



## Υπερέκφραση της πρωτεΐνης 14-3-3σ κατά την ανάπτυξη νεφρικών παθολογιών

Μ. Ρίζου, Ε Φράγκου, Ν. Πράκουρα, Π. Καββαδάς, Χ. Χατζηαντωνίου, Χ. Γακιοπούλου, Γ. Λιάπης, Α. Χαρώνης



# Η -omics προσέγγιση στην μελέτη των νεφροπαθειών

---

## 1. Πρωτεομική ανάλυση στο ζωικό μοντέλο UUO → Calreticulin

Proteomics. 2008 Jun;8(12):2407-19. doi: 10.1002/pmic.200700831.

### **Altered expression of calreticulin during the development of fibrosis.**

Kypreou KP<sup>1</sup>, Kawadas P, Karamessinis P, Peroulis M, Alberti A, Sideras P, Psarras S, Capetanaki Y, Politis PK, Charonis AS.

Am J Pathol. 2013 Nov;183(5):1474-87. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.07.014. Epub 2013 Sep 11.

### **Epithelial calreticulin up-regulation promotes profibrotic responses and tubulointerstitial fibrosis development.**

Prakoura N<sup>1</sup>, Politis PK, Ihara Y, Michalak M, Charonis AS.

Sci Rep. 2016 May 18;6:26235. doi: 10.1038/srep26235.

### **Whole-transcriptome analysis of UUO mouse model of renal fibrosis reveals new molecular players in kidney diseases.**

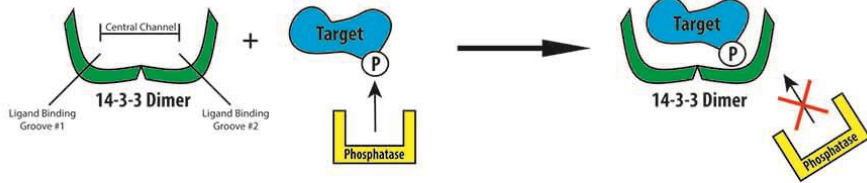
Arvaniti E<sup>1</sup>, Moulos P<sup>2</sup>, Vakrakou A<sup>1</sup>, Chatziantoniou C<sup>3</sup>, Chadjichristos C<sup>3</sup>, Kavvadas P<sup>3</sup>, Charonis A<sup>1</sup>, Politis PK<sup>4</sup>.

## 2. Πρωτεομική ανάλυση σε σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα που υπερεκφράζουν calreticulin → 14-3-3

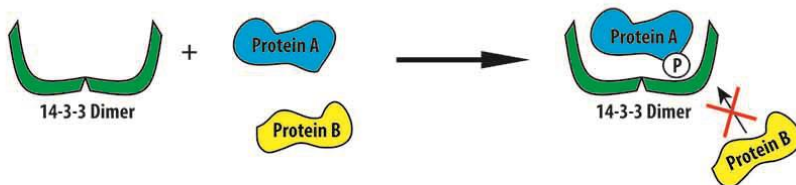
# Πρωτεΐνες 14-3-3

- Όξιμες πρωτεΐνες, MB 28-33 kDa, επτά ισομορφές των 14-3-3 πρωτεϊνών από επτά διαφορετικά γονίδια
- Εκφράζονται σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Η έκφραση των ισομορφών στα κύτταρα και στους ιστούς διαφέρει.
- **Παίζουν ρόλο στη ρύθμιση πολλών σηματοδοτικών μονοπατιών.**

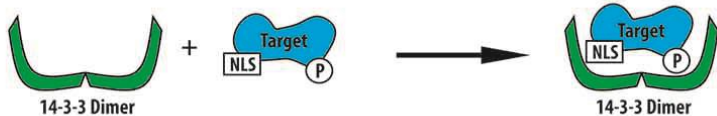
**A** Protection of phosphorylation sites from phosphatases



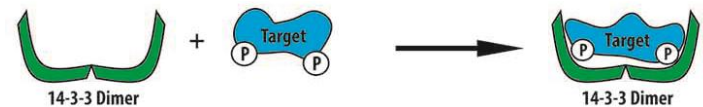
**B** Blocking protein-protein or protein-DNA interactions



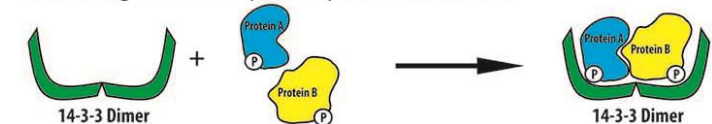
**C** Occlusion of nuclear localization sequence (NLS) altering subcellular localization



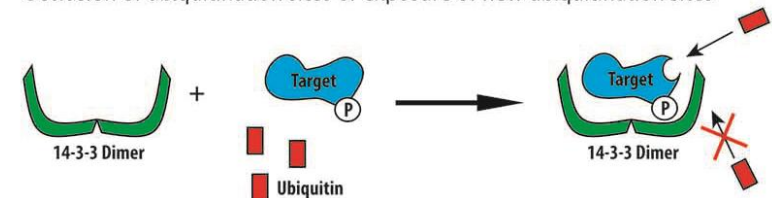
**D** Direct structural changes of target by acting as a rigid structure



**E** Scaffolding to facilitate protein-protein interactions



**F** Occlusion of ubiquitination sites or exposure of new ubiquitination sites



# Σκοπός της μελέτης

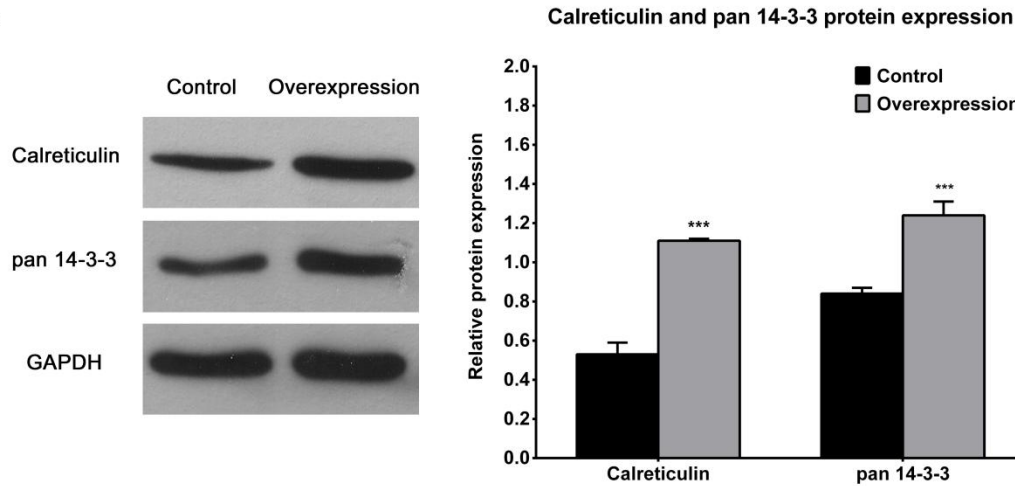
---

- Διερεύνηση του ρόλου των μελών της οικογένειας των 14-3-3 πρωτεϊνών και κυρίως της ισομορφής 14-3-3σ, κατά την ανάπτυξη των νεφρικών παθολογιών
- Διερεύνηση του πιθανού μηχανισμού ρύθμισης της έκφρασης της 14-3-3σ.

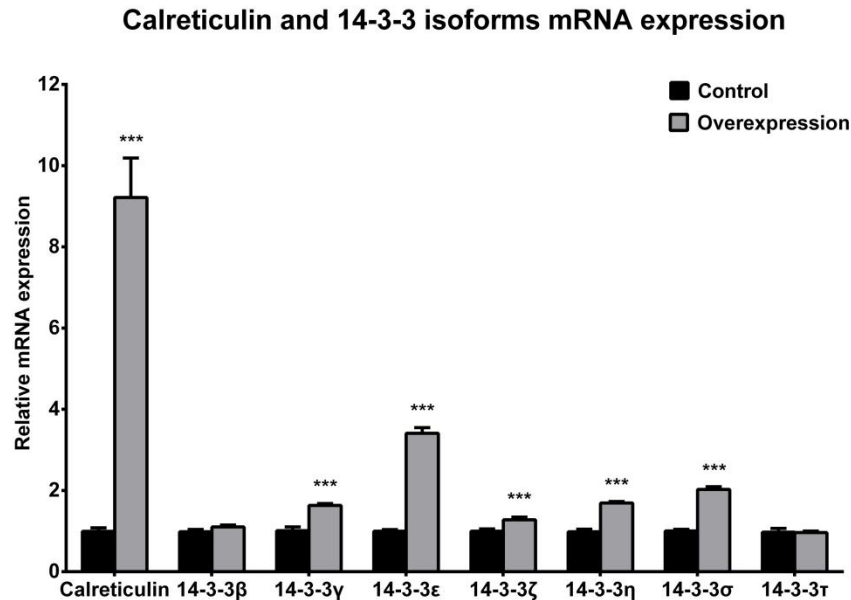
# Έκφραση των πρωτεϊνών 14-3-3 *in vitro*

- Μελέτη σε σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα που υπερεκφράζουν calreticulin

**A**

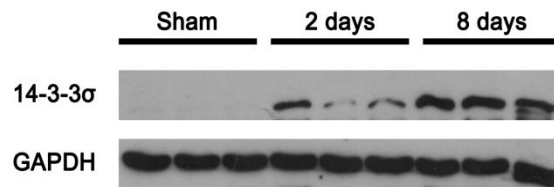
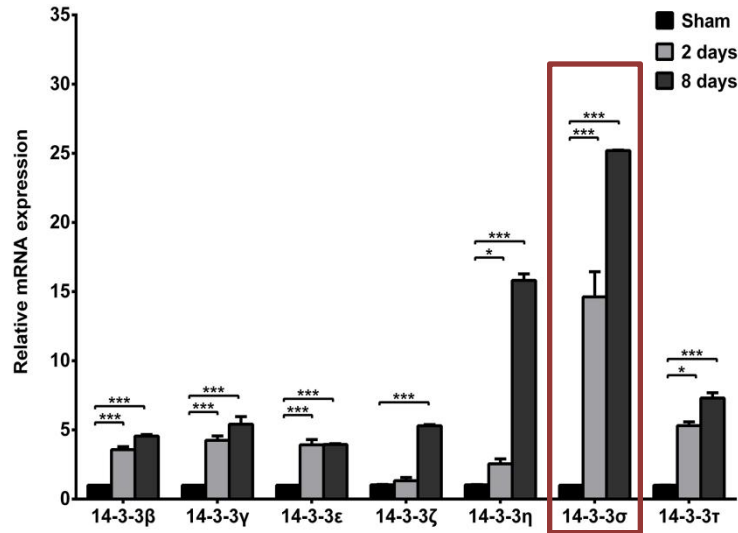


**B**

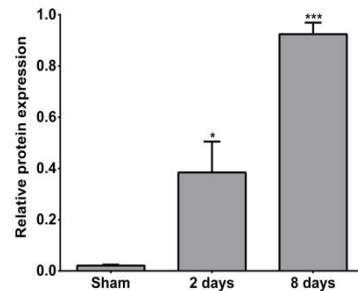


# Έκφραση των πρωτεϊνών 14-3-3 στο μοντέλο UUO

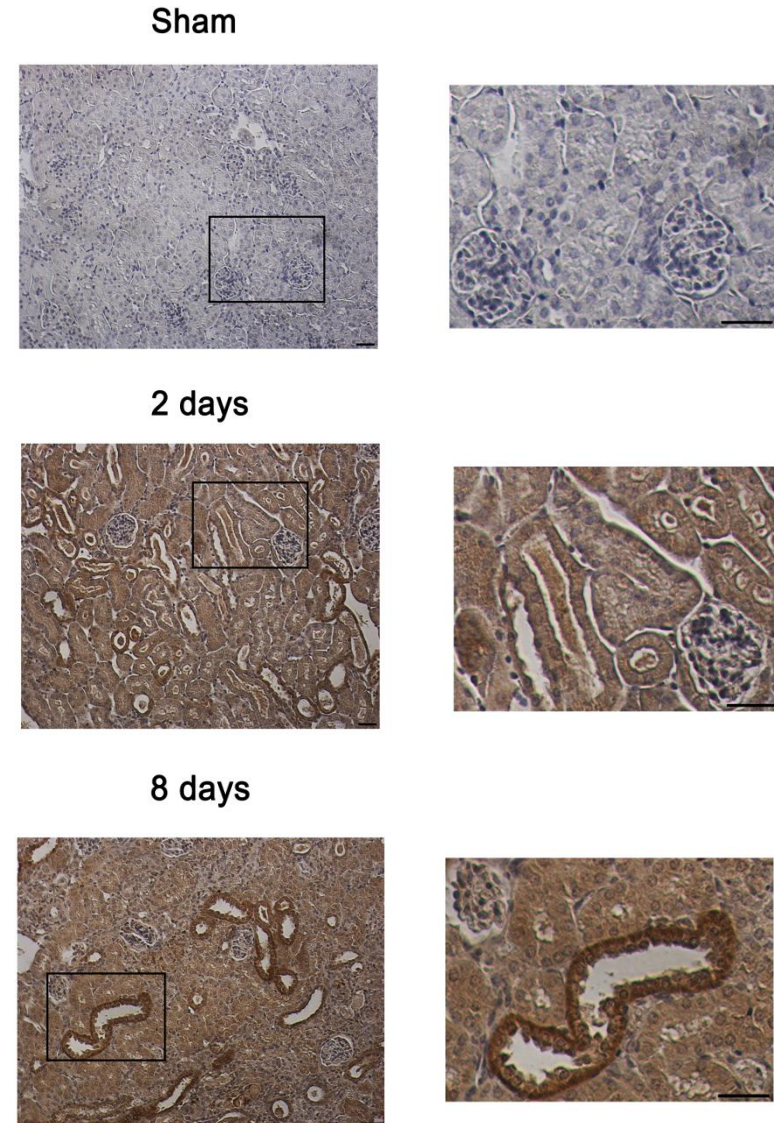
14-3-3 isoforms mRNA expression



14-3-3σ protein expression

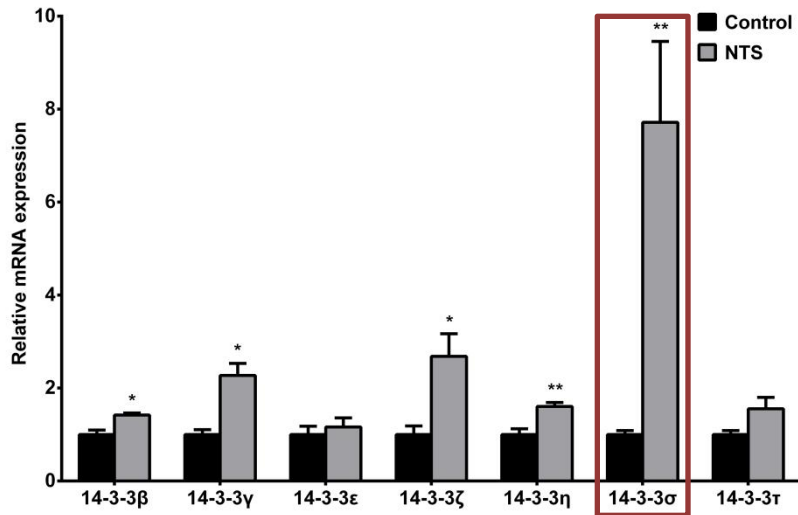


Immunohistochemistry for 14-3-3σ in mouse UUO

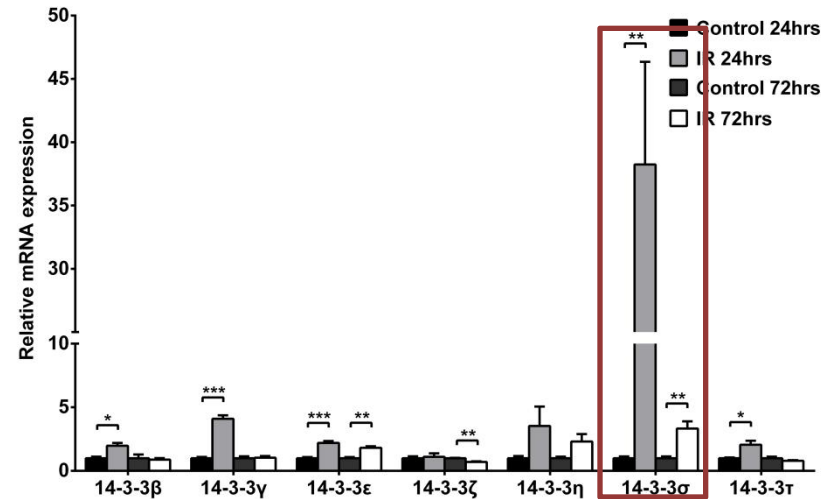


# Έκφραση των πρωτεϊνών 14-3-3 στα μοντέλα NTS και IR

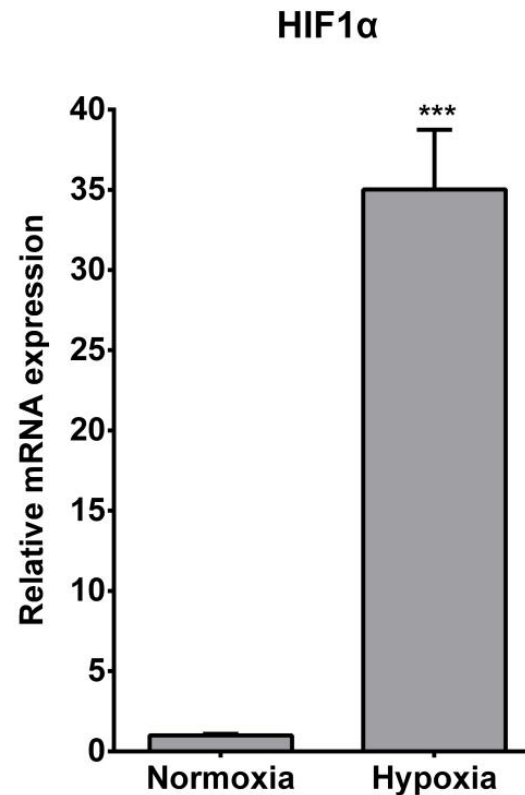
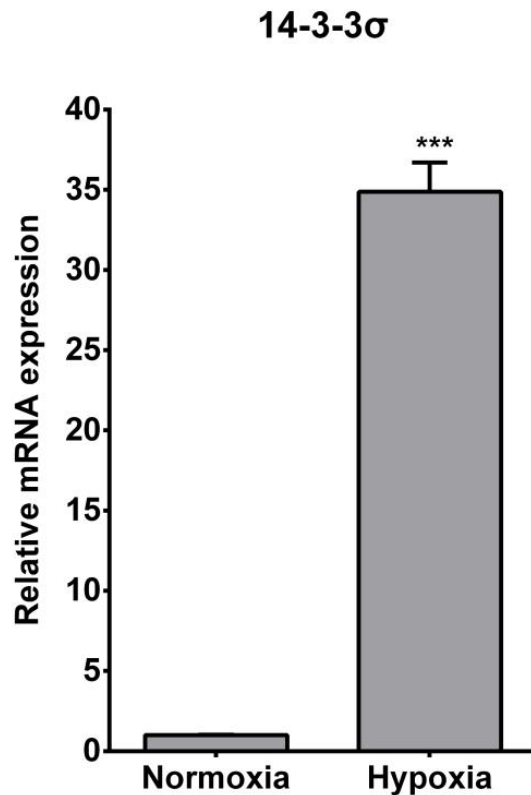
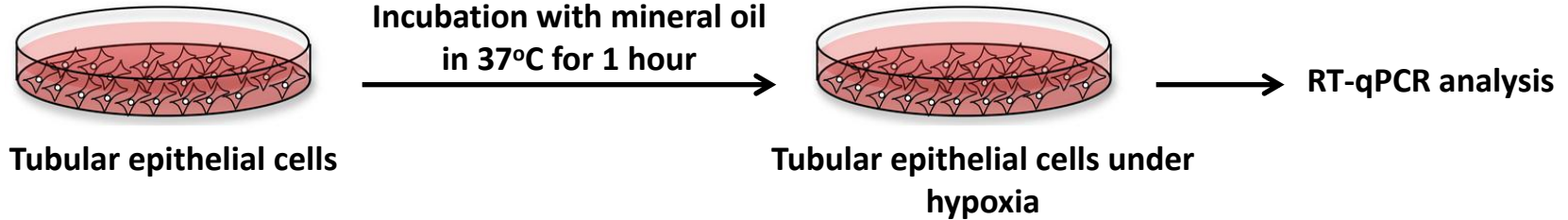
14-3-3 isoforms mRNA expression in NTS model



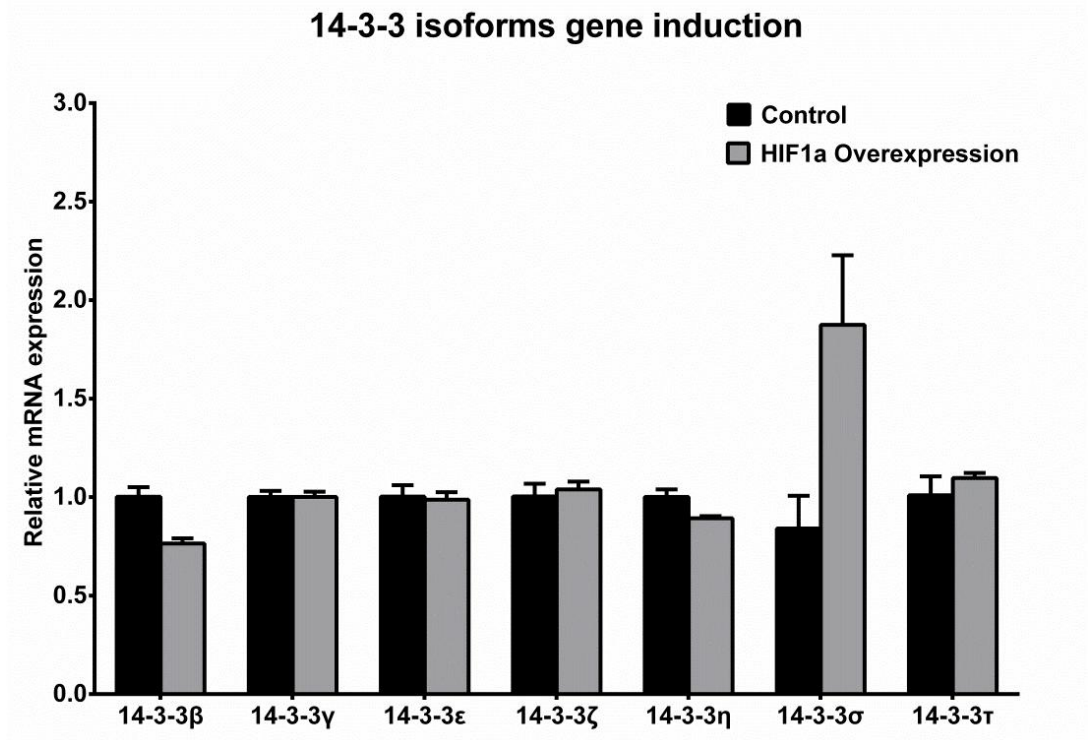
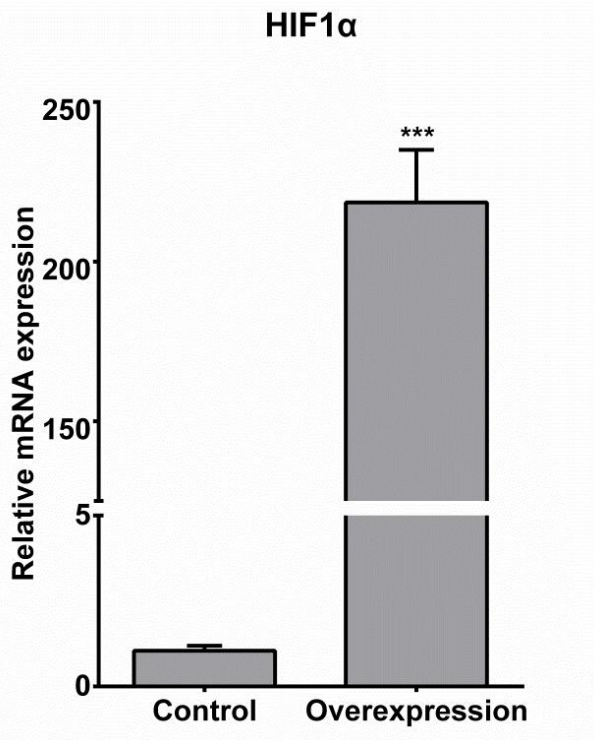
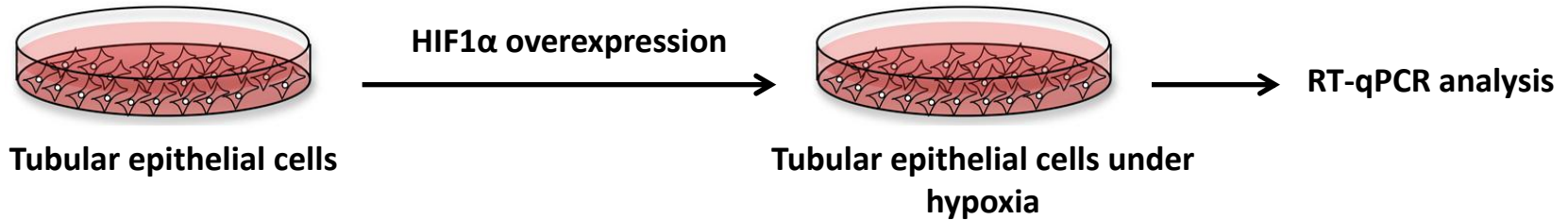
14-3-3 isoforms mRNA expression in IR model



# Η υποξία επάγει την έκφραση της 14-3-3σ *in vitro*



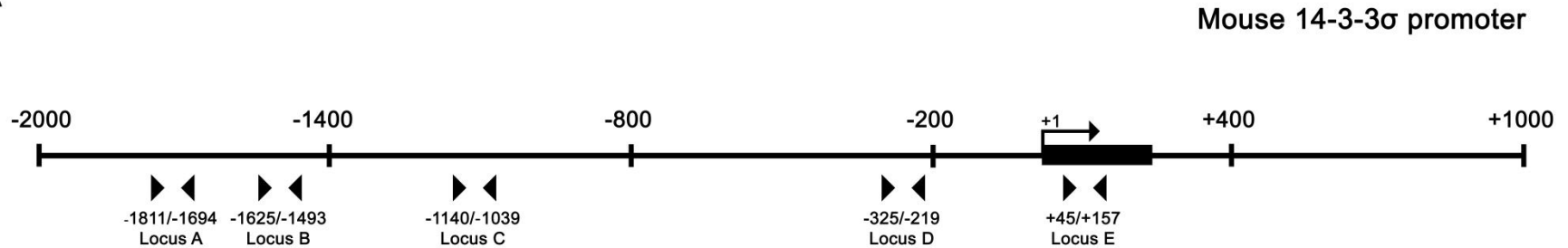
# Η υποξία επάγει την έκφραση της 14-3-3σ *in vitro*



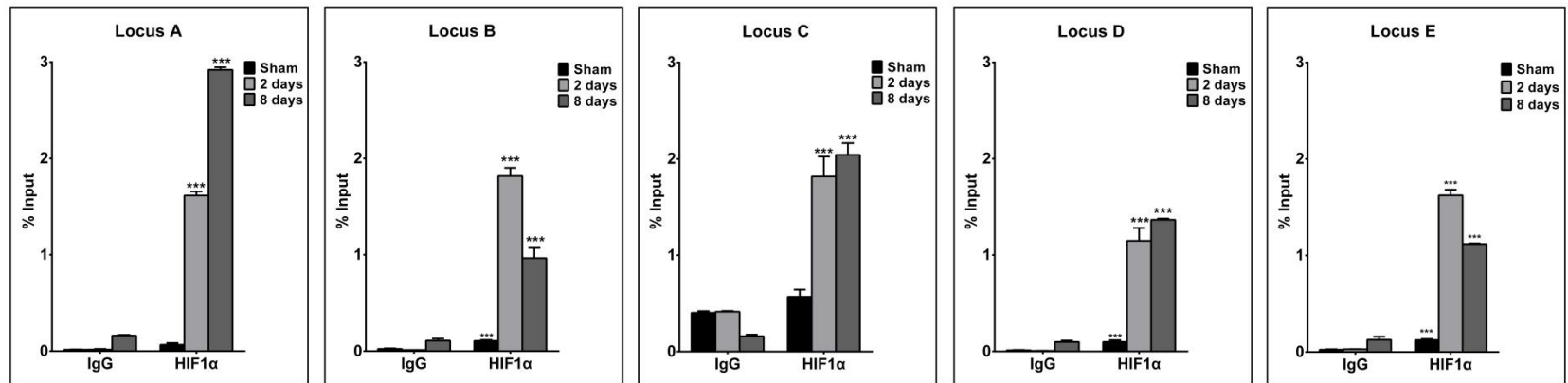
# Ο HIF1α αλληλεπιδρά με τον υποκινητή της 14-3-3σ *in vivo*

## ChIP analysis in mouse UUO model

A



B



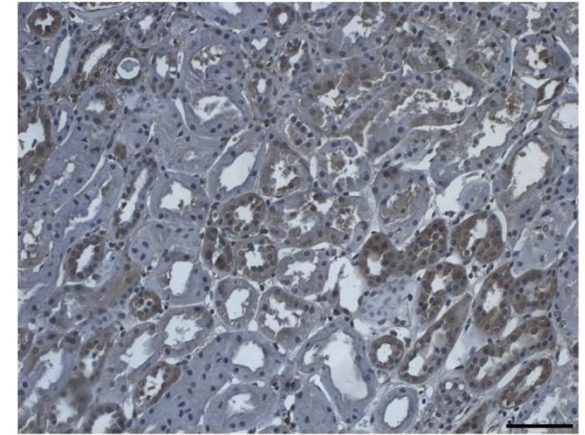
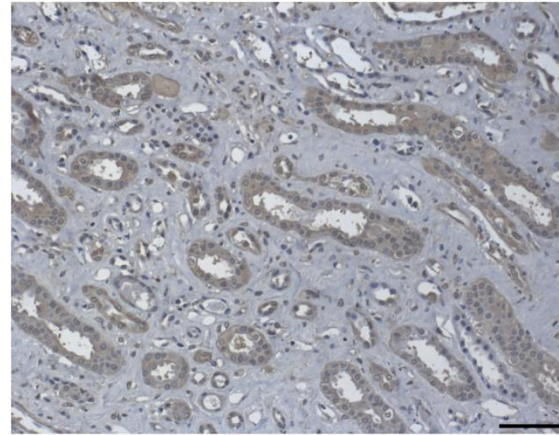
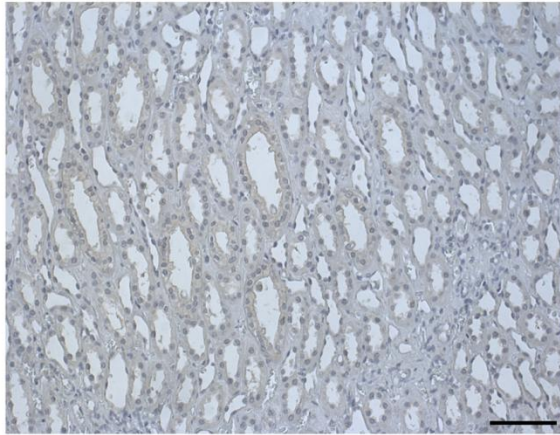
# Έκφραση των 14-3-3 πρωτεϊνών σε νεφροπάθειες

Control

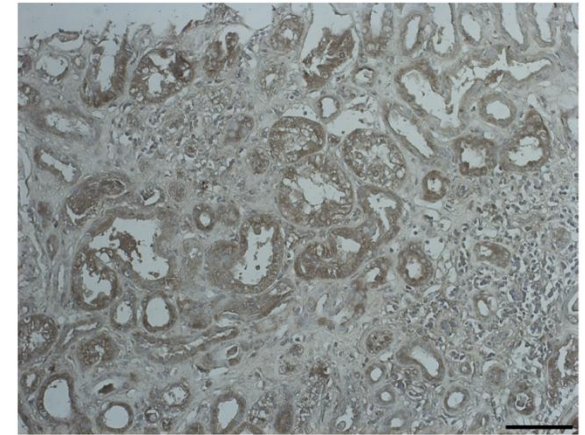
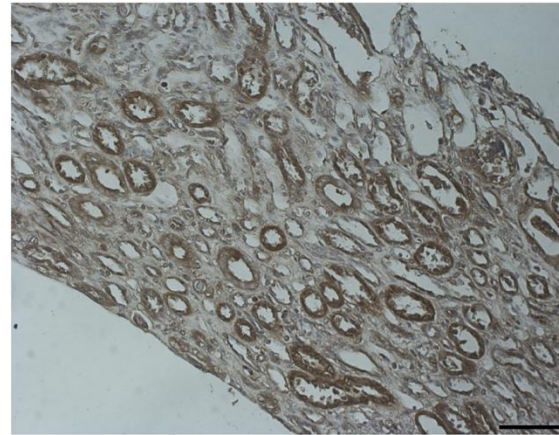
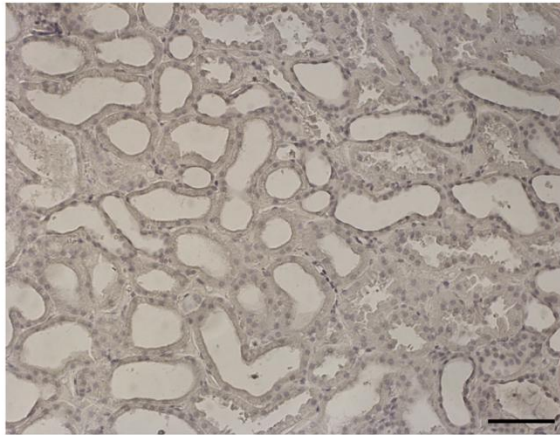
IgA Nephropathy

Membranous Nephropathy

pan 14-3-3



14-3-3σ



# Συμπεράσματα

---

- Οι πρωτεΐνες 14-3-3 εντοπίζονται στα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα που υπερεκφράζουν calreticulin.
- Η πλειοψηφία των 14-3-3 ισομορφών υπερεκφράζονται σε ζωικά μοντέλα νεφρικών παθήσεων (UUO, NTS, IR). Η ισομορφή **14-3-3σ** παρουσιάζει την μεγαλύτερη αύξηση στην έκφραση της και στα τρία μοντέλα.
- Η υποξία επάγει την έκφραση της 14-3-3σ *in vitro*.
- Ο μεταγραφικός παράγοντας HIF1α αλληλεπιδρά με τον υποκινητή της 14-3-3σ *in vivo*.
- Η πρωτεΐνη 14-3-3σ εντοπίζεται στα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα ασθενών με IgA και Μεμβρανώδη νεφροπάθεια.

**THE FAMILY OF 14-3-3 PROTEINS AND SPECIFICALLY 14-3-3 $\sigma$  ARE  
UPREGULATED DURING THE DEVELOPMENT OF RENAL PATHOLOGIES**

Myrto Rizou<sup>1\*</sup>, Eleni A. Frangou<sup>1\*</sup>, Filio Marineli<sup>1</sup>, Harikleia Gakiopoulou<sup>2</sup>, George Liapis<sup>2</sup>,  
Niki Prakoura<sup>1,3</sup>, Jerome Zoidakis<sup>1</sup>, Panagiotis Kavvadas<sup>3</sup>, Christos Chatziantoniou<sup>3</sup>,  
Manousos Makridakis<sup>1</sup>, Antonia Vlahou<sup>1</sup>, John Boletis<sup>4</sup>, Demetrios Vlahakos<sup>5</sup>, Dimitrios  
Goumenos<sup>6</sup>, Evgenios Daphnis<sup>7</sup>, Christos Iatrou<sup>8</sup>, Aristidis S. Charonis<sup>1</sup>

# Thank you!

**Dr Charonis lab, BRFAA**

**Dr Elena Frangou**

Valeria Kaltezioti, MSc, lab technician

George Barkas, PhD candidate

Dora Manolakou, MSc student

**Dr Chatziantoniou lab, INSERM**

Niki Prakoura, PhD

Panos Kavvadas, PhD

**Medical School, Athens**

Dr Hara Gakiopoulou

Dr George Liapis