

Wojciech Pigłowski

Zakład Biologii Nowotworów.

Centrum Onkologii. Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie. Oddział w Gliwicach.



- **Analiza wewnątrzkomórkowej lokalizacji białka HSPA2 i ocena funkcji ochronnych zwiększonej ekspresji badanego białka w wybranych liniach komórkowych.**

Białko HSPA2, będące przedmiotem badań, jest kodowane przez gen *HSPA2* zlokalizowany na 14 chromosomie człowieka. HSPA2 należy do rodziny białek stresu komórkowego HSP70 i jest istotne dla prawidłowego przebiegu spermatogenezy. Dotychczasowe nieliczne badania dowodzą, że gen *HSPA2* może ulegać znaczącej ekspresji w komórkach nowotworowych wywodzących się z różnych narządów, a istniejące dane wskazują na jego udział w proliferacji komórek nowotworowych.

Podstawowym celem pracy było zbadanie poziomu ekspresji genu *HSPA2* w różnych liniach komórek nowotworowych oraz określenie wewnątrzkomórkowego rozmieszczenia białka zarówno w prawidłowych warunkach fizjologicznych jak i w komórkach poddanych szokowi termicznemu. Poziom transkrypcji genu *HSPA2* badano metodą „*real-time RT-PCR*”, poziom ekspresji białka HSPA2 i jego lokalizację badano stosując niedostępne handlowo, otrzymane i oczyszczone przez nas swoiste przeciwciała *anty-HSPA2*. Najwyższy poziom białka HSPA2 stwierdzono w linii komórkowej A549 (nieдробnokomórkowy rak płuca). W komórkach hodowanych w warunkach prawidłowych białko HSPA2 zlokalizowane jest głównie w cytoplazmie. Natomiast w komórkach poddanych działaniu szoku termicznego HSPA2 przemieszcza się do jądra i ulega akumulacji w jąderkach. Szok termiczny powoduje także akumulację HSPA2 w centrosomach komórek interfazowych i mitotycznych.

Kolejnym etapem pracy była ocena cytoprotekcyjnej funkcji białka HSPA2. Stosując retrowirusowy transfer genu *HSPA2*, a następnie selekcję stabilnie transdukowanych komórek otrzymano linie komórkowe o zwiększonej ekspresji badanego białka. Wysoka, konstytutywna ekspresja białka HSPA2 nie wpływała w istotny sposób na przeżycie komórek poddanych działaniu podwyższonej temperatury, trucizn mitotycznych (winblastyny i paklitakselu), inhibitora topoizomerazy II (kamptotecyny) lub promieniowania UV. Stwierdzono natomiast, że nadekspresja białka HSPA2 zwiększyła zdolność do proliferacji komórek po zastosowaniu subletalnego szoku termicznego, jak i po zastosowaniu inhibitora proteasomu – MG132.

Powyższe badania wskazują na istotne różnice pomiędzy właściwościami białka HSPA2 i innych białek rodziny HSP70, oraz sugerują, że jedną z funkcji tego białka może być ochrona istotnych dla proliferacji białek komórkowych przed degradacją proteolityczną.