



University of Cyprus  
Department of Biological  
Sciences

*Ph.D. Thesis Defense*

# *Student Presentation*

**Wednesday, 06 December 2023 at 10:00**  
**Building FST02, Room B228, Panepistimioupoli Campus**

<https://ucy.zoom.us/j/61441315150?pwd=c1JOYlITVWlWUm9PZWRBNlUw5cUhoQT09>

Meeting ID: 614 4131 5150

Passcode: 184086

*This seminar is open to the public*

## **Andria Theophanous**

*Thesis Supervisor: Prof. Niovi Santama*

**“ Η ΚΑΤΝΑΛ2, ΜΙΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΥΠΟΥ ΚΑΤΑΝΙΝΗΣ, ΣΥΜΜΕΤΕΧΕΙ ΣΤΗΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΟΥ RNA ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΜΕ ΤΟΝ ΚΟΡΥΦΑΙΟ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ UBF, ΤΟΥ ΟΠΟΙΟΥ Η ΑΠΟΣΙΩΠΟΙΗΣΗ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΑΠΟΡΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΔΙΚΤΥΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΩΝ ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΝΤΙΚΟΥ ”**

Η βιογένεση των ριβοσωμάτων αποτελεί πολύπλοκη διαδικασία κατά την οποία μεταγράφεται και τυγχάνει επεξεργασίας το πρόδρομο ριβοσωμικό RNA (rRNA), τα προϊόντα του οποίου τελικά ενσωματώνονται κατά τη συναρμολόγηση των λειτουργικών ριβοσωμικών υπομονάδων. Δυσλειτουργίες στην παραγωγή ριβοσωμάτων οδηγούν σε ασθένειες, τις ριβοσωμοπάθειες, συνεπώς, υπάρχει συνεχές ενδιαφέρον για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που διέπουν τις διαδικασίες αυτές. Προηγούμενη έρευνα του εργαστηρίου μας ανακάλυψε και χαρακτήρισε την πρωτεΐνη τύπου κατανίνης ΚΑΤΝΑΛ2 ως ένα πολυλειτουργικό ένζυμο που εντοπίζεται στους μικροσωληνίσκους και τα κεντροσωμάτια, εμπλέκεται στην κυτοκίνηση, την βλεφαριδογένεση και την δυναμική των μικροσωληνίσκων, επηρεάζοντας ταυτόχρονα και τον κυτταρικό κύκλο ζωής σε κύτταρα ποντικού<sup>1</sup>. Παράλληλα, τεκμηριώθηκε ότι η ΚΑΤΝΑΛ2 εμπλέκεται στην οργανογένεση των σπονδυλοζώων<sup>2</sup>.

Στη διδακτορική αυτή μελέτη, εντοπίσαμε την ΚΑΤΝΑΛ2, επιπλέον, στον πυρηνίσκο των κυττάρων, το πυρηνικό διαμέρισμα όπου διενεργείται η συγκρότηση των ριβοσωμικών

υπομονάδων. Ειδικότερα, παρατηρήσαμε ότι η KATNAL2 συν-εντοπίζεται στον πυρηνίσκο με πρωτεΐνες που έχουν καθιερωμένο ρόλο στη μεταγραφή και μέτα-μεταγραφική επεξεργασία των ριβοσωμικών γονιδίων, όπως είναι ο μεταγραφικός παράγοντας UBF και η μεθυλτρανσφεράση fibrillarin. Αξίζει να σημειωθεί ότι είναι η πρώτη φορά που πρωτεΐνη τύπου κατανίνης εντοπίζεται στον πυρηνίσκο. Παρόλο που έχει μελετηθεί εκτενώς η διαδικασία μεταγραφής και επεξεργασίας του rRNA και έχει καθιερωθεί ότι ο κορυφαίος ρόλος του UBF, εδώ, έχουμε δείξει ότι μια πρωτεΐνη τύπου κατανίνης εμπλέκεται σε αυτή τη διαδικασία και είναι μάλιστα ικανή να επηρεάσει τόσο τα πρωτεϊνικά επίπεδα του UBF, όσο και άλλων σημαντικών παραγόντων του δικτύου της διαδικασίας. Συγκεκριμένα, κατά τη μεταγραφική αποσιωποποίηση (silencing) της KATNAL2, διενεργήσαμε ποσοτικοποίηση των πρωτεϊνικών επιπέδων παραγόντων που συμμετέχουν στη δημιουργία του προεκκνητικού συμπλέγματος της μεταγραφής του rRNA, του UBF και της ενεργοποιημένης μορφής του pUBF (Ser484), του παράγοντα RRN3 και της ίδιας της πολυμεράσης POLR1, καθώς και των ενζύμων της μέτα-μεταγραφικής επεξεργασίας του rRNA TCOF1 και fibrillarin. Αυτή έδειξε ότι μειορρυθμίζονται σημαντικά. Επιπρόσθετα, η αποσιωποποίηση της KATNAL2 φαίνεται να επηρεάζει την ενσωμάτωση του FUrd στο νεοσυντιθέμενο rRNA, και ενδεχομένως την επεξεργασία του πρόδρομου rRNA.

Η εμπλοκή της KATNAL2 στη μεταγραφή του rRNA αποτέλεσε ενδιαφέρον εύρημα και η μείωση της έκφρασης του UBF υπό συνθήκες αποσιωποποίησής της έδωσε το έναυσμα για περαιτέρω μελέτη της λειτουργικής σχέσης μεταξύ των δύο πρωτεϊνών. Για το σκοπό αυτό, κατασκευάστηκαν μόνιμα αποσιωποημένες για τον UBF κυτταροσειρές. Συμπληρωματικά με τον ήδη γνωστό ρόλο του UBF στην διαμόρφωση της χρωματίνης στο rDNA και στην προώθηση της μεταγραφής, δείξαμε ότι η αποσιωποποίησή του διαταράσσει την έκφραση ενός ευρύτερου ανοδικού και καθοδικού δικτύου πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη μεταγραφή του rRNA και την έκβαση σηματοδοτικών μονοπατιών αύξησης, αναδεικνύοντας ακόμη περισσότερο τη σημασία του στη μεταγραφή του rRNA. Ειδικότερα, ανακαλύψαμε ότι η αποσιωποποίηση ενός και μόνο παράγοντα, του UBF, είναι ικανή να επηρεάσει αρνητικά σηματοδοτικά μονοπάτια ανοδικά από αυτόν, όπως είναι το mTOR, το οποίο ρυθμίζει και τη μεταγραφή του rRNA. Ταυτόχρονα, επηρεάζει αρνητικά τα πρωτεϊνικά επίπεδα της KATNAL2, της fibrillarin, και της TCOF1, γεγονός που ενισχύει το εύρημα για τη μεταξύ τους λειτουργική σχέση. Είναι γνωστό ότι εξωγενή σήματα ανάπτυξης, όπως τα θρεπτικά υλικά, επηρεάζουν καθοριστικά τη μεταγραφή του rRNA. Κατ' επέκτασιν, καταμετρήσαμε και δείξαμε ότι τα πρωτεϊνικά επίπεδα του pUBF και του μεταγραφικού παράγοντα RRN3 είναι μειωμένα στους αποσιωποημένους για τον UBF κλώνους και ανταποκρίνονται ευθέως στις αυξανόμενες συνθήκες ορού στο θρεπτικό υλικό. Ο μέχρι σήμερα αποδεδειγμένος τρόπος ρύθμισης της μεταγραφής από την POLR1 πραγματοποιείται μέσω της πρόσδεσής της στους υποκινητές των ριβοσωμικών γονιδίων. Στην μελέτη αυτή, δείξαμε ότι τα πρωτεϊνικά επίπεδα της υπομονάδας της POLR1, POLR1E, εντοπίζονται μειωμένα και αυξάνονται με την αύξηση της συγκέντρωσης του ορού σε συνθήκες αποσιωποποίησης του UBF έτσι, προτείνουμε ένα νέο τρόπο ρύθμισης της μεταγραφής διαμέσου της μείωσης της έκφρασης της POLR1.

Συνολικά, τα αποτελέσματά μας προσφέρουν νέα γνώση στο πεδίο της βιογένεσης των ριβοσωμάτων, εμπλέκοντας την KATNAL2 στη μεταγραφή/επεξεργασία του rRNA και υποστηρίζοντας παράλληλα τη στενή αλληλεπίδραση της με τον UBF. Τα νέα μας ευρήματα

συνεισφέρουν στη διεύρυνση της κατανόησης των βασικών μηχανισμών βιοσύνθεσης του rRNA μιας διαδικασίας ζωτικής σημασίας για το κύτταρο.

Μέρος της διατριβής έχει δημοσιευτεί ως ακολούθως:

Theophanous A, Christodoulou A, Mattheou C, Sibai DS, Moss T, Santama N. Transcription factor UBF depletion in mouse cells results in downregulation of both downstream and upstream elements of the rRNA transcription network. *J Biol Chem.* 2023 Sep 1;299(10):105203. doi: 10.1016/j.jbc.2023.105203. Epub ahead of print. PMID: 37660911.

---

<sup>1</sup>Ververis *et al.*, 2016

<sup>2</sup>Willsey *et al.*, 2018