UNI VERZIT ET U NOVOM SADU
PRIRODNO-M ATEMA TI CKI FAKULTET
NOVI SAD
DEPARTMAN *ZA*
BI OLO GU U I EKOLOGIJU

SRPSKO BIO LOSKO DRUSTVO
BEOGRAD

I KO **NGRES BIOLOGA SRBIJE**

SA MEE>UNARODNIM UCESCEM

ZBORNIK REZIMEA

kOBiS 2007

1sr INTER NATI ONAL CONGRESS

ON BIOLOGY IN SERBIA

COLLECTI ON OF ABSTRACTS

Palic

25-28.10.2007.

MOLEKULARNI MEHANIZMI PRIJEMA I ODGOVORA CELIJA EUKARIOTA NA SIGNALE IZ SPOLJNE SREDINE

Grigorov I., Bogojevic D., Ivanovic-Matic S., Petrovic M., Uskokovic A., Arambasic J., Mihailovic M., Grdovic N., Martinovic Y., Vidakovic M., Poznanovic G., Dinic S.

Odeljenje za molekularnu biologiju, Institut za biloska istrazivanja "Siniša Stankovic", Bulevar despota Stefana 142, Beograd, Srbija

Sinopsis:

Homeostaza je ravnotezno stanje metabolickih procesa koje obezbeduje optimalno funkcionisanje organizma. Organizam odgovara na odstupanja od ovog stabilnog stanja pokretanjem kompleksnog niza lokalnih i sistemskih reakcija koje zajedno cine tzv. akutno fazni odgovor (AFO). AFO je evolutivno konzervisan mehanizam usmeren ka uspostavljanju normalnog funkcionisanja organizma tokom infekcija, tkivnih povreda, hemijskog tretmana i neoplasticnih bolesti. Inicijacija i tok AFO ukljucuju koordinisanu seriju dogadjaja kao sto je oslobadjanje citokina, hemotaksija leukocita, aktivacija endotelijalnih celija i adrenalno-hipofizne pregrejanosti koja obezbedjuje neophodne metabolicke signale kojim deluje na ciljne organe. Jetra je vazan ucesnik AFO obzirom da se u njoj pod uticajem proinflamatornih citokina kao sto su Tumor nekrotizirajuci faktor a, Interleukin-1β i Interleukin-6 indukuju prolazne promene u sintezi brojnih proteina. Krajnji rezultat se ogleda u pojacanoj ili smanjenoj sintezi i/ili aktivaciji za jetru karakteristicnih transkripcionih faktora koji povratno regulisu mnoge gene medju kojima i gene za akutno faZ11e proteine (AFP).

Akutno fazni proteini predstavljaju heterogenu grupu cirkulatornih proteina koji su ukljuceni u uspostavljanje homeostaze putem svojih aktivnosti. OJC se mogu svrstati u tri kategorije: inhibicija proteaza (α2-makroglobulin, α1-antitripsin and α1-antihimotripsin), aktivacija sistema komplementa ili modulacija imunog odgovora (fibrinogen, C-reaktivni protein, skrumaloid A, komplement C3, α1-kiseli glikoprotein) i funkcije vezivanja i transporta (haptoglobin, ceruloplazmin, hemopeksin, transferin). Koncentracija AFP u cirkulaciji nije precizno jednaka odgovoru na razlicite stresogene stimuluse sto sugerise da je njihova sinteza regulisana specificnim profilom inflamatornih medijatora koji se aktiviraju na odredjeni stimulus. Raznovrsnost u smeru, intenzitetu i trajanju promena nivoa AFP-a istice potrebu za kompletnim razumevanjem nacina njihove regulacije.

Dosadasnja saznanja o tome kako su geni za AFP moduli sani proinflarnatornim citokinima tokom AFO baziraju se na istrazivanjima na promotorskom nivou. Ekspresija gena za AFP je uglavnom kontrolisana na transkripcionom nivou i zavisna je od regulatornih interakcija izmedju cis-delujucih DNK sekvenci i specificnih transkripcionih faktora i DNK vezujucih proteina. Pored sveprisutnih transkripcionih faktora ukljucenih u bazalnu transkripcionu masineriju svih tipova celija, celije jetre sadrze dodatne faktore prisutne u ogranicenom broju tkiva. Oni pripadaju familijarna transkripcionih faktora C/EBP, STAT i Nf kB. Slozenost njihovog ucesca u regulaciji ekspresije gena za AFP proizilazi iz cinjenice da razlicito aktivni clanovi svake od ovih familija imaju slicna mesta vezivanja za DNK na kojima mogu smenjivati jedni druge, i svaki transkripcioni faktor moze delovati samostalno ili sinergisticki antagonisticki sa jednim ili vise faktora iz kofaktora koji pak pripadaju istoj ili razlicitoj familiji. Kooperativne interakcije transkripcionih faktora kao i njihove postranslacione modifikacije tipa fosforilacije/defosforilacije glikozilacije/deglikozilacije su neophodne za ostvarivanje odredjenog nivoa ekspresije gena karakteristicnog za celije jetre tokom AFO.

DNK vezujuci proteini koji regulisu transkripciju gena za AFP prisutni su u jedarnoj plazmi a i u jedarnoj strukturi - jedarnom matriksu. Stoga se smatra da je jedarni matriks, kao trodimenzionalana proteinska mreza koja prozima jedro, potencijalno ukljucen u organizaciju procesa transkripcije. Ovakva uloga jedarnog matriksa ogledala bi se u

funk c iona l no j loka li zacij i gena i prikupljanju i pozicioniranjLI genskih regul atornih faktora unutar jedra odnosno, u formiranju "ode ljaka " u kojima b1 se u odredeno vreme i na jednom mestu nasli svl potreblli ucesl1ici procesa transkripcije. Na jedarnom- matriksu jetre identitikovatti su tran skrip cioni faktori: C/EBPa , C/EBP , CIBBP8, STAT l , STAT3, STA I Sb i NF-kB p65 koji imajv znacajnL1 ulogu LI regL1laciji eksprcsije gena za Af P Asocijacija identifikovanih transkripcionih faktora sa Jeda1111111 matriksom je dinamicna jer podleze promenama ,, 7avisnosti od -.... f i i ioloskog stanja organ izma, odrazavajL1ci tako prornene LI ;::-:::;; c0j ekspresiji koje karakterisu bazalno stanje i inflamaciju. Detektova,1e asocijacije *trans-faktora* sa jedarnim matriksom predstavljajL1 mehan izam skoncentrisavanja genskih regulatornih faktora u blizini aktivnih gena LI funkciji optimalne transkripcije. Time se Llkazuje na postojanjc funkcionalne veze izmedu jedarn e strnkture - jedarnog matriksa -- i ekspresije gena.

Mc:rnnizrni koji kontrolisu ukupnu aktivnost brojnih transl::ripcionih faktora jetre tokorn AFO kao i rnehanizmi koji specificno kontrolisL1 transkripciju odredjenog gena za AFP su jos nedovoljn o poznati i predmet su broJnih istrazivanja kod nas i u svetu. Razumevanje pomenutih rnehanizarna je od posebnog znacaja za uspostavljanje terapeutske kontrole AFO koja je neophodna u nekim zivotno-ugrozenim situacijarna kao sto je sl ucaj sa prekomernom produkcijom tumor nekroticnog faktora a u uslovlma sepse. lsto tako, upoznavan Je izmenjenih tran skripclonih .-dogadjaJa u jetri tokorn AFO je od vaznosti LI prevencij1 patoloskih stanja koj su u \'CZi sa preve likom produkcijom odredjenog AFP-a s'o je /'est _-: ,s ucaj u nekim hronicnim inflamatornim bolestima.

MOLECULAR MECHANISMS OF EUKARYOTIC CELL PERCEPTION OF AND RESPONSE TO ENVIRONMENTAL SIGNALS

Grigorov I., Bogojcvic D , lvanovic-Matic S , Petrovic M., Uskokov ic A, Arambasic J., Miha i lovic M., Grdov ic N., Martinovic V., Vidakovic M., Poznanovic G., Dinic S.

Department of Mo lecular Biology, Institute for Biological Research, Bulevar Despota Stefana 142, Belgrade, Serbia

Synopsis:

Homeostasis is the state of metabolic equilibrium supp orting the optimal functioning of an organism that is actively maintained by complex biological mechanisms. An organi sm responds to deviations from this stable situation by a coordinated sequence of syste mic and metabolic changes , or by local ch?nges such as inflammatory reacti ons, col lectl vely known as the acute phase response (APR) The APR is an evo l uti onaril y conserved mechanism aimed al reesta lishing an organisms normal functioning during infection, tissue injury , chemical irritatio11 an d neoplastic disease. The initiation and progression of the APR involves a coordinated series of events, including cytokine re lease, endothelial-cell activation, leukocyte chemotax is, alteration of the temperature set-point and activation of the adrenal pit uitar y ax is which provide the necessa ry metab olic signa ls to respond ing orgrn1s The liver is a 1naJOr partner in APR and the blood -borne p oin flamm :itory cytokines such as Tumor Necrosis Factor *a*, lnterleuk in-1/J and Interleukin-6 trigger transient changes in the synthesis of numerous prc,teins in this organ. The e:1d rt-su!t is an up- or down-regulated synthesis and/Or activation of liver-enriched transcriptio:1 factors that in turn regulat,, nes coding for sec,c tecl ac.1te p;1ase pro tein s (APP).

A.:utc pha se pro1eins repre sent a heterogeneous group of circui.'.ltl):J pr:xeim: which are invo lved in the restoration of homeo stasis

through their actions that can be grouped into three categories: inhibition vf prote ases (a2-macroglobulin, a 1-antitrypsin and al -antichymotryps in), comp l e men t activation, or modulation of the immune system (fibrinogen , (-react iv e protein , sernm amyloid A, complement component C3, a I-acid glycoprote i n) , and binding and transport function (haptog lobin, he mo pex i n, transfenin) The plasma concentrations of APPs do not increase uniformly under different stress conditions suggesting that their synthesis is regulated by stressor-specific patterns of production of inflammatory mediators . The diversity in direction, extent and timing of changes in hepatic APP levels st resses the need for a comp let e understanding of how such changes are regu la ted.

Our current kn ow ledge of how these gene s are modu l a ted by APR and pro-inflammatory cytokines large ly rests on studies made at the promoter level. The expression of genes coding for APPs 1s most ly controlled at the transcriptional level and depends on the regulatory i nte ract ions betwen cis-acting DNA sequences and spec1f:c t•·anscr iption factors and DNA-binding proteins. Besides the ubiquitous tra Bscn r ·ion factors involved in the basal transcript ion machinery of most cell typec:, the hepatocyte contains other factors that are prominent in only a limit ed number of cell types. These transcr iption factors mostly inclu ce some members of the CAAT/ enhancer binding protein (C/EBP) Signal Transducer and Activator of Transcript ion (STAT), and Hepatocyte Nuclear Factor (HNF)-6 fam ili es. Variably active members of the transcription factor family can replace each other at a given binding sit e and a transcription factor can act either alone or synerg istically /anta gon isticall y with one or more other factor(s) or cofactors that belong or do not belong to the sa me fam ily . The cooperati ve interaction of transcription factors as \;\'ell as their posttranslational modifications such as phosphorylation/dephosphorylation or glycosy lation/deg lycosylat ion are

required to ac h i e ve th e levels of ex pression characte ri s tic of acute phase li ver cell s.

DNA bin din g protein s th a t regu la te APP gene transcription reside in both , the nu c leopla mic and nu c lear matrix compartment s of the nu cleus The nuclear matr i x i s a n a nast omos in g, thr ee- d imens iona l prote i na cco us network of th e nu cl e us th a t coord i nat es man y nuclear processes, i nclu d i n g transcription. It is ass um ed that the nuclear matrix provides a structural base for the spatial and temporal gathering of the participants of transcription by functionally localizing genes anrl concentrating and posi tion i ng gene regula tory protei ns in s pec ifi c nu c lear comp a rtm ent s Transcription factors (i[131'u, (','L ll l'f\. . (1.ll 1'6. S I .\ I 1. s 11\ 101. S I A I 5b ı NF-kB p65. 1h;i1 a re 1rnp ol"l:m t in the n:gu l;iton of l1n :r .\ PP gene ex pre ssion durin g 1he A PR were identified on the nuclear rna tnx. The assoc ia tion of these transcription factors with the nuclear matrix is dynam ic. l t undergoes changes in a physiological state-re lated manner , thus reflecting differelltial ;ene expression during basa l c ondit ions as well as in flam mation. The observed association of *trans-factors* with the nuclear matrix is in correlation with its proposed role in concentrat i ng gene regu lat ory proteins near their targe t sites for optimal gene transc ription.

Our understanding of the modulations that control the net activity of the whole array of hepatic transcription factors during the APR is still in its in fancy , as is our understanding of the mechanisms that specifically contro l the transcripti on of a given APP gene. Progress in these fields will pa ve th e way !o r t he imp roved th e rapeuti c cont rol of the APR that i s required 111 li fe -thr ea ten i ng si tu a ti ons such as a sepsis associa ted overprod uc t ion of tumor necros i s factor-a and resu l ti ng multiple organ failure. Likewise , a be tter knowledge of the APR-modulated transcr iptional events in liver may he l p one to prevent the pathological events associated with overproduction of a given APP that ta kes place in some chronic inflamm atory diseases.