



**Δράση «Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό» ID 16618**

Εθνικό δίκτυο έρευνας για την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson, την ανίχνευση αξιόπιστων βιοδεικτών και την ανάπτυξη καινοτόμων υπολογιστικών τεχνολογιών και θεραπευτικών στρατηγικών στη βάση της ιατρικής ακριβείας (BRAIN PRECISION, TAEDR-0535850)

**ΤΙΤΛΟΣ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ:** Εφαρμογή συγκριτικών omics-τεχνολογιών στον υγιή και νευροεκφυλισμένο εγκέφαλο των THY-Tau22 ποντικών

**ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 4:** Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson.

**ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ):** ΜΑΡΙΑ ΓΑΪΤΑΝΟΥ (ΕΙΠ)

## Εφαρμογή συγκριτικών omics-τεχνολογιών στον υγιή και νευροεκφυλισμένο εγκέφαλο των THY-Tau22 ποντικών

### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Στην παρούσα μελέτη θα πραγματοποιηθεί συγκριτική ChIP-seq και πρωτεομική ανάλυση των αλληλεπιδράσεων της πυρηνικής πρωτεϊνικής κινάσης Mirk/Dyrk1B, τόσο στον υγιή όσο και στον νευροεκφυλισμένο εγκέφαλο στα THY-Tau22 ποντίκια, ηλικίας 6 μηνών αναφορικά με τις πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις της κινάσης Mirk/Dyrk1B με μεταγραφικούς παράγοντες, ιστόνες και παράγοντες αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. Προσδιορισμός των αλληλουχιών DNA, οι οποίες συγκατακρημνίζονται με την κινάση DyrK1B. Η μελέτη αυτή θα συμβάλει στη διαλεύκανση διαφορικών επιγενετικών τροποποιήσεων ανάμεσα στον υγιή και νευροεκφυλισμένο εγκέφαλο των THY-Tau22 ποντικών.

### ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΥΛΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ – ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΟΦΕΛΗ

Πραγματοποιήθηκε συλλογή ιπποκάμπων από τον εγκέφαλο ποντικών THY-Tau22 καθώς και των αντίστοιχων ποντικών ελέγχου (NTL), ηλικίας 6 μηνών (n=15 ιστοί από την κάθε περίπτωση) με σκοπό την συγκριτική πρωτεομική ανάλυση. Επειδή κατά την υλοποίηση του έργου υπήρξαν σημαντικά προβλήματα στην αναπαραγωγή των THY-Tau22 ποντικών, όπως εξηγείται και παρακάτω, ο ελάχιστος αριθμός ιστών συλλέχθηκε προς το τέλος του έργου με αποτέλεσμα η πρωτεομική ανάλυση να βρίσκεται τώρα σε εξέλιξη. Η ανάλυση πραγματοποιείται στην πρωτεομική πλατφόρμα του Ινστιτούτου Φλέμινγκ. Τα πρωτεϊνικά εκχυλίσματα και από τους δύο τύπους δειγμάτων (ιπποκάμποι THY-Tau22 και NTL ποντικών) θα υποβληθούν σε ενζυμική πέψη ακολουθώντας το πρωτόκολλο Single-Pot Solid-Phase-enhanced Sample Preparation (SP3). Στη συνέχεια, τα σύμπλοκα πρωτεΐνης-σφαιριδίων θα υποβληθούν σε πέψη όλη τη νύχτα στους 37 °C χρησιμοποιώντας 0,5 μg μείγματος Trypsin/LysC (βαθμού MS, Promega, Madison, WI, ΗΠΑ) σε 25 mM όξινο ανθρακικό αμμώνιο και στη συνέχεια θα οδηγηθούν σε Υγρή Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας Tandem (LC-MS/MS) χρησιμοποιώντας το σύστημα LC-MS/MS Dionex Ultimate 3000 nanoRSLC που είναι συνδεδεμένο με φασματόμετρο μάζας Thermo Scientific Q Exactive HF-X Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ΗΠΑ). Η άμεση έγχυση θα ακολουθηθεί από χρωματογραφικό διαχωρισμό σε αναλυτική στήλη C18 25 cm (PerSep, σωματίδια 1,9 μm, εσωτερική διάμετρος 75 μm) χρησιμοποιώντας βαθμίδωση μίας ώρας.