

Abstrakt

Signální dráha MAPK/ERK, která je v rámci eukaryot evolučně konzervovaná, je jednou z nejintenzivněji studovaných signálních drah a skládá se z třístupňové kaskády proteinkináz Raf-MEK-ERK. Široká škála extracelulárních signálů je prostřednictvím sekvenčních fosforylací jednotlivých členů této dráhy přenášena od receptorů k stovkám substrátů. Díky přesné časové a prostorové regulaci jednotlivých fosforylačních událostí je docíleno specifické odpovědi buňky, která vede ke správnému průběhu fyziologických procesů včetně genové exprese, proliferace, diferenciace, migrace a apoptózy. Narušení regulačních mechanismů této dráhy může vést k patologické signalizaci, například k nádorové transformaci. Specifická regulace signalizace je mimo jiné zajištěna existencí více izoform na každé úrovni signální dráhy ERK. Funkční rozdíly mezi efektorovými proteinkinázami ERK1 a ERK2 jsou již dlouho diskutovanou problematikou, nicméně stále není jasné, jaký význam mají v dosažení správné buněčné odpovědi.

V této práci jsme se zaměřili na funkční charakterizaci izoform ERK1 a ERK2 v epiteliálních buňkách MDCK. Konkrétně jsme sledovali vliv inaktivace izoformy ERK2 na morfologii a expresi vybraných substrátů. Zjistili jsme, že inaktivace izoformy ERK2 vede k poruchám formování epitelu, jelikož buňky ztrácejí svůj kubický tvar, rozprostírají se na větší ploše a často mají více jader. Ačkoliv schopnost těchto buněk tvořit kolonie není narušena, jsou kolonie méně kompaktní a mají nepravidelný tvar. Na úrovni proteinů se nám podařilo prokázat, že dochází k významným změnám v expresi EGR1 a c-Fos, což bylo následně potvrzeno i pomocí transkriptomové analýzy RNA-seq. Morfologické i expresní změny vyvolané ztrátou izoformy ERK2 lze v ERK2 deficientních buňkách zvrátit jak ektopickou expresí ERK2, tak ektopickou expresí ERK1. Naše výsledky poukazují na novou roli signální dráhy ERK při formování a udržování epiteliálních charakteristik v buněčné linii MDCK. Zároveň naznačují, že obě izoformy jsou v těchto procesech funkčně zastupitelné a pozorované změny tak závisí spíše na celkové hladině aktivní ERK než na přítomnosti specifické izoformy.

Klíčová slova: ERK1, ERK2, proteinkináza, fosforylace, genová exprese, geny časné odpovědi, transkripční faktory, epitel, apiko-bazální polarita