



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ

Τίτλος εκπονούμενης διατριβής:

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

1η έκθεση προόδου

ΜΑΙΟΣ 2023 - ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2023

Ονοματεπώνυμο Υποψήφιου Διδάκτορα: Γιάτρο Σπυρίδων Μάριος

Αριθμός Μητρώου: 2207

Επιβλέπων Καθηγητής: Ματσούκας Μίνως-Τιμόθεος, Επίκουρος Καθηγητής

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Ματσούκας Μίνως-Τιμόθεος, Επίκουρος Καθηγητής

Σκουρολιάκου Αικατερίνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Καλατζής Ιωάννης, Καθηγητής

Το αντικείμενο της διατριβής είναι η μελέτη των μοριακών μηχανισμών της κυτταρικής αποδιαφοροποίησης, της γήρανσης και της σχέσης μεταξύ τους. Η γήρανση σε κυτταρικό επίπεδο θεωρείται επιγενετικό φαινόμενο [1] και συνεπώς για την κατανόηση της είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους το κύτταρο ρυθμίζει το επιγονιδίωμα του δηλαδή την χρωματίνη του.

Στα πλαίσια αυτά έγινε ενδελεχής βιβλιογραφική έρευνα, με έμφαση πρώτα στην κατανόηση των μηχανισμών [2], των πρωτεϊνών που συμμετέχουν, καθώς και στις χημικές ενώσεις που φαίνεται να επηρεάζουν τα συσχετιζόμενα σηματοδοτικά μονοπάτια. Συγκεκριμένα δόθηκε έμφαση στον μεταγραφικό παράγοντα Oct4 (γονίδιο POU5F1), ο οποίος προσδένεται σε μια συγκεκριμένη αλληλουχία 8 νουκλεοτιδίων ATGCAAAT και πιθανώς και σε άλλες σε μικρότερο βαθμό [3] και προάγει την έκφραση μιας σειράς γονιδίων που σχετίζονται με την διατήρηση ή και την επαναφορά της πολυδυναμικότητας στο κύτταρο. Μεταξύ των γονιδίων αυτών είναι οι άλλοι δυο βασικοί μεταγραφικοί παράγοντες με καθοριστικό ρόλο στην διατήρηση της πολυδυναμίας. Ο πρώτος είναι ο Sox2 (Sex determining region Y-box 2) που φαίνεται ο ρόλος του στην αποδιαφοροποίηση να είναι η διατήρηση των επιπέδων έκφρασης του Oct4, ενώ παράλληλα δημιουργεί διμερές με τον Oct4 [4]. Ο δεύτερος είναι ο Homeobox protein NANOG (hNanog) που εμποδίζει την μεταγραφή γονιδίων που προωθούν την διαφοροποίηση [5]. Σηματοδοτικά μονοπάτια που ελέγχονται από τους παράγοντες αυτούς και ενδέχεται να μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση τους είναι τα μονοπάτια Wnt, BMP4, Nodal, Activin, ενώ στα ποντίκια αλλά όχι στον άνθρωπο, η πιο άμεση επίδραση πάνω στον Sox2 και συνεπώς στον Oct4 προκύπτει από το σηματοδοτικό μονοπάτι LIF [6]. Τα μονοπάτια αυτά αποτελούν πιθανούς στόχους για μικρά μόρια με σκοπό την επαγωγή της αποδιαφοροποίησης.

Αποδιαφοροποίηση μερικώς διαφοροποιημένων κυττάρων μπορεί να επιτευχθεί μόνο με το καλλιεργητικό μέσο εμβρυονικών βλαστοκυττάρων και βαλπροϊκό οξύ, χωρίς την εισαγωγή των παραγόντων Yamanaka. Το βαλπροϊκό οξύ είναι αναστολέας των αποακετυλασών των ιστόνων, [7]. Αποδιαφοροποίηση μπορεί να γίνει μόνο με το κοινό καλλιεργητικό μέσο DMEM high Glucose Medium και FBS σε συγκεκριμένες αναλογίες, τουλάχιστον μέχρι το επίπεδο των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων [8]. Αυτό δείχνει ότι το βαλπροϊκό οξύ ενισχύει την αποδιαφοροποίηση εμποδίζοντας την ρύθμιση του επιγονιδιώματος που βρίσκεται σε αναδιαμόρφωση, αλλά το ερώτημα είναι αν η αναστολή αυτή από μόνη της είναι αιτία για πλήρη ή μερική αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Το δεδομένο αυτό δίνει νέο ενδιαφέρον στην σχέση μεταξύ των αποακετυλασών των ιστόνων (HDACs) και της κυτταρικής γήρανσης.

Επόμενο βήμα της διατριβής προβλέπεται να είναι η μελέτη των μεταγραφικών παραγόντων δομικά και δυναμικά [9]. Συγκεκριμένα, θα μελετηθεί η αλληλεπίδραση του Oct4 με την αλληλουχία αναγνώρισης και η αποφυγή της παρεμπόδισης από τις ιστόνες. Επίσης θα γίνει ανάλυση των χημικών ενώσεων όπως το βαλπροϊκό οξύ ή άλλων που έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να προκαλέσουν χημικό επαναπρογραμματισμό [10]. Επίσης θα μελετηθούν σε μοριακό επίπεδο

με μεθόδους μοριακής πρόσδεσης και μοριακής δυναμικής οι δομές των πρωτεϊνών που σχετίζονται, ή ενδέχεται να σχετίζονται (όπως οι HDACs) με τις ενώσεις αυτές.

[1] Wang, Kang, et al. "Epigenetic regulation of aging: implications for interventions of aging and diseases." *Signal Transduction and Targeted Therapy* 7.1 (2022): 374.

[2] Jaenisch, Rudolf, and Richard Young. "Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming." *Cell* 132.4 (2008): 567-582.

[3] Jerabek, Stepan, et al. "OCT4: dynamic DNA binding pioneers stem cell pluripotency." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms* 1839.3 (2014): 138-154.

[4] Zhang, Shuchen, and Wei Cui. "Sox2, a key factor in the regulation of pluripotency and neural differentiation." *World journal of stem cells* 6.3 (2014): 305.

[5] MacCarthy, Caitlin M., et al. "OCT4 interprets and enhances nucleosome flexibility." *Nucleic Acids Research* 50.18 (2022): 10311-10327.

[6] Hassani, Seyedeh-Nafiseh, et al. "Signaling roadmap modulating naive and primed pluripotency." *Stem cells and development* 23.3 (2014): 193-208.

[7] Moschidou, Dafni, et al. "Valproic acid confers functional pluripotency to human amniotic fluid stem cells in a transgene-free approach." *Molecular Therapy* 20.10 (2012): 1953-1967.

[8] Zagoura, D. S., et al. "AF-MSCs fate can be regulated by culture conditions." *Cell Death & Disease* 4.4 (2013): e571-e571.

[9] MacCarthy, Caitlin M., et al. "OCT4 interprets and enhances nucleosome flexibility." *Nucleic Acids Research* 50.18 (2022): 10311-10327.

[10] Yang, Jae-Hyun, et al. "Chemically induced reprogramming to reverse cellular aging." *Aging (Albany NY)* 15.13 (2023): 5966.