Interferongruppen
Mitokondrier i sundhed og sygdom

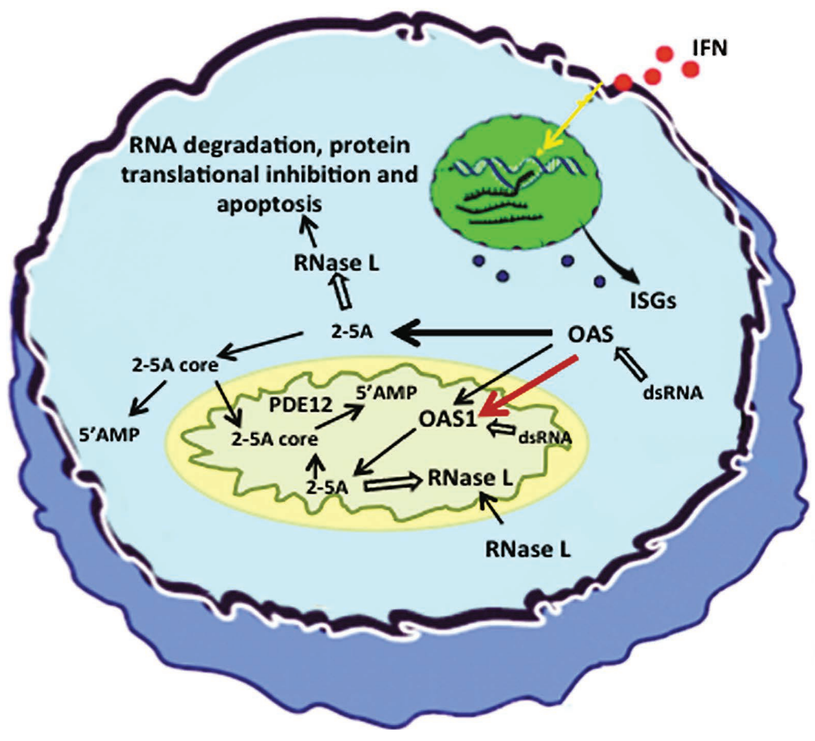
Pia Møller Martensen
pmm@mbg.au.dk - http://mbg.au.dk/pmm/
Uniparken bygning 1131, kontor 1131-422

Baggrund:

Raske celler er afhængige af den energi, der bliver produceret som ATP-molekyler i mitokondrierne i den oxiderende phosphorylerings-proces, der foregår i elektron-transportkæden. I autoimmune og i kræft-sygdomme er mitokondrierne ofte dysfunktionelle. I kræftceller kan den normale oxiderende phosphorylerings-proces være ændret til den mindre effektive glykolyse. I den autoimmune sygdom Type 1 diabetes bidrager mitokondriel dysfunktion til nedbrydning af de insulinproducerende β-celler i bugspytkirtlen.

Vi har vist, at ved overudtryk af en bestemt form af enzymet Oligo-Adenylat Synthetase (OAS1-p42) øger vi mitokondriets respiration, når vi sammenligner med celler, der overudtrykker en anden form af enzymet, nemlig OAS1-p46 [1]. OAS1-p46 proteinet lokaliserer til intracellulære membraner, bl.a. til mitokondriet, mens OAS1-p42 befinder sig i cytosolet [2]. En af forskellene mellem de to former af OAS1 proteinet er den C-terminelle ende. OAS1-p46 indeholder et prenylerings site (CaaX), som, vi har vist, er bestemmende for lokaliseringen af proteinet. Udtrykket af OAS1 proteiner bliver induceret af Type 1 interferon, og i humane celler er det genotypen og en alternativ splejsning af OAS1 mRNA, der er afgørende for, om cellen udtrykker enten OAS1-p42, OAS1-p46 eller begge former efter tilsætning af interferon.

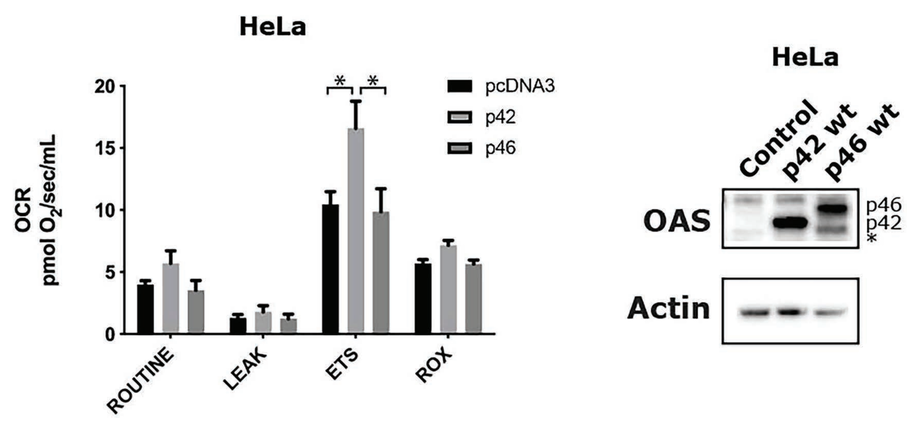
OAS enzymerne er en del af Type 1 interferonsystemet



Teknikker:

Basis for de fleste forsøg er forskellige typer af mammale celler, som dyrkes i kultur. For at kunne undersøge proteinernes funktion, klones deres cDNA i vektorer, som tillader overudtryk af proteinerne i cellerne efter transfektion. Efterfølgende analyseres forskellige proteiner i enzymatiske signalveje, som f.eks. OAS1 (immunoblot analyser) og RNAse L aktivitet (RNA degraderings analyse). Desuden undersøger vi den subcellulære lokalisering af proteinerne i cellen med immunofluoresence cytokemi (mikroskopi) og cellefraktionering (immunoblot analyser). Desuden konstruerer vi mutante former af proteinerne, som også undersøges efter overudtryk i cellerne efter transfektion. Respirationen og intergriteten af mitokondrierne undersøges med en Oroboros.

OAS1-p42 øger mitokondriets respiration mens OAS-p46 ikke ændrer respirationen



Projekter:

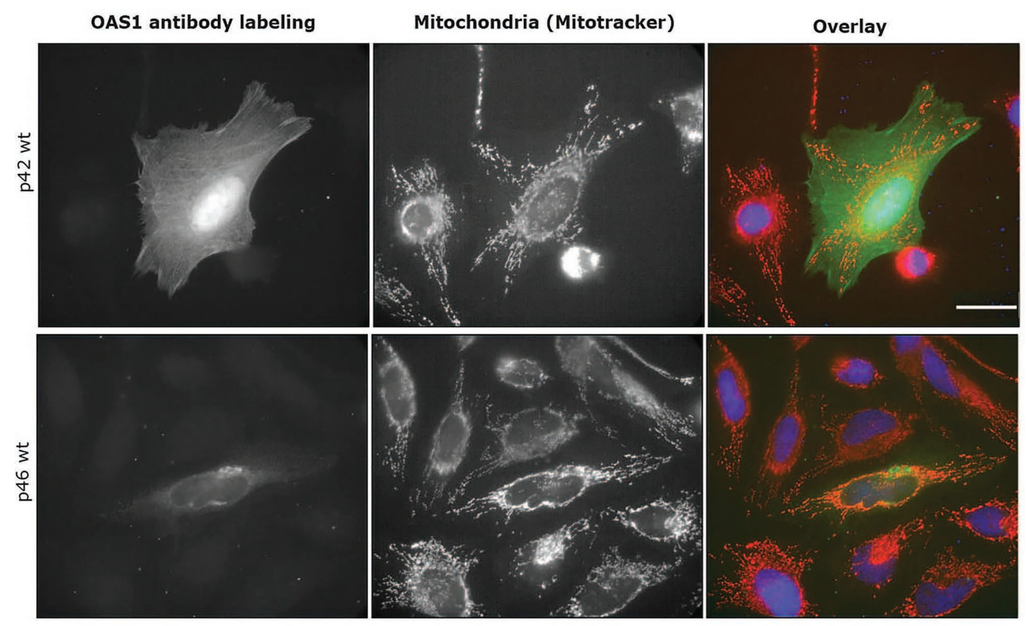
1. Har prenylering af OAS1-p46 den afgørende rolle for den subcellulære lokalisering af proteinet?

2. Hvorledes ændrer mitokondriets funktion sig, når OAS1 proteinerne ændrer subcellulær lokalisering?

3. Kan vi ved brug af SSOer (splice skipping oligonukleotider) ændre den subcellulære lokalisering af OAS1 proteinerne?

4. Projekt: Folat-receptorens rolle i tumorvækst: Konstruktion og analyse af knock-out FRα PyMT mus. Hvorledes udvikler tumorerne sig i folinsyreberiget kost i denne mus?

OAS1-p42 er lokaliseret i cytoplasma og OAS-p46 i mitokondrier



1. Skrivergaard, S.; Jensen, M. S.; Rolander, T. B.; Nguyen, T. B. N.; Bundgaard, A.; Nejsum, L. N.; Martensen, P. M., The Cellular Localization of the p42 and p46 Oligoadenylate Synthetase 1 Isoforms and Their Impact on Mitochondrial Respiration. Viruses 2019, 11, (12).
2. Kjær, K. H.; Pahus, J.; Hansen, M. F.; Poulsen, J. B.; Christensen, E. I.; Justesen, J.; Martensen, P. M., Mitochondrial localization of the OAS1 p46 isoform associated with a common single nucleotide polymorphism. BMC Cell Biology 2014, 15, 33.

AARHUS UNIVERSITY
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS