



**ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ  
ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ  
БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ**



автор фото: Петр Шаров

**БЕЛОКТАРДЫҢ  
ПОСТТРАНСЛЯЦИЯЛЫҚ  
МОДИФИКАЦИЯЛАРЫ.**

**Химия ғылымдары докторы,  
профессор Шоинбекова С.А.**

***Пост-трансляциялық модификация*** – ақуыздың рибосомада синтезделгеннен кейінгі ковалентті химиялық модификациясы. Көптеген белоктар үшін ***трансляциядан кейінгі модификация*** ген экспрессия процесінің бөлігі болып табылады және биосинтездің соңғы сатысы болып есептеледі.

Альтернативті сплайсингпен қатар трансляциядан кейінгі модификациялар жасушадағы белоктардың әртүрлілігін қамтамасыз етеді.

Қазір белоктардың посттрансляциялық модификациясының 200 астам түрі белгілі.

Белоктардың басым көпшілігі модификациядан өтеді, сонымен қатар бір белок бірнеше түрлі модификацияларға ұшырауы мүмкін.

*Пост-трансляциялық модификациялар* белоктарға әртүрлі әсер етеді: олардың жасушадағы өмір сүру ұзақтығын, ферментативті белсенділігін және басқа белоктармен әрекеттесуін реттейді.

Кейбір жағдайларда трансляциядан кейінгі модификациялар белоктың жетілуінің міндетті қадамы болып табылады, әйтпесе ол функционалдық белсенді емес болып шығады. Мысалы, инсулиннің және кейбір басқа гормондардың жетілуі кезінде полипептидтік тізбектің шектеулі протеолизі қажет, ал плазмалық мембрана ақуыздарының жетілуі кезінде гликозилдену қажет.

Пост-трансляциялық модификациялар кең таралуы немесе сирек болуы мүмкін.

Сонымен, *гликозилдену* - ең көп тараған модификациялардың бірі болып табылады: адам белоктарының жартысына жуығы гликозилденген, ал адам гендерінің 1-2% гликозилденумен байланысты белоктарды кодтайды деп есептеледі.

Сирек модификацияларға - *тубулиннің тирозинизациясы/детирозинизациясы* және *полиглицилденуі* жатады.

Организмнің қалыпты жұмыс істеуі үшін посттрансляциялық модификациялардың айрықша маңыздылығы бар. Ол посттрансляциялық белокты модификациялау жүйесінің бұзылуына негізделген аурулардың болуымен расталады (муковисцидоз, Альцгеймер ауруы, қатерлі ісіктің әртүрлі түрлері).

Бүгінгі күні трансляциядан кейінгі модификацияны зерттеу үшін масс-спектрометрия және шығыс блотинг әдістері қолданылады.

# Модификация түрлері

*Негізгі тізбектің модификациясы (пептидтік байланыстың үзілуімен қоса):*

- *N-басының метионин қалдығын үзу,*
- *Шектеулі протеолиз.*

*Химиялық топтардың қосылуы:*

- *N-ацилдеу,*
- *N-аргинилдеу,*
- *C-амидтену.*

*Мембранада локализдену үшін гидрофобтық топтардың қосылуы:*

- *N-миристоилдеу,*
- *гликозилфосфатидинозитолдың қосылуы.*

## ***Бүйірлік топтардың модификациялары:***

### ***Химиялық топтардың қосылуы немесе бөлінуі:***

- гликозилдеу
  - N-гликозилдеу,
  - O-гликозилдеу,
- гидроксилдеу,
- ацетилдеу,
- метилдеу,
- $\gamma$ -карбоксилдеу,
- O-сульфирлеу,
- фосфорлану,
- йодтау,
- тотығу,
- гликирлеу,
- Басқа аминқышқылдармен коваленттік байланыстар түзу (мысалы, дисульфидтік байланыс, т.б.),
- деиминирлеу,
- карбомоиллеу,
- дезамидтау.

Мембранада локализациялану үшін гидрофобты топтардың қосылуы:

- пренилдеу — изопреноид қалдықтарының (фарнезил мен геранилгеранил) қосылуы;
- S-пальмитирлеу.

Басқа белок пен пептидтердің қосылуы:

- Убиквитинирлеу;
- сумоилирлену — SUMO белоктардың қосылуы (ағылш. *SUMO protein*).

## ***Белоктардың посттрансляциялық модификациясы***

(ПТМ) – ол – функционалды топтардың ***фосфорлану*** (Vener et al., 2001; Ptacek J., et al., 2005; Wagner et al., 2006), ***гликозилдеу*** (Weerapana., Imperiali, 2006; Goto, 2007; Lommel, Strahl, 2009), ***ацилдеу, убиквитиндеу*** (Hannich et al., 2005; Zhou et al., 2005; Grillari et al., 2010; Liokatis et al., 2010) нәтижесінде қосылуы немесе бөлінуі.

Осындай модификациялар белок құрылысын өзгертеді, олардың активтілігін, тұрақтылығын, орналасуын және өзге белоктармен және басқа қосылыстармен әрекеттесуін қамтамасыз етеді.

ПТМ белоктардың қызметтік мүмкіншілігін арттырып, клеткалық процестерді реттейді (Seo, Lee, 2004).



ПТМ туралы мәлімет осы уақытқа дейін аз болатын, оны зерттеу үлкен қиындық туғызды.

Заманауи зерттеу технологиялардың дамуы ПТМ жаңа деңгейге шығарып (Mann, Jensen, 2003), қазіргі күнде 300-ден астам түрлі белок модификациясы белгілі (Jensen, 2004).

## ***Посттрансляциялық модификацияны зерттеу үшін қолданылатын әдістер:***

1. 2DE –әдісі - Анализдің алдында аффиндік хроматография жүргізіледі, үлгі қажетті белоктармен толықтырылады, *гельдің арнайы өңделуі модификацияланған белоктарды идентификациялайды* (Patton, 2002).
2. 2DE-ге альтернативті жол - *MuDPIT* (аффиндік хроматография *үлгіден модификацияланбаған пептидтерді бөліп алады* (Jensen, 2004).
3. Белоктардың идентификациясы.
4. Белоктар масс-спектрометрияның түрлі варианттарымен: MALDI-TOF-МС; ESI-МС; МС/МС (Jensen, 2004; Wiesner et al., 2008) анықталады.
5. Белок массалары модификацияланған аминқышқылдың массасына не азаяды, не үлкейеді. Бірақ, тәжірибеде спектрограммада шыңдары бүркеледі және анық ПТМ орны нақты анықталмайды.

# Белоктардың фосфорлануы

Фосфорлану әдетте *серин, треонин, тирозиннің* гидроксил топтарына фосфаттық топтарының байланысуымен жүреді, оны *серин-треониндік немесе тирозиндік протеинкиназалар* катализдейді.

Фосфат топтарының бөлінуін *протеинфосфатазалар* катализдейді.

Фосфорлану – аса маңызды және жақсы зерттелген модификация, ол сигналинкте және клеткалық процесстердің реттелуінде ерекше роль атқарады.

Ұқсас модификацияға көптеген рецепторлар, ферменттер, транскрипция мен трансляцияның реттегіш белоктары ұшырайды (Cohen, 2000).

**Фосфорлану** — фосфор қышқылының қалдығының донордан субстратқа тасымалдануы. Нәтижесінде эфирлер түзіледі:



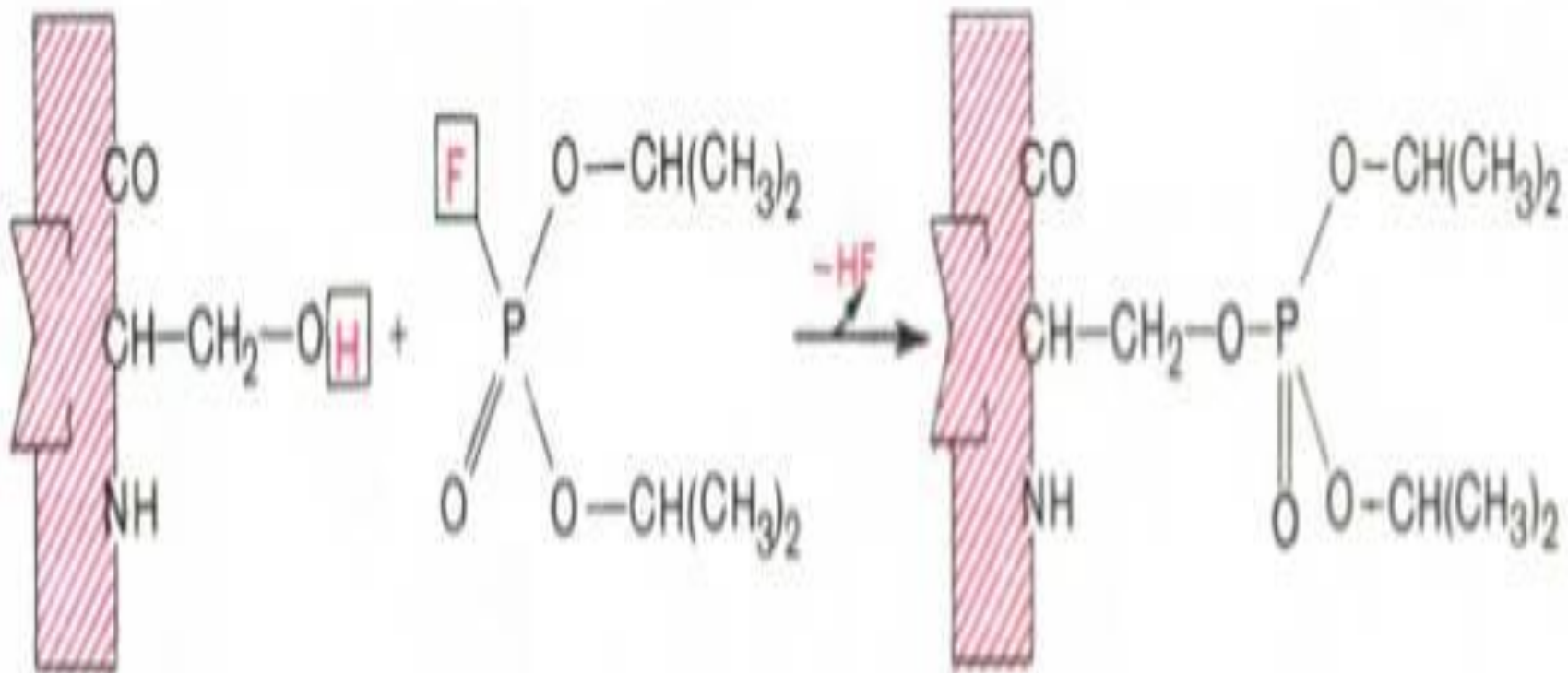
Тірі организмде жиі кездесетін белоктың модификациясының түрі.

Фосфорлану және дефосфорлану – аса маңызды биохимиялық реакция, олар – ерекше ферменттермен - **киназалармен**, немесе **фосфотрансферазалармен** катализденеді.

Фосфорлану және дефосфорлану – белоктың белсенділігін реттейді (активтендіреді немесе тежейді).

Фосфорлану - активті В-витамиінің коферментті формасы түзіледі. Мысалы; тиаминнің екі рет фосфорлануы **кокарбоксилазаны** (карбоксилаза ферментінің коферменті) түзеді.

Гексозалардың фосфорлануынан гликолиз басталады. АДФ-тың фосфорлануынан АТФ түзіледі.



Активный фермент

ДФФ

Неактивный фермент

Фосфопротеомды зерттеуді клеткадан белоктарды бөлмей ақ жүргізуге болады.

Ол үшін 2DE әдісті қолданады, модификацияланған белоктар *ProQ Diamond* бояумен боялады.

*Ол бояу фосфопротеиндермен спецификалық байланысады (<http://www.invitrogen.com>), немесе антиденелер фосфоаминқышқылдармен байланысады (Gronborg et al., 2002).*

Микроорганизмдерді қолданғанда, оларды  $^{32}\text{P}$  немесе  $^{33}\text{P}$  изотоптары бар ортада өсіріп, 2DE – мен бөліп алып, фосфопротеиндерді *авторадиография* әдісімен (Luo, Wirth, 1993) идентификациялауға болады.

Үлгіні фосфопротеиндермен немесе фосфопептидтермен байыту үшін *ионалмастырғыш хроматографияны* (Motoyama et al., 2007) немесе металлоаффиндік хроматографияны ИМАС (ағылш. *immobilized metal affinity chromatography*) қолдануға болады.

Лиганд ретінде оң зарядталған иондар  $Fe^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ga^{2+}$  иондарына теріс зарядталған фосфат топтары байланысады (Andersson., Porath, 1986; Tsai et al., 2008).

Кейде модификацияланған пептидтерді тиолды реагенттермен, мысалы ДТТ –мен өңдейді, ол ковалентті фосфоаминқышқылдарымен байланысады.

Қосымша топтың қосылуы модификацияланған пептидтердің молекулярлы массасын арттырады, ары қарай масс-спектральді анализ көмегімен идентификацияланады.

ПТМ сайтының орналасуын анықтау үшін тандемдық масс-спектрометрияны қолданады (МС/МС). Бұл әдіс **фосфоэфирлық байланысты үзін**, фосфопептидтің құрылысын сақтайды (Wiesner et al., 2008).

**Бұл әдіс *A. Thaliana* тилакоидтерінің фосфопротеомын зерттегенде қолданылды:**

1. Тилакоидтің белоктарын трипсинмен ыдыратады;
2. Пептидтерді аффиндық бағанадан өткізеді, нәтижесінде бағанада тек фосфопептидтер байланысады;
3. Байытылған үлгіні MALDI-TOF және МС/МС, ESI әдістерімен зерттейді.

Нәтижесінде анықталғаны: фотожүйе II –нің белоктары D1, D2, CP43, PsaD, CP29, I-ші фотожүйенің TMP14 белогы, перифериялық белоктарында, PsbH және сәулелерді жинақтайтын комплекс белоктары фосфорланады.

**Барлық фосфопептидтер треонин бойынша фосфорланатыны** белгілі болды, ол тилакоидтердің киназалардың қатал спецификасын сипаттайды (Vener et al., 2001; Hansson, Vener, 2003).



Сондай әдістеме *Chlamydomonas reinhardtii* тилакоид мембраналарының және фоторецепторлық аппаратының белоктарын зертегенде қолданылды.

Тилакоидтерде фосфорлану және ацилдеу CP29 белогінің транспорттық пептидінде жүреді (Turkina et al., 2004).

Фоторецепторлық аппараттың белоктарының ішінде 32 фосфопротеиндер анықталды. Олардың ішінде: каротиноидтер мен май қышқылдарының биосинтезінің ферменттері, сигналдық жолдың компоненттері, протеинкиназалар, родопсин 1 және родопсин 2 фоторецепторлары (Wagner et al., 2008).

Алынған мәліметтер фототаксис реттелуінде, фоторецепторлық аппараттың жиналуы мен қызмет атқаруында аса маңызды роль атқарады.

*A.thaliana* ядролық белоктарының фосфопротеомын зерттегенде фосфорлану сайттары транскрипциялық факторларда; хроматин-ремоделдеуші белоктарда; комплекс компоненттерде табылды.

Ол белоктар РНК-сайленсингіне жауапты; сплайсеосома белоктары болып табылады (De la Fuente van Bentem et al., 2008).

Ашытқы *Saccharomyces cerevisiae* фосфопротеомының зерттелуі 700 –ден астам фосфопептидті анықтады. Олардың 216-сы секвенирленді. Ішіндегі 60 фосфопептидте – бір, 145-де – екі, ал 11-де үш фосфорлану сайты табылды. Анықталған фосфопротеиндер — транскрипция, клеткалық циклдың, МАРК сигналды жолдың реттеушілері болып табылады.

Екі В МАР киназаның активирлеуші ілгегінде – екі фосфорлану сайты бар *pТреонин-X-pТирозин* тізбегі табылды (Ficarro et al., 2002; Gruhler et al., 2005).

Ашытқы *S. Cerevisiae* мембранасының пероксисомасының белоктарын зерттегенде матрикс Faa2p белогында фосфорлану сайты табылды. Матрикс Faa2p май қышқылдарының синтезін катализдейді, яғни, ферменттің активтілігін фосфорлану реттеуі мүмкін (Schafer et al., 2001).

# Белоктардың гликозилирленуі

Гликозилдену – белоктардың модификациясының күрделі формасы, ол – *гликозилтрансфераза* көмегімен жүзеге асырылады (Dennis et al., 1999).

Олигосахаридтердің полипептидтық тізбекке ковалентті байланысуы белоктың фолдингте және молекуланың құрылысының тұрақтануында аса маңызды роль атқарады.

*Көмірсулы компонент гликопротеиндердің қызмет атқаруында үлкен роль атқарады және гормондардың рецепторлармен байланысуында, антиденелердің антигендермен байланысуында, клеткалық рецепторларды тануында, клеткааралық сигналингте, микроорганизм қожайын клеткамен әрекеттесуінде қатысады.*

Байланысқан олигосахаридтер белок молекуласының ерігіш қасиеттеріне, тұрақтылығына әсер етеді (Sareneva et al., 1995; Imperiali, O'Connor, 1999).

Эукариот белоктарының модификациясы эндоплазмалық ретикулумде және Гольджи аппаратында жүреді (Dennis et al., 1999). Прокариот белоктарының модификациясы периплазмада жүреді (Hitchen, Dell, 2006).

## Белоктардың гликозилирленуі

N-гликозилдену

Көмірсулы қалдық **аспарагинге**  
қосылады

O-гликозилдену

Көмірсулы қалдықтар  
**серинге** немесе  
**треонинге** қосылады

Прокариоттарда да, эукариоттарда да N-гликозилденуі , яғни көмірсудың белокқа қосылуы – **аспарагин – X –серин/треонин** (негізгі белгі) (бұл жерде X – пролиннен басқа кез-келген амин қышқылы) тізбегінде жүреді (Weerapana, Imperiali, 2006).

**O-гликозилдеуде – белгілі амин қышқылдардың тізбегі анықталмаған** (Lommel, Strahl, 2009).

Бірақ, сүтқоректілерде *O-гликозилдеу жүруінің ықтималдығы* пролиннің +1 және –1 **серин/треонин** тізбегінде орналасуына сәйкес (Elliott et al., 1994).

Ашытқыларда *S. cerevisiae* – *O-гликозилдеу серин/треониннің алдында лизин* кездескенде жүреді (Olstad et al., 1992).

Гликопротеиндердің идентификациясын клеткадағы белоктарды бөлмей жүргізуге болады. Ол үшін 2DE әдісті қолданады, ары қарай модификацияланған белоктар *ProQ Emerald* бояғыш көмегімен анықталады, бұл бояғыш зат тек гликопротеиндермен спецификалық байланысады (<http://www.invitrogen.com>).

*Гликопротеомның зерттелуі* –үлгіні байытудан басталады, ол үшін стандартты жол қолданады – аффиндік хроматография. Белоктардың гидролизі протеазалармен (трипсинмен) жүргізіледі, пептидтердің фракциялануы қайталанатын аффиндік хроматография және масс-спектрометрия әдістерімен жүргізіледі (Dalpathado, Desaire, 2008; Lazar et al., 2011).

Аффиндік хроматографияны **иммобилизденген антиденелермен** толықтырылған сорбенттерде жүргізеді, олар гликопротеиндерді байластырады немесе бағаналар **лектинмен** толтырылады, олар спецификалық гликопептидтермен байланысады.

Жиі Con A лектиндері (ағылш. *concanavalin A*), WGA (ағылш. *wheat germ agglutinin*) немесе түрлі лектиндердің қоспасымен толтырылған бағаналар қолданады (Zhao et al., 2006; Zhang et al., 2010).

## Негізгі кемшіліктері:

1. көптеген гликопротеиндер трипсинге тұрақты болады;
2. Алынған гликопептидтер масс-спектральді анализге үлкен болады;
3. гликозилирлеу сайттарының жанында пептидтік байланыстар үзіліп, қосымша пептидтер түзіледі, ол анализді қиындатады.

## Бұл проблемалардың шешілуі:

1. Трипсиннің орнына спецификалық емес протеазаны – **проназаны** қолдану (ол кез-келген пептидтық байланысты үзеді).
2. Проназамен өңделген гликопротеиндер кішкентай пептидтерге ыдырайды және гликозилирлеу сайтын зақымдамайды, себебі, көмірсулы компоненттер ферменттің жұмысына кеңістіктік кедергі жасайды.

Әдісті қолданудың шектеу факторы – тазаланған гликопротеиндерді талап етеді және жоғары ажырату қабілеттілігі бар, Фурье FTICR –өңдеуішпен жабдықталған ион-циклотронды резонанты масс-спектрометрді қажет етеді (An et al., 2009).



Гликопептидтердің құрамындағы амин қышқылдарының ретінің және көмірсулы компонентінің ақпараты теориялық тұрғадан тандемдық масс-спектрометриямен алуға болады.

Бірақ, тәжірибеде қиындық туады, себебі, пептид-гликандық байланыстар әлсіз болады. Көп жағдайда, фрагментация барысында көмірсулы компоненті ыдырап кетеді, жоғалады. Бұл проблеманы – электрондардың индуцирленген тасымалдануымен және қармалануымен (ECD, ETD) шешуге болады (Nakasson et al., 2001; Wiesner et al., 2008).

Модификацияланған пептидтің амин қышқылдарының ретін анықтауды гликопротеиндерді **эндогликозидаза F** көмегімен ыдыратады (An et al., 2009). Гликанның құрылысын масс-спектрометрия әдісімен анықтайды (Peltoniemi et al., 2009; Joshi et al., 2010; Jiao et al., 2011; Visvanathan et al., 2011).

Масс-спектр анализін арнайы программалармен өңдейді (Cooper et al., 2001; Goldberg et al., 2007; Ozohanics et al., 2008; Joenvaara et al., 2008), (An et al., 2006). Гликопептидтердің идентификациясын мәлімет базаларымен жасалады (Atwood et al., 2005; Perez, Mulloy, 2005).

**A. *Thaliana*** өскінінің гликопротеиндерін ConA-сефарозадағы аффиндік хроматографиямен, 2DE және HPLC және тандемдық масс-спектрометрия немесе MALDI-TOF масс-спектрометриямен зерттегенде 102 белок идентификацияланды.

Олардың негізгі бөлігі - секреторлық жолдардың белоктары, клеткалық қабығының және плазмалық мембраналардың белоктары. Сонымен қатар, гликозидгидролаза, протеаза, фосфатаза және оксидоредуктаза ферменттері.

Гликозилгидролазалардың көп мөлшері клетка қабығының және арнайы тканьдердегі полисахаридтердің жоғары пластикалық қасиеттерін көрсетеді.

Фосфатаза, протеаза және гликозилгидролазаның көп мөлшерде болуы, олардың белоктардың ПТМ –да маңызды роль атқаратындығын дәлелдейді (Minic et al., 2007).

Масс-спектрометрия тек қана гликопротеиндерді идентификациялап қоймай, гликозилирлеу процессінің ретін де анықтайды.

Мысалы, *Campylobacter jejuni* мутанттарының РЕВ белогінің көмірсулы компоненттерін зерттегенде бактериядағы N-гликозилдеу механизмі және әр гликозилтрансферазаның ролі анықталды (Hitchen, Dell, 2006).

Ашытқы *S. Cerevisiae* мутанттарын зерттей отырып N-гликозилдеу сайттары анықталды (Schulz, Aebi, 2009).

Әдетте, **аспарагин – X – серин/треонин** тізбегінің болуы көмірсулы компоненттің байланысуының сигналы болып табылады, бірақ, барлық сайттың тек 70% гликозилденеді. N-гликозилдену механизмдері әлі де толық ашылмаған.

Көмірсулы қалдықты ЭПТ-да **долихолпирофосфат донордан аспарагинге** фермент **олигосахарилтрансфераза** жүзеге асырады.

Ашытқыларда фермент 8 суббөліктен тұрады, оның **бір суббөлігі - Stt3p** -катализдік қызмет атқарады, қалғандарының қызметтері белгісіз.

Ашытқыларда **олигосахарилтрансфераза** екі түрлі комплекс күйінде кездеседі. Олардың бір суббөлікте ғана айырмашылығы болады:

1. комплекстің құрамына **Ost3p** белогі бар;
2. екіншісінде — белок **Ost6p**.

Ол суббөліктердің гликолиз сайтың таңдағанда ролін анықтау үшін қос делециясы  $\Delta ost3\Delta ost6$  бар штаммдарға *OST3* гені немесе *OST6*ы гені бар плазмидалар еңгізілді.

Мутантты, трансформацияланған және жабайы штаммдарын **эндогликозидаза Н**-пен өңдеп (аспарагинмен байланысқан бір ғана моносахарид (N-ацетилглюкозамин)-ді сақтау үшін), клетка қабығының гликопротеиндері бөлініп алынды.

Пептидтерді протеолизге ұшыратып, сұйықтық хроматография + ESI - МС/МС әдістермен анализ жасалды.

**Анықталғаны: аспарагин – X – треонин аспарагин – X – серин бар** тізбекке қарағанда жақсы гликолизирленеді.

Екі суббөлік жоқ болса, тек 50% жағдайда көмірсу қалдығы қосылады.

## Белоктардың қайтымды тотығу модификациясы.

Соңғы кездері тиол-дисульфидті алмасудың белоктардың функционалді активтілігіне, сигналингіне, дифференция және даму процесттеріне, әртүрлі абиотикалық және биотикалық факторлардың әсеріне координациялық жауабына әсері туралы деректер жариялануда.

Цистеиннің тиольді тобының (SH) тотығуы көптеген белоктардың құрылымы мен активтілігіне әсер ететін дисульфидті байланыстың түзілумен жүреді. Бұл процесте маңызды рөлді клеткаішілік тотығу-тотықсыздану гомеостазын ұстап тұратын тиоредоксин белоктары алады.

Ферменттердің активті центрінде *цистеиннің 2 қалдығы* болады. Олар тотығып, белок-субстраттың дисульфидті байланыстарын тотықсыздандырады.

## Белоктардың убиквитинирленуі

ПТМ бұл түрі нысана-белоктарға убиквитинді —76 амин қышқылынан тұратын пептидті қосып алуына негізделген. Убиквитинирлену 26S протеасомадағы АТФ-тәуелді белок протеолизінің міндетті шарты болып табылады. Ол эукариотты организмдерде клеткалық цикл регуляциясында, дифференцировкада, сыртқы орта жағдайларына клетканың жауабында маңызды рөл атқарады.

Деградацияның бұл жолының субстраттары циклиндер, протеинкиназа ингибиторлары, транскрипцион-дық факторлар, метаболизмнің кілттік ферменттері, сонымен қатар, зақымдалған және дұрыс емес конформациясы бар белоктар жатады. Соңғы жылдары белок сортингісінде, сигналды трансдукцияда, ДНҚ репарациясында, транскрипцияда да маңызды рөл атқарады.

Убиквитиннің белокқа байланысуы реакциялар каскадымен жүзеге асады, онда убиквитин- активтендіруші (E1) және убиквитин- конъюгирлеуші (E2) ферменттер, сонымен қатар убиквитин-лигазалар қатысады (E3). Нәтижесінде с-концевого глицина убиквитин С-соңы глицинінің COOH-тобы белгілі бір белоктың лизинінің ε-амин тобымен изопептидті байланыс түзеді. N-соңы амин тобының және цистеиннің SH-тобының модификациялары белгілі.

Убиквитинирлену/деубиквитинирленудің ферменттер тұқымдасы көп: адамда E1 16 өкілдері, E2 53 өкілдері, E3 527 өкілдері, DUB 184 өкілдері табылған.



Убиквитинирленген белоктар құрамы аз болғандықтан масс-спектралды анализ үшін үлгіні аффинді хроматографиямен бағанада модификацияланған белоктарға алдын ала иммобилизденген убиквитин-байланыстырушы белоктармен немесе антиденелермен байыту керек. При работе с дрожжами *S. cerevisiae* ашытқыларымен жұмыс жасағанда убиквитин синтездейтін штаммадрды қолданады, олар биотинмен немесе гистидиннің б қалдық тізбегімен қосылған болады. Ол сорбенттегі модификацияланған белоктарды бөліп алуға мүмкіндік береді. Кейін модификацияланған белоктарды протеазамен ыдыратады, пептидтер MuDPIT мен масс-спектрометрияда фракцияланады.

*S. cerevisiae* ашытқының полиубиквитинирлену сайтының сайт бағытталған мутагенезі осы аудандардың белгілі бір спецификалылығын көрсетеді. Убиквитиннің 48 молекуласы лизинге полиубиквитиндік тізбекті қосып алу протеасомадағы кезекті белок деградациясы үшін қажетті болады. Убиквитиннің 63 молекуласы лизиннің полиубиквитирленуі белок үшін тән болады.

SUMO-белоктар үшін де белоктың убиквитирленуін зерттеу әдістері қолданылады (ағылш. small ubiquitin-like modifier). SUMO-белоктар вирустан бастап сүтқоректілерге дейін табылған. SUMO-белоктың нысана белоктың лизинінің  $\epsilon$ -амин тобына қосылу сигналы ***Ψ-лизин-X-аспарагин/глутамин*** қышқылы тізбегі болып табылады, мұндағы Ψ —лейцин, изолейцин, ал X кез келген амин қышқылы. Сумоилирлену убиквитинирлену сияқты қайтымды процесс. SUMO-белоктың ажырауын ***ULP протеаза*** катализдейді (ағылш. ubiquitin-like protein-processing enzyme).