

ISSN: 1300-0292



Türkiye Klinikleri
tıp bilimleri
Cilt/Vol:31 • Sayı/No:6 • Aralık/December 2011 *ekidir* *dergisi*

XII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

27-30 Ekim 2011, Antalya

Kongre Başkanı
Prof.Dr. Asuman SUNGUROĞLU

Supplement

Türkiye Klinikleri *Journal of medical sciences*

www.tıpbilimleri.com

TAF7'nin CIITA İle Etkileşiminin Apoptotik Yolaktaki Etkisinin Araştırılması

Göktürk Dilek¹, Ateş Halil², Baykal Seda¹, Sercan Zeynep¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji BD, İzmir

Amaç: Genel transkripsiyon faktörü TFIID'nin yapısında yer alan TAF7'nin, HIV genomundaki 9 genden biri olan Tat'ın ökaryotik işlevsel homoloğu olduğu ileri sürülmüştür. HIV-Tat'ın işlevleri arasında proviral genlerin transkripsiyon süreçlerini desteklemek, konak hücre genlerinin ekspresyonlarını transkripsiyon düzeyinde baskılamak ve konak hücrelerde apoptozu tetiklemek bulunmaktadır. TAF7, HIV-Tat'a benzer şekilde transkripsiyonel elongasyonu destekleme veya transkripsiyonu baskılayabilme özelliklerini barındırmaktadır. Daha önceki çalışmalarımızda TAF7'nin HIV-Tat'a benzer şekilde hücre ölümünü tetiklediğini destekleyen bulgular elde ettik. Tat proteininin önemli bir özelliği CIITA ile olan etkileşimidir. CIITA MHC sınıf II genleri için transkripsiyonel bir aktivatör işlevi görür ve yokluğunda MHC sınıf II proteinleri ifade edilmez. Tat, CIITA ve MHC sınıf II ekspresyonunu baskılayabilirken; CIITA over-ekspresyonu da Tat'ı ve bu yolla da HIV transkripsiyonunu baskılayabilmektedir. Buradan yola çıkarak TAF7 ile CIITA arasında da benzer bir etkileşim olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

Yöntemler: TAF7 ve CIITA genleri ökaryotik ekspresyon vektörlerine klonlandı. HeLa ve Kelly hücrelerine tek tek ve ko-transfeksiyonla genlerin yüksek düzeyde ekspresyonu sağlanarak hücre ölümü kaspaz aktivasyonları ölçülerek değerlendirildi. Geçici transfeksiyon deneylerinin yanı sıra TAF7 over-ekspresyonu için tetrasiklin ile regüle edilen ekspresyon sistemi kullanıldı. Sistemin plasmidine TAF7'yi klonlayıp, bunu Tet represörü eksprese etmekte olan HeLa hücre hattına stabil olarak transfekte ettik. Bu stabil hatlara CIITA transfeksiyonu sonrasında hücre ölümü benzer şekilde değerlendirildi.

Sonuçlar: TAF7'nin HIV-Tat'la benzer şekilde yüksek düzeydeki ekspresyonunun neden olduğu spontan hücre ölümünün CIITA varlığında baskılandığını destekleyen bulgular elde edildi.

Tartışma: TAF7'nin çok sıkı regüle edilen ökaryotik bir gen olması nedeniyle immünolojik süreçlerde özellikle lenfositik klonal genişleme mekanizmalarında rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, CIITA, TAF7, HIV TAT, hücre ölümü

Ülserli Hastaların Gastrik Epitel Hücrelerinde Epidermal Büyüme Faktörünün Apoptozis İle İlişkili Genlerin Ekspresyonu Üzerine Etkisinin İn-Vitro Araştırılması

Söylemez Fatma¹, İzci Ay Özlem¹, Altıntaş Engin², Sungur Mehmet Ali³, Erdal Mehmet Emin¹

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahiliye AD,

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Biyoinformatik AD, Mersin

Amaç: Gastroduodenal ülserlerin iyileşme sürecinde ve mukozal hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde epidermal büyüme faktörü (EGF) önemli rol oynamaktadır. Apoptozis de ülser oluşumunda yer alan önemli bir süreçtir.

Yöntemler: Bu çalışmada, gastrik ve duodenal ülserli hastaların biyopsi örnekleri ve mide kanseri hücre hattından çoğaltılan hücrelere in-vitro ortamda 3 farklı dozda (20, 50 ve 100 ng/µl) EGF uygulaması yapılmıştır. Bu hücrelerden izole edilen RNA'lar kullanılarak Bax, Fas ve Bcl-2 genlerinin ekspresyon düzeyleri hem semi-kantitatif olarak, hem de Real-Time PCR ile "Comparative CT Analizi" yapılarak belirlenmiştir.

Sonuçlar: İstatiksel analizler sonucunda, EGF uygulamasının gastroduodenal ülserli hastalarda Bax, Fas ve Bcl-2 genlerinin ekspresyonunu değiştirmedeği belirlendi. Real Time PCR ile "Comparative CT Analizi" yapılarak elde edilen veri-

lerin istatistiksel değerlendirmesinin sonucunda; EGF'den bağımsız olarak, sadece Bax geninin kontrol grubundaki ekspresyon düzeyinin, hasta grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı ($p=0.001$). Primer hücre kültürü ve mide kanseri hücre hattındaki gen ekspresyon dzeyeleri Real Time PCR'da değerlendirildiğinde; semi kantitatif yöntemde EGF dozlarının ekspresyon dzeyeleri üzerinde etkisi olmadığı belirlenirken, 1 doz EGF (20 ng/ μ l) uygulandığında hücre hattında Bax geninin ekspresyon düzeyinde belirgin bir artış olduğu ($p=0.001$), 2 doz EGF (50 ng/ μ l) uygulanmasının ise hücre hattında Fas geninin ekspresyonunu azalttığı ($p=0.033$) görüldü.

Tartışma: Özellikle ülser iyileşmesinde rol oynayan EGF'nin, apoptozisi aktive edici fonksiyona sahip olan Bax ve Fas genlerinin ekspresyonu üzerinde etkili olduğu ve Bcl-2 gen ekspresyonunun ise EGF uygulamasıyla değişmediği belirlenmiştir. Bu çalışmanın, ülserli hastalarda EGF'nin apoptotik etkisini inceleyen ilk çalışma olması nedeni ile bu konuyla ilgili yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bax, Bcl-2, EGF, Fas, Gastroduedonal lser, N87 hücre hattı