

3.3 Substrats i proteïnes que interaccionen amb proteïna quinasa CK2.

S'han descrit més de 160 substrats *in vitro* de la proteïna quinasa CK2, involucrats en nombrosos i diferents processos cel·lulars com transducció del senyal biològic, metabolisme, transcripció i traducció dels àcids nucleics, apoptòsi, regulació del cicle cel·lular, càncer, proliferació i desenvolupament, etc... (Pinna and Meggio, 1997). No obstant, en la gran majoria del casos no es coneix quin és el significat biològic d'aquesta fosforilació.

Sembla cada vegada més clar que la CK2 no només actua en la forma clàssica de l'holoenzim sinó que a la cèl·lula també es troben les subunitats lliures que poden estar interaccionant amb altres proteïnes i per tant, tenir altres funcions, a més de la de formar part de l'holoenzim. Tècniques bioquímiques clàssiques com la purificació o immunoprecipitació de proteïnes han permès detectar complexos de CK2 i diverses proteïnes que poden alterar l'activitat, estabilitat o localització cel·lular de l'enzim. Per exemple, complexos de CK2 amb HSP90 (Miyata and Yahara, 1992) i grp94/endoplasmina (Roher et al., 2001) protegeixen a la subunitat CK2 α de la formació d'agregats. També co-purifiquen o immunoprecipiten amb CK2 proteïnes com DNA topoisomerasa II (Bojanowski et al., 1993), nucleolina (Li et al., 1996), la proteïna fosfatasa PP2A (Hériché et al., 1997), el factor d'inici de traducció eIF-2 (Riera et al., 1999) o la proteïna supressora de tumors p53 (Filhol et al., 1993), de la que s'ha postulat que podria estar implicada en la regulació gènica de CK2 (Miró et al., 1999), entre moltes altres.

Als darrers anys, la tècnica del doble híbrid (Fields and Song, 1989) ha permès identificar nombroses proteïnes "partners" que interaccionen amb CK2 (o bé amb l'holoenzim o bé només amb alguna de les subunitats) i que poden ser o no fosforilades per CK2, com A-Raf (Boldyreff and Issinger, 1997), el receptor CD5 (Raman et al., 1998), o proteïnes ribosomals com L5 (Kim et al., 1995).

L'estudi de la interacció de la CK2 amb altres proteïnes així com de la funció d'aquestes proteïnes "partners" és de gran interès de cara a conèixer els mecanismes de regulació de la proteïna quinasa CK2. A la taula I es resumeixen algunes de les proteïnes substrats i/o proteïnes que interaccionen amb la proteïna quinasa CK2.

Taula I: Substrats *in vitro* i proteïnes que interaccionen amb la proteïna quinasa CK2.

Taula I. Llista parcial de substrats i/o "partners" de la proteïna quinasa CK2

TRANSDUCCIÓ DE SENYAL	FACTORS DE TRANSCRIPCIÓ
Proteïna quinasa C (PKC)	c-Myc
Proteïna quinasa A-Raf	c-Myb
Proteïna quinasa p34 ^{cdc2}	p53
Proteïna quinasa c-Mos	c-Jun
Calmodulina	Retinoblastoma
Proteïna fosfatasa PP2A	
TRANSCRIPCIÓ DNA	PROTEINES DEL CITOESQUELET
DNA topoisomerasa I	β -tubulina
DNA topoisomerasa II	Dineina
DNA lligasa	Miosina (cadena lleugera i pesada)
HMG 1 i 14	Clatrina
TRADUCCIÓ DEL RNA	PROTEINES NUCLEOLARS
RNA polimerasa I	Nucleolina
RNA polimerasa II	Nopp140
eIF-2 β	hnRNP A2
eIF-5	
Proteïna Ribosomal L5	

3.4 Funcionalitat de la proteïna quinasa CK2.

L'anàlisi de la funció de CK2 en el llevat *S.cerevisiae* a partir de la construcció de soques mutants de les subunitats CK2 ha permès demostrar que la CK2 és essencial per la viabilitat cel.lular i pel control del cicle cel.lular. Així, la disrupció d'ambdós gens CKA1 i CKA2 que codifiquen per les subunitats catalítiques CK2 α/α' és letal pel llevat, que presenta un fenotip de parada de cicle cel.lular (Padmanabha et al., 1990). També l'estudi de soques mutants de CK2 α sensibles a temperatura va demostrar que CK2 és essencial per la progressió del cicle cel.lular durant G1 i G2/M a llevat (Hanna et al., 1995). En canvi, la delecció dels gens de les subunitats reguladores CKB1 i/o CKB2 no afecta al creixement del llevat en condicions normals però comporta un fenotip de resistència a salinitat (Bidwai et al., 1995)

En cèl.lules de mamífers, la microinjecció d'oligonucleòtids antisentit de CK2 α i CK2 β provoca una significant parada del creixement en resposta a estimulació per sèrum, demostrant el paper de CK2 en les primeres fases del cicle cel.lular, G0/G1, G1 i G1/S (Pepperok et al., 1994). També la sobreexpressió de CK2 α en ratolins

transgènics provoca el desenvolupament de limfomes (Seldin and Leder, 1995), demostrant així el paper fonamental de CK2 en control de la proliferació, desenvolupament i patologies cel·lulars. Recentment, s'ha demostrat una funció específica de l'isoforma CK2 α' en el desenvolupament, ja que la disrupció d'aquesta subunitat en ratolins mascles provoca infertilitat amb oligoespermia i globozoospermia (Xu et al., 1999).

També s'ha descrit una funció de la CK2 en la resposta enfront al estrès genotòxic o al dany en el DNA. L'expressió del cDNA humà de la subunitat CK2 β en cèl·lules *Xeroderma pigmentosum* els hi confereix resistència parcial als danys provocats per raigs UV (Teitz et al., 1990). Recentment, noves dades impliquen a la CK2 en aquesta resposta, ja que s'ha demostrat que la CK2 transdueix la senyal des dels sensors que detecten el dany al DNA al factor de transcripció TFIIIB, al que s'associa i activa. Aquest factor és el responsable de reprimir la transcripció de la RNA polimerasa III (Ghavidel and Schultz, 2001)

3.5 Localització subcelular de la proteïna quinasa CK2.

La proteïna quinasa CK2 no només esta expressada a tots els teixits eucariotes examinats sinó que també l'ús d'anticossos específics contra les subunitats han permès detectar CK2 a gairebé tots els compartiments subcel·lulars: membrana plasmàtica, citoplasma, mitocòndria, reticle endoplasmàtic, citoesquelet, centrosomes, nucli, matriu nuclear, nucleol i nucleosomes (Faust and Montenarh, 2000).

A la membrana plasmàtica, la CK2 es pot trobar tant lliure com associada a altres proteïnes transmembrana. L'holoenzim es troba anclat a la membrana a través de la subunitat CK2 β . Sembla que el domini de CK2 β responsable de la unió a membrana és el mateix domini que s'uneix a polilamines (Sarrouilhe et al., 1998). Una possible funció d'aquesta localització seria la regulació de la internalització de senyals extracel·lulars a través de receptors, com en el cas de CD5, un receptor de cèl·lules T, que és substrat de CK2 i que interacciona específicament amb la subunitat CK2 β (Raman et al., 1998).

Existeixen dades contradictòries sobre la localització nuclear o citoplasmàtica de les subunitats CK2. A nucli, la CK2 fosforila enzims de la síntesi d'àcids nucleics,

factors de transcripció, oncoproteïnes, proteïnes supressores de tumors i un gran nombre de proteïnes nucleolars. Les subunitats CK2 α/α' presenten senyals de localització nuclear (NLS) que facilitarien el seu transport a nucli, mentre que les subunitats CK2 β no tenen seqüències NLS però es postula que la seva entrada a nucli pot estar modulada per interacció o bé amb les subunitats CK2 α o bé amb altres proteïnes com és el cas de Nopp140 (Li et al., 1997). No obstant, la localització nuclear i/o citoplasmàtica de la CK2 sembla conseqüència d'un procés dinàmic que depèn tant del tipus cel·lular com de les condicions en que es troba la cèl·lula. Per exemple, en resposta a andrògens o certs estímuls de creixement, la CK2 es transloca del citosol al nucli, a on s'associa preferentment amb cromatina i matriu nuclear (Guo et al., 1999). També en condicions d'estrès produït per "heat-shock" hi ha una relocalització de la subunitat CK2 α cap a nucleol en cèl·lules animals, mentre que no s'observa presència de subunitat CK2 β en aquest compartiment, indicant una possible funció diferent entre les subunitats CK2 α/β en resposta a estrès (Gerber et al., 2000).

3.6 Estructura molecular de la proteïna quinasa CK2 de plantes.

Durant anys, l'estructura tetramèrica de la CK2, que estava ben definida en animals i en llevat, no semblava tant clara en el cas d'altres organismes com protozous, o plantes. En el cas de *Dictyostelium* i fins al moment, només s'ha descrit una forma monomèrica de CK2 que correspon a la subunitat catalítica CK2 α (Kikkawa et al., 1992). En plantes, l'existència d'una activitat CK2-like va ser descrita per primera vegada en blat per Yan and Tao, (1982) quan es va purificar una proteïna monomèrica amb característiques pròpies de CK2. Seguidament, es van descriure també formes oligomèriques que presentaven activitat CK2-like en blat de moro (Drobrowska et al., 1989) bròquil (Klimczak et al., 1992) o pèsol (Li and Roux, 1992). No obstant, la composició d'aquestes formes oligomèriques no estava clara, ja que anticossos contra subunitats CK2 β d'animal no detectaven presència de subunitats reguladores en aquests oligòmers.

3.6.1 Les subunitats catalítiques CK2 α .

Existeixen diferències entre la organització gènica de les subunitats CK2 de plantes i la d'altres organismes. En plantes, les subunitats CK2 α estan estructurades en famílies multigèniques de 3 a 4 gens. A nivell molecular, la primera CK2 clonada va

ser la subunitat catalítica CK2 α , CK2 α -1 de blat de moro (Drobrowska et al., 1991). Poc després es van identificar dos cDNAs de subunitats catalítiques (CK2A1 i CK2A2) en *Arabidopsis thaliana* (Mizoguchi et al., 1991) i la finalització de la seqüenciació del genoma d' *Arabidopsis* indica que poden existir com a mínim dos gens més. En blat de moro es va descriure una segona subunitat catalítica, CK2 α -2, per Peracchia et al., (1999) i en aquesta tesi s'identifica un tercer membre de la família. També s'han clonat tres cDNA de subunitats CK2 α en tabac (Espunya et al., 1999; Salinas et al., 2001); i subunitats CK2 α en arròs i en blat, (Takahashi et al., 2001) i en esbargiria (Kanhonou et al., 2001).

Els gens de les subunitats CK2 α de plantes no presenten cap homologia entre ells en el seu extrems 5' i 3' no codificants. En canvi, a nivell de proteïna, presenten més del 90% d'homologia entre elles. En animals, CK2 α i CK2 α' tot i estar molt conservades principalment en el seu extrem amino terminal i part central, presenten baixa homologia a la regió carboxi terminal i CK2 α' és 41 residus més curta que CK2 α . En plantes, en canvi, totes les CK2 α descrites presenten pràcticament la mateixa llargada i l'alt grau d'homologia es manté al llarg de tota la seqüència. A la figura 6 es presenta un alineament entre algunes de les proteïnes CK2 α de diferents plantes (*Arabidopsis*, blat de moro, arròs i tabac) amb les CK2 α/α' humanes. Es pot veure que els determinants estructurals definits per les subunitats catalítiques (lloc d'unió a ATP, "cluster" de lisines) estan conservats en tots els casos.

L'estructura terciària de la subunitat CK2 α es coneix gràcies a la cristal·lització de la CK2 α de blat de moro (Niefind et al., 1998). Una imatge d'aquesta estructura es mostra a la figura 7. La CK2 α de blat de moro és 59 aminoàcids més curta en el extrem carboxi terminal que la CK2 α humana i presenta un 65% d'homologia amb CK2 α i un 70% amb CK2 α' . La CK2 α de blat de moro és més estable i presenta major activitat específica que la CK2 α humana, per aquest motiu va ser la primera i fins al moment l'única subunitat catalítica CK2 cristal·litzada individualment. En la cristal·lització de l'holoenzim humà les subunitats CK2 α presenten una degradació d'un 5 kDa de l'extrem carboxi terminal, això sembla indicar que aquesta regió està implicada en l'estabilitat de la proteïna. (Niefind et al., 2001). La resolució a 2.1 Å de la CK2 α de blat de moro, en presència d'ATP i Mg²⁺, va permetre avançar en el coneixement de la relació estructura-funció de l'enzim.

Introducció

ARABIDOPSIS	1	-----MSKARVYTEVNVLRPKDYWDYESTLIVQWGEQDDYEVVRKVGGRGKYSEVFEGINV
TABAC	1	-----MSKARVYTDVNVLRPREYWDYEALTVQWGDQDDYEVVRKVGGRGKYSEVFEGINV
ARROS	1	-----MSKARVYADVNVLRPKYWDYEALTVQWGEQDDYEVVRKVGGRGKYSEVFEGINV
MAIZE	1	-----MSKARVYADVNVLRPKYWDYEALTVQWGEQDDYEVVRKVGGRGKYSEVFEGINV
HUMAN	1	MSGPVP-SRARVYTDVNTHRPREYWDYESHVVVEWGNQDDYQLVRKLRGRGKYSEVFEAINI
		unió a ATP
ARABIDOPSIS	55	NSKEKCIKILKPVKKKIKREIKILQNLCCGGPNIVKLLDIVRDOHSKTPSLIFEYVNST
TABAC	55	NSHEKCIKILKPVKKKIKREIKILQNLCCGGPIVVKLLDIVRDOHSKTPSLIFEYVNST
ARROS	55	NNNEKCIKILKPVKKKIKREIKILQNLCCGGPNIVKLLDIVRDOHSKTPSLIFEYVNST
MAIZE	55	NNNEKCIKILKPVKKKIKREIKILQNLCCGGPNIVKLLDIVRDOHSKTPSLIFEYVNST
HUMAN	60	TNNEKVVVKILKPVKKKIKREIKILENLRGGPNITITLADIVKDPVSRTPALVFEHVNNIT
HUMAN2	61	TNNERVVVKILKPVKKKIKREIKILENLRGGTNIKLLDITVKDPVSKTPALVFEYINNT
		Domini bàsic (NLS)
ARABIDOPSIS	115	DFKVLVPTLTDYDIRYYIYELLKALDYCHSQGLMHRDVKPHNVMDHELRLRLIDWGLA
TABAC	115	DFKVLVPTLTDYDIRYYIYELLKALDYCHSQGIMHRDVKPHNVMDHELRLRLIDWGLA
ARROS	115	DFKVLVPTLTDYDIRYYIYELLKALDYCHSQGIMHRDVKPHNVMDHELRLRLIDWGLA
MAIZE	115	DFKVLVPTLTDYDIRYYIYELLKALDYCHSQGIMHRDVKPHNVMDHELRLRLIDWGLA
HUMAN	120	DFKQLYQLTLDYDIRFYIYELLKALDYCHSMGIMHRDVKPHNVMDHEHRLRLIDWGLA
HUMAN2	121	DFKQLYQLTLDYDIRFYIYELLKALDYCHSKGIMHRDVKPHNVMDHQQKRLRLIDWGLA
ARABIDOPSIS	175	EFYHPGKEYNVRVSRVYFKGPELLVDLQDYDYSLDMWSLGCMFAGLIFRKEPFFYGHNDQ
TABAC	175	EFYHPGKEYNVRVASRYFKGPELLVDLQDYDYSLDMWSLGCMFAGMIFRKEPFFYGHNDQ
ARROS	175	EFYHPGKEYNVRVASRYFKGPELLVDLQDYDYSLDMWSLGCMFAGMIFRKEPFFYGHNDH
MAIZE	175	EFYHPGKEYNVRVASRYFKGPELLVDLQDYDYSLDMWSLGCMFAGMIFRKEPFFYGHNDH
HUMAN	180	EFYHPGKEYNVRVASRYFKGPELLVDYQMYDYSLDMWSLGCMLASMIFRKEPFFYGHNDY
HUMAN2	181	EFYHPAQKEYNVRVASRYFKGPELLVDYQMYDYSLDMWSLGCMLASMIFRKEPFFYGHQNDY
ARABIDOPSIS	235	DQLVKIAKCVGTDDELNAYLNKYQIELDPQLEALVGRHSRKPWSKFINADNQHLSPEAID
TABAC	235	DQLVKIAKVLGTDDELNAYLHKYQIELDPQLEAMVGRHSRKPWSKFINADNQHLSPEAID
ARROS	235	DQLVKIAKVLGTEALNAYLNKYHIELDPQLEALVGRHSRKPWSKFINADNQHLSPEAVD
MAIZE	235	DQLVKIAKVLGTDGLNVYLNKYRIELDPQLEALVGRHSRKPWLKFMNADNQHLSPEAID
HUMAN	240	DQLVRIAKVLGTELDYDYLKYNIELDPHFNDIILGRHSRKRWEREFVHSENOHLSPEALD
HUMAN2	241	DQLVRIAKVLGTEELYGYLKKYHIELDPHFNDIILGHSRKRWENEFHSENRHLSPEALD
ARABIDOPSIS	295	FLDKLLRYDHQDRLTAKEAMAHAYFAQVRAAE-----TSRMRSQ-----
TABAC	295	FLDKLLRYDHQDRLTAREAMAHYPYFLQVRAAE-----NSRMRITQ-----
ARROS	295	FLDKLLRYDHQDRLTAREAMAHYPYFLQVRAAE-----NSRARPC-----
MAIZE	295	FLDKLLRYDHQERLTALEAMTHPYEQVRAAE-----NSRTRA-----
HUMAN	300	FLDKLLRYDHQSRLTAREAMEHPYFYTVKDAQRMGSSSMPGGSTPVSSANMMSGISSVP
HUMAN2	301	LLDKLLRYDHQQRLTAREAMEHPYFYPVKEQ-----S-QP-----CADNAVLSISGLTAAR
ARABIDOPSIS		-----
TABAC		-----
ARROS		-----
MAIZE		-----
HUMAN	360	TPSPLGPLAGSPVIAAANPLGMPVPAAGAQAQ
HUMAN2	351	-----

Figura 6: Alineament de les seqüències aminoacídiques de CK2 α de plantes. S'ha utilitzat les següents seqüències: *Arabidopsis*, (CK2A1, numero d'accés Q08467) blat de moro, (CK2 α -1 n. d'accés CAA43659), tabac (CK2 α , n. d'accés AAK54616), arròs (CK2 α , n. d'accés BAB21589), humana (CK2 α , n. d'accés AAA355503) i humana (CK2 α' , n. d'accés AAA51548). Els residus invariants estan senyalats en negre i els conservats en gris. Els dominis característics de CK2 α com el lloc d'unió ATP i la zona bàsica (NLS) estan subratllats en vermell.

La CK2 α de blat de moro presenta la típica estructura bilobal descrita per totes les subunitats catalítiques cristal·litzades. Un dels aspectes més interessants de l'estudi de la regulació de la CK2 és que tant l'holoenzim com la subunitat CK2 α sola són constitutivament actius i que, per tant, els mecanismes de regulació descrits per altres quinases (Johnson and O'Reilly, 1996) no funcionen en aquest cas. Aquesta estructura es va cristal·litzar en conformació oberta i activa. Les fortes interaccions entre el seu extrem amino terminal i elements estructurals del seti actiu com el "cluster" de lisines i principalment amb el segment d'activació expliquen, almenys en part, la naturalesa activa de l'enzim. El "cluster" de lisines ⁷⁴KKKKIKREIK⁸³ és el domini més característic de la CK2 α , responsable del reconeixement de múltiples determinants acidícs que especifiquen el residu fosfo-acceptor però també implicat en la inhibició per compostos polianiónics com heparina, en "down-regulation" per la subunitat CK2 β i en la translocació a nucli, ja que conté una seqüència consens de localització nuclear (NLS). S'ha demostrat que aquesta única NLS és suficient per translocar la proteïna de citoplasma a nucli (Peracchia et al., 1999). L'estructura revela també un lloc d'unió a ATP atípic que pot ser l'explicació de perquè CK2 pot utilitzar tant ATP com GTP i de perquè és insensible a inhibidors específics de la majoria de les quinases com la staurosporina.



Figura 7: Estructura tridimensional de la subunitat catalítica de la CK2 de blat de moro. Publicada a Niefind et al., (1998). Presenta una estructura bilobal, amb una fulla- β a l'extrem amino terminal, vèrtes hèlix- α al carboxi terminal i el seti actiu situat al centre. Imatge extreta de <http://pkr.sdsc.edu/>

També en blat de moro s'ha aïllat l'únic clon genòmic de CK2 α de plantes, que correspon a CK2 α -1 (Peracchia et al., 1999). Té una grandària de 7.5 kb i conté 10 exons separats per 9 introns de diferents mides. A la regió promotora del gen es troben elements del tipus caixes TATA, CAAT o GC. Manquen més dades per determinar si l'estructura del gen de blat de moro està compartida en altres espècies vegetals.

Estudis de immunocitoquímica utilitzant anticossos contra la subunitat CK2 α de blat de moro han permès localitzar la CK2 α en diferents tipus de cèl·lules de blat de moro (Peracchia et al., 1999). A l'igual que en el cas de cèl·lules animals, s'observa diferent localització depenent del tipus cel·lular, així, en cèl·lules d'epidermis, mesòfil i teixits meristemàtics la localització de CK2 α és predominantment citosòlica mentre que en cèl·lules de l'escutel i del córtex radicular és nuclear.

3.6.2 Les subunitats reguladores CK2 β .

Al igual que les subunitats CK2 α , les subunitats reguladores de plantes també semblen estructurades en famílies multigèniques de 3 a 4 gens. En el cas d'*Arabidopsis thaliana* s'han descrit tres gens CK2 β (Collinge and Walker, 1994; Sugano et al., 1998) i s'ha predit un quart gen una vegada finalitzada la seqüenciació del genoma d'*Arabidopsis*.

La baixa homologia entre les subunitats reguladores de plantes i d'animals, al voltant del 30%, va dificultar el seu clonatge. La primera evidència de l'existència de subunitats CK2 β en plantes va ser gràcies a estudis funcionals llevat. Així, experiments de complementació en la soca YDH8, una soca termosensible mutada en la subunitat catalítica, van permetre l'aïllament de dos gens CKB1 i CKB2 corresponents a subunitats reguladores d'*Arabidopsis thaliana* (Collinge and Walker, 1994). També s'ha descrit la presència de CK2 β en tabac (Espunya et al., 1999). L'expressió de les proteïnes recombinants CKA1 i CKB1 d'*Arabidopsis* va demostrar que també en plantes l'holoenzim es podia reconstituir donant lloc a l'estructura tetramèrica típica descrita en llevats i animals (Klimczac et al., 1995).

Tot i que la presència de subunitats reguladores era un fet en *Arabidopsis*, en blat de moro hi havia dades contradictòries sobre l'existència de CK2 β . Per una banda,

anticossos d'espècies animals contra CK2 β no detectaven presència de subunitats reguladores en extractes de blat de moro (Drobrowska et al., 1992). Posteriorment, la cristal·litització de la CK2 α de blat de moro va demostrar que aquesta subunitat per si sola era molt més estable i presentava major activitat específica que la CK2 α humana. Aquestes dades permetien especular sobre que blat de moro podia haver una forma monomèrica de CK2 α que suplís l'absència de subunitats reguladores (Niefind et al., 1998). Per altre banda, s'havien purificat dues formes de l'enzim de blat de moro: una forma oligomèrica, anomenada CK2A i una altra monomèrica, relacionada amb CK2 α anomenada CK2B (Drobrowska et al., 1992). No obstant, les característiques bioquímiques de la forma monomèrica CK2B eren diferents de la CK2 α recombinant de blat de moro, ja que aquesta última podia interaccionar amb CK2 β humana donant lloc a la reconstitució d'un holoenzim quimèric mentre que amb CK2B no era possible la formació de l'holoenzim. (Boldyreff et al., 1993b; Battutista et al., 2000). Al llarg d'aquesta tesi es demostra l'existència de subunitats reguladores en blat de moro i es parlarà de l'estructuració de la família multigènica de la CK2 β en blat de moro així com de la caracterització de l'holoenzim.

3.7 Funcionalitat de la proteïna quinasa CK2 en plantes.

En plantes, al igual que en animals, la proteïna quinasa CK2 té un efecte pleiotròpic dins la cèl·lula ja que es troba involucrada a la regulació de gran nombre de processos essencials per la viabilitat de l'organisme, com el control del cicle cel·lular, mecanismes de transducció de senyal de llum, ritme circadià, transcripció i traducció d'àcids nucleics, o transport intracel·lular de proteïnes entre altres. No obstant, el nombre de substrats *in vitro* o proteïnes que interaccionen amb la CK2 de plantes descrits fins al moment no es tant gran com en el cas d'animals. Una recopilació de totes les descrites fins al moment es presenta a la taula II.

La funció de la CK2 en cicle cel·lular s'ha demostrat àmpliament en llevat i en mamífers (Padmanabha et al., 1990; Pepperkok et al., 1994). En plantes, en un sistema de cèl·lules de tabac BY-2 s'ha comprovat que CK2 és essencial per la progressió del cicle de divisió cel·lular i té un paper fonamental en la transició de fase G2 a M (Espunya et al., 1999).

Recentment s'ha descrit que la sobreexpressió de la subunitat CK2 α de plantes augmenta la tolerància a sal en llevat (Kanhonou et al., 2001) . És remarcable el fet de que en animals aquesta característica s'ha descrit per la subunitat CK2 β (Bidwai et al., 1995).

També CK2 sembla implicada en l'activació de la senyal de transducció d'acid salicilic (SA) en tabac (Hidalgo et al., 2001). La via activada per SA és un dels mecanisme de defensa més estudiats en plantes (Durner et al., 1996). En resposta a àcid salicilic augmenta l'activitat CK2 al nucli. Aquesta dada és important ja que és la primera descripció d'activació de la CK2 per una hormona vegetal.

La obtenció en *Arabidopsis* de plantes transgèniques que expressen el gen antisentit de la subunitat catalítica CK2 α ha demostrat una funció fisiològica clara de la CK2 en la regulació de la transducció de senyal de la llum i del creixement de la planta (Lee et al., 1999). Aquesta regulació sembla que funciona, en gran part, a través de la fosforilació de factors de transcripció que s'uneixen a promotors de resposta a llum. La fosforilació pot afectar a l'unió dels factors al DNA de diferents maneres: en alguns casos, com en el del factor GBF1, la fosforilació per CK2 estimula la seva unió a caixes G dels promotors de llum (Klimczac et al., 1995). En altres ocasions, la fosforilació de factors transactivadors com AT-1 o ATBP-1 inhibeix la unió d'aquestes proteïnes a caixes riques en AT (Datta and Cashmore, 1989; Tjaden et al., 1994). També s'ha descrit que factors de transcripció essencials en la regulació del ritme circadià com CCA-1 o LHY interaccionen amb la subunitat CK2 β i també estan fosforilats i regulats per CK2 (Sugano et al., 1998; Sugano et al., 1999). A més, la sobreexpressió de una de les subunitats reguladores (CK2B3) en *Arabidopsis* modifica l'expressió circadiana d'aquests gens, demostrant la importància de la CK2 en la regulació del ritme circadià (Sugano et al., 1999). També HY5, un factor de transcripció del tipus bZIP (d'estructura de cremallera de leucines) que té funcions de promoció de fotomorfogènesi està regulat per fosforilació per CK2 (Hardtke et al., 2000). Les formes no fosforilades de HY5 s'uneixen millor al DNA que les fosforilades i a més sembla que en aquest cas l'activitat CK2 està regulada per llum ja que es detecten un gran alt nombre de formes fosforilades en la foscor , a més, la fosforilació de HY5 protegeix a la proteïna de la degradació pel proteosoma 26A.

També factors de transcripció implicats en altres vies estan regulats per CK2. És el cas de Opaque2, que en blat de moro regula l'expressió de gens de zeïnes, que són proteïnes de reserva del endosperma (Cicceri et al., 1997). Com en el cas de HY5, la fosforilació d'aquest factor sembla regulada per llum, ja que les formes fosforilades que s'acumulen en fosc presenten una activitat d'unió a DNA menor que les formes hipofosforilades. Altres proteïnes de reserva com β -conglucina o calreticulina també són substrats *in vitro* de CK2 (Ralet et al., 1999; Baldan et al., 1996). És remarcable que en animals no s'ha demostrat que la calreticulina sigui substrat de CK2, tot i que la CK2 animal fosforila altres proteïnes d'unió a Ca^{2+} com la calmodulina o calcinexina (Bidwai et al., 1993; Ou et al., 1992).

També està descrit que en plantes la CK2 fosforila gran nombre de proteïnes nuclears i nucleolars, com lamina-like de la matriu nuclear (Li et al., 1992) o altres implicada en els processos de transcripció del DNA, traducció del RNA i síntesi de proteïnes. Recentment s'ha descrit que CK2 co-purifica amb RNA polimerasa II en bròcol (Saez-Vasquez et al., 2001). També CK2 sembla que està regulant altres proteïnes implicades en la transcripció del rDNA i el procesament del pre-RNA com la DNA helicasa PDH65 (Tuteja et al., 2000) així com determinades proteïnes de alta mobilitat HMGB de blat de moro que interaccionen amb la cromatina i estan fosforilades de manera específica per CK2 (Stemmer et al., 2002). Riboproteïnes com les proteïnes P que formen part dels complexos ribosomals 60S en blat de moro o p34 involucrada en el processament de RNA missatger a cloroplast d'espínacs són també fosforilades per CK2 (Bailey-Serres et al., 1999; Kanekatsu et al., 1993). Un altre substrat *in vitro* és la proteïna p36 o subunitat eIF-2 α de blat (Jakani et al., 1995), no obstant la funcionalitat d'aquesta fosforilació en el cas de plantes no es clara tot i que en mamífers es coneix que la fosforilació de eIF-2 α inhibeix la síntesi proteica (Pain and Clemens, 1983).

A la taula II queda resumida la implicació de CK2 en altres processos més generals com la síntesi d'ATP, de lípids o degradació de proteïnes pel proteosoma. També dues proteïnes LEA (Late Embryogenesis Abundant), la proteïna Rab17 de blat de moro i la seva homòloga de tomàquet TAS-16, són fosforilades *in vitro* per CK2 (Plana et al., 1990; Godoy et al., 1994). L'estudi de la fosforilació de la proteïna Rab17 de blat de moro és un dels objectius d'aquesta tesi.

Introducció

Taula II: Substrats *in vitro* i proteïnes que interaccionen amb la proteïna quinasa CK2 en plantes.

NOM	TIPUS	PLANTA	FUNCIÓ	REFERÈNCIA
TRANSDUCCIÓ DE SENYAL DE LLUM				
GBF-1	factor de transcripció bZIP	Arabidopsis	unió a caixes G de promotors	Klimzac et al., 1995
AT-1	factor transactivador	Pèsol	unió a caixes riques en AT de promotors	Datta et al., 1989
ATBP-1	factor transactivador	Pèsol	unió a caixes riques en AT de promotors	Tjaden et al., 1994
CCA-1	factor de transcripció Myb	Arabidopsis	control ritme circadià	Sugano et al., 1998
LHY	factor de transcripció Myb	Arabidopsis	control ritme circadià	Sugano et al., 1999
HY5	factor de transcripció bZIP	Arabidopsis	promou fotomorfogenesi	Hardtke et al., 2000
EMMAGATZAMENT A LLAVOR				
Opaque2	factor de transcripció bZIP	Blat de moro	unió a promotor zeina	Cicceri et al., 1997
β -conglucininina	proteïna de reservori	Soybean	proteïna d'emmagatzament	Ralet et al., 1999
calreticulina	proteïna d'unió a Calci	Espinac	Metabolisme del calci	Baldan et al., 1996
TRADUCCIÓ DEL RNA				
proteïnes P	proteïnes ribosomals	Blat de moro	complex amb subunitat ribosomal 60S	Bailey-Serres et al., 1997
p34	ribonucleoproteïnes	cloroplastes d'espinac	processament de mRNA 3'	Kanekatsu et al., 1993
p36	subunitat d'eIF-2	Blat	intercanvi de nucleotid guanina	Janaki et al., 1995
RNA pol I		Brocòl		Saez-Vasquez et al. 2001
TRANSCRIPCIÓ DEL DNA				
PDH65	DNA helicasa	Pèsol	obertura del duplex DNA	Tuteja et al., 2001
HMGB	proteïnes d'alta mobilitat grup B	Blat de moro	interacció amb DNA/cromatina	Stemmer et al., 2002
TRANSDUCCIÓ DE SENYAL D'ABA				
Rab 17	proteïna LEA	Blat de moro	proteïna induïble per estrès i ABA	Plana et al., 1990
TAS-14	proteïna LEA	Tomàquet	proteïna induïble per estrès i ABA	Godoy et al., 1994
SINTESI D'ATP				
CFOCF1-ATPasa	subunitat ATPasa sintasa B	cloroplastes d'espinac	síntesi d'ATP	Kanekatsu et al., 1998
apirasa		Pèsol	hidròlisi d' ATP	Hsieh et al., 2000
SINTESI DE LIPIDS				
gp96	lipoxigenasa	Soybean	oxigenació d'àcids grassos insaturats	Ohtsuki et al., 1995
MAQUINARIA DEL PROTEASOMA				
C2	proteïna del proteasoma	Arròs	degradació de proteïnes	Umeda et al., 1997
PROTEÏNES DE LA Matri NUCLEAR				
lamina-like	proteïna de la lamina matrix	Pèsol	proteïna de la lamina matrix	Li et al., 1992