

Ainhoa Eriz¹, Gartzte Mentxaka¹, Ainhoa Iglesias-Ara¹, Jone Mitxelena^{1,2}, Ana M^a Zubiaga¹

¹Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU; ²IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao

ainhoa.eriz@ehu.es

Uneko egoera eta ikerketaren helburua

Metastasiaren prozesuan, epitelio-mesenkima trantsizioak (EMT) ahalbidetzen du minbizi-zelulak jatorrizko ehunetik askatzea eta, ehun sekundarioetara migratuz, tumore berriak bertan sortzea. Epitelio-Mesenkima Trantsizioan zehar, zelula epitelialek haien polaritatea eta atxikitze gaitasuna galdu eta migrazio eta inbasio gaitasuna eskuratzeko, mesenkimal bihurtuz. EMTak minbiziaren, eta bereziki metastasiaren, duen garrantzia kontuan edukita, prozesu honen transkribapen mailako erregulazioaren azterketan zentratu gara lan honetan. Helburu nagusia E2F transkribapen faktoreek EMTaren transkribapen mailako erregulazioarako dituzten mekanismo molekularrak aztertzea izan da, bereziki SLUG markatzaile mesenkimalaren adierazpenean zentratuz.

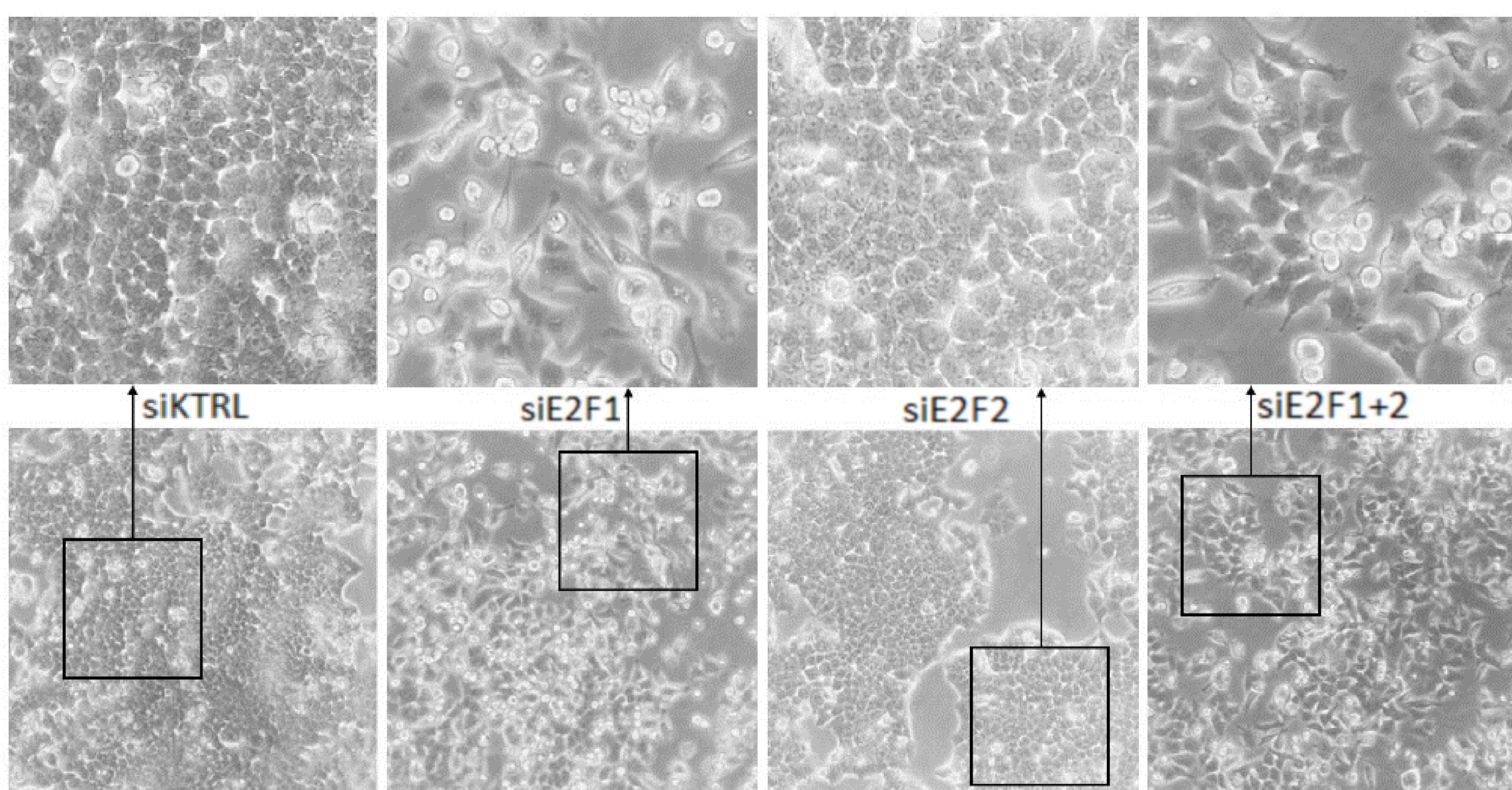
Oinarri metodologikoak

Ondeste kartzinoma lerro-zelularra

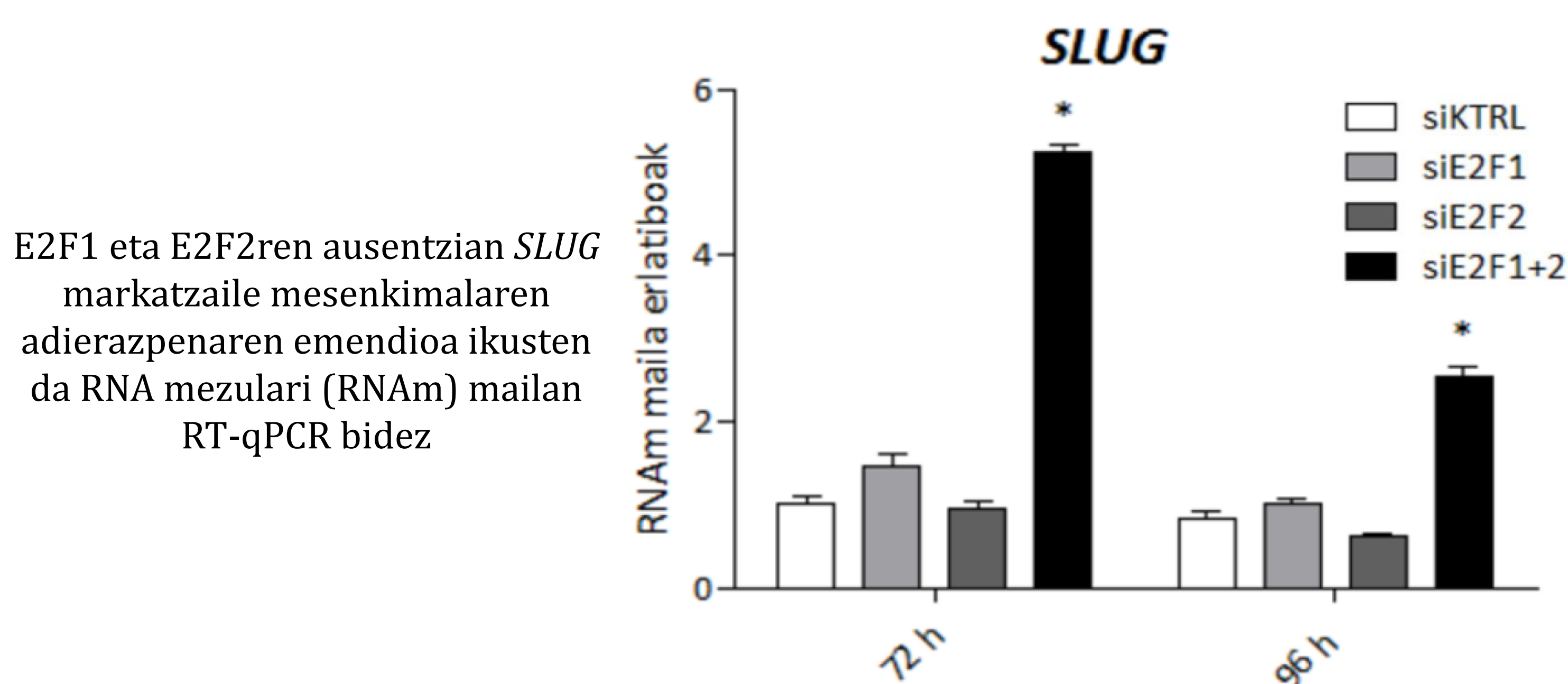
- Fenotipo mesenkimalaren azterketa
- RNA mezulari mailako geneen adierazpenearen analisia
- Proteina mailako adierazpen azterketa
- Promotorearen aktibitatearen analisia

Interferentziarazko RNA txiki (siRNA) bidezko gene isilarazpena (E2F1 edo/eta E2F2)

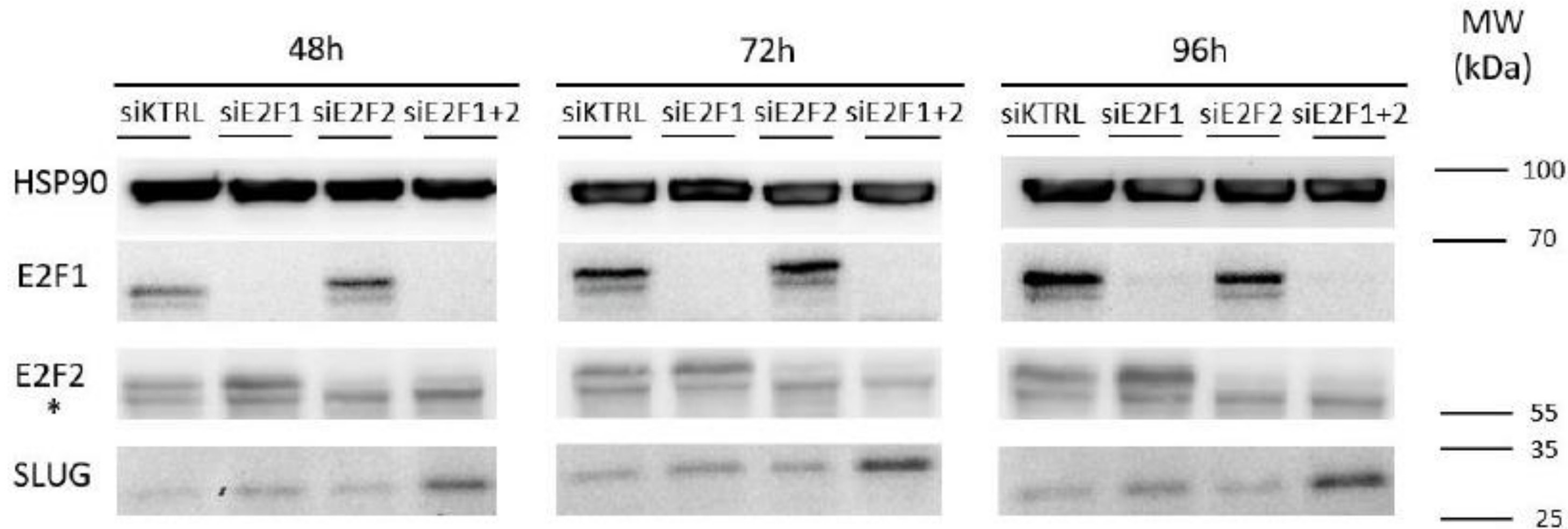
E2F1 eta E2F2ren galerak EMT fenotipoa eta SLUG markatzaile mesenkimalaren adierazpena indusitzen du



Mikroskopia optiko bidez aztertutako ondeste kartzinomako lerro zelularrean E2F1 eta E2F2 geneen isilarazpenak fenotipo mesenkimala eskuratzeko eragiten du

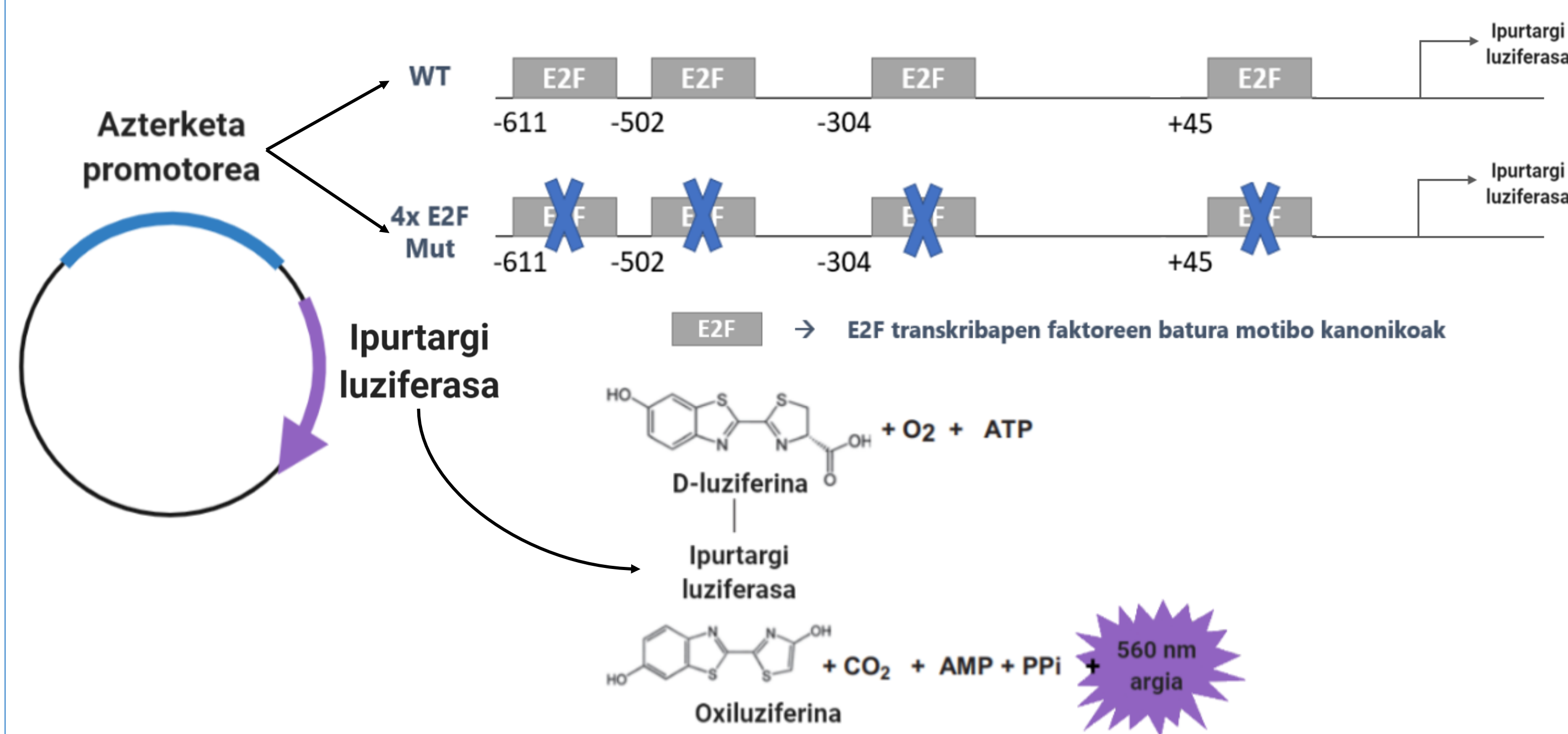


E2F1 eta E2F2ren ausentzian SLUG markatzaile mesenkimalaren adierazpenearen emendioa ikusten da RNA mezulari (RNAm) mailan RT-qPCR bidez

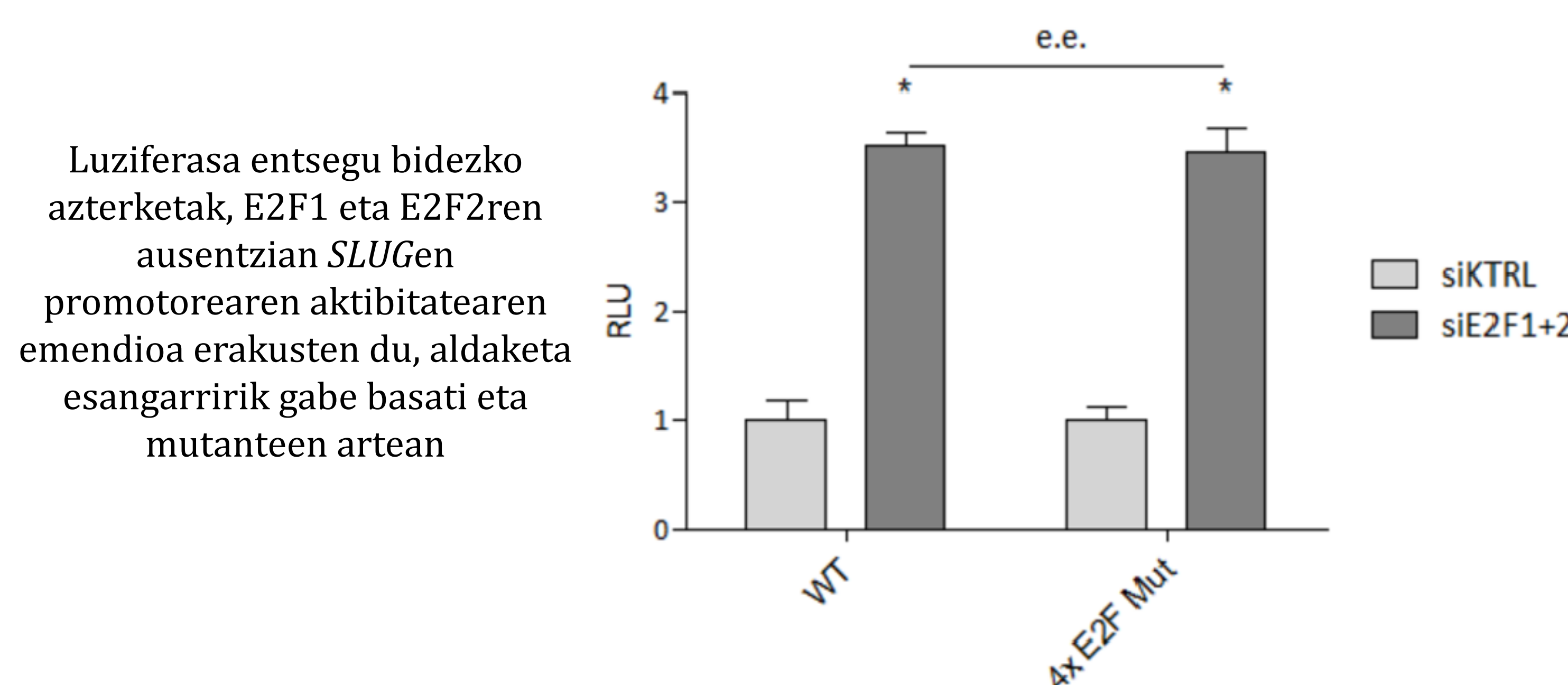


Western plapaketa bidez atertutako SLUG proteinaren adierazpenearen emendioa eragiten du E2F1 eta E2F2ren isilarazpenak

E2F1/2 faktoreen galerak SLUGen promotorearen aktibitatea emendatzen du, E2F leku kanonikoekiko modu independentean

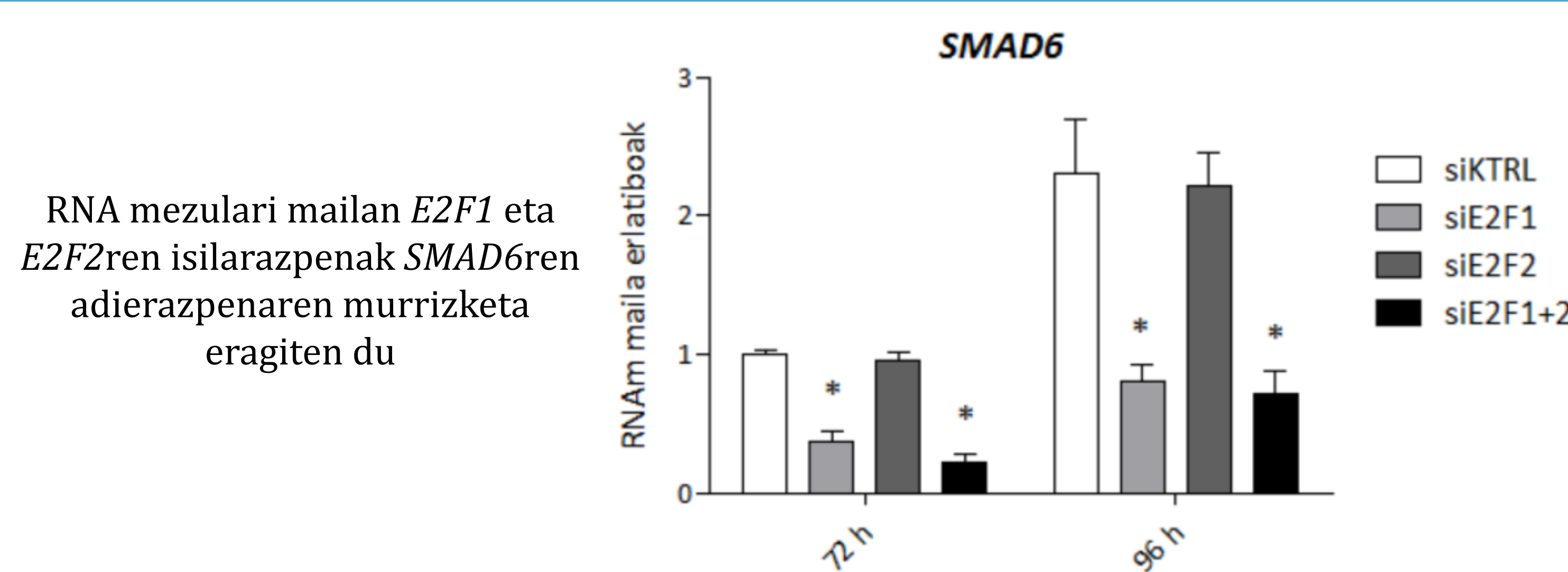


Luziferasa entseguaren oinarriak: SLUGen promotorearen aktibitatearen azterketa

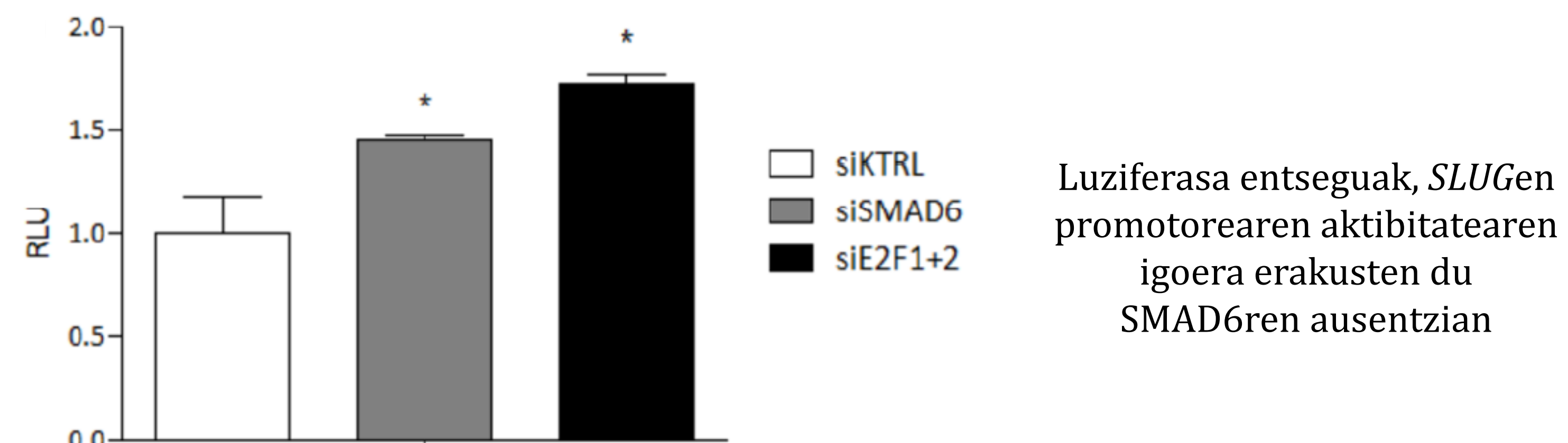
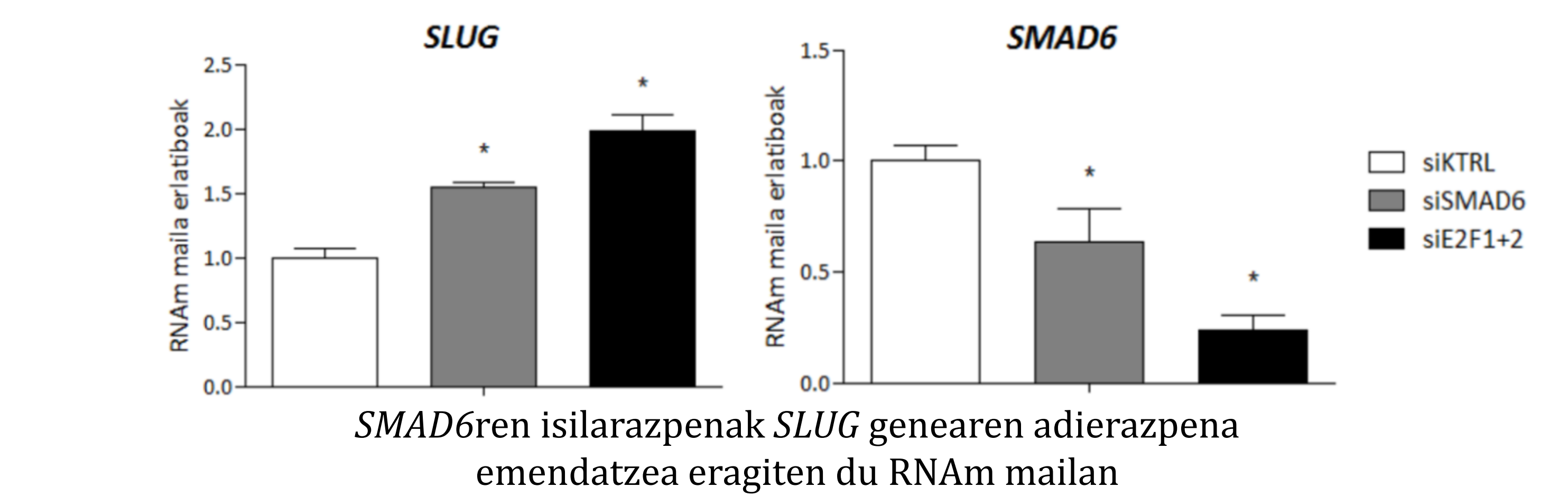


Luziferasa entsegu bidezko azterketak, E2F1 eta E2F2ren ausentzian SLUGen promotorearen aktibitatearen emendioa erakusten du, aldaketa esangarririk gabe basati eta mutanteen artean

E2F1 eta E2F2ren kide erregulatuzaileak SLUGen adierazpenean: SMAD6 EMT modulatuzailearen azterketa



RNA mezulari mailan E2F1 eta E2F2ren isilarazpenak SMAD6ren adierazpenearen murrizketa eragiten du



Luziferasa entseguak, SLUGen promotorearen aktibitatearen igoera erakusten du SMAD6ren ausentzian

Ondorioak eta etorkizunerako ikuspegia

E2F1/E2F2k egoera epitelialaren mantenuan parte hartzen dute, EMTa oztopatuz eta SLUG markatzaile mesenkimalaren adierazpena inhibituz bere promotorearengan eraginez, E2F leku kanonikoekiko modu independentean.

Erregulazioa gertatzeko beharrezkoak diren SLUGen promotorearen eskualdeak aztertu eta E2F1/2 faktoreen batura ebaztea.

E2F1/E2F2ren bitartez erregulatu den SMAD6 faktoreak SLUGen adierazpena inhibitzen du bere promotorearen aktibitatearengan eraginez.

SMAD6k EMTaren modulazioan daukan zereginean sakontzea, bereziki SLUG markatzaile mesenkimalaren adierazpenearen erregulazioan.

Finantziaketa

- Zientzia eta Berrikuntza Ministerioa (RTI2018-097497-B-I00)
- Eusko Jaurlaritza, Hezkuntza Saila (IT1257-19)
- IKERBASQUE, Basque Foundation for Science