



Role MstI/Hippo signální dráhy při indukci apoptózy pomocí derivátů vitamínu E

Jaroslav Truksa, Karel Vališ a Jiří Neužil

Laboratoř Molekulární Terapie

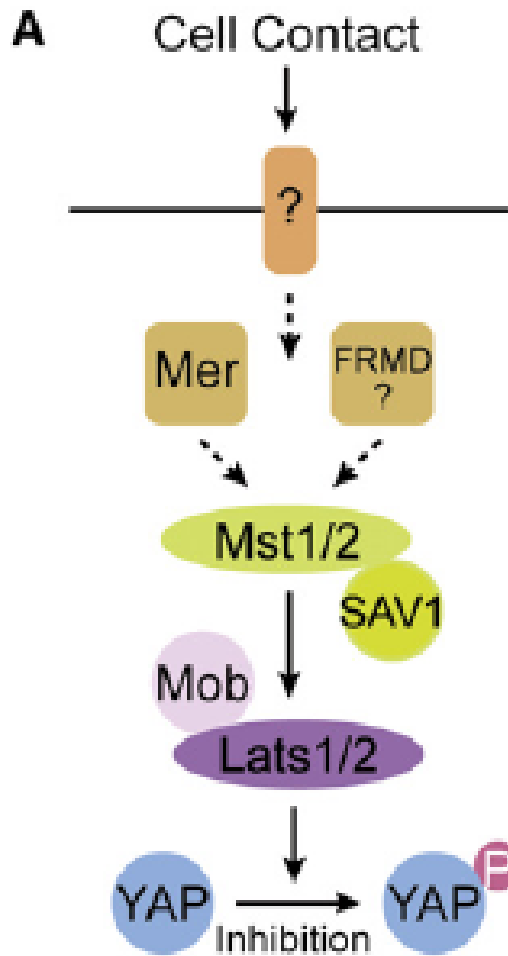
Biotechnologický Ústav AVČR



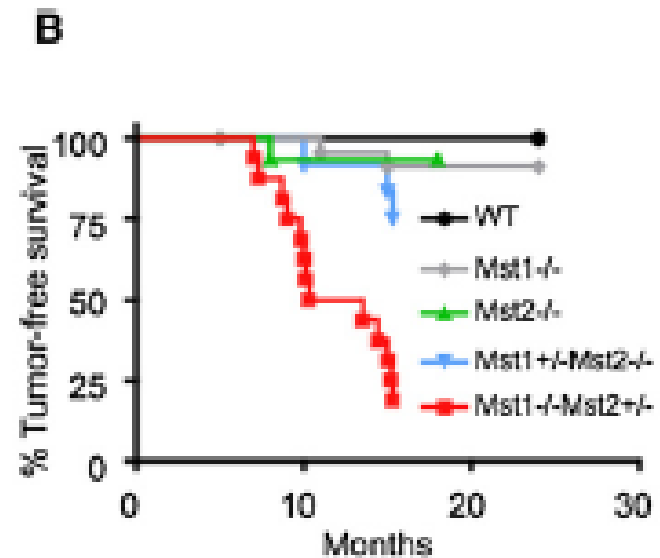
MstI/Hippo signalizační dráha

- Signalizační dráha konzervovaná od octomilky po člověka
- Reguluje velikost orgánů -odtud název hippo
- Zdá se, že má významnou úlohu pro regulaci proliferace a indukci apoptózy

Mst I/Hippo signalizační dráha



Zhao B. et al., Cancer Cell, 2009

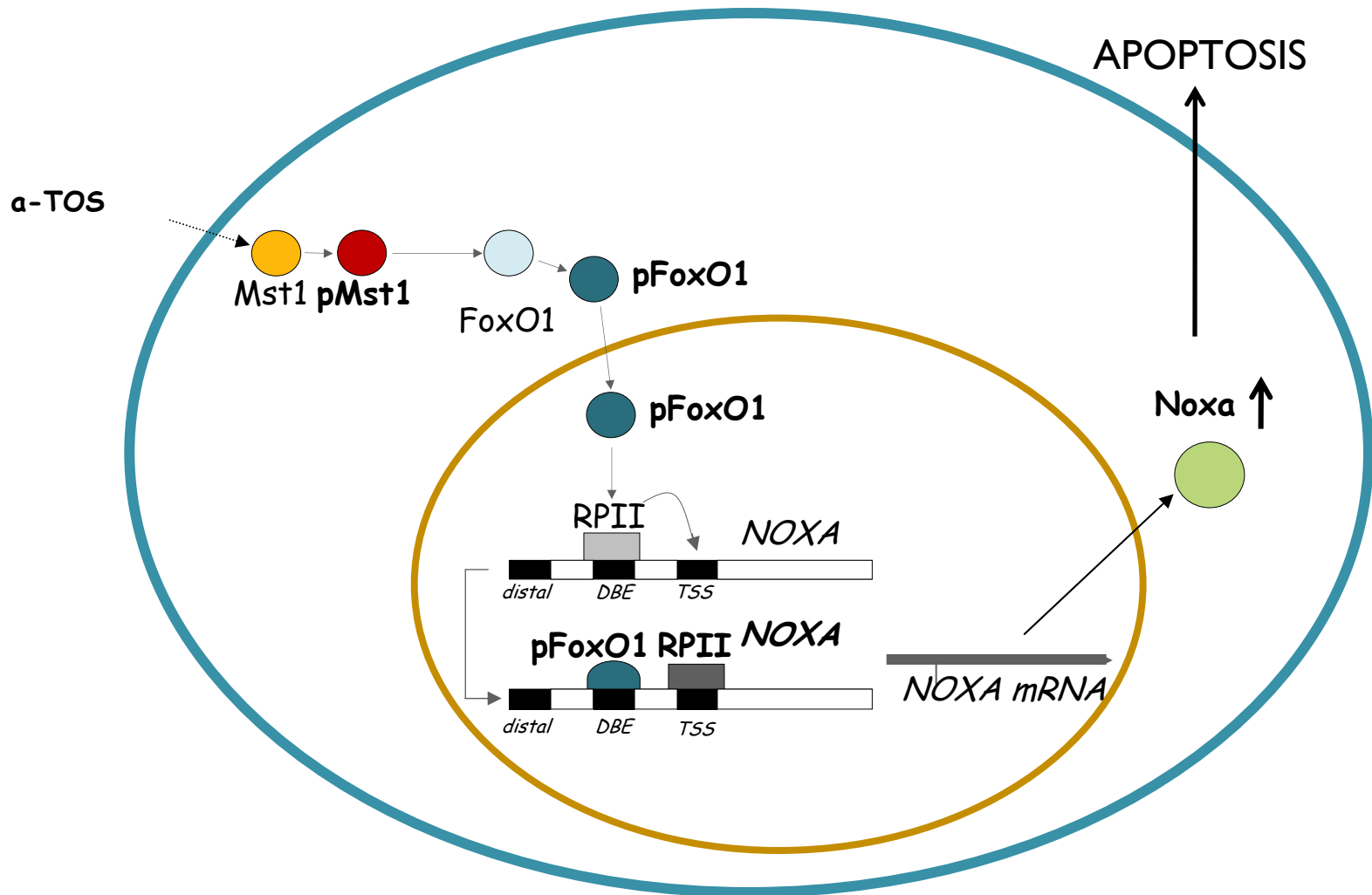


$P < 0.0001$ Mst1^{-/-}Mst2^{+/-} vs. WT
 $P < 0.002$ Mst1^{-/-}Mst2^{+/-} vs. Mst1^{+/-}Mst2^{-/-}
 $P < 0.05$ Mst1^{+/-}Mst2^{-/-} vs. WT



Zhou D. et al., Cancer Cell, 2009

Deriváty vitamínu E – mechanismus účinku





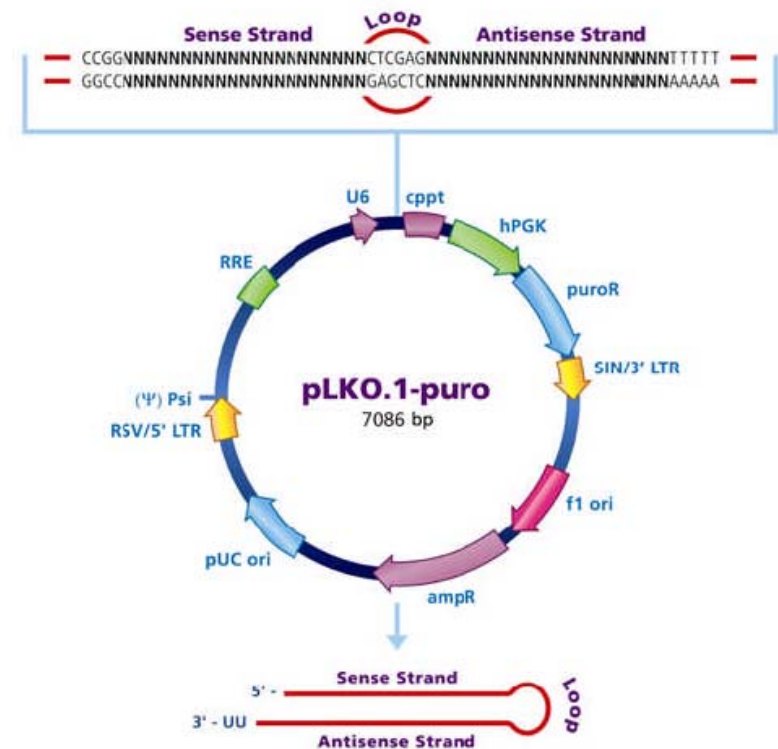
Je Mstl/Hippo dráha klíčová pro indukci apoptózy?

- Povede snížení funkce MstI/Hippo dráhy k zvýšené rezistenci buněk vůči derivátům vitamínu E?

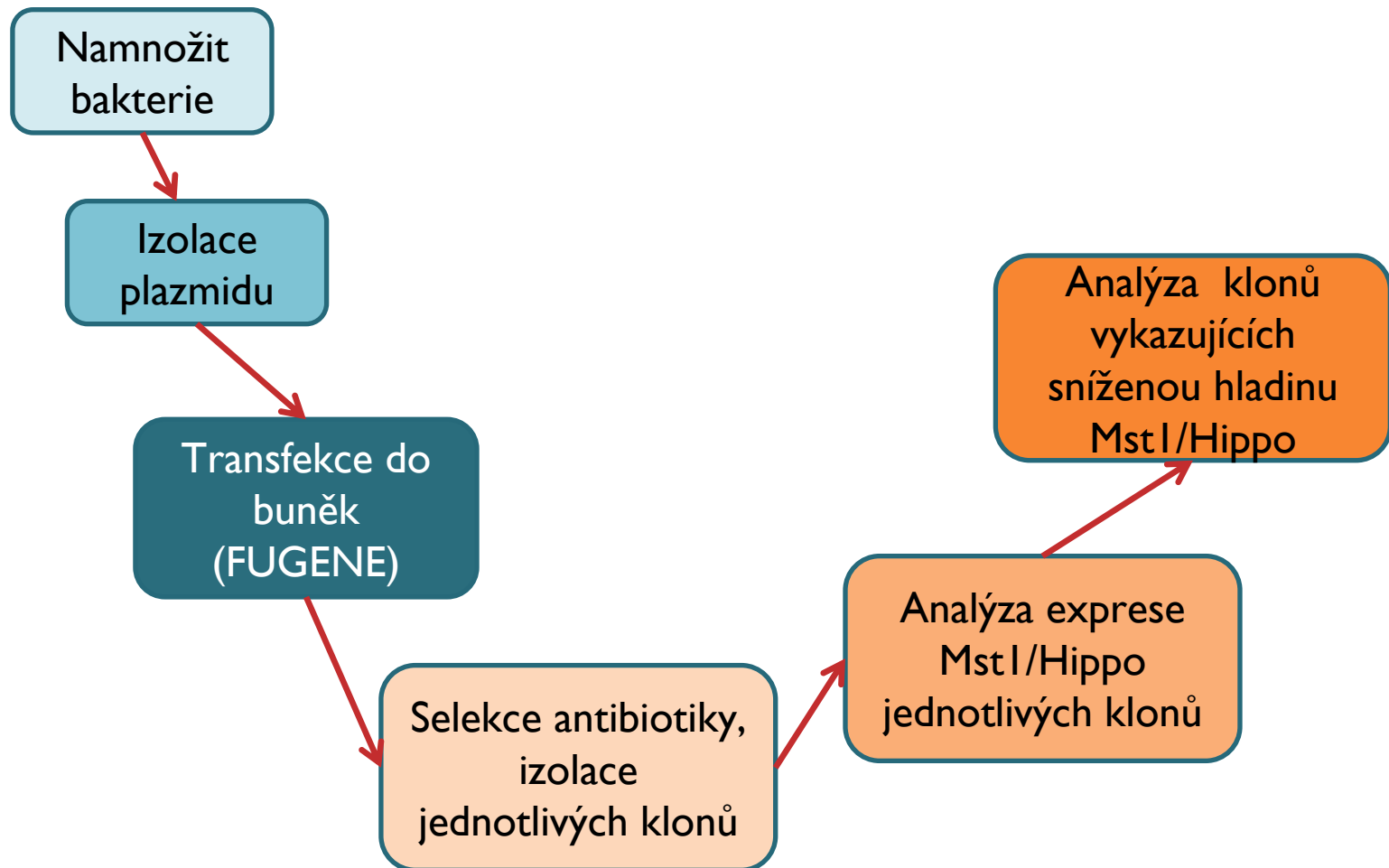
Použití MISSION[®] shRNA technologie (SIGMA)

Figure 1. TRC1 and TRC1.5 Lentiviral Plasmid Vector pLKO.1-puro Features

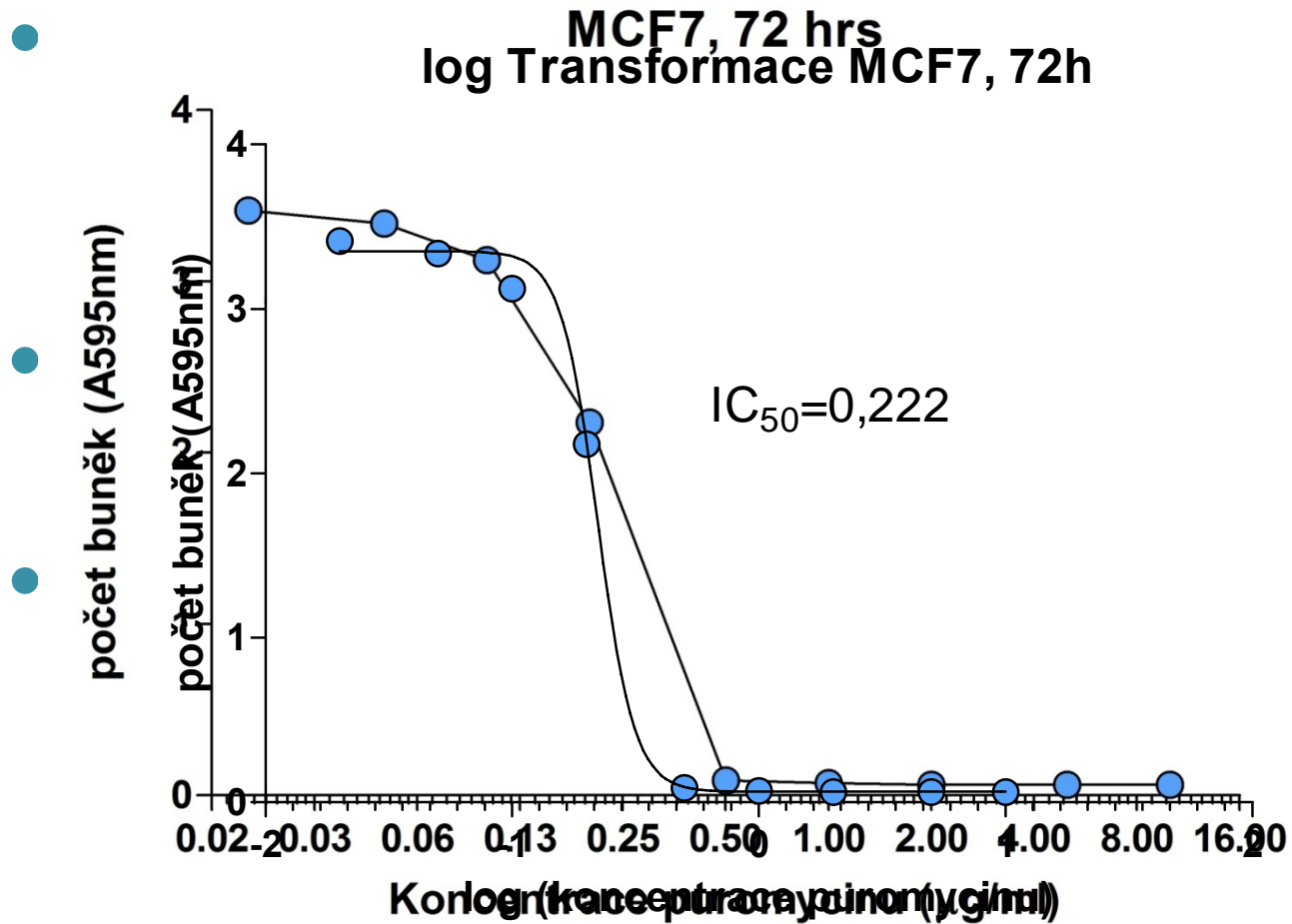
Name	Description
U6	U6 Promoter
cppt	Central polypurine tract
hPGK	Human phosphoglycerate kinase eukaryotic promoter
puroR	Puromycin resistance gene for mammalian selection
SIN/3' LTR	3' self inactivating long terminal repeat
f1 ori	f1 origin of replication
ampR	Ampicillin resistance gene for bacterial selection
pUC ori	pUC origin of replication
5' LTR	5' long terminal repeat
Psi	RNA packaging signal
RRE	Rev response element



Jednotlivé kroky pokusu



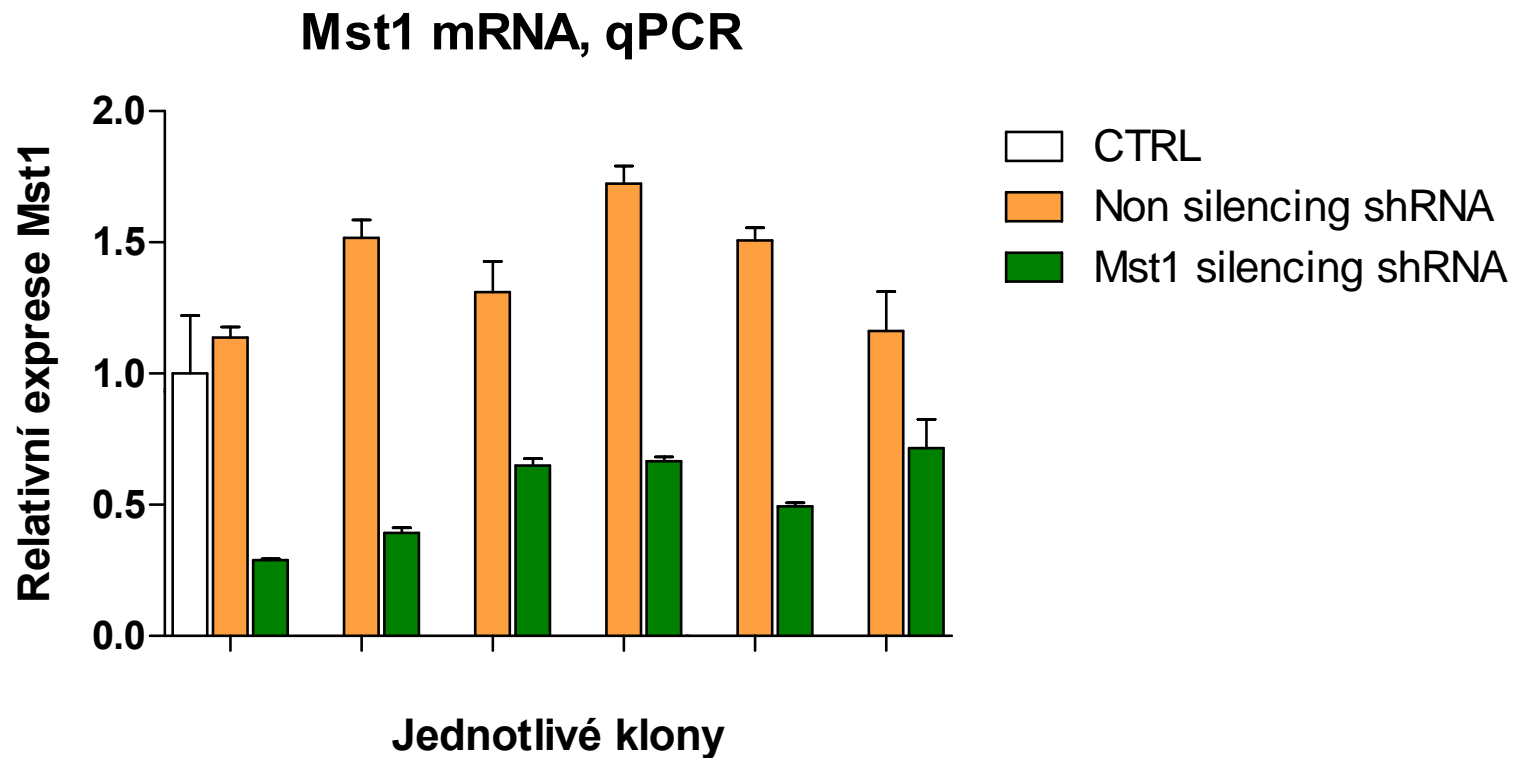
Vytvoření buněčných klonů se sníženou expresí MstI/Hippo



í
se

í
ist
iko

Analýza vytvořených klonů-Expresse Mst1/Hippo, qPCR



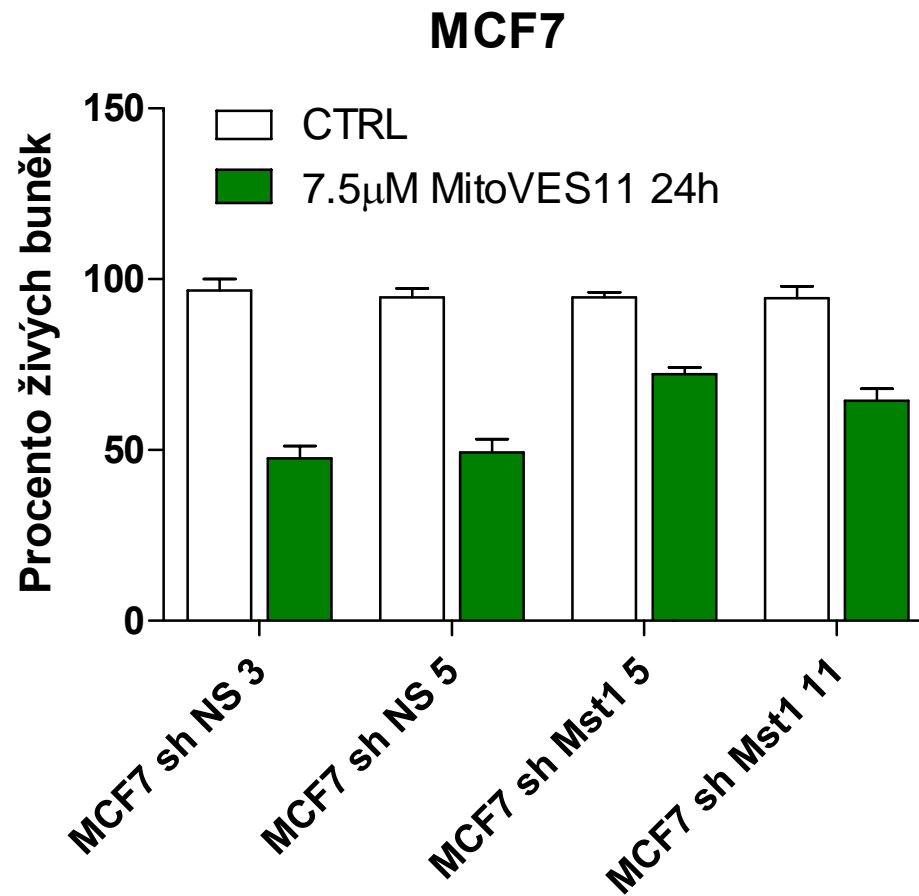
Analýza vytvořených klonů-Expresse Mst I/Hippo, Western blot

WB anti Mst1 18022011

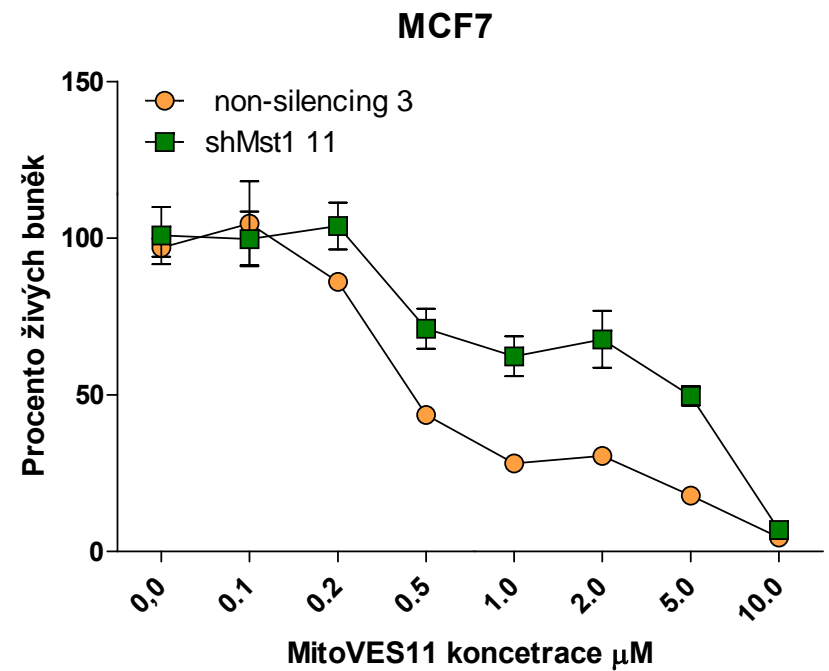
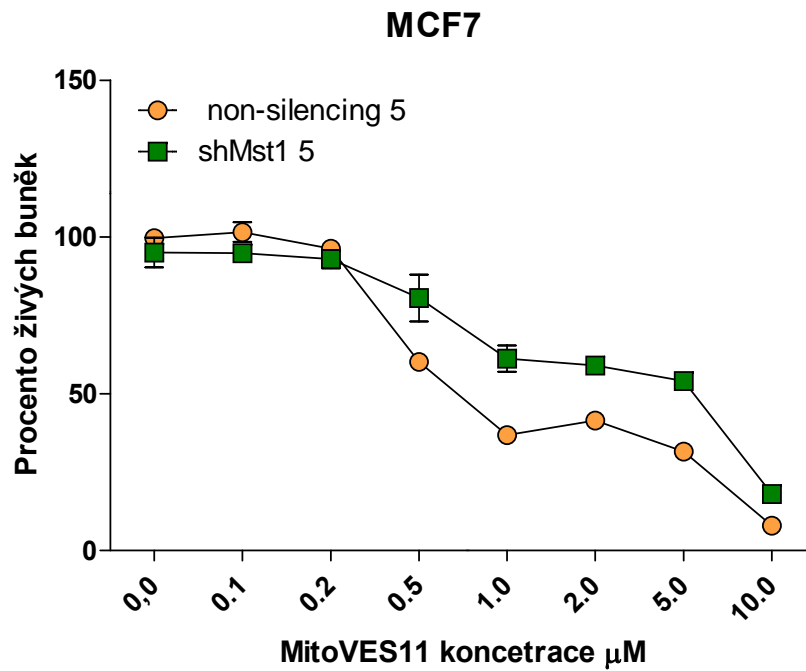
shNS	shNS	shNS	shMst	shMst	shMst
3	5	7	5	8	11



Vliv snížené exprese Mst1/Hippo na indukci apoptózy u MCF7 buněk, počítání buněk



Vliv snížené exprese Mst1/Hippo na indukci apoptózy u MCF7 buněk, barvení krystalovou violetí





Závěry:

- MstI/Hippo signalizační dráha hraje významnou úlohu při indukci apoptózy deriváty vitaminu E
- Snížení hladiny MstI/Hippo kinázy za pomoci MISSION shRNA činí buňky výrazně rezistentnějšími k působení derivátů vitaminu E



Děkuji za pozornost

- Diskuse je otevřená