



**ΧΗΜΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ**

INTERDEPARTMENTAL PROGRAM  
OF POSTGRADUATE STUDIES | MSc  
CHEMISTRY - PHARMACY - MEDICINE

**CHEMICAL BIOLOGY**

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ | MSc  
ΧΗΜΕΙΑ - ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ - ΙΑΤΡΙΚΗ



## Σεμινάριο επισκόπησης ερευνητικού πεδίου στο πλαίσιο του μαθήματος "Ερευνητική Μεθοδολογία"

**Ομιλητής:** Καλιάτση Ελένη

**Τίτλος:** Μελέτες της ενδοκυττάριας έκφρασης και εντοπισμού της πρωτεΐνης La στην έκφραση ρυθμιστικών μορίων RNA και γονιδίων του κυτταρικού κύκλου στον καρκίνο του πνεύμονα

**Επιβλέπων καθηγητής:** Σταθόπουλος Κωνσταντίνος, Καθηγητής

**Ημερομηνία:** Πέμπτη, 8 Σεπτεμβρίου 2016

**Ώρα:** 12:00-12:30

**Χώρος:** Αίθουσα XB1, Τμήμα Χημείας

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρωτεΐνη La είναι μία σημαντική πρωτεΐνη η οποία περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1974 ως αυτοαντιγόνο στον ορό ασθενών που έπασχαν από συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (systemic lupus erythematosus) και σύνδρομο Sjögren. Δεσμεύεται σε μία πληθώρα σημαντικών μορίων RNA, κυρίως μεταγράφων της RNA πολυμεράσης III (U6 snRNA, pre-tRNA, pre-5S rRNA) και λειτουργεί ως ικρίωμα για την ορθή αναδίπλωσή τους, προστατεύοντάς τα παράλληλα από την εξωνουκλεολυτική αποικοδόμηση. Η La αναγνωρίζει και συνδέεται μέσω της χαρακτηριστικής αλληλουχίας UUU<sub>OH</sub> που υπάρχει στο 3' άκρο των μεταγράφων. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι μπορεί να δεσμεύεται σε μία πληθώρα κυτταρικών και ιϊκών mRNAs ρυθμίζοντας τη μετάφρασή τους. Τα περισσότερα mRNAs στα οποία προσδέεται η La περιέχουν εσωτερικές θέσεις δέσμευσης του ριβοσώματος και έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης (Internal Ribosome Entry Sites, IRES) και κωδικοποιούν πρωτεΐνες απαραίτητες για την επιβίωση των κυττάρων σε συνθήκες στρες. Πρόσφατες μελέτες έχουν αποκαλύψει την παρέμβαση της πρωτεΐνης La στις διαδικασίες της έκφρασης των miRNA και μιας νέας κατηγορίας μικρών ρυθμιστικών μορίων RNA που προέρχονται από μόρια tRNAs και ονομάζονται tRFs (tRNA-derived RNA fragments). Μελέτη σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές αποκάλυψε πως η έκφραση των miRNA προάγεται από την πρωτεΐνη La η οποία δεσμεύεται στη δομή στελέχους-βρόχου των πρόδρομων μορίων miRNA (pre-miRNA) και τα προστατεύει από τη νουκλεολυτική αποικοδόμηση. Ωστόσο, σταθερά τμήματα διαφόρων μεγεθών που προέρχονται από τα μόρια tRNA (tRNA derived RNA fragments, tRFs), έχουν εντοπιστεί τα τελευταία χρόνια. Τα τμήματα αυτά φαίνεται να προέρχονται από τη δράση ενδονουκλεασών τόσο στα ώριμα όσο και στα πρόδρομα μόρια tRNA. Έχει βρεθεί ότι τα θραύσματα tRNA (tRFs), απουσία της πρωτεΐνης La, συμμετέχουν σε σύμπλοκα με πρωτεΐνες Ago. Έτσι, La λειτουργεί ως φύλακας για την εξασφάλιση της σωστής ωρίμανσης του tRNA και την προστασία του μονοπατιού miRNA από τα θραύσματα tRNA.

Στο πλαίσιο της εργασίας αυτής, θα πραγματοποιηθεί κλωνοποίηση του γονιδίου που κωδικοποιεί την ανθρώπινη πρωτεΐνη σε πλασμιδιακό φορέα που επιτρέπει την έκφραση της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης σε σύντηξη με GFP, ο ανασυνδυασμένος φορέας θα εισαχθεί σε ευκαρυωτικά καρκινικά κύτταρα πνεύμονα A549 και να μελετηθεί η έκφραση της πρωτεΐνης La και ο ενδοκυττάριος εντοπισμός της κάτω από συνθήκες στρες. Κάτω από τις ίδιες συνθήκες, θα μελετηθεί πως αυτή επηρεάζει την έκφραση ρυθμιστικών μορίων RNA και συγκεκριμένα των mir-518e-3p και mir-520g-5p τα οποία έχει βρεθεί να υπερεκφράζονται σε καρκινικές σειρές πνεύμονα, και του tRF-1001 που αντιστοιχεί στο tRNA<sup>Ser</sup>, του οποίου η έκφραση έχει ανιχνευθεί δέκα φορές μεγαλύτερη σε καρκινικές κυτταρικές σειρές πνεύμονα. Τέλος, θα μελετηθεί κατά πόσον η πρωτεΐνη επηρεάζει την έκφραση σημαντικών γονιδίων του κυτταρικού κύκλου όπως p53, mdm2, CcnD1.