



# Prêmio Nobel de Química 2004:

## Proteólise ATP-Dependente de Proteínas Marcadas com Ubiquitina



**Marilene Demasi e Etelvino J.H. Bechara**

O Prêmio Nobel de Química de 2004 foi outorgado a três pesquisadores que desvendaram como ocorre o processo de degradação celular de proteínas mediado por ubiquitina. Este artigo relata como os estudos desse processo avançaram, desde as descobertas iniciais no final da década de 70 até os dias de hoje.

▶ Prêmio Nobel, ubiquitina, proteólise, bioquímica celular ◀

Recebido em 28/10/04, aceito em 3/11/04

nas últimas décadas, é notável, mas não surpreendente, a freqüente premiação com o Nobel de Química ou de Medicina de descobertas de estruturas e processos moleculares de crucial impacto na Biologia e saúde humana. Afinal, as demandas sociais por informação nas áreas da saúde, meio ambiente, tecnologia “verde”, computação e segurança continuam a crescer vertiginosamente e a Química se enraíza rapidamente nas bases de várias áreas do conhecimento. Ela passa a constituir-se cada vez mais em linguagem privilegiada para discussão e compreensão dos fenômenos da vida. O Prêmio Nobel de Química de 2004 foi conferido a três pesquisadores (Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose) que conjuntamente desvendaram o processo de degradação de proteínas sinalizado por cadeias de poliubiquitina. Dois deles são israelenses,

**“Decisões” celulares precisas, tais como parada de crescimento e morte celular (apoptose), além da resposta imunológica e antiinflamatória, são reguladas pelo processo de degradação de proteínas mediado por ubiquitina**

sendo esta a primeira vez que um Prêmio Nobel em uma área de ciências é outorgado a pesquisadores de Israel.

Neste artigo procuramos recuperar os passos percorridos por Ciechanover, Hershko e Rose que culminaram com o prêmio da Academia Real Sueca de Ciências. Primeiramente, salientamos que nada mais justo do que esse reconhecimento, uma vez que esses pesquisadores contribuíram para a descoberta e elucidação de um processo envolvido numa ampla rede de regulação bioquímica das células. Essa descoberta revelou uma dinâmica intracelular de regulação fina, inimaginável até então, que inclui desde o controle de qualidade das sínteses protéicas até a regulação do ciclo e da resposta celular a diversos estímulos fisiológicos e patológicos. As proteínas têm

vida média bastante variável, de 30 segundos até muitos dias. As proteínas degradadas pelo processo sinalizado pela proteína ubiquitina têm vida média compreendida entre segundos e algumas horas. Entre essas proteínas estão incluídas aquelas que possuem defeitos conseqüentes de erros de síntese e, muito importante, aquelas que participam da sinalização e regulação celular e que devem, num dado momento, ser imediatamente degradadas para que a célula se divida, interrompa seu crescimento, “morra” ou simplesmente execute adequadamente suas funções. Portanto, “decisões” celulares precisas, tais como parada de crescimento e morte celular (apoptose), são reguladas por esse processo, além da resposta imunológica e antiinflamatória. Naturalmente, espera-se que um processo tão abrangente como o descoberto por esses pesquisadores tenha reflexos em inúmeras doenças humanas e aponte possibilidades para minimizar os seus efeitos ou mesmo revertê-las.

### Degradação protéica

A primeira referência à degradação intracelular de proteínas foi feita

A seção “Atualidades em Química” procura apresentar assuntos que mostrem como a Química é uma ciência viva, seja com relação a novas descobertas, seja no que diz respeito à sempre necessária revisão de conceitos.

## Proteólise

Proteólise é a reação de hidrólise das ligações peptídicas formadas entre os aminoácidos de uma proteína. Dependendo da protease, os produtos de hidrólise proteica catalisada por proteases podem ser tanto pequenos peptídeos quanto aminoácidos isolados. Uma técnica bastante utilizada para a medida de proteólise é a marcação isotópica de proteínas. Consiste na utilização, dentre uma série de compostos radioativos, do isótopo radiativo  $^{125}\text{I}$ , quando a proteína é marcada *in vitro*, ou de mistura dos aminoácidos cisteína/metionina marcados com outro isótopo radiativo, o  $^{35}\text{S}$ , quando a marcação é feita em proteínas intracelulares. Essa mistura é adicionada ao meio de cultura celular e as células utilizam esses aminoácidos marcados para a síntese proteica; portanto, as proteínas intracelulares ficam rotuladas com radioisótopos. As proteínas podem ser precipitadas com alguns ácidos fortes, como, por exemplo, o ácido tricloroacético ou perclórico. No entanto, nem todos os produtos de hidrólise são precipitados por esses ácidos, somente peptídeos com cadeia acima de 12 aminoácidos. A avaliação do grau de proteólise se faz tomando-se o conteúdo protéico, tanto de proteínas marcadas com  $^{125}\text{I}$  quanto com  $^{35}\text{S}$ ; precipitando-se as proteínas com ácido tricloroacético e, após centrifugação para separar o precipitado protéico da fração solúvel, faz-se a contagem radioativa na fração solúvel, uma vez que os produtos de hidrólise proteica (pequenos peptídeos ou aminoácidos) não são precipitados com ácido tricloroacético e, portanto, são recuperados na fração solúvel. Essa técnica permite a avaliação do grau de proteólise em lisado celular, em células intactas ou mesmo *in vitro*, incubando-se proteínas marcadas com proteases purificadas.

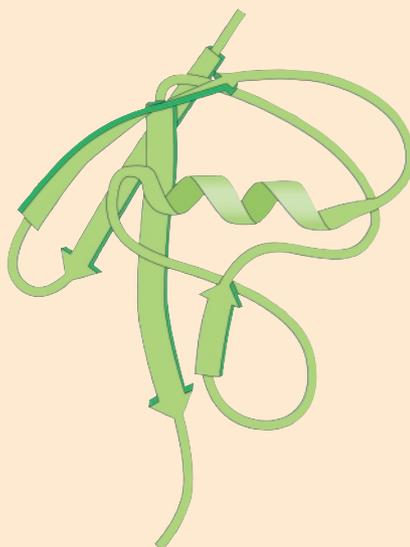


Figura 1: Estrutura tridimensional da ubiquitina. As setas mostradas indicam estruturas secundárias do dobramento protéico denominadas de folha  $\beta$  e a espiral no centro da estrutura refere-se a outro tipo de dobramento denominado de  $\alpha$  hélice.

## Ubiquitina

A ubiquitina é uma proteína de apenas 76 aminoácidos. Foi isolada pela primeira vez de timo bovino, em 1972. Em seguida, constatou-se que essa proteína era encontrada em todos os tecidos e organismos eucarióticos, porém nada era conhecido sobre sua função intracelular. Na mesma época, foi descrita sua ligação covalente a outra proteína, uma histona (proteína nuclear), desconhecendo-se, no entanto, a razão disto. Sua função intracelular foi quase que totalmente elucidada no final da mesma década por Ciechanover, Hershko e Rose.

por Schoenheimer em 1942, que, através de marcação radioisotópica, demonstrou que proteínas são constantemente sintetizadas e desmontadas. A partir de então, várias proteases envolvidas na degradação proteica não-dependente de energia foram descritas. Uma das primeiras a ser amplamente estudada foi a tripsina, na luz intestinal, responsável pela catálise da hidrólise de proteínas ingeridas na dieta alimentar (proteólise extracelular).

O processo intracelular de degradação proteica dependente de energia, captada na forma de ATP, foi descrito pela primeira vez por Sympton em 1953 e retomado por Hershko em 1971. Este pesquisador, durante um estágio de pós-doutoramento no laboratório de Gordon Tomkins, na Universidade da Califórnia, em São Francisco, publicou um trabalho realizado com cultura de células hepáticas, mostrando que a degradação intracelular da enzima tirosina aminotransferase era um processo dependente de ATP. Na época, o fato de que a degradação de proteínas pudesse consumir energia era paradoxal, uma vez que a proteólise é uma reação de hidrólise e, portanto, um processo exotérmico. Hershko, no entanto, insistiu nessa investigação exatamente pela aparente contradição. Suas conclusões nesse trabalho, que foi consi-

derado um marco para investigações posteriores, convergiam para a possibilidade da existência de um processo proteolítico mais complexo do que aqueles conhecidos até então. Concluiu afirmando que: “Esta dependência por ATP para a degradação proteica intracelular parece ser incompatível com um mecanismo proteolítico simples e sugere que o processo seja de múltiplas etapas... Pode ser que o ATP esteja diretamente envolvido na modificação da proteína antes de sua degradação ou na formação de um metabólito intermediário”.

Um importante avanço nos estudos da proteólise ATP-dependente foi o modelo experimental publicado por Etlinger e Goldberg, em 1977, utilizando lisado de reticulócitos de coelho. Lisado é o material citoplasmático obtido experimentalmente pelo rompimento mecânico de células e posterior centrifugação para se obter a fração solúvel do citoplasma celular. Esse sistema levantou a possibilidade de se poder distinguir a atividade proteolítica lisossomal da não-lisossomal. O lisossoma é o compartimento intracelular responsável pela degradação de inúmeras macromoléculas, incluindo proteínas extracelulares, que são trazidas para o interior das células pelo processo de endocitose, além de proteínas de membra-

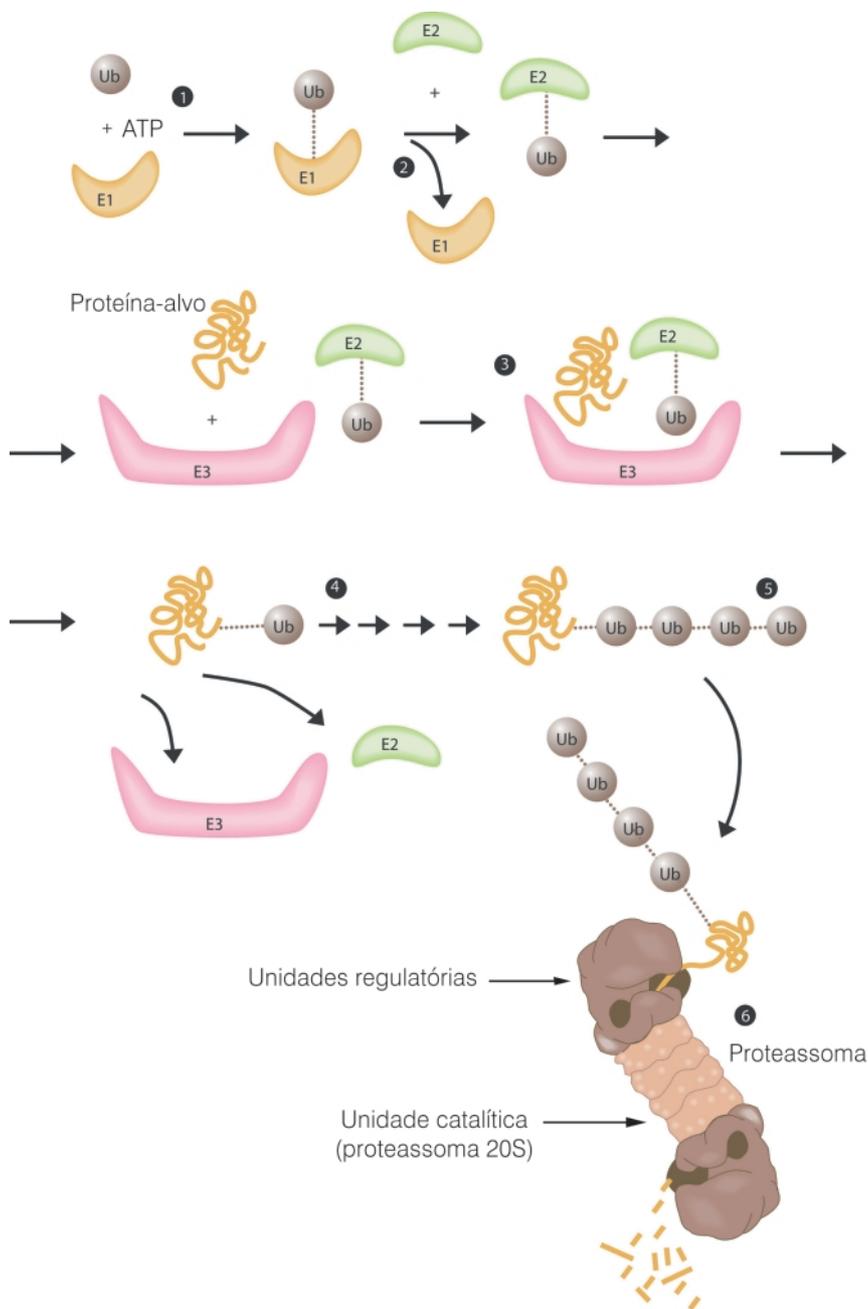


Figura 2: Seqüência de eventos desde a marcação da proteína-alvo com ubiquitina (Ub) até sua degradação pelo proteassoma. (1) A Ub liga-se covalentemente à enzima E1 denominada de ativadora de Ub. Essa etapa é dependente de ATP. (2) A Ub é transferida para a enzima E2, conjugadora de Ub, que, uma vez complexada à Ub, interage com a enzima E3, denominada de ligase. É nessa etapa (3) que a Ub é transferida para o substrato ou proteína-alvo. As proteínas-alvo são “selecionadas” (reconhecidas) pela enzima E3 por possuírem “sinais” em sua estrutura. (4) A etapa anterior é repetida até a formação de uma cadeia de poliubiquitina na proteína-alvo (5). A cadeia assim formada será reconhecida por proteínas integrantes da unidade regulatória do proteassoma. (6) A proteína-alvo será desdobrada por proteínas especializadas das unidades regulatórias (essa etapa também é ATP-dependente) e dirigida para a câmara catalítica (proteassoma 20S) para hidrólise. Os fragmentos de degradação são liberados no lado oposto do proteassoma.

nas e proteínas intracelulares de vida média longa. Um exemplo de proteína com vida longa é a hemoglobina: aproximadamente 110 dias. No modelo de estudo proteolítico com lisado

de eritrócitos foi possível a diferenciação entre atividade proteolítica não-lisossomal e lisossomal, uma vez que as enzimas lisossomais têm atividade proteolítica em pH ácido, sendo

### Degradação protéica sinalizada por ubiquitina

Este processo consiste na “marcação” de proteínas intracelulares para a degradação por intermédio de adições sucessivas de ubiquitina à proteína-alvo, criando-se dessa maneira uma cadeia de poliubiquitina na proteína que sofrerá degradação. Envolve a participação de três classes de enzimas ubiquitinadoras denominadas de E1, E2 e E3. A cadeia de poliubiquitina e, portanto, a proteína alvo, será reconhecida por unidades regulatórias do proteassoma, que é a protease intracelular responsável pela degradação de proteínas rotuladas com cadeias de poliubiquitina. Uma vez havendo o reconhecimento da cadeia de poliubiquitina por essas unidades do proteassoma, a proteína alvo será desdobrada, para ser hidrolisada gerando cadeias polipeptídicas de 3-21 aminoácidos. Esses pequenos peptídeos são liberados da câmara proteolítica e hidrolisados por uma série de peptidases intracelulares, resultando unidades de aminoácidos que podem então ser reutilizados pela célula para a síntese protéica. A cadeia de poliubiquitina é liberada da proteína e as unidades de ubiquitina são recuperadas também por processo enzimático. Enzimas denominadas desubiquitinadoras estão envolvidas nesse processo.

que a atividade ATP-dependente, então descrita, possuía atividade ótima em pH ligeiramente alcalino, nominalmente 7,8.

Foi a partir de então, entre o final da década de 70 e início da de 80, que Ciechanover, Hershko e Rose desenvolveram uma série de estudos que culminaram com a elucidação do mecanismo de proteólise dependente de ATP e da ubiquitina. Os encontros que mantiveram e o trabalho realizado em conjunto foram possíveis graças a uma série de estágios sabáticos de

## O proteassoma

O proteassoma foi descrito em meados da década de 80 por vários grupos de pesquisa que investigavam diferentes temas bioquímicos. Esse complexo protéico (constituído por várias cadeias peptídicas) recebeu diferentes denominações antes de ser definitivamente chamado de proteassoma (*proteasome* no inglês: *protea* de protease e *soma* de soma, partícula), devido à sua alta massa molecular. O proteassoma tem massa molecular de 2500 ku. Possui uma unidade central catalítica denominada de 20S, flanqueada nas duas extremidades por unidades regulatórias que reconhecem a cadeia de poliubiquitina na proteína-alvo, desdobram a proteína para hidrólise e direcionam a proteína para a câmara catalítica, denominada de proteassoma 20S. Acredita-se que 80% das proteínas de origem intracelular sejam degradadas pelo proteassoma. As proteínas alvo de degradação pelo proteassoma são aquelas de vida média ultra-curta e curta: de alguns segundos até algumas horas, desde a síntese até hidrólise.

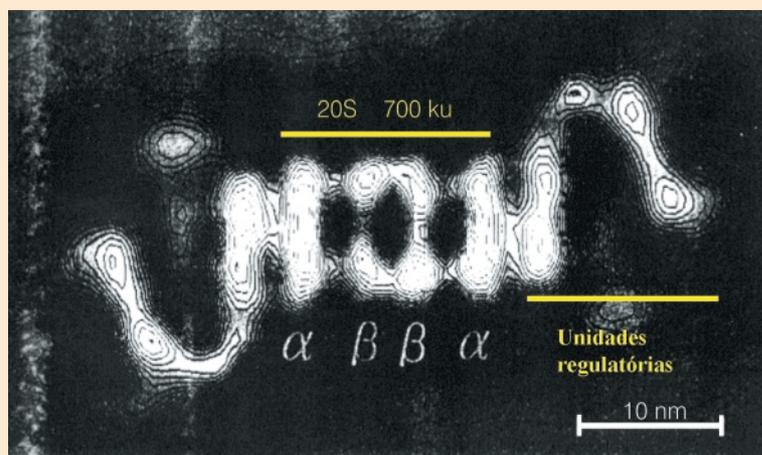


Figura 3: Micrografia eletrônica do proteassoma. Ao centro, a unidade catalítica 20S. Essa unidade é formada por subunidades denominadas de  $\alpha$  e  $\beta$ . Cada uma delas possui sete cadeias peptídicas, diferentes entre si, formando heptâmeros que se repetem dos dois lados. A atividade hidrolítica está nas cadeias  $\beta$ . A estrutura do proteassoma é simétrica: o substrato pode se ligar a qualquer uma das duas extremidades das unidades regulatórias.

Ciechanover e Hershko no laboratório de Rose, na Pensilvânia (EUA).

### A descoberta

Partindo do princípio de que o fenômeno que estavam observando dependia de uma proteína (protease) que efetuava a hidrólise do substrato-alvo na presença de ATP, e que essa protease era parte integrante do conteúdo protéico do lisado de reticulócitos, esses pesquisadores aplicaram o lisado a uma coluna cromatográfica de Sepharose® DEAE com o objetivo de separar (isolar) essa protease desconhecida. Duas das frações obtidas nesse processo, quando eram misturadas, reconstituíam a proteólise ATP-dependente. No entanto, quando

testadas separadamente não apresentavam atividade. Continuando a purificação das proteínas contidas em cada uma dessas frações, eles isolaram uma proteína termoestável de massa molecular 9000 u. Essa proteína foi identificada como um componente ativo para que ocorresse proteólise ATP-dependente. Quando essa proteína era adicionada à outra fração ocorria proteólise, porém nunca na sua ausência. Denominaram essa proteína de APF-1 (*Active*

No final da década de 70, Ciechanover, Hershko e Rose identificaram uma proteína de alta massa molecular, essencial para o processo de degradação protéica. Ela só foi identificada dez anos mais tarde, por outros pesquisadores

*Principle of Fraction 1*). Ela foi identificada em 1980 como sendo a ubiquitina que já havia sido descrita anteriormente, porém desconhecia-se sua atividade. Rapidamente, verificou-se que a molécula dessa proteína tinha 76 resíduos de aminoácidos e era altamente conservada nas células eucarióticas, sendo essencialmente idêntica em organismos tão distintos como uma levedura ou uma vaca.

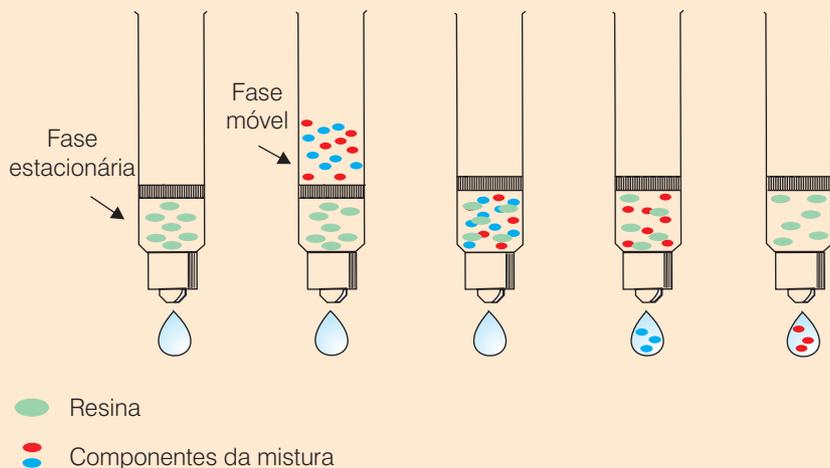
Continuando o fracionamento por técnica cromatográfica, conseguiram identificar uma fração que continha as enzimas tiólicas E1 e E2 e a enzima E3 e, numa outra fração, identificaram uma proteína de alta massa molecular, também essencial para a atividade que haviam descrito. Muito provavelmente essa proteína era a protease que buscavam. No entanto, foi somente 10 anos mais tarde que ela foi identificada por outros investigadores como sendo o proteassoma, na verdade um complexo protéico de alta massa molecular capaz de reconhecer e catalisar a hidrólise de proteínas marcadas com cauda de ubiquitina. Os experimentos descritos acima e as conclusões a que chegaram estão descritos em publicações de 1978 e 1979 (Ciechanover *et al.*, 1978; Hershko *et al.*, 1979).

Ciechanover, Hershko e Rose continuaram buscando os elementos do processo de proteólise ATP-dependente, desviando-se daí em diante da protease e concentrando-se nos demais componentes do processo.

Uma vez tendo purificado a ubiquitina (Ub), chamada de APF-1 até aquele momento, eles a marcaram com iodo radioativo ( $^{125}\text{I}$ ) e demonstraram inequivocamente que inúmeras proteínas no lisado de reticulócitos estavam ligadas covalentemente à Ub. Logo em seguida, numa outra série de experimentos, fizeram marcação de três proteínas diferentes com  $^{125}\text{I}$  ao invés de marcar a Ub. Utilizando essas proteínas como substratos da

## O método cromatográfico

Cromatografia é uma técnica de separação e quantificação de substâncias em mistura. Durante o processo, os componentes da mistura interagem com duas fases - estacionária e móvel - e são distribuídos entre elas. A fase estacionária pode ser um polímero ou resina com capacidade de reter compostos orgânicos os mais variados possíveis, com uma força que depende da natureza química da resina e do composto com que interage. A fase móvel (também chamada de eluente), comumente uma solução aquosa ou em mistura com solventes orgânicos, serve de carreador dos componentes da mistura. A mistura é aplicada na fase móvel que passa continuamente pela fase estacionária. Quanto maior a afinidade de uma substância pelo material da resina, determinada pelas propriedades de polaridade, carga elétrica, tamanho e/ou complementaridade estrutural da substância usada como a fase fixa, maior será o seu tempo de retenção nesse material: na ilustração, o componente representado em vermelho. Assim sendo, à medida que a fase móvel passa pela resina, arrastando consigo o material adsorvido, ocorre o fracionamento, ou seja, a separação dos componentes da mistura, os quais são coletados separadamente. O tempo de retenção pode ser alterado mudando-se as características da fase móvel (polaridade, por exemplo).



- Resina
- Componentes da mistura

Essa técnica permite a separação e purificação, por exemplo, de proteínas de uma mistura tão complexa quanto o citoplasma celular. No protocolo descrito pelos pesquisadores, foi utilizada cromatografia líquida de coluna. A Sepharose® DEAE referida no texto é a fase estacionária e a fase móvel utilizada foi um gradiente de solução aquosa tamponada de NaCl, em concentrações crescentes, o que altera gradativamente a polaridade da fase móvel. Numa outra etapa dos trabalhos, os autores descreveram uma cromatografia de afinidade, em que a fase fixa foi Sepharose® derivatizada com Ub, o que permitiu que a enzima E1 se ligasse específica e fortemente à fase estacionária.

proteólise, eles demonstraram que múltiplas unidades de Ub podiam conjugar-se com a proteína-alvo. Essa seqüência de trabalhos (Ciechanover *et al.*, 1980; Hershko *et al.*, 1980) incluiu ainda uma série de detalhes sobre como é a ligação de Ub às proteínas-alvo e, também, ante-

cipou a existência de uma enzima que remove da proteína-alvo a cauda de poliubiquitina.

Entre 1981 e 1983, tendo já sido criada a hipótese sobre o sistema de marcação com Ub da proteólise ATP-dependente, eles se dedicaram à elucidação completa do processo. Os

trabalhos dessa época culminaram com a purificação e caracterização das três enzimas ubiquitinadoras (E1-E3) e elucidaram o mecanismo completo de marcação por Ub.

Os trabalhos desse período são ainda textos-referência para a descrição do sistema. Eles utilizaram protocolos experimentais bastante elegantes àquela época. Purificaram a enzima E1 por cromatografia de afinidade ligando a Ub covalentemente a uma coluna de Sepharose®. O lisado de reticulócitos era aplicado à coluna, sendo que a enzima E1 ficava retida na coluna por ligação à Ub; dessa maneira conseguiram purificar e demonstrar o tipo de ligação covalente entre Ub e E1. Utilizando-se de metodologia semelhante conseguiram purificar as duas outras enzimas: E2 e E3. Neste caso, usaram como estratégia eluições diferenciadas - lembrando que a eluição consiste na etapa cromatográfica que usa um solvente ou solução para retirar o material retido na coluna. Dessa maneira isolaram as três enzimas e demonstraram que E2 liga-se a E1 na coluna diferentemente de E3, que era eluída da coluna isoladamente. Todos esses passos estão descritos em publicações feitas por eles em 1981 e 1983 (Ciechanover *et al.*, 1981; Hershko *et al.*, 1983).

## Implicações fisiológicas e patológicas

O processo de degradação de proteínas sinalizado por ubiquitina participa de inúmeros processos intracelulares muito importantes para a manutenção da homeostase ou da defesa celular. Alguns exemplos são enumerados a seguir.

### Sistema imunológico

Alguns dos peptídeos gerados dentro da célula pelo sistema Ub-proteassoma são utilizados pela célula como antígenos de superfície celular e são reconhecidos pelos linfócitos T. Se esses peptídeos não forem produtos de uma proteína humana, os linfócitos T reconhecem o peptídeo na superfície celular como um antígeno, um componente estranho, e

desencadeiam o processo que levará à destruição daquela célula. Esse mecanismo é muito importante em casos de infecção viral. Uma célula infectada com um vírus terá como produtos de hidrólise peptídeos originários de proteínas virais que serão reconhecidos pelos linfócitos T como estranhos ao organismo e, portanto, a célula será destruída, evitando a continuidade da replicação viral.

### Resposta inflamatória

As células possuem proteínas denominadas fatores de transcrição. Essas proteínas se ligam ao DNA e induzem a transcrição de determinados genes. Um desses fatores de transcrição, denominado NFkB, localiza-se no citoplasma associado a uma proteína que inibe sua atividade junto ao DNA. Quando a célula é infectada por uma bactéria, esse inibidor sofre uma alteração estrutural, é ubiquitinado e degradado pelo proteassoma. Dessa maneira a proteína NFkB fica livre e desloca-se para o núcleo, desencadeando a transcrição de inúmeros genes relacionados à resposta inflamatória que se constitui em um processo vital de defesa.

### Terapêutica anti-tumoral

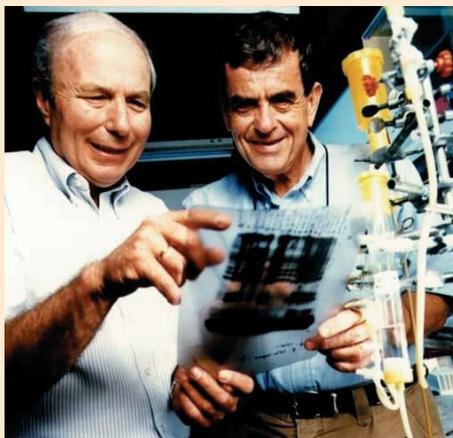
Inibidores do proteassoma ou da ubiquitinação proteica estão prestes a serem introduzidos na terapêutica anti-tumoral. Essa estratégia se baseia no fato de que a inibição irreversível do sistema Ub-proteassoma leva a célula à morte celular programada

- apoptose -, muito desejável em se tratando de células tumorais, pois impede que elas proliferem.

**Marilene Demasi** (marimasi@butantan.gov.br), graduada em Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo (USP), mestre em Psicobiologia pela Universidade Federal de São Paulo e doutora

em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela USP, é pesquisadora do Instituto Butantã, em São Paulo - SP. **Etelvino J.H. Bechara** (ebechara@iq.usp.br), graduado em Química e doutor em Ciências (Bioquímica) pela USP, é docente do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da USP em São Paulo - SP (<http://www.iq.usp.br/wwwdocentes/ebechara>). Foi presidente da Sociedade Brasileira de Química no biênio 1988-1990.

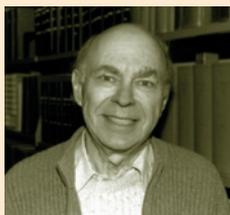
### Os laureados



Hershko (esquerda) e Ciechanover, no Technion.

**Aaron Ciechanover** - Nascido em 1947 na cidade de Haifa, Israel, foi aluno de doutorado (1981) de Avram Hershko, na área de Medicina, no Instituto de Tecnologia de Israel (Technion), em Haifa. Atualmente é professor de Bioquímica do Instituto de Pesquisas em Ciências Médicas Família Rappaport do Technion. Em 2000, já recebera, juntamente com Hershko, o Prêmio Albert Lasker para Pesquisa Médica Básica; em 2003, foi-lhe outorgado o Prêmio Israel pela descoberta do "sistema ubiquitina".

**Avram Hershko** - Nascido em 1937 em Karcag, na Hungria, emigrou para Israel em 1950 e hoje é cidadão israelense. Doutorou-se em 1969 pela Universidade Hebraica, em Jerusalém, sendo professor no mesmo centro de pesquisa onde atua Ciechanover. Em 1994, já recebera o Prêmio Israel e, em 2001, o Prêmio Wolf de Medicina.



**Irwin Rose** - Nascido em 1926 em Nova Iorque (EUA), doutorou-se em 1952 pela Universidade de Chicago. Foi professor na Faculdade de Medicina da Universidade de Yale, de 1953 a 1963, quando se mudou para o Centro Fox Chase para Câncer, na Filadélfia, do qual se aposentou em 1995. Atualmente é pesquisador emérito no Departamento de Fisiologia e Biofísica da Faculdade de Medicina da Universidade da Califórnia em Irvine, Califórnia (EUA).

### Referências bibliográficas

CIECHANOVER, A.; HELLER, H.; ELIAS, S.; HAAS, A.L. e HERSHKO, A. ATP-dependent conjugation of reticulocyte proteins with the polypeptide required for protein degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 77, p. 1365-1368, 1980.

CIECHANOVER, A.; HELLER, H.; KATZ-ETZION, R. e HERSHKO, A. Activation of the heat-stable polypeptide of the ATP-dependent proteolytic system. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 78, p. 761-765, 1981.

CIECHANOVER, A.; HOD, Y. e

HERSHKO, A. A heat-stable polypeptide component of an ATP-dependent proteolytic system from reticulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 81, p. 1100-1105, 1978.

HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A.; HELLER, H.; HAAS, A.L. e ROSE, I.A. Proposed role of ATP in protein breakdown: Conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 77, p. 1783-1786, 1980.

HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A. e ROSE, I.A. Resolution of the ATP-depen-

dent proteolytic system from reticulocytes: A component that interacts with ATP. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 76, p. 3107-3110, 1979.

HERSHKO, A.; HELLER, H.; ELIAS, S. e CIECHANOVER, A. Components of ubiquitin-protein ligase system. *J. Biol. Chem.*, v. 258, p. 8206-8214, 1983.

### Para saber mais

#### Na Internet

Sítio da Fundação Nobel: [www.nobel.se](http://www.nobel.se).

**Abstract:** Nobel Prize in Chemistry 2004: ATP-Dependent Proteolysis of Ubiquitin-Marked Proteins - The Nobel Prize in Chemistry 2004 was awarded to three scientists that unveiled how the process of ubiquitin-mediated cellular degradation of proteins occurs. This article reports how the studies of this process advanced, from the initial discoveries in the end of the seventies up to nowadays.

**Keywords:** Nobel Prize, ubiquitin, proteolysis, celular biochemistry