

Charakterystyka mechanizmu degradacji kinazy kaskady MAP - MAPKKK18 zależnej od proteasomu

Streszczenie

Kinazy MAP uczestniczą w szlakach sygnalizacyjnych w postaci kaskady tworzonej przez kolejno aktywowane w wyniku fosforylacji kinazy MAPKKK, MAPKK i MPK. Kaskady kinaz MAP przekształcają bodźce zewnątrzkomórkowe w odpowiedzi wewnątrzkomórkowe, przez co odgrywają kluczową rolę w sprawnym przystosowaniu się do stresów środowiskowych, zarówno o podłożu biotycznym jak i abiotycznym. Jednym z głównych fitohormonów roślinnych związanych z koordynacją odpowiedzi na stresy środowiskowe jest kwas abscysynowy (ABA). Najważniejszymi efektorami sygnalizacji ABA są fosfatazy i kinazy białkowe. Jednak, mimo intensywnych badań niewiele wiadomo na temat roli kinaz MAP, zwłaszcza MAPKKK, w szlaku sygnałowym ABA. Obiektem badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy jest kinaza aktywowana przez ABA inicjująca kaskadę kinaz MAP, tj. MAPKKK18. Aby scharakteryzować kaskadę kinaz MAP rozpoczynającą się od kinazy MAPKKK18 podjęto próbę zidentyfikowania kinazy MKK działającej poniżej MAPKKK18. Przeprowadzone analizy wykazały, że jedynym partnerem kinazy MAPKKK18 w kaskadach kinaz MAP jest kinaza MKK3. Aby opisać funkcję biologiczną tego oddziaływania, badano wpływ modułu MAPKKK18-MKK3 na proces rozwoju aparatów szparkowych. Uzyskane wyniki wskazują, że MKK3 działa poniżej MAPKKK18 w rozwoju aparatów szparkowych zarówno na wczesnych, jak i na późniejszych etapach. Oznacza to, że kaskada MAPKKK18-MKK3 może funkcjonować jako efektor sygnalizacji ABA w procesie rozwoju aparatów szparkowych. W kolejnych etapach prac skupiono się na mechanizmach zaangażowanych w regulację aktywności MAPKKK18. Analizowano rolę białek kompleksu podstawowej sygnalizacji ABA w regulacji aktywności MAPKKK18. Z wykorzystaniem drożdżowego systemu dwuhybrydowego, a także techniki pull-down zidentyfikowano oddziaływania między MAPKKK18 i ABI1, a także między MAPKKK18 i SNRK2.6. Tym samym, kompleksy MAPKKK18/ABI1/SnRK2.6 mogą stanowić ważny element skomplikowanego systemu regulacji aktywności MAPKKK18. Ponadto powyższe rezultaty podkreślają istotne znaczenie MAPKKK18 w transdukcji sygnału ABA. Ponieważ integralną częścią transdukcji sygnałów z udziałem efektorów ABA jest degradacja białek przez proteasom 26 S, w niniejszej pracy skupiono się na dwóch niezwykle istotnych molekularnych aspektach degradacji MAPKKK18. Pierwszy dotyczył identyfikacji reszt lizynowych będących miejscem poliubikwitynacji MAPKKK18, a drugi - poznania ligazy ubikwityny E3 specyficznie modyfikującej MAPKKK18. Zidentyfikowano trzy ligazy ubikwityny E3, mogące kierować MAPKKK18 do degradacji, tj. KEG, UPL1 oraz UPL4. Przeprowadzone badania wskazują także, że sygnałem do degradacji MAPKKK18

przez proteasom 26 S jest przyłączenie cząsteczki ubikwityny do lizyny 154 w sekwencji MAPKKK18. Wyniki uzyskane w ramach niniejszej pracy rzucają światło na mechanizmy leżące u podstaw przekazywania zewnątrzkomórkowych sygnałów z udziałem efektorów ABA.