

TP53 mutációk és az energiaháztartás összekapcsolása emlő tumorban



Harami-Papp Hajnalka¹, Horvath Gergő², M. Nagy Ádám², Ambrus Attila², Hauser Péter³, Tretter Laszló², Györfly Balázs¹

¹ MTA TTK Lendület Onkológiai Biomarker Kutatócsoport, Budapest, ² Semmelweis Egyetem, Orvosi Biokémiai Intézet, Budapest, ³ Semmelweis Egyetem, II. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest



Bevezetés

Tumor progressziót segítő jellemzők: 1. Genom instabilitás 2. Immunválasz elkerülése 3. Gyulladás 4. Megváltozott anyagcsere

Warburg effektus: tumor sejtekben megnő az aerob glikolízis aránya

Daganatok >50%-ra jellemző a tumorszupresszor *TP53* gén mutációja, mely bizonyítottan szerepet játszik a tumor progresszióban.

VIZSGÁLAT CÉLJA:

TP53 mutáns és vad típusú emlő tumor sejtvonalak metabolikus összehasonlítása. Olyan, a sejt energiaháztartásában szerepet játszó gének azonosítása, melyekre hatással van a TP53 gén mutációja.

Módszerek

In silico elemzés:

- TCGA (The Cancer Genome Atlas) adatbázisból emlő tumoros betegek gén expressziós mintázatát, és újgenerációs szekvenálás adatainak feldolgozása. (Kép 1.)
- Normál TP53 (**wtTP53**) és mutáns TP53 (**mutTP53**) közötti gén expressziós mintázatbeli különbséget ROC analízissel állapítottuk meg. Szignifikancia küszöb: $0,7 < AUC$ és $0,05 < p$.

In vitro vizsgálatok:

- TP53 mutáció validálása három emlő tumor sejtvonalon PCR-rel és Sanger szekvenálással
- wtTP53 és mutTP53 sejtvonalak mitokondriális és glikolitikus aktivitásának mérését mikrofluoriméterrel, metabolikus inhibitorok jelenlétében.

Eredmények

In silico elemzés eredményei:

- TP53 mutáció által befolyásolt metabolikus gének (Kép 1.)
- Ezen gének expressziója szignifikánsan eltér a wtTP53 és mutTP53 betegek transzkriptomjában (példa gének Kép 2.).

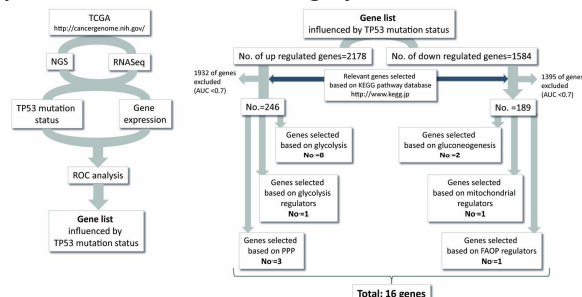
In vitro eredmények:

- Három emlő tumor sejtvonalon TP53 státusza (Kép 3.): MCF-7^{wt}, MDA-MB-231^{mut}, JIMT-1^{mut}
- Mitokondriális O₂ felvétel mérése (OCR) (Kép 4.)
 - Alap O₂ felvétel MCF-7^{wt} > MDA-MB-231^{mut} és JIMT-1^{mut} (Kép 4. A). Legmagasabb mitokondriális aktivitás: MCF-7^{wt} (Kép 4. B)
 - Glukóz hozzáadásakor oxigén fogyasztás csökkenés, mutTP53 > wtTP53 mértékben (Kép 4. B és E)
- Extra celluláris pH változás mérése (ECAR) (Kép 4.)
 - MCF-7^{wt} alap savképzése > MDA-MB-231^{mut} és JIMT-1^{mut} (Kép 4. C).
 - Glukóz hozzáadásakor mutTP53 sejtvonalak savképzése > mint a wtTP53 sejtvonala (Kép 4.F). Legnagyobb mértékű savképzés a JIMT-1^{mut} esetében.

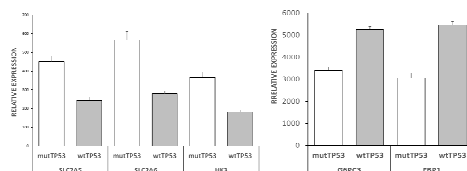
Következtetés

A tumorokban legtöbb mutációt tartalmazó TP53 tumorszupresszor gén és a metabolizmus kapcsolatát vizsgáltuk. A TP53 mutációja az energiaháztartást több szinten is befolyásolhatja, ezáltal különböző tumor-jellemzők szinergisztikus aktiválódását okozhatja.

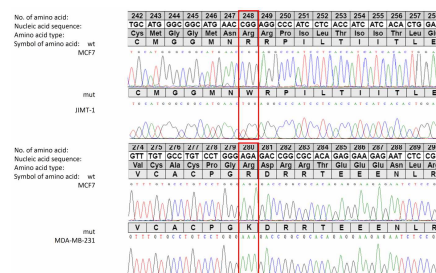
Kép 1. In silico elemzés összefoglalja



Kép 2. Metabolikus gének expressziója mutTP53 és wtTP53 betegek emlő tumor mintáiban



Kép 3. TP53 mutáció a három emlő tumor sejt vonalban



Kép 4. Metabolikus paraméterek meghatározása Seahorse XF96 extra celluláris flux analízissel

