

Abstrakt

Hippo signální dráha představuje univerzální mechanismus regulace velikosti orgánů během vývoje, který je konzervován v celé metazoické říši. Komponenty Hippo signální dráhy byly také identifikovány jako důležité tumorsupresory, které fosforylačně inhibují aktivitu onkogenních faktorů a signálních drah (např. YAP/TAZ, PI3K nebo mTOR). MST1 kinasa je součástí centrálního proteinového komplexu Hippo signální dráhy a její aktivace hraje zásadní úlohu během působení mnoha protinádorových léčiv. V naší laboratoři jsme popsali aktivaci MST1 kinasy v leukemických buňkách pomocí přírodních látek, což vedlo k inhibici proliferace a následné indukci apoptosy v těchto buňkách. Shikonin představuje přírodní naftochinon izolovaný z rostliny *Lithospermum erythrorhizon*, který působí v lidských buňkách jako inhibitor glykolysy a mitochondriálního respiračního řetězce. Shikonin indukuje v leukemických buňkách rychlou aktivaci MST1 proteinu, ale mechanismus této aktivace zůstává neznámý. Z toho důvodu jsme se rozhodli charakterizovat posttranslační modifikace MST1 kinasy během působení shikoninu na leukemické buňky. Nejdříve jsme izolovali MST1 kinasu z kontrolních buněk a buněk vystavených shikoninu pomocí imunoprecipitace. Dále jsme charakterizovali posttranslační modifikace MST1 proteinu pomocí hmotnostní spektrometrie. Tímto přístupem jsme zjistili, že shikonin indukuje fosforylaci S43, S414 a defosforylaci S438 MST1 proteinu. To může být důsledek inhibice mTORC2 signální dráhy a aktivace ERK signální dráhy jakožto důsledek působení shikoninu na leukemické buňky. Inhibice/aktivace těchto signálních drah byla dále prokázána metodou elektropřenosu proteinů na nitrocelulosovou membránu s následnou imunodetekcí.

Klíčová slova: MST1 kinasa, Shikonin, Hippo signální dráha, metabolismus, leukemie