Προσωπικό

Θωμα□ς Σουρλίγκα, Ερευνήτρια Β΄

Καλλιόπη Ε. Σέκερη, Ομότιμη Ερευνήτρια Α΄

Μάριος Ξυδούς, Μεταδιδακτορικός Συνεργάτης

Έλενα Κωστοπούλου, Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια (Msc) – *ολοκλήρωσε το 2012*

Παρασκευή Σαλπέα, Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια (PhD) – *ολοκλήρωσε το 2011*

Ιωάννης Νινιός, Μεταπτυχιακός Φοιτητής (PhD) – *ολοκλήρωσε το 2009*

Ερευνητικά Ενδιαφέροντα του Εργαστηρίου

Αντικείμενο των μελετών του Εργαστηρίου είναι η μελέτη του ρόλου των

1) ιστονών και των υποτύπων των ιστονών,

2) επιγενετικών μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων των ιστονών και

3) αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών

στην λειτουργικότητα της χρωματίνης σε διάφορες βιολογικές διεργασίες .

1.

Γήρανση: Έκφραση των ιστονών του συνδέτου DNA (H1 σωματικοί υπότυποι και H1.0) καθώς και επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών (φωσφορυλίωση, ακετυλίωση και μεθυλίωση) κατά την γήρανση σε κυτταρικά στελέχη και σειρές. Παράλληλα μελετώνται μεταβολές που επιφέρουν επιγενετικές τροποποιήσεις στην έκφραση ηλικιοεξαρτώμενων γονιδίων σε λευκοκύτταρα περιφερικού αίματος.

2.

Απόπτωση: Μελέτη της αλληλεπίδρασης και του λειτουργικού ρόλου συγκεκριμένων H1 ιστονών του συνδέτου DNA με τον παράγοντα κατακερματισμού του DNA, DFF40, μια ενδονουκλέαση που κατακερματίζει το DNA κατά τα τελευταία στάδια της απόπτωσης.. Για την μελέτη αυτή χρησιμοποιούνται λευχαιμικές κυτταρικές σειρές στις οποίες επάγεται η απόπτωση με αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών. Παράλληλα μελετάται η ακετυλίωση ιστονικών και μη ιστονικών μορίων μετά από επίδραση αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών με σκοπό τον εντοπισμό παραγόντων με λειτουργική δράση στην πορεία της απόπτωσης.

3.

Βιολογικό Ρολόι Θηλαστικών: Μελετώνται οι αλλαγές που επιφέρουν επιγενετικές τροποποιήσεις των ιστονών στην έκφραση κιρκαδικών γονιδίων και στην λειτουργία του βιολογικού ρολογιού.

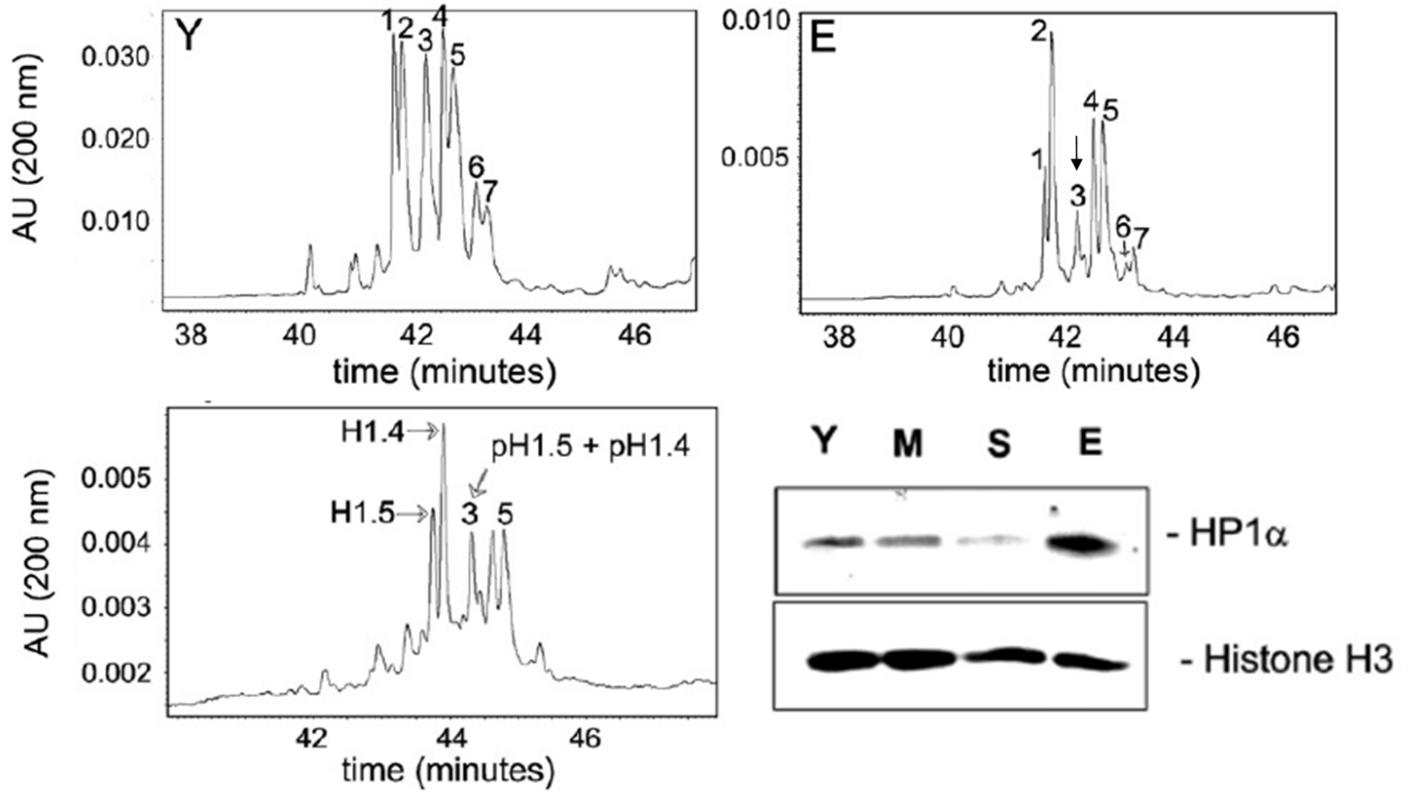
4.

Ψυχωτικές Διαταραχές: Μελετάται η αναδιαμόρφωση της δομής της χρωματίνης που συνδυάζεται με επιγενετικές αλλαγές και αλλαγές των επιπέδων έκφρασης των υποτύπων της H1 τάξης των ιστονών του συνδέτου DNA σε λευκοκύτταρα περιφερικού αίματος ατόμων που πάσχουν από ψυχωτικές διαταραχές.

ΤΡΕΧΟΝΤΑ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΕΡΓΑ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Γήρανση

Η αποφωσφορυλίωση των H1.4 και H1.5 υποτύπων της οικογένειας των H1 ιστονών του συνδέτου DNA σχετίζεται με την αύξηση του σχηματισμού ετεροχρωματινικών περιοχών, δηλαδή μη ενεργής χρωματίνης, σε συνάρτηση με την αυξανόμενη ηλικία.

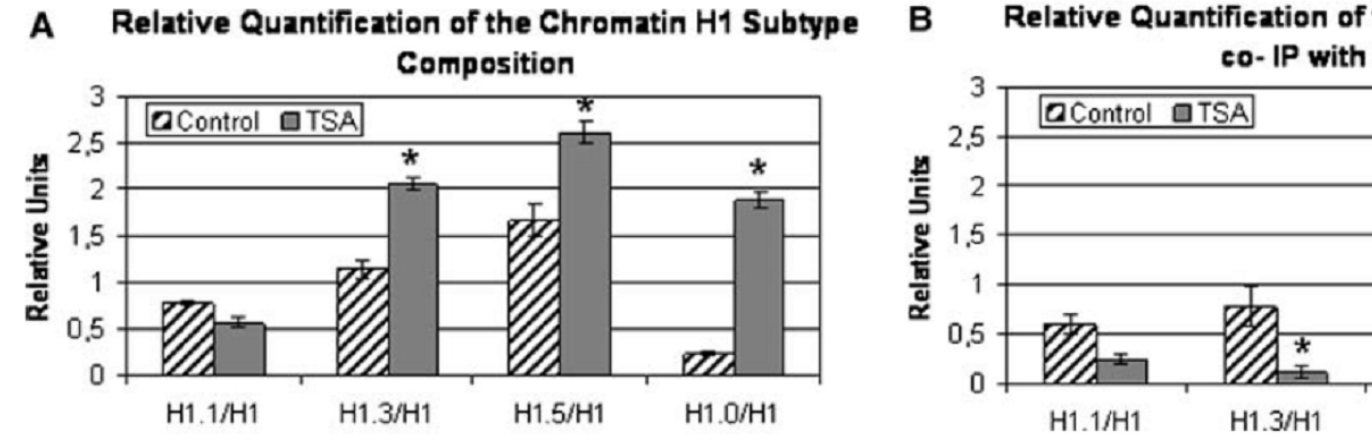


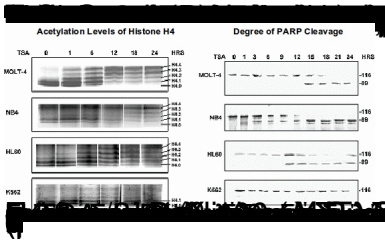
Εικόνα 1: Διαχωρισμός των H1 υποτύπων με Capillary Zone Electrophoresis (CZE) και εύρεση σημαντικής μείωσης της κορυφής 3 των διαχωρισμένων H1 ιστονών σε λεμφοκύτταρα ηλικιωμένων δοτών σε σχέση με αυτών των νέων δοτών. Οι κορυφές ταυτοποιήθηκαν και βρέθηκε πως η κορυφή 3 αντιστοιχεί στις φωσφορυλιωμένες ισομορφές των H1.4 και H1.5 (pH1.4, pH1.5). Παράλληλα με ανοσοστύπωμα βρέθηκε αύξηση της ετεροχρωματινικής πρωτεΐνης, HP1α, στους ίδιους ηλικιωμένους δότες. Y = νέοι, M = μεσήλικες, S = ηλικιωμένοι, E = υπερήλικες. Ιστόνη H3, πρωτεΐνη αναφοράς (Happel, N., Doenecke,D., Sekeri-Pataryas, K.E. and T.G. Sourlingas, Exp. Gerontol., 2008).

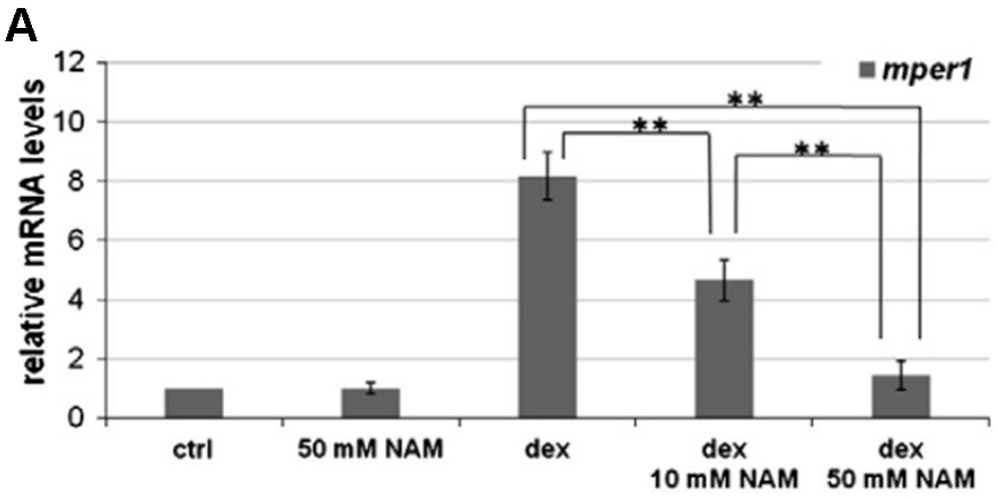
Η εργασία αυτή συνέδεσε για πρώτη φορά την αποφωσφορυλίωση δύο υποτύπων της Η1 ιστόνης με τον αυξημένο σχηματισμό ετεροχρωματινικών περιοχών κατά την γήρανση σε λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος ανθρώπου. Δεδομένου πως η φωσφορυλίωση – αποφωσφορυλίωση, καθώς και η παρουσία συγκεκριμένων Η1 υποτύπων, παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης σε διάφορες βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης και της γήρανσης (όπως υποδεικνύεται από την παρούσα εργασία)., θεωρούμε πως ο ετεροχρωματινισμός είναι μια αναγκαία διεργασία που λαμβάνει χώρα κατά την γήρανση λεμφοκυττάρων και οδηγεί στην σταδιακή αποσιώπηση γονιδίων τα οποία δεν είναι απολύτως αναγκαία για τις βασικές κυτταρικές λειτουργίες. Αυτό αποσκοπεί στην εξοικονόμηση ενέργειας για την διατήρηση της επιβίωσης του γερασμένου φαινότυπου. Μελλοντική κατεύθυνση του συγκεκριμένου ερευνητικού έργου θα είναι η διερεύνηση του εάν το μετα-μεταφραστικό πρότυπο, τόσο της φωσφορυλίωσης, όσο και άλλων επιγενετικών τροποποιήσεων των ιστονών, παίζει παρόμοιο ρόλο στο σχηματισμό ετεροχρωματίνης κατά την γήρανση και σε άλλα κυτταρικά / ιστικά συστήματα γήρανσης.

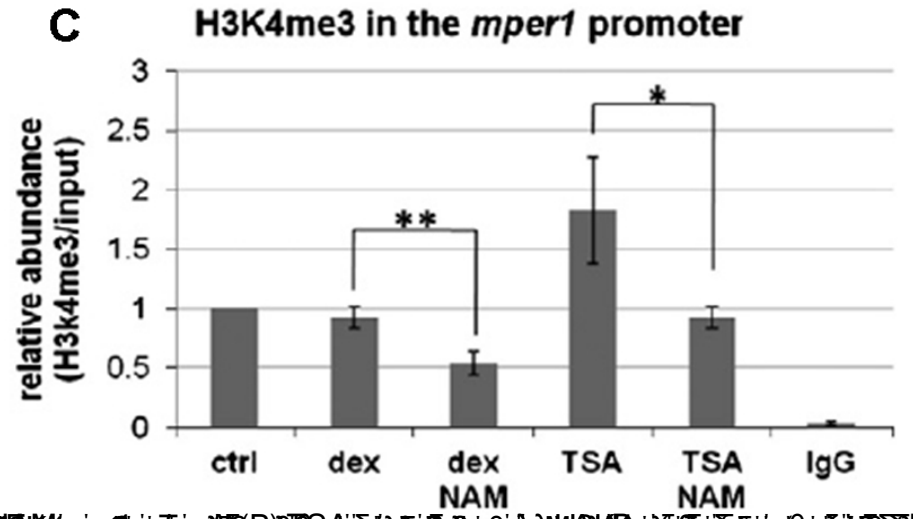
Απόπτωση

(1) Αποτελέσματα του εργαστηρίου μας έδειξαν ότι ο παράγοντας κατακερματισμού του DNA (DFF40), ο οποίος ενεργοποιείται κατά τα τελευταία στάδια της απόπτωσης, εντοπίζεται στην χρωματίνη, τόσο στην μη ενεργοποιημένη μορφή του (ως ετεροδιμερές με τον συνοδό του, DFF45), όσο και στην ενεργή του μορφή που προκύπτει από την πρωτεόλυση του DFF45 μετά από αποπτωτικό ερέθισμα. Ήταν γνωστό ότι ο DFF40 αλληλεπιδρά με την Η1 ιστόνη του συνδέτου DNA, η οποία στρατολογεί τον DFF40 στις περιοχές του συνδέτου DNA, με αποτέλεσμα να κατακερματίζει το DNA μόνο στις περιοχές μεταξύ των νουκλεοσωμάτων σε in vitro συστήματα . Όμως δεν ήταν γνωστό αν ο παράγοντας αυτός αλληλεπιδρά επιλεκτικά με συγκεκριμένους υποτύπους της Η1 τάξης των ιστονών. Η ερευνά μας σε αυτόν τον τομέα έδειξε πως ο DFF40, αν και αλληλεπιδρά με όλους τους υποτύπους της Η1, εμφανίζει αυξημένη αλληλεπίδραση με τις Η1.5 και Η1.0, και μειωμένη αλληλεπίδραση με την Η1.3.


A
Relative Quantification of the Chromatin H1 Subtype Composition
Control
TSA
Relative Units
H1.1/H1
H1.3/H1
H1.5/H1
H1.0/H1
B
Relative Quantification of the H1
co- IP with DFF40
Control
TSA
Relative Units
H1.1/H1
H1.3/H1


Acetylation Levels of Histone H4
Degree of PARP Cleavage
MOLT-4
ND4
HL60
K562


A
mper1
relative mRNA levels
ctrl
50 mM NAM
dex
dex
10 mM NAM
dex
50 mM NAM
B
mper1
ctrl
TSA
TSA
NAM


C
H3K4me3 in the mper1 promoter
relative abundance
(H3k4me3/input)
ctrl
dex
dex
NAM
TSA
TSA
NAM
IgG