



## Doctoral Thesis

# Identification and characterization of the genetic interaction between the polarity gene *par-1* and the MAP kinase pathway in the *C. elegans* embryo

**Author(s):**

Spilker, Annina Constanze Julia

**Publication Date:**

2007

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005561103> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 17457

**Identification and Characterization of the Genetic Interaction  
between the Polarity Gene *par-1* and the MAP Kinase Pathway  
in the *C. elegans* Embryo**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

Annina Constanze Julia Spilker

Diplom Biologin, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

24.05.1978

Germany

accepted on the recommendation of

Examiner	Prof M Gotta
Co-examiners	Prof M Affolter
	Prof Y Barral
	Prof F Schweisguth

2007

## Zusammenfassung

Die asymmetrische Zellteilung ist einer der essentiellen Prozesse, die die Generierung einer Vielzahl unterschiedlicher Zellen, wie wir sie in Vielzellern finden, ermöglichen. Die Mechanismen zu verstehen, die eine asymmetrischen Zellteilung ermöglichen, ist daher eines der grundlegenden Ziele der Entwicklungsbiologie. Zwei Anforderungen müssen erfüllt werden, damit eine Zelle sich asymmetrisch teilen kann: Zuerst muss die Zelle polarisiert werden, indem verschiedene Faktoren ungleichförmig in der Zelle verteilt werden. In einem darauffolgenden Schritt muss die Ebene, in der die Zellteilung erfolgt, mit der Polarisationsachse der Zelle koordiniert werden, so dass zwei verschiedene Zellen entstehen.

Die Zygote des Fadenwurms *Caenorhabditis elegans* teilt sich asymmetrisch und ist ein Model, das häufig verwendet wird um die Prozesse der asymmetrischen Zellteilung zu untersuchen. Für die asymmetrische Zellteilung sowie für die korrekte Entwicklung des Embryos von *C. elegans* werden die konservierten PAR Proteine benötigt. Eines dieser PAR proteine, PAR-1, ist eine hoch konservierte Serin Threonin Kinase. Der Verlust der Funktion des Gens *par-1* führt zu Defekten in der Positionierung der mitotischen Spindel und zu Defekten in der asymmetrischen Verteilung von Faktoren, die für die differentielle Entwicklung der Tochterzellen nötig sind. Eine weitere Folge des Verlust der Funktion des Gens *par-1* ist außerdem die verringerte Lebensfähigkeit der Embryonen. Obwohl einige Faktoren, die für die Rolle von PAR-1 in der asymmetrischen Zellteilung benötigt werden, bereits bekannt sind, ist noch unklar durch welche molekularen Mechanismen PAR-1 die asymmetrische Teilung einer Zelle ermöglicht.

In der hier vorliegenden Studie haben wir mit Hilfe eines auf RNAi-basierenden Screens nach Genen gesucht, die mit dem Gen *par-1* interagieren. In diesem Screen haben wir Kandidaten selektiert, die die Lethalität der Embryonen einer Temperatur-sensitiven Mutante von *par-1* herabsetzen. Diese Methode führte zur Identifizierung des Gens *mpk-1*, das eine Kinase der MAP Kinase Familie kodiert. Die Kinase MPK-1 spielt eine zentrale Rolle in einem hoch konservierten Signaltransduktionsweg, dem MAP Kinase Signalweg, der essentiell ist für verschiedene Entwicklungsschritte im Leben des Fadenwurms. Die Aktivität der Kinase MPK-1 wird, unter anderem, für die korrekte, differentielle Entwicklung der Tochterzellen des Embryos oder der Vorläuferzellen der Vulva benötigt. Vorausgegangene Publikationen haben interessanterweise gezeigt, dass *par-1* während der Entwicklung der Vulva entgegengesetzt zum MAP Kinase Signaltransduktionsweg wirkt. Außerdem wurde vorgeschlagen, dass eine PAR-1-verwandte Kinase den MAP Kinase Signaltransduktionsweg in Säugetierzellen negativ reguliert.

Wir haben daher die Hypothese aufgestellt, dass PAR-1 im Embryo des Fadenwurms *C. elegans* gleichfalls dafür benötigt wird, den MAP Kinase Signaltransduktionsweg negativ zu regulieren. In Übereinstimmung mit dieser Hypothese haben wir gezeigt, dass die Lethalität der Embryonen einer *par-1* Mutante durch die Verminderung der Funktion von *mpk-1* oder durch die Verminderung der Funktion anderer Gene des MAP Kinase Signaltransduktionsweges herabgesetzt wird. Anhand der Analyse der Aktivität von MPK-1 in Extrakten von Embryonen konnten wir außerdem zeigen, dass PAR-1 tatsächlich benötigt wird, um die Kinase MPK-1 negativ zu beeinflussen. Um zu klären, ob sich diese negative Regulation auf die totale Menge an MPK-1 im Embryo oder auf die Regulation der Aktivität der Kinase auswirkt, werden jedoch weitere Experimente erforderlich sein.

Bemerkenswerterweise zeichnen sich *mpk-1; par-1* Doppelmutanten im Vergleich mit der *par-1* Mutante nicht nur durch eine geringere Lethalität, sondern auch durch weniger starke Defekte auf zellulärer Ebene aus. Dies weist darauf hin, dass *mpk-1* eine Rolle bei der asymmetrischen Zellteilung spielt. Aufgrund der hier dargestellten Resultate schlagen wir vor, dass PAR-1 den MAP Kinase Signaltransduktionsweg im Embryo von *C. elegans* negativ reguliert, um so die korrekte asymmetrische Teilung von Zellen zu ermöglichen und die richtige Entwicklung des Embryos sicherzustellen.

## Summary

Asymmetric cell division is an essential process in the generation of cellular diversity in metazoans. Understanding this process is therefore one of the major challenges in developmental biology. Cells undergoing asymmetric division must polarize and segregate determinants, as well as orient their mitotic spindle along the axis of polarity in order to ensure the generation of two different cells.

The one-cell embryo of *C. elegans* divides asymmetrically along its antero-posterior axis and is an excellent model system to study asymmetric cell division. The conserved PAR (partitioning defective) proteins are required for asymmetric cell division and the faithful development of the embryo. One of these PAR proteins is the highly conserved serine threonine kinase PAR-1. Loss of *par-1* function leads to defects in spindle positioning, aberrant sorting of cell fate determinants and embryonic lethality. Even though some components that act downstream of *par-1* in asymmetric cell division are known, the precise mechanisms by which *par-1* fulfils these functions remain elusive.

To gain a better understanding of the mechanisms of *par-1* action, we performed a genome-wide, RNAi-based screen for genetic interactors of a temperature sensitive allele of *par-1*. For this screen, we chose the suppression of the embryonic lethal phenotype of *par-1* mutant embryos as a read-out. Using this method, we identified *mpk-1*, encoding a mitogen activated protein kinase, as a suppressor of *par-1*. MPK-1 is the central kinase of the highly conserved MAP kinase signalling pathway. This pathway is required for different developmental processes in *C. elegans*, including cell fate determination in the embryo and in the vulva precursor cells. Interestingly, *par-1* has been shown previously to act antagonistically to MAP kinase signalling in vulval development. Moreover, a PAR-1-like kinase in mammalian cells has been proposed to negatively regulate MAP kinase signalling. We thus hypothesized that PAR-1 is likewise required in the early embryo to down-regulate MAP kinase signalling and ensure cell polarity. Consistent with this, we found that reduction of function of *mpk-1* as well as several genes in the MAP kinase pathway can restore viability of the progeny of the temperature sensitive mutant of *par-1*. Moreover, by assessing the levels of activity of MPK-1 in embryonic extracts, we could show that PAR-1 function is indeed required to negatively regulate either MPK-1 levels or MPK-1 activity. Importantly, cellular phenotypes reported previously for *par-1* mutant embryos were suppressed in *mpk-1*; *par-1* double mutant embryos, indicating that *mpk-1* is indeed involved in asymmetric cell division. Based on these results, we propose a model in which PAR-1 negatively regulates MAP kinase signalling in the early embryo in order to ensure faithful segregation of cell fate determinants and thus embryonic development.