

A PRINS nem-kódoló RNS kifejeződésének és együtttható partnerének tanulmányozása

Göblös Anikó¹, Szegedi Krisztina¹, Bacsa Sarolta¹,
Bata-Csörgő Zsuzsanna^{1,2}, Kemény Lajos^{1,2}, Széll Márta^{2,3}

1. SZTE-ÁOK, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged
2. MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged
3. SZTE-ÁOK Orvosi Genetikai Intézet, Szeged

MDT, Budapest
2012. december 7.

Pikkelysömör

Hiperproliferatív, gyulladásos bőrbetegség

- Heterogén genetikai faktorok
 - Környezeti tényezők
- } Betegség kialakulása

Kaukázusi populáció 2-3%-át érinti

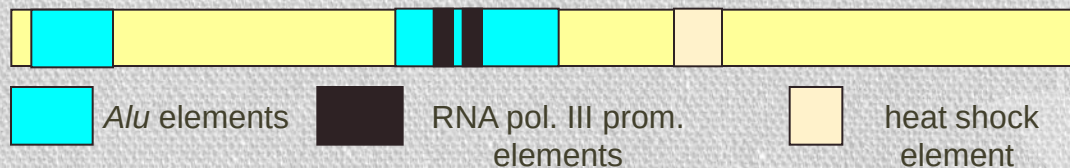
(OMIM 177900, www.ncbi.nlm.nih.gov)

T-sejt limfokinek szerepe (Bata et al., 1995)



PRINS gén azonosítása

- Differential Display Analyzis
- Psoriasis Susceptibility-related RNA Gene Induced by Stress
- Funkcionális, hosszú, nem-kódoló RNS
- *In silico* transzláció: nem eredményezett fehérjeterméket



- Szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakításában
- Szerepet játszik a sejtek stressz-regulációjában

Sonkoly et al. 2005

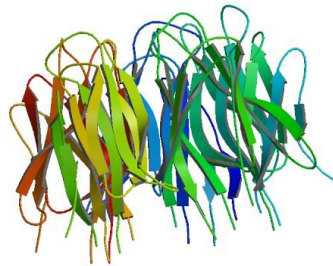
PRINS ncRNS interakciós partner vizsgálata

In vitro binding assay

Speciális ribonukleoprotein (RNP) tisztító KIT

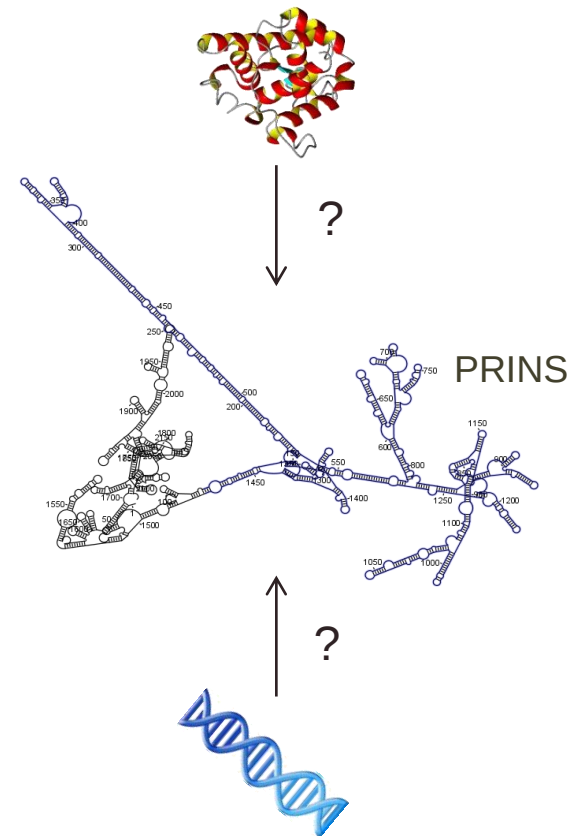
SDS-PAGE → MALDI-TOF

**Nucleophosmin
(NPM, B23)**



http://www.pdb.org/pdb/images/2p1b_bio_r_500.jpg?bioNum=2

(Szege di et al., 2009)



Nucleophosmin (NPM, B23, numartin)

A nucleophosmin egy multifunkcionális foszfoprotein

A nucleophosmin számos sejtműködési folyamatban részt vesz:

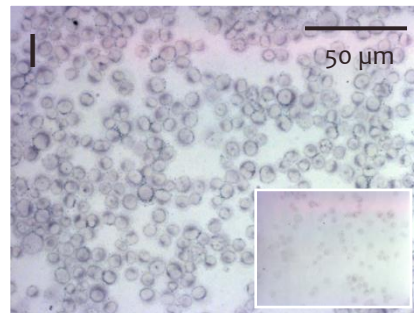
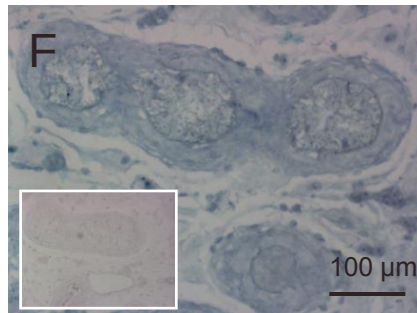
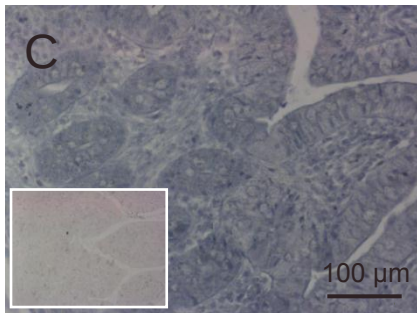
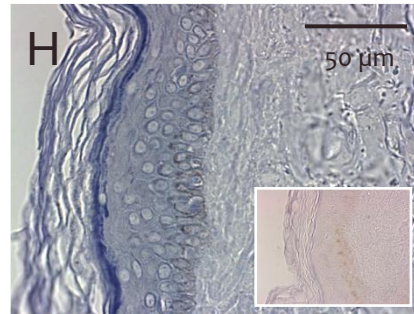
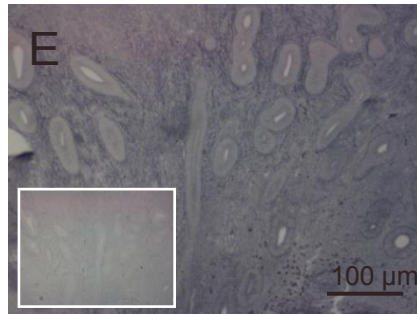
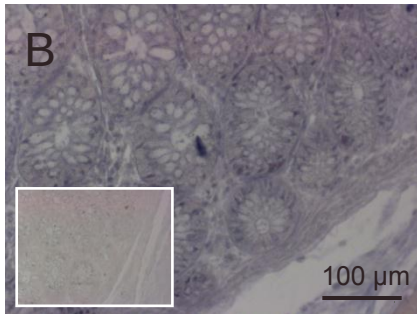
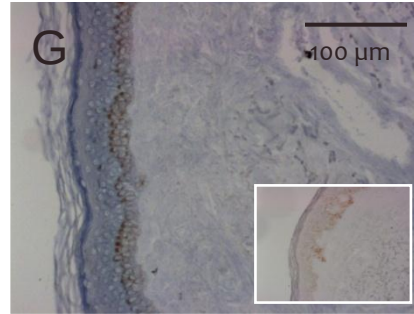
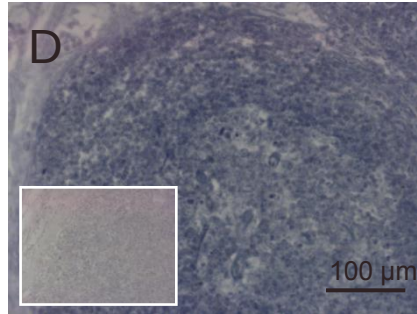
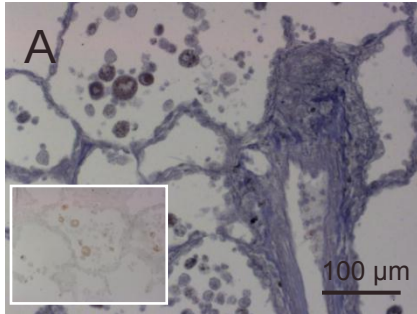
- Riboszóma biogenezis
- Sejt proliferáció
- Stresszreguláció
- Genom stabilitás
- Tumor szupresszor gének szabályozása
- Transzkripció szabályozás

Expressziója számos daganatban upregulált

Célkitűzés

- A PRINS ncRNS szöveti- és sejtbeni eloszlásának vizsgálata *In Situ* Hibridizációs technikával
- A PRINS ncRNS és NPM interakció funkcionális vizsgálata
 - NPM transzlokáció nyomonkövetése UV-B sugárzás hatására humán keratinocitákban
 - PRINS ncRNS hatása a NPM transzlokációjára UV-B kezelt keratinocitákban

PRINS RNS szöveti és sejtszintű eloszlása



A. Tüdő

B. Vékonybél

C. Vastagbél

D. Nyirokcsomó

E. Méhlepény

F. Here

G. Bőr

H. Bőr

I. Keratinocita

NPM lokalizáció

A nucleophosmin főként a magvacskában található

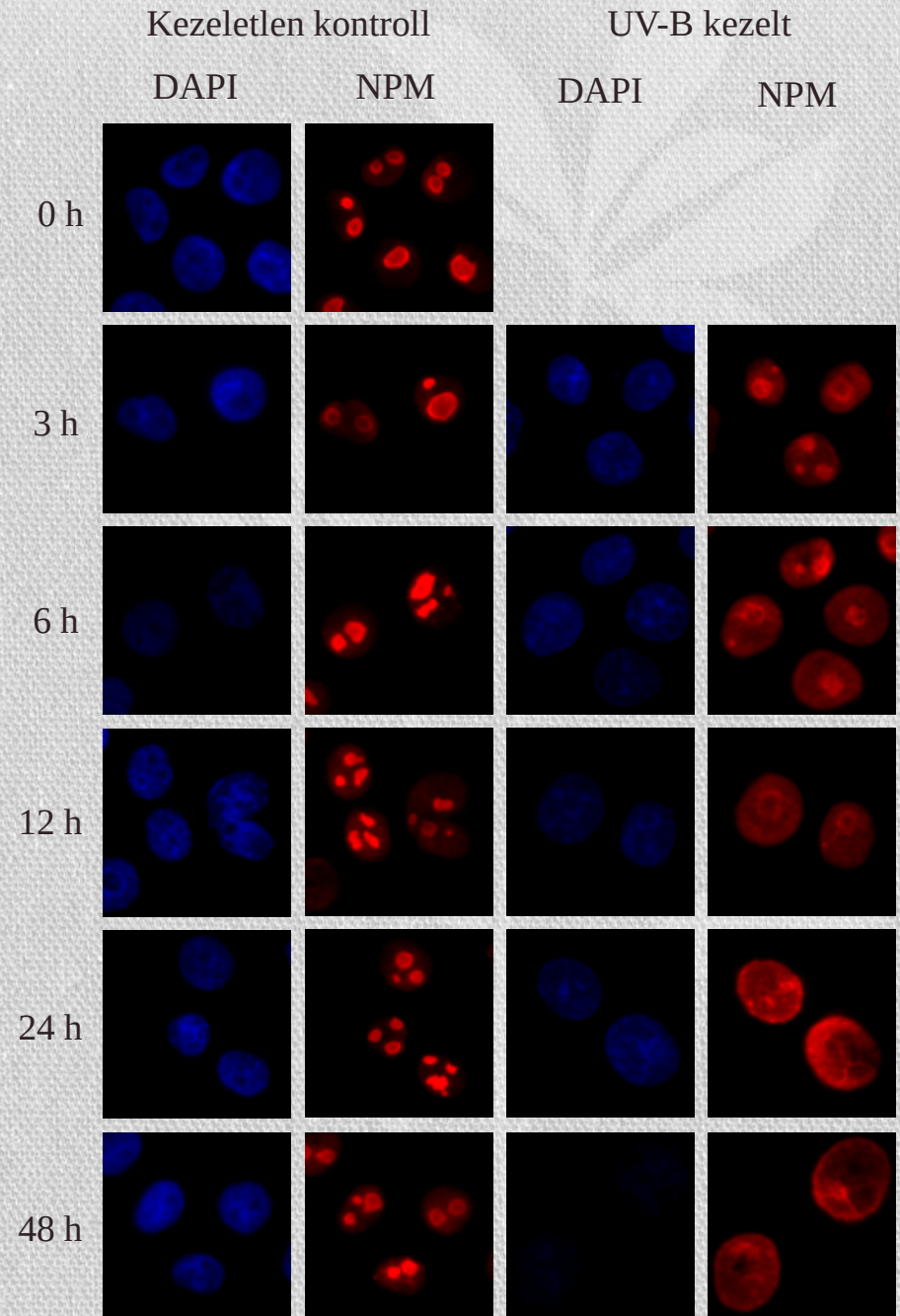
(Cordell et al, 1999)

UV-B sugárzást követően a NPM a magplazmába transzlokálódik → fibroblaszt, tumor sejtvonal

(Yogev et al, 2008)



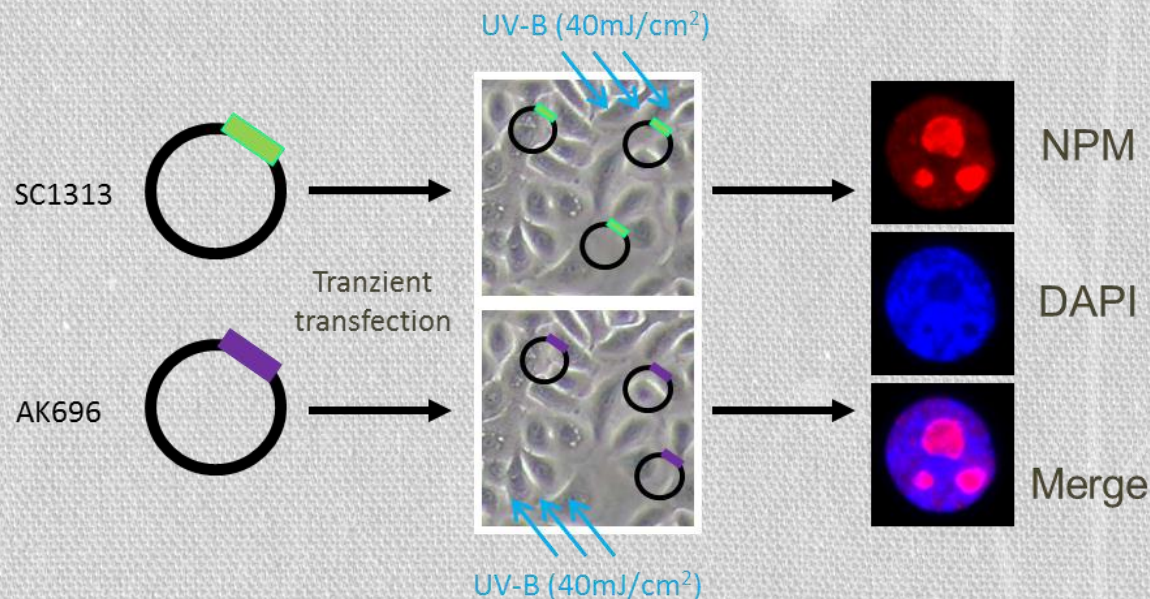
A fehérje elhelyezkedésének vizsgálata natív és UV-kezelt humán keratinocitákban (NHEK, HPV-Ker immortalizált sejtvonal)



PRINS-NPM interakció funkcionális vizsgálata

Gén-specifikus csendesítés:

- PRINS csendesítő konstrukció: AK696
- Scrambled kontroll konstrukció: SC1313



NPM lokalizáció

Immuncitokémia

PRINS gén-specifikus
csendesítés (HPV-Ker
immortalizált sejt vonal)

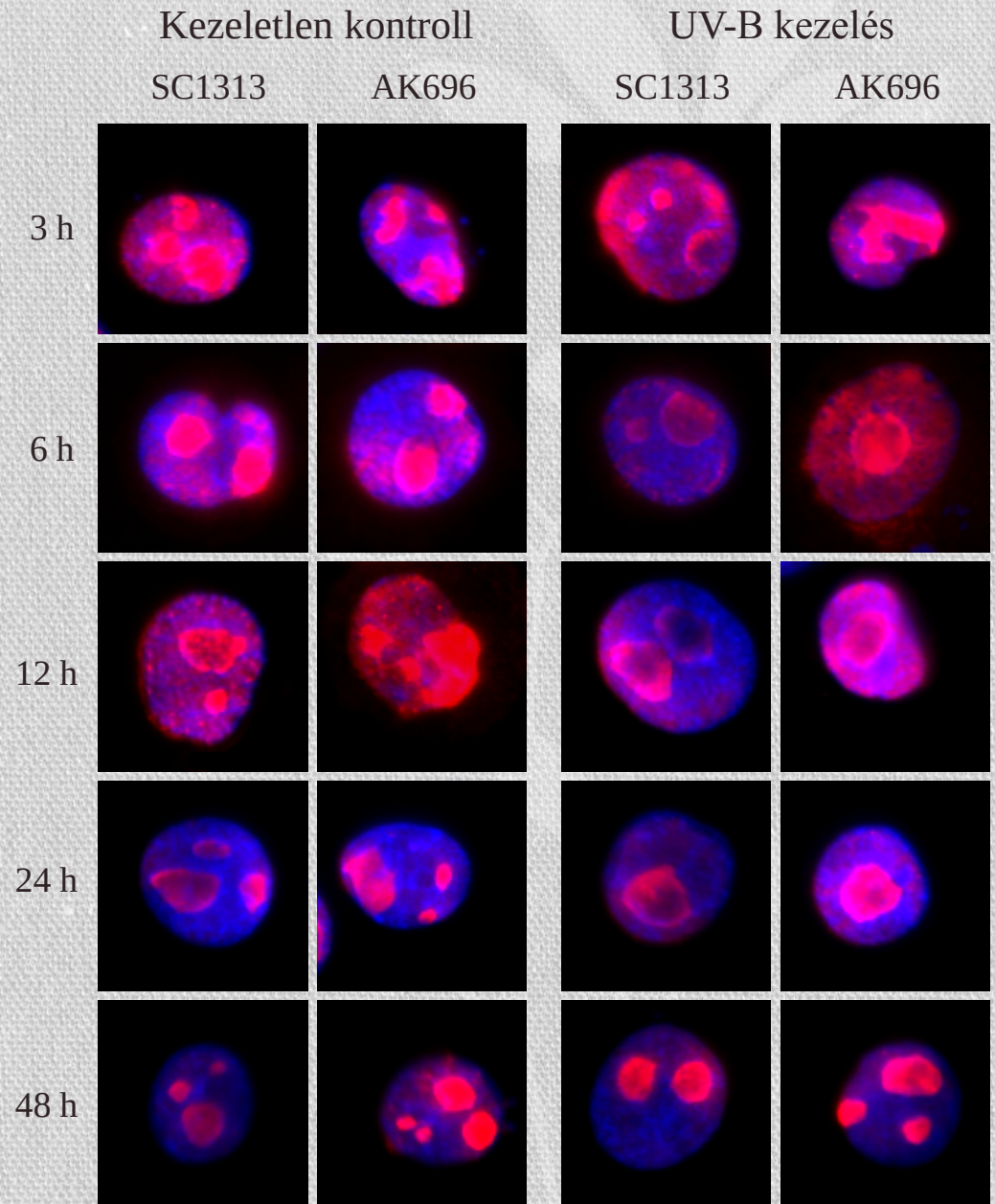


Kontroll körülmény

UV-B besugárzás

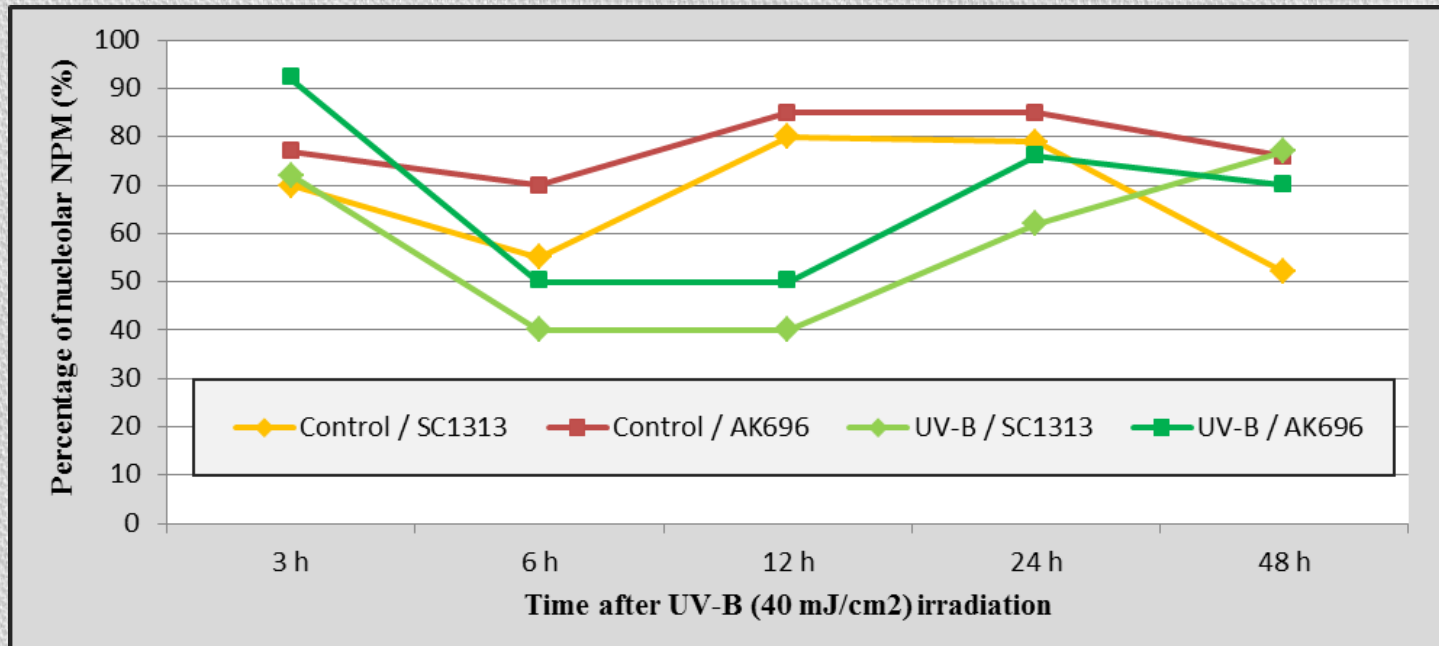


A fehérje sejten belüli
elhelyezkedésének
vizsgálata



NPM lokalizáció

Szemikvantitatív analízis



25 látótér/csoport megszámolása;

NPM elhelyezkedés alapján

Összefoglalás

- A PRINS ncRNS szerepet játszik a pikkelysömörre való hajlam kialakulásában, valamint a sejtek stressz regulációjában, csakúgy, mint általunk azonosított interakciós partnere, a NPM fehérje
- Eredményeink arra utalnak, hogy a PRINS ncRNS számos szövetben kifejeződik; kifejeződésének mértéke nagy eltéréseket mutat
- UV-B besugárzott keratinocita sejtekben az intracelluláris NPM lokalizációs mintázat jól korrelál az irodalomban fellelhető adatokkal
- PRINS génspecifikus csendesítés UV-B besugárzott sejtekben hatással van a NPM sejtmagon belüli elhelyezkedésére, tehát mind fizikai, mind funkcionális kapcsolat fennáll PRINS és NPM között
- Elképzelhető, hogy a PRINS szerepet játszik a sejtek NPM-mediált stressz válaszban

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!



Prof. Dr. Kemény Lajos

Dr. Széll Márta

Dr. Szabó Kornélia

Dr. Bebes Attila

Dr. Vas Krisztina

Tax Gábor