

Received: 2012.09.17
Accepted: 2013.01.23
Published: 2013.08.06

Właściwości i różnorodność funkcjonalna dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego*

Properties and functional diversity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

Aleksandra Rodacka

Zakład Radiobiologii, Katedra Biofizyki Molekularnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH) przez wiele lat uważana była za mało interesujące, klasyczne białko szlaku glikolitycznego. Wykorzystywano ją głównie jako modelowe białko do badania struktury oraz mechanizmów enzymatycznych. Ostatnie badania dowodzą, że w komórkach ssaków GAPDH pełni wiele różnorodnych funkcji niezwiązanych z funkcją glikolityczną. Enzym ten jest szczególnym przykładem białka wielozadaniowego (*moonlighting protein*). Dehydrogenaza uczestniczy w fuzji błon komórkowych, powstawaniu cytoszkieletu, transporcie pęcherzykowym, utrzymaniu integralności DNA. Najnowsze badania wskazują na bezpośrednie zaangażowanie enzymu w transkrypcję, potranskrypcyjną regulację ekspresji genów, utrzymaniu struktury chromatyny. Ponadto inne badania wskazują na udział GAPDH w apoptozie oraz w chorobach neurodegeneracyjnych związanych z wiekiem np. w chorobie Alzheimera, Parkinsona i Huntingtona. W pracy omówiono strukturę i umiejscowienie GAPDH w komórce, a także najnowsze doniesienia dotyczące wielofunkcyjnych właściwości enzymu.

Słowa kluczowe:

GAPDH • dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego • białko wielofunkcyjne • regulacja ekspresji genów • stres oksydacyjny • apoptoza • choroby neurodegeneracyjne

Summary

For a long time glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was considered a classical glycolytic protein of little interest. It was also used as a model protein for analysis of protein structure and enzyme mechanisms. However, recent evidence demonstrates that GAPDH from mammalian cells displays a number of diverse activities unrelated to its glycolytic function. This enzyme is an example of *moonlighting protein*. Dehydrogenase participates in membrane fusion, microtubule assembly, vesicular transport, and the maintenance of DNA integrity. New and novel studies indicate that enzyme is directly involved in transcriptional, posttranscriptional gene regulation, and the maintenance of chromatin structure. Furthermore, other studies also indicate a role of GAPDH in apoptosis, and age-related neurodegenerative disease e.g. Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's diseases. This work describes the structure and localization of GAPDH in cells as well as the latest discoveries on the multifunctional properties of the enzyme.

Keywords:

GAPDH • glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase • multifunctional protein • regulation of gene expression • oxidative stress • apoptosis • neurodegenerative disease

*Praca powstała w ramach projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki nr 2012/05/B/NZ1/00701.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1061630>

Word count: 3960

Tables: –

Figures: 10

References: 97

Adres autorki: dr Aleksandra Rodacka, Zakład Radiobiologii, Katedra Biofizyki Molekularnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: olakow@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **GAPDH** – dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego; **pGAPDH** – ufosforylowana cząsteczka dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego; **G3P** – aldehyd 3-fosfoglicerynowy; **1,3-BPG** – 1,3-bisfosfoglicerynian; **VTC** – tubularno-pęcherzykowa struktura pośrednia; **aPKC λ** – atypowa kinaza białkowa λ ; **COP-I** – kompleks białkowy opłaszczający pęcherzyki uczestniczące w transporcie wstecznym (retrograde transport); **COP-II** – kompleks białkowy opłaszczający pęcherzyki uczestniczące w transporcie z retikulum do aparatu Golgiego (anterograde transport); **NRK** – komórki prawidłowe pochodzące z nerek szczura; **Rab2** – mała GTP-aza inicjująca tworzenie kompleksu białkowego biorącego udział w powstawaniu pęcherzyka transportującego; **Src** – rodzina niereceptorowych kinaz tyrozynowych; **Siah-1** – ligaza ubikwityny E3; **UNG** – glikozylaza uracylowa; **APE-1** – endonukleaza apurynowa/apirymidynowa; **H2B** – histon 2B; **Oct-1** – czynnik transkrypcyjny wiążący oktamer; **OCA-S** – aktywator białka Oct-1; **ET-1** – endotelina 1; **M-CSF/CFS-1** – czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagowych; **AT1R** – receptor typu 1 dla angiotensyny II; **AraC** – arabinozyd cytozyny; **N-CoR** – supresorowe białko jądrowe; **GOSPEL** – cytosolowe białko wiążące się z GAPDH w kompetycji z białkiem Siah-1; **p300/CBP** – białko koaktywatorowe o aktywności acetylotransferazy histonowej; **NLS** – sygnał lokalizacji jądrowej; **siRNA** – małe interferujące RNA; **p53** – czynnik transkrypcyjny o własnościach supresora nowotworowego; **PUMA** – regulowany przez p53 modulator apoptozy; **Bax** – białko proapoptotyczne z grupy białek Bcl; **p21** – inhibitor kinaz zależnych od cyklin.

WSTĘP

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH, EC 1.2.1.12) jest enzymem z klasy oksydoreduktaz. W komórkach eukariotycznych i prokariotycznych GAPDH występuje w bardzo dużych ilościach, tj. 10-20% całkowitej zawartości białek komórkowych [43,74]. W największych ilościach enzym obecny jest w cytoplazmie. Niewielka ilość enzymu może się znajdować także w mitochondriach oraz w jądrze komórkowym [9]. W erytrocytach GAPDH w kompleksie z innymi białkami glikolitycznymi (np. aldołązą, fosfofruktokinazą i dehydrogenazą mleczanową) w dużej mierze związana jest z wewnętrzną monowarstwą błony erytrocytów [10].

Główną funkcję dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego pełni w szlaku glikolitycznym; przekształca aldehyd 3-fosfoglicerynowy (G3P) w 1,3-bisfosfoglicerynian (1,3-BPG). W ciągu ostatnich dwóch dekad okazało się, że GAPDH uczestniczy nie tylko w glikolizie, ale jest klasycznym enzymem wielofunkcyjnym (moonlighting protein) [37]. W komórkach ssaków GAPDH bierze udział w wielu procesach pozornie niepowiązanych ze sobą, takich jak: tworzenie cytoskieletu komórki [31,40,92,93,94], w pęcherzykowym transporcie błonowym [8,80,81,82,83,84,85,86,87], w regulacji ekspresji genów [6,14,66,96,97], przenoszeniu grupy fosforanowej na inne białka [87]. Jedną z bardziej interesujących funkcji

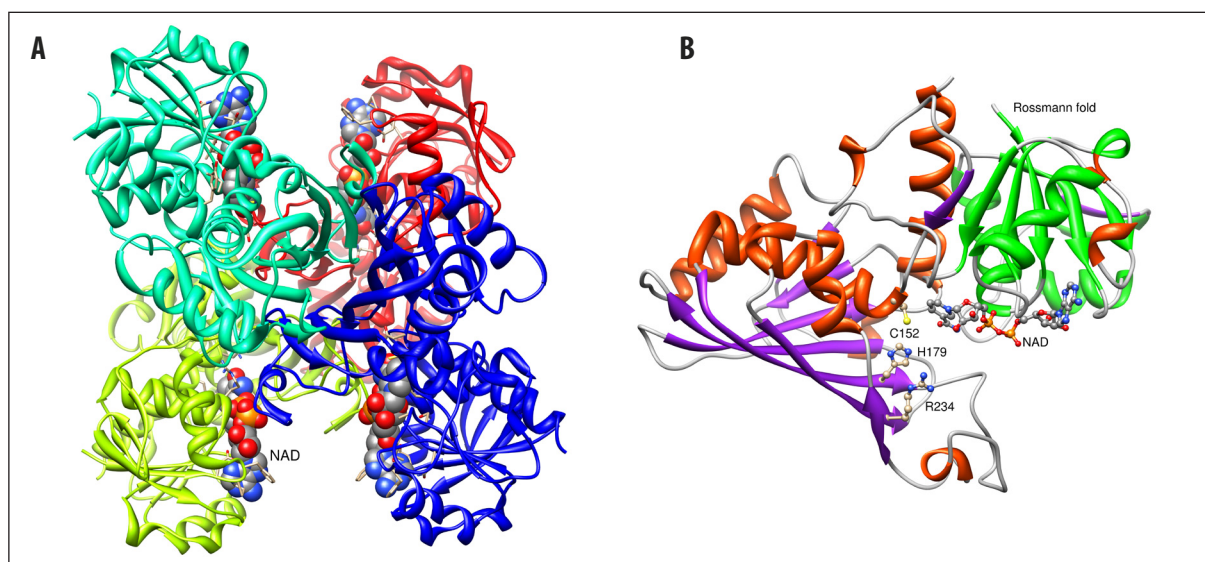
GAPDH jest udział w apoptozie i związane z tym przemieszczanie się i akumulacja enzymu w jądrze komórkowym [12,27,28,33,34,72]. Stwierdzono także, że enzym odgrywa istotną rolę w patofizjologii chorób neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Parkinsona, Alzheimer, Huntingtona [4,9,12,23,44,45,57,89].

Mimo tak wielu różnych funkcji i różnego umiejscowienia, ludzka dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego ma tylko jeden funkcjonalny gen zlokalizowany na chromosomie 12 (Gen ID: 2597) [9].

STRUKTURA ENZYMU

W komórkach ssaków dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego występuje w postaci tetrameru, rzadziej monomeru i dimeru. Tetrameryczna postać enzymu (~143 kDa), umiejscowiona głównie w cytoplazmie, zbudowana jest z czterech identycznych podjednostek (ryc. 1A). Monomeryczna postać dehydrogenazy jest umiejscowiona najczęściej w jądrze, natomiast dimeryczna w mitochondriach [9].

Monomer dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego złożony jest z 335 reszt aminokwasowych o łącznej masie cząsteczkowej około 36 kDa. W każdym z nich można wyodrębnić dwie domeny funkcjonalne: N-terminalną



Ryc. 1. Struktura GAPDH. A – Struktura homotetramery GAPDH z wbudowanym koenzymem NAD^+ . Każda z czterech podjednostek wybarwiona innym kolorem: żółtym, zielonym, czerwonym i niebieskim. B – Struktura monomery GAPDH z wbudowanym koenzymem i z zaznaczonymi aminokwasami występującymi w centrum katalitycznym bezpośrednio zaangażowanymi w reakcję przekształcania aldehydu 3-fosfoglicerynowego do 1,3-bisfosfoglicerynianu: Cys-152 (C152), His-179 (H179) oraz Arg-234 (R234). Dodatkowo, kolorem zielonym zaznaczono pofałdowanie Rossmanna. Grafika wykonana została z wykorzystaniem systemu wizualizacji Chimera VSCF [62] na podstawie krystalograficznej struktury ludzkiej GAPDH; PDB ID 1znq (wg [36], zmodyfikowano)

domenę wiążącą koenzym NAD^+ (reszty aminokwasowe 1-151 oraz 315-335) i C-terminalną domenę katalityczną (reszty aminokwasowe 152-314) [13,36,38].

Znaczenie funkcjonalne domen wynika z tego, że biorą one udział nie tylko w procesie glikolizy, ale także w wielu innych procesach np. domena wiążąca koenzym NAD^+ , a dokładnie obszar pofałdowania Rossmanna bierze udział w wiązaniu końców 3'UTR i 5'UTR mRNA [51,69], jest także miejscem wiązania tubuliny [58]. Domena katalityczna wiążąca substrat G3P reguluje także wiązanie GAPDH do błony oraz odpowiada za wewnątrzkomórkową lokalizację enzymu [74].

Sekwencja i budowa domeny wiążącej koenzym NAD^+ jest podobna do domen występujących w innych dehydrogenazach np. mleczanowej, alkoholowej [74]. W domenie tej występuje tzw. pofałdowanie Rossmanna, zbudowane z centralnie skręconych równoległych odcinków o strukturze β -kartek otoczonych z obu stron α -helisami. Obszar ten odpowiada za przyłączanie cząsteczki NAD^+ (ryc. 1B). Na podstawie krystalograficznych struktur GAPDH stwierdzono, że przyłączanie cząsteczki NAD^+ pociąga za sobą zmianę konformacji cząsteczki z „otwartej” na „zamkniętą”. Jest to związane ze zmniejszeniem dystansu między aminokwasami występującymi w centrum aktywnym, bezpośrednio zaangażowanymi w reakcję katalityczną, tj. między grupą tiolową Cys 152, a atomem azotu N^e reszty His 179 [13].

Domena katalityczna obejmuje reszty aminokwasowe 152-314. Obszar ten jest odpowiedzialny za przebieg reakcji chemicznej oraz swoistość substratową. Złożony jest z ośmiu równoległe skręconych fragmentów o strukturze β -kartek, połączonych z jednej strony krótkimi odcinkami

α -helisy, z drugiej strony struktury β rozległe oddziałują z tymi samymi obszarami domeny katalitycznej sąsiedniej podjednostki [36,38].

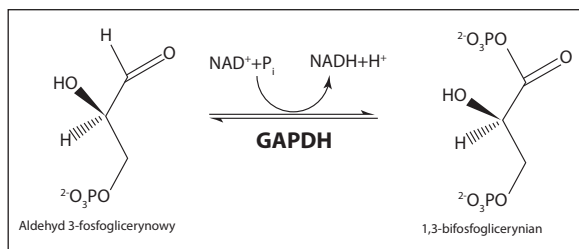
Centrum aktywne enzymu ułożone jest w dużej szczelinie między domeną katalityczną a domeną wiążącą koenzym. Obszar ten stanowi duże wgłębienie, zdolne pomieścić aldehyd 3-fosfoglicerynowy z jonem fosforanowym oraz koenzym NAD^+ .

UDZIAŁ GAPDH W GLIKOLIZIE

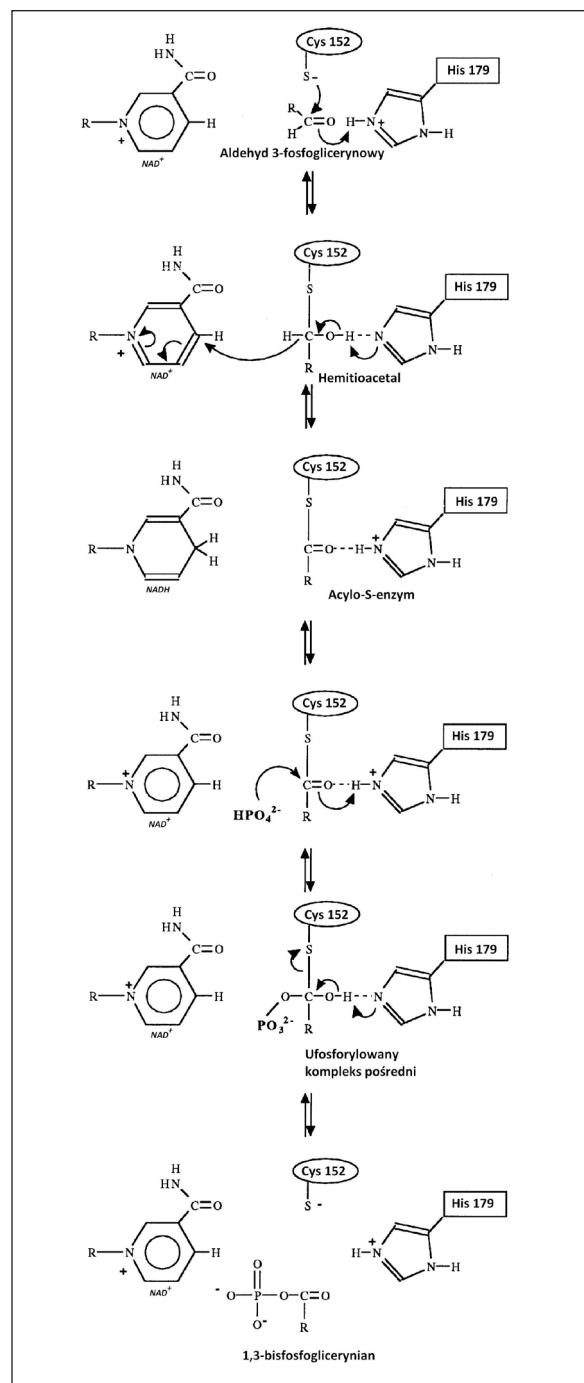
Podstawową funkcją dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego jest udział w szlaku glikolitycznym; enzym ten katalizuje oksydacyjną fosforylację aldehydu 3-fosfoglicerynowego do 1,3-bisfosfoglicerynianu z udziałem koenzymu NAD^+ (ryc. 2).

W pierwszym etapie katalizy, substrat, aldehyd 3-fosfoglicerynowy reaguje ze zjonizowaną grupą hydrosulfidową reszty cysteinowej znajdującej się w centrum aktywnym enzymu (Cys 152) tworząc hemitioacetal. Występująca w centrum aktywnym His 179 wzmaga aktywność grupy tiolowej oraz ułatwia tworzenie hemitioacetalu (ryc. 3) [50,75,76].

Przejsiowy związek, hemitioacetal, stabilizowany jest przez wiązanie wodorowe między grupą hydroksylową a azotem N^e pierścienia imidazolowego His 179. Następnie z udziałem His 179 dochodzi do przeniesienia jonu wodorowego z hemitioacetalu na atom węgla C4 cząsteczki NAD^+ . Produktami tej reakcji jest zredukowany koenzym NADH i wysokoenergetyczny tioester. NADH dysocjuje z kompleksu pod wpływem kolejnej cząsteczki NAD^+ , natomiast tioester w reakcji z ortofosforanem (P_i) tworzy



Ryc. 2. Schemat reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego



Ryc. 3. Mechanizm reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego (wg [78], zmodyfikowano)

1,3-bisfosfoglicerynian. Uwalnianie produktu (1,3-bisfosfoglicerynianu) wspomagane jest przez His 179 [75,78].

W badaniach z użyciem zmutowanych białek GAPDH pochodzących z *Bacillus stearothermophilus* wykazano, że podstawienie Cys 149 (odpowiednik Cys 152 w GAPDH człowieka) resztą seryny znacząco redukuje aktywność enzymu, natomiast podstawienie Cys 149 resztą alaniny całkowicie inaktywuje enzym. Inaktywację dehydrogenazy obserwowano także gdy resztę His 176 (odpowiednik His 179 w GAPDH człowieka) podstawiono resztą asparagionową [75,78].

Oprócz Cys 152 i His 179 w reakcję katalityczną bezpośrednio zaangażowana jest także Arg 234 (ryc. 1B). Łańcuch boczny tej reszty odgrywa ważną rolę w procesie wiązania substratu (aldehydu 3-fosfoglicerynowego) oraz uwalniania produktu (1,3-bisfosfoglicerynianu). Chemiczna modyfikacja Arg 234 redukuje aktywność GAPDH w 95 % [18,50,76].

UDZIAŁ GAPDH W TWORZENIU CYTOSZKIELETU KOMÓRKI

Cytoszkielek nadaje komórce kształt, umożliwia jej odkształcanie się, uczestniczy w transporcie wewnątrzkomórkowym oraz bierze udział w podziale komórki. Jednym z podstawowych białek cytoszkieletu jest tubulina, która w wyniku polimeryzacji tworzy mikrotubule. Powstawanie mikrotubul i ich rozpad są procesami niezbędnymi do funkcjonowania komórki.

W roku 1983 Kumagai i Sakai po raz pierwszy zaobserwowali oddziaływanie dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego z mikrotubulami. Proces ten był całkowicie hamowany przez 1mM ATP [40]. Dalsze badania potwierdziły powstawanie wiązek mikrotubul *in vitro* w obecności tubuliny i GAPDH [31]. Dehydrogenaza pełni funkcję katalizatora procesu polimeryzacji tubuliny.

Wiązanie GAPDH z poszczególnymi podjednostkami tubuliny zależy od fosforylacji cząsteczki enzymu: ufosforylowana cząsteczka GAPDH (pGAPDH) łączy się z β -tubuliną, natomiast nieufosforylowana postać enzymu łączy się swoicie z C-terminalnym obszarem α -tubuliny (reszty aminokwasowe 409-451) [83,93,94].

Zdolność przyłączania się do mikrotubul ma postać dimeryczną i tetrameryczną GAPDH, ale katalizowanie procesu polimeryzacji tubuliny możliwe jest jedynie w obecności tetramerycznej postaci dehydrogenazy [94].

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego umożliwia także przyłączenie do mikrotubul innych białek, takich jak np. białko p22, które reguluje oddziaływanie mikrotubul z błonami komórkowymi [1].

UDZIAŁ GAPDH W FUZJI BŁON KOMÓRKOWYCH

Zjawisko łączenia warstw lipidowych dwóch błon komórkowych (fuzja) zachodzi między błonami struktur

cytoplazmatycznych oraz między błonami struktur cytoplazmatycznych, a błoną komórkową. Proces ten obserwowany jest m.in. podczas zapłodnienia, gdy dochodzi do połączenia komórki jajowej i plemnika, podczas odpowiedzi immunologicznej, a także w czasie transportu pęcherzykowego w aparacie Golgiego. Białka, które wykazują fuzogenną aktywność, tj. białka mające zdolność do scalania dwuwarstw fosfolipidowych, odgrywają ogromną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu komórek. Jednym z takich białek jest dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego.

Udział GAPDH w procesie fuzji błon komórkowych po raz pierwszy opisali Morero i wsp. [49]. Spośród badanych przez autorów białek (m.in. BSA, lizozym, LDH, GAPDH) GAPDH najefektywniej katalizowała proces łączenia się syntetycznych fosfolipidów złożonych z fosfatydylocholino i kwasu fosfatydowego. Pęcherzyki lipidowe inkubowane w obecności dehydrogenazy w stężeniu 0,15 µg/ml, pH 7,5 uległy fuzji już w ciągu 120 s. Dla porównania, pęcherzyki lipidowe w układzie kontrolnym (bez dehydrogenazy) nie ulegały fuzji nawet po 60 godz. inkubacji [49]. Stwierdzono także, że fuzja błon w obecności GAPDH zachodzi najszybciej w pH 4,5–5,0. Aktywność dehydrogenazy wzrasta wraz ze wzrostem temperatury i zależy od ładunku pęcherzyków lipidowych – ujemnie naładowane pęcherzyki łączą się wydajniej [41]. Inhibitorem właściwości fuzogennych GAPDH jest aldehyd 3-fosfoglicerynowy oraz tubulina [21,22].

W wyżej przedstawionych badaniach wykorzystano pęcherzyki, w których składzie lipidowym dominowała fosfatydylocholina. Fosfatydylocholina *in vivo* stanowi tylko niewielki procent lipidów większości błon komórkowych ssaków. Wyjątkiem są błony retikulum endoplazmatycznego i aparatu Golgiego, gdzie fosfatydylocholina stanowi odpowiednio 54 i 45% wszystkich lipidów [20]. W kolejnych badaniach wykorzystano pęcherzyki o składzie lipidowym zbliżonym do składu otoczki mielinowej komórek nerwowych ssaków (tj. fosfatydylocholina – 27%, fosfatydyloetanoloamina – 27%, fosfatydyloseryna 6%, cholesterol – 40% [20]). Zaobserwowano, że spośród cytosolowych białek wyizolowanych z mózgu szczura jedynie GAPDH katalizowała łączenie pęcherzyków lipidowych [21].

Fuzogenną aktywność GAPDH potwierdzono także w badaniach, w których wykorzystano naturalnie występujące błony komórkowe i błony struktur subkomórkowych. Udowodniono, że GAPDH wyizolowana z mózgu szczura katalizuje łączenie się błony komórkowej komórek β trzustki szczura z pęcherzykami (ziarnistościami) wydzielniczymi zaangażowanymi w wydzielanie insuliny [26]. W innych badaniach, w których wykorzystano ekstrakt zlizowanych oocytów żabich (*Xenopus* egg extract), zaobserwowano udział GAPDH w procesie odbudowy otoczki jądrowej w późnej anafazie. Dehydrogenaza w tym procesie uczestniczyła prawdopodobnie w jednym z etapów łączenia prekursorowych pęcherzyków związanych z chromatyną (nuclear membrane vesicles on chromatin) [52].

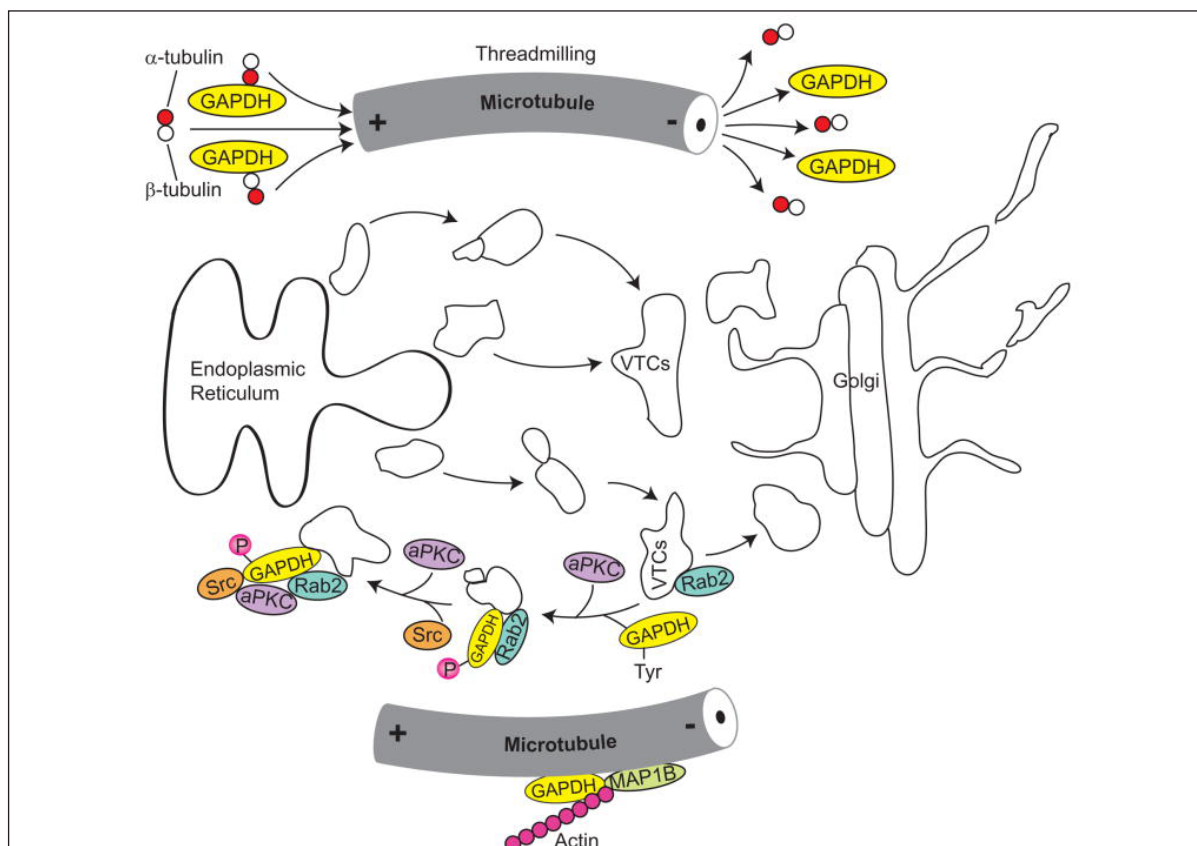
UDZIAŁ GAPDH W TRANSPORCIE PĘCHERZYKOWYM

Oprócz właściwości fuzogennych, dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego bierze udział w transporcie pęcherzykowym wewnątrz komórki [80,81,82,83,84,85,86,87] (ryc. 4). GAPDH uczestniczy w transporcie wstecznym (retrograde transport) między polimorficzną, tubularno-pęcherzykową strukturą pośrednią (vesicular tubular cluster – VTC) a retikulum endoplazmatycznym (ER). Transport ten odbywa się z udziałem pęcherzyków opłaszczonych kompleksem białkowym typu COP-I i służy głównie transportowaniu białek dostarczonych do VTC przez pomyłkę lub białek będących składową pęcherzyków COP-II, które wymagają transportu zrotnego do ponownego recyklingu [8].

Rola GAPDH w transporcie pęcherzykowym związana jest z tworzeniem kompleksu białkowego na powierzchni struktur pośrednich (VTC) [80]. Enzym wpływa także na zmianę struktury cytoszkieletu ułatwiając wewnątrzkomórkowe przemieszczanie się ładunku (carga) [85] oraz pełni główną funkcję regulującą przebieg procesu [82,83,84,85,87] (ryc. 5).

Jedne z pierwszych badań potwierdzających udział GAPDH w transporcie pęcherzykowym między retikulum endoplazmatycznym a VTC przeprowadzili Tisdale i wsp. [80]. W badaniach tych wykorzystano przeciwciała poliklonalne przeciwko GAPDH oraz komórki prawidłowe pochodzące z nerek szczura (normal rat kidney – NRK) za-infekowane wirusem ts-405. Wirus ten syntetyzuje białka, które w temp. 39,5°C akumulowane są w ER, jeśli jednak temperatura obniży się do 32°C białka te transportowane są do aparatu Golgiego (AG) za pośrednictwem pęcherzyków zawierających białka Rab-2. Stwierdzono, że inkubacja komórek NRK z przeciwciałami przeciwko GAPDH hamuje w sposób zależny od stężenia przeciwciał transport białek wirusowych. Badania wykazały, że więcej niż 60% białek wirusowych transportowanych było w komórkach NRK zależnie od GAPDH [80].

Kompleks białkowy zaangażowany w powstawanie pęcherzyka transportującego inicjowany jest przez białko Rab2 [86]. Tak więc pierwszym białkiem przyłączanym przez Rab2 jest prawdopodobnie dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (ryc. 4). Następnie do kompleksu zostaje przyłączona kinaza tyrozynowa Src, która bezpośrednio oddziałuje z GAPDH i katalizuje fosforylację dehydrogenazy w pozycji Tyr-41 [84]. Ufosforylowana GAPDH (pGAPDH) jest prawdopodobnie czynnikiem determinującym wzajemne oddziaływanie GAPDH z atypową kinazą białkową λ (aPKCλ) oraz działa jako białkowy łącznik stabilizujący wiązanie aPKCλ z N-terminalnym odcinkiem białka Rab-2 [83, 84]. Kinaza aPKCλ po przyłączeniu do kompleksu białkowego ulega fosforylacji w reakcji z kinazą Src. Ufosforylowana aPKCλ katalizuje kolejną fosforylację cząsteczki GAPDH. Powstały kompleks Rab2-Src-aPKCλ-GAPDH determinuje i reguluje miejsce pączkowania pęcherzyka zawierającego ładunek.

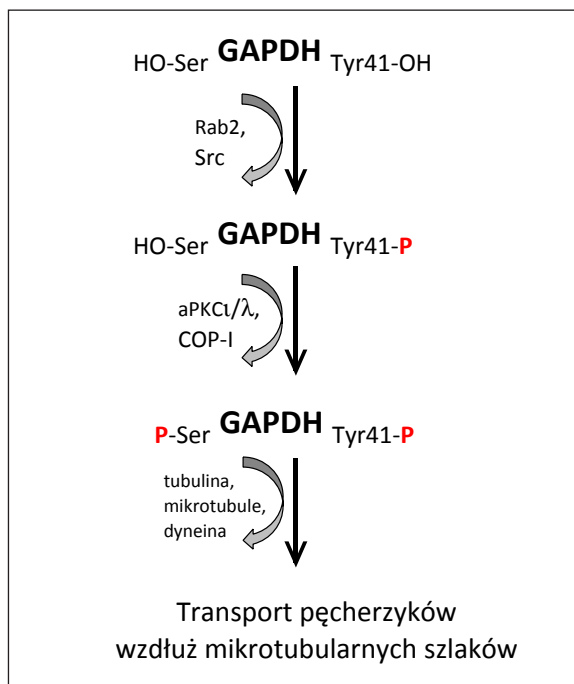


Ryc. 4. Udział GAPDH w tworzeniu cytoskieletu i w transporcie pęcherzykowym. GAPDH oddziałując z tubuliną i aktyną ułatwia tworzenie mikrotubul i polimeryzację aktyny. GAPDH uczestniczy w transporcie pęcherzykowym między ER a aparatem Golgiego. Na powierzchni tubularno-pęcherzykowej struktury pośredniej (VTC) białko Rab2 inicjuje powstawanie kompleksu białkowego, w skład którego wchodzi GAPDH, atypowa kinaza białkowa (aPKC) i kinaza tyrozynowa (Src) (wg [88] za zgodą wydawnictwa)

Jak opisano wcześniej, GAPDH oddziałuje z tubuliną powodując jej polimeryzację i powstawanie mikrotubul [31]. Dynamiczna struktura mikrotubul zapewnia przestrzenną organizację w komórce umożliwiając w ten sposób transport pęcherzyków i struktur tabularnych między różnymi obszarami komórki. Ufosforylowana cząsteczka dehydrogenazy (pGAPDH), występująca w kompleksie białkowym Rab2-aPKCλ-COP-I, jest łącznikiem między mikrotubulami a błoną pęcherzykową. Wykazano, że przeciwciała GAPDH hamują przemieszczanie się tubuliny w obrębie komórki oraz udaremniają zawiązywanie się mikrotubul. Nie dochodzi również do asocjacji motorycznego białka – dyneiny z błoną pęcherzykową. Badania te świadczą o tym, że GAPDH zapewnia przemieszczanie się pęcherzyków między VTC a retikulum endoplazmatycznym [85].

UDZIAŁ GAPDH W PROCESACH ZACHODZĄCYCH W JĄDRZE

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego jest białkiem występującym przede wszystkim w cytosolu, jednak niewielka pula enzymu może ulec przemieszczeniu do jądra komórkowego [15,27, 35,59,60,68,91]. Dotychczas nie opisano dokładnie szlaków translokacji dehydrogenazy z cytoplazmy do jądra. Wiadomo, że GAPDH nie ma sekwencji sygnalizacyjnej dla tego procesu (nuclear localization signal – NLS) i nie może



Ryc. 5. Rola potranslacyjnych modyfikacji GAPDH w regulacji procesu powstawania pęcherzyków transportujących oraz ich przemieszczania się wzdłuż szlaków mikrotubularnych (wg [73] - zmodyfikowano)

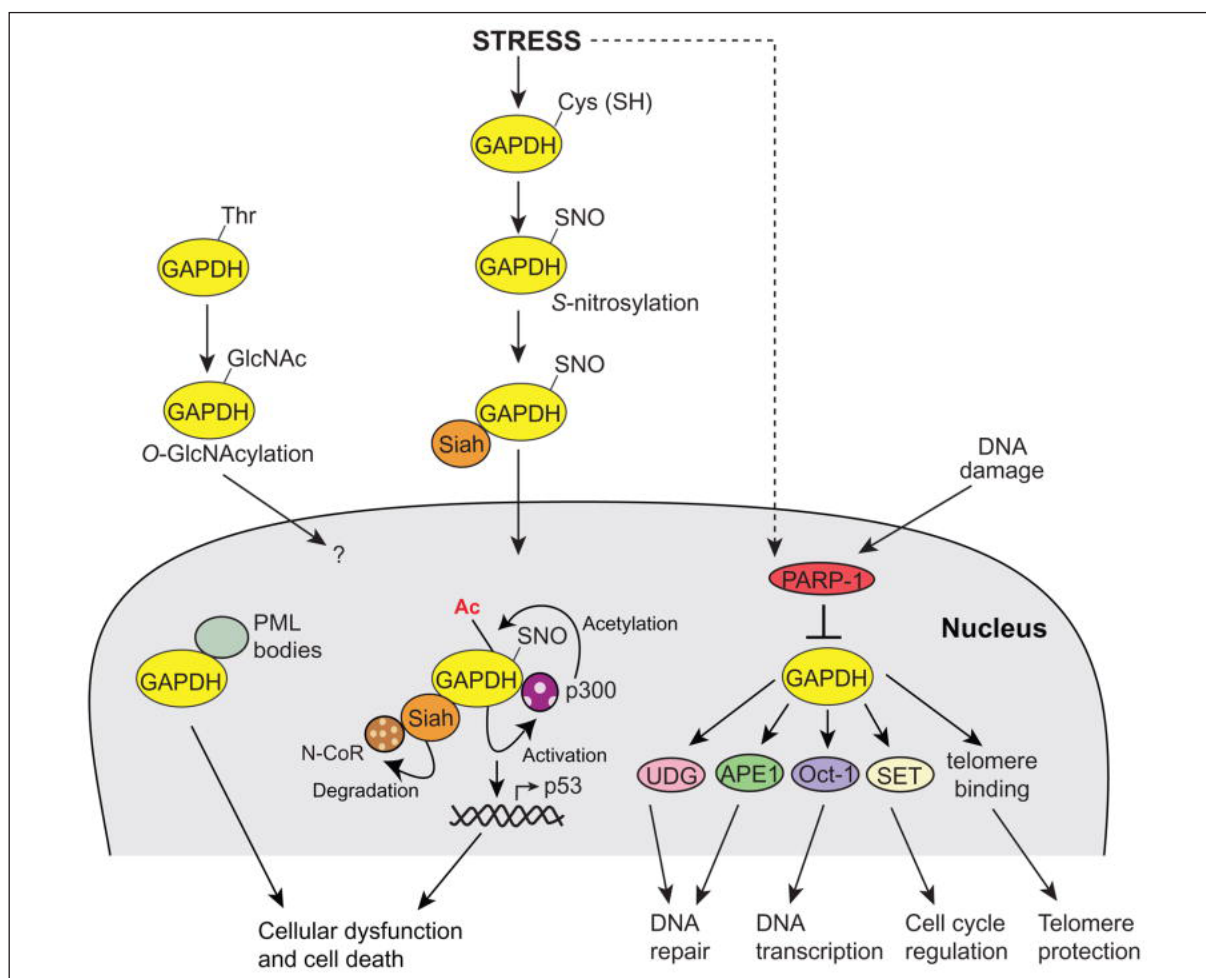
się sama przemieszczać. Transport bierny ze względu na duży rozmiar cząsteczki (tetramer) jest niemożliwy. Jedynym, dobrze udokumentowanym w literaturze, sposobem przemieszczania się GAPDH jest tworzenie kompleksu z białkiem Siah-1 (ligazą ubikwityny E3) na skutek S-nitrozylacji reszty Cys-152 występującej w centrum aktywnym dehydrogenazy [27,28,72]. Istnieje prawdopodobnie także inny mechanizm transportu, gdyż obecność monomerycznej postaci enzymu zaobserwowano w jądrach komórek niepoddanych działaniu czynników wywołujących stres oksydacyjny. Jedne z najnowszych doniesień literaturowych sugerują, że za translokację enzymu może być odpowiedzialna modyfikacja treoniny 227 polegająca na przyłączeniu N-acyloglukozaminy wiązaniem O-glikozydowym do treoniny (O-GlcNAcylation) [60].

W jądrze komórkowym dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego uczestniczy w licznych procesach, m.in. utrzymujących integralność DNA, regulujących ekspresję genów, ale także w procesach prowadzących do dysfunkcji i śmierci komórki (ryc. 6).

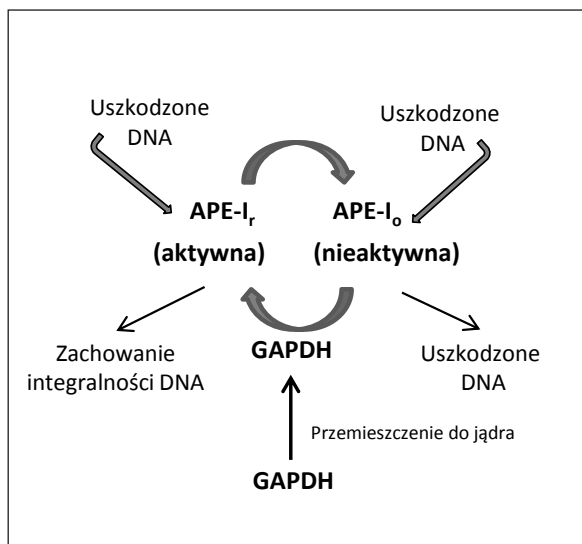
Rola GAPDH w utrzymaniu integralności DNA

Zdolność komórki do naprawy DNA jest istotna dla integralności fizycznej całego genomu oraz integralności informacji genetycznej. Jednym z enzymów naprawczych DNA jest glikozylaza uracylowa (UNG), która wycina cząsteczki uracylu lub jego pochodne powstałe w wyniku oksydacyjnych modyfikacji. Stwierdzono, że aktywność podobną do UDG ma występująca w jądrze, monomeryczna postać GAPDH [17,42,67].

Innym enzymem usuwającym uszkodzone elementy materiału genetycznego jest endonukleaza apurynowa/apirymidynowa (APE-1). Enzym ten usuwa niepołączone z zasadami DNA reszty cukrowe oraz reguluje proces transkrypcji. APE-1 w komórce występuje w postaci aktywnej – postać zredukowana APE-1_r oraz nieaktywnej – postać utleniona APE-1_o (ryc. 7). Tworzenie się APE-1_o na fizjologicznie znaczącym poziomie zagraża integralności DNA i wpływa na procesy regulujące transkrypcję genów. Jądrowa frakcja GAPDH jest niezmiernie istotna do utrzymania endonukleazy APE-1 w postaci katalicznie



Ryc. 6. Udział GAPDH w procesach zachodzących w jądrze komórkowym. Rysunek przedstawia modyfikacje GAPDH (S-nitrozylację i O-GlcNAcylation) umożliwiające przemieszczanie się dehydrogenazy z cytoplazmy do jądra. W jądrze zaznaczono białka, z którymi oddziałuje GAPDH – szczegółowo opisane w poszczególnych rozdziałach (wg [88] za zgodą wydawnictwa)



Ryc. 7. Udział GAPDH w przywracaniu aktywności katalitycznej endonukleazy APE-1

aktywnej poprzez udział w konwersji APE-1_o do APE-1_r. Udowodniono, że GAPDH przywracała aktywność APE-1 wcześniej zainaktywowanej (utlenionej) w reakcji z nadtlenkiem wodoru [2].

Fizjologiczne znaczenie „opiekuńczej roli” GAPDH w stosunku do APE-1 potwierdziły także badania na komórkach raka okrężnicy (linie HCT116 i DLD1). Komórki te potraktowano metanosulfonianem metylu oraz bleomycyną, uszkadzającymi DNA poprzez usuwanie zasad azotowych. Dodatkowo za pomocą siRNA wyciszono w nich ekspresję GAPDH. W DNA wyizolowanym z obydwu linii komórkowych zaobserwowano znacznie większą liczbę miejsc apurynowych/apirymidynowych w porównaniu z komórkami, w których nie wyciszano ekspresji GAPDH. Niski poziom GAPDH przyczynia się do znacznego obniżenia aktywności APE-1, co w konsekwencji powoduje akumulację uszkodzeń w materiale genetycznym [2].

Telomery, końcowe fragmenty chromosomów, ulegają skracaniu podczas każdego kolejnego podziału komórki. Najnowsze badania wskazują, że występująca w jądrze dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego wiąże się z telomerowym DNA chroniąc go przed skracaniem podczas replikacji. Wykazano, że GAPDH chroni także telomery przed szybką degradacją indukowaną lekami przeciwnowotworowymi – gemcitabiną i doksorubicyną [16,77]. W tworzenie kompleksu GAPDH z telomerowym DNA zaangażowane są zasady nukleotydowe T1, G5 i G6 powtarzalnej sekwencji TTAGGG telomeru oraz miejsce wiązania NAD⁺ w GAPDH [16].

Rolę jądrowego GAPDH w ochronie telomerowego DNA potwierdzono w badaniach na komórkach, w których częściowo zahamowano ekspresję dehydrogenazy lub spowodowano jej nadekspresję. W pierwszym przypadku zaobserwowano gwałtowne skracanie telomerów, w drugim natomiast wysoki poziom dehydrogenazy chronił telo-

merowy DNA przed skracaniem indukowanym chemioterapeutykami [16].

Udział GAPDH w regulacji ekspresji genów

Występująca w jądrze komórkowym dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego oprócz udziału w szlakach istotnych do zachowania integralności materiału genetycznego (opisanych wyżej) uczestniczy także w regulacji ekspresji niektórych genów.

GAPDH jako czynnik transkrypcyjny

Transkrypcja genu histonu 2B (H2B) zależy m.in. od białka Oct-1 (Octamer-binding factor 1) oraz od aktywatora dla Oct-1, wielobiałkowego kompleksu OCA-S (Oct-1 Co-activator in S-phase) o masie cząsteczkowej ~300 kDa. W skład kompleksu OCA-S wchodzi m.in. GAPDH, za pośrednictwem której OCA-S wiąże się z Oct-1 w fazie S cyklu komórkowego. W czasie transkrypcji kompleks Oct-1:OCA-S jest selektywnie przyłączany do promotorowego odcinka genu histonu 2B.

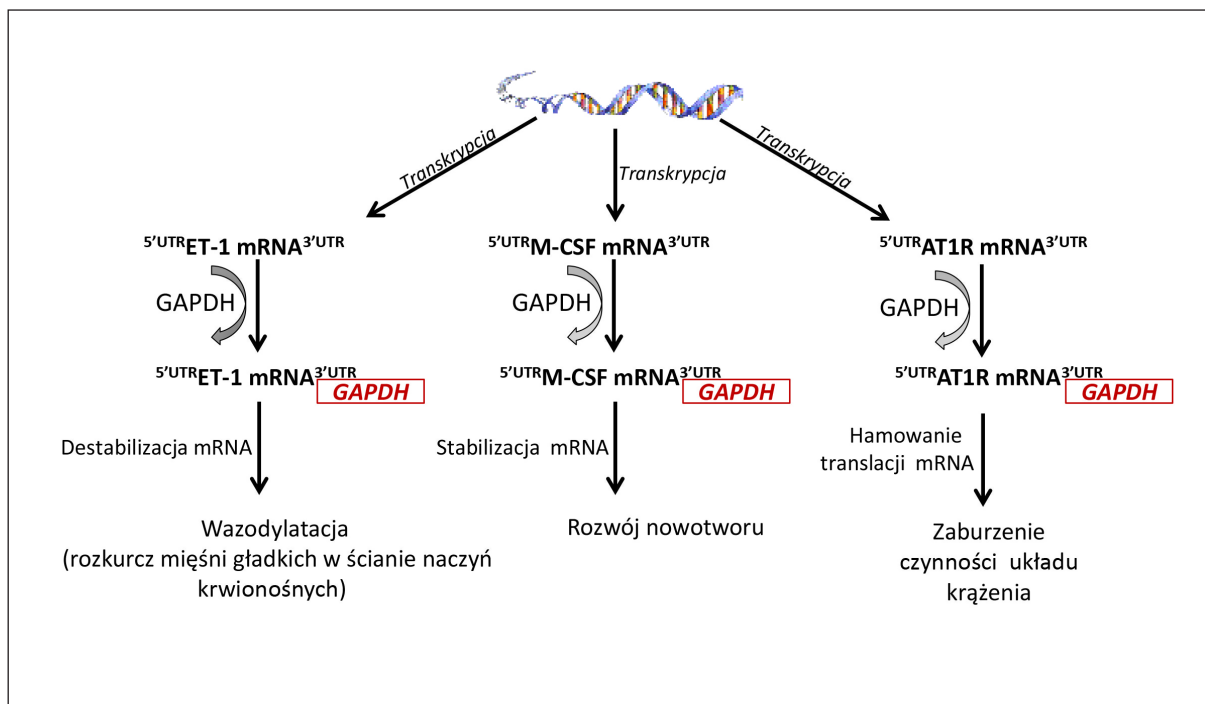
Usunięcie GAPDH metodą immunoprecypitacji lub obniżenie ekspresji GAPDH za pomocą siRNA znacznie redukuje poziom transkrypcji genu H2B. Stwierdzono także, że właściwy stosunek NAD⁺/NADH zapewnia optymalną ekspresję histonu: NAD⁺ wbudowując się w GAPDH stymuluje proces transkrypcji, natomiast NADH blokuje go [14, 46, 96].

Udział GAPDH w regulacji potranskrypcyjnej ekspresji genów

Regulacja ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym zależy m.in. od białek przyłączanych do sekwencji nieulegających translacji, bogatych w zasady adeninowe i uracydowe (AU rich element lub ARE) występujących na końcu 3' (3' UTR) oraz 5' (5' UTR) mRNA. Jednym z białek regulujących potranskrypcyjną ekspresję genów jest GAPDH. Badania *in vitro* wykazały swoiste wiązanie GAPDH do końców 3'UTR i 5'UTR mRNA [69]. Wspólną kolokalizację GAPDH:mRNA potwierdzono także *in vivo* [51]. Ostatnie badania wykazują, że dehydrogenaza reguluje stabilność mRNA, takich białek jak: endotelina 1 (ET-1), czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagowych (M-CSF) oraz receptora typu 1 dla angiotensyny II (AT1R) (ryc. 8) [6,66,97].

Udział GAPDH w regulacji ekspresji endoteliny 1

Endotelina 1 (ET-1) jest polipeptydem złożonym z 21 reszt aminokwasowych, wytwarzanym przede wszystkim przez komórki śródbłónki naczyniowego. Jest jednym z najsilniejszych czynników powodujących kurczenie naczyń. Badania doświadczalne i kliniczne wskazują na istotną rolę ET-1 w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych, takich jak przewlekła niewydolność krążenia oraz nadciśnienie płucne. Właściwości prozapalne i immunomodulujące endoteliny sugerują jej ważną rolę



Ryc. 8. Udział GAPDH w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów (wg [73] - zmodyfikowano)

w patofizjologii miażdżycy oraz w niektórych nowotworach [7,19].

Najnowsze badania wykazały, że GAPDH przez przyłączanie się do niekodującej sekwencji 3'UTR mRNA dla ET-1 obniża ekspresję białka ET-1 [66] (ryc. 8). Analiza strukturalna mRNA dla ET-1 wskazała, że w wyniku wiązania dehydrogenazy do matrycowego RNA dochodzi do rozwijania struktury kwasu i staje się on podatny na działanie cytosolowych rybonukleaz [66]. Destabilizujący wpływ GAPDH na strukturę mRNA potwierdzają także inne badania przeprowadzone przez Schultza i wsp. [69]. Metodą dichroizmu kołowego wykazali oni zmiany helikalnej struktury sekwencji 5'UTR wirusa zapalenia wątroby typu A po związaniu z GAPDH.

Zarówno NAD^+ jak i G3P hamują wiązanie dehydrogenazy do mRNA. Tak więc za wiązanie dehydrogenazy do kwasu rybonukleinowego odpowiedzialne jest zarówno miejsce katalityczne, jak i miejsce wiążące koenzym. Oksydacyjne modyfikacje reszty cysteiny 152 (S-nitrozylacja, S-glutathionylacja i S-nitrozo-glutathionylacja), występującej w centrum aktywnym GAPDH, ograniczają wiązanie dehydrogenazy z niekodującą sekwencją 3'UTR mRNA ET-1. Skutkiem tego zwiększa się ekspresja białka ET-1. Fizjologicznie konsekwencją zwiększonego poziomu endoteliny jest gwałtowny skurcz naczyń krwionośnych [66].

Udział GAPDH w regulacji ekspresji M-CSF

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagowych M-CSF (macrophage-colony stimulating factor) jest cytokiną niezbędną do dojrzewania i różnicowania osteoklastów oraz stymulującą proliferację makrofagów. Działanie tej cy-

tokiny powoduje miejscową osteolizę, co może ułatwiać osiedlanie się komórek nowotworowych w tkance kostnej oraz w szpiku. Podwyższone stężenie M-CSF w surowicy stwierdzono u pacjentów z rakiem jajnika, okrężnicy, niedrobnokomórkowym rakiem płuca oraz z mięsakami kości i tkanek miękkich [25]. Nadekspresja M-CSF w komórkach nabłonkowych raka jajników zwiększa inwazyjność i ryzyko przerzutów nowotworu [11].

Podobnie jak w przypadku ET-1, dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego pełni rolę regulatora ekspresji białka M-CSF. GAPDH przyłącza się do końcowego fragmentu sekwencji 3'UTR obejmującego 144 nt przez co stabilizuje mRNA i chroni go przed rozpadem [6]. W konsekwencji dochodzi do niekorzystnej dla komórek wzmożonej syntezy białka M-CSF. Wyciszenie ekspresji GAPDH za pomocą interferencyjnego RNA (siRNA) redukuje poziom zarówno mRNA M-CSF jak i białka M-CSF [97].

Udział GAPDH w regulacji ekspresji białka M-CSF może w przyszłości być wykorzystane w nowoczesnym, ukierunkowanym leczeniu chorych z rakiem jajników.

Udział GAPDH w regulacji ekspresji AT1R

Receptor typu 1 dla angiotensyny II (AT1R) wiąże i reguluje działanie angiotensyny II. Poziom ekspresji receptora AT1 ma ogromne znaczenie w patofizjologii nadciśnienia tętniczego, miażdżycy i niewydolności serca. Jednym z regulatorów ekspresji AT1R jest GAPDH. Dehydrogenaza wiążąc się do mRNA hamuje bezpośrednio translację białka AT1R. Obniżenie ekspresji GAPDH lub jej oksydacyjna modyfikacja przez H_2O_2 zwiększa znacznie ekspresję AT1R [3].

Podsumowując, GAPDH wpływa na potranskrypcyjną regulację ekspresji genów w wyniku trzech różnych mechanizmów:

- dehydrogenaza w wyniku wiązania się z mRNA zwiększa stabilność mRNA CSF-1;
- oddziałując z mRNA ET-1 wpływa na rozluźnienie drugorzędowej struktury kwasu przez co ułatwia jego degradację;
- bezpośrednio hamuje translację AT1R (ryc. 8).

W każdym przypadku GAPDH wiąże się z końcowym odcinkiem 3'-UTR. Na podstawie analizy oddziaływań strukturalnych można wnioskować, że wiązanie GAPDH z każdym wyżej opisanych mRNA odbywa się w tym samym obszarze. O efekcie końcowym tego oddziaływania decyduje prawdopodobnie nie tylko miejsce wiązania enzymu z 3'-UTR, ale także budowa pozostałej części mRNA. Niewykluczony jest udział innych niż GAPDH czynników wpływających na mechanizmy regulacyjne.

WPEŁYW STRESU OKSYDACYJNEGO NA FUNKCJE I LOKALIZACJĘ GAPDH

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego jest wyjątkowo wrażliwa na modyfikację i uszkodzenia wywołane stresem oksydacyjnym [9,24,27,28,32,63,64,70]. Wielu badaczy uważa, że w komórce jest jedną z głównych tarcz dla reaktywnych form tlenu i azotu [32,52].

Jednym z powszechnie wykorzystywanych w badaniach czynników stresogennych jest promieniowanie jonizujące. Generuje ono reaktywne formy tlenu ($\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$), które także powstają w organizmie w stanach prawidłowych i patologicznych. Spośród RFT najwyższą skuteczność w radiacyjnej inaktywacji GAPDH wykazuje rodnik hydroksylowy. Ponad dwukrotnie mniejszy wpływ na właściwości funkcjonalne dehydrogenazy ma anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru [64,65]. GAPDH jest również podatna na inaktywację wywołaną działaniem wtórnych rodników białkowych i wodoronadtlenków białek [39,47].

Najbardziej wrażliwą na oksydacyjne modyfikacje jest reszta cysteinowa 152, występująca w centrum aktywnym enzymu. Fizjologicznie najważniejszymi modyfikacjami tej reszty jest S-tiolacja oraz S-nitrozylacja [24,27,28,48,63,70]. Stres oksydacyjny indukuje także tworzenie nierozpuszczalnych agregatów GAPDH (insoluble amyloid-like GAPDH aggregates) głównie w wyniku międzycząsteczkowych wiązań disiarczkowych z udziałem m.in. Cys-152 (ryc. 9) [53,54,55].

Inhibicja GAPDH na skutek S-tiolacji jest procesem odwracalnym, chroniącym grupy $-\text{SH}$ przed nieodwracalnymi modyfikacjami, często kosztem chwilowej utraty aktywności biologicznej [24,70]. Modyfikacja ta umożliwia enzymowi „przełączenie się” z funkcji metabolicz-

nych na funkcję pozwalającą utrzymać równowagę oksydacyjno-redukującą. Inhibicja enzymów glikolitycznych, w tym GAPDH umożliwia przekierowanie węglowodanów ze szlaku glikolitycznego na cykl pentozowy. W cyklu pentozowym wytwarzany jest NADPH, który stanowi ogromny potencjał redukujący, chroniący komórki przed nadmiernym i przedłużającym się stresem oksydacyjnym (ryc. 9) [63].

W odpowiedzi na stres komórkowy GAPDH uczestniczy także w regulacji szlaków sygnalizacji komórkowej np. sygnalizacji wapniowej. Stwierdzono, że GAPDH łączy się z receptorem trifosforanu inozytolu (IP_3R). Wpływa to na lokalne generowanie NADH, który reguluje uwalnianie wapnia z retikulum endoplazmatycznego do cytosolu [61].

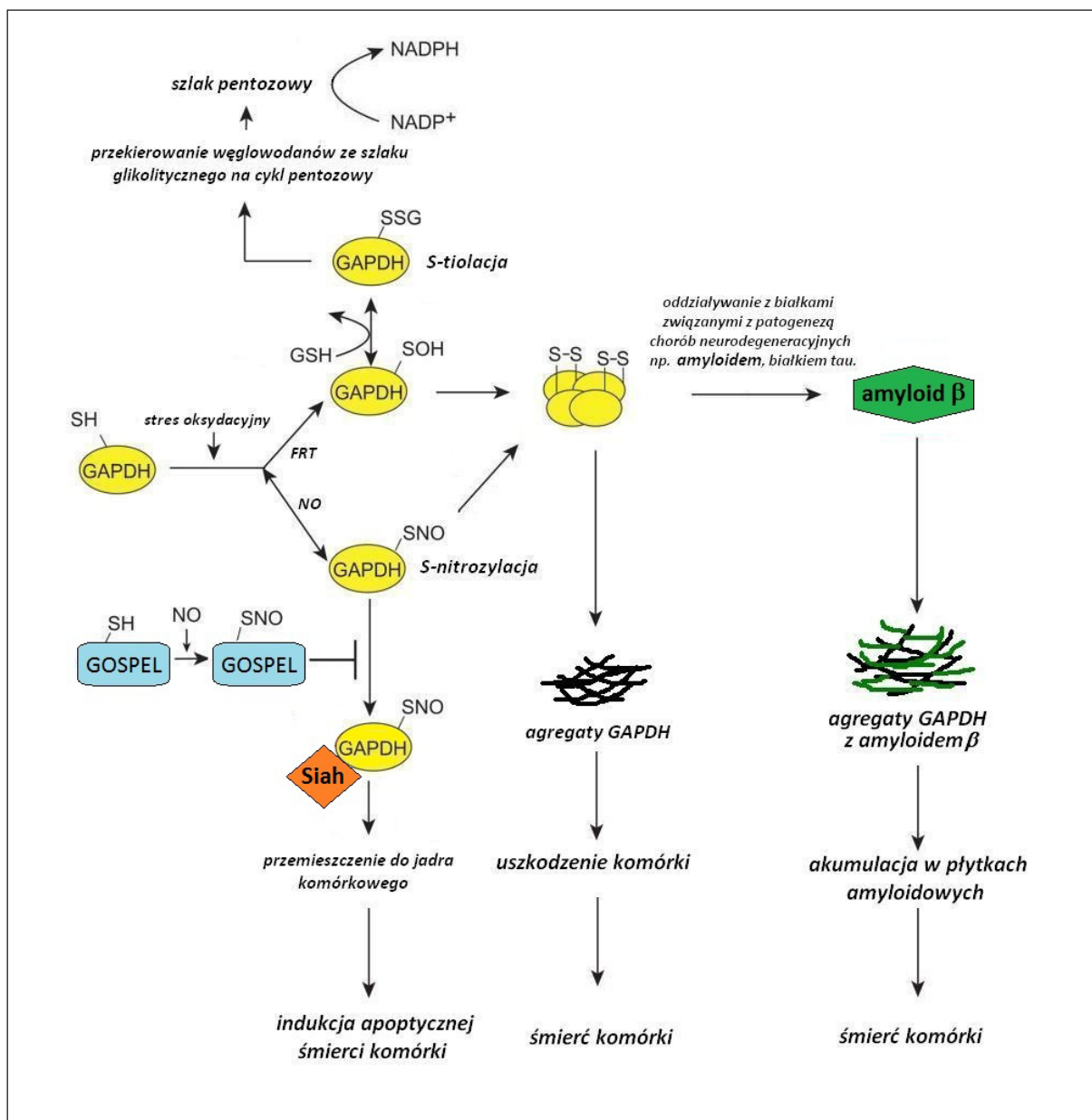
Udział GAPDH w apoptozie

Badania ostatnich kilku lat wskazują na istotną rolę GAPDH w inicjowaniu procesów apoptotycznych [28,29,33,34,35,68,72,79,89]. Pierwsze dowody potwierdzające proapoptotyczną funkcję dehydrogenazy dostarczyły badania, w których zaobserwowano, że w wyniku starzenia się komórek neuronalnych pochodzących z mózdzku lub ich ekspozycja na arabinozyd cytozyny (AraC), wzrasta poziom GAPDH w cytoplazmie oraz zwiększa się przemieszczanie enzymu do jądra. W rezultacie obserwowano indukcję apoptozy. Zastosowanie antysensownych oligonukleotydów hamujących ekspresję GAPDH, hamowało także apoptozę [33,34,35]. Obserwacje komórek neuronalnych potwierdzono także w odniesieniu do innych komórek m.in. hepatocytów, fibroblastów, komórek HeLa [5,15,53].

Pod wpływem stresu oksydacyjnego wywołanego tlenkiem azotu, GAPDH może działać jako przekaźnik sygnału między różnymi organelami w komórce. S-nitrozylacja Cys-152 umożliwia wiązanie dehydrogenazy z niestabilną ligazą *Siah-1* (seven in absentia homolog 1) [28,29]. Kompleks SNO-GAPDH:Siah-1 przemieszcza się do jądra komórkowego. W jądrze GAPDH stabilizuje i wzmacnia aktywność Siah-1, co prowadzi do ubikwitinacji i degradacji supresorowych białek jądrowych N-CoR (nuclear co-repressor) [27,28,72].

Przemieszczaniu się dehydrogenazy do jądra zapobiega białko GOSPEL (GADPH's competitor of siah protein enhances life) [56,71]. Wiąże się ono z GAPDH w kompetycji z białkiem Siah-1 (ryc. 9). Białko GOSPEL ma wysoki poziom ekspresji w tkankach o dużym zapotrzebowaniu energetycznym, w których jednocześnie obserwuje się znacznie podwyższoną ekspresję GAPDH, np. mięśnie, serce, mózg. Nadekspresja GOSPEL hamuje przemieszczanie się GAPDH do jądra przeciwdziałając tym samym inicjowaniu apoptozy.

W jądrze GAPDH ulega acetylacji w pozycji Lys 160 w reakcji z acetylotransferazą p300/CBP [72] (ryc. 10). Proces ten stymuluje katalityczną aktywność kompleksu p300/CBP. W kolejnych etapach dochodzi do acetylacji



Ryc. 9. Wpływ stresu oksydacyjnego na lokalizację i funkcję GAPDH. Oddziaływanie oksydacyjnie zmodyfikowanej GAPDH z białkami związanymi z patogenezą chorób neurodegeneracyjnych (wg [88] zmodyfikowano)

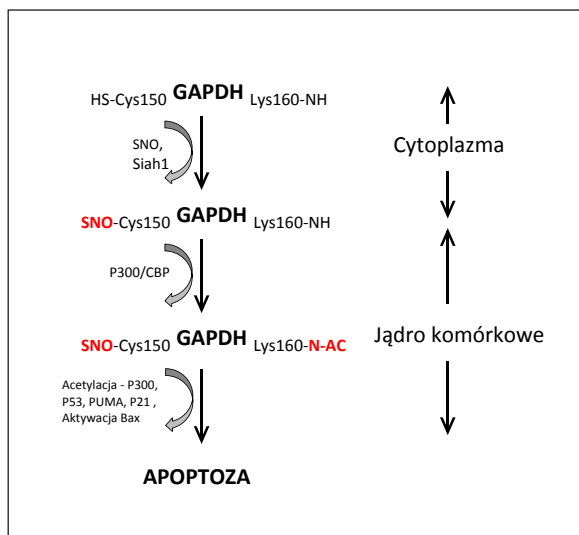
białek jądrowych, takich jak np. p53, PUMA, p21 i Bax. W konsekwencji dochodzi do indukcji apoptozy.

Coraz więcej wiadomości dotyczących lokowania się GAPDH w jądrze komórkowym oraz o udziale dehydrogenazy w apoptozie i w wielu innych procesach zachodzących w jądrze otwiera nowe możliwości w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. W tym przypadku naukowcy duże nadzieje wiążą z wykorzystaniem niskocząsteczkowych leków antyapoptotycznych (np. deprenyl i jego pochodne), które przez wiązanie się z GAPDH zapobiegają przemieszczaniu się enzymu do jądra, przez co nie dochodzi do indukcji apoptozy [73,88,90]. Na

podstawie dotychczasowych badań trudno natomiast jednoznacznie określić możliwości udziału GAPDH w terapii nowotworowej. Zagadnienie to jest bardzo złożone i wymaga wielu dalszych badań w bardzo szerokim zakresie.

Udział GAPDH w chorobach neurodegeneracyjnych

Wiele danych literaturowych wskazuje na udział GAPDH w chorobach neurodegeneracyjnych [9,12,23,29,30,44,45,90]. Dehydrogenaza jest jednym z głównych komponentów płytek amyloidowych i splotów neu-



Ryc. 10. Rola GAPDH w indukcji apoptozy (wg [73] - zmodyfikowano)

rofibrilarnych (NFT) oraz ciałek Lewiego w tkankach mózgu pobranych pośmiertnie od pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera i Parkinsona [79,95].

Najnowsze badania sugerują, że akumulacja GAPDH w płytkach amyloidowych i splotach neurofibrilarnych jest wynikiem utlenienia i degradacji dehydrogenazy w następstwie stresu oksydacyjnego [9,57].

W chorobach neurodegeneracyjnych obserwuje się nadekspresję GAPDH z jednoczesnym obniżeniem glikolitycznej aktywności enzymu [9]. Prawdopodobnie jest to wynik oddziaływania z białkami uczestniczącymi w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, takimi jak np. β -amyloid, prekursor β -amyloidu, białkiem tau (choroba Alzheimera), α -synukleina (choroba Parkinsona), huntingtyną (choroba Huntingtona). Przyczyną obniżonej aktywności dehydrogenazy jest oksydacyjna modyfikacja reszty cysteinowej występującej w centrum aktywnym (Cys-152) i/lub tworzenie agregatów za pomocą mostków disiarczkowych [53,54,55].

PODSUMOWANIE

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego jest białkiem pełniącym wiele różnych funkcji, niezwiązanych z pierwotnie opisanym udziałem w szlaku glikolitycznym. Udział w licznych procesach związany jest z potranslacyjnymi modyfikacjami (m.in. S-nitrozylacją, S-tiolacją, fosforylacją) oraz przemieszczaniem się enzymu w obrębie komórki. Mimo licznych badań brak nadal wyczerpującej wiedzy na ten temat. Niektóre funkcje GAPDH opisane już w literaturze wymagają doświadczalnego potwierdzenia.

Podziękowanie: Serdecznie dziękuję dr. Eligiuszowi Serafinowi za przygotowanie graficznych struktur GAPDH.

PIŚMIENICTWO

- [1] Andrade J., Pearce S.T., Zhao H., Barroso M.: Interactions among p22, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and microtubules. *Biochem. J.*, 2004; 384: 327-336
- [2] Azam S., Jouvett N., Jilani A., Vongsamphanh R., Yang X., Yang S., Ramotar D.: Human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase plays a direct role in reactivating oxidized forms of the DNA repair enzyme APE1. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 30632-30641
- [3] Backlund M., Paukku K., Daviet L., De Boer R.A., Valo E., Hautaniemi S., Kalkkinen N., Ehsan A., Kontula K.K., Lehtonen J.Y.: Posttranscriptional regulation of angiotensin II type 1 receptor expression by glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. *Nucleic Acids Res.*, 2009; 37: 2346-2358
- [4] Bae B.I., Hara M.R., Cascio M.B., Wellington C.L., Hayden M.R., Ross C.A., Ha H.C., Li X.J., Snyder S.H., Sawa A.: Mutant huntingtin: nuclear translocation and cytotoxicity mediated by GAPDH. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 3405-3409
- [5] Barbini L., Rodríguez J., Dominguez F., Vega F.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase exerts different biologic activities in apoptotic and proliferating hepatocytes according to its subcellular localization. *Mol. Cell. Biochem.*, 2007; 300: 19-28
- [6] Bonafe N., Gilmore-Hebert M., Folk N.L., Azodi M., Zhou Y., Chambers S.K.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase binds to the AU-rich 3' untranslated region of colony-stimulating factor-1 (CSF-1) messenger RNA in human ovarian cancer cells: possible role of CSF-1 posttranscriptional regulation and tumor phenotype. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3762-3771
- [7] Boratyńska M., Kamińska D., Mazanowska O.: Patofizjologia uszkodzenia niedokrwiennie-reperfuzyjnego w przeszczepianiu nerek. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 1-8
- [8] Bryksin A.V., Laktionov P.P.: Role of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in vesicular transport from golgi apparatus to endoplasmic reticulum. *Biochemistry*, 2008; 73: 619-625
- [9] Butterfield D.A., Hardas S.S., Lange M.L.: Oxidatively modified glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer's disease: many pathways to neurodegeneration. *J. Alzheimers Dis.*, 2010; 20: 369-393
- [10] Campanella M.E., Chu H., Low P.S.: Assembly and regulation of a glycolytic enzyme complex on the human erythrocyte membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 2402-2407
- [11] Chambers S.K.: Role of CSF-1 in progression of epithelial ovarian cancer. *Future Oncol.*, 2009; 5: 1429-1440
- [12] Chuang D.M., Hough C., Senatorov V.V.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, apoptosis, and neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005; 45: 269-290
- [13] Cowan-Jacob S.W., Kaufmann M., Anselmo A.N., Stark W., Grütter M.G.: Structure of rabbit-muscle glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 2003; 59: 2218-2227
- [14] Dai R.P., Yu F.X., Goh S.R., Chng H.W., Tan Y.L., Fu J.L., Zheng L., Luo Y.: Histone 2B (H2B) expression is confined to a proper NAD⁺/NADH redox status. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 26894-26901
- [15] Dastoor Z., Dreyer J.L.: Potential role of nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in apoptosis and oxidative stress. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 1643-1653
- [16] Demarse N.A., Ponnusamy S., Spicer E.K., Apohan E., Baatz J.E., Ogretmen B., Davies C.: Direct binding of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to telomeric DNA protects telomeres against chemotherapy-induced rapid degradation. *J. Mol. Biol.*, 2009; 394: 789-803

- [17] Demple B., Harrison L.: Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology. *Annu. Rev. Biochem.*, 1994; 63: 915-948
- [18] Didierjean C., Corbier C., Fatih M., Favier F., Boschi-Muller S., Branlant G., Aubry A.: Crystal structure of two ternary complexes of phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from *Bacillus stearothermophilus* with NAD and D-glyceraldehyde 3-phosphate. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 12968-12976
- [19] Dobrek Ł., Thor P.: Endotelina w patofizjologii chorób sercowo-naczyniowych. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2010; 28: 289-292
- [20] Dowhan W., Bogdanov M.: W: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, red.: J.E. Vance, D.E. Vance. Elsevier 2002
- [21] Glaser P.E., Gross R.W.: Rapid plasmenylethanolamine-selective fusion of membrane bilayers catalyzed by an isoform of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: discrimination between glycolytic and fusogenic roles of individual isoforms. *Biochemistry*, 1995; 34: 12193-12203
- [22] Glaser P.E., Han X., Gross R.W.: Tubulin is the endogenous inhibitor of the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase isoform that catalyzes membrane fusion: Implications for the coordinated regulation of glycolysis and membrane fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 14104-14109
- [23] Gómez A., Ferrer I.: Increased oxidation of certain glycolysis and energy metabolism enzymes in the frontal cortex in Lewy body diseases. *J. Neurosci. Res.*, 2009; 87: 1002-1013
- [24] Grant C.M., Quinn K.A., Dawes I.W.: Differential protein S-thiolation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase isoenzymes influences sensitivity to oxidative stress. *Mol. Cell. Biol.*, 1999; 19: 2650-2656
- [25] Groblewska M., Mroczko B., Czygier M., Szmikowski M.: Cytokiny jako markery osteolizy w diagnostyce pacjentów z przerzutami nowotworowymi do kości. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 668-675
- [26] Han X., Ramanadham S., Turk J., Gross R.W.: Reconstitution of membrane fusion between pancreatic islet secretory granules and plasma membranes: catalysis by a protein constituent recognized by monoclonal antibodies directed against glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998; 1414: 95-107
- [27] Hara M.R., Agrawal N., Kim S.F., Cascio M.B., Fujimuro M., Ozeki Y., Takahashi M., Cheah J.H., Tankou S.K., Hester L.D., Ferris C.D., Hayward S.D., Snyder S.H., Sawa A.: S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. *Nat. Cell Biol.*, 2005; 7: 665-674
- [28] Hara M.R., Snyder S.H.: Nitric oxide-GAPDH-Siah: a novel cell death cascade. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006; 26: 527-538
- [29] Huang J., Hao L., Xiong N., Cao X., Liang Z., Sun S., Wang T.: Involvement of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in rotenone-induced cell apoptosis: relevance to protein misfolding and aggregation. *Brain Res.*, 2009; 1279: 1-8
- [30] Huang J., Xiong N., Chen C., Xiong J., Jia M., Zhang Z., Cao X., Liang Z., Sun S., Lin Z., Wang T.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: activity inhibition and protein overexpression in rotenone models for Parkinson's disease. *Neuroscience*, 2011; 192: 598-608
- [31] Huitorel P., Pantaloni D.: Bundling of microtubules by glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and its modulation by ATP. *Eur. J. Biochem.*, 1985; 150: 265-269
- [32] Hwang N.R., Yim S.H., Kim Y.M., Jeong J., Song E.J., Lee Y., Lee J.H., Choi S., Lee K.J.: Oxidative modifications of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase play a key role in its multiple cellular functions. *Biochem. J.*, 2009; 423: 253-264
- [33] Ishitani R., Chuang D.M.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase antisense oligodeoxynucleotides protect against cytosine arabinonucleoside-induced apoptosis in cultured cerebellar neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 9937-9941
- [34] Ishitani R., Sunaga K., Hirano A., Saunders P., Katsube N., Chuang D.M.: Evidence that glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is involved in age-induced apoptosis in mature cerebellar neurons in culture. *J. Neurochem.*, 1996; 66: 928-935
- [35] Ishitani R., Tanaka M., Sunaga K., Katsube N., Chuang D.M.: Nuclear localization of overexpressed glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in cultured cerebellar neurons undergoing apoptosis. *Mol. Pharmacol.*, 1998; 53: 701-707
- [36] Ismail S.A., Park H.W.: Structural analysis of human liver glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 2005; 61: 1508-1513
- [37] Jeffery C.J.: Moonlighting proteins. *Trends Biochem. Sci.*, 1999; 24: 8-11
- [38] Jenkins J.L., Tanner J.J.: High-resolution structure of human D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 2006; 62: 290-301
- [39] Kowalczyk A., Serafin E., Puchała M.: Inactivation of chosen dehydrogenases by the products of water radiolysis and secondary albumin and haemoglobin radicals. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2008; 84: 15-22
- [40] Kumagai H., Sakai H.: A porcine brain protein (35 K protein) which bundles microtubules and its identification as glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. *J. Biochem.*, 1983; 93: 1259-1269
- [41] López Vinals A.E., Fariás R.N., Morero R.D.: Characterization of the fusogenic properties of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: fusion of phospholipid vesicles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987; 143: 403-409
- [42] Mansur N.R., Meyer-Siegler K., Wurzer J.C., Sirover M.A.: Cell cycle regulation of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase/uracil DNA glycosylase gene in normal human cells. *Nucleic Acids Res.*, 1993; 21: 993-998
- [43] Maughan D.W., Henkin J.A., Vigoreaux J.O.: Concentrations of glycolytic enzymes and other cytosolic proteins in the diffusible fraction of a vertebrate muscle proteome. *Mol. Cell. Proteomics.*, 2005; 4: 1541-1549
- [44] Mazzola J.L., Sirover M.A.: Alteration of intracellular structure and function of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: a common phenotype of neurodegenerative disorders? *Neurotoxicology*, 2002; 23: 603-609
- [45] Mazzola J.L., Sirover M.A.: Reduction of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity in Alzheimer's disease and in Huntington's disease fibroblasts. *J. Neurochem.*, 2001; 76: 442-449
- [46] McKnight S.: Gene switching by metabolic enzymes — how did you get on the invitation list? *Cell*, 2003; 114: 150-152
- [47] Miura T., Muraoka S., Ogiso T.: Inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by ferriylmyoglobin. *Chem. Biol. Interact.*, 1997; 107: 173-183
- [48] Mohr S., Hallak H., de Boitte A., Lapetina E.G., Brüne B.: Nitric oxide-induced S-glutathionylation and inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 9427-9430
- [49] Morero R.D., Viñals A.L., Bloj B., Fariás R.N.: Fusion of phospholipid vesicles induced by muscle glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in the absence of calcium. *Biochemistry*, 1985; 24: 1904-1909
- [50] Nagradova N.K.: Study of the properties of phosphorylating D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Biochemistry*, 2001; 66: 1067-1076
- [51] Nagy E., Rigby W.F.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase selectively binds AU-rich RNA in the NAD(+) binding region (Rossmann fold). *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 2755-2763
- [52] Nakagawa T., Hirano Y., Inomata A., Yokota S., Miyachi K., Kaneda M., Umeda M., Furukawa K., Omata S., Horigome T.: Participation of a fusogenic protein, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, in nuclear membrane assembly. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 20395-20404

- [53] Nakajima H., Amano W., Fujita A., Fukuhara A., Azuma Y.T., Hata F., Inui T., Takeuchi T.: The active site cysteine of the proapoptotic protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is essential in oxidative stress-induced aggregation and cell death. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 26562-26574
- [54] Nakajima H., Amano W., Fukuhara A., Kubo T., Misaki S., Azuma Y.T., Inui T., Takeuchi T.: An aggregate-prone mutant of human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase augments oxidative stress-induced cell death in SH-SY5Y cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009; 390: 1066-1071
- [55] Nakajima H., Amano W., Kubo T., Fukuhara A., Ihara H., Azuma Y.T., Tajima H., Inui T., Sawa A., Takeuchi T.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase aggregate formation participates in oxidative stress-induced cell death. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 34331-34341
- [56] Nakamura T., Lipton S.A.: According to GOSPEL: filling in the GAP(DH) of NO-mediated neurotoxicity. *Neuron*, 2009; 63: 3-6
- [57] Naletova I., Schmalhausen E., Kharitonov A., Katrukha A., Saso L., Caprioli A., Muronetz V.: Non-native glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase can be an intrinsic component of amyloid structures. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008; 1784: 2052-2058
- [58] Nogales E., Downing K.H., Amos L.A., Lowe J.: Tubulin and FtsZ form a distinct family of GTPases. *Nature. Struct. Biol.*, 1998; 5: 451-458
- [59] Ortiz-Ortiz M.A., Morán J.M., Ruiz-Mesa L.M., Bravo-San Pedro J.M., Fuentes J.M.: Paraquat exposure induces nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and the activation of the nitric oxide-GAPDH-Siah cell death cascade. *Toxicol. Sci.*, 2010; 116: 614-622
- [60] Park J., Han D., Kim K., Kang Y., Kim Y.: O-GlcNAcylation disrupts glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase homo-tetramer formation and mediates its nuclear translocation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1794: 254-262
- [61] Patterson R.L., van Rossum D.B., Kaplin A.I., Barrow R.K., Snyder S.H.: Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/GAPDH complex augments Ca²⁺ release via locally derived NADH. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 1357-1359
- [62] Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E.: UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.*, 2004; 25: 1605-1612
- [63] Ralser M., Wamelink M.M., Kowald A., Gerisch B., Heeren G., Struys E.A., Klipp E., Jakobs C., Breitenbach M., Lehrach H., Krobitsch S.: Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *J. Biol.*, 2007; 6: 10
- [64] Rodacka A., Serafin E., Bubinski M., Krokosz A., Puchala M.: The influence of oxygen on radiation-induced structural and functional changes in glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and lactate dehydrogenase. *Rad. Phys. Chem.*, 2012; 81: 807-815
- [65] Rodacka A., Serafin E., Puchala M.: Efficiency of superoxide anions in the inactivation of selected dehydrogenases. *Rad. Phys. Chem.*, 2010; 79: 960-965
- [66] Rodríguez-Pascual F., Redondo-Horcajo M., Magán-Marchal N., Lagares D., Martínez-Ruiz A., Kleinert H., Lamas S.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase regulates endothelin-1 expression by a novel, redox-sensitive mechanism involving mRNA stability. *Mol. Cell Biol.*, 2008; 28: 7139-7155
- [67] Ronai Z.: Glycolytic enzymes as DNA binding proteins. *Int. J. Biochem.*, 1993; 25: 1073-1076
- [68] Sawa A., Khan A.A., Hester L.D., Snyder S.H.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: nuclear translocation participates in neuronal and nonneuronal cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 11669-11674
- [69] Schultz D.E., Hardin C.C., Lemon S.M.: Specific interaction of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase with the 5'-nontranslated RNA of hepatitis A virus. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 14134-14142
- [70] Schuppe-Koistinen I., Moldéus P., Bergman T., Cotgreave I.A.: S-thiolation of human endothelial cell glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase after hydrogen peroxide treatment. *Eur. J. Biochem.*, 1994; 221: 1033-1037
- [71] Sen N., Hara M.R., Ahmad A.S., Cascio M.B., Kamiya A., Ehmsen J.T., Agrawal N., Hester L., Doré S., Snyder S.H., Sawa A.: GOSPEL: a neuroprotective protein that binds to GAPDH upon S-nitrosylation. *Neuron*, 2009; 63: 81-91
- [72] Sen N., Hara M.R., Kornberg M.D., Cascio M.B., Bae B.I., Shahani N., Thomas B., Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H., Sawa A.: Nitric oxide-induced nuclear GAPDH activates p300/CBP and mediates apoptosis. *Nat. Cell Biol.*, 2008; 10: 866-873
- [73] Sirover M.A.: On the functional diversity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: biochemical mechanisms and regulatory control. *Biochim. Biophys. Acta*, 2011; 1810: 741-751
- [74] Sirover M.A.: New insights into an old protein: the functional diversity of mammalian glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1432: 159-184
- [75] Soukri A., Mouglin A., Corbier C., Wonacott A., Branlant C., Branlant G.: Role of the histidine 176 residue in glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as probed by site-directed mutagenesis. *Biochemistry*, 1989; 28: 2586-2592
- [76] Souza D.H., Garratt R.C., Araújo A.P., Guimarães B.G., Jesus W.D., Michels P.A., Hannaert V., Oliva G.: Trypanosoma cruzi glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: structure, catalytic mechanism and targeted inhibitor design. *FEBS Lett.*, 1998; 424: 131-135
- [77] Sundararaj K.P., Wood R.E., Ponnusamy S., Salas A.M., Szulc Z., Bielawska A., Obeid L.M., Hannun Y.A., Ogretmen B.: Rapid shortening of telomere length in response to ceramide involves the inhibition of telomere binding activity of nuclear glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 6152-6162
- [78] Talfourier F., Colloc'h N., Mornon J.P., Branlant G.: Comparative study of the catalytic domain of phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenases from bacteria and archaea via essential cysteine probes and site-directed mutagenesis. *Eur. J. Biochem.*, 1998; 252: 447-457
- [79] Tatton W.G., Chalmers-Redman R.M., Elstner M., Leesch W., Jagodzinski F.B., Stupak D.P., Sugrue M.M., Tatton N.A.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in neurodegeneration and apoptosis signaling. *J. Neural. Transm. Suppl.*, 2000; 60: 77-100
- [80] Tisdale E.J.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is required for vesicular transport in the early secretory pathway. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 2480-2486
- [81] Tisdale E.J.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is phosphorylated by protein kinase C δ and plays a role in microtubule dynamics in the early secretory pathway. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 3334-3341
- [82] Tisdale E.J.: Rab2 interacts directly with atypical protein kinase C (aPKC) δ and inhibits aPKC δ -dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 52524-52530
- [83] Tisdale E.J., Artalejo C.R.: Src-dependent a protein kinase C δ (aPKC δ) tyrosine phosphorylation is required for aPKC δ association with Rab2 and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase on pre-golgi intermediates. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 8436-8442
- [84] Tisdale E.J., Artalejo C.R.: A GAPDH mutant defective in src-dependent tyrosine phosphorylation impedes Rab2-mediated events. *Traffic*, 2007; 8: 733-741
- [85] Tisdale E.J., Azizi F., Artalejo C.R.: Rab2 utilizes glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and protein kinase C δ to associate with microtubules and to recruit dynein. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 5876-5884

- [86] Tisdale E.J., Jackson M.R.: Rab2 protein enhances coatamer recruitment to pre-Golgi intermediates. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 17269-17277
- [87] Tisdale E.J., Kelly C., Artalejo C.R.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase interacts with Rab2 and plays an essential role in endoplasmic reticulum to golgi transport exclusive of its glycolytic activity. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 54046-54052
- [88] Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A.: The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell. Signal.*, 2011; 23: 317-323
- [89] Tsuchiya K., Tajima H., Kuwae T., Takeshima T., Nakano T., Tanaka M., Sunaga K., Fukuhara Y., Nakashima K., Ohama E., Mochizuki H., Mizuno Y., Katsube N., Ishitani R.: Pro-apoptotic protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promotes the formation of Lewy body-like inclusions. *Eur. J. Neurosci.*, 2005; 21: 317-326
- [90] Tsuchiya K., Tajima H., Yamada M., Takahashi H., Kuwae T., Sunaga K., Katsube N., Ishitani R.: Disclosure of a pro-apoptotic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter: anti-dementia drugs depress its activation in apoptosis. *Life Sci.*, 2004; 74: 3245-3258
- [91] Ventura M., Mateo F., Serratos J., Salaet I., Carujo S., Bachs O., Pujol M.J.: Nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is regulated by acetylation. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2010; 42: 1672-1680
- [92] Volker K.W., Knull H.: A glycolytic enzyme binding domain on tubulin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997; 338: 237-243
- [93] Volker K.W., Knull H.R.: Glycolytic enzyme-tubulin interactions: role of tubulin carboxy terminals. *Mol. Recognit.*, 1993; 6: 167-177
- [94] Volker K.W., Reinitz C.A., Knull H.R.: Glycolytic enzymes and assembly of microtubule networks. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 1995; 112: 503-514
- [95] Wang Q., Woltjer R.L., Cimino P.J., Pan C., Montine K.S., Zhang J., Montine T.J.: Proteomic analysis of neurofibrillary tangles in Alzheimer disease identifies GAPDH as a detergent-insoluble paired helical filament tau binding protein. *FASEB J.*, 2005; 19: 869-871
- [96] Zheng I., Roeder R.G., Luo Y.: S phase activation of the histone H2B promoter by OCA-S, a coactivator complex that contains GAPDH as a key component. *Cell*, 2003; 114: 255-266
- [97] Zhou Y., Yi X., Stofffer J.B., Bonafe N., Gilmore-Hebert M., McAlpine J., Chambers S.K.: The multifunctional protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is both regulated and controls colony-stimulating factor-1 messenger RNA stability in ovarian cancer. *Mol. Cancer Res.*, 2008; 6: 1375-1384

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.