

# Badanie regulacji ekspresji szedazy ADAM17

Karolina Wawro

## Streszczenie

Białko ADAM17 (ang. *a disintegrin and metalloprotease 17*) to metaloproteaza odpowiedzialna za uwalnianie z powierzchni błony komórkowej ektodomen licznych białek. Szeroko zakrojone badania nad poznaniem komórkowych substratów tego enzymu doprowadziły do odkrycia ponad 70 białek, w złączanie których jest on zaangażowany, w tym cytokin, czynników wzrostu, receptorów czy białek adhezyjnych. Mając tak wiele rozmaitych substratów, ADAM17 uczestniczy w wielu procesach biologicznych. Są to zarówno procesy fizjologiczne, np. różnicowanie, regeneracja czy funkcjonowanie układu immunologicznego, jak i patologiczne, np. rozwój chronicznego stanu zapalnego czy progresja nowotworów. Intensywne badania prowadzone są nad mechanizmami aktywacji enzymu ADAM17, natomiast znacznie mniej wiadomo na temat regulacji ekspresji genu kodującego to białko, mimo, iż szereg doniesień wskazuje na podwyższony poziom jego syntezy w niektórych stanach patologicznych.

W niniejszej pracy badano jak różne czynniki, głównie cytokiny prozapalne, wpływają na ekspresję szedazy ADAM17. Potwierdzono, że poziom transkrypty *Adam17* ulega około dwukrotnemu zwiększeniu w mysich komórkach śródbłonna pod wpływem TNF oraz IL-1 $\beta$ . Zwiększony poziom mRNA dla ADAM17 zaobserwowano również w mysich pierwotnych makrofagach otrzewnowych pod wpływem tych samych cytokin. Wzrostowi poziomowi transkrypty towarzyszył także wzrost poziomu białka. Nasilenie ekspresji szedazy ADAM17 ulegało niemal całkowitemu zahamowaniu po użyciu inhibitora kinazy IKK powodującego zablokowanie degradacji białka I $\kappa$ B $\alpha$  i tym samym uniemożliwiającego translokację NF- $\kappa$ B do jądra komórkowego. Analiza bioinformatyczna promotora mysiego genu *Adam17* wykazała obecność kilku potencjalnych miejsc wiązania czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B. Przy użyciu techniki EMSA pokazano, że jedno z tych miejsc – leżące w odległości -2702/-2679 par zasad od miejsca startu translacji – rzeczywiście oddziałuje z czynnikiem NF- $\kappa$ B.

Zaobserwowano również wzrost ekspresji ADAM17 pod wpływem diestru forbolu – PMA, który aktywuje kinazę białkową C. Wzrost poziomu transkrypty *Adam17* w odpowiedzi na PMA został silnie obniżony po zadziałaniu inhibitora ERK1/2 – U0126. Jednym z czynników transkrypcyjnych aktywowanych przez kinazę ERK1/2 jest Elk-1. Analiza bioinformatyczna promotora *Adam17* wykazała obecność kilku potencjalnych miejsc wiązania Elk-1. Mutanty delecyjne oraz punktowe fragmentu promotora *Adam17* wklonowane do

wektora reporterowego z genem lucyferazy wskazują, że miejsca wiązania Elk-1 w regionie obejmującym 400 par zasad poprzedzających miejsce startu translacji są istotne dla aktywności promotora *Adam17*.

Uzyskane wyniki wskazują, które elementy promotora genu *Adam17* mogą być zaangażowane w regulację ekspresji proteazy ADAM17 na poziomie aktywacji transkrypcji z udziałem czynników NF- $\kappa$ B oraz Elk-1. Ponadto badania z użyciem 2-deoksyglukozy, powodującej zahamowanie glikolizy, wskazują, że także metabolizm komórkowy odgrywa istotną rolę w aktywacji transkrypcji genu *Adam17* w odpowiedzi na czynniki prozapalne.

15-05-2018

Karolina Rabczo