypadku acetylacji K40 α-tubuliny pokazana jest wewnętrzna powierzchnia mikrotubuli, lub (C) uwalniane w procesie depolimeryzacji mikrotubul. Zaznaczono znane modyfikacje potranslacyjne. Wolne heterodimery (A) mogą ulegać acetylacji (K252 β -tubuliny), poliaminacji i fosforylacji (S172 β -tubuliny). Heterodimery wbudowane w mikrotubule (B) ulegają acetylacji (K40 α -tubuliny), poliaminacji, fosforylacji, detyrozynacji glutamylacji, deglutamylacji i glicylacji. Heterodimery uwolnione w procesie depolimeryzacji (C) są modyfikowane przez tyrozynację α -tubuliny i deacetylację (K40 α -tubuliny). Jeśli znane, zaznaczono również enzymy modyfikujące. i współaut. 2013), SUMO-ilację (Rosas-Aco-STA i współaut. 2005), sukcynylację (PIRO-LI i współaut. 2014), ubikwitynację (BHEDA i współaut. 2010) oraz modyfikacje polegające na usunięciu jednego (detyrozynacja, ARCE i współaut. 1975, HALLAK i współaut. 1977, ARGARANA i współaut. 1978), dwóch ($\Delta 2$, LAFANECHERE i JOB 2000) lub nawet pięciu (XIAO i współaut. 2010) aminokwasów z końca karboksylowego a-tubuliny. Warto zaznaczyć, że kilka różnych modyfikacji potranslacyjnych może współwystępować na tej samej tubulinie, a nawet "konkurować" o to samo miejsce modyfikacji (np. glicylacja i glutamylacja). Ponadto, poziom modyfikacji może zmieniać się zarówno wzdłuż danej mikrotubuli (np. poziom tyrozynowanej i detyrozynowanej tubuliny), jak i w czasie istnienia mikrotubuli (np. poziom acetylacji wzrasta na stabilnych mikrotubulach).

Badania prowadzone na różnych, odległych ewolucyjnie modelach komórkowych wykazały, że szereg modyfikacji potranslacyjnych tubuliny, w tym acetylacja, glicylacja, glutamylacja, fosforylacja i detyrozynacja są modyfikacjami zachowanymi w toku ewolucji.

ACETYLACJA

Za acetylację reszty lizyny 40 w podjednostce a-tubuliny odpowiada acetyloransferaza aTAT, nazwana MEC17 u obleńca C. elegans (AKELLA i współaut. 2010, SHIDA i współaut. 2010), a tubulina wbudowana w mikrotubule jest preferowanym substratem tego enzymu. Oprócz tej modyfikacji, acetylotransferaza San może modyfikować reszte lizyny 252 β-tubuliny. W odróżnieniu od Lys-40 a-tubuliny, modyfikacja Lys-252 zachodzi wyłącznie w niespolimeryzowanej tubulinie (CHU i współaut. 2011). Reakcja acetylacji Lys-40 jest odwracalna: dwie rodziny enzymów HDAC6 i SIRT2 deacetylują tę resztę preferencyjnie w tubulinie niespolimeryzowanej (PERDIZ i współaut. 2011, LI i YANG 2015, SADOUL i KHOCHBIN 2016). Niezwykłą cechą acetylacji mikrotubul jest konieczność dotarcia acetylotransferazy do łańcuchów bocznych lizyn 40 położonych w małej pętli znajdującej się we wnętrzu mikrotubuli (ang. lumen) (SOPPINA i współaut. 2012). Zaproponowano kilka mechani-zmów takiej modyfikacji. SHIDA i współaut. (2010) uważają, że dotarcie enzymu do lizyn we wnętrzu mikrotubuli zachodzi wskutek powstawania lokalnych odkształceń w strukturze mikrotubuli (ang. breathing) na całej jej długości. Z kolei w mechanizmie proponowanym przez SZYK i współaut. (2014) zakłada się, że szybkość reakcji acetylacji jest niska, natomiast szybkość dyfuzji aTAT we wnętrzu mikrotubuli wysoka, co powoduje, że acetylowane są reszty Lys-40 różnych podjednostek a mikrotubuli, bez względu na ich odległość od końców mikrotubuli. Te dwie hipotezy są kwestionowane przez Co-OMBES i współaut. (2016), którzy przedstawili mechanizm penetracji acetylotransferazy przez końce mikrotubuli, a także przez pęknięcia i lokalne rozfałdowania jej struktury. We wnętrzu mikrotubuli szybkość dyfuzji aTAT jest bardzo ograniczona, co prowadzi do powstania w świetle mikrotubuli gradientu acetylowanych reszt Lys, w dobrej zgodności z oryginalnie zaproponowanym mechanizmem (AKELLA i współaut. 2010).

Porównanie struktury mikrotubul acetvlowanych i nieacetylowanych przy użyciu kriomikroskopii elektronowej charakteryzującej się rozdzielczością 8-9 Å (Howes i współaut. 2014) nie wykazało żadnych różnic pomiędzy obiema formami a-tubuliny. Tym niemniej, badania na komórkach wykazały, że acetylacja Lys-40 ma wpływ na oddziaływanie białka szoku termicznego HSP90 mikrotubulami (GIUSTINIANI i współaut. Z 2009), a acetylowane fragmenty mikrotubul są preferencyjnie cięte przez kataninę (SUDO i BAAS 2010). Inne badania wykazały, że mikrotubule zmieniają ruch motorów molekularnych (REED i współaut. 2006, DOMPIERRE i współaut. 2007, CAI i współaut. 2009), jak również zależny od motorów transport organelli (MISAWA i współaut. 2013). Jednak, w warunkach in vitro, modyfikacja Lys-40 nie zmieniła szybkości poruszania się, jak i procesywności białka motorycznego, kinezyny-1 (WALTER i współaut. 2012, KAUL i współaut. 2014).

Do niedawna nie było jednoznacznego poglądu na temat fizjologicznej roli acetylacji mikrotubul. Chociaż wysoki poziom acetylacji był charakterystyczny dla stabilnych mikrotubul występujących w aksonie i rzęskach, nie było wiadomo, czy acetylacja odpowiada za ich stabilizację, czy też poziom modyfikacji wzrasta, bo mikrotubule są stabilizowane przez inne czynniki i poddane działaniu acetylotransferazy. Ostatnio opublikowane dane wskazują, że acetylowane i nieacetylowane mikrotubule reagują inaczej na mechaniczne odkształcenia (PORTRAN i współaut. 2017, XU i współaut. 2017).

Mikrotubule o długim czasie życia (~1 h) – a takie głównie są acetylowane – są poddawane wielu działaniom mechanicznym, które mogą prowadzić do ich trwałych uszkodzeń. Podczas oddziaływania białek motorycznych z zakotwiczonymi mikrotubulami lub migracji komórek, w strukturze mikrotubul powstają zgięcia lub pętle, a także pęknięcia oraz otwarcie wnętrza mikrotubuli do środowiska (REED i współaut. 2006, GIU- STINIANI i współaut. 2009). Takie deformacje, szczególnie, gdy powtarzają się wielokrotnie, prowadzą do trwałego uszkodzenia struktury polimeru i jego rozpadu. Autorzy cytowanych artykułów (XU i współaut. 2017, PORTRAN i współaut. 2017) przedstawili przekonujące dowody, że acetylacja mikrotubul prowadzi do osłabienia niekowalencyjnych wiązań pomiędzy protofilamentami mikrotubuli, bez zmiany oddziaływań wzdłuż protofilamentu. W konsekwencji, podczas zginania mikrotubuli sąsiednie protofilamenty mogą przemieszczać się bardziej swobodnie względem siebie, co czyni całą strukturę bardziej elastyczną i zdolną do absorpcji różnych odkształceń deformujących. Co ciekawe, miejsca acetylacji dobrze korelują z położeniem zgięć i odkształceń mikrotubul (SCHAAP i współaut. 2006), sugerując, że pojawiające się uszkodzenia umożliwiają lokalnie dostanie się acetylotransferazy do wnętrza mikrotubuli i modyfikację Lys-40, co czyni ten obszar bardziej elastycznym i zapobiega jego całkowitemu rozpadowi.

POLIAMINACJA

Podczas oczyszczania tubuliny z mózgu zauważono, że frakcja mikrotubul nie ulega depolimeryzacji w wyniku inkubacji w niskiej temperaturze, w roztworze zawierającym jony wapnia. Jak wykazała analiza przy użyciu elektroforezy dwukierunkowej, tubulina w tych stabilnych mikrotubulach jest bardziej zasadowa niż tubulina w labilnych (dynamicznych) mikrotubulach (BRADY i współaut. 1984). Dopiero ostatnio odkryto, że wyjątkowa stabilność tej frakcji mikrotubul jest związana z poliaminacją tubuliny (SONG i współaut. 2013). Modyfikacja ta polega na kowalencyjnym, nieodwracalnym przyłączeniu poliamin do niektórych reszt glutaminowych zarówno alfa, jak i beta tubuliny i w przypadku neuronów jest katalizowana przez transglutaminazę. Główną izoformą występującą w mózgu jest transglutaminaza 2 (SONG i współaut. 2013).

Do najważniejszych poliamin przyłączanych do tubuliny należą: putrescyna, spermina i spermidyna, czyli naturalne substraty transglutaminaz, które powstają w wyniku degradacji argininy (MEHTA i współaut. 2006). Głównym miejscem poliaminacji jest zachowana w toku ewolucji reszta Gln-15 β-tubuliny, ale nie jest to modyfikacja całkowicie specyficzna, gdyż inne reszty glutaminowe również ulegają poliaminacji. Modyfikacja ta zachodzi zarówno na wolnych heterodimerach tubuliny, jak i na tubulinie już wbudowanej w mikrotubule. W warunkach in vitro, poliaminowana tubulina może polimeryzować tworząc mikrotubule. Warto jednocześnie zaznaczyć, że przy braku poliamin, w wyniku reakcji transglutaminazy z tubuliną, powstaje

usieciowana tubulina, która nie tworzy mikrotubul (SONG i współaut. 2013).

Jaka jest fizjologiczna funkcja tej modyfikacji? Poliaminacja jest modyfikacją charakterystyczną przede wszystkim dla mikrotubul w aksonach, a te moga osiagać długość nawet około kilkuset mikrometrów (BRAY i BUNGE 1981). Stąd też wydaje się, że rolą poliaminacji jest zachowanie stabilności mikrotubul, niezbędnej do utrzymania szlaków transportu oraz wewnętrznego "szkieletu" i kształtu aksonu (BRADY 1993). Zachowanie równowagi pomiędzy stabilnością mikrotubul a ich dynamiką jest kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania komórek nerwowych. Dynamiczne przejścia między polimeryzacją a depolimeryzacją mikrotubul umożliwiają tworzenie nowych połączeń nerwowych lub reorganizację już istniejących (BRADY 1993). Zaobserwowano, że w trakcie rozwoju aksonu oraz w procesie różnicowania neuronów wzrasta aktywność transglutaminazy i zwiększa się poziom poliamin (MACCIONI i SEEDS 1986). Zablokowanie aktywności transglutaminazy w komórkach neuroblastoma powoduje, że tworzone wypustki są o połowę krótsze niż w komórkach kontrolnych (SONG i współaut. 2013), co skłoniło autorów do wniosku, że ma to związek z mniejszą stabilnością mikrotubul. Jednak samo zwiekszenie stabilności mikrotubul nie wystarcza do pobudzania wzrostu neuronów (GUO i współaut. 2017). Warto pamiętać, że transglutaminazy mają szereg innych substratów poza tubuliną. Katalizują zarówno transamidację, w tym inkorporację poliamin poprzez wiązanie y-glutamylowe, jak i acylację oraz sieciowanie białek (tworzenie krzyżowych połączeń między łańcuchem bocznym glutaminy jednego białka a resztą ɛ-aminową lizyny drugiego białka lub peptydu). Ponadto, transglutaminazy mają aktywność GTP-azową (FENG i współaut. 1999), izomerazy mostków dwusiarczkowych w białkach (HASEGAWA i współaut. 2003), jak również kinazową (MISHRA i współaut. 2006). Zatem wspomniane zmiany mogą być spowodowane modyfikacją nie tylko tubuliny, ale również innych białek.

Poliaminowane mikrotubule charakteryzują się zmniejszoną rozpuszczalnością (poliaminacja promuje agregację białek) i mają obniżoną dynamikę. Odkąd pokazano, że dynamiczne mikrotubule penetrują kolce dendrytyczne, biorące udział w tworzeniu synaps, można wnioskować, że dynamika mikrotubul ma bezpośredni wpływ na neuroplastyczność, a co za tym idzie, na proces uczenia się i pamięć (DENT 2017). Jednak nie wiadomo, czy regulacja dynamiki mikrotubul w kolcach ma związek z poliaminacją lub z białkami związanymi z mikrotubulami, czy też jest to działanie synergistyczne obu tych czynników. Ponadto udowodniono, że w starzejącym się mózgu również zwiększa się aktywność transglutaminazy (LESORT i współaut. 2000). Zatem wydaje się, że poliaminacja tubuliny może mieć właściwości zarówno neuroprotekcyjne (stabilizacja), jak i neurotoksycznie (hiperstabilizacja), a rezultat zależy od intensywności oraz okoliczności, w jakich poliaminacja zachodzi. Niewykluczone, że zmiany w poziomie poliaminacji mikrotubul mogą być jedną z przyczyn chorób neurodegeneracyjnych.

Niewątpliwie potrzebne są dalsze szczegółowe badania, które wyjaśnią jakie są powiązania pomiędzy poliaminacją a procesami starzenia się i patologiami układu nerwowego, oraz które z obserwowanych zjawisk są związane z poliaminacją tubuliny, a które z poliaminacją innych białek, będących substratami dla transglutaminaz.

FOSFORYLACJA

Fosforylacja jest powszechnie występującą, odwracalną modyfikacją potranslacyjną. α- i β-tubuliny są fosforylowane zarówno przez kinazy serynowo-treoninowe (np. zależną od cykliny kinazę Cdk1, kinazę kazeinową CK2 lub zależną od wapnia i kalmoduliny kinazę CamKII), jak i kinazy tyrozynowe (np. kinazy Fes, Jak2, Syk, Src), przy czym najczęściej samo miejsce modyfikacji nie jest znane (WLOGA i GAERTIG 2010, SONG i BRA-DY 2015). W większości przypadków kinazy modyfikują tubulinę już wbudowaną w mikrotubule, ale wolna tubulina może również być substratem dla kinaz (SONG i BRADY 2015). Z drugiej strony, badania z zastosowaniem spektrometrii mas umożliwiły zidentyfikowanie wielu potencjalnych miejsc fosforylacji, zarówno w α-, jak i β-tubulinie (LIU i współaut. 2015), natomiast odpowiedzialne kinazy oraz rola tych modyfikacji w regulacji właściwości mikrotubul pozostają nieznane lub niejasne. Analiza rozmieszczenia potencjalnych miejsc fosforylacji z użyciem modelu heterodimeru α - i β -tubuliny wskazuje, że fosforylacja mogłaby regulować powstawanie heterodimeru α- i β-tubuliny, oddziaływanie pomiędzy α - i β -tubuliną z dwóch następujących po sobie heterodimerów tego samego protofilamentu (np. fosforylacja reszt treoniny 257, tyrozyny 357 a-tubuliny) lub heterodimerów sasiadujących protofilamen-tów (fosforylacja seryny 277 a-tubuliny). Niektóre reszty aminokwasowe tubulin potencjalnie ulegające fosforylacji, są skierowane do wnętrza mikrotubuli (np. treoniny 80 i 94 a-tubuliny), co sugeruje, że, podobnie jak w przypadku acetylacji reszty Lys-40 a-tubuliny, poziom fosforylacji mógłby regulować wiązanie białek oddziałujących z wewnętrzną powierzchnią mikrotubuli, czyli znajdujących się w świetle mikrotubuli (LIU i współaut. 2015).

W świetle dotychczasowych badań stosunkowo najwięcej wiadomo o roli fosforylacji reszty seryny 172 β-tubuliny. W czasie mitozy w komórkach ssaków, reszta ta jest fosforylowana przez zależną od cykliny kinazę Cdk1. Modyfikacja ta hamuje przyłączenie heterodimeru do mikrotubul, a tym samym wpływa na dynamikę mikrotubul (FOUREST-LIEUVIN i współaut. 2006). Wpływ fosforylacji Ser-172 β-tubuliny na dynamikę mikrotubul obserwowano również w komórkach nerwowych, w których reszta ta jest modyfikowana przez kinazę MNB (ang. mini brain kinase) (ORI-MCKENNEY i współaut. 2016) oraz w komórkach drożdży (CAU-DRON i współaut. 2010). Silnie zachowana w toku ewolucji Ser-172 β-tubuliny znajduje się blisko miejsca wiązania GTP/GDP i formuje fragment powierzchni β-tubuliny, zaangażowany w oddziaływanie z a-tubuliną kolejnego heterodimeru, a w efekcie, w tworzenie protofilamentów (NOGALES i współaut. 1999). Możliwe zatem, że fosforylacja seryny 172 i zmiana ładunku w tym rejonie cząsteczki tubuliny może wpływać na wiązanie GTP i/lub GDP oraz oddziaływanie pomiędzy heterodimerami (FOUREST-LIEUVIN i współaut. 2006). Zahamowanie przyłączania heterodimerów tubuliny do mikrotubul obserwowano również w przypadku fosforylacji niektórych reszt tyrozynowych a-tubuliny (LEY i współaut. 1994, WANDOSELL i współaut. 1987).

Jednak fosforylacja tubuliny może również zwiększać tempo polimeryzacji mikrotubul. Fosforylacja reszty seryny 165 w a-tubulinie przez kinazę PKCa zwiększa efektywność przyłączania zmodyfikowanego heterodimeru tubuliny, w porównaniu do formy nieufosforylowanej (ABEYWEERA i współaut. 2009, DE i współaut. 2014).

Chociaż fosforylacja jest jedną z najwcześniej wykrytych modyfikacji tubuliny (SONG i BRADY 2015), identyfikacja miejsc fosforylacji, kinaz odpowiedzialnych za poszczególne fosforylacje oraz rola tych modyfikacji jest nadal słabo poznana. Warto też zaznaczyć, że niektóre kinazy mogą wpływać na właściwości mikrotubul niezależnie od ich aktywności katalitycznej, pełniąc rolę białek MIP (MITSOPOULOS i współaut. 2003, LIM i współaut. 2004).

DETYROZYNACJA I MODYFIKACJA DELTA 2 A-TUBULINY

W zdecydowanej większości izotypów a-tubuliny, we wszystkich grupach organizmów eukariotycznych, tyrozyna jest ostatnim aminokwasem kodowanym przez geny a-tubuliny. Detyrozynacja polega na usunięciu reszty tyrozyny z końca karboksylowego a-tubuliny wbudowanej w mikrotubulę,

przez karboksypeptydazę vasohibinę (AILLAUD i współaut. 2017, NIEUWENHUIS i współaut. 2017). Reakcja ta jest odwracalna. Po depolimeryzacji mikrotubuli reszta tyrozynowa może zostać ponownie przyłączona do cząsteczki a-tubuliny wolnego heterodimeru dzięki aktywności ligazy tyrozynowej tubuliny (ang. tubulin tyrosine ligase, TTL) (ERS-FELD i współaut. 1993), która wiąże się z heterodimerem oddziałując zarówno z a-, jak i β-tubuliną (PROTA i współaut. 2013). Heterodimer tubuliny związany z ligazą TTL, do czasu jej odłączenia, nie może zostać ponownie wbudowany do mikrotubuli (SZYK i współaut. 2011). Ligaza TTL współzawodniczy o przyłączanie do heterodimeru tubuliny ze statminą, białkiem sekwestrującym wolna tubulinę. Wydaje się, że jest to spowodowane albo częściowo tożsamym miejscem wiązania statminy i ligazy TTL do heterodimeru tubuliny lub zmianą konformacji heterodimeru tubuliny po związaniu statminy, która nie sprzyja wiązaniu ligazy TTL (SZYK i współaut. 2013).

Enzymy z rodziny TTL występują u kręgowców oraz u lancetnika, jeżowca i niektórych pasożytniczych pierwotniaków (WLOGA i współaut. 2008, PRESTON i współaut. 1979), co wskazuje, że w trakcie ewolucji ligaza tyrozynowa tubuliny została wtórnie utracona u niektórych grup organizmów. W komórkach organizmów, które nie posiadają enzymu TTL, tyrozynowana a-tubulina powstaje jedynie de novo, na drodze translacji, podczas gdy organizmy posiadające enzym TTL mogą dodatkowo powiększać pulę tyrozynowanej tubuliny poprzez ponowne przyłączenie tyrozyny do zmodyfikowanej potranslacyjnie, zdetyrozynowanej cząsteczki a-tubuliny.

W komórkach ssaków zarówno w czasie interfazy, jak i w trakcie podziału komórki, część mikrotubul charakteryzuje się wysokim poziomem detyrozynacji. W neuronach, tyrozynowane mikrotubule występują w stożkach wzrostu (ang. growth cones), natomiast mikrotubule aksonu i dendrytów mają bardziej labilną domenę znajdującą się przy jej końcu plus, zbudowaną z tyrozynowanej tubuliny i domenę bardziej stabilną przy końcu minus, bogatą w detyrozynowaną tubulinę (BAAS i współaut. 2016; patrz JAWORSKI w tym zeszycie KOSMOSU). U myszy brak ligazy TTL powoduje zmiany w układzie nerwowym, kłopoty z oddychaniem i brak koordynacji ruchowej, co prowadzi do śmierci nowonarodzonych zwierząt w ciągu 24 godzin. Analiza różnicujących się komórek nerwowych wyizolowanych z myszy pozbawionych TTL wykazała zmiany w tworzeniu i dynamice wypustek ner-

wowych (ERCK i współaut. 2005, MARCOS i współaut. 2009).

W przeciwieństwie do detyrozynacji, modyfikacja polegająca na usunięciu kolejnego aminokwasu, tj. reszty kwasu glutaminowego z detyrozynowanej a-tubuliny (tzw. tubulina $\Delta 2$, czyli pozbawiona dwóch końcowych aminokwasów), jest reakcją nieodwracalną. Sugeruje się, że modyfikacja ta może regulować pulę tubuliny podlegającej cyklom detyrozynacja-tyrozynacja. Enzymy odpowiedzialne za modyfikację $\Delta 2$ należą do rodziny karboksypeptydaz cytozolowych (ang. cytosolic carboxypeptidase, CCP), odpowiedzialnych również za skracanie bocznych łańcuchów peptydowych tubuliny, zbudowanych z reszt kwasu glutaminowego (deglutamylacia) (ROGOWSKI i współaut. 2010, BEREZNIUK i współaut. 2013, TORT i współaut. 2014). Δ2 tubulina jest obecna w stabilnych mikrotubulach neuronów, rzęsek, centriol i ciałek podstawowych, ale znaczenie tej modyfikacji i jej wpływ na właściwości mikrotubul pozostają niejasne.

Wysoki poziom detyrozynowanej a-tubuliny jest znacznikiem stabilnych, długo istniejących mikrotubul, chociaż sama detyrozynacja nie wpływa na właściwości polimeru tubulinowego. Wydaje się, że detyrozynacja a-tubuliny wpływa pośrednio na dynamikę mikrotubul, poprzez białka oddziałujące z mikrotubulami. Kinezyna-13, białko motoryczne zdolne do depolimeryzacji mikrotubul, wiąże się z fragmentem zawierającym mikrotubuli tyrozynowaną a-tubulinę. detyrozynacja tubuli-Zatem ny może chronić mikrotubule przed depolimeryzacją zależną od aktywności kinezyny-13 (PERIS i współaut. 2009, SIRAJUDDIN i współaut. 2014). Podobnie jak kinezyna-13, białka z domeną CAP-Gly (ang. cytoskeleton associated protein glycine-rich), oddziałujące z końcem plus mikrotubul (CLIP170, p150/glued), preferencyjnie wiążą się z zakończeniem mikrotubuli zbudowanym z tyrozynowanej a-tubuliny (PERIS i współaut. 2006). Ostatnio wykazano również, że w neuronach ufosforylowane białko MAP1B preferencyjnie wiąże się z tyrozynowanymi fragmentami mikrotubul i wpływa lokalnie na ich dynamikę (BARNAT i współaut. 2016). W odróżnieniu od kinezyny-13, kinezyna-2, białko motoryczne odpowiedzialne za transport rzęskowy (ang. intraflagellar transport, IFT) wykazuje około dwukrotnie zwiększone tempo ruchu i procesywność na detyrozynowanych niż na tyrozynowanych mikrotubulach (SIRAJUDDIN i współaut. 2014). Podobnie, preferencje w stosunku do detyrozynowanych mikrotubul wykazuje kinezyna-1, pełniąca ważne funkcje m.in. w komórkach nerwowych (KONISHI i SETOU 2009, KAUL i współaut. 2014).

GLICYLACJA I GLUTAMYLACJA

Glicylacja i glutamylacja to modyfikacje zarówno α -, jak i β -tubuliny. Są one zapoczątkowane przez przyłączenie pierwszej reszty aminokwasowej (inicjacja) glicyny (G, glicylacja) lub kwasu glutaminowego (E, glutamylacja) do reszt kwasów glutaminowych znajdujących się w rejonie końca karboksylowego a- lub β -tubuliny (tj. ogona tubuliny). Peptydowe łańcuchy boczne, moga być wydłużane przez dołączanie kolejnych reszt, odpowiednio, glicyny lub kwasu glutaminowego (stad polimeryczny charakter tych modyfikacji). Łańcuch boczny zbudowany z reszt glicyny ma charakter liniowy, natomiast łańcuch boczny składający się z reszt kwasu glutaminowego może (teoretycznie) tworzyć rozgałęzienia. W związku z polimerycznym charakterem glicylacji i glutamylacji, modyfikacje te nazywane są polimodyfikacjami.

Enzymy katalizujące przyłączenie reszt glicyny lub kwasu glutaminowego należą do rodziny białek podobnych do ligazy tyrozynowej tubuliny (TTLL od TTL-like) (JANKE i współaut. 2005, ROGOWSKI i współaut. 2009, WLOGA i współaut. 2009). Większość glicylaz i glutamylaz katalizuje albo przyłączenie pierwszej reszty peptydowego łańcucha bocznego albo jego wydłużanie. Tylko niektóre glicylazy i glutamylazy są zdolne do katalizowania obu tych procesów (JANKE i BULIŃSKI 2011, YU i współaut. 2015, SONG i BRADY 2015, WLOGA i współaut. 2017). Boczne łańcuchy peptydowe zbudowane z reszt glicyny lub kwasu glutaminowego mogą być skracane lub usuwane. Reakcję deglutamylacji katalizują karboksypeptydazy cytozolowe CCP 1-6 (KIMURA i współaut. 2010, ROGOWSKI i współaut. 2010). Enzymy o aktywności deglicylaz nie zostały dotychczas zidentyfikowane.

Ponieważ liczne reszty kwasu glutaminowego w obrębie ogona α-, jak i β-tubuliny są miejscem glicylacji lub glutamylacji, a dodatkowo, zmiany w poziomie jednej z polimodyfikacji mogą pośrednio wpływać na poziom drugiej polimodyfikacji (np. w komórkach tworzących rzęski), badania nad rolą poszczególnych polimodyfikacji tubuliny są utrudnione. Co więcej, zmiany w poziomie polimodyfikacji (zwłaszcza glutamylacji) mogą wpływać na oddziaływania pomiędzy zmodyfikowanymi mikrotubulami a białkami MIP, a efekt tego działania może zależeć od rodzaju dostępnych białek MIP, typu komórki czy struktury mikrotubularnej.

Glicylacja jest modyfikacją typową dla mikrotubuli rzęski i wici (ADOUTTE i współaut. 1985, BRESSAC i współaut. 1995), przy czym w niektórych organizmach: *Trypanosoma* (SCHNEIDER i współaut. 1997), *Euglena* (BRÉ i współaut. 1996) i *C. elegans* (KIMURA i współaut. 2010), nie wykryto ani glicylowanej tubuliny ani glicylaz. Wydaje się, że w niektórych organizmach glicylacja może wpływać na tworzenie i utrzymanie prawidłowej struktury rzęsek (WLOGA i współaut. 2009; BOSCH GRAU i współaut. 2013, 2017; ROCHA i współaut. 2014) oraz na długość rzęsek pierwotnych (GADADHAR i współaut. 2017).

Glutamylacja α - i β -tubuliny jest powszechnie występującą modyfikacją, obecną na mikrotubulach w różnych typach komórek. Szczególnie wysoki poziom glutamylacji wykryto na mikrotubulach w komórkach nerwowych oraz mikrotubulach tworzących szkielet rzęsek, ciałek podstawowych i centrioli (JANKE i BULIŃSKI 2011, YU i współaut. 2015, SONG i BRADY 2015, WLOGA i współaut. 2017). Glutamylowane mikrotubule wchodzą również w skład cytoplazmatycznej sieci mikrotubul i wrzeciona podziałowego (WLOGA i GAERTIG 2010).

Poziom glutamylacji tubuliny reguluje wiele procesów komórkowych. W zarodkach ryb Danio rerio obniżenie poziomu glutamylacji powoduje destabilizacje rzęsek (PA-THAK i współaut. 2007). Samce myszy linii ROSA22, z mutacją białka PG1, podjednostki lokalizacyjnej kompleksu glutamylazy TTLL1 (REGNARD i współaut. 2003, JAN-KE i współaut. 2005) są niepłodne z powodu zmian w ultrastrukturze wici (CAMPBELL i współaut. 2002). Z kolei w aksonemie plemników myszy z mutacją glutamylazy TTLL5 brakuje czwartej pary mikrotubul obwodo-wych (LEE i współaut. 2013). Obniżenie poziomu glutamylacji znacząco spowalnia również ruch wici i rzęsek poprzez wpływ na aktywność motoryczną ramion dyneinowych, co wykazano w badaniach na mutantach Chlamydomonas pozbawionych glutamylazy TTLL9 (KUBO i współaut. 2010), orzęska Tetrahymena z delecją glutamylaz z podrodziny TTLL6 (SURYAVANSHI i współaut. 2010) oraz mysich mutantach TTLL1 (IKEGAMI i współaut. 2010).

W komórkach nerwowych poziom glutamylacji tubuliny w mikrotubulach zmienia się w trakcie dojrzewania komórek (AUDE-BERT i współaut. 1994) i wpływa na oddziaływanie między mikrotubulami i niektórymi białkami MAP (IKEGAMI i współaut. 2007) oraz wydaje się regulować oddziaływania pomiędzy mikrotubulami i białkami motorycznymi. W neuronach myszy ROSA22, charakteryzujących się niskim poziomem glutamylacji a-tubuliny, obserwowano niższy poziom kinezyny KIF1A (ale nie kinezyn KIF3A czy KIF5), w porównaniu do poziomu obserwowanego w komórkach prawidłowych (IKEGA-MI i współaut. 2007). Z drugiej strony, podwyższony poziom glutamylacji mikrotubul zwiększa procesywność i tempo poruszania się kinezyny 2 (O'HAGAN i współaut. 2011, SIRAJUDDIN i współaut. 2014). Poziom glutamylacji tubuliny na mikrotubulach reguluje również aktywność białek tnących mikrotubule (LACROIX i współaut. 2010). Porównanie tempa fragmentacji mikrotubul o różnym poziomie glutamylacji wykazało, że spastyna przejawia największą aktywność w stosunku do mikrotubul modyfikowanych przez przyłączenie łańcuchów bocznych zbudowanych z 8-9 reszt kwasu glutaminowego. Natomiast skracanie lub wydłużanie przyłączonych łańcuchów bocznych stopniowo zmniejsza efektywność fragmentacji mikrotubul przez spastynę (VALENSTEIN i ROLL-MECAK 2016).

PODSUMOWANIE

Poziom modyfikacji potranslacyjnych tubuliny w mikrotubulach wpływa na wiele procesów komórkowych. Pomimo ogromnego postępu, jaki dokonał się na przestrzeni ostatnich lat w identyfikacji enzymów odpowiedzialnych za modyfikacje potranslacyjne tubuliny oraz badaniu funkcji modyfikacji potranslacyjnych mikrotubul, nasza wiedza w tej dziedzinie jest - w najlepszym razie szczątkowa. Dotychczas zidentyfikowano kilkanaście różnych modyfikacji potranslacyjnych tubuliny i nie jest wykluczone, że zostaną odkryte nowe. W większości przypadków nie znane są enzymy modyfikujące i/lub modyfikowane aminokwasy. Nie wiemy również, czy niektóre z wykrytych modyfikacji są specyficzne tylko dla mikrotubul w pewnych typach komórek, czy też są modyfikacjami powszechnymi, zachowanymi w toku ewolucji.

Badając rolę modyfikacji potranslacyjnych napotykamy na szereg trudności, także ze względów technicznych. Prowadzenie badań in vitro nad wpływem wybranej modyfikacji potranslacyjnej na polimer tubulinowy wymaga opracowania metody wydajnego oczyszczenia aktywnego enzymu modyfikującego oraz otrzymania jednolicie i całkowicie zmodyfikowanych mikrotubul. Tubulina oczyszczona z mózgu, najczęściej używana w badaniach modyfikacji tubuliny, jest po pierwsze, mieszanką różnych izotypów tubuliny, a po drugie, jest już zmodyfikowana, co dodatkowo utrudnia wysunięcie jednoznacznych wniosków. Rozwiązaniem jest użycie rekombinowanej tubuliny, przy czym ekspresja i oczyszczenie funkcjonalnej tubuliny również nastręcza wielu problemów,

związanych m.in. z niską wydajnością tej metody (JANKE 2014)

In vivo, pewne enzymy modyfikujące tubulinę, jak np. metylaza i acetylaza czy glicylazy i glutamylazy, mogą modyfikować te same aminokwasy w cząsteczce tubuliny. W danym rejonie komórki enzymy modyfikujące pozostają w stosunku do siebie w pewnej równowadze, a ich poziom w rejonie wybranych struktur mikrotubularnych może być kontrolowany na poziomie ekspresji (zależnie od stadium cyklu komórkowego lub etapu różnicowania komórki) lub przez transport i oddziaływanie z białkami regulatorowymi. W przypadku badań in vitro z użyciem niemodyfikowanych mikrotubul spolimeryzowanych z rekombinowanej tubuliny i oczyszczonego enzymu, przy braku enzymów konkurujących i białek regulatorowych, może dojść do modyfikacji aminokwasów, które w komórce nie są modyfikowane (np. więcej reszt kwasu glutaminowego w ogonie tubuliny mogłoby ulec glutamylacji). Warto też pamiętać, porównując wyniki badań in vitro i in vivo, że poziom modyfikacji może wpływać na oddziaływania pomiędzy mikrotubulami a białkami MIP, które również mogą wpływać na właściwości mikrotubul.

Analizując fenotyp komórek o zmienionym poziomie enzymów odpowiedzialnych za modyfikacje potranslacyjne, trzeba również brać pod uwagę, że tubulina może być tylko jedynym z substratów danego enzymu (jak wykazano w przypadku deacetylaz, glutamylaz, kinaz czy transaminaz). Zatem zmiany obserwowane w fenotypie komórek nadprodukujących enzym modyfikujący tubulinę lub pozbawionych tego enzymu, może być spowodowany zmianami w poziomie modyfikacji nie tylko tubuliny, ale również innych białek. Wydaje się, zatem, że do pełnego poznania roli modyfikacji potranslacyjnych mikrotubul in vivo, niezbędna jest identyfikacja białek, które regulują lokalizację i aktywność enzymów modyfikujących oraz białek rozpoznających kod tubulinowy i oddziałujących ze specyficznie zmodyfikowanymi mikrotubulami, wpływającymi pośrednio na dynamikę polimeru tubulinowego i funkcjonowanie struktur mikrotubularnych (JANKE 2014).

Streszczenie

Zarówno wolna tubulina, jak i tubulina wbudowana w mikrotubule może być modyfikowana potranslacyjnie poprzez przyłączenie różnorodnych grup funkcyjnych. Wśród kilkunastu zidentyfikowanych modyfikacji α - i β -tubuliny, przynajmniej niektóre zmiany potranslacyjne, jak acetylacja, detyrozynacja czy glutamylacja są zachowane w toku ewolucji od pierwotniaków do człowieka. Modyfikacje potranslacyjne tworzą specyficzny wzór na powierzchni mikrotubul, nazwany kodem tubulinowym, który jest rozpoznawany i "interpretowany" przez białka oddziałujące z mikrotubulami. W efekcie modyfikacje po-

translacyjne tubuliny wpływają zarówno bezpośrednio na właściwości mikrotubul, jak i pośrednio, przez białka towarzyszace mikrotubulom. Poziom modyfikacji potranslacyjnych tubuliny na poszczególnych mikrotubulach jest zróżnicowany i zależy od rodzaju tworzonych struktur mikrotubularnych oraz typu komórek. Dodatkowo, poziom modyfikacji potranslacyjnych tubuliny może zmieniać się zależnie od stadium cyklu komórkowego lub stopnia zróżnicowania komórki. Intensywne badania prowadzone w ciągu ostatnich lat zaowocowały odkryciem kluczowych enzymów modyfikujących α- i β-tubulinę oraz częściowo, mechanizmu ich działania. Nadal jednak jesteśmy dalecy od pełnego zrozumienia roli modyfikacji potranslacyjnych mikrotubul w regulacji procesów komórkowych.

LITERATURA

- ABEYWEERA T. P., CHEN X., ROTENBERG S. A., 2009. Phosphorylation of alpha6-tubulin by protein kinase Calpha activates motility of human breast cells. J. Biol. Chem. 284, 17648-17656.
- ADOUTTE A., CLAISSE M., MAUNOURY R., BEISSON J., 1985. Tubulin evolution: ciliate-specific epitopes are conserved in the ciliary tubulin of Metazoa. J. Mol. Evol. 22, 220-229.
- AILLAUD C., BOSC C., PERIS L., BOSSON A., HEE-MERYCK P., VAN DIJK J., LE FRIEC J., BOULAN B., VOSSIER F., SANMAN L. E., SYED S., AMA-RA N,. COUTÉ Y., LAFANECHÈRE L., DENARIER E., DELPHIN C., PELLETER L., HUMBERT S., BOCKO M. ANDERNEY A. DOCOMOUL K. MOL. BÓGYO M., ANDRIEUX A., ROGÓWSKI K., MOU-TIN M. J., 2017. Vasohibins/SVBP are tubulin carboxypeptidases (TCP) that regulate neuron differentiation. Science, doi: 10.1126/science. aao4165.
- AKELLA J. S., WLOGA D., KIM J., STAROSTINA N. G., LYONS-ABBOTT S., MORRISSETTE N. S., DO-UGAN S. T., KIPREOS E. T., GAERTIG J., 2010. Mec-17 is an alpha-tubulin acetyltransferase. Nature 467, 218-222.
- ARCE C. A., RODRIGUEZ J. A., BARRA H. S., CAPU-TO R., 1975. Incorporation of L-tyrosine, L-phe-nylalanine and L-3,4-dihydroxyphenylalanine as single units into rat brain tubulin. Eur. J. Distance 50, 145, 140. Biochem. 59, 145-149. Argarana C. E., Barra H. S., Caputto R., 1978.
- Release of [14C]tyrosine from tubulinyl-[14C]ty-rosine by brain extract. Separation of a carboxypeptidase from tubulin-tyrosine ligase. Mol.
- Audeberg S., Koulakoff A., Berwald-Netter Y., GROS F., DENOULET P., EDDE B.,1994. Deve-lopmental regulation of polyglutamylated al-pha- and beta-tubulin in mouse brain neurons. J. Cell Sci. 107, 2313-2322. Baas P. W., Rao A. N., MATAMOROS A. J., LEO L.,
- BAAS P. W., RAO A. N., MATAMOROS A. J., LEO L., 2016. Stability properties of neuronal microtu-bules. Cytoskeleton 73, 442-460.
 BARNAT M., BENASSY M. N., VINCENSINI L., SOARES S., FASSIER C., PROPST F., ANDRIEUX A., VON BOXBERG Y., NOTHIAS F., 2016. The GSK3--MAP1B pathway controls neurite branching and microtubule dynamics. Mol. Cell. Neuro-sci 72, 9-21 sci. 72, 9-21.
- BEREZNIUK I., LYONS P. J., SIRONI J. J., XIAO H., SETOU M., ANGELETTI R. H., IKEGAMI K., FRIC-KER L. D., 2013. Cytosolic carboxypeptidase 5 RER E. D., 2015. Oglobal curbongpopulation of removes α- and γ-linked glutamates from tubu-lin. J. Biol. Chem. 288, 30445-30453.
 BHEDA A., GULLAPALLI A., CAPLOW M., PAGANO J. S., SHACKELFORD J., 2010. Ubiquitin editing

enzyme UCH L1 and microtubule dynamics:

- Enzyme UCH L1 and microtubule dynamics: Implication in mitosis. Cell Cycle 9, 980-994.
 BOSCH GRAU M., GONZALEZ CURTO G., ROCHA C., MAGIERA M. M., MARQUES SOUSA P., GIORDANO T., SPASSKY N., JANKE C., 2013. Tubulin glycy-lases and glutamylases have distinct functions in stabilization and motility of apprendiced iff. *in stabilization and motility of ependymal cilia.* J. Cell Biol. 202, 441-451.
- Bosch Grau M., Masson C., GADADHAR S., ROCHA
 C., TORT O., MARQUES SOUSA P., VACHER S.,
 BIECHE I., JANKE C., 2017. Alterations in the balance of tubulin glycylation and glutamyla-tion in photometry loads to refined doguna tion in photoreceptors leads to retinal degene-ration. J. Cell Sci. 130, 938-949. BRADY S. T., 1993. Axonal Dynamics and Regene-
- ration. [W:] Neuroregeneration. GORIO A. (red.). Raven Press, New York City, 7-36. BRADY S. T., TYTELL M., LASEK R. J., 1984. Axo-
- nal tubulin and axonal microtubules: biochemical evidence for cold stability. J. Cell Biol. 99, 1716-1724.
- BRAY D., BUNGE M. B., 1981. Serial analysis of microtubules in cultured rat sensory axons. J. Neurocytol. 10, 589-605.
- BRÉ M. H., REDEKER V., QUIBELL M., DARMANA-DEN-DELORME J., BRESSAC C., COSSON J., HUITOREL P., SCHMITTER J. M., ROSSLER J., JOHNSON T., ADOUTTE A., LEVILLIERS N., 1996. Axonemal tubulin polyglycylation probed with two monoclonal antibodies: widespread evolutionary distribution, appearance during spermatozoan maturation and possible function in motility. J. Cell Sci.109, 727-738.
- BRESSAC C., BRÉ M. H., DARMANADEN-DELORME J., LAURENT M., LEVILLIERS N., FLEURY A., 1995. A massive new posttranslational modification occurs on axonemal tubulin at the final step of spermatogenesis in Drosophila. Eur. J. Cell
- of spermatogenesis in Drosophila. Eur. J. Cell Biol. 67, 346-355.
 BURGOYNE R. D., CAMBRAY-DEAKIN M. A., LEWIS S. A., SARKAR S., COWAN N. J., 1988. Differential distribution of beta-tubulin isotypes in cerebel-lum. EMBO J. 7, 2311-2319.
 CAI D., MCEWEN D. P., MARTENS J. R., MEYHOFER E., VERHEY K. J., 2009. Single molecule ima-ging reveals differences in microtubule track selection between Kinesin motors. PLoS Biol.
- selection between Kinesin motors. PLoS Biol. 7, e1000216.
- CAMPBELL P. K., WAYMIRE K. G., HEIER R. L., SHA-RER C., DAY D. E., REIMANN H., JAJE J. M., FRIEDRICH G. A., BURMEISTER M., BARTNESS T. J., RUSSELL L. D., YOUNG L. J., ZIMMER M., JENNE D. E., MACGREGOR G. R., 2002. Mutation of a novel gene results in abnormal development of spermatid flagella, loss of intermale aggression and reduced body fat in mice. Ge-
- netics 162, 307-320 CARON J. M., 1997. Posttranslational modification of tubulin by palmitoylation: I. In vivo and
- of tubulin by paimitogration: 1. In Vibo ana cell-free studies. Mol. Biol. Cell 8, 621-636.
 CAUDRON F., DENARIER E., THIBOUT-QUINTANA J. C., BROCARD J., ANDRIEUX A., FOUREST-LIEUVIN A., 2010. Mutation of Ser172 in yeast β tubulin induces defects in microtubule dynamics and cell division PLoS One 5 e12552
- bulin induces defects in microtubule dynamics and cell division. PLoS One 5, e13553. CHU C. W., HOU F., ZHANG J., PHU L., LOKTEV A. V., KIRKPATRICK D. S., JACKSON P. K., ZHAO Y., ZOU H., 2011. A novel acetylation of β-tubulin by San modulates microtubule polymerization via down-regulating tubulin incorporation. Mol. Biol. Cell 22, 448-456.
- CICCHILLITTI L., PENCI R., DI MICHELE M., FILIPPET-TI F., ROTILIO D., DONATI M. B., SCAMBIA G., FERLINI C., 2008. Proteomic characterization of cytoskeletal and mitochondrial class III beta--tubulin. Mol. Cancer Ther. 7, 2070-2079.

- COOMBES C., YAMAMOTO A., MCCLELLAN M., REID T. A., PLOOSTER M., LUXTON G. W., ALPER J., HOWARD J., GARDNER M. K., 2016. Mechanism of microtubule lumen entry for the a-tubulin acetyltransferase enzyme aTAT1. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113, E7176-E7184. CUEVA J. G., HSIN J., HUANG K. C., GOODMAN M. B., 2012. Posttranslational acetylation of
- a-tubulin constrains protofilament number in native microtubules. Curr Biol. 22, 1066-1074.
- De S., TSIMOUNIS A., CHEN X., ROTENBERG S.A., 2014. Phosphorylation of a-tubulin by protein kinase C stimulates microtubule dynamics in human breast cells. Cytoskeleton 71, 257-272.
- DENT E. W., 2017. Of microtubules and memory: implications for microtubule dynamics in den-
- drites and spines. Mol. Biol. Cell 28, 1-8. DESAI A., MITCHISON T. J., 1997. Microtubule po-lymerization dynamics. Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 13, 83-117.
- DOMPIERRE J. P., GODIN J. D., CHARRIN B. C., CORDELIÈRES F. P., KING S. J., HUMBERT S., SAUDOU F., 2007. *Histone deacetylase 6 in*hibition compensates for the transport deficit
- in Huntington's disease by increasing tubulin acetylation. J. Neurosci. 27, 3571-3583. EDDE B., ROSSIER J., LE CAER J. P., DESBRUYERES E., GROS F.,DENOULET P., 1990. Posttransla-tional glutamylation of alpha-tubulin. Science 247, 83-85.
- EIPPER B. A., 1972. Rat brain microtubule protein: purification and determination of covalently bo-
- Paragreenter and action of countering bo-und phosphate and carbohydrate. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69, 2283-2287.
 ERCK C., PERIS L., ANDRIEUX A., MEISSIREL C., GRUBER A.D., VERNET M., SCHWEITZER A., SA-OUDI Y., POINTU H., BOSC C., SALIN P. A., JOB D. WEHLAND, L. 2005. A sticl role of the discussion D., WEHLAND J., 2005. A vital role of tubulin-tyrosine-ligase for neuronal organization. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 7853-7858.
- ERSFELD K., WEHLAND J., PLESSMANN U., DODE-MONT H., GERKE V., WEBER K., 1993. Characterization of the tubulin-tyrosine ligase. J. Cell Biol. 120, 725-732.
- FENG J. F., READSON M., YADAV S. P., IM M. J., 1999. Calreticulin downregulates both GTP binding and transglutaminase activities of transglutaminase II. Biochemistry 38, 10743-1074**9**.
- FOUREST-LIEUVIN A., PERIS L., GACHE V., GARCIA-SAEZ I., JUILLAN-BINARD C., LANTEZ V., JOB D., 2006. Microtubule regulation in mitosis: tu-
- b., 2000. Introdubile regulation in matosis. tubulin phosphorylation by the cyclin-dependent kinase Cdk1. Mol. Biol. Cell 17, 1041-1050.
 FUKUSHIGE T., SIDDIQUI Z. K., CHOU M., CULOTTI J. G., GOGONEA C. B., SIDDIQUI S. S., HAME-LIN M., 1999. MEC-12, an alpha-tubulin required for touch constitution in C. cleagang, J. Coll ired for touch sensitivity in C. elegans. J. Cell Sci. 112, 395-403.
- Sci. 112, 395-403.
 GADADHAR S., DADI H., BODAKUNTLA S., SCHNIT-ZLER A., BIÈCHE I., RUSCONI F., JANKE C., 2017. Tubulin glycylation controls primary cilia length. J. Cell Biol. 216, 2701-2713.
 GIUSTINIANI J., DAIRE V., CANTALOUBE I., DURAND G., POÜS C., PERDIZ D., BAILLET A., 2009. Tubulin acetylation favors Hsp90 recruitment to microtubules and stimulates the signaling function of the Hsp90 clients Akt/PKB and function of the Hsp90 clients Akt/PKB and p53. Cell Signal. 21, 529-539.
- GUO S., PALANSKI B. A., KLOECK C., KHOSLA C., CUI B., 2017. Intracellular TG2 activity incre-ases microtubule stability but is not sufficient to prompt neurite growth. Neurosci. Bull. 33, 103-106.

- HALLAK M. E., RODRIGUEZ J. A., BARRA H. S., CA-PUTTO R., 1977. Release of tyrosine from tyro-sinated tubulin. Some common factors that affect this process and the assembly of tubulin. FEBS Left. 73, 147-150.
- HASEGAWA G., SUWA M., ICHIKAWA Y., OHTSUKA T., KUMAGAI S., KIKUCHI M., 2003. A novel function of tissue-type transglutaminase: protein disulphide isomerase. Biochem. J. 373, 793-803.
- HINO M., KIJIMA-SUDA I., NAGAI Y., HOSOYA H., 2003. Glycosylation of the alpha and beta tubulin by sialyloligosaccharides. Zool. Sci. 20, 709-715.
- HOWES S. C., ALUSHIN G. M., SHIDA T., NACHU-RY M. V., NOGALES E., 2014. Effects of tubulin acetylation and tubulin acetyltransferase binding on microtubule structure. Mol. Biol. Cell 25, 257-266.
- IKEGAMI K., HEIER R.L., TARUISHI M., TAKAGI H., MUKAI M., SHIMMA S., TAIRA S., HATANAKA K., MORONE N., YAO I., CAMPBELL P. K., YUASA S., JANKE C., MACGREGOR G. R., SETOU M., 2007. Loss of alpha-tubulin polyglutamylation in POSA22 mice is associated with abnormal in ROSA22 mice is associated with abnormal targeting of KIF1A and modulated synaptic function. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 3213-3218.
- Ikegami K., Sato S., Nakamura K., Ostrowski L. E., SETOU M., 2010. Tubulin polyglutamylation is essential for airway ciliary function through the regulation of beating asymmetry. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 10490-10495.
- JANKE C., 2014. The tubulin code: molecular components, readout mechanisms, and functions. J. Cell Biol. 206, 461-472.
- JANKE C., BULINSKI J. C., 2011. Post-translational regulation of the microtubule cytoskeleton: me-JANKE C., ROGOWSKI K., WŁOGA D., REGNARD C., KAJAVA A.V., STRUB J.M., TEMURAK N., VAN
- DIJK J., BOUCHER D., VAN DORSSELAER A., SURYAVANSHI S., GAERTIG J., EDDE B., 2005. Tubulin polyglutamylase enzymes are members of the TTL domain protein family. Science 308, 1758-1762.
 KAUL N., SOPPINA V., VERHEY K. J., 2014. Effects of α-tubulin K40 acetylation and detyrosina-
- b) d-tabular K+O acetylation and acetylosina-tion on kinesin-1 motility in a purified system. Biophys J. 106, 2636-2643.
 KIMURA Y., KURABE N., IKEGAMI K., TSUTSUMI K., KONISHI Y., KAPLAN O. I., KUNITOMO H., IINO Y., BLACQUE O. E., SETOU M., 2010. Identi-fication of tubulin deglutamylase among Ca-concluded dimensional momentic and concerning the set of tubuling deglutamylase. enorhabditis elegans and mammalian cytosolic carboxypeptidases (CCPs). J. Biol. Chem. 285, 22936-22941.
- KONISHI Y., SETOU M., 2009. Tubulin tyrosina-tion navigates the kinesin-1 motor domain to
- axons. Nat. Neurosci. 12, 559-567. KUBO T., YANAGISAWA H. A., YAGI T., HIRONO M., KAMIYA R., 2010. Tubulin polyglutamylation regulates axonemal motility by modulating ac-tivities of inner-arm dyneins. Curr. Biol. 20, 441-445.
- LACROIX B., VAN DIJK J., GOLD N.D., GUIZETTI J., ALDRIAN-HERRADA G., ROGOWSKI K., GERLICH D.W., JANKE C., 2010. Tubulin polyglutamy-lation stimulates spastin-mediated microtubule severing. J. Cell Biol. 189, 945-954.
- L'HERNAULT S. W., ROSENBAUM J. L., 1985. Chlamydomonas alpha-tubulin is posttranslational-ly modified by acetylation on the epsilon-amino group of a lysine. Biochemistry 24, 473-478.

LAFANECHERE L., JOB D., 2000. The third tubulin

- pool. Neurochem. Res. 25, 11-8.
 LEDIZET M., PIPERNO G., 1987. Identification of an acetylation site of Chlamydomonas alpha-tu-bulin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 5720-5724.
- LEE G. S., HE Y., DOUGHERTY E. J., JIMENEZ-MO-VILLA M., AVELLA M., GRULLON S., SIMENEZ-MO-VILLA M., AVELLA M., GRULLON S., SHARLIN D. S., GUO C., BLACKFORD J. A. JR, AWASTHI S., ZHANG Z., ARMSTRONG S. P., LONDON E. C., CHEN W., DEAN J., SIMONS S. S. JR., 2013. Disruption of Ttll5/stamp gene (tubulin tyrosi-ne ligase-like protein 5/SRC-1 and TIF2-asso-ciated medulatory vertain ganal in medu pice ciated modulatory protein gene) in male mice causes sperm malformation and infertility. J. Biol. Chem. 288, 15167-15180.
- LESORT M., TUCHOLSKI J., MILLER M. L., JOHNSON G. V., 2000. Tissue transglutaminase: a possible role in neurodegenerative diseases. Prog. Neurobiol. 61, 439-463. Ley S. C., VERBI W., PAPPIN D. J., DRUKER B.,
- DAVIES A. A., CRUMPTON M. J., 1994. Tyrosine
- phosphorylation of alpha tubulin in human T lymphocytes. Eur. J. Immunol. 24, 99-106.
 LI L., YANG X. J., 2015. Tubulin acetylation: re-sponsible enzymes, biological functions and human diseases. Cell Mol. Life Sci. 72, 4237-4055 4255.
- LIM A. C., TIU S. Y., LI Q., QI R. Z., 2004. Direct regulation of microtubule dynamics by protein kinase CK2. J. Biol. Chem. 279, 4433-4439.
- LIU N., XIONG Y., REN Y., ZHANG L., HE X., WANG X., LIU M., LI D., SHUI W., ZHOU J., 2015. Proteomic profiling and functional characterization of multiple post-translational modifications of tubulin. J. Proteom. Res. 14, 3292-3304.
- LUDUEÑA R. F., 1993. Are tubulin isotypes func-tionally significant. Mol. Biol. Cell 4, 445-457.
 LYLE K., KUMAR P., WITTMANN T., 2009a. Snap-Shot: microtubule regulators I. Cell 136, 380-280 cl 380.e1.
- LYLE K., KUMAR P., WITTMANN T., 2009b. Snap-Shot: microtubule regulators II. Cell 136, 566-566.e1.
- MACCIONI R. B., SEEDS N. W., 1986. Transgluta-minase and neuronal differentiation. Mol. Cell. Biochem. 69, 161-168.
- MARCOS S., MOREAU J., BACKER S., JOB D., AN-DRIEUX A., BLOCH-GALLEGO E., 2009. Tubulin tyrosination is required for the proper orga-nization and pathfinding of the growth cone.
- PLoS One 4, e5405. MEHTA K., FOK J. Y., MANGALA L. S., 2006. Tis-sue transglutaminase: from biological glue to
- cell survival cues. Front Biosci. 11, 173-185. MISAWA T., TAKAHAMA, M., KOZAKI T., LEE H., ZOU J., SAITOH T., AKIRA S., 2013. Microtubule-driven spatial arrangement of mitochondria pro-motes activation of the NLRP3 inflammasome. Nat. Immunol. 14, 454-460. HRA S., SALEH A., ESPINO P. S., DAVIE J.R.,
- MISHRA S., SALEH A., MURPHY L. J., 2006. Phosphorylation of hi-stones by tissue transglutaminase. J. Biol. Chem. 281, 5532-5538.
- MITSOPOULOS C., ZIHNI C., GARG R., RIDLEY A. J., MORRIS J. D., 2003. The prostate-derived ste-rile 20-like kinase (PSK) regulates microtuble organization and stability. J. Biol. Chem. 278, 18085-18091.
- NIELSEN M. G., TURNER F. R., HUTCHENS J. A., RAFF E. C., 2001. Axoneme-specific beta-tubulin specialization: a conserved C-terminal motif specifies the central pair. Curr. Biol. 11, 529-533.
- NIEUWENHUIS J., ADAMOPOULOS A., BLEIJERVELD O. B., MAZOUZI A., STICKEL E., CELIE P., ALTELA-

AR M., KNIPSCHEER P., PERRAKIS A., BLOMEN V. A., BRUMMELKAMP T. R., 2017. Vasohibins encode tubulin detyrosinating activity. Science, doi: 10.1126/science.aao5676.

- NOGALES E., WHITTAKER M., MILLIGAN R. A., DO-WNING K. H., 1999. High-resolution model of
- WINIG K. H., 1999. High-resolution model of the microtubule. Cell 96, 79-88.
 O'HAGAN R., PIASECKI B. P., SILVA M., PHIRKE P., NGUYEN K. C., HALL D. H., SWOBODA P., BARR M. M., 2011. The tubulin deglutamyla-se CCPP-1 regulates the function and stability of sensory cilia in C. elegans. Curr. Biol. 21, 1685-1694.
- ORI-MCKENNEY K. M., MCKENNEY R. J., HUANG H. H., LI T., MELTZER S., JAN L. Y., VALE R. D., WIITA A. P., JAN Y. N., 2016. Phosphorylation of β -tubulin by the down syndrome kinase, minibrain/DYRK1a, regulates microtubule dynamics and dendrite morphogenesis. Neuron 90, 551-563.
- OZOLS J., CARON J. M., 1997. Posttranslational modification of tubulin by palmitoylation: II. Identification of sites of palmitoylation. Mol. Biol. Cell 8, 637-45.
- BIOL CEIL 8, 057-45.
 PARK I. Y., POWELL R. T., TRIPATHI D. N., DERE R., HO T. H., BLASIUS T. L., CHIANG Y. C., DAVIS I. J., FAHEY C. C., HACKER K. E., VERHEY K. J., BEDFORD M. T., JONASCH E., RATHMELL W. K., WALKER C. L., 2016. Dual Chromatin and Cutoskelatal Remodeling by SETD2 Cell 166 Cytoskeletal Remodeling by SETD2. Cell. 166, 950-962.
- PATHAK N., OBARA T., MANGOS S., LIU Y., DRUM-MOND I. A., 2007. The zebrafish fleer gene encodes an essential regulator of cilia tubulin polyglutamylation. Mol. Biol. Cell 18, 4353-4364.
- PERDIZ D., MACKEH R., POÜS C., BAILLET A., 2011. The ins and outs of tubulin acetylation: more than just a post-translational modification? Cell Signal. 23, 763-771. IS L., THERY M., FAURÉ J., SAOUDI Y.,
- PERIS L., LAFANECHÈRE L., CHILTON J. K., GORDON-WE-EKS P., GALJART N., BORNENS M., WORDEMAN L., WEHLAND J., ANDRIEUX A., JOB D., 2006. L., WEHLAND J., ANDRIEOX A., JOB D., 2006. Tubulin tyrosination is a major factor affecting the recruitment of CAP-Gly proteins at micro-tubule plus ends. J. Cell Biol. 174, 839-849.
 PERIS L., WAGENBACH M., LAFANECHÈRE L., BRO-CARD J., MOORE A.T., KOZIELSKI F., JOB D., WORDEMAN L., ANDRIEUX A., 2009. Motor-de-pondent microtubule disconstrubule disconstrubule disconstrubule.
- pendent microtubule disassembly driven by tubulin tyrosination. J. Cell Biol. 185, 1159-1166.
- PIRAS R., PIRAS M. M., 1975. Changes in microtubule phosphorylation during cell cycle of HeLa cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 1161-1165.
- PIROLI G. G., MANUEL A. M., WALLA M. D., JEPSON M. J., BROCK J. W., RAJESH M. P., TANIS R. M., COTHAM W. E., FRIZZELL N., 2014. Identi-
- fication of protein succination as a novel modi-fication of tubulin. Biochem. J. 462, 231-245. PORTRAN D., SCHAEDEL L., XU Z., THÉRY M., NA-CHURY M. V., 2017. Tubulin acetylation pro-tional lined minimut bulka acetylation protects long-lived microtubules against mechani-cal ageing. Nat. Cell Biol. 19, 391-398.
- PRESTON S. F., DEANIN G. G., HANSON R. K., GOR-DON M. W., 1979. The phylogenetic distribu-tion of tubulin: tyrosine ligase. J. Mol. Evol. 13, 233-244.
- PROTA A. E., MAGIERA M. M., KULJPERS M., BARG-STEN K., FREY D., WIESER M., JAUSSI R., HO-OGENRAAD C. C., KAMMERER R. A., JANKE C., STEINMETZ M. O., 2013. Structural basis of tubulin tyrosination by tubulin tyrosine ligase. J. Cell Biol. 200, 259-270.

- REDEKER V., LEVILLIERS N., SCHMITTER J. M., LE CAER J. P., ROSSIER J., ADOUTTE A. BRE M. H., 1994. Polyglycylation of tubulin: a posttranslational modification in axonemal microtu-
- bules. Science 266, 1688-1691. REED N. A., CAI D., BLASIUS T. L., JIH G. T., MEYHOFER E., GAERTIG J., VERHEY K. J., 2006. Microtubule acetylation promotes kine-sin-1 binding and transport. Curr. Biol. 16, 2166-2172.
- REGNARD C., FESQUET D., JANKE C., BOUCHER D., DESBRUYERES E., KOULAKOFF A., INSINA C., TRAVO P., EDDE B., 2003. Characterization of PGs1, a subunit of a protein complex co-purifying with tubulin polyglutamylase. J. Cell Sci. 116, 4181-4190.
- ROCHA C., PAPON L., CACHEUX W., MARQUES SO-USA P., LASCANO V., TORT O., GIORDANO T., VACHER S., LEMMERS B., MARIANI P., MESEURE D., MEDEMA J. P., BIÈCHE I., HAHNE M., JAN-KE C., 2014. Tubulin glycylases are required for primary cilia, control of cell proliferation and tumor development in colon. EMBO J. 33, 2247-2260.
- ROGOWSKI K., JUGE F., VAN DIJK J., WLOGA D., STRUB J. M., LEVILLIERS N., THOMAS D., BRÉ M. H., VAN DORSSELAER A., GAERTIG J., JANKE C., 2009. Evolutionary divergence of enzymatic mechanisms for posttranslational polyglycy-lation. Cell 137, 1076-1087. Rogowski K., VAN DIJK J., MAGIERA M. M., BOSC C., DELOULME J. C., BOSSON A., PERIS L.,
- GOLD N. D., LACROIX B., BOSCH GRAU M., BEC N., LARROQUE C., DESAGHER S., HOLZER M., ANDRIEUX A., MOUTIN M. J., JANKE C., 2010. A family of protein-deglutamylating enzymes associated with neurodegeneration. Cell 143, 564-578.
- ROSAS-ACOSTA G., RUSSELL W. K., DEYRIEUX A., RUSSELL D. H., WILSON V. G., 2005. A uni-versal strategy for proteomic studies of SUMO and other ubiquitin-like modifiers. Mol. Cell. Proteomics. 4, 56-72.
- SADOUL K., KHOCHBIN S., 2016. The growing landscape of tubulin acetylation: lysine 40 and many more. Biochem J. 473, 1859-1868.
- SCHAAP I. A., CARRASCO C., DE PABLO P. J., MAC-KINTOSH F.C., SCHMIDT C. F., 2006. Elastic re-sponse, buckling, and instability of microtubu-les under radial indentation. Biophys. J. 91, 1501-1521 1521-1531.
- SCHNEIDER A., PLESSMANN U., WEBER K., 1997. Subpellicular and flagellar microtubules of Trypanosoma brucei are extensively glutamylated.
- J. Cell Sci. 110, 431-437. SHIDA T., CUEVA J. G., XU Z., GOODMAN M. B., NACHURY M. V., 2010. The major alpha-tubulin K40 acetyltransferase alphaTAT1 promotes rapid ciliogenesis and efficient mechanosensa-tion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 21517-21522.
- SIRAJUDDIN M., RICE L.M., VALE RD., 2014. Regulation of microtubule motors by tubulin isoty-pes and post-translational modifications. Nat.
- Cell Biol.16, 335-344. Song Y., BRADY S. T., 2015. Post-translational modifications of tubulin: pathways to functio-nal diversity of microtubules. Trends Cell Biol. 25, 125-36.
- 25, 125-36. SONG Y., KIRKPATRICK L. L., SCHILLING A. B., HEL-SETH D. L., CHABOT N., KEILLOR J. W., JOHN-SON G. V., BRADY S. T., 2013. Transglutami-nase and polyamination of tubulin: posttran-slational modification for stabilizing axonal mi-crotubules. Neuron 78, 109-123.

- SOPPINA V., HERBSTMAN J. F., SKINIOTIS G., VERHEY K. J., 2012. Luminal localization of a-tubulin K40 acetylation by cryo-EM analysis of fab-la-
- beled microtubules. PLoS One 7, e48204. STRAHL B. D., ALLIS C. D., 2000. The language of covalent histone modifications. Nature 403, 41-45.
- SUDO H., BAAS P. W., 2010. Acetylation of microtubules influences their sensitivity to severing by katanin in neurons and fibroblasts. J.
- Neurosci. 30, 7215-7226.
 SURYAVANSHI S., EDDÉ B., FOX L.A., GUERRERO S., HARD R., HENNESSEY T., KABI A., MALISON D., PENNOCK D., SALE W.S., WLOGA D., GAERTIG J., 2010. Tubulin glutamylation regulates cilia-
- S., 2010. Tubulit glutumgiaton regulates clut-ry motility by altering inner dynein arm activi-ty. Curr. Biol. 20, 435-440.
 SZYK A., DEACONESCU A. M., PISZCZEK G., ROLL--MECAK A., 2011. Tubulin tyrosine ligase structure reveals adaptation of an ancient fold to hind and modify tubulin Nat Struct Mol to bind and modify tubulin. Nat. Struct. Mol. Biol. 18, 1250-1258.
- SZYK A., PISZCZEK G., ROLL-MECAK A., 2013. Tu-bulin tyrosine ligase and stathmin compete for tubulin binding in vitro. J. Mol. Biol. 425, 2412-2414.
- SZYK A., DEACONESCU A. M., SPECTOR J., GOOD-MAN B., VALENSTEIN M. L., ZIOLKOWSKA N. E., KORMENDI V., GRIGORIEFF N., ROLL-MECAK A., 2014. Molecular basis for age-dependent microtubule acetylation by tubulin acetyltransfe-
- rase. Cell 157, 1405-1415. rase. Cell 157, 1405-1415. rt O., TANCO S., ROCHA C., BIÈCHE I., SEIXAS C., BOSC C., ANDRIEUX A., MOUTIN M. J., AVI-LÉS F. X., LORENZO J., JANKE C., 2014. The cytosolic carboxypeptidases CCP2 and CCP3 orthogo poottranslational removal of acidic TORT O., catalyze posttranslational removal of acidic
- amino acids. Mol. Biol. Cell 25, 3017-3027. VALENSTEIN M. L., ROLL-MECAK A., 2016. graded control of microtubule severing by tubulin glu-tamylation. Cell 164, 911-921.
- VERHEY K. J., GAERTIG J., 2007. The tubulin code.
- VERHEY R. J., GREKING J., 2007. The tubality court. Cell Cycle 6, 2152-2160.
 WALTER W. J., BERÁNEK V., FISCHERMEIER E., DIEZ S., 2012. Tubulin acetylation alone does not affect kinesin-1 velocity and run length in vi-tro. PLoS One 7, e42218.
- WANDOSELL F., SERRANO L., AVILA J., 1987. Pho-sphorylation of alpha-tubulin carboxyl-terminal tyrosine prevents its incorporation into microtu-bules. J. Biol. Chem. 262, 8268-8273. WLOGA D., GAERTIG J., 2010. Post-translational
- modifications of microtubules. J. Cell Sci. 123, 3447-3455.
- WLOGA D., ROGOWSKI K., BRÉ M. H., LEVILLIERS N., VAN DIJK J., JANKE C., EDDE B., JERKA-DZIADOSZ M., GAERTIG J., 2008. Glutamylation on alpha-tubulin is not essential but af-fects the assembly and functions of the subset of microtubules in Tetrahymena. Eukaryotic Cell 7, 1362-1372 WLOGA D., WEBSTER D., ROGOWSKI K., BRÉ M.-H.,
- Levilliers N., Jerka-Dziadosz M., Janke C., Dougan S., Gaertig J., 2009. TTLL3 is a tubulin glycine ligase that regulates the assem-
- butin giycine ligase that regulates the assembly of cilia. Develop. Cell 6, 867-876.
 WLOGA D., JOACHIMIAK E., LOUKA P., GAERTIG J., 2017. Posttranslational modifications of tubulin and cilia. Cold Spring Harb Perspect Biol. 9, doi: 10.1101/cshperspect.a028159.
 WONG C. C., XU T., RAI R., BAILEY A. O., YATES J. R., 3RD, WOLF Y.I., ZEBROSKI H., KASHINA A., 2007. Global analysis of posttranslational protein arginylation. PLOS Biol 5, e258.
 XIAO H., EL BISSATI K.. VERDIER-PINARD P. BURD
- XIAO H., EL BISSATI K., VERDIER-PINARD P., BURD B., ZHANG H., KIM K., FISER A., ANGELETTI R.

H., WEISS L. M., 2010. Post-translational modifications to Toxoplasma gondii alpha- and beta-tubulins include novel C-terminal methylation. J. Proteome Res. 9, 359-372.

- XU Z., SCHAEDEL L., PORTRAN D., AGUILAR A., GA-ILLARD J., MARINKOVICH M. P., THÉRY M., NA-CHURY M. V., 2017. Microtubules acquire resistance from mechanical breakage through intralumenal acetylation. Science 356, 328-332.
- YU I., GARNHAM C. P., ROLL-MECAK A., 2015 Writing and reading the tubulin code. J. Biol. Chem. 290, 17163-17172.
 ZAMBITO A. M., WOLFF J., 1997. Palmitoylation of
- ZAMBITO A. M., WOLFF J., 1997. Palmitoylation of tubulin. Biochem. Biophys. Res. Comm. 239, 650-654.

KOSMOS Vol. 67, 1, 95-107, 2018

BEATA KLISZCZ¹, ANNA OSINKA², EWA WACŁAWEK², ANDRZEJ KASPRZAK¹, DOROTA WŁOGA²

¹Laboratory of Motor Proteins, Department of Biochemistry, ²Laboratory of Cytoskeleton and Cilia Biology, Department of Cell Biology, Nencki Institute of Experimental Biology PAS, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw, E-mail: d.wloga@nencki.gov.pl; a.kasprzak@nencki.gov.pl

TUBULIN POSTTRANSLATIONAL MODIFICATIONS

Summary

Both, free tubulin and tubulin incorporated into microtubules can be extensively posttranslationally modified. Among numerous identified modifications of α - and β -tubulin, at least some modifications such as acetylation, detyrosination or glutamylation are highly evolutionarily conserved from protists to man. The posttranslational modifications of tubulin form a specific pattern on the microtubule surface, called a tubulin code, that is recognized and interpreted by microtubule interacting proteins. Thus, tubulin posttranslational modifications can affect the microtubule properties, both directly and indirectly, by regulating the interactions with microtubule associated proteins. The level of the tubulin posttranslational modifications vary on different types of microtubules and depends upon the type of the microtubular structures and the cell type. Additionally, the levels of tubulin modifications can change during the cell cycle and cell differentiation. The extensive studies carried out during the last years resulted in a discovery of some of the key enzymes that modify α - and β -tubulin as well as partial understanding of the mechanisms of their action. However, despite all the efforts we are still far from the full understanding of the significance of the microtubule posttranslational modifications in the regulation of cellular processes.

Key words: acetylation, detyrosination, polyamination, glutamylation, glycylation