

«Η διερεύνηση του ρόλου του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p21/waf1 κατά το «stress» του ενδοπλασματικού δικτύου.»

Χ. Μιχαηλίδου, Α. Παπαβασιλείου, Ι. Κιάρης

Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε καταστάσεις «stress» το ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ) ενεργοποιεί ένα σύνθετο βιοχημικό μονοπάτι απόκρισης γνωστό ως UPR (Unfolded Protein Response) κατά το οποίο παρατεταμένο και έντονο «stress» οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση. Φαίνεται ότι ο μεταγραφικός παράγοντας chop/GADD153 επάγεται σε συνθήκες στρες του ΕΔ ενεργοποιώντας γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση. Από την άλλη πλευρά, παράγοντες όπως το p21/waf1 προστατεύουν το κύτταρο αποτρέποντας την απόπτωση καθλώνοντας το κύτταρο στη G1 φάση του κυτταρικού κύκλου.

ΣΚΟΠΟΣ

Στη συγκεκριμένη μελέτη αξιολογήθηκαν ο ρόλος του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p21/waf1 και η πιθανή ρύθμιση του από το μεταγραφικό παράγοντα chop/GADD153 υπό συνθήκες στρες του ΕΔ.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πραγματοποιήθηκαν *in vitro* πειράματα σε εμβρυικούς ινοβλάστες μύων (MEFs) αγρίου τύπου (wt) και chop knockout (αποσιώπηση του γονιδίου chop). Η επαγωγή «stress» του ΕΔ έγινε εφικτή μετά τη χορήγηση του αντιβιοτικού τουνικαμυκίνη 5 μg/ml (αναστολή της γλυκοσιλίωσης των πρωτεϊνών). Επιπρόσθετα, έγινε διαμόλυνση των κυττάρων MEFs wt καθώς και των A549 (καρκινικά κύτταρα πνεύμονα) με πλασμίδιο που εκφράζει το cDNA του CHOP. Τέλος, σε κύτταρα MEFs wt και chop knockout έγιναν διαμολύνσεις (transfections) με siRNA με συνέπεια την καταστολή των επιπέδων mRNA της p21 και έτσι μελετήθηκε η βιωσιμότητα τους.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η φαρμακολογική επαγωγή του στρες του ΕΔ με τουνικαμυκίνη προκαλεί καταστολή των μεταγραφικών και μεταφραστικών επιπέδων της p21 (Fig1,3). Το chop επάγεται από το παρατεταμένο «stress» του ΕΔ προκαλώντας μείωση των επιπέδων της p21 η οποία είναι απαραίτητη προκειμένου να οδηγηθούν τα κύτταρα σε απόπτωση (Fig2). Τέλος, η καταστολή της p21 φαίνεται να αποκαθιστά την ευαισθησία των chop knockout στην τουνικαμυκίνη συγκριτικά με τα αγρίου τύπου κύτταρα. (Fig4)

Fig1: Καταστολή της έκφρασης p21 κατά τη διάρκεια του στρες ER

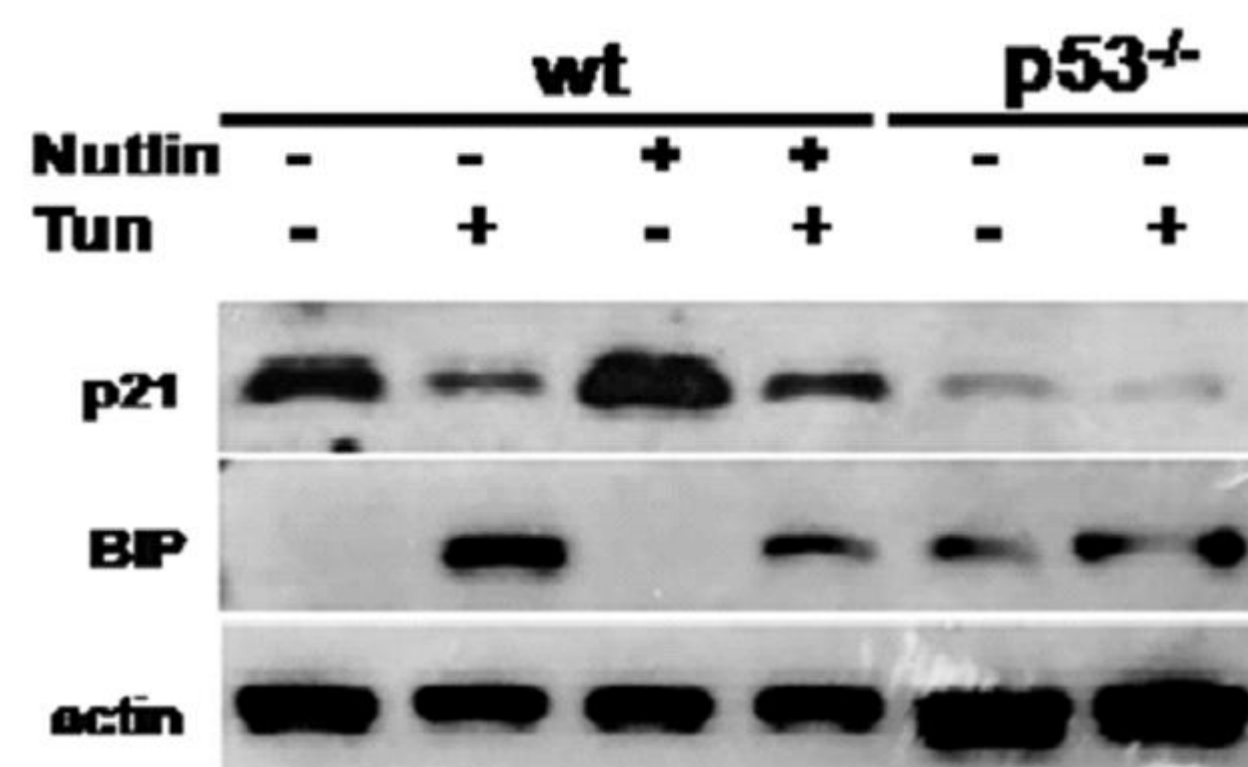


Fig2: Το CHOP καταστέλλει την έκφραση του p21 (a) σε ινοβλάστες (MEFs) και σε (b) καρκινικά κύτταρα πνεύμονα

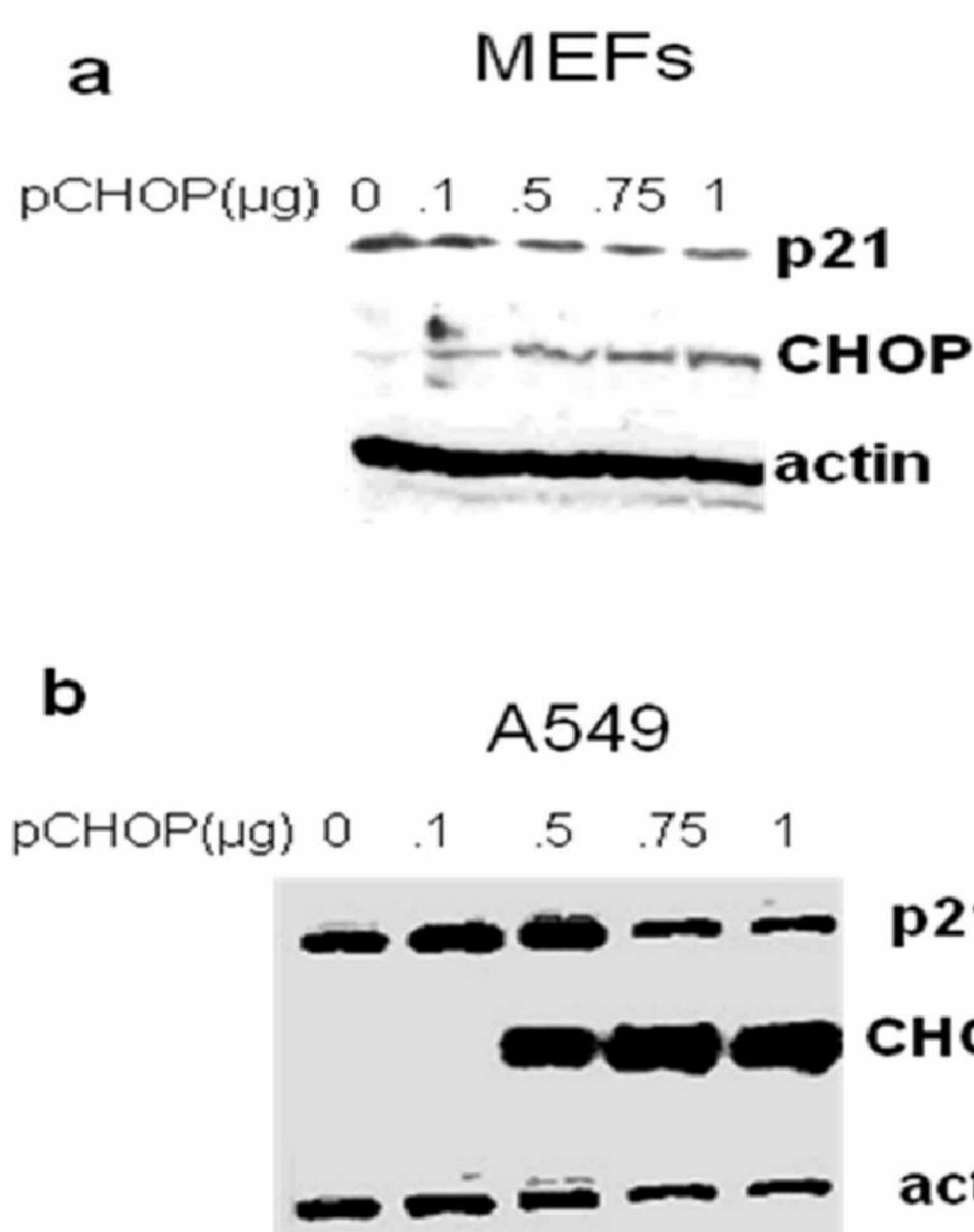


Fig3: Καταστολή της έκφρασης του p21 σε αγρίου τύπου (MEFs), αύξηση της έκφρασης του p21 σε chop knockout

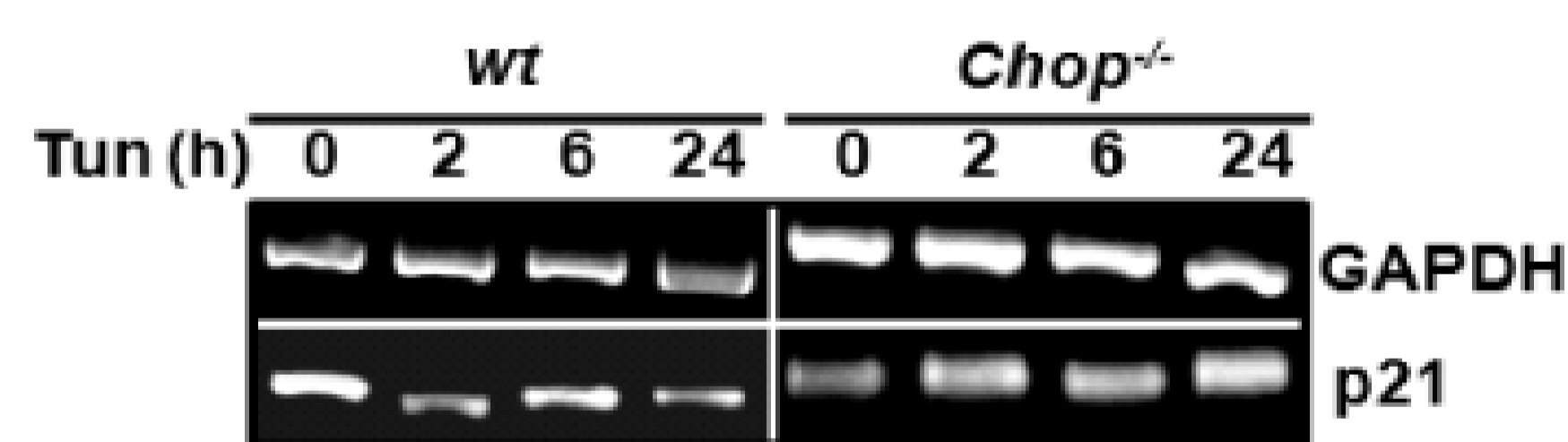
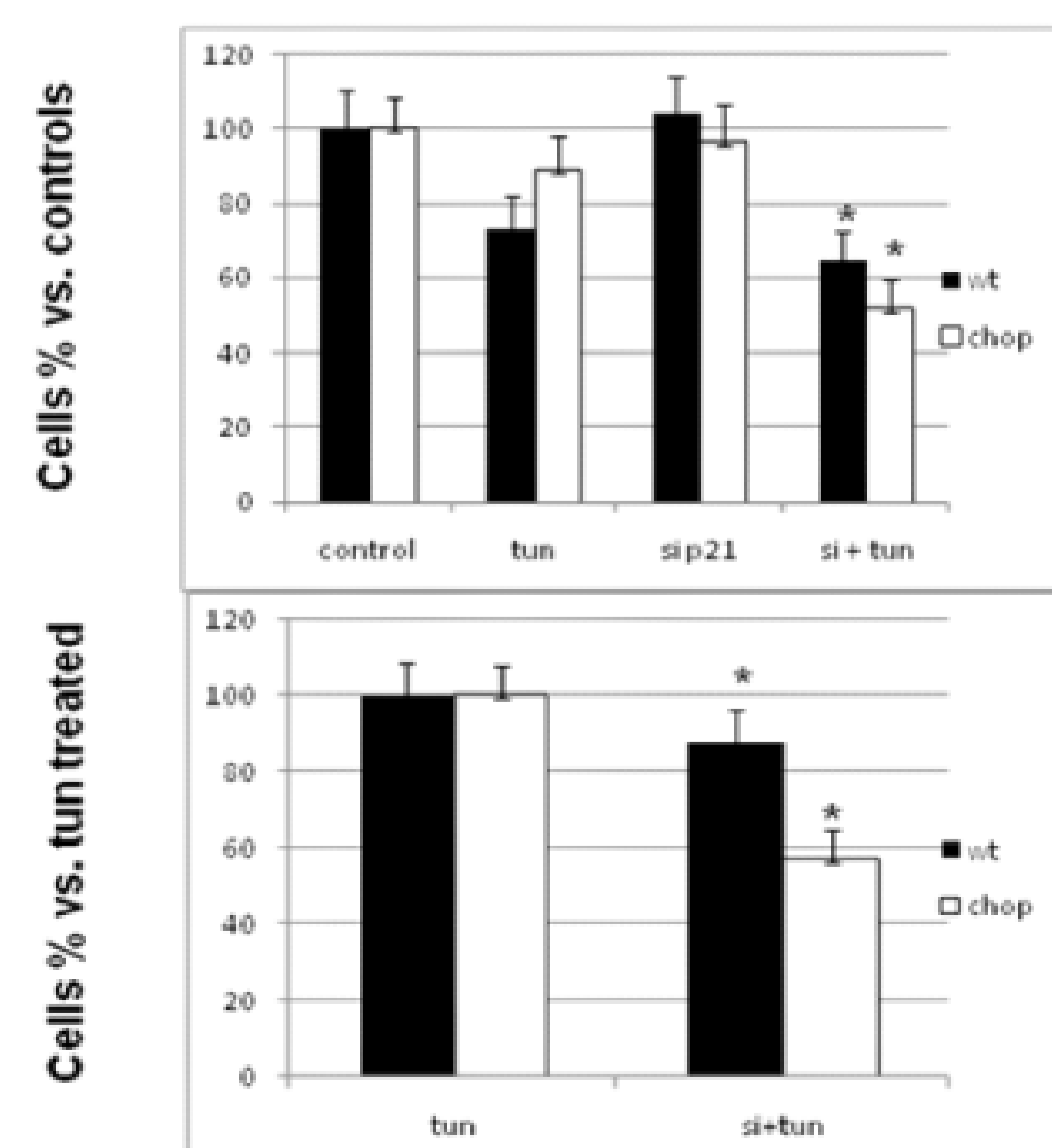
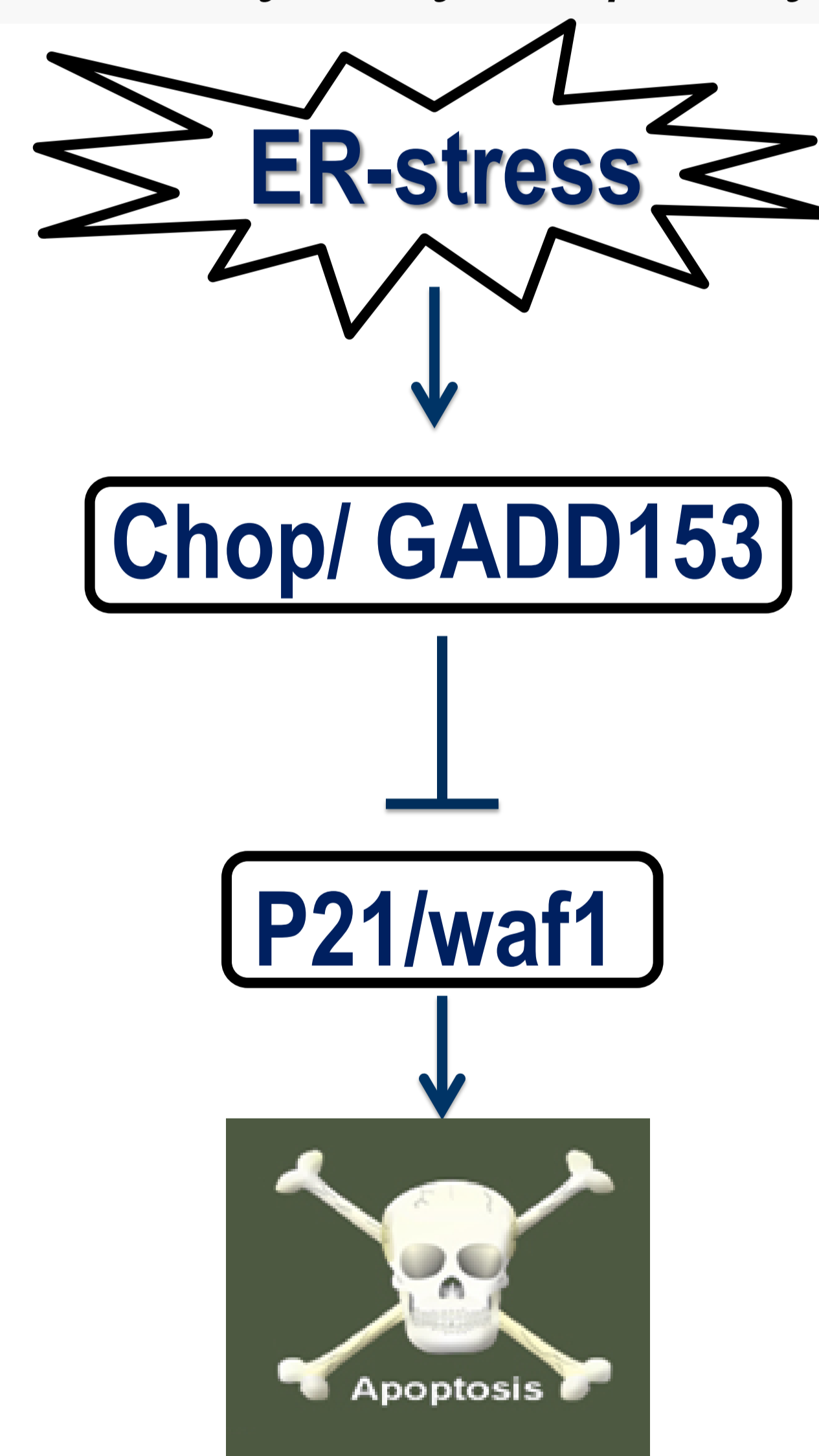


Fig4: Η καταστολή της p21/waf1 σε chop knockout κύτταρα αποκαθιστά την ευαισθησία στην τουνικαμυκίνη.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Φαίνεται ότι το CHOP σχετίζεται με την αντιαποπτωτική δράση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p21/waf1 κατά τη διάρκεια «stress» του ΕΔ. Το p21/waf1 εμπλέκεται στη ρύθμιση του ενδογενή αντισταθμιστικού κυτταρικού μηχανισμού (UPR) αναστέλλοντας την επαγωγή της απόπτωσης. Επομένως, η μελέτη προσθέτει δεδομένα για το ρόλο του chop/GADD153 στη μετάβαση από τη φάση επιβίωσης στην προ-αποπτωτική κατάσταση δεδομένου ότι η διαταραχή της ισορροπίας αυτής σχετίζεται με παθολογικές καταστάσεις όπως ο καρκίνος.



Διαγραμματική παρουσίαση του προτεινόμενου ρόλου της p21 κατά τη διάρκεια «stress» του ΕΔ.

References

- [1] CHOP-dependent Regulation of p21/waf1 During ER Stress Mihailidou C, Papazian I, Papavassiliou AG, Kiaris H. Cell Physiol Biochem. 2010;25(6):761-6. [2] Wang XZ, Lawson B, Brewer JW, Zinszner H, Sanjay A, Mi LJ, Boorstein R, Kreibich G, Hendershot LM, Ron D. Signals from the stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153). Mol Cell Biol 1996;16:4273-4280. [3] Malhotra JD, Kaufman RJ. The Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response. Sem Cell Dev Biol 2007;18:716-731.

Acknowledgements

Η παρούσα μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το ερευνητικό πρόγραμμα ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ II του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών - MIS: 346942.