
LITERÁRNÍ PŘEHLED

MITOGENEM AKTIVOVANÉ PROTEINOVÉ KINÁZY (MAPK), IONIZUJÍCÍ ZÁŘENÍ A REGULACE TRANSKRIPCE

¹Jaroslav PEJCHAL, ²Jan ÖSTERREICHER, ²Lenka Zárybnická, ²Zuzana Šinkorová,

²Aleš TICHÝ, ²Jiřina VÁVROVÁ

¹Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Centrum pokročilých studií, Hradce Králové

²Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, katedra radiobiologie, Hradce Králové

Souhrn

Mitogenem aktivované proteinové kinázy (MAPK) jsou superrodinou evolučně konzervovaných kináz eukaryotických buněk podílejících se na udržování buněčné homeostázy. Ionizující záření stabilitu vnitřního prostředí narušuje a tím vede k časově, dávkově a buněčně specifické kompenzatorní aktivaci MAPK. MAPK následně sehrávají kritickou úlohu v modulaci buněčného programu genové exprese, jejímž prostřednictvím reguluje tak důležité biologické děje, jakými jsou proliferace, diferenciace, přežití buněk či naopak apoptóza. Tato práce pojednává o jednotlivých skupinách MAPK, jejich vztahu k ionizujícímu záření a mechanismu, jakým mohou MAPK zasahovat do procesu genové transkripce.

Klíčová slova: MAPK; Ionizující záření; Transkripce.

Mitogen Activated Protein Kinases (MAPK), Ionising Radiation and Transcription Regulation

Summary

Mitogen activated protein kinases (MAPK) are a superfamily of evolutionary-conserved eukaryotic kinases implicated in maintaining of cellular homeostasis. Ionising radiation impairs homeostasis and leads to time, dose and cellular specific compensatory MAPK activation. MAPK plays a critical role in modulation of gene expression that controls important cellular processes, such as proliferation, differentiation, cell survival, or apoptosis. This work discusses particular MAPK groups, their relation to ionising radiation and the mechanism which MAPK use to regulate processes of gene transcription.

Key words: MAPK; Ionising radiation; Transcription.

Ionizující záření vede ke generalizovanému a rozmanitému poškození buněk a tkání na molekulární úrovni (DNA, proteiny, lipidy). Pokud hodnotíme poškození proteinů a lipidů, jsou jejich změny po ozáření pouze minoritní, neboť většina experimentů hodnotících pokles aktivity enzymů (30, 31) či poškození lipidů peroxidací (12, 37, 47) zaznamenává signifikantní změny až po ozáření dávkami 50 Gy a vyššími a pokud existuje nepoškozená matrice DNA, podle které mohou být poškozené proteiny a lipidy nahrazeny, je náprava rychlá. Nejcitlivějším terčem ionizujícího záření je však molekula DNA. Ozáření savčích buněk subletální dávkou 1 Gy indukuje 1000–2000 poškozených bází, 800–1600 poškozených deoxyribóz, 500–1000 jednoduchých zlomů, 200–300 alkalicky labilních míst, **20–40 dvojitých zlomů (double-strand breaks, DSB)**, ~30 DNA-DNA kovalentních vazeb a ~150 DNA-proteinových kovalentních vazeb (8). Nejzávažnějším poškozením jsou dvojité zlomy, které mohou vyústit ve ztrátu nebo přeskupení genetického materiálu s následkem buněčné smrti nebo v případě, že buňky přežijí s poškozenou DNA, v rozvoji karcinogeneze. Buňky

proto v reakci na ozáření aktivují mnohočetné kompenzační signální dráhy, které hrají kritickou úlohu při regulaci apoptózy/přežití, proliferace, diferenciace a následné repopulace poškozených tkání. Mnoho z těchto signálních cest patří do superrodiny tzv. mitogenem aktivovaných proteinových kináz (MAPK).

MAPK a jejich kaskády

O biologickém významu MAPK vypovídá jejich příslušnost ke skupině evolučně stabilních CMGC kináz společně s cyklin dependentními kinázami (CDK), CDK podobnými kinázami (CLK) a kinázami glykogen syntázy (GSK) (56). Jednotliví členové MAPK vykazují více než 40% podobnost aminokyselin a více než 60% podobnost v oblasti kinázové domény (23). MAPK jsou součástí tří rodin: extracelulárním signálem regulovaných kináz (ERK), c-Jun N-terminálních kináz (JNK) a p38 MAPK (p38). MAPK mohou být aktivovány širokým spektrem stimulů, všeobecně však ERK preferenčně aktivují růstové faktory a forbolové estery, zatímco JNK a p38 ki-

názy spíše reguluje stres, ať již v podobě UV či ionizujícího záření, osmotického stresu nebo prozánětlivých cytokinů (25).

Ačkoli jednotlivé MAPK mají jedinečné vlastnosti, některé charakteristiky mají společné. MAPK bývají součástí modulu 3 (i více) členných signálních kaskád – společně s MAPK kinázami (MAPKK) a MAPKK kinázami (MAPKKK). MAPKKK jsou serinové/threoninové kinázy, které aktivované fosforylují MAPKK. MAPKK následně regulují funkci MAPK duální fosforylací na threoninovém a tyrosinovém residuu v oblasti aktivacíni klíčky. Ve chvíli, kdy je MAPK aktivovaná, fosforyluje cílové substráty na serinových nebo threoninových reziduiích následovaných prolinem. Substrátová specifita MAPK je určena interakcí specifických motivů na povrchu MAPK s povrchovými vazebnými motivy jejich substrátů a přítomností proteinů, které mohou působit jako lešení přemostující jednotlivé signální dráhy (134). Funkce MAPK je tedy zprostředkována fosforylací širokého portfolia substrátů – cytoplazmatických proteinů (cytoskeletálních proteinů, fosfolipáz a dalších kináz) a transkripčních faktorů, které přizpůsobují transkripční fenotyp přítomné stimulaci.

Skupina ERK

Ačkoli skupinu ERK tvoří soubor 7 izoforem – ERK1/2/3/4/5/7/8, budou v této části textu popsány jen ERK1/2/5, neboť doposud nebyl prokázán vztah ionizujícího záření se zbývajícími kinázami (ERK3/4/7/8). Jen pro doplnění; kináza ERK6 je protein o velikosti přibližně 40 kDa vykazující sice 41% podobnost s ERK1, 39% podobnost s ERK2 a 33% podobnost s ERK3, ale jeho úroveň identity se savčími p38 MAPK dosahuje 60 % (78). To vedlo k pozdějšímu přejmenování ERK6 na p38γ a jejímu zařazení do skupiny p38 (15, 79, 92).

ERK1 a ERK2

ERK1 a ERK2 jsou proteiny o velikosti 43 a 41 kDa, jejichž tyrosinová a threoninová rezidua jsou v oblasti aktivacíni klíčky oddělena glutamát v charakteristický Thr-Glu-Tyr motiv (17, 104). Pokud srovnáme jejich sekvence, nalezneme vysokou (téměř 90%) podobnost (17). I přes tento vysoký stupeň identity jsou jejich fyziologické úlohy z části nezastupitelné. Pages a spol. (101) užitím homologní rekombinace kmenových buněk vytvořili mutantní myši s defektními alelami ERK1 (ERK1^{-/-}). Tyto myši byly životaschopné, plodné a bez odchylek velikosti ve srovnání s normální myší populací. Funkce ERK1 byla u těchto zvířat plně kompenzována ERK2. Naopak ERK2^{-/-} mutantní umírali ve stadiu časné embryogeneze 6.–7. den po oplození. Tyto výsledky naznačují, že ERK2 ve srovnání s ERK1 vykonává specifickou úlohu z části pravděpodobně související s nízkou expresí ERK1 v některých tkáních (101, 108).

ERK1/2 jsou aktivovány párem MAPKK – MEK1 a MEK2 (2, 50, 121). MEK1 a MEK2 jsou vysoce homologní proteinové kinázy, u kterých doposud nebyly nalezeny jiné relevantní substráty než ERK1/2 (50). V klidovém stavu tvoří komplex s ERK1/2, který udržuje vyšší koncentraci ERK1/2 v cytoplazmatickém kompartmentu. Aktivací MEK1/2 a fosforylací ERK1/2 se tento komplex rozpadá a ERK1/2 jsou pasivně i aktivně transportovány do jádra buněk (2).

Aktivace MEK1/2 je zprostředkována několika druhy nadřazených kináz – kinázami rodiny Raf, kinázou c-Mos a Tpl2 (88, 115, 119). Kinázy rodiny Raf (Raf-1, A-Raf, B-Raf) aktivuje interakce s G-proteiny povrchové membrány rodiny Ras. B-Raf aktivuje přímá interakce s G-proteiny Ras, zatímco A-Raf a Raf-1 vyžadují dodatečnou fosforylací tyrosinových reziduií prostřednictvím membránově vázaných kináz – c-Src, proteinové kinázy B a C (88, 105). Proteinová kináza c-Mos se vyskytuje ve vysokých koncentracích v oocytech obratlovců, kde reguluje progresi buněčného cyklu z G2 do M fáze v průběhu meiózy. Pokud je však ektopicky exprimována v somatických buňkách, může indukovat jejich nádorovou transformaci nekontrolovatelnou progresí buněk G1 fáze buněčného cyklu (119). Poslední zmíněnou MEK1/2 kinázou je Tpl2. Tpl2 se podílí na fosforylací MEK1/2 u lipopolysacharidem (LPS) stimulovaných makrofágů (115).

Ačkoli mohou ERK1/2 aktivovat stresové stimuly jakou jsou LPS (115) či ionizující záření (25) nebo UV (124), preferenčně se na jejich aktivaci podílí růstové faktory jakými jsou EGF a inzulin (57) a **jejich úloha je zejména spjata s progresí buněk buněčným cyklem, diferenciací a anti-apoptotickým působením**. Deregulace ERK1/2 signální kaskády proto často vede k nádorové transformaci buněk (22, 45, 51, 91).

ERK5

ERK5 je proteinem o velikosti 98 kDa. Jeho velikost je více než dvojnásobná ve srovnání s ERK1/2, proto byl také dříve pojmenován jako „velká MAPK1 (big MAPK1, BMK1)“ (75). S ERK1/2 je patrná 50% sekvencí podobnost v katalytické N-terminální části a přítomnost aktivacíni Thr-Glu-Tyr motivu. Velká C-terminální část naopak přispívá k navýšení jeho velikosti a její fosforylace negativně reguluje kinázovou aktivitu proteinu (75, 154). Pro plnou aktivaci ERK5 je proto nezbytná jak fosforylace Thr-Glu-Tyr motivu v oblasti aktivacíni klíčky, tak defosforylace C-terminální části pravděpodobně prostřednictvím proteinové fosfatázy 1 a/nebo proteinové fosfatázy 2A, což naznačuje účinná inhibice fosforylace ERK5 inhibitory fosfatáz – okadickou kyselinou a calyculinem A (38, 154).

Aktivační fosforylace Thr-Glu-Tyr motivu v oblasti aktivacíni klíčky je zprostředkována MAPKK – MEK5 (155), jež je sama substrátem MAPKKK – MEKK2 a MEKK3. MEKK2 a MEKK3 zprostředkovávají přenos

signálu z povrchových membrán (46, 97, 130).

Na rozdíl od ERK1/2 je pro ERK5 charakteristická pouze slabá aktivace vlivem mitotických faktorů. Nejvýrazněji k fosforylaci ERK5 vede oxidační stres, jak bylo prokázáno expozicí hladké svaloviny cév peroxidu vodíku (1). Fyziologický význam ERK5 může být demonstrován genetickou ablací genu ERK5 (ERK -/-), která podobně jako genetická ablace MEK5 -/-, MEKK3 -/- a MEF2C -/- (MEF2C je transkripční faktor regulovaný ERK5 kinázou) vede k úmrtí embrya z důvodu defektivního vývinu cév, abnormálního vývinu a zraní srdce (81, 113, 127, 140, 148).

Skupina JNK

Skupinu JNK, kódovanou třemi geny, tvoří vzhledem k jejich alternativnímu sestřihu mRNA soubor dvanácti různých izoforem o molekulové hmotnosti 46–54 kDa (70). Jejich 3 základní formy – JNK1, JNK2 a JNK3 vykazují v oblasti katalytické domény vysokou (85%) identičnost a 40–45% podobnost s kinázami ERK1/2 (71). V porovnání s ERK1/2 je však charakteristickým znakem této skupiny přítomnost prolinu mezi threoninem a tyrosinem (Thr-Pro-Tyr) v oblasti aktivační kličky a preferenční aktivace stresem – UV, ionizujícím zářením, cytotoxickými látkami, peroxidem vodíku a prozánětlivými cytokiny (69, 70, 71).

Na fosforylaci Thr-Pro-Tyr rezidua aktivační kličky kináz se podílí 2 MAPKK – MEK4 a MEK7. *In vitro* bylo prokázáno, že MEK4 přednostně fosforyluje tyrosinové reziduum, zatímco MEK7 preferenčně fosforyluje threoninové reziduum aktivační kličky. Zdá se tedy, že obě kinázy na aktivaci JNK spolupracují (73, 82). MEK4/7 jsou substráty nadřazených MAPKKK – MEKK1-4, MLK3, ASK1, TAK1, či Tlp2 (47). Tlp2 kináza tak může být společným jmenovatelem aktivace JNK, ERK i p38 (viz dále).

Fyziologický význam JNK1/2 spočívá v **regulaci bu-**

něčné proliferace a apoptózy, zejména v průběhu vývinu a aktivace imunitního systému. Pro JNK1 -/- myši je charakteristické ovlivnění imunitního systému narušením odpovědi Th2 lymfocytů, zatímco JNK2 -/- myši mají poškozenou diferenciaci lymfocytů směrem k Th1 subsetu. Eliminace obou JNK1 i JNK2 vyústí v úmrtí jedince v průběhu gastrulace kvůli poruše uzávěru neuronální trubice a přítomnosti defektů mozku. Přítomnost pouze jediné funkční JNK2 alely (JNK1 -/- JNK2 +/-) vede k přežití a porodu jedinců s retinálními kolombomy z důvodu poruchy uzávěru oční štěrby (67, 117, 144).

Skupina p38 MAPK

P38 MAPK je skupinou 4 kináz – p38 α , p38 β , p38 γ , p38 δ – o molekulových hmotnostech 38 kDa sdílejících 60–75% homologii sekvence aminokyselin (25, 69, 89). S ostatními členy MAPK rodiny tato skupina vykazuje pouze 20–41% podobnost. Výjimkou je ERK2, kde je podobnost téměř 50% (89). P38 se od ERK a JNK odlišuje přítomností dlouhé aktivační kličky s Thr-Gly-Tyr aktivačním motivem (141, 145).

Na fosforylaci tohoto motivu se podílejí MAPKK – MEK3, MEK4 a MEK6. MEK3 a MEK6 jsou vysoce specifické pro p38, neboť nezasahují do ERK a JNK signálních drah. MEK4 je však společnou kinázou p38 a JNK (69, 116). Fosforylaci MAPKKK zprostředkovávají MAPKKK – MEKK1-4, MLK2/3, DLK, ASK1 a Tlp2 (69, 116).

P38 MAPK jsou *in vivo* aktivovány řadou stresových faktorů, např. ionizujícím zářením, UV, osmotickým stresem. Ve většině případů jsou tyto kinázy aktivovány společně s JNK (z důvodu společných MAPKK a MAPKKK) s výjimkou ischemie a reperfúze, neboť ischemie vede k aktivaci p38, zatímco reperfúze aktivuje JNK (16, 70). Inzulín a růstové faktory vedou k aktivaci p38 nepravidelně (70).

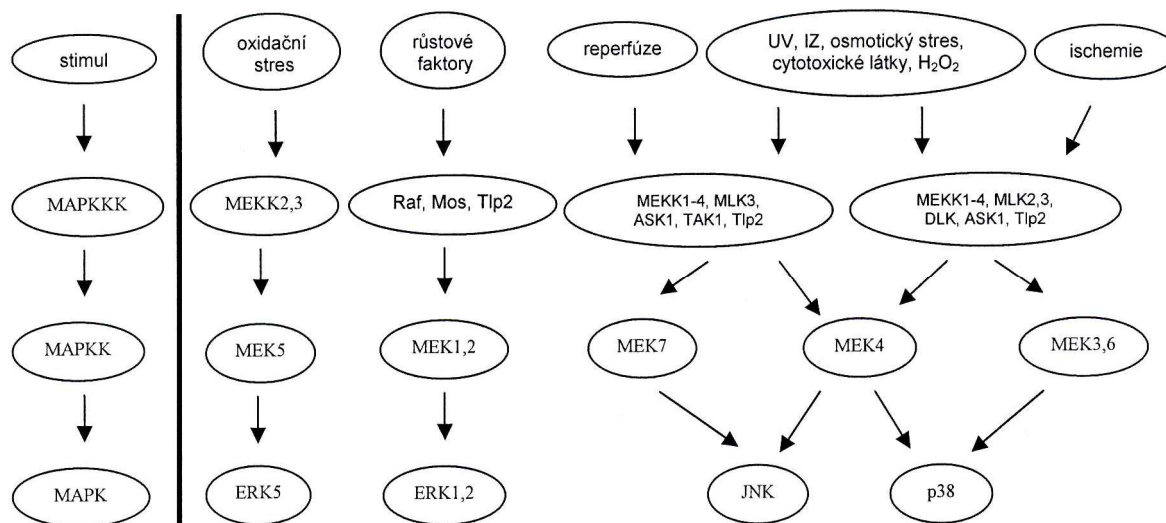


Schéma 1: MAPK signální dráhy

Fyziologický význam p38 MAPK spočívá v regulaci proliferace, diferenciaci, apoptózy a regulace stresové reakce. Pokud bychom chtěli ilustrovat význam jednotlivých izoform, zdá se být nejvýznamnější p38 α . Inaktivace obou alel p38 α (p38 α -/-) je letální, protože ústí v poruchy placentární organogeneze a produkce erytropoetinu, které vedou k sekundární redukci množství kardiomyocytů a malformacím cév v oblasti hlavy (3, 95, 132). Myši mutanti postrádající p38 β , γ , nebo δ a stejně tak mutanti postrádající p38 γ společně s p38 δ přežívají, jsou plodní a nevykazují žádné patologické změny od normálního vývoje, což naznačuje, že role těchto izoform je postradatelná (11, 68, 118).

Aktivace MAPK kaskád ionizujícím zářením

ERK1/2, ERK5, JNK i p38 MAPK podléhají dávkově a časově závislé fosforylaci vlivem ionizujícího záření. Zdá se, že zdrojem aktivace MAPK po ozáření jsou poškozená vlákna DNA a biologické membrány.

Aktivace MAPK poškozením DNA

Mechanismy, které konvertují poškození DNA (zejména přítomnost dvojitého zlomu) do nitrobuněčných signálů, jež regulují fosforylaci MAPK, jsou z velké části neznámé. Ústřední roli zřejmě sehrávají členové fosfatidylinositol-3-kinázové rodiny – ATM a DNA-PK, jejichž dysfunkční stavy vedou k poruše aktivace ERK, JNK i p38 MAPK po ozáření (65, 76, 103, 123, 133, 139).

ATM kináza

ATM kináza je produktem genu mutovaného u onemocnění ataxia-telangiectasia (AT). Tato kináza, tvořící v klidovém stadiu dimer, je po ozáření ionizujícím zářením rychle aktivována mechanismem zahrnujícím autofosforylaci na serinu 1981 a disociaci do monomerního stadia (7). Tato kináza je zapojena do řady buněčných dějů spojených s reparací radioačního poškození nebo indukci apoptózy – buňky s AT fenotypem (ATM -/-) jsou hypersenzitivní k ionizujícímu záření, vykazují poruchy reparace DNA, chromozomální nestabilitu, nejsou schopny řádně zastavit buněčný cyklus v G1, G2 kontrolních bodech a vykazují radiorezistentní DNA syntézu kvůli abnormální funkci kontrolního bodu S fáze buněčného cyklu (53).

ATM kináza není přímým senzorem poškození DNA. V místě DSB se vytváří tzv. IRIF (ionizujícím zářením indukované foci), pro které je charakteristická rychlá fosforylace histonu H2AX a akumulace proteinů, jako jsou například 53BP1, Mdc1, Mre11, Rad50, Nbs1 a ATM (14). ATM kináza je do místa DSB vázána prostřednictvím Mre11-Nbs1-Rad50 komplexu (MRN komplexu) (137). Nbs1 složka MRN komplexu může funkčně

interagovat jak s ATM kinázou (34, 137, 152), tak proteinem Mdc1 (85), který přímo rozpoznává fosforylovaný histon H2AX (129). O významu této složité interakce svědčí i fakt, že suprese Mdc1 vede k útlumu aktivace ATM a k poklesu fosforylace substrátů této kinázy (94) a neaktivní Nbs1 a Mre11 u buněk pacientů s Nijmegenovým (Nbs1 -/-), respektive, A-TLD syndromem (Mre11 -/-) způsobují nadměrnou cytoplazmatickou retenci a nedostatečnou aktivaci ATM po ozáření (136). Posloupnost těchto vztahů však komplikuje nález funkčního významu ATM kinázy pro vlastní fosforylaci histonu H2AX. Stiff a spol. (19) objevili významný pokles fosforylace histonu H2AX u ATM -/- myších embryonálních fibroblastů, zatímco ektopická exprese funkčního ATM genu u těchto buněk fyziologickou úroveň fosforylace histonu H2AX obnovuje. Je tedy zřejmé, že bude nezbytný další výzkum v této oblasti, aby bylo možné přesně určit posloupnost interakcí vedoucích k aktivaci ATM kinázy.

ATM kináza konstitutivně váže c-Abl kinázu, jež je jejím substrátem a funkčním propojením s MAPK (viz dále). Fosforylace c-Abl na serinu 465 ATM kinázou vede k její aktivaci (10, 122). Význam funkční interakce ATM a c-Abl kináz je podporován nedostatečnou vazbou c-Abl s ATM a neadekvátní aktivací c-Abl po gama ozáření u buněk s AT fenotypem a naopak korekci aktivace c-Abl po obnovení exprese aktivní ATM kinázy u ATM -/- buněk (10).

DNA-dependentní proteinová kináza

Konstitutivní interakce ATM kinázy s c-Abl je srovnatelně charakteristická pro DNA-dependentní proteinovou kinázu (DNA-PK) (54). DNA-PK se skládá z 470 kDa velké katalytické serinové/threoninové kinázy (DNA-PKcs) a dvou proteinů Ku70 a Ku80. Na rozdíl od ATM kinázy DNA-PK váže dvojitý zlom DNA přímo prostřednictvím Ku70/Ku80 heterodimeru, který jednotlivé konce poškozené DNA stabilizuje a připravuje k ligaci (35). Význam tohoto heterodimeru spočívá také v rekrutaci DNA-PKcs do dvojitého zlomu DNA a aktivaci kinázové činnosti DNA-PKcs (35, 54). Ačkoli však heterodimer Ku70/Ku80 a DNA-PKcs vytvářejí funkční celek, cílené narušení genů kódujících Ku70/80 a DNA-PKcs se projevuje fenotypově odlišně. Všechny tři proteiny se podílejí na opravě zlomů indukovaných ionizujícím zářením či V(D)J rekombinací, a především reparaci NHEJ (nonhomologous N-joining), která se na reparaci savčích buněk podílí z 80 %. Nicméně Ku -/- myši jsou ve srovnání s DNA-PKcs defektními jedinci malé a jejich buňky vykazují narušení proliferace a předčasné stárnutí (35).

Expozice buněk ionizujícímu záření vede k nárůstu asociace DNA-PKcs a Ku70/Ku80 heterodimeru, což je doprovázeno i vyšší tvorbou c-Abl-DNA-PK komplexů (61). Buňky s deficitním genem DNA-PK mají aktivaci c-Abl částečně narušenou (54, 61).

C-Abl a MAPK

C-Abl kináza zprostředkovává funkční propojení senzorů DNA s MAPK. Raitano a spol. (111) prokázali, že leukemický fúzní protein Bcr-Abl vyvolává u fibroblastů a hematopoetických buněk aktivaci JNK a Renshaw a spol. (114) objevili aktivaci JNK1 virovým v-Abl. Tento nález je také podpořen faktem, že proliferující buňky s funkčně neaktivními alelami genu c-Abl (c-Abl -/-) mají narušenou aktivaci JNK (59, 60). Pojítkem mezi c-Abl kinázou a JNK je pravděpodobně přímá interakce c-Abl s MAPKKK MEKK1 (58), jež je součástí JNK signální kaskády (viz výše). Jiná studie však prokázala, že c-abl -/- G0 fibroblasty k aktivaci JNK c-abl kinázu nepotřebují (83). Kharbada a spol. (62) tuto diskrepanci vysvětlují rozdílným proliferacním statusem studovaných buněk a navrhuji, že JNK je po ozáření aktivováno jak c-Abl dependentním způsobem, tak i jiným mechanismem nezávislým na aktivitě c-Abl kinázy.

MEKK1 je však také MAPKKK p38 MAPK signální dráhy (viz výše). To vysvětluje význam c-Abl pro fosforylaci p38 – u myeloidních leukemických buněk linie U-937 je disrupce obou genů c-Abl (-/-) doprovázena narušením fosforylace p38 (102). Shodně s aktivací JNK je i p38 fosforylována jak c-Abl dependentním, tak na c-Abl nezávislým mechanismem (102). Na rozdíl od aktivace JNK však není důležitý proliferacní statut buňky, ale to, jaká noxa poškození DNA vyvolává. Noxy vedoucí k aktivaci p38 závislé na přítomnosti funkční kinázy c-Abl jsou např. UV-záření, metylmetanosulfonát (102) a ionizující záření (u buněk lidského nemalobuněčného karcinomu plic byla pozorována aktivace p38 po ozáření v závislosti na c-Abl prostřednictvím proteinové kinázy C delta – PKCδ) (52). U linie buněk derivovaných z lidských embryonálních renálních kortikálních buněk (HEK293) či buněčné linie HeLa pocházejících z karcinomu čípku dělohy, byl nalezen mechanismus aktivace p38 prostřednictvím TAO-kinázy, tedy mechanismem nezávislým na přítomnosti c-Abl (112). Tato kináza navíc může interagovat s ATM kinázou (u ATM -/- buněk je aktivace TAO-kinázy a p38 MAPK narušena), což představuje funkční napojení na senzor poškození DNA (112).

Vztah c-Abl kinázy k regulaci ERK nebyl doposud přesně popsán. Stuart a spol. (128) prokázali, že aktivace c-Abl vede k nárůstu exprese EGR1 proteinu, což může být narušeno prostřednictvím selektivního inhibitoru MEK1/2 (PD95089). Význam c-Abl také spočívá v regulaci funkce ERK5 (20). V tomto případě c-Abl kináza nevede k fosforylaci ERK5, ale tento protein stabilizuje vůči degradaci a tím navyšuje jeho množství. Nárůst celkového množství ERK5 a jeho vnitřní aktivita přispívají např. k nádorové transformaci buněk infikovaných viry vybavenými v-Abl genem a k podpoře přežití leukemických buněk s Bcr-Abl onkogenem (20).

Signály buněčných membrán

Zdrojem signálů modulujících aktivitu MAPK jsou často povrchové buněčné membrány, konkrétně receptory růstových faktorů, jež jsou proteinovými součástmi membrán. Příkladem receptorů, které podléhají aktivaci fosforylaci po ozáření ionizujícím zářením, jsou receptory pro fibroblastový růstový faktor (FGFR) a epidermální růstový faktor (EGFR) (39, 40). Jak FGFR, tak EGFR jsou prostřednictvím adaptérových proteinů napojeny na G-proteiny rodiny Ras, jejichž aktivaci regulují funkci ERK1/2 signální dráhy (131). Doposud byly nalezeny dva mechanismy fosforylace těchto receptorů, jež bychom mohli označit za přímou a nepřímou aktivaci.

Na mechanismu přímé aktivace ERK1/2 se podílí genyze volných radikálů ionizujícím zářením (74). Jakým způsobem však volné radikály iniciují aktivaci ERK1/2 je doposud nejasné. Byly však navrženy dva možné způsoby. Prvním způsobem je možný vliv volných radikálů na cysteinová rezidua receptoru. Jejich modifikací by mohl být napodoben efekt interakce ligandu s receptorem povrchové membrány s následnou aktivací receptoru růstového faktoru a s ním MAPKKK signální dráhy ERK1/2 (49). Druhý navržený způsob zastupuje pokles množství redukovaného glutathionu (GSH) a jeho vliv na funkci GSH senzitivních fosfatáz vázaných v povrchové membráně. GSH senzitivní fosfatázy jsou nezbytné k defosforylaci a tím k ukončení signalizace příslušného receptoru růstového faktoru. Pokles GSH proto může tyto fosfatázy inaktivovat a činnost receptoru prodlužovat (63, 77). Tuto myšlenku podporuje i pozorování, že fosforylaci EGFR předchází intracelulární akumulace volných radikálů a pokles množství GSH (93).

Mechanismus nepřímé aktivace vychází z autokrinní a parakrinní produkce růstových faktorů jako jsou FGF, IGF, TGF či PDGF pozorované po ozáření tkáně ionizujícím zářením (32, 135). Tyto faktory mohou být presyntetizovány a uloženy v povrchové membráně či de novo syntetizovány. Presyntetizovaným faktorem je například TGF-α. Ionizující záření štěpí proformu TGF-α zakončenou v cytoplazmatické membráně, což vede k uvolnění TGF-α, aktivaci EGFR a sekundární aktivaci ERK a JNK signálních drah (26, 43). Uvolňování TGF-α z povrchové membrány je navíc dávkově závislé, neboť zvyšování dávky z 2 na 10 Gy zesiluje aktivaci EGFR, ERK a JNK (26, 43). De novo syntetizace růstových faktorů byla prokázána nálezem zvýšené tvorby mRNA řady růstových faktorů a opožděnou produkcí těchto mitogenů bez zjevné závislosti na přímém ozáření tkáně (29) (viz barevná příloha s. II, schéma 2).

MAPK a regulace transkripce

Za fyziologických podmínek je aktivace MAPK jen přechodná, jejich koncentrace v buňce se nemění a funkční význam MAPK spočívá v regulaci/fosforylaci substrátů.

tů, která probíhá jak v cytoplazmě, tak v jádře buňky. MAPK fosforylují proteiny obsahující tzv. minimální fosfoakceptorový motiv Ser/Thr-Pro. Rozsáhlou skupinou substrátů MAPK jsou transkripční faktory, jejichž prostřednictvím regulují expresi genů eukaryotických buněk a buněčné děje, jakými jsou buněčný cyklus, diferenciace, apoptóza, zánět či kancerogeneze. Další rozsáhlou skupinou substrátů jsou proteinové kinázy – ribozomální S6 kinázy (RSK), MAPK interagující kinázy (MNK), MAPK aktivované proteinové kinázy (MAPKAPK) a mitogenem a stresem aktivované proteinové kinázy (MSK) (69). Tyto kinázy významně rozšiřují portfolio transkripčních faktorů regulovaných jednotlivými MAPK a přispívají k regulaci transkripce fosforylací histonů a dalších regulátorů transkripce (69, 149).

MAPK regulují transkripční fenotyp buňky několika způsoby:

1. posttranslační modifikací transkripčních faktorů
2. přímou interakcí s transkripčními faktory
3. regulací buněčné koncentrace transkripčních faktorů
4. regulací distribuce transkripčních faktorů
5. regulací transaktivace transkripčních faktorů
6. posttranslační modifikací proteinů asociovaných s DNA

Posttranslační modifikace transkripčních faktorů

Fosforylace jakožto posttranslační modifikace transkripčního faktoru, může pozitivně i negativně regulovat jeho vaznost ke genovému promotoru. Příkladem pozitivní regulace transkripce je fosforylace ATF-2 v oblasti N-terminální části molekuly na threoninu 69 a 71 (84) účinkem ERK, JNK či p38 MAPK signální dráhy v závislosti na charakteru stimulace (42, 100, 110). Tato posttranslační modifikace vyvolává konformační změny ATF-2, které zvyšují vaznost C-terminální části faktoru k DNA (84).

Příkladem inhibice funkce transkripčního faktoru posttranslační modifikací je fosforylace C-terminální části c-Jun na serinu 243. U mitoticky neaktivních lidských epiteliálních a fibroblastických buněk je c-Jun v tomto místě fosforylován prostřednictvím kinázy glykogen syntázy 3 (GSK3) (18). Tato modifikace je následována Ser-243-dependentní fosforylací threoninu 231 a serinu 249 kaseinovou kinázou II (CKII) (80). Takto modifikovaný C-terminální konec snižuje DNA vázající aktivitu c-Jun a zvyšuje jeho atraktivitu směrem k ligázám ubiquitinu a degradaci (18, 142). Patofyziologický význam serinu 243 také demonstruje jeho mutace nacházející se u onkogenu v-Jun, která zvyšuje stabilitu a onkogenní potenciál proteinu (142).

Přímá interakce s transkripčními faktory

Druhým mechanismem regulace afinity transkripčního faktoru vůči DNA je možnost přímé interakce prote-

inů MAPK signálních drah s transkripčními faktory. Tento mechanismus využívá MEK1 (člen Ras/Raf/MEK/ERK signální dráhy) k regulaci funkce transkripčního faktoru MyoD (patřícího do rodiny bHLH společně s Myf5, MRF4 a myogeninem) u myoblastů (106). Ačkoli MyoD není substrátem fosforylace této signální kaskády, asociace MEK1 s N-terminální částí MyoD vede k utlumení jeho transkripční funkce. Tento způsob regulace využívají myoblasty k úniku z buněčného cyklu a navození terminální diferenciace (106).

Regulace buněčné koncentrace transkripčních faktorů

Dalším mechanismem, kterým mohou MAPK ovlivňovat transkripční fenotyp buňky, je regulace buněčné koncentrace transkripčních faktorů. Toho mohou dosáhnout regulací exprese příslušného faktoru nebo jeho stabilizací vůči degradaci.

MAPK se podílejí na regulaci exprese řady svých transkripčních faktorů. Příkladem je exprese faktoru E2F prostřednictvím ERK a JNK signální dráhy (64, 138). Ústřední postavení v této interakci pravděpodobně sehrává transkripční faktor c-Myc, jenž rozpoznává regulační sekvenci v promotorové oblasti E2F (4, 13) a je substrátem ERK a JNK, které aktivují c-Myc fosforylací na threoninu 58 a serinu 62 (41, 98).

Vztah c-Myc a E2F je však komplexnější. C-Myc může modulovat expresi E2F prostřednictvím mikroRNA (99), může se nepřímo podílet na translaci E2F podporou exprese proteinů, rRNA a tRNA translačního aparátu buňky (28) a pozitivně reguluje expresi cyklinu D (153). Cyklin D je nezbytný pro úspěšný přechod buněk z G1 do S fáze buněčného cyklu tím, že stimuluje funkci cyklin dependentních kináz 4 a 6 (CDK4 a CDK6). CDK4/6 fosforylují pRB, který v klidovém stavu vytváří komplex s faktorem E2F. Fosforylací pRB je E2F uvolněn a aktivován (64). Aktivovaný E2F však může zpětně ovlivňovat funkci Ras/Raf/MEK/ERK signální dráhy, neboť posiluje její citlivost vůči růstovým faktorům pozitivní regulací exprese Ras (64). To je z fyziologického hlediska nezbytné pro úspěšný vstup buňky do S fáze buněčného cyklu (64). Takový vztah mezi transkripčním faktorem E2F a ERK signální dráhou naznačuje přítomnost nebezpečné pozitivní zpětné vazby. Její nebezpečí vyplývá z jejího úzkého vztahu k regulaci buněčného cyklu, což demonstruje příklad onkogenního potenciálu adenovirů. Adenoviry produkují protein E1A vážící chromatin-remodelující protein p400, jehož prostřednictvím stabilizují transkripční faktor c-Myc, zvyšují aktivitu E2F, a řídí tak onkogenezi (44).

Dalším způsobem, jak mohou MAPK regulovat buněčnou koncentraci transkripčního faktoru, je jejich vliv na stabilitu proteinu. Transkripční faktor jako každá jiná molekula biologické povahy podléhá degradaci. Míru stability proteinu určuje úroveň jeho ubiquitinizace (ko-

valentní vazba ubiquitinu na lyzinová rezidua faktoru prostřednictvím enzymového komplexu (E1, E2 a E3)) a následná degradace v 26S proteazomu (125). Příkladem jsou Ras/Raf/MEK/ERK modulovaná posttranslační modifikace, aktivace, a tím inhibice proteazomové degradace c-Myc (120), fosforylace serinu 294 progesteronového receptoru (PR) účinkem ERK bránící jeho ubiquitinizaci (109) či stabilizace p53 prostřednictvím p38 MAPK (96). V neposlední řadě je příkladem též stabilizace a inhibice ubiquitinem modulované degradace transkripčního faktoru GATA3 prostřednictvím kinázy ERK (147). Stabilizace tohoto faktoru u vyvíjejících se Th2 lymfocytů vede k remodelaci chromatinu v oblastech řídících produkci cytokinů a konečné diferenciaci Th2 lymfocytů ve zralé buňce (147).

Opačným příkladem vedoucím k poklesu množství transkripčního faktoru je asociace neaktivní JNK s transkripčním faktorem ATF-2, která přispívá k jeho ubiquitinizaci a degradaci (36).

Regulace distribuce transkripčních faktorů

Transkripční faktory jsou exprimovány do cytoplazmatického kompartmentu buňky, funkci naopak vykonávají v buněčném jádře. Vzhledem k velikosti transkripčních faktorů, pohybující se v rozsahu desítek kDa, je tento transport umožněn přítomností komplexu jaderných pórů – největších makromolekulárních komplexů eukaryotických buněk (143). Transport jadernými póry je aktivní, energeticky nákladný proces, který však dává eukaryotickým buňkám nástroj k regulaci exprese genetické informace (143). Transport proteinů jadernými póry determinuje přítomnost specifických strukturálních sekvencí – sekvence určující jadernou lokalizaci (NLS sekvence) a sekvence determinující jaderný export (NES sekvence). NLS sekvence, obsahující lysin, rozpoznává skupina drobných proteinů importinů, které interakcí s komplexem jaderných pórů, převádějí protein do jaderného kompartmentu. Naopak NES sekvence, obsahující leucin, jsou rozpoznávány exportiny a v interakci s komplexem jaderných pórů jsou jejich nositelé transportováni z jádra do cytoplazmy (143).

Fosforylace transkripčních faktorů MAPK vyvolává konformační změny jejich struktury vedoucí k obnažení NSL sekvencí a transportu transkripčních faktorů do jaderného kompartmentu. V některých případech však může tento děj ovlivnit i cytoplazmatické funkce transkripčního faktoru. Příkladem je fosforylace faktoru Elk-1 na serinu 383 a serinu 389 ERK a JNK kinázami (21, 150). Následné konformační změny Elk-1 ústí v jaderné přemístění faktoru, ve zvýšení jeho vazby k DNA a v navození transkripční aktivity (72, 151). Tím však klesá jeho cytoplazmatická koncentrace, která je rozhodující pro asociaci Elk-1 s mitochondriálním pórem zvyšujícím permeabilitu mitochondrií a navozující apoptózu (9).

Regulace transaktivace transkripčních faktorů

Fosforylace a konformační změny transkripčních faktorů vyvolané jejich posttranslační modifikací prostřednictvím MAPK mohou společně s regulací afinity k DNA a distribuce vést k modulaci dalších vlastností, jakými jsou vazba transkripčního faktoru s koaktivátory, korepresory či transkripčním aparátem. Rolí fosforylace v této úloze pak může být blokování, nebo naopak přizpůsobování interaktivních povrchů transkripčních faktorů, či vliv na již zmíněné konformační změny, které pak maskují, nebo naopak odmaskovávají vazebné plochy (149).

Nejlépe charakterizovaným příkladem je interakce mezi transkripčním faktorem CREB a koaktivátory CBP (CREB-binding protein) a p300. CREB fosforylovaný na serinu 133 kinázami, jež jsou substráty MAPK (RSK, MSK, MAPKAPK2) (5, 87, 146), rekrutuje CBP nebo p300. CBP a p300 působí jako pojídlo mezi CREB a RNA polymerázou II či acetylovanými histony promotorových sekvencí (90, 149). Záměna serinu 133 za alanin prudce snižuje schopnost CREB asociovat s CBP a p300 a tím klesá jeho schopnost vázat DNA (55). Pro doplnění, fosforylovaný CREB může sám být koaktivátorem. Vazba CREB s CBP ovlivňuje expresi genů regulovaných strážcem integrity buněčné DNA – proteinem p53, jež přímou vazbou s CREB rekrutuje celý fosfo-CREB-CBP komplex do svých promotorových oblastí (126).

Posttranslační modifikace proteinů asociovaných s DNA

Posledním uvedeným mechanismem, který mohou MAPK užívat k regulaci transkripce, je možnost jejich participace na fosforylaci proteinů asociovaných s DNA. Tyto proteiny ovlivňují skládání dvoušroubovice DNA do dynamické struktury chromatinu, což je rozhodující pro kontrolu transkripčních procesů regulací přístupnosti faktorů k DNA. U eukaryot je chromatin složen z nukleozomů, které tvoří 146 párů bazí DNA ovinutých kolem oktameru histonů H2A, H2B, H3 a H4 a „spojovacího můstku“ DNA mezi jednotlivými nukleozomy asociovaného s některou z variant histonu H1 (24). N-terminální části histonů vyčnívající ze struktury nukleozomu kontaktují přilehlé nukleozomy a další proteiny asociované s chromatinem, což může být ovlivněno jejich posttranslačními modifikacemi jako jsou acetylace, methylace, ubiquitinizace, sumoylace či fosforylace (24, 33).

O fosforylaci histonů a jejím vlivu na expresi genetické informace je známo poměrně málo. Ras/Raf/MEK/ERK signální dráha je dávana do souvislosti s fosforylací histonu H3 na serinu 10 a 28 prostřednictvím MSK1/2 a RSK2 kináz (6, 27, 48,). Fosforylace histonu H3 na serinu 10 je důležitá pro aktivaci genů regulovaných faktorem NFκB a pro regulaci genů „okamžité odpovědi“

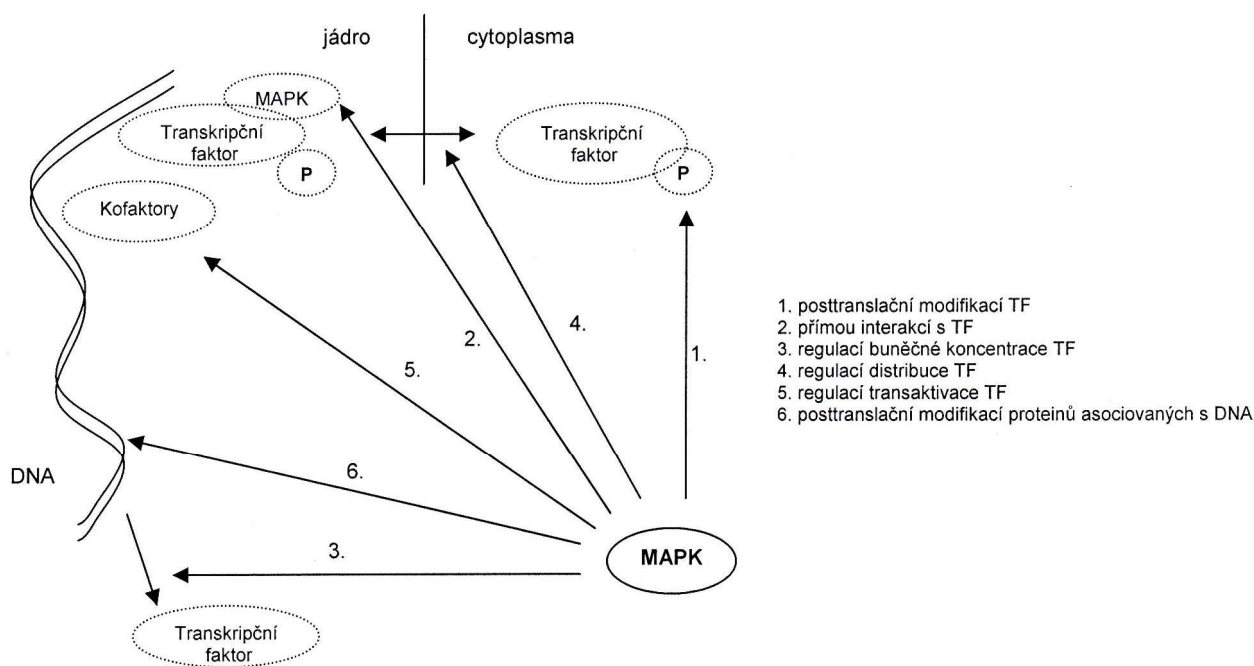


Schéma 3: Regulace transkripce prostřednictvím MAPK

transkripčními faktory c-fos a c-Jun, jejichž interakci s DNA přispívá protein 14-3-3 rozpoznávající fosforylovaný serin 10 histonu H3 (86).

Regulace struktury chromatinu a transkripce prostřednictvím MAPK však může být komplikovanější, než se doposud zdá. U kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) je většina MAPK fyzicky asociovaná s chromatinem, proto může být jejich vliv na genovou expresi přímý (66, 107).

Závěr

Stresová odpověď organismu je analyzována již od 50. let minulého století. V současnosti však nové technologie přinášejí více detailů o této složité senzorické, informační a exekutivní síti, kterou stresová reakce organismu představuje. Pochopení komplexních vztahů mezi jednotlivými členy sítě v budoucnosti přispěje k identifikaci přesných patogenetických mechanismů rozvoje akutních a chronických forem nemoci z ozáření, což poslouží zejména v oblasti diagnostiky a terapie. V oblasti diagnostiky účinků ionizujícího záření na lidský organismus můžeme očekávat, že budou odlišeny specifické mechanismy nebo časově specifická odpověď na ionizující záření od odpovědi indukovaných biologickými či chemickými agens. Následně mechanismy vykazující dávkovou závislost rozšíří portfolio prakticky použitelných biodozimetrických ukazatelů. V oblasti terapeutické lze předpokládat, že nalezení přesnějších mechanismů, kterými ionizující záření aktivuje MAPK, přispěje k nalezení efektivnějších léčebných postupů, které signifikantně zvýší přežití akutně ozářených jedinců. (Schéma 3).

Literatura

1. ABE, J., et al. Big mitogen-activated protein kinase 1 (BMK1) is a redox-sensitive kinase. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 28, p. 16586–16590.
2. ADACHI, M. – FUKUDA, M. – NISHIDA, E. Two co-existing mechanisms for nuclear import of MAP kinase: passive diffusion of a monomer and active transport of a dimer. *EMBO J.*, 1999, vol. 18, no. 19, p. 5347–5358.
3. ADAMS, RH., et al. Essential role of p38alpha MAP kinase in placental but not embryonic cardiovascular development. *Mol. Cell*, 2000, vol. 6, no. 1, p. 109–116.
4. ALVARO-BLANCO, J., et al. A novel factor distinct from E2F mediates C-MYC promoter activation through its E2F element during exit from quiescence. *Carcinogenesis*, 2009, (přijato do tisku).
5. ARTHUR, JS. – COHEN, P. MSK1 is required for CREB phosphorylation in response to mitogens in mouse embryonic stem cells. *FEBS Lett.*, 2000, vol. 482, no. 1/2, p. 44–48.
6. ARTHUR, JS. MSK activation and physiological roles. *Front. Biosci.*, 2008, vol. 13, p. 5866–5879.
7. BAKKENIST, CJ. – KASTAN, MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*, 2003, vol. 421, no. 6922, p. 499–506.
8. BARKER, S., et al. Identification of mammalian proteins cross-linked to DNA by ionizing radiation. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 40, p. 33826–33838.
9. BARRETT, LE., et al. Elk-1 associates with the mitochondrial permeability transition pore complex in neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 13, p. 5155–5160.
10. BASKARAN, R., et al. Ataxia telangiectasia mutant protein activates c-Abl tyrosine kinase in response to ionizing radiation. *Nature*, 1997, vol. 387, no. 6632, p. 516–519.
11. BEARDMORE, VA., et al. Generation and characterization of p38beta (MAPK11) gene-targeted mice. *Mol. Cell Biol.*, 2005, vol. 25, no. 23, p. 10454–10464.

12. BEAUDEUX, JL., et al. Resistance of lipoprotein(a) to lipid peroxidation induced by oxygenated free radicals produced by gamma radiolysis: a comparison with low-density lipoprotein. *Biochem. J.*, 1996, vol. 314, p. 277–284.
13. BEIER, R., et al. Induction of cyclin E-cdk2 kinase activity, E2F-dependent transcription and cell growth by Myc are genetically separable events. *EMBO J.*, 2000, vol. 19, no. 21, p. 5813–5823.
14. BEKKER-JENSEN, S., et al. Spatial organization of the mammalian genome surveillance machinery in response to DNA strand breaks. *J. Cell Biol.* 2006, vol. 173, no. 2, p. 195–206.
15. BOGOYEVIČ, MA. – COURT, NW. Counting on mitogen-activated protein kinases--ERKs 3, 4, 5, 6, 7 and 8. *Cell. Signal.*, 2004, vol. 16, no. 12, p. 1345–1354.
16. BOGOYEVIČ, MA., et al. Stimulation of the stress-activated mitogen-activated protein kinase subfamilies in perfused heart. p38/RK mitogen-activated protein kinases and c-Jun N-terminal kinases are activated by ischemia/reperfusion. *Circ. Res.*, 1996, vol. 79, no. 2, p. 162–173.
17. BOULTON, TG., et al. An insulin-stimulated protein kinase similar to yeast kinases involved in cell cycle control. *Science*, 1990, vol. 249, no. 4964, p. 64–67.
18. BOYLE, WJ., et al. Activation of protein kinase C decreases phosphorylation of c-Jun at sites that negatively regulate its DNA-binding activity. *Cell*, 1991, vol. 64, no. 3, p. 573–584.
19. BURMA, S., et al. ATM phosphorylates histone H2AX in response to DNA double-strand breaks. *J. Biol. Chem.* 2001, vol. 276, no. 45, p. 42462–42467.
20. BUSCHBECK, M., et al. Abl-kinase-sensitive levels of ERK5 and its intrinsic basal activity contribute to leukaemia cell survival. *EMBO Rep.*, 2005, vol. 6, no. 1, p. 63–69.
21. CAVIGELLI, M., et al. Induction of c-fos expression through JNK-mediated TCF/Elk-1 phosphorylation. *EMBO J.*, 1995, vol. 14, no. 23, p. 5957–5964.
22. CERIGNOLI, F., et al. Regulation of MAP kinases by the VHR dual-specific phosphatase: implications for cell growth and differentiation. *Cell Cycle*, 2006, vol. 5, no. 19, p. 2210–2215.
23. COULOMBE, P. – MELOCHE, S. Atypical mitogen-activated protein kinases: structure, regulation and functions. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, vol. 1773, no. 8, p. 1376–1387.
24. DAVIE, JR. Covalent modifications of histones: expression from chromatin templates. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1998, vol. 8, no. 2, p. 173–178.
25. DENT, P., et al. MAPK pathways in radiation responses. *Oncogene*, 2003, vol. 22, no. 37, p. 5885–5896.
26. DENT, P., et al. Radiation-induced release of transforming growth factor alpha activates the epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase pathway in carcinoma cells, leading to increased proliferation and protection from radiation-induced cell death. *Mol. Biol. Cell*, 1999, vol. 10, no. 8, p. 2493–2506.
27. DUNN, KL. – DAVIE, JR. Stimulation of the Ras-MAPK pathway leads to independent phosphorylation of histone H3 on serine 10 and 28. *Oncogene*, 2005, vol. 24, no. 21, p. 3492–3502.
28. EILERS, M. – EISENMAN, RN. Myc's broad reach. *Genes. Dev.*, 2008, vol. 22, no. 20, p. 2755–2766.
29. ELDOR, A., et al. Perturbation of endothelial functions by ionizing irradiation: effects on prostaglandins, chemoattractants and mitogens. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1989, vol. 15, no. 2, p. 215–225.
30. ELSNER, RH. – ZIEGLER, K. Determination of the apparent functional molecular mass of the hepatocellular sodium-dependent taurocholate transporter by radiation inactivation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, vol. 983, no. 1, p. 113–117.
31. ELSNER, RH. – ZIEGLER, K. Radiation inactivation of multispecific transport systems for bile acids and xenobiotics in basolateral rat liver plasma membrane vesicles. *J. Biol. Chem.*, 1992, vol. 267, no. 14, p. 9788–9793.
32. EPPERLY, MW., et al. Manganese [correction of Magnesium] superoxide dismutase (MnSOD) plasmid/liposome pulmonary radioprotective gene therapy: modulation of irradiation-induced mRNA for IL-1, TNF-alpha, and TGF-beta correlates with delay of organizing alveolitis/fibrosis. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 1999, vol. 5, no. 4, p. 204–214.
33. ESCARGUEIL, AE., et al. What histone code for DNA repair? *Mutat. Res.*, 2008, vol. 658, no. 3, p. 259–270.
34. FALCK, J. – COATES, J. – JACKSON, SP. Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage. *Nature*. 2005, vol. 434, no. 7033, p. 605–611.
35. FEATHERSTONE, C. – JACKSON, SP. Ku, a DNA repair protein with multiple cellular functions? *Mutat. Res.*, 1999, vol. 434, no. 1, p. 3–15.
36. FUCHS, SY., et al. c-Jun NH2-terminal kinases target the ubiquitination of their associated transcription factors. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, no. 51, p. 32163–32168.
37. GANDHI, NM. – GOPALASWAMY, UV. – NAIR, CK. Radiation protection by disulfiram: protection of membrane and DNA in vitro and in vivo against gamma-radiation. *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, 2003, vol. 44, no. 3, p. 255–259.
38. GARCIA, L., et al. PP1/PP2A phosphatases inhibitors okadaic acid and calyculin A block ERK5 activation by growth factors and oxidative stress. *BS Lett.*, 2002, vol. 523, no. 1–3, p. 90–94.
39. GOLDKORN, T., et al. EGF receptor phosphorylation is affected by ionizing radiation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997, vol. 1358, no. 3, p. 289–299.
40. GU, Q., et al. Basic fibroblast growth factor inhibits radiation-induced apoptosis of HUVECs. I. The PI3K/AKT pathway and induction of phosphorylation of BAD. *Radiat. Res.*, 2004, vol. 161, no. 6, p. 692–702.
41. GUPTA, S. – SETH, A. – DAVIS, RJ. Transactivation of gene expression by Myc is inhibited by mutation at the phosphorylation sites Thr-58 and Ser-62. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, p. 3216–3220.
42. GUPTA, S., et al. Transcription factor ATF2 regulation by the JNK signal transduction pathway. *Science*, 1995, vol. 267, p. 389–393.
43. HAGAN, M., et al. Ionizing radiation-induced mitogen-activated protein (MAP) kinase activation in DU145 prostate carcinoma cells: MAP kinase inhibition enhances radiation-induced cell killing and G2/M-phase arrest. *Radiat. Res.*, 2000, vol. 153, no. 4, p. 371–383.
44. CHAKRABORTY, AA. – TANSEY, WP. Adenoviral E1A function through Myc. *Cancer Res.*, 2009, vol. 69, no. 1, p. 6–9.
45. CHAMBARD, JC., et al. ERK implication in cell cycle regulation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, vol. 1773, no. 8, p. 1299–1310.
46. CHAO, TH., et al. MEKK3 directly regulates MEK5 activity as part of the big mitogen-activated protein kinase 1 (BMK1) signaling pathway. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, no. 51, p. 36035–36038.

47. CHEESEMAN, KH., et al. Studies on lipid peroxidation in normal and tumour tissues. The Yoshida rat liver tumour. *Biochem. J.*, 1988, vol. 250, no. 1, p. 247–252.
48. CHEN, RH. – SARNECKI, C. – BLENIS, J. Nuclear localization and regulation of erk- and rsk-encoded protein kinases. *Mol. Cell. Biol.*, 1992, vol. 12, no. 3, p. 915–927.
49. CHEN, W., et al. Tumor promoter arsenite activates extracellular signal-regulated kinase through a signaling pathway mediated by epidermal growth factor receptor and Shc. *Mol. Cell. Biol.*, 1998, vol. 18, no. 9, p. 5178–5188.
50. CHEN, Z., et al. MAP kinases. *Chem. Rev.*, 2001, vol. 101, no. 8, p. 2449–2476.
51. CHEUNG, EC. – SLACK, RS. Emerging role for ERK as a key regulator of neuronal apoptosis. *Sci. STKE*, 2004, vol. 2004, no. 251, p. 45.
52. CHOI, SY., et al. Activation of Bak and Bax through c-abl-protein kinase Cdelta-p38 MAPK signaling in response to ionizing radiation in human non-small cell lung cancer cells. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, no. 11, p. 7049–7059.
53. CHUN, HH. – GATTI, RA. Ataxia-telangiectasia, an evolving phenotype. *DNA Repair (Amst.)*, 2004, vol. 3, no. 8-9, p. 1187–1196.
54. JIN, S., et al. Binding of Ku and c-Abl at the kinase homology region of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, no. 40, p. 24763–24766.
55. JOHANNESSEN, M. – DELGHANDI, MP. – MOENS, U. What turns CREB on? *Cell. Signal.*, 2004, vol. 16, no. 11, p. 1211–1227.
56. KANNAN, N. – NEUWALD, AF. Evolutionary constraints associated with functional specificity of the CMGC protein kinases MAPK, CDK, GSK, SRPK, DYRK, and CK2alpha. *Protein. Sci.*, 2004, vol. 13, no. 8, p. 2059–2077.
57. KATZ, M. – AMIT, I. – YARDEN, Y. Regulation of MAPKs by growth factors and receptor tyrosine kinases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007, vol. 1773, no. 8, p. 1161–1176.
58. KHARBANDA, S., et al. Activation of MEK kinase 1 by the c-Abl protein tyrosine kinase in response to DNA damage. *Mol. Cell. Biol.*, 2000, vol. 20, no. 14, p. 4979–4989.
59. KHARBANDA, S., et al. Activation of the c-Abl tyrosine kinase in the stress response to DNA-damaging agents. *Nature*, 1995, vol. 376, no. 6543, p. 785–788.
60. KHARBANDA, S., et al. c-Abl activation regulates induction of the SEK1/stress-activated protein kinase pathway in the cellular response to 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine. *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, no. 51, p. 30278–30281.
61. KHARBANDA, S., et al. Functional interaction between DNA-PK and c-Abl in response to DNA damage. *Nature*, 1997, vol. 386, no. 6626, p. 732–735.
62. KHARBANDA, S., et al. Functional role for the c-Abl protein tyrosine kinase in the cellular response to genotoxic stress. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997, vol. 1333, no. 2, p. 1–7.
63. KNEBEL, A., et al. Dephosphorylation of receptor tyrosine kinases as target of regulation by radiation, oxidants or alkylating agents. *EMBO J.*, 1996, vol. 15, no. 19, p. 5314–5325.
64. KOROTAYEV, K. – CHAUSSEPIED, M. – GINSBERG, D. ERK activation is regulated by E2F1 and is essential for E2F1-induced S phase entry. *Cell. Signal.*, 2008, vol. 20, no. 6, p. 1221–1226.
65. KOSHIKAWA, T., et al. Alterations of DNA copy number and expression in genes involved in cell cycle regulation and apoptosis signal pathways in gamma-radiation-sensitive SX9 cells and -resistant SR-1 cells. *Radiat. Res.*, 2005, vol. 163, no. 4, p. 374–383.
66. KOUZARIDE, T. Chromatin Modifications and Their Function. *Cell*, 2007, vol. 128, no. 4, p. 693–705.
67. KUAN, CY., et al. The Jnk1 and Jnk2 protein kinases are required for regional specific apoptosis during early brain development. *Neuron*, 1999, vol. 22, no. 4, p. 667–676.
68. KUIDA, K. – BOUCHER, DM. Functions of MAP kinases: insights from gene-targeting studies. *J. Biochem.*, 2004, vol. 135, no. 6, p. 653–656.
69. KYRIAKIS, JM. – AVRUCH, J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol. Rev.*, 2001, vol. 81, no. 2, p. 807–869.
70. KYRIAKIS, JM. – AVRUCH, J. Sounding the alarm: protein kinase cascades activated by stress and inflammation. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 40, p. 24313–24316.
71. KYRIAKIS, JM., et al. The stress-activated protein kinase subfamily of c-Jun kinases. *Nature*, 1994, vol. 369, no. 6476, p. 156–160.
72. LAVAUR, J., et al. A TAT-DEF-Elk-1 peptide regulates the cytonuclear trafficking of Elk-1 and controls cytoskeleton dynamics. *J. Neurosci.*, 2007, vol. 27, no. 52, p. 14448–14458.
73. LAWLER, S., et al. Synergistic activation of SAPK1/JNK1 by two MAP kinase kinases in vitro. *Curr. Biol.*, 1998, vol. 8, no. 25, p. 1387–1390.
74. LEACH, JK., et al. Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. *Cancer Res.*, 2001, vol. 61, no. 10, p. 3894–3901.
75. LEE, JD. – ULEVITCH, RJ. – HAN, J. Primary structure of BMK1: a new mammalian map kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, vol. 213, no. 2, p. 715–724.
76. LEE, SA. – DRITSCHILLO, A. – JUNG, M. Impaired ionizing radiation-induced activation of a nuclear signal essential for phosphorylation of c-Jun by dually phosphorylated c-Jun amino-terminal kinases in ataxia telangiectasia fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, no. 49, p. 32889–32894.
77. LEE, SR., et al. Reversible inactivation of protein-tyrosine phosphatase 1B in A431 cells stimulated with epidermal growth factor. *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273, no. 25, p. 15366–15372.
78. LECHNER, C., et al. ERK6, a mitogen-activated protein kinase involved in C2C12 myoblast differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, no. 9, p. 4355–4359.
79. LI, Z., et al. The primary structure of p38 gamma: a new member of p38 group of MAP kinases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, vol. 228, no. 2, p. 334–340.
80. LIN, A., et al. Casein kinase II is a negative regulator of c-Jun DNA binding and AP-1 activity. *Cell*, 1992, vol. 70, no. 5, p. 777–789.
81. LIN, Q., et al. Control of mouse cardiac morphogenesis and myogenesis by transcription factor MEF2C. *Science*, 1997, vol. 276, no. 5317, p. 1404–1407.
82. LISNOCK, J., et al. Activation of JNK3 alpha 1 requires both MKK4 and MKK7: kinetic characterization of in vitro phosphorylated JNK3 alpha 1. *Biochemistry*, 2000, vol. 39, no. 11, p. 3141–3148.
83. LIU, ZG., et al. Three distinct signalling responses by murine fibroblasts to genotoxic stress. *Nature*, 1996, vol. 384, no. 6606, p. 273–276.
84. LIVINGSTONE, C. – PATEL, G. – JONES, N. ATF-2 contains a phosphorylation-dependent transcriptional activation domain. *EMBO J.*, 1995, vol. 14, no. 8, p. 1785–1797.
85. LUKAS, J. – LUKAS, C. – BARTEK, J. Mammalian cell cycle checkpoints: signalling pathways and their organization.

- ation in space and time. *DNA Repair (Amst.)*, 2004, vol. 3, no. 8/9, p. 997–1007.
86. MACDONALD, N., et al. Molecular basis for the recognition of phosphorylated and phosphoacetylated histone h3 by 14-3-3. *Mol. Cell.*, 2005, vol. 20, p. 199–211.
87. MAIZELS, ET., et al. Developmental regulation of mitogen-activated protein kinase-activated kinases-2 and -3 (MAPKAPK-2/-3) in vivo during corpus luteum formation in the rat. *Mol. Endocrinol.*, 2001, vol. 15, no. 5, p. 716–733.
88. MARAIS, R., et al. Differential regulation of Raf-1, A-Raf, and B-Raf by oncogenic ras and tyrosine kinases. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, no. 7, p. 4378–4383.
89. MARTIN-BLANCO, E. p38 MAPK signalling cascades: ancient roles and new functions. *Bioessays*, 2000, vol. 22, no. 7, p. 637–645.
90. MAYR, B. – MONTMINY, M. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001, vol. 2, no. 8, p. 599–609.
91. MELOCHE, S. – POUYSSEGUR, J. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene*, 2007, vol. 26, no. 22, p. 3227–3239.
92. MERTENS, S. – CRAXTON, M. – GOEDERT, M. SAP kinase-3, a new member of the family of mammalian stress-activated protein kinases. *FEBS Lett.*, 1996, vol. 383, no. 3, p. 273–276.
93. MEVES, A., et al. H(2)O(2) mediates oxidative stress-induced epidermal growth factor receptor phosphorylation. *Toxicol. Lett.*, 2001, vol. 122, no. 3, p. 205–214.
94. MOCHAN, TA., et al. 53BP1 and NFB1/MDC1-Nbs1 function in parallel interacting pathways activating ataxia-telangiectasia mutated (ATM) in response to DNA damage. *Cancer Res.* 2003, vol. 63, no. 24, p. 8586–8591.
95. MUDGETT, JS., et al. Essential role for p38alpha mitogen-activated protein kinase in placental angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, no. 19, p. 10454–10459.
96. MUKHERJEE, JJ. – SIKKA, HC. Attenuation of BPDE-induced p53 accumulation by TPA is associated with a decrease in stability and phosphorylation of p53 and down-regulation of Nf-kappaB activation: role of p38 MAP kinase. *Carcinogenesis*, 2006, vol. 27, no. 3, p. 631–638.
97. NAKAMURA, K. – JOHNSON, GL. PB1 domains of MEKK2 and MEKK3 interact with the MEK5 PB1 domain for activation of the ERK5 pathway. *J. Biol. Chem.*, 2003, vol. 278, no. 39, p. 36989–36992.
98. NOGUCHI, K., et al. Regulation of c-Myc through phosphorylation at Ser-62 and Ser-71 by c-Jun N-terminal kinase. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, p. 32580–32587.
99. O'DONNELL, KA., et al. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature*, 2005, vol. 435, no. 7043, p. 839–843.
100. OUWENS, DM., et al. Growth factors can activate ATF2 via a two-step mechanism: phosphorylation of Thr71 through the Ras-MEK-ERK pathway and of Thr69 through RalGDS-Src-p38. *EMBO J.*, 2002, vol. 21, p. 3782–3793.
101. PAGES, G., et al. Defective thymocyte maturation in p44 MAP kinase (Erk 1) knockout mice. *Science*, 1999, vol. 286, no. 5443, p. 1374–1377.
102. PANDEY, P., et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase by c-Abl-dependent and -independent mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 39, p. 23775–23779.
103. PANTA, GR., et al. ATM and the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase activate NF-kappaB through a common MEK/extracellular signal-regulated kinase(p90(rsk) signaling pathway in response to distinct forms of DNA damage. *Mol. Cell. Biol.*, 2004, vol. 24, no. 5, p. 1823–1835.
104. PAYNE, DM., et al. Identification of the regulatory phosphorylation sites in pp42/mitogen-activated protein kinase (MAP kinase). *EMBO J.*, 1991, vol. 10, no. 4, p. 885–892.
105. PEARSON, G., et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr. Rev.*, 2001, vol. 22, no. 2, p. 153–183.
106. PERRY, RL. – PARKER, MH. – RUDNICKI, MA. Activated MEK1 binds the nuclear MyoD transcriptional complex to repress transactivation. *Mol. Cell*, 2001, vol. 8, no. 2, p. 291–301.
107. POKHOLOK, DK., et al. Activated signal transduction kinases frequently occupy target genes. *Science*, 2006, vol. 313, no. 5786, p. 533–536.
108. POUYSSEGUR, J. – VOLMAT, V. – LENORMAND, P. Fidelity and spatio-temporal control in MAP kinase (ERKs) signalling. *Biochem. Pharmacol.*, 2002, vol. 64, no. 5/6, p. 755–763.
109. QIU, M. – LANGE, CA. MAP kinases couple multiple functions of human progesterone receptors: degradation, transcriptional synergy, and nuclear association. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2003, vol. 85, no. 2/5, p. 147–157.
110. RAINGEAUD, J., et al. Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38 mitogen-activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, no. 13, p. 7420–7426.
111. RAITANO, AB., et al. The Bcr-Abl leukemia oncogene activates Jun kinase and requires Jun for transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, vol. 92, no. 25, p. 11746–11750.
112. RAMAN, M., et al. TAO kinases mediate activation of p38 in response to DNA damage. *EMBO J.*, 2007, vol. 26, no. 8, p. 2005–2014.
113. REGAN, CP., et al. Erk5 null mice display multiple extraembryonic vascular and embryonic cardiovascular defects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 14, p. 9248–9253.
114. RENSCHAW, MW. – LEA-CHOU, E. – WANG, JY. Rac is required for v-Abl tyrosine kinase to activate mitogenesis. *Curr. Biol.*, 1996, vol. 6, no. 1, p. 76–83.
115. ROUSSEAU, S., et al. TPL2-mediated activation of ERK1 and ERK2 regulates the processing of pre-TNF alpha in LPS-stimulated macrophages. *J. Cell. Sci.*, 2008, vol. 121, no. 2, p. 149–154.
116. ROUX, PP. – BLENIS, J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2004, vol. 68, no. 2, p. 320–344.
117. SABAPATHY, K., et al. c-Jun NH2-terminal kinase (JNK)1 and JNK2 have similar and stage-dependent roles in regulating T cell apoptosis and proliferation. *J. Exp. Med.*, 2001, vol. 193, no. 3, p. 317–328.
118. SABIO, G., et al. p38gamma regulates the localisation of SAP97 in the cytoskeleton by modulating its interaction with GKAS. *EMBO J.*, 2005, vol. 24, no. 6, p. 1134–1145.
119. SAGATA, N. What does Mos do in oocytes and somatic cells? *Bioessays*, 1997, vol. 19, no. 1, p. 13–21.
120. SEARS, R., et al. Ras enhances Myc protein stability. *Mol. Cell*, 1999, vol. 3, no. 2, p. 169–179.
121. SEGER, R., et al. Purification and characterization of mitogen-activated protein kinase activator(s) from epidermal growth factor-stimulated A431 cells. *J. Biol. Chem.*, 1992, vol. 267, no. 20, p. 14373–14381.

122. SHAFMAN, T., et al. Interaction between ATM protein and c-Abl in response to DNA damage. *Nature*, 1997, vol. 387, no. 6632, p. 520–523.
123. SHAFMAN, TD., et al. Defective induction of stress-activated protein kinase activity in ataxia-telangiectasia cells exposed to ionizing radiation. *Cancer Res.*, 1995, vol. 55, no. 15, p. 3242–3245.
124. SHE, QB. – CHEN, N. – DONG, Z. ERKs and p38 kinase phosphorylate p53 protein at serine 15 in response to UV radiation. *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, no. 27, p. 20444–20449.
125. SCHWECHHEIMER, C., et al. Examining protein stability and its relevance for plant growth and development. *Methods Mol. Biol.*, 2009, vol. 479, p. 147–171.
126. SNOWDEN, AW. – PERKINS, ND. Cell cycle regulation of the transcriptional coactivators p300 and CREB binding protein. *Biochem. Pharmacol.*, 1998, vol. 55, no. 12, p. 1947–1954.
127. SOHN, SJ., et al. ERK5 MAPK regulates embryonic angiogenesis and acts as a hypoxia-sensitive repressor of vascular endothelial growth factor expression. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 45, p. 43344–43351.
128. STUART, JR., et al. c-Abl regulates early growth response protein (EGR1) in response to oxidative stress. *Oncogene*, 2005, vol. 24, no. 55, p. 8085–8092.
129. STUCKI, M., et al. MDC1 directly binds phosphorylated histone H2AX to regulate cellular responses to DNA double-strand breaks. *Cell*, 2005, vol. 123, no. 7, p. 1213–1226.
130. SUN, W., et al. MEKK2 associates with the adapter protein Lad/RIBP and regulates the MEK5-BMK1/ERK5 pathway. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, no. 7, p. 5093–5100.
131. SUNDARAM, MV. RTK/Ras/MAPK signaling. *WormBook*, 2006, p. 1–19.
132. TAMURA, K., et al. Requirement for p38alpha in erythropoietin expression: a role for stress kinases in erythropoiesis. *Cell*, 2000, vol. 102, no. 2, p. 221–231.
133. TANG, D., et al. ERK activation mediates cell cycle arrest and apoptosis after DNA damage independently of p53. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 15, p. 12710–12717.
134. TANOUE, T., et al. A conserved docking motif in MAP kinases common to substrates, activators and regulators. *Nat. Cell. Biol.*, 2000, vol. 2, no. 2, p. 110–116.
135. THORNTON, SC., et al. Both in vitro and in vivo irradiation are associated with induction of macrophage-derived fibroblast growth factors. *Clin. Exp. Immunol.*, 1996, vol. 103, no. 1, p. 67–73.
136. UZIEL, T., et al. Requirement of the MRN complex for ATM activation by DNA damage. *EMBO J.* 2003, vol. 22, no. 20, p. 5612–21.
137. VAN DEN BOSCH, M. – BREE, RT. – LOWNDES, NF. The MRN complex: coordinating and mediating the response to broken chromosomes. *EMBO Rep.*, 2003, vol. 4, no. 9, p. 844–849.
138. WANG, S., et al. Regulation of Rb and E2F by signal transduction cascades: divergent effects of JNK1 and p38 kinases. *EMBO J.*, 1999, vol. 18, no. 6, p. 1559–1570.
139. WANG, X., et al. Involvement of the MKK6-p38gamma cascade in gamma-radiation-induced cell cycle arrest. *Mol. Cell. Biol.*, 2000, vol. 20, no. 13, p. 4543–4552.
140. WANG, X., et al. Targeted deletion of mek5 causes early embryonic death and defects in the extracellular signal-regulated kinase 5/myocyte enhancer factor 2 cell survival pathway. *Mol. Cell. Biol.*, 2005, vol. 25, no. 1, p. 336–345.
141. WANG, Z., et al. The structure of mitogen-activated protein kinase p38 at 2.1-A resolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, no. 6, p. 2327–2332.
142. WEI, W., et al. The v-Jun point mutation allows c-Jun to escape GSK3-dependent recognition and destruction by the Fbw7 ubiquitin ligase. *Cancer Cell*, 2005, vol. 8, no. 1, p. 25–33.
143. WEIS, K. Regulating access to the genome: nucleocytoplasmic transport throughout the cell cycle. *Cell*, 2003, vol. 112, no. 4, p. 441–451.
144. WESTON, CR., et al. JNK initiates a cytokine cascade that causes Pax2 expression and closure of the optic fissure. *Genes. Dev.*, 2003, vol. 17, no. 10, p. 1271–1280.
145. WILSON, KP., et al. Crystal structure of p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 44, p. 27696–27700.
146. XING, J. – GINTY, DD. – GREENBERG, ME. Coupling of the RAS-MAPK pathway to gene activation by RSK2, a growth factor-regulated CREB kinase. *Science*, 1996, vol. 273, no. 5277, p. 959–963.
147. YAMASHITA, M., et al. Ras-ERK MAPK cascade regulates GATA3 stability and Th2 differentiation through ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 33, p. 29409–29419.
148. YANG, J., et al. Mekk3 is essential for early embryonic cardiovascular development. *Nat. Genet.*, 2000, vol. 24, no. 3, p. 309–313.
149. YANG, SH. – SHARROCKS, AD. – WHITMARSH, AJ. Transcriptional regulation by the MAP kinase signaling cascades. *Gene*, 2003, vol. 320, p. 3–21.
150. YANG, SH., et al. Differential targeting of MAP kinases to the ETS-domain transcription factor Elk-1. *EMBO J.*, 1998, vol. 17, no. 6, p. 1740–1749.
151. YANG, SH., et al. The mechanism of phosphorylation-inducible activation of the ETS-domain transcription factor Elk-1. *EMBO J.*, 1999, vol. 18, no. 20, p. 5666–5674.
152. YOU, Z., et al. ATM activation and its recruitment to damaged DNA require binding to the C terminus of Nbs1. *Mol. Cell. Biol.* 2005, vol. 25, no. 13, p. 5363–5379.
153. YU, Q. – CIEMERYCH, MA. – SICINSKI, P. Ras and Myc can drive oncogenic cell proliferation through individual D-cyclins. *Oncogene*, 2005, vol. 24, no. 47, p. 7114–7119.
154. ZHENG, Q., et al. 14-3-3beta binds to big mitogen-activated protein kinase 1 (BMK1/ERK5) and regulates BMK1 function. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, no. 10, p. 8787–8791.
155. ZHOU, G. – BAO, ZQ. – DIXON, JE. Components of a new human protein kinase signal transduction pathway. *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, no. 21, p. 12665–12669.

Korespondence: Kpt. MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D.
Univerzita obrany
Fakulta vojenského zdravotnictví
Centrum pokročilých studií
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail:jaroslav.pejchal@seznam.cz

Do redakce došlo 25. 5. 2009