

Received: 2012.07.13
Accepted: 2012.11.19
Published: 2013.01.11

Udział białek Rho w regulacji postępu fazy G1 cyklu komórkowego*

Involvement of Rho proteins in G1 phase cell cycle progression

Anna Klimaszewska-Wiśniewska¹, Jakub Marcin Nowak¹, Agnieszka Żuryń¹, Alina Grzanka^{1,2}

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

² Bydgoska Szkoła Wyższa

Streszczenie

Białka Rho to monomeryczne GTP-azy z nadrodziny Ras, których zasadniczą funkcją jest udział w regulacji struktury cytoszkieletu. W licznych badaniach wykazano, że zachowanie prawidłowej organizacji cytoszkieletu wymagane jest do realizacji postępu fazy G1 cyklu komórkowego, a także mitozy i cytokinezy. Białka Rho odgrywają również istotną rolę w sygnalizacji mitogennej, m.in. z wykorzystaniem szlaku MAPKs. Dlatego też GTP-azy Rho, a wśród nich RhoA, Rac1 i Cdc42, będące najlepiej poznanymi przedstawicielami opisywanej rodziny, uważane są za istotne modulatory progresji cyklu komórkowego. W pracy omówiono aktualny stan wiedzy na temat molekularnej natury szlaków sygnałowych GTP-az Rho, które są podstawowe dla wzrostu komórek, wpływając na ekspresję białkowych regulatorów fazy G1 oraz przejścia G1/S.

Słowa kluczowe:

białka Rho • cykl komórkowy • faza G1 • cyklina D • cyklina E • p21^{Waf1/cip1} • p27^{Kip1}

Summary

Rho proteins, including RhoA, Rac1 and Cdc42, are members of the Ras superfamily of monomeric GTP-binding proteins, which are well-known regulators of the cytoskeleton. Numerous studies have shown that an intact cytoskeleton is required for cell cycle progression through G1 phase as well as mitosis and cytokinesis. Because of their role in both cytoskeletal rearrangement and mitogenic signaling, Rho family proteins are key mediators of cell cycle progression. In this paper, we review the current state of knowledge concerning the Rho-dependent signaling pathways that regulate the expression of cell cycle regulatory proteins required for G1 phase progression and S phase entry.

Key words:

Rho proteins • cell cycle • G1 phase • cyclin D • cyclin E • p21^{Waf1/cip1} • p27^{Kip1}

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1028766>

* Publikacja finansowana z funduszy zadania badawczego nr 586 w ramach działalności statutowej – utrzymanie potencjału badawczego w roku 2012 na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Word count: 5082
Tables: –
Figures: –
References: 118

Adres autorki: prof. dr hab. n med. Alina Grzanka, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-094 Bydgoszcz; e-mail: agrzanka@cm.umk.pl

Wykaz skrótów: **ATF-2** – czynnik transkrypcyjny ATF2 (activating transcription factor 2); **Cdks** – kinazy cyklinozależne (cyclin-dependent kinases); **CDKis** – inhibitory kinaz cyklinozależnych (cyclin-dependent kinase inhibitors); **DP** – białka wiążące czynniki transkrypcyjne z rodziny E2F (dimerization partner); **DPI** – inhibitor enzymów flawoproteinowych (diphenylene iodonium); **E2F** – czynnik transkrypcyjny E2F; **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix); **ERK** – kinaza regulowana czynnikami zewnętrznymi (extracellular signal regulated kinase); **FAK** – kinaza płytek przylegania (focal adhesion kinase); **GAP** – białko stymulujące aktywność GTP-azową małych białek G (GTPase-activating protein); **GDI** – białko hamujące aktywność małych białek G (guanine nucleotide dissociation inhibitor); **GDP** – guanozyno-5’ difosforan (guanosine-5’ diphosphate); **GEF** – białko zaangażowane w wymianę GDP na GTP, aktywujące małe białka G (guanine nucleotide exchange factor); **GTP** – guanozyno-5’ trifosforan (guanosine-5’ triphosphate); **GTP-aza** – guanozyno-5’ trifosfataza (guanosine-5’ triphosphatase); **HMG-CoA** – 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-CoA; **IκB** – inhibitor czynnika transkrypcyjnego NF-κB (inhibitor of NFκB); **Lbc** – czynnik wymiany nukleotydów guaninowych dla RhoA (lymphoid blast crisis); **LIMK** – kinaza LIM (LIM kinase); **mDia** – białko efektorowe białek z rodziny Rho (mammalian homologue of *Drosophila* diaphanous); **MAPKs** – kinazy białkowe aktywowane przez mitogeny (mitogen-activated protein kinases); **MBS** – wiążąca miozynę podjednostka fosfatazy lekkich łańcuchów miozyny (myosin-binding subunit); **MEK** – aktywator kinazy ERK; **MLC** – lekki łańcuch miozyny (myosin light chain); **MLCP** – fosfataza lekkich łańcuchów miozyny (myosin light chain phosphatase); **NAC** – N-acetylocysteina; **NADPH** – zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego; **NF-κB** – czynnik transkrypcyjny kappa B (nuclear factor kappa B); **NLS** – sygnał lokalizacji jądrowej (nuclear localization signal); **PAK** – kinaza serynowo-treoninowa (p21-activated kinase); **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu; **PDTC** – ditiokarbaminian pirolidyny; **pRb** – produkt białkowy genu supresorowego retinoblastoma; **Ras** – małe białko G kodowane przez protoonkogen ras będący homologiem wirusowego onkogenu zidentyfikowanego w wirusie mięsaka myszy (rat sarcoma); **RFT** – reaktywne formy tlenu; **ROCK** – Rho-zależna kinaza (Rho kinase); **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β (tumor transforming factor β); **wt** – typ dziki (wild type).

WPROWADZENIE

Białka Rho (Ras homologous) to monomeryczne polipeptydy o masach cząsteczkowych 20–30 kDa, szeroko rozpowszechnione w komórkach eukariota, od drożdży aż po człowieka [48,69]. Członkami rodziny Rho są białka: Rho (RhoA, RhoB, RhoC, RhoD, RhoT), Rac (Rac1, Rac2, Rac3), Cdc42, TC10, TCL, Wrch1, Chp/Wrch2, RhoG, RhoH/TTF oraz Rnd (Rnd1, Rnd2, Rnd3/RhoE) [23,106]. Najlepiej dotąd poznanymi są polipeptydy RhoA, Rac1 i Cdc42. Białka Rho należą do nadrodziny białek Ras (małych białek G). Ich wspólną cechą strukturalną jest posiadanie domeny GTP-azowej, przy czym występowanie w jej obrębie 13-aminokwasowego insertu (Rho insert α-main) pomiędzy piątym łańcuchem β a czwartą helisą α, wyróżnia białka Rho spośród pozostałych małych białek G [69,75,114]. Rho funkcjonują jako molekularne przełączniki, oscylując między postacią aktywną (po związaniu GTP) a nieaktywną (gdy GTP ulegnie hydrolizie do GDP) [106]. Aktywność tych polipeptydów kontrolowana jest przez trzy grupy białek regulatorowych: GEF (guanine

nucleotide exchange factor), GAP (GTPase-activating proteins) oraz GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor). Nieaktywne Rho utrzymywane są w cytoplazmie komórki w postaci związanej z białkami GDI, które hamują wymianę GDP na GTP. Funkcja GEF związana jest z aktywacją białek Rho, gdyż czynniki te ułatwiają zarówno dysocjację GDI, jak również wymianę GDP na GTP. Białka Rho mają niewielką wewnętrzną aktywność GTP-azową, dlatego też ich przejście ze stanu aktywnego w nieaktywny wymaga białek regulatorowych GAP, które promują hydrolizę GTP do GDP [31,106].

Najwcześniej i najlepiej poznaną funkcją białek Rho jest udział w regulacji struktury cytoszkieletu aktywnego [19,69]. GTP-azy Rho są ogniwami szlaków sygnalizacyjnych, które kontrolują stopień polimeryzacji i depolimeryzacji aktyny oraz poziom fosforylacji miozyny [30,31]. Aktywne RhoA stymuluje powstawanie włókien naprężeniowych (stress fibers) i ognisk kontaktowych (focal adhesions) [5], podczas gdy polipeptydy Cdc42 i Rac indukują formowanie, odpowiednio filopodiów i lamelipodiów [35,68,82].



Istotnymi efektorami białka RhoA są serynowo-treoninowe Rho-zależne kinazy ROCK1 (ROK β) oraz ROCK2 (ROK α), a także białka z rodziny formin mDia1 i mDia2. Po związaniu Rho-GTP, ROCK fosforyluje liczne substraty, takie jak kinazy LIM1 i LIM2, lekkie łańcuchy miozyny (MLC – myosin light chain) czy też podjednostkę wiążącą miozynę (MBS – myosin-binding subunit) fosfatazy lekkich łańcuchów miozyny (MLCP – myosin light chain phosphatase), co prowadzi do polimeryzacji aktyny, zwiększenia kurczliwości struktur aktomiozynowych, formowania włókien naprężeniowych oraz ich stabilizacji. Najważniejszym efekto-rem dla polipeptydów Rac i Cdc42 jest natomiast kinaza PAK (p21-activated kinase), której jednym z substratów jest wspomniana już kinaza LIM. Aktywna LIMK fosforyluje i inaktywuje kofilinę (białko odpowiedzialne m.in. za depolimeryzację F-aktyny), przez co zapobiega depolimeryzacji filamentów aktynowych [17,31,69]. Reorganizacja cytoszkieletu aktynowego warunkuje m.in. zmianę kształtu komórek, ich adhezję i rozplaszczanie się na podłożu [28]. Białka Rho wpływają na organizację cytoszkieletu aktynowego oraz ekspresję wielu genów, regulują liczne procesy m.in. proliferację czy apoptozę komórek [10,30].

Adhezja komórek do podłoża – macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM – extracellular matrix) odgrywa główną rolę w proliferacji nietransformowanych komórek [85]. Kontrola wzrostu komórek przez ich adhezję do podłoża odbywa się w fazie G1 cyklu komórkowego [8]. Przyczepienie się komórek do ECM za pośrednictwem receptorów typu integryn, a następnie ich rozplaszczanie, warunkowane przez rearanżację cytoszkieletu aktynowego, umożliwia postęp fazy G1 i podjęcie syntezy DNA w fazie S cyklu [18,28]. Postęp fazy G1 cyklu komórkowego kontrolowany jest przez trzy główne grupy białek: kinazy cyklozależne (Cdks – cyclin-dependent kinases), endogenne inhibitory Cdks (CDKIs – cyclin-dependent kinase inhibitors) oraz podjednostki regulatorowe Cdks – cykliny. We wczesnej fazie G1 działają cykliny D oraz kinazy Cdk4/6, a w późnej fazie G1 cyklina E, która jest podjednostką regulatorową dla Cdk2. Inhibitory kinaz cyklozależnych zalicza się do jednej z dwóch rodzin, INK4 (p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C}, p19^{INK4D}) lub CIP/KIP (p21^{Waf1/cip1}, p27^{Kip1}, p57^{Kip2}) [96,107]. Ważnym substratem kompleksów cyklina D/Cdk4/6 oraz cyklina E/Cdk2 jest białko Rb (pRb – retinoblastoma protein), które w postaci nieufosforylowanej wiąże się z różnymi czynnikiemami transkrypcyjnymi, m.in. z rodziny E2F. Czynniki te mają krytyczne znaczenie dla przejścia komórki przez punkt restrykcyjny na granicy faz G1/S oraz wpływają na aktywację genów fazy S. Na początku i w trakcie trwania fazy G1 za fosforylację pRb odpowiada kompleks cyklina D/Cdk4/6, natomiast w późnej fazie G1 proces ten przejmuje kompleks cyklina E/Cdk2 [95,99]. Hiperfosforylacja pRb prowadzi do uwolnienia E2F, które po przyłączeniu białek DP (dimerization partner) wiąże się z regionami promotorowymi genów docelowych, stymulując ich transkrypcję i przejście komórki w następną fazę cyklu [37]. Zatem, relatywne poziomy cyklina, kinaz Cdk oraz białek CDKI są czynnikami decydującymi o przejściu komórki przez punkt krytyczny na granicy faz G1/S [27].

Istotna rola białek z rodziny Rho zarówno w rearanżacji cytoszkieletu aktynowego, a także sygnalizacji mitogennej sprawia, że GTP-azy te postrzegane są jako ważne modulatory postępu fazy G1 cyklu komórkowego [58]. Wyniki

licznych badań wskazują, że udział polipeptydów Rho, w zależności od integryn organizacji cytoszkieletu, wymagany jest do wystąpienia wszystkich wyżej wymienionych zdarzeń koniecznych do przejścia komórki przez fazę G1 i wejścia w fazę S [18,41]. Ponadto Rho, Rac i Cdc42 kontrolują szlaki przekazywania sygnałów, które są podstawowe dla wzrostu komórek, wpływając na ekspresję regulatorów fazy G1 cyklu komórkowego [9,26,27,112]. Jednak rola białek z rodziny Rho nie ogranicza się do regulacji fazy G1 cyklu komórkowego. Będąc ogniwem szlaków sygnałowych prowadzących do reorganizacji filamentów aktynowych oraz mikrotubul, GTP-azy Rho regulują również progresję mitozy i cytokinezy [47]. Zaangażowane są w formowanie i usztywnienie korteksu komórki podczas jej mitotycznego zaokrąglenia [57], tworzenie wrzeciona kariokinetycznego [11], a także wiązanie mikrotubul wrzeciona do kinetochorów [66,70]. Co więcej, podczas cytokinezy biorą udział w wyznaczaniu płaszczyzny podziału komórki [67], formowaniu pierścienia kurczliwego i bruzdy podziałowej [49,103] oraz ostatecznym rozdzieleniu komórek siostrzanych [65,90].

WPLYW GTP-AZ RHO NA BIAŁKOWE REGULATORY FAZY G1 CYKLU KOMÓRKOWEGO

Białka z rodziny Rho stanowią istotne modulatory postępu fazy G1 cyklu komórkowego, co związane jest z ich wpływem na główne zarówno pozytywne, jak i negatywne regulatory progresji tej fazy [112]. Olson i wsp. wykazali, że mikroiniekcja białek Rho, Rac i Cdc42 do spoczynkowych fibroblastów Swiss 3T3 promuje postęp fazy G1 cyklu komórkowego oraz proces syntezy DNA. Jednocześnie wykazano, że wprowadzenie do komórek mRNA kodujących dominującą negatywną postać białek Rac i Cdc42 lub inhibitora Rho, transferazę C3 z *Clostridium botulinum*, blokuje syntezę DNA stymulowaną przez surowicę [71]. Co więcej, naukowcy zasugerowali, że aktywny mutant RhoA zdolny jest do indukcji przejścia G1/S w fibroblastach pozbawionych surowicy [71,116]. Z kolei Zhang i wsp. zaobserwowali, że selektywna supresja RhoA lub jego efektorów, mDia1 i ROCK skutecznie hamuje proliferację oraz przejście przez punkt restrykcyjny G1/S komórek raka żółądka [117].

CYKLINA D1

Cyklina typu D1 stanowi główną cyklinę z grupy D (D1, D2, D3) i zazwyczaj pierwszą, której indukcja następuje po przejściu komórki z fazy spoczynkowej G0 w fazę G1 [34]. Synteza cykliny D1, w odpowiedzi na stymulację mitogenną, jest etapem ograniczającym szybkość tworzenia aktywnych kompleksów cyklina D/Cdk4/6 i tym samym, jednym z głównych zdarzeń wymaganych do fosforylacji białka Rb i w konsekwencji postępu fazy G1 cyklu komórkowego [95,96].

W wielu typach komórek indukcja ekspresji cykliny D1 jest ściśle związana z aktywacją kinazy ERK (extracellular signal regulated kinase) [4,54]. ERK jest serynowo-treoninową kinazą należącą do nadrodziny kinaz aktywowanych przez mitogeny (MAP – mitogen activated protein kinases). Enzym ten występuje w dwóch postaciach homologicznych: ERK1 (p44) i ERK2 (p42), a podstawową kaskadę sygnałową tworzy zespół Ras/Raf/MEK/ERK [51,77].

W licznych badaniach wykazano, że inhibicja szlaku sygnałowego Ras/ERK blokuje, aktywowaną przez mitogeny, ekspresję cykliny D1 [54,110,111]. Należy podkreślić, że proces syntezy cykliny D1 wymaga długotrwałej aktywacji kinazy ERK, utrzymującej się przez 5–6 h po stymulacji spoczynkowych fibroblastów mitogenami, podczas gdy krótki czas aktywacji tego enzymu (1–3 h w przypadku fibroblastów) jest niewystarczający do rozpoczęcia opisywanego procesu [13,84,113]. Czas trwania aktywacji kinazy ERK determinowany jest przez współdziałanie receptorów czynnika wzrostu, receptorów adhezyjnych oraz cytoskieletu aktynowego [113]. Głównymi receptorami adhezyjnymi są kompleksy glikoprotein, zwane integrzynami [104]. Oddziaływanie składników macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak fibronektyna, z receptorem integrynowym leży u podstaw mechanizmów kontrolujących m.in. organizację cytoskieletu aktynowego [50]. O istotnej roli cytoskieletu aktynowego w kontroli ekspresji cykliny D1 świadczą m.in. wyniki badań Böhmera i wsp., którzy zaobserwowali, że zablokowanie polimeryzacji filamentów aktynowych przez cytochalazynę D, hamuje syntezę mRNA cykliny D1 [18]. Welsh i wsp. wykazali, że skoordynowane współdziałanie receptorów czynnika wzrostu oraz integrzyn, przy zachowaniu prawidłowej organizacji cytoskieletu aktynowego, pozwala na długotrwałą aktywację kinazy ERK w fibroblastach NIH 3T3, mających aktywne Rho. Zaktywowana kinaza ERK ulega translokacji do jądra, gdzie stymuluje transkrypcję genu kodującego cyklinę D1, w środkowej fazie G1 cyklu komórkowego (~9 h po stymulacji mitogennej) [113]. Powstała cyklina D1 tworzy aktywny kompleks z Cdk4 lub Cdk6, zdolny do fosforylacji, a tym samym inaktywacji białka Rb. Kompleks cyklina D1/Cdk4/6 może również promować postęp cyklu komórkowego, poprzez sekwestrację inhibitora kinaz cyklinozależnych – białka p27^{Kip1} [107].

Udział ECM oraz cytoskieletu aktynowego w kontroli czasu trwania aktywacji kinazy ERK wskazuje na istotną rolę białek z rodziny Rho w regulacji ekspresji cykliny D1 [46]. Jak wynika z danych piśmiennictwa, udział szlaku sygnałowego Rho w kontroli syntezy cykliny D1 związany jest z regulacją czasu trwania aktywacji kinazy ERK, a także z koordynacją ekspresji cykliny D1 w czasie (timing of cyclin D1 expression) [113]. Regulacja syntezy cykliny D1 może się odbywać również w sposób niezależny od kinazy ERK, w czym uczestniczą białka Rac i Cdc42 [73,113,115].

Renshaw i wsp. wykazali, że szlak sygnałowy Rho pośredniczy w zależności od integrzyn aktywacji kinazy ERK. W cytowanych badaniach inaktywacja białka RhoA przez transferazę C3 z *Clostridium botulinum* lub dominujący negatywny mutant RhoA (RhoN19) hamowała aktywację kinaz ERK/MAPK w fibroblastach NIH 3T3. Z kolei aktywacja GTP-azy RhoA, na skutek wprowadzenia do komórek konstytutywnie aktywnej, zmutowanej postaci RhoA (RhoQ63L) lub swoistego dla RhoA czynnika wymiany nukleotydów guaninowych (Lbc – lymphoid blast crisis) wzmacniała aktywację ERK [80]. Kolejne, przeprowadzone na fibroblastach NIH 3T3 doświadczenia wykazały, że zablokowanie Rho-zależnej kinazy lub jej efektora LIMK, blokuje formowanie włókien naprężeniowych oraz ognisk kontaktowych, a w konsekwencji zależną od integrzyn aktywację kinazy ERK. Wyniki te,

uzyskane przez Rooversa i wsp. wskazują, że indukowane przez szlak sygnałowy RhoA-ROCK formowanie włókien stresowych i ognisk kontaktowych wymagane jest do długotrwałej aktywacji kinazy ERK oraz ekspresji cykliny D1 w komórkach NIH 3T3 traktowanych czynnikami wzrostu [83]. Wniosek ten wysunięto także na podstawie doświadczeń, przeprowadzonych na stymulowanych surowicą komórkach w zawieszynie. W warunkach tych aktywność Rho jest duża [79], jednak ze względu na brak możliwości wytworzenia włókien stresowych, nie obserwowano długotrwałej aktywacji kinazy ERK [113]. Burrige i wsp. zasugerowali, że białko RhoA promuje formowanie włókien stresowych i związanych z nimi miejsc adhezji przez stymulację aktywności kurczliwej systemu aktomiozynowego, co generuje izometryczne naprężenia w komórce, które wzmacniają grupowanie integrzyn i przez to integrzynowy szlak sygnałowy [22]. Jak już wspomniano, aktywacja integrzyn wyzwała liczne wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe, w tym kaskadę kinazy ERK [91].

Co ciekawe, Welsh i wsp. zaobserwowali, że w warunkach, w których długotrwała aktywacja kinazy ERK jest zablokowana (selektywna inaktywacja RhoA), mimo to dochodzi do gwałtownego wytwarzania cykliny D1, w odpowiedzi na stymulację mitogenną mysich fibroblastów NIH 3T3. Dalsza analiza tego zjawiska wykazała, że wspomniana synteza cykliny D1 zależna jest od szlaku sygnałowego Rac/Cdc42 i odbywa się we wczesnej fazie G1 cyklu komórkowego, około 3 h po stymulacji mitogennej spoczynkowych fibroblastów. Jak wiadomo, w prawidłowych fibroblastach (w których adherentne komórki stymulowane są przez czynniki wzrostu) synteza cykliny D1 ograniczona jest zwykle do środkowej fazy G1 cyklu komórkowego. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że białko RhoA pełni istotną rolę w koordynacji ekspresji cykliny D1 w odpowiedniej sekwencji czasowej. W fibroblastach NIH 3T3, RhoA blokuje alternatywny szlak Rac/Cdc42 i tym samym zapobiega przedwczesnej indukcji cykliny D1. Jednocześnie promuje, zależną od kinazy ERK, syntezę cykliny D1 w środkowej fazie G1 cyklu komórkowego. Zatem indukcja ekspresji cykliny D1 przez Rac/Cdc42 w fibroblastach NIH 3T3, obserwowana jest tylko w przypadku zablokowania RhoA (lub jego efektorów) i jest niezależna od kinazy ERK [113]. Inaczej dzieje się w przypadku komórek epitelialnych. Badania wykazały bowiem, że komórki mezenchymalne (np. fibroblasty) i epitelialne różnią się kinetyką ekspresji cykliny D1 – w tych pierwszych, jak już wspomniano, proces ten zachodzi w środkowej fazie G1 cyklu, natomiast w drugich ograniczony jest raczej do wczesnej fazy G1 [34,45,113]. Fournier i wsp. wykazali, że endogenne białko Rac odgrywa główną rolę w regulacji syntezy cykliny D1 w komórkach epitelialnych raka gruczołu piersiowego linii MCF10A [34].

Należy podkreślić, że większość badań nad zależnymi od ERK lub Rac szlakami sygnałowymi stymulującymi ekspresję cykliny D1, prowadzonych było w różnych typach komórek (epitelialne vs. mezenchymalne) lub w warunkach nadekspresji Rac [34,43,46,113]. Klein i wsp., jako pierwsi ocenili udział ścieżek sygnalizacyjnych ERK oraz Rac w kontroli syntezy cykliny D1, nie tylko w komórkach o różnym, ale również o tym samym pochodzeniu. W cytowanych badaniach materiał doświadczalny stanowiły komórki linii MCF10A, a także komórki linii MCF10A,



w których indukowano fenotyp mezenchymalny, na skutek 3-dniowej inkubacji komórek z TGF- β . Uzyskane wyniki wykazały, że w komórkach MCF10A, Rac indukuje ekspresję cykliny D1 we wczesnej fazie G1, w sposób niezależny od kinazy ERK i integralności cytoszkieletu aktywnego oraz że jest ona niewystarczająca do przejścia komórek z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Wczesna indukcja cykliny D1 ulega zablokowaniu w komórkach mezenchymalnych, takich jak fibroblasty, komórki mięśni gładkich czy też komórki MCF10A po 3-dniowej inkubacji z TGF- β . Z kolei synteza cykliny D1 w środkowej fazie G1 regulowana jest zarówno przez ERK, jak i Rac oraz wymaga prawidłowej organizacji cytoszkieletu aktywnego. Co więcej, współdziałanie między tymi białkami istotne jest do indukcji mRNA cykliny D1 oraz przejścia G1/S zarówno w komórkach mezenchymalnych, jak i epitelialnych [45]. W swoich badaniach Welsh i wsp. nie obserwowali koregulacji ekspresji cykliny D1 przez białka Rac i ERK w komórkach NIH 3T3, prawdopodobnie dlatego, że wykorzystali komórki z nadekspresją $\alpha 5\beta 1$ integryny [113]. Konieczne są dalsze badania, które umożliwią sprawdzenie, czy zależna od Rac synteza mRNA cykliny D1 we wczesnej i środkowej fazie G1 cyklu komórkowego indukowana jest za pośrednictwem tego samego, czy też odmiennych szlaków sygnalizacyjnych [45]. Dowodem, że są to różne ścieżki sygnalizacyjne jest to, że synteza mRNA cykliny D1 we wczesnej fazie G1 cyklu komórkowego wymaga aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, natomiast, w środkowej fazie G1, opisywany proces jest niezależny od NF- κ B [46].

Mechanizm, poprzez który białko Rac indukuje biosyntezę cykliny D1, różni się w zależności od typu komórek [112]. W fibroblastach NIH 3T3 głównym efekтором białka Rac, aktywowanym w drodze sygnałowej prowadzącej do syntezy cykliny D1, jest serynowo-treoninowa kinaza PAK [113]. Balasenthil i wsp. wykazali, że PAK reguluje ekspresję cykliny D1 angażując szlak czynnika jądrowego κ B (NF- κ B) [12]. NF- κ B obejmuje homo- i heterodimery tworzone przez dwie spośród pięciu podjednostek należących do rodziny białek NF- κ B/Rel: RelA/p65, RelB, cRel, p105/p50 (NF-B1), p100/p52 (NF-B2). Zasadniczą formą NF- κ B w komórce jest heterodimer RelA/p50. W postaci nieaktywnej NF- κ B występuje w cytoplazmie komórki w kompleksie z inhibitorem I κ B, którego zadaniem jest maskowanie sekwencji NLS (nuclear localization signal), decydującej o translokacji dimerów NF- κ B do jądra komórkowego. Pula genów aktywowanych przez czynnik transkrypcyjny NF- κ B obejmuje geny istotne w procesach odpowiedzi immunologicznej, apoptozy, proliferacji i procesów zapalnych [55,89].

Udział NF- κ B w aktywacji transkrypcji genu cykliny D1 przez białko Rac, został opisany przez Joyce'a i wsp. Zdaniem tych naukowców, GTP-aza Rac promuje aktywację czynnika NF- κ B oraz wzmacnia jego przyłączenie do promotora genu kodującego cyklinę D1. Analiza mutantów N-końcowej domeny efektorowej białka Rac wykazała, że domena ta wymagana jest do aktywacji NF- κ B oraz indukcji transkrypcji genu cykliny D1. Ponadto, w promotorze genu cykliny D1, cytowani badacze zidentyfikowali sekwencje istotne do jego aktywacji przez białka Rac/NF- κ B. Mutacja w obrębie miejsca wiązania czynnika ATF-2 (ATF-binding site), obniża aktywność promotora

genu cykliny D1 o 75%, natomiast mutacja w sekwencji wiążącej NF- κ B (NF- κ B-binding site) znosi jego indukcję przez podjednostkę p50 NF- κ B [43]. Warto przytoczyć również wcześniejsze badania, przeprowadzone przez Sulcinera i wsp., którzy zaobserwowali, że krótkotrwała ekspresja konstytutywnie aktywnego mutantu Rac1 (V12rac1) znacząco zwiększa aktywność transkrypcyjną NF- κ B, podczas gdy zastosowanie dominująco negatywnej postaci (N17rac1) blokuje zarówno podstawową, jak i stymulowaną przez interleukinę 1 β aktywność tego białka w komórkach HeLa. Ponadto wykazano, że indukcja NF- κ B przez Rac1 jest niezależna od zdolności tego białka do aktywacji kinazy N-końcowej domeny białka c-Jun (JNK – c-Jun N-terminal kinase) [100]. Z kolei Klein i wsp. zasugerowali, że NF- κ B nie jest elementem szlaku sygnałowego zależnego od Rac (nie jest aktywowany przez Rac), lecz funkcjonuje równoległe do niego i to współdziałanie istotne jest dla aktywacji transkrypcji cykliny D1 w mysich embrionalnych fibroblastach [46]. Ciekawych informacji, odnośnie wpływu Rac1 i Rac1b na szlak czynnika jądrowego κ B dostarczyli Matos i Jordan [61]. Rac1b powstaje jako produkt alternatywnego splicingu genu Rac1 i charakteryzuje się obecnością dodatkowych 19 reszt aminokwasowych na C-końcu białka, tuż obok tzw. regionu przełącznikowego II (switch II region). Ponadto, postać ta cechuje się konstytutywną aktywnością, która wynika z dużej wewnętrznej aktywności GEF, obniżonej (w stosunku do wt (wild type) Rac1) wewnętrznej aktywności GTP-azowej, braku zdolności do oddziaływania z GDI oraz zwiększonej tendencji do wiązania się z błoną komórkową. Wysoka ekspresja Rac1b obserwowana jest m.in. w ludzkich komórkach raka gruczołu piersiowego, czy okrężnicy (32,97). Matos i Jordan wykazali, że aktywność białka Rac1b, w przeciwieństwie do GTP-azy Rac1, jest wystarczająca do indukcji syntezy cykliny D1 i przejścia komórek NIH 3T3 z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Co więcej ekspresja wt Rac1b, lecz znowu nie wt Rac1, radykalnie zwiększa przeżycie minimalnie stymulowanych komórek. Zaobserwowano ponadto, że zastosowanie zmutowanej, niepoddającej się fizjologicznej regulacji postaci I κ B α (super-represor I κ B α) hamuje odpowiedź komórkową związaną z aktywacją Rac1b czy Rac1. Przedstawione wyniki sugerują, że Rac1b jest wysoce aktywnym wariantem białka Rac1, który stymuluje postęp fazy G1 cyklu komórkowego i przeżycie komórek, w sposób zależny od czynnika jądrowego κ B. Rac1b indukuje fosforylację inhibitora I κ B α , która wymagana jest do aktywacji NF- κ B [61]. Jednak dokładny mechanizm odpowiedzialny za regulację czynnika jądrowego κ B przez białko Rac, nie został jak dotąd w pełni poznany.

Wyniki licznych badań sugerują, że aktywacja czynnika transkrypcyjnego NF- κ B może być zależna od stanu redoks komórki [42,62,88,92,98]. GTP-aza Rac stanowi składnik kompleksu enzymatycznego oksydazy NADPH fagocytów, który jest ważnym komórkowym źródłem RFT (reaktywne formy tlenu) [1,2]. Ludzka oksydaza NADPH składa się z siedmiu podjednostek – związanych z błoną komórkową p22^{phox} i gp91^{phox} (tworzących flawocytochrom b₅₅₈), trzech cytoplazmatycznych polipeptydów (p47^{phox}, p67^{phox} i p40^{phox}) oraz białek G, tj. Rap1A i Rac, z których ostatnie niezbędne jest do aktywacji enzymu. GTP-aza Rac łączy się z N-końcową domeną p67^{phox} i w ten sposób kontroluje aktywność kompleksu. System oksydazy NADPH został

zidentyfikowany także w innych niż fagocyty komórkach, m.in. w fibroblastach, komórkach śródbłonna czy komórkach mięśni gładkich naczyń [20,33]. Ponadto sugeruje się, że GTP-aza Rac może się przyczyniać do powstawania RFT także w inny sposób. Białko to wydaje się pełnić istotną rolę w metabolizmie kwasu arachidonowego – procesie prowadzącym do wytwarzania RFT [76]. Sulciner i wsp., chcąc wyjaśnić mechanizm prowadzący do aktywacji czynnika NF- κ B przez białko Rac, zaobserwowali, że ekspresja konstytutywnie aktywnego mutantu Rac1 (V12rac1) lub stymulacja komórek HeLa przez cytokinę 1 β , prowadzi do znaczącego wzrostu poziomu RFT. Inkubacja komórek z antyoksydantami, takimi jak N-acetylocysteina (NAC) czy ditiokarbaminian piroolidyny (PDTC) blokowała, indukowany przez V12rac1, wzrost stężenia RFT oraz zdolność do aktywacji czynnika jądrowego κ B. Wyniki te wskazują, że Rac1 reguluje wewnątrzkomórkowe wytwarzanie reaktywnych form tlenu w komórkach HeLa. Ponadto sugerują, że białko to jest ogniwem szlaku przekazywania sygnału zależnego od RFT (redox signalling) prowadzącego do aktywacji czynnika NF- κ B [100].

Naukowcy zaobserwowali, że aktywacja białka Rac powoduje wzrost poziomu reaktywnych form tlenu, także w innych niż HeLa komórkach [87,101]. Ponadto wykazano, że kluczowa dla aktywacji oksydazy NADPH, domena efektorowa Rac wymagana jest również do oddziaływania mitogenowego wywieranego przez to białko w mysich embrionalnych fibroblastach. Dane te skłoniły Page'a i wsp. do podjęcia badań, mających na celu sprawdzenie czy indukowana przez Rac ekspresja cykliny D1 mediowana jest przez reaktywne formy tlenu. W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano, że nadekspresja aktywnego mutantu Rac1 (V12rac1) indukowała transkrypcję z promotora cykliny D1, w komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych, podczas gdy dominującą negatywny mutant Rac1 (N17rac1) hamował, stymulowaną przez płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), transkrypcję cykliny D1. Co istotne, preinkubacja komórek z antyoksydantami (ebselen, katalaza) lub inhibitorem enzymów flawoproteinowych (DPI – diphenylene iodonium) osłabiała, mediowaną przez PDGF i Rac1, aktywację transkrypcji genu cykliny D1, ale nie miała wpływu na indukcję cykliny D1 przez kinazę MEK1 (mitogen-activated protein kinases/extracellular signal regulated kinases) – aktywatora kinazy ERK. Podsumowując, Page i wsp. zasugerowali, że promowana przez Rac1 ekspresja cykliny D1 mediowana jest przez reaktywne formy tlenu oraz wskazali na istnienie dwóch odmiennych szlaków sygnalizacyjnych (zależnego od Rac1 oraz zależnego od ERK) pozytywnie regulujących wzrost komórek mięśni gładkich [73]. Kolejne, przeprowadzone przez ten sam zespół badania wykazały, że białka Rac1 i Cdc42 dzielą wspólny szlak sygnalizacyjny prowadzący do indukcji promotora cykliny D1, w komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych [15].

CYKLINA E

Cyklina E jest białkowym regulatorem cyklu komórkowego, którego szczyt ekspresji przypada na późną fazę G1 i w niektórych typach komórek podlega kontroli przez białka z rodziny Rho [27,95]. Jak już wcześniej wspomniano, cyklina E jest funkcjonalnie związana z kinazą cyklinozależną 2 (Cdk2), a powstały kompleks (cyklina E/Cdk2) odpowiada za wprowadzenie komórki do fazy S [95].

Tanaka i wsp. wykazali, że w stymulowanych surowicą szczurzych astrocytach, aktywność białek Rho wymaga jest do indukcji ekspresji cykliny E, aktywacji kinazy Cdk2 oraz przejścia komórek z fazy G1 w fazę S cyklu. Jak wiadomo, potranslacyjna modyfikacja białek Rho (tzw. prenylacja) jest procesem niezbędnym do aktywacji tych GTP-az, ponieważ wykazano, że aby pełnić swoje funkcje białka te muszą zostać dostarczone do błony komórkowej. Związkiem uczestniczącym w prenylacji polipeptydów Rho jest metabolit mewalonianu – pirofosforan geranylogeranylu (GGPP). Dzięki geranylogeranylowi, białka Rho mogą się zaczepić w błonie komórkowej, aby w dalszej kolejności uczestniczyć w regulacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych [63]. Jak wynika z piśmiennictwa, spośród lipidów izoprenowych, to właśnie GGPP odgrywa istotną rolę w przejściu proliferujących komórek z fazy G1 w fazę S cyklu komórkowego [38,109]. Tanaka i wsp. wykazali, że małe GTP-azy z rodziny Rho ulegają geranylogeranylowi i translokacji do błony komórkowej w czasie przejścia szczurzych astrocytów przez punkt kontrolny na granicy faz G1/S. Przejście G1/S, opisywane komórki realizują, przez zależną od Rho, ekspresję cykliny E oraz aktywację kinazy Cdk2. Zastosowanie prawastatyny (inhibitor reduktazy HMG-CoA) hamowało ekspresję cykliny E, aktywację Cdk2 oraz promowało zatrzymanie cyklu w fazie G1 na skutek inaktywacji GTP-az Rho, które w obecności tego związku nie ulegają translokacji do błony komórkowej. Inhibicja ta uległa całkowitemu odwróceniu przez dodanie mewalonianu lub GGPP. Z kolei egzotoksyna C3 zniżyła zdolność GGPP do przywracania ekspresji cykliny E w szczurzych astrocytach traktowanych prawastatyną [102].

W kolejnych badaniach, Hu i wsp. zaobserwowali, że konstytutywnie aktywna postać białka RhoA (RhoA(63)) w sposób znaczący stymuluje aktywność kompleksu cykliny E/Cdk2 w embrjonalnych fibroblastach chomika chińskiego linii IIC9, hodowanych bez dodatku surowicy. Ponadto dominujący negatywny mutant RhoA (dnRhoA) blokował, indukowaną przez surowicę, aktywację kompleksu opisywanej cykliny [40]. Odmienne wyniki uzyskali Croft i Olson, badając rolę szlaku RhoA/ROCK w kontroli syntezy cykliny E w fibroblastach NIH 3T3. W komórkach tych aktywność szlaku sygnałowego RhoA/ROCK nie jest ani konieczna, ani też wystarczająca do indukcji ekspresji cykliny E [27].

Udział następnego przedstawiciela rodziny Rho – białka Cdc42, w regulacji ekspresji cykliny E w fibroblastach NIH 3T3 opisali Chou i wsp. Analiza z wykorzystaniem konstytutywnie aktywnego mutantu Ccd42V12 wykazała, że GTP-aza Cdc42 oraz jej efektor kinaza p70 S6 (p70S6k), uczestniczą w indukcji ekspresji cykliny E i promują postęp fazy G1 cyklu w komórkach NIH 3T3 [25].

BIAŁKO p21^{Waf1/cip1}

Regulacja poziomu białka p21^{Waf1/cip1} jest kolejnym ze sposobów kontroli wzrostu komórek przez GTP-azy Rho [3]. Badania z zastosowaniem dominujących aktywnych mutantów wykazały, że RhoA zmniejsza poziom białka p21^{Waf1/cip1} w wielu prawidłowych i transformowanych liniach komórkowych [112]. Zdolność tę ujawniono w trakcie badań nad wpływem zmutowanych onkogenów Ras na postęp fazy G1/S cyklu komórkowego, mysich fibroblastów Swiss 3T3.



W przeprowadzonych eksperymentach, Olson i wsp. wykazali, że indukcja syntezy DNA wywoływana przez konstytutywnie aktywne Ras, wymaga zależnej od Rho supresji inhibitora kinaz cyklicznych p21^{Waf1/cip1}. Autorzy zaobserwowali bowiem, że w komórkach Swiss 3T3 z nadekspresją Ras, inhibicja Rho prowadziła do wzrostu poziomu p21^{Waf1/cip1}, a w konsekwencji do blokady cyklu na granicy faz G1/S. Natomiast aktywne Rho hamowało, wywoływaną przez Ras, indukcję p21^{Waf1/cip1}, co umożliwiało podjęcie syntezy DNA przez fibroblasty Swiss 3T3 [72]. Przedstawione wyniki stanowią potwierdzenie wcześniejszych obserwacji, z których wynika, że białka Ras mogą aktywować szlak sygnałowy Rho [78] oraz że polipeptydy z rodziny Rho pełnią istotną rolę w transformacji onkogennej zależnej od Ras [44,78].

Jeden z mechanizmów regulowanej przez RhoA supresji p21^{Waf1/cip1} związany jest z wpływem wspomnianej GTP-azy na kinazę ERK. Badania wykazały, że szlak sygnałowy ERK zaangażowany jest w transkrypcyjną aktywację genu p21^{Waf1/cip1} w komórkach wielu linii stymulowanych różnymi czynnikami wzrostu [16,21,39,56]. Jednak, jak już wcześniej opisano, szlak ten może brać również udział w pozytywnej regulacji wzrostu komórek [72,74,113]. W determinowaniu pro- lub antyproliferacyjnych właściwości szlaku MEK/ERK istotne znaczenie wydaje się mieć: ilość aktywnej (ufosforylowanej) kinazy ERK w jądrze oraz jej czas przebywania w obrębie tej struktury [60,64,93]. W spoczynkowych komórkach kinaza ERK utrzymywana jest w cytoplazmie komórki w postaci związanej z kinazą MEK [36] czy z mikrotubulami [81]. W wyniku stymulacji mitogennej, aktywna ERK, przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie fosforyluje czynniki transkrypcyjne z rodziny TCF (ternary complex factor), Sap-1a i Elk-1, stymulując ekspresję genów związanych ze wzrostem komórek, tj. np. c-Fos [59]. Lai i wsp. oraz Zuckerbraun i jego zespół wykazali, że szlak sygnałowy RhoA/ROCK zaangażowany jest w regulację wewnątrzkomórkowej lokalizacji kinazy ERK [52,118]. Wykorzystując do badań komórki mięśni gładkich naczyń, Zuckerbraun i wsp. zaobserwowali, że inaktywacja białka RhoA lub jego swoistego efektoru – kinazy ROCK, prowadzi do zahamowania proliferacji tych komórek na skutek, zależnego od szlaku ERK, wzrostu transkrypcji i translacji genu p21^{Waf1/cip1}. Co więcej, inhibicja białka RhoA nie wpływała na stopień ufosforylowania/aktywności kinazy ERK, lecz prowadziła do wzrostu ilości ufosforylowanej ERK w jądrze komórkowym [118]. Podobne wyniki otrzymali Lai i wsp., którzy wykazali, że aktywacja kinazy ROCK przyczynia się do zatrzymania ufosforylowanej kinazy ERK w cytoplazmie, a tym samym do zahamowania ekspresji genu p21^{Waf1/cip1} w komórkach ludzkiej białaczki mieloblastycznej [52]. Kontrola wewnątrzkomórkowej lokalizacji kinazy ERK przez białko RhoA, związana jest prawdopodobnie z wpływem tej GTP-azy na cytoszkielet aktynowy [118]. Wykazano bowiem, że ufosforylowana ERK asocjuje z cytoszkieletem aktynowym, który jak się wydaje, jest bezpośrednio zaangażowany w jądrowo-cytoplazmatyczny transport kinazy ERK [6,7,118].

Poprzez regulację poziomu p21^{Waf1/cip1}, białka Rho mogą być zaangażowane nie tylko w proliferację komórek transformowanych przez onkogenne Ras, ale także w zależny od adhezji do podłoża wzrost prawidłowych komórek [21,86]. Bottazzi i wsp. wykazali, że w nietransformowanych

fibroblastach MEFs oraz NIH 3T3, receptory czynników wzrostu oraz integryny wspólnie regulują poziom p21^{Waf1/cip1}. Stymulacja komórek przez czynniki wzrostu prowadzi do indukcji białka p21^{Waf1/cip1} we wczesnej fazie G1, które na tym etapie pełni prawdopodobnie funkcję czynnika promującego formowanie i stabilizację kompleksu cykliny D z Cdk4 oraz cykliny D z Cdk6. W środkowej i późnej (mid-late G1 phase) fazie G1 następuje spadek poziomu p21^{Waf1/cip1}, który koreluje z aktywacją kompleksu cykliny E z Cdk2. Wzrost ekspresji p21^{Waf1/cip1} we wczesnej fazie G1, zależy od stymulacji mitogennej oraz aktywności kinazy ERK, podczas gdy spadek ekspresji p21^{Waf1/cip1} obserwowany w środkowej i późnej fazie G1 wzmacniany jest przez adhezję komórek do podłoża i jest niezależny od kinazy ERK [21]. Opublikowane rok później badania, przeprowadzone przez Danen i wsp., wskazały na istotną rolę białek z rodziny Rho w mediowanej przez adhezję supresji p21^{Waf1/cip1}. Wykazano, że adhezja komórek do fibronektyny (niekolagenowa glikoproteina ECM) aktywuje zwłaszcza GTP-azę RhoA, która następnie wpływa na obniżenie poziomu mRNA p21^{Waf1/cip1} [29]. Kolejne doświadczenia dowiodły, że indukowany przez integryny szlak sygnałowy Cdc42/Rac1 promuje niezależną od ubiquityny degradację p21^{Waf1/cip1} w proteosomie [14]. Brak konieczności ubiquitynacji białka p21^{Waf1/cip1} wynika prawdopodobnie z możliwości bezpośredniego oddziaływania podjednostki C8- α proteosomu 20S z C-końcem polipeptydu p21^{Waf1/cip1} [105].

BIAŁKO p27^{Kip1}

Ważnym aspektem regulacyjnego działania białek z rodziny Rho jest również ich wpływ na białko p27^{Kip1} [26,112]. Główną rolę w determinowaniu poziomu p27^{Kip1} przypisuje się GTP-azie RhoA oraz jej dwóm efektorom: Rho-zależnej kinazie (ROCK) oraz białku z rodziny formin (mDia1) [26]. W licznych badaniach wykazano, że w następstwie zahamowania funkcji RhoA obserwuje się wzrost poziomu białka p27^{Kip1}, podczas gdy aktywna GTP-aza indukuje spadek jego stężenia [38,53]. W doświadczeniach przeprowadzonych przez Laufsa i wsp. aktywacja białka RhoA przez CNF-1 (cytotoxic necrotizing factor-1), skutkowała zmniejszeniem poziomu p27^{Kip1} oraz wzrostem syntezy DNA w komórkach mięśni gładkich naczyń. Z kolei inhibicja kinazy ROCK w hepatocytach, prowadziła do wzrostu stężenia inhibitora p27^{Kip1} i blokady przejścia komórek z fazy G1 w fazę S cyklu [53]. Croft i wsp. wykazali, że selektywna aktywacja ROCK jest wystarczająca do zmniejszenia poziomu p27^{Kip1}, niezależnie od aktywacji MAPK, czy też indukcji cykliny A lub D1 [27].

Mimo że mechanizm regulacji poziomu białka p27^{Kip1} przez RhoA, nie został jeszcze w pełni poznany, to wyniki badań sugerują, że ta GTP-aza może nie tylko promować degradację inhibitora p27^{Kip1}, ale również hamować translację mRNA kodującego go genu [38,108]. Vidal i wsp. wykazali bowiem, że zablokowanie białka RhoA przez egzotoksynę C3 lub lowastatynę może zwiększać wydajność translacji mRNA genu p27^{Kip1} w komórkach raka piersi. Dalsza analiza tego zjawiska ujawniła, że białko Rho reguluje proces translacji p27^{Kip1} poprzez wiązanie się ze swoistym elementem odpowiadającym na Rho (Rho-responsive element) położonym wewnątrz 300-nukleotydowego regionu na końcu 3' transkryptu genu p27^{Kip1} [108].

Wyniki badań wskazują, że aktywność białka RhoA jest niezbędna i wystarczająca do indukowanej mitogenem degradacji p27^{Kip1} w wielu liniach komórkowych [112]. W ludzkich komórkach endotelialnych aktywacja szlaku RhoA/mDia1/Skp2, prowadzi do ubikwitynozależnej proteolizy p27^{Kip1} [58]. Sygnałem do degradacji inhibitora p27^{Kip1} jest przyłączenie reszty fosforanowej do treoniny w pozycji 187 tego białka, którą przeprowadza kinaza Cdk2, z cykliną E jako podjednostką regulatorową [94]. Ufosforylowane p27^{Kip1} rozpoznawane jest przez polipeptyd Skp2 (S-phase kinase-associated protein 2), należący do rodziny białek z motywem F-box i stanowiący podjednostkę kompleksu ligazy ubikwitynowej [24]. Aktywne RhoA, przyczynia się do degradacji p27^{Kip1}, nie tylko promując wzrost ekspresji białka Skp2, ale również poprzez pozytywną regulację kompleksu cykliny E/Cdk2 [40].

PODSUMOWANIE

GTP-azy z rodziny Rho pełnią istotną rolę zarówno w reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, a także sygnalizacji mitogennej, dlatego też postrzegane są jako ważne modulatory postępu fazy G1 cyklu komórkowego. Poprzez kontrolę transkrypcji, translacji i degradacji kluczowych białek regulatorowych fazy G1, promują proliferację komórek. Liczne badania wykazały, że udział szlaku sygnałowego RhoA w pozytywnej regulacji syntezy cykliny D1 związany jest z kontrolą czasu trwania aktywacji kinazy ERK. Ponadto szlak ten bierze udział w koordynacji ekspresji cykliny D1 w czasie oraz indukcji ekspresji cykliny E, jak

również zahamowaniu syntezy białek p21^{Waf1/cip1} i p27^{Kip1}. Aktywacja RhoA/ROCK przyczynia się do zatrzymania ufosforylowanej kinazy ERK w cytoplazmie, a tym samym do zablokowania, zależnego od ERK wzrostu transkrypcji i translacji genu p21^{Waf1/cip1}. Białko RhoA promuje również ubikwitynozależną degradację inhibitora p27^{Kip1} oraz hamuje translację mRNA kodującego go genu. Regulacja syntezy cykliny D1 może się odbywać także w sposób niezależny od kinazy ERK, w czym uczestniczą białka Rac i Cdc42. Jednak niektórzy naukowcy sugerują, że indukcja ekspresji cykliny D1 w środkowej fazie G1 wymaga współdziałania białek Rac i ERK. Jeden z mechanizmów indukowanej przez Rac syntezy cykliny D1 zakłada, że GTP-aza ta stanowi nie tylko ogniwo szlaku sygnałowego zależnego od RFT, prowadzącego do aktywacji czynnika NF-κB, a także wzmacnia jego przyłączenie do promotora genu kodującego cyklinę D1. Liczne badania wskazują również na udział polipeptydów Rac i Cdc42 w indukcji ekspresji cykliny E oraz degradacji inhibitora kinaz cyklicznych p21^{Waf1/cip1}.

Istotna rola białek z rodziny Rho w kontroli syntezy głównych, zarówno pozytywnych, jak i negatywnych regulatorów fazy G1 cyklu komórkowego sprawia, że białka te stanowią potencjalny molekularny cel w terapii przeciwnowotworowej. Należałoby oczekiwać, że związki blokujące aktywność Rho będą również hamować ekspresję cykliny D1 oraz nasilać zależną od Ras syntezę p21^{Waf1/cip1} i przez to promować prawidłowy przebieg replikacji DNA w komórkach wykazujących ekspresję onkogennych Ras.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abo A., Boyhan A., West I., Trasher A.J., Segal A.W.: Reconstitution of neutrophil NADPH oxidase activity in the cell-free system by four components: p67-phox, p47-phox, p21rac, and cytochrome b-245. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 16767–16770
- [2] Abo A., Pick E., Hall A., Totty N., Teahan C.G., Segal A.W.: Activation of the NADPH oxidase involves the small GTP-binding protein p21^{rac1}. *Nature*, 1991; 353: 668–670
- [3] Adnane J., Bizouarn F.A., Qian Y., Hamilton A.D., Sebti S.M.: p21^{WAF1/CIP1} is upregulated by the geranylgeranyltransferase I inhibitor GGTI-298 through a transforming growth factor β- and Sp1-responsive element: involvement of the small GTPase rhoA. *Mol. Cell. Biol.*, 1998; 18: 6962–6970
- [4] Albanese C., Johnson J., Watanabe G., Eklund N., Vu D., Arnold A., Pestell R.G.: Transforming p21ras mutants and c-Ets-2 activate the cyclin D1 promoter through distinguishable regions. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 23589–23597
- [5] Amano M., Chihara K., Kimura K., Fukata Y., Nakamura N., Matsuura Y., Kaibuchi K.: Formation of actin stress fibers and focal adhesions enhanced by Rho-kinase. *Science*, 1997; 275: 1308–1311
- [6] Aplin A.E., Juliano R.L.: Regulation of nucleocytoplasmic trafficking by cell adhesion receptors and the cytoskeleton. *J. Cell Biol.*, 2001; 155: 187–191
- [7] Aplin A.E., Stewart S.A., Assoian R.K., Juliano R.L.: Integrin-mediated adhesion regulates ERK nuclear translocation and phosphorylation of Elk-1. *J. Cell Biol.*, 2001; 153: 273–282
- [8] Assoian R.K.: Anchorage-dependent cell cycle progression. *J. Cell Biol.*, 1997; 136: 1–4
- [9] Assoian R.K., Schwartz M.A.: Coordinate signaling by integrins and receptor tyrosine kinases in the regulation of G1 phase cell-cycle progression. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2001; 11: 48–53
- [10] Aznar S., Lacal J.C.: Rho signals to cell growth and apoptosis. *Cancer Lett.*, 2001; 165: 1–10
- [11] Bakal C.J., Finan D., LaRose J., Wells C.D., Gish G., Kulkarni S., DeSepulveda P., Wilde A., Rottapel R.: The Rho GTP exchange factor Lfc promotes spindle assembly in early mitosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 9529–9534
- [12] Balasenthil S., Sahin A.A., Barnes C.J., Wang R.A., Pestell R.G., Vadlamudi R.K., Kumar R.: p21-activated kinase-1 signaling mediates cyclin D1 expression in mammary epithelial and cancer cells. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 1422–1428
- [13] Balmanno K., Cook S.J.: Sustained MAP kinase activation is required for the expression of cyclin D1, p21^{Cip1} and a subset of AP-1 proteins in CCL39 cells. *Oncogene*, 1999; 18: 3085–3097
- [14] Bao W., Thullberg M., Zhang H., Onischenko A., Strömblad S.: Cell attachment to the extracellular matrix induces proteasomal degradation of p21^{CIP1} via Cdc42/Rac1 signaling. *Mol. Cell. Biol.*, 2002; 22: 4587–4597
- [15] Bauerfeld C.P., Hershenson M.B., Page K.: Cdc42, but not RhoA, regulates cyclin D1 expression in bovine tracheal myocytes. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2001; 280: L974–L982
- [16] Beier F., Taylor A.C., LuValle P.: The Raf-1/MEK/ERK pathway regulates the expression of the p21^{Cip1/Waf1} gene in chondrocytes. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 30273–30279
- [17] Bishop A.L., Hall A.: Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem. J.*, 2000; 348: 241–255
- [18] Böhmer R.M., Scharf E., Assoian R.K.: Cytoskeletal integrity is required throughout the mitogen stimulation phase of the cell cycle and mediates the anchorage-dependent expression of cyclin D1. *Mol. Biol. Cell*, 1996; 7: 101–111
- [19] Boivin D., Bilodeau D., Béliveau R.: Regulation of cytoskeletal functions by Rho small GTP-binding proteins in normal and cancer cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1996; 74: 801–10
- [20] Bokoch G.M.: Regulation of the human neutrophil NADPH oxidase by the Rac GTP-binding proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1994; 6: 212–218
- [21] Bottazzi M.E., Zhu X., Böhmer R.M., Assoian R.K.: Regulation of p21^{Cip1} expression by growth factors and the extracellular matrix reveals a role for transient ERK activity in G1 phase. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 1255–1264
- [22] Burridge K., Chrzanoska-Wodnicka M.: Focal adhesions, contractility, and signaling. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 1996; 12: 463–518



- [23] Burrridge K., Wennerberg K.: Rho and Rac take center stage. *Cell*, 2004; 116: 167–179
- [24] Carrano A.C., Eytan E., Hershko A., Pagano M.: SKP2 is required for ubiquitin-mediated degradation of the CDK-inhibitor p27. *Nat. Cell Biol.*, 1999; 1: 193–199
- [25] Chou M.M., Masuda-Robens J.M., Gupta M.L.: Cdc42 promotes G1 progression through p70 S6 kinase-mediated induction of cyclin E expression. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 35241–35247
- [26] Coleman M.L., Marshall C.J., Olson M.F.: RAS and RHO GTPases in G1-phase cell cycle regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2004; 5: 355–366
- [27] Croft D.R., Olson M.F.: The Rho GTPase effector ROCK regulates cyclin A, cyclin D1, and p27^{Kip1} levels by distinct mechanisms. *Mol. Cell Biol.*, 2006; 26: 4612–4627
- [28] Czyż J.: Wpływ kształtu komórek na wzrost, różnicowanie i przeżywalność komórek. *Post. Biol. Kom.*, 1995; 22: 41–58
- [29] Danen E.H., Sonneveld P., Sonnenberg A., Yamada K.M.: Dual stimulation of Ras/mitogen-activated protein kinase and RhoA by cell adhesion to fibronectin supports growth factor-stimulated cell cycle progression. *J. Cell Biol.*, 2000; 151: 1413–1422
- [30] Etienne-Manneville S., Hall A.: Rho GTPases in cell biology. *Nature*, 2002; 420: 629–635
- [31] Fabczak A.: Rodzina białek Rho a cytoskielet. *Kosmos*, 2001; 50: 283–293
- [32] Fiegen D., Haeusler L.C., Blumenstein L., Herbrand U., Dvorsky R., Vetter I.R., Ahmadian M.R.: Alternative splicing of Rac1 generates Rac1b, a self-activating GTPase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 4743–4749
- [33] Finkel T.: Signal transduction by reactive oxygen species in non-phagocytic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 1999; 65: 337–340
- [34] Fournier A.K., Campbell L.E., Castagnino P., Liu W.F., Chung B.M., Weaver V.M., Chen C.S., Assoian R.K.: Rac-dependent cyclin D1 gene expression regulated by cadherin- and integrin-mediated adhesion. *J. Cell Sci.*, 2008; 121: 226–233
- [35] Fukata M., Nakagawa M., Kaibuchi K.: Roles of Rho-family GTPases in cell polarization and directional migration. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2003; 15: 590–597
- [36] Fukuda M., Gotoh Y., Nishida E.: Interaction of MAP kinase with MAP kinase kinase: its possible role in the control of nucleocytoplasmic transport of MAP kinase. *EMBO J.*, 1997; 16: 1901–1908
- [37] Giacinti C., Giordano A.: RB and cell cycle progression. *Oncogene*, 2006; 25: 5220–5227
- [38] Hirai A., Nakamura S., Noguchi Y., Yasuda T., Kitagawa M., Tatsuno I., Oeda T., Tahara K., Terano T., Narumiya S., Kohn L.D., Saito Y.: Geranylgeranylated rho small GTPase(s) are essential for the degradation of p27^{Kip1} and facilitate the progression from G1 to S phase in growth-stimulated rat FRTL-5 cells. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 13–16
- [39] Hu P.P., Shen X., Huang D., Liu Y., Counter C., Wang X.F.: The MEK pathway is required for stimulation of p21^{WAF1/CIP1} by transforming growth factor- β . *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 35381–35387
- [40] Hu W., Bellone C.J., Baldassare J.J.: RhoA stimulates p27^{Kip1} degradation through its regulation of cyclin E/CDK2 activity. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 3396–3401
- [41] Huang S., Chen C.S., Ingber D.E.: Control of cyclin D1, p27^{Kip1}, and cell cycle progression in human capillary endothelial cells by cell shape and cytoskeletal tension. *Mol. Biol. Cell*, 1998; 9: 3179–3193
- [42] Israëli N., Gougerot-Pocidalo M.A., Aillet F., Virelizier J.L.: Redox status of cells influences constitutive or induced NF- κ B translocation and HIV long terminal repeat activity in human T and monocytic cell lines. *J. Immunol.*, 1992; 149: 3386–3393
- [43] Joyce D., Bouzazh B., Fu M., Albanese C., D'Amico M., Steer J., Klein J.U., Lee R.J., Segall J.E., Westwick J.K., Der C.J., Pestell R.G.: Integration of Rac-dependent regulation of cyclin D1 transcription through a nuclear factor- κ B-dependent pathway. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 25245–25249
- [44] Khosravi-Far R., Solski P.A., Clark G.J., Kinch M.S., Der C.J.: Activation of Rac1, RhoA, and mitogen-activated protein kinase is required for Ras transformation. *Mol. Cell Biol.*, 1995; 15: 6443–6453
- [45] Klein E.A., Campbell L.E., Kothapalli D., Fournier A.K., Assoian R.K.: Joint requirement for Rac and ERK activities underlies the mid-G1 phase induction of cyclin D1 and S phase entry in both epithelial and mesenchymal cells. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 30911–30918
- [46] Klein E.A., Yang C., Kazanietz M.G., Assoian R.K.: NF κ B-independent signaling to the cyclin D1 gene by Rac. *Cell Cycle*, 2007; 6: 1115–1121
- [47] Klimaszewska A., Stenzel A., Nowak J.M., Grzanka A.: Białka Rho – kluczowe regulatory cytoskieletu w przebiegu mitozy i cytokinezy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 704–713
- [48] Kłopotka W., Barańska J.: Rola białek z rodziny Rho w kontroli migracji komórek pływających. *Postępy Biochem.*, 2005; 51: 36–43
- [49] Kosako H., Yoshida T., Matsumura F., Ishizaki T., Narumiya S., Inagaki M.: Rho-kinase/ROCK is involved in cytokinesis through the phosphorylation of myosin light chain and not ezrin/radixin/moesin proteins at the cleavage furrow. *Oncogene*, 2000; 19: 6059–6064
- [50] Krzyżanowska-Gołąb D., Lemańska-Perek A., Kańnik-Prastowska I.: Fibronektyna jako aktywny składnik macierzy pozakomórkowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 655–663
- [51] Krzyżowska M., Świątek W., Fijałkowska B., Niemiętowski M., Schollenberger A.: Rola kinaz MAP w odpowiedzi immunologicznej. *Post. Biol. Kom.*, 2009; 36: 295–308
- [52] Lai J.M., Wu S., Huang D.Y., Chang Z.F.: Cytosolic retention of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase and a Rho-associated kinase-mediated signal impair expression of p21^{Cip1/Waf1} in phorbol 12-myristate-13-acetate-induced apoptotic cells. *Mol. Cell Biol.*, 2002; 22: 7581–7592
- [53] Laufs U., Marra D., Node K., Liao J.K.: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors attenuate vascular smooth muscle proliferation by preventing rho GTPase-induced down-regulation of p27^{Kip1}. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 21926–21931
- [54] Lavoie J.N., L'Allemain G., Brunet A., Müller R., Pouyssegur J.: Cyclin D1 expression is regulated positively by the p42/p44MAPK and negatively by the p38/HOGMAPK pathway. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 20608–20616
- [55] Lesiak K., Sztiller-Sikorska M., Czyż M.: Czynniki transkrypcyjne w powstawaniu i progresji czerniaka. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 576–595
- [56] Liu Y., Martindale J.L., Gorospe M., Holbrook N.J.: Regulation of p21^{WAF1/CIP1} expression through mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *Cancer Res.*, 1996; 56: 31–35
- [57] Maddox A.S., Burrridge K.: RhoA is required for cortical retraction and rigidity during mitotic cell rounding. *J. Cell Biol.*, 2003; 160: 255–265
- [58] Mammoto A., Huang S., Moore K., Oh P., Ingber D.E.: Role of RhoA, mDia, and ROCK in cell shape-dependent control of the Skp2-p27^{Kip1} pathway and the G1/S transition. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 26323–26330
- [59] Marais R., Wynne J., Treisman R.: The SRF accessory protein Elk-1 contains a growth factor-regulated transcriptional activation domain. *Cell*, 1993; 73: 381–393
- [60] Marshall C.J.: Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. *Cell*, 1995; 80: 179–185
- [61] Matos P., Jordan P.: Expression of Rac1b stimulates NF- κ B-mediated cell survival and G1/S progression. *Exp. Cell Res.*, 2005; 305: 292–299
- [62] Meyer M., Schreck R., Baeuerle P.A.: H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF- κ B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor. *EMBO J.*, 1993; 12: 2005–2015
- [63] Molnár G., Dagher M.C., Geiszt M., Settleman J., Ligeti E.: Role of prenylation in the interaction of Rho-family small GTPases with GTPase activating proteins. *Biochemistry*, 2001; 40: 10542–10549
- [64] Murphy L.O., Smith S., Chen R.H., Fingar D.C., Blenis J.: Molecular interpretation of ERK signal duration by immediate early gene products. *Nat. Cell Biol.*, 2002; 4: 556–564
- [65] Naim V., Imarisio S., Di Cunto F., Gatti M., Bonaccorsi S.: Drosophila citron kinase is required for the final steps of cytokinesis. *Mol. Biol. Cell*, 2004; 15: 5053–5063
- [66] Narumiya S., Ocegüera-Yanez F., Yasuda S.: A new look at Rho GTPases in cell cycle: role in kinetochore-microtubule attachment. *Cell Cycle*, 2004; 3: 855–857
- [67] Nishimura Y., Yonemura S.: Centralspindlin regulates ECT2 and RhoA accumulation at the equatorial cortex during cytokinesis. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 104–114
- [68] Nobes C.D., Hall A.: Rho, rac and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*, 1995; 81: 53–62
- [69] Nowak J.M., Grzanka A., Żuryń A., Stepien A.: Rodzina białek Rho i ich rola w cytoskieciele komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 110–117

- [70] Ocegüera-Yanez F., Kimura K., Yasuda S., Higashida C., Kitamura T., Hiraoka Y., Haraguchi T., Narumiya S.: Ect2 and MgcRacGAP regulate the activation and function of Cdc42 in mitosis. *J. Cell Biol.*, 2005; 168: 221–232
- [71] Olson M.F., Ashworth A., Hall A.: An essential role for Rho, Rac, and Cdc42 GTPases in cell cycle progression through G1. *Science*, 1995; 269: 1270–1272
- [72] Olson M.F., Paterson H.F., Marshall C.J.: Signals from Ras and Rho GTPases interact to regulate expression of p21^{Waf1/Cip1}. *Nature*, 1998; 394: 295–299
- [73] Page K., Li J., Hodge J.A., Liu P.T., Vanden Hoek T.L., Becker L.B., Pestell R.G., Rosner M.R., Hershenson M.B.: Characterization of a Rac1 signaling pathway to cyclin D1 expression in airway smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 22065–22071
- [74] Park K.S., Lee N.G., Lee K.H., Seo J.T., Choi K.Y.: The ERK pathway involves positive and negative regulations of HT-29 colorectal cancer cell growth by extracellular zinc. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2003; 285: 1181–1188
- [75] Parri M., Chiarugi P.: Rac and Rho GTPases in cancer cell motility control. *Cell Commun. Signal.*, 2010; 8: 23
- [76] Peppelenbosch M.P., Qiu R.G., de Vries-Smits A.M., Tertoolen L.G., de Laat S.W., McCormick F., Hall A., Symons M.H., Bos J.L.: Rac mediates growth factor-induced arachidonic acid release. *Cell*, 1995; 81: 849–856
- [77] Pumiglia K.M., Decker S.J.: Cell cycle arrest mediated by the MEK/mitogen-activated protein kinase pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 448–452
- [78] Qiu R.G., Chen J., McCormick F., Symons M.: A role for Rho in Ras transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 11781–11785
- [79] Ren X.D., Kioussis W.B., Schwartz M.A.: Regulation of the small GTP-binding protein Rho by cell adhesion and the cytoskeleton. *EMBO J.*, 1999; 18: 578–585
- [80] Renshaw M.W., Toksoz D., Schwartz M.A.: Involvement of the small GTPase rho in integrin-mediated activation of mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 21691–21694
- [81] Reszka A.A., Seger R., Diltz C.D., Krebs E.G., Fischer E.H.: Association of mitogen-activated protein kinase with the microtubule cytoskeleton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 8881–8885
- [82] Ridley A.J., Paterson H.F., Johnston C.L., Diekmann D., Hall A.: The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell*, 1992; 70: 401–410
- [83] Roovers K., Assoian R.K.: Effects of Rho kinase and actin stress fibers on sustained extracellular signal-regulated kinase activity and activation of G1 phase cyclin-dependent kinases. *Mol. Cell. Biol.*, 2003; 23: 4283–4294
- [84] Roovers K., Davey G., Zhu X., Bottazzi M.E., Assoian R.K.: $\alpha 5\beta 1$ integrin controls cyclin D1 expression by sustaining mitogen-activated protein kinase activity in growth factor-treated cells. *Mol. Biol. Cell*, 1999; 10: 3197–3204
- [85] Ruoslahti E., Reed J.C.: Anchorage dependence, integrins, and apoptosis. *Cell*, 1994; 77: 477–478
- [86] Sahai E., Olson M.F., Marshall C.J.: Cross-talk between Ras and Rho signalling pathways in transformation favours proliferation and increased motility. *EMBO J.*, 2001; 20: 755–766
- [87] Sanlioglu S., Williams C.M., Samavati L., Butler N.S., Wang G., McCray P.B.Jr., Ritchie T.C., Hunninghake G.W., Zandi E., Engelhardt J.F.: Lipopolysaccharide induces Rac1-dependent reactive oxygen species formation and coordinates tumor necrosis factor- α secretion through IKK regulation of NF κ B. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 30188–30198
- [88] Schenk H., Klein M., Erdbrügger W., Dröge W., Schulze-Osthoff K.: Distinct effects of thioredoxin and antioxidants on the activation of transcription factors NF- κ B and AP-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 1672–1676
- [89] Schmid R.M., Liptay S., Betts J.C., Nabel G.J.: Structural and functional analysis of NF- κ B. Determinants of DNA binding specificity and protein interaction. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 32162–32167
- [90] Schmidt A., Durgan J., Magalhaes A., Hall A.: Rho GTPases regulate PRK2/PKN2 to control entry into mitosis and exit from cytokinesis. *EMBO J.*, 2007; 26: 1624–1636
- [91] Schoenwaelder S.M., Burridge K.: Bidirectional signaling between the cytoskeleton and integrins. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1999; 11: 274–286
- [92] Schreck R., Rieber P., Baeuerle P.A.: Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- κ B transcription factor and HIV-1. *EMBO J.*, 1991; 10: 2247–2258
- [93] Sewing A., Wiseman B., Lloyd A.C.: High-intensity Raf signal causes cell cycle arrest mediated by p21^{Cip1}. *Mol. Cell. Biol.*, 1997; 17: 5588–5597
- [94] Sheaff R.J., Groudine M., Gordon M., Roberts J.M., Clurman B.E.: Cyclin E-CDK2 is a regulator of p27^{Kip1}. *Genes Dev.*, 1997; 11: 1464–1478
- [95] Sherr C.J.: G1 phase progression: cycling on cue. *Cell*, 1994; 79: 551–555
- [96] Sherr C.J., Roberts J.M.: CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev.*, 1999; 13: 1501–1512
- [97] Singh A., Karnoub A.E., Palmbly T.R., Lengyel E., Sondek J., Der C.J.: Rac1b, a tumor associated, constitutively active Rac1 splice variant, promotes cellular transformation. *Oncogene*, 2004; 23, 9369–9380
- [98] Staal F.J., Roederer M., Herzenberg L.A., Herzenberg L.A.: Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor κ B and transcription of human immunodeficiency virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 9943–9947
- [99] Stalińska L., Ferenc T.: Rola TGF- β w regulacji cyklu komórkowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 441–449
- [100] Sulciner D.J., Irani K., Yu Z.X., Ferrans V.J., Goldschmidt-Clermont P., Finkel T.: rac1 regulates a cytokine-stimulated, redox-dependent pathway necessary for NF- κ B activation. *Mol. Cell. Biol.*, 1996; 16: 7115–7121
- [101] Sundaesan M., Yu Z.X., Ferrans V.J., Sulciner D.J., Gutkind J.S., Irani K., Goldschmidt-Clermont P.J., Finkel T.: Regulation of reactive-oxygen-species generation in fibroblasts by Rac1. *Biochem. J.*, 1996; 318: 379–382
- [102] Tanaka T., Tatsuno I., Noguchi Y., Uchida D., Oeda T., Narumiya S., Yasuda T., Higashi H., Kitagawa M., Nakayama K., Saito Y., Hirai A.: Activation of cyclin-dependent kinase 2 (Cdk2) in growth-stimulated rat astrocytes. Geranylgeranylated Rho small GTPase(s) are essential for the induction of cyclin E gene expression. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 26772–26778
- [103] Tolliday N., VerPlank L., Li R.: Rho1 directs formin-mediated actin ring assembly during budding yeast cytokinesis. *Curr. Biol.*, 2002; 12: 1864–1870
- [104] Toton E., Rybczyńska M.: Charakterystyka białka FAK i jego rola w procesie nowotworzenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 303–309
- [105] Toutou R., Richardson J., Bose S., Nakanishi M., Rivett J., Allday M.J.: A degradation signal located in the C-terminus of p21^{WAF1/CIP1} is a binding site for the C8 α -subunit of the 20S proteasome. *EMBO J.*, 2001; 20: 2367–2375
- [106] Van Aelst L., D'Souza-Schore C.: Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev.*, 1997; 11: 2295–2322
- [107] Vermeulen K., Van Bockstaele D.R., Berneman Z.N.: The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif.*, 2003; 36: 131–149
- [108] Vidal A., Millard S.S., Miller J.P., Koff A.: Rho activity can alter the translation of p27 mRNA and is important for RasV12-induced transformation in a manner dependent on p27 status. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 16433–16440
- [109] Vogt A., Qian Y., Mcguire T.F., Hamilton A.D., Sebi S.M.: Protein geranylgeranylation, not farnesylation, is required for the G1 to S phase transition in mouse fibroblasts. *Oncogene*, 1996; 13: 1991–1999
- [110] Weber J.D., Hu W., Jefcoat S.C.Jr., Raben D.M., Baldassare J.J.: Ras-stimulated extracellular signal-related kinase 1 and RhoA activities coordinate platelet-derived growth factor-induced G1 progression through the independent regulation of cyclin D1 and p27. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 32966–32971
- [111] Weber J.D., Raben D.M., Phillips P.J., Baldassare J.J.: Sustained activation of extracellular-signal-regulated kinase 1 (ERK1) is required for the continued expression of cyclin D1 in G1 phase. *Biochem. J.*, 1997; 326: 61–68
- [112] Welsh C.F.: Rho GTPases as key transducers of proliferative signals in G1 cell cycle regulation. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2004; 84: 33–42
- [113] Welsh C.F., Roovers K., Villanueva J., Liu Y., Schwartz M.A., Assoian R.K.: Timing of cyclin D1 expression within G1 phase is controlled by Rho. *Nat. Cell Biol.*, 2001; 3: 950–957
- [114] Wennerberg K., Der C.J.: Rho-family GTPases: it's not only Rac and Rho (and I like it). *J. Cell Sci.* 2004; 117: 1301–1312
- [115] Westwick J.K., Lambert Q.T., Clark G.J., Symons M., Van Aelst L., Pestell R.G., Der C.J.: Rac regulation of transformation, gene expression, and actin organization by multiple, PAK-independent pathways. *Mol. Cell. Biol.*, 1997; 17: 1324–1335



- [116] Yamamoto M., Marui N., Sakai T., Morii N., Kozaki S., Ikai K., Imamura S., Narumiya S.: ADP-ribosylation of the rhoA gene product by botulinum C3 exoenzyme causes Swiss 3T3 cells to accumulate in the G1 phase of the cell cycle. *Oncogene*, 1993; 8: 1449–1455
- [117] Zhang S., Tang Q., Xu F., Xue Y., Zhen Z., Deng Y., Liu M., Chen J., Liu S., Qiu M., Liao Z., Li Z., Luo D., Shi F., Zheng Y., Bi F.: RhoA regulates G1-S progression of gastric cancer cells by modulation of multiple INK4 family tumor suppressors. *Mol. Cancer Res.*, 2009; 7: 570–580

- [118] Zuckerbraun B.S., Shapiro R.A., Billiar T.R., Tzeng E.: RhoA influences the nuclear localization of extracellular signal-regulated kinases to modulate p21^{Waf/Cip1} expression. *Circulation*, 2003; 108: 876–881

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.