

Psykiske lidelser, mesenchymal stamcelle funktion, basale cellulære funktioner og retrovirus



Molekylærbiologi: Ja
Molekylær medicin: Ja
Bioteknologi: Ja

Lene Pedersen

Institut for Molekylærbiologi og Genetik
 LP@mbg.au.dk - kontor 561, bygning 1874



Uorganisk fosfat (Pi's) og Pi importørers roller i basale cellefunktioner og i sygdom

Baggrund

Uorganisk fosfat (Pi) er over de seneste år gået fra at være livsvigtig – men harmløs – til et signal-molekyle, som kan påvirke mange cellulære funktioner, enten direkte – eller indirekte gennem de to allestedsnærværende Pi-importører PIT1 og PIT2, kodet for af henholdsvis *SLC20A1* og *SLC20A2*. Påvirkninger som kan føre til forskellige sygdomme. Indenfor de senere år er der stigende bekymring over den mulige sammenhæng mellem ubalanceret indtag af fosfor og udvikling og/eller forværing af en række livsstilssygdomme.

Effekten af et forhøjet Pi niveau i blodet er bedst kendt i forbindelse med kronisk nyresygdom, som er en hyppig konsekvens af diabetes type 1 og 2. Det forhøjede blod Pi niveau øger risikoen for hjerte-kar-sygdom herunder vaskulær forkalkning (aflejring af calcium-fosfat). Hos kronisk nyresyge er der en direkte sammenhæng mellem øget dødelighed - hovedsagelig af kardiovaskulære årsager - og stærkt forhøjet blod Pi niveau. Forskningsresultaterne peger på, at et højt blod Pi niveau og ændringer i PIT1 og PIT2 udtrykket, kan drive fænotypiske ændringer i de glatte muskelceller i blodkarrene til en celletype, der forkalker omgivelserne. Disse patienter har også forhøjet Pi niveau i hjernevæsken og har hyppigt psykiske lidelser.

PIT2 – og muligvis Pi niveauet i hjernevæsken – er vigtig for normal hjernefunktion. Mutationer i PIT2, som mindsker udtrykket af funktionel PIT2, er forbundet med udvikling af sygdommen primary brain calcification (PBC). Tidligt i sygdomsforløbet kan patienterne udvikle hallucinationer, vrangforestillinger, mani, manio-depressivitet, angst, ADHD, skizofreni, personlighedsforstyrrelser, og/eller depression. Et senere symptom er f.eks. demens. Mus med knockout (KO) af PIT2 udvikler ændringer i hjernen, som ses hos PBC patienter. Det er f.eks. forhøjet Pi niveau i hjernevæsken, intracellulær forkalkning i flere af hjernens celletyper, og degeneration af astrocytter. Derudover har vi identificeret adfærsændringer i musene.

PIT1 og PIT2 påvirker begge forskellige basale cellefunktioner – nogen af disse effekter er vist, at være uafhængige af PIT proteinernes Pi transport funktion.

Vores forskning fokuserer på funktionen af Pi og PIT proteiner

- i neurodegeneration og psykiske lidelser
- i cellulære funktioner generelt, inklusive af betydning for sygdomme uden for hjernen

Retrovirus – celle interaktioner

Baggrund

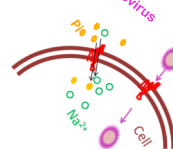
Vira er i høj grad afhængige af værtscellens funktioner. På trods af virus enkelthed er deres indbyrdes forhold med værtscellerne komplekse.

Retro- og lentivira bruges til genoverførsel i genterapisammenhæng og i forskning. De virale overfladeproteiner, vi mest fokuserer på, kan inficere humane celler via PIT1 og/eller PIT2 og er anvendt til at pseudotype vektorer i kliniske genterapi protokoller.

Vores forskning fokuserer på

- interaktionen mellem vira og deres receptorer
- nedestrøms effekter i celler udløst af virus-receptor interaktion

Desuden bruger vi retrovirale vektorer til følge udtryk af vildtype og mutant PIT1 og PIT2 proteiner.



Teknikker:

Vi anvender forskellige metoder indenfor

- molekylærbiologi (site-directed mutagenese, tagging af receptorer og virusproteiner, kvantitativ PCR etc.),
- cellebiologi (etablering af primære cellekulturer fra f.eks. hjerne, knoglemarv, og fedt), flow cytometri, fluorescens mikroskopi, RNAi teknologi, membrantransport assays, assays for forskellige intracellulære cellesignaleringsveje etc.),
- proteinkemi (ELISA, small scale proteinoprensning, immunblot etc.),
- dyreforsøg (mus herunder isolering af væv og adfærsforsøg (ved rettidig tilmelding er der mulighed for deltagelse i et dyreforsøgsunderskabskursus udbudt af Bioscience, som giver lov til at håndtere levende mus))
- retrovirologi og retroviral vektor teknologi.

De to hovedfokusområder overlapper metodemæssigt, idet vi udnytter

- at fosfatimportørerne PIT1 og PIT2 også er receptorer for retrovirus
- at de gammaretrovira, vi hovedsagligt studerer, bruger fosfatimportørerne PIT1 og PIT2 som receptorer.

Mulige projekter vil ligge indenfor følgende områder:

Cellulær differentiering, hvor vi fokuserer på:

- Pi og PIT proteinernes rolle i differentiering af mesenchymale/stromale stamceller til osteoblaster og fedtceller og funktionen af differentierede celler

Neurodegenerative sygdomme/psykiske lidelser, hvor vi fokuserer på:

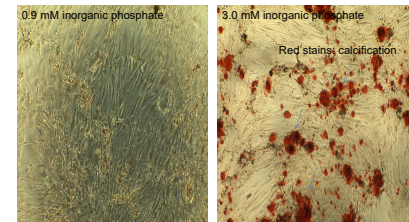
- Pi og PIT proteinernes rolle i hjernens celler og udvikling af psykiske lidelser ved brug af musemodeller og celler afledt af disse

PIT1 og PIT2 og interagerende proteiner, hvor vi fokuserer på:

- PIT1's og PIT2's cellulære funktioner
- regulering af PIT1 og PIT2
- fosfats og PIT1's og PIT2's involvering i basale cellulære funktioner
- fosfat og PIT1 og PIT2 i cellesignalering

Retrovirologi, hvor vi fokuserer på:

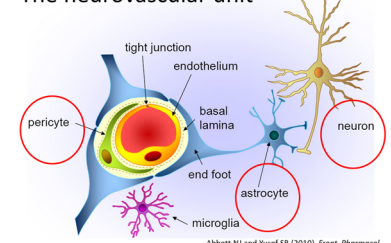
- interaktioner mellem retrovirus og deres receptorer, fosfatimportørerne PIT1 og PIT2, og effekten på celler



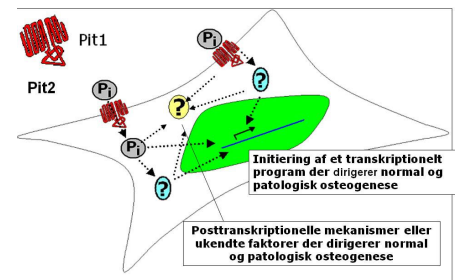
Vaskulære glatte muskelceller differentierer til en osteogen fænotype og danner Ca-Pi mineral, når de dyrkes med koncentrationer af uorganisk fosfat svarende til dem, der forekommer hos nyrepatienter og diabetikere.



The neurovascular unit



Slc20a2/PIT2 KO medfører forkalkninger i pericytter, astrocytter og neuroner – og degenererede astrocytter (Jensen et al. 2018)



PIT2 Pi-transport-KO varianter, som forårsager primary brain calcification (PBC), kan udøve dominant negative effekter på vildtype (WT) PIT2 Pi transport funktion, når variant og WT proteinerne er udtrykt sammen.

