

# VAI TRÒ RIÊNG BIỆT CỦA C-SRC VÀ YES-1 TRONG CON ĐƯỜNG TÍN HIỆU SINH TRƯỞNG TẾ BÀO THÔNG QUA THỤ THỂ TĂNG TRƯỞNG EGFR

Tạ Ngọc Ly

Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Đà Nẵng

## TÓM TẮT

Các kinase họ Src (SFK) đóng một vai trò quan trọng trong quá trình dẫn truyền tín hiệu liên quan đến sự tăng sinh và di cư ở cả tế bào bình thường và tế bào ung thư. Nghiên cứu trước đây của chúng tôi đã cho thấy tyrosine kinase c-Src và họ hàng phát sinh gen gần nhất của nó, Yes-1, điều chỉnh sự phosphoryl hóa của thụ thể Fas và hiện diện trong một phức hợp với Fas và EGFR. Điều này gợi ý về sự riêng biệt về chức năng của c-Src và Yes-1 trong việc điều chỉnh tín hiệu Fas / EGFR. Trong nghiên cứu này, sử dụng các tế bào SW480 đồng thời biểu hiện c-Src và Yes-1 để kiểm tra giả thuyết rằng c-Src và Yes-1 hành động đối lập để điều chỉnh tín hiệu Fas/EGFR. Kết quả cho thấy kích hoạt EGFR bằng phối tử của nó, EGF, làm gia tăng sự biểu hiện và phân phối khác nhau của c-Src và Yes-1 trong tế bào chất và nhân của các tế bào SW480. c-Src và Yes-1 tác động trái ngược nhau trong quy định kích hoạt biểu hiện của STAT3. Kết quả cũng cho thấy c-Src và Yes-1 đóng vai trò khác nhau trong việc kiểm soát sự di chuyển và tăng sinh tế bào. Nghiên cứu này cho thấy rằng ngay cả các kinase có liên quan chặt chẽ và tương đồng như c-Src và c-Yes lại có chức năng độc lập và thậm chí là đối lập trong cùng một loại tế bào. Những phát hiện này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc phân tách các con đường dẫn truyền tín hiệu c-Src và Yes-1 để chọn các chất ức chế cụ thể của c-Src và Yes-1, hai mục tiêu quan trọng trong điều trị bệnh ung thư.

*Từ khóa:* C-Src, EGFR, ung thư, siRNA, STAT3, Yes-1.

## MỞ ĐẦU

Các thành viên của họ tyrosine kinase Src (SFKs) có liên quan đến nhiều quá trình tín hiệu điều chỉnh các chức năng chính của tế bào như tăng sinh, di cư, biệt hóa và sống sót (Martin, 2001). Nghiên cứu về chức năng của từng thành viên họ SFK có nhiều khó khăn do sự đa dạng của các thành viên và thiếu chất ức chế chọn lọc đặc hiệu cho mỗi thành viên (Kim *et al.*, 2009). Vì vậy, nhiều thông tin về con đường tín hiệu và chức năng của các thành viên, đặc biệt là Yes-1, chưa được xác định rõ.

Trong các thành viên họ SFK, c-Src là oncogene đầu tiên đã được xác định. C-Src liên quan đến nhiều con đường truyền tín hiệu của các thụ thể khác nhau, chẳng hạn như thụ thể insulin và thụ thể họ ErbB (Irby và Yeatman, 2000). Sự biểu hiện quá mức c-Src kinase thường được tìm thấy trong các loại ung thư khác nhau bao gồm ung thư ruột kết, vú, tuyến tụy và não (Sen và Johnson, 2011). c-SRC đóng vai trò nổi bật trong sự xâm lấn và tiến triển của khối u, chuyển từ biểu mô sang trung mô, sự hình thành mạch và sự phát triển của di căn. Do đó, c-SRC là một mục tiêu điều trị hấp dẫn và đã có một số chất ức chế phân tử nhỏ đang được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng. Trong số các thành viên SFK, Yes-1 thể hiện tính tương đồng cao nhất với c-Src với hơn 70% các amino acid là tương đồng. Yes-1 được tìm thấy kích hoạt cao trong ung thư biểu mô đại tràng nhưng sự liên quan của nó liên quan đến c-Src vẫn chưa rõ ràng. Hoạt động của Yes-1 có vai trò cần thiết cho định vị  $\beta$ -catenin và Yes-1 đóng vai trò quan trọng trong việc di chuyển tế bào. Các nghiên cứu trước đây của chúng tôi cho thấy rằng mặc dù c-Src và Yes-1 hiện diện trong một phức hợp với Fas và EGFR (Ta *et al.*, 2018) nhưng cách chúng làm trung gian cho các chức năng cụ thể vẫn chưa được biết. Chúng tôi giả thuyết rằng c-Src và Yes-1 có vai trò riêng biệt bằng cách tham gia với các đối tác khác nhau trong việc truyền tín hiệu liên quan đến sự di cư và biểu hiện gen tăng sinh EGFR. Nghiên cứu này nhằm đánh giá vai trò của c-Src và Yes-1 trong mối quan hệ với các protein chính tham gia con đường tín hiệu gây tăng sinh và di căn của EGFR.

## NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Dòng tế bào

Dòng tế bào ung thư đại trực tràng SW480 được mua từ bộ sưu tập ATCC. Tất cả các tế bào được duy trì trong RPMI 1640 + Glutamax I (Gibco) bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) và duy trì ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

### Kháng thể và hóa chất khác

Kháng thể kháng c-Src, kháng thể kháng Yes-1 (R & D); kháng thể kháng EGFR, kháng thể kháng pY1068 EGFR, kháng thể kháng pY705 STAT3, kháng thể kháng STAT3, kháng thể kháng pS473 Akt, kháng thể kháng Akt, kháng thể kháng pErk1 / 2, kháng thể kháng Erk1/2 (Sigma); kháng thể kháng GAPDH (Calbiochem); kháng thể kháng thỏ và kháng thể kháng chuột (Jackson ImmunoResearch); EGF (Gibco), hạt sepharose protein G (Zymed); WST-1 (Interchim); Matrigel (BD); Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen).

### siRNA

c-Src và Yes-1 siRNAs từ QIAGEN (catalog # SI02223921 và SI00302218). EGFR siRNA (5'-CAAAGUGUGUAACGGAAUA-3'). Control siRNA (Luciferase) (5'-CGUACGCGAAUACUUCGA-3') và Stat3 siRNA (5'-GGCGUCCAGUUCACUACUA-3').

### Thử nghiệm WST-1

Các tế bào được nuôi trong RPMI + 10% FBS ở mức  $5 \times 10^3$  tế bào/giếng trong đĩa 96 giếng trong 24 giờ. Các tế bào sau đó được rửa bằng RPMI + 0,1% BSA và được chuyển vào môi trường không có huyết thanh trong 24 giờ trước khi thử nghiệm bổ sung EGF. Sau khi cho EGF, thuốc thử WST-1 đã được thêm vào từng giếng. Các tế bào được ủ trong 4 giờ trước khi đo ở 450 nm và 690 nm (tham chiếu) bằng máy quang phổ (Biotek).

### Thử nghiệm di chuyển tế bào bằng buồng Boyden

Các tế bào được dán nhãn trước bằng thuốc nhuộm DilC18, sau đó được nuôi cấy trong môi trường RPMI + 0,1% BSA ở nồng độ  $2 \times 10^5$  tế bào/ml. Fluoroblok (BD Bioscience) được đặt trong giếng của các đĩa 24 giếng, mỗi giếng chứa 0,75 ml môi trường thử nghiệm không có hoặc có EGF. Các tế bào ( $5 \times 10^4$ ) sau đó được thêm vào khoang trên cùng của màng Fluoroblok và được phép di chuyển trong 2 giờ ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Các tế bào sau đó được cố định với 4% paraformaldehyd và các tế bào di chuyển có nhãn huỳnh quang được chụp bằng kính hiển vi đảo ngược (Zeiss Axiovert). Từ 5 hình ảnh được chụp ngẫu nhiên số lượng tế bào được di chuyển qua các lỗ màng được tính bằng cách sử dụng chức năng phân tích hạt trong phần mềm FIJI.

### Ngưng kết miễn dịch, phương pháp Western blot

Thực hiện như công bố trước đây của Chakrabandhu và đồng tác giả (2016); Ta và đồng tác giả (2018).

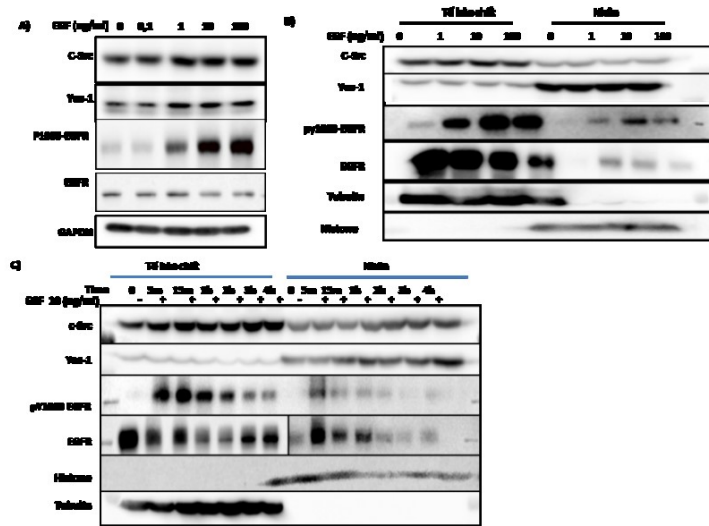
### Knockdown c-Src, Yes-1 và EGFR bằng siRNA

Quá trình lây nhiễm tạm thời bằng siRNA (100 nM) của gen mục tiêu trong môi trường Opti-MEM I (Invitrogen) với Lipofectamine 2000™ (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Bốn giờ sau, môi trường Opti-MEM I được thay thế bằng môi trường nuôi cấy thông thường. Hiệu quả của việc ức chế với quá trình biểu hiện gen mục tiêu được đánh giá bằng phương pháp miễn dịch trong 48 giờ sau khi lây nhiễm.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### c-Src và Yes-1 đáp ứng khác nhau với sự kích hoạt con đường tín hiệu EGFR bằng phối tử của nó, EGF.

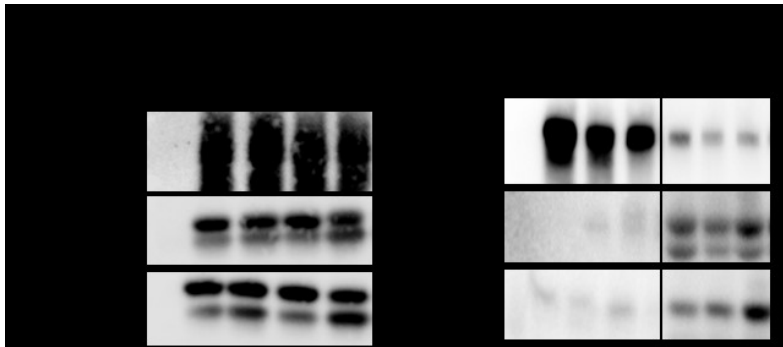
Sự biểu hiện c-Src và Yes-1 đã được nghiên cứu trong các dòng tế bào CRC khác nhau, trong số đó, dòng tế bào SW480 cho thấy sự biểu hiện đồng thời c-Src và Yes-1 cao (Sancier *et al.*, 2011). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã kiểm tra sự biểu hiện của c-Src và Yes-1 khi kích hoạt thụ thể EGFR bằng phối tử của nó, EGF. Kết quả cho thấy EGFR được kích hoạt bởi EGF làm tăng biểu hiện của cả c-Src và Yes-1 trong toàn bộ dịch trích ly tế bào (Hình 1A). c-Src và Yes-1 đều tăng về tổng số và khác nhau trong sự phân bố ở phân đoạn tế bào chất và phần nhân. c-Src có nhiều trong tế bào chất trong khi Yes-1 biểu hiện nhiều hơn trong nhân (Hình 1B). Sự biểu hiện của c-Src và Yes-1 phụ thuộc nhiều vào thời gian tính từ khi kích hoạt EGF hơn là nồng độ của EGF. Sau 5 phút kích thích EGF đã ghi nhận sự tăng rõ rệt biểu hiện của c-Src ở tế bào chất (Hình 1C) trong khi mức độ tăng theo nồng độ là không thực sự nổi bật, hơn nữa, mức tác động của nồng độ EGF 100 ng/mL thấp hơn nồng độ 1 và 10 ng/mL. Chúng tôi cũng nhận thấy có 2 pha trong tín hiệu do EGF gây ra, c-Src tăng nhanh đến 15 phút giảm dần, sau đó lại tăng lần thứ 2 sau 3h tính từ lúc kích hoạt EGF. Ngoài ra, c-Src tăng dần theo thời gian ở tế bào chất trong khi Yes-1 thì tăng dần theo thời gian ở trong nhân.



Hình 1. C-Src và Yes-1 biểu hiện và phân bố khác nhau đáp ứng sự hoạt hóa EGFR bằng EGF

**Xác định phức hợp EGFR, c-Src và Yes-1 bằng ngưng kết miễn dịch**

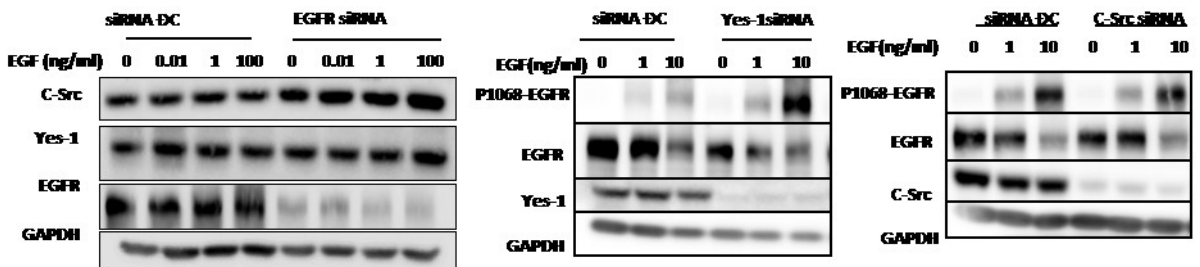
Trong nghiên cứu trước, chúng tôi đã phát hiện sự hiện diện của c-Src và Yes-1 trong phức hợp với Fas. Mặt khác, Fas lại tương tác chặt chẽ với EGFR. Vì vậy chúng tôi kiểm tra khả năng c-Src và Yes-1 cùng tương tác với EGFR trong 1 phức hợp. Ngưng kết miễn dịch với thụ thể EGFR (co-IP) với phân tích miễn dịch đã được thực hiện để nghiên cứu về sự lắp ráp phức hợp các protein có tương tác với EGFR. Kết quả cho thấy rằng phức hợp miễn dịch EGFR có chứa c-Src và Yes-1 trong dịch li trích tế bào. Tiếp tục phân tích phức hợp này trong phân đoạn nhân và tế bào chất, kết quả cho thấy EGFR tạo phức với c-Src và Yes-1 chủ yếu trong nhân (Hình 2A, B). Ngoài ra, EGF nồng độ 10 ng/mL làm tăng sự hình thành phức hợp giữa EGFR, c-Src và Yes-1.



Hình 2. EGF làm tăng sự hình thành phức hợp giữa EGFR, c-Src và Yes-1

**Mối quan hệ ràng buộc giữa EGFR, c-Src và Yes-1**

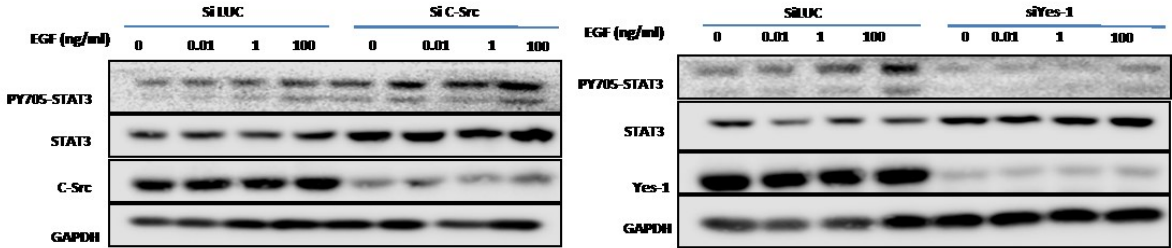
Chúng tôi sử dụng siRNA để ức chế sự biểu hiện của EGFR, c-Src và Yes-1 nhằm tìm ra mối quan hệ giữa 3 loại protein trên. Kết quả cho thấy, ức chế EGFR bằng siRNA làm tăng c-Src nhưng không ảnh hưởng đến Yes-1. Đặc biệt, ức chế Yes-1 đã dẫn đến việc tăng quá trình phosphoryl hóa EGFR tại tyrosine 1068 khi bổ sung EGF trong khi ức chế c-Src không ảnh hưởng đến sự biểu hiện của EGFR.



Hình 3. Sự tương tác giữa EGFR, c-Src và Yes-1

**Vai trò đối ngược của c-Src và Yes-1 trong mối quan hệ với sự biểu hiện của STAT3**

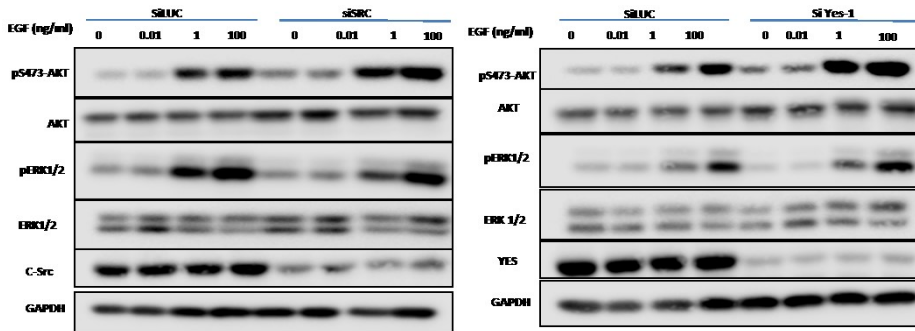
STAT3 là một protein chính tham gia con đường tín hiệu của EGFR. Một số nghiên cứu đã báo cáo rằng c-Src đóng vai trò quan trọng trong tín hiệu STAT3 (Turkson *et al.*, 2015; Tzeng *et al.*, 2018), vì vậy, chúng tôi đã nghiên cứu thêm về vai trò của c-Src và Yes-1 trong mối quan hệ với STAT3 khi kích hoạt EGFR bằng EGF. Chúng tôi thấy rằng trong khi ức chế Yes-1 đã ức chế hoàn toàn việc kích hoạt STAT3 khi bổ sung EGF, ngược lại, ức chế c-Src đã làm tăng kích hoạt STAT3. Kết quả cho thấy c-Src và Yes-1 có vai trò đối ngược nhau trong việc điều chỉnh biểu hiện của STAT3.



**Hình 4. C-Src và Yes-1 trái ngược nhau trong quy định kích hoạt STAT3**

Mối quan hệ của c-Src và Yes-1 trong sự biểu hiện của AKT và ERK

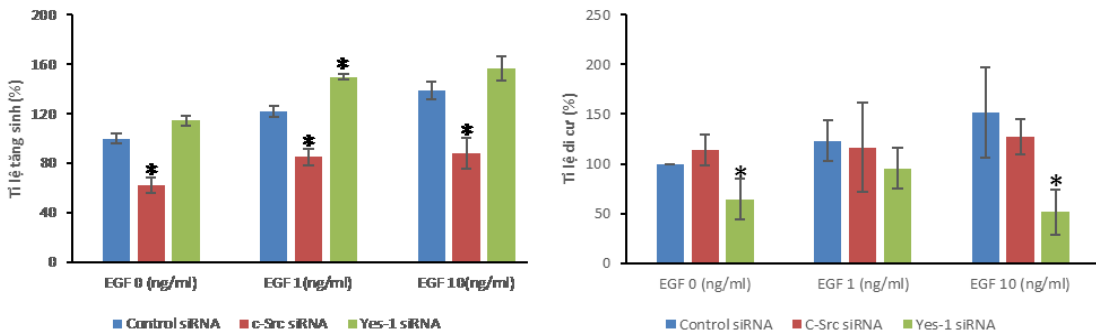
Ngoài STAT3 thì AKT và Erk là 2 protein chính trong 2 con nhánh còn lại của con đường tín hiệu tăng sinh tế bào do EGFR. Tác động của ức chế c-Src và Yes-1 đối với sự biểu hiện của hai protein chủ chốt trong tín hiệu của EGFR là AKT và Erk đã được chúng tôi thử nghiệm. Kết quả cho thấy cả c-Src và Yes-1 khi bị sự ức bằng siRNA đều dẫn đến tăng sự phosphoryl hóa AKT nhưng không ảnh hưởng đến ERK (Hình 5).



**Hình 5. Ức chế c-Src hoặc Yes-1 bằng siRNA gây tăng sự phosphoryl hóa AKT ở S473**

**Vai trò riêng biệt của Yes-1 và c-Src trong sự tăng sinh và di chuyển tế bào**

Để xác định vai trò của Yes-1 và c-Src trong việc di chuyển và tăng sinh qua trung gian EGF, chúng tôi tiến hành thử nghiệm kiểm tra sự di chuyển và tăng sinh tế bào khi ức chế Yes-1 và c-Src. Kết quả cho thấy Yes-1 đóng vai trò quan trọng trong việc di chuyển tế bào trong khi c-Src đóng vai trò chính trong sự tăng sinh tế bào. Cụ thể ức chế c-Src làm giảm sự sinh trưởng nhưng gia tăng tỉ lệ tế bào di cư, ngược lại, ức chế Yes-1 gia tăng sự sinh trưởng nhưng hạn chế sự di cư tế bào.



**Hình 6. Sự ức chế của Yes-1 và c-Src gây ra phản ứng trái ngược về khả năng sống và di cư của tế bào. Thử nghiệm đánh giá sự tăng sinh và di cư của tế bào được lập 3 lần. \* p < 0.05**

## THẢO LUẬN

### Vai trò của c-Src trong sự kháng liệu pháp kháng EGFR

Trong các dòng tế bào CRC và các khối u nguyên phát, mức độ biểu hiện c-Src gia tăng so với các tế bào bình thường hoặc mô lân cận bình thường. Phosphoryl hóa của một số dư lượng tyrosine trong EGFR đã được chứng minh là tăng lên sau khi biểu hiện quá mức c-Src trong cả *in vitro* và *in vivo*. c-Src cũng có liên quan đến việc kích hoạt STAT3 và sự phục hồi hoạt động STAT3 với sự có mặt của chất ức chế c-Src đã được báo cáo. Ngoài ra, kích hoạt c-Src đã được chứng minh là tăng trong dòng tế bào CRC với tính kháng cetuximab, một loại thuốc hướng đích nhắm mục tiêu là EGFR. Dữ liệu của chúng tôi cũng cho thấy rằng trong tế bào SW480, một loại tế bào ung thư kháng thuốc điều trị EGFR do đột biến KRAS, sự ức chế EGFR bằng siRNA dẫn đến điều chỉnh tăng biểu hiện c-Src. Kết quả này cho thấy c-Src có thể liên quan đến các cơ chế góp phần hiện tượng kháng thuốc kháng EGFR.

### Vai trò của Yes-1 trong con đường tín hiệu của EGFR

Kích hoạt kinase Yes-1 cũng đã được chứng minh là xảy ra ở đại tràng. Đã có nhiều báo cáo khác nhau về mối liên quan giữa Yes-1 và độc tính khối u. Ức chế biểu hiện Yes-1 của shRNA làm giảm đáng kể sự tăng trưởng tế bào trong ung thư biểu mô đại tràng. Kết quả của chúng tôi cho thấy bằng cách tương tác với EGFR, Yes-1 được kích hoạt trong nhân và đóng vai trò chính trong việc di chuyển tế bào. Đặc biệt, chúng tôi khám phá ra rằng, Yes-1 là có mối quan hệ ngược chiều với sự biểu hiện của EGFR nhưng quan hệ thuận chiều với sự biểu hiện của STAT3. Như vậy, vai trò của Yes-1 trong mối quan hệ EGFR và STAT3 là hoàn toàn khác với c-Src.

### Sự phân chia nhiệm vụ của c-Src và Yes-1 trong sự tăng sinh tế bào và di chuyển các tế bào CRC

Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng các thành viên gia đình Src có thể có chức năng chồng chéo và có thể bù trừ cho nhau nếu một trong số các thành viên bị sai sót. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả chỉ ra rằng thậm chí hai thành viên Src gần gũi, c-Src và Yes-1 có vai trò đối nghịch nhau. Yes-1 đóng vai trò quan trọng trong sự di chuyển tế bào thông qua con đường EGFR / STAT3 hạt nhân, trong khi c-Src là cần thiết cho sự tăng sinh tế bào thông qua con đường kinh điển của EGFR. Trên thực tế, sự đối ngược của c-Src và Yes-1 đã được báo cáo trước đây trong tế bào HT- 29. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng khi sự biểu hiện của c-Src tăng gấp hai đến ba lần thì sự biểu hiện của Yes-1 giảm ba lần. Han và cộng sự cũng ghi nhận sự khác biệt về hoạt động của c-Src và Yes-1 xảy ra trong quá trình phát triển khối u (Han *et al.*, 1996). Sự khác biệt trong tín hiệu của c-Src và Yes-1 có thể đến từ sự khác biệt về cấu trúc giữa chúng. Có một vị trí có thể bị palmitoyl hóa có trong cấu trúc của Yes-1 và vắng mặt trong c-Src ở đầu cuối N (E. và Thomas, 1997). Do không có bổ sung lipid qua quá trình palmitoyl hóa, c-Src cho thấy khả năng di động cao hơn ở màng và do đó được định vị trong tế bào chất. Vị trí palmitoyl hóa giúp ổn định Yes-1 trong các ngăn tế bào phụ cụ thể, bao gồm các màng giàu cholesterol và nhiễm sắc thể. Nonomura và cộng sự đã chỉ ra rằng Yes-1 không chỉ biểu hiện ở màng và tế bào chất mà còn trong nhân tế bào ung thư ở một số mô và trong dòng tế bào HCC ở người. Dữ liệu của chúng tôi đã chứng minh sự làm giàu của Yes-1 trong hạt nhân trong tổ hợp với EGFR và STAT3, cho thấy Yes-1 có thể có vai trò quan trọng trong tín hiệu hạt nhân của EGFR/ STAT3. Do EGFR tương tác với các thành viên của họ SFK khác nhau, chúng tôi cho rằng bằng cách tương tác với các thành viên khác biệt c-SRC và Yes-1, EGFR đã phát ra các tín hiệu điều khiển khác nhau. Ngoài ra, các báo cáo trước đây của chúng tôi đã cho thấy sự tương tác của FAS và EGFR trong các tế bào CRC (Chakrabandhu *et al.*, 2016; Ta *et al.*, 2018) và FAS bị phosphoryl hóa bởi Yes-1 và c-Src. Cùng với những phát hiện hiện tại đã chỉ ra cơ chế theo đó Yes-1 và c-Src góp phần điều chỉnh tương tác FAS / EGFR. Sự khác biệt của c-Src và Yes-1 có thể do tương tác khác nhau với FAS và EGFR. Hơn nữa, việc quan sát thấy phức hợp Fas/EGFR/Yes-1 trong tế bào chất làm tăng khả năng nó được hình thành trong tế bào chất và vận chuyển vào nhân, cho thấy chỉ một phần của nhóm protein EGFR và Yes-1 nội bào được sử dụng trong sự hình thành phức hợp hạt nhân. Như vậy, có khả năng có sự phân phối các phần của nhóm protein EGFR/c-Src/Yes-1 trong các khu vực khác nhau của tế bào và các nhóm này đảm nhận vai trò khác nhau.

## KẾT LUẬN

Họ kinase SFK có vai trò quan trọng trong di căn và kháng thuốc, tuy nhiên, SFK cũng đóng vai trò chính trong cả đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và thích ứng. Do đó, sự ức chế các thành viên gia đình Src có thể ảnh hưởng xấu đến hệ thống miễn dịch. Ức chế Src trong tế bào ung thư trong khi vẫn giữ được hiệu quả của hệ thống miễn dịch là chìa khóa để áp dụng thành công liệu pháp ức chế Src. Kết quả nghiên cứu này chỉ ra rằng, c-Src và Yes-1 đóng vai trò khác nhau trong ung thư và đối lập nhau trong mối quan hệ với STAT3. Do đó, sự tìm kiếm và phát triển các chất ức chế đặc hiệu cho c-Src và Yes-1 là một yêu cầu cơ bản để tăng hiệu quả của thuốc ức chế Src trong điều trị ung thư. Một trong những vấn đề quan trọng trong việc phát triển các chất ức chế đặc hiệu cho mỗi thành viên họ SFK là thiếu các dấu ấn sinh học để phân biệt từng thành viên SFK. Sự phân biệt con đường tín hiệu của Yes-1 và c-Src, đặc biệt trong mối quan hệ với STAT3 có thể giúp lựa chọn chất ức chế đặc hiệu cho Yes-1 và c-Src. Ngoài ra, kết quả của chúng tôi cho thấy Yes-1 có mối quan hệ ngược chiều với sự biểu hiện của STAT3, một mục tiêu quan trọng khác trong điều trị ung thư, cho thấy có thể có một chiến lược khác để ức chế STAT3 bằng cách ức chế Yes-1.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chakrabandhu K, Huault S, Durivault J, Lang K, Ly TN, Bole A, Doma E, Dériard Bt, Gérard JP, Pierres M, Hueber AO (2016). An Evolution-Guided Analysis Reveals a Multi-Signaling Regulation of Fas by Tyrosine Phosphorylation and its Implication in Human Cancers. *PLoS Biol.* doi: 10.1371/journal.pbio.1002401.
- Thomas ESB (1997). Cellular functions regulated by Src family kinases. *Ann Rev Cell Dev Biol.* doi: 10.1146/annurev.cellbio.13.1.513.
- Han NM, Curley SA, Gallick GE (1996). Differential activation of pp60(c-src) and pp62(c-yes) in human colorectal carcinoma liver metastases. *Clin Can Res.*
- Irby RB, Yeatman TJ (2000). Role of Src expression and activation in human cancer. *Oncogene.* doi: 10.1038/sj.onc.1203912.
- Kim LC, Song L, Haura EB (2009). Src kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat Rev Clin Oncol,* doi: 10.1038/nrclinonc.2009.129.
- Martin GS (2001). The hunting of the Src. *Nat Rev Mol Cell Biol.* doi: 10.1038/35073094.
- Sancier F, Dumont A, Sirvent A, de Plater LP, Edmonds T, David G, Jan M, de Montron C, Cogé F, Léonce S, Burbridge M, Bruno A, Boutin JA, Lockhart B, Roche S, Cruzalegui F (2011). Specific oncogenic activity of the Src-family tyrosine kinase c-Yes in colon carcinoma cells. *PLoS ONE.* doi: 10.1371/journal.pone.0017237.
- Sen B, Johnson FM (2011). Regulation of Src Family Kinases in Human Cancers. *J Sig Transduct.* doi: 10.1155/2011/865819.
- Ly TN, Chakrabandhu K, Huault S, Hueber AO (2018). The tyrosine phosphorylated pro-survival form of Fas intensifies the EGF-induced signal in colorectal cancer cells through the nuclear EGFR/STAT3-mediated pathway. *Sci Rep* 8: 12424, doi: 10.1038/s41598-018-30804-z.
- Turkson J, Bowman T, Garcia R, Caldenhoven E, De Groot RP, Jove R (2015). Stat3 Activation by Src Induces Specific Gene Regulation and Is Required for Cell Transformation. *Mol Cell Biol.* doi: 10.1128/mcb.18.5.2545.
- Tzeng YDT, Liu PF, Li JY, Liu LF, Kuo SY, Hsieh CW, Lee CH, Wu CH, Hsiao M, Chang HT, Shu CW (2018). Kinome-wide siRNA screening identifies Src-enhanced resistance of chemotherapeutic drugs in triple-negative breast cancer cells. *Front Pharmacol.* doi: 10.3389/fphar.2018.01285.

## THE SEPARATE ROLE OF C-SRC AND YES-1 IN THE CELL GROWTH PATHWAY THROUGH EGFR SIGNALING

**Ta Ngoc Ly**

*Biotechnology department, Da nang University of Science and Technology, The University of Da nang*

### SUMMARY

The Src family kinases (SFKs) plays a crucial role in the signal transduction pathways involved in cell proliferation and migration in both normal and cancer cells. Our previous work has shown that Src-family tyrosine kinases c-Src and its closest phylogenetic relative, Yes-1, regulate Fas phosphorylation and present in a complex with Fas and EGFR, suggesting separate functions in the regulation of Fas/EGFR signaling. Herein, we use SW480 cells to test the hypothesis that c-Src and Yes-1 act in biological opposition to regulating Fas/EGFR signaling. We report that EGF stimulation induces differently the expression and distribution of c-Src and Yes-1 in cytoplasm and nuclei of SW480 cells. c-Src and Yes-1 are opposite in regulation the activation of Stat3 and play a different role in controlling cell migration and proliferation. This study shows that even closely related kinases such as c-Src and c-Yes have unique and opposing functions in the same cell type. These findings underline the importance of separating C-Src and Yes-1 signaling pathways for selecting specific inhibitors of c-Src and Yes-1, two important targets for cancer treatment.

**Keywords:** C-Src, EGFR, cancer, siRNA, STAT3, Yes-1.