



# אפיון האימפורטינים האחראים על הכנסת החלבונים PKM2, AMPK לגרעין תא סרטני לאחר גירוי גלוקוז

## תוצאות

- ✓ הדינמיקה התוך-תאית של החלבון הנחקר AMPK לא משתנה כלל לאורך זמני הגירוי- נצפה בצבע ירוק בגרעין התא בלבד (איור 1).
- ✓ הדינמיקה התוך-תאית של החלבון הנחקר PKM2 משתנה (בזמן 0 נצפה בצבע ירוק בגרעין אך לאורך הגירוי התפזר לכל חלקי התא), אך אינה תואמת לדינמיקה של אף אימפורטין (איור 2).
- ✓ האימפורטינים 4,5 מקבוצת בטא-לייק שינו את הדינמיקה התוך-תאית שלהם כך שהם נצפים בגרעין התא לאחר 15 דק' גירוי (4-בצבע ירוק, 5-אדום), אך לאחר 30 דק' גירוי נוכחים בציטופלסמה (איור 3, 4).
- ✓ האימפורטינים מקבוצת בטא לייק (2, 3, 7, 8, 9, 11, 12, 13) ואימפורטין אלפא לא שינו את הדינמיקה התוך תאית שלהם עקב גירוי גלוקוז.

## מבוא

אחד התנאים ההכרחיים הדרושים לקיומו ותפקודו של תא, על אחת כמה וכמה קיומו של תא סרטני, הינו אנרגיה זמינה. לכן, התא הסרטני מבצע התאמה של ייצור האנרגיה, הנקראת "אפקט רובורג". אפקט רובורג מאפשר קצב ייצור גבוה יותר של מולקולות אנרגיה - ייצור של כפי מאה יותר מולקולות אנרגיה מאשר תא רגיל.

במחקרים קודמים נמצא כי לאחר גירוי גלוקוז המפעיל את אפקט רובורג בתא הסרטני, מוכנסים אל גרעין התא החלבונים AMPK, PKM2.

החלבונים AMPK ו-PKM2 תורמים לתא הסרטני בדרכים שונות. AMPK אחראי על וויסות ההומוסטאזיס האנרגטי בתא (שומר על האיזון בתא אשר נמצא תחת לחץ רב עקב שכפול מוגבר ובלתי פוסק של תאים). PKM2 מעורב בוויסות תעתיק גנים והתאמה מטאבולית בתא הסרטני.

חלבונים אלו נכנסים לגרעין התא באמצעות חלבוני העברה הנקראים "אימפורטינים". חלבוני העברה מחולקים לשלוש קבוצות- אלפא, בטא ובטא לייק. אלפא ובטא פועלים בשיתוף פעולה, כאשר אימפורטין אלפא מזהה את החלבון המיועד ברצף NLS (רצף חומצות אמינו המאפשר הכנסה של החלבון לגרעין), ואימפורטין בטא מעביר את החלבון לקרום התא. אימפורטין בטא לייק פועל בדומה לבטא, אך ללא הצורך באימפורטין אלפא (בתיוג NLS).

## מטרת המחקר

אפיון האימפורטינים האחראים על הכנסת החלבונים הנבדקים AMPK, PKM2 לגרעין התא הסרטני לאחר מתן גירוי גלוקוז.

## מהלך המחקר

בפרויקט זה נעשה שימוש בתאי סרטן שד MCF7, אשר עברו סטימוציית גלוקוז למשך 15 ו-30 דקות. כביקורת - התאים לא עוברים סטימוצייה (נשארים ללא טיפול, זמן 0).

מיקום החלבון (גרעין/ ציטופלסמה), בזמנים השונים (0, 15, 30), נבדק באמצעות בשיטת צביעה אימונוהיסטוכימית.

## מסקנות

תוצאות המחקר הראו כי רוב האימפורטינים לא מעורבים בהכנסת החלבונים לגרעין לאחר גירוי גלוקוז. תוצאות אלו עולות בקנה אחד עם ההשערה, שכל אימפורטין מגיב לגירוי ספציפי, ולכן לא ייתכן שכלל החלבונים מגיבים לאותו סוג גירוי.

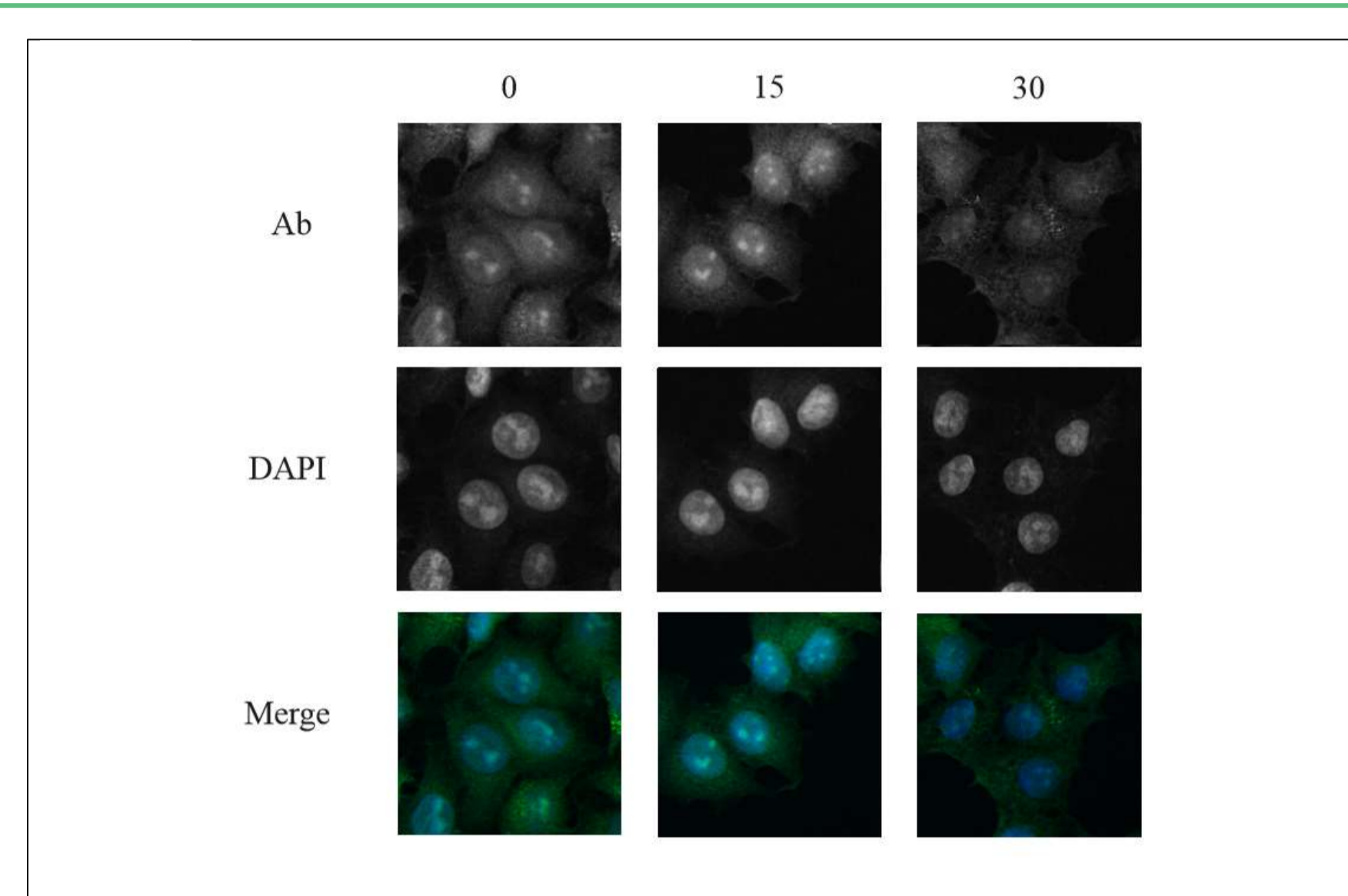
החלבון AMPK לא שינה את הדינמיקה התוך תאית שלו לאורך זמני הגירוי. הסבר אפשרי לכך הוא העובדה כי תא סרטני מתחלק בצורה בלתי מבוקרת. משמע, בתא הסרטני ישנם פקטורי גדילה אשר אחראים על השכפול הבלתי מבוקר של התאים הסרטניים אשר מצויים בגרעין התא.

הדינמיקה התוך-תאית של החלבון PKM2 השתנתה בעקבות גירוי גלוקוז. תוצאות אלו לא התאימו לאף דינמיקה תוך-תאית של האימפורטינים הנבדקים, והן מעלות השערה שכלל הנראה ישנו מנגנון אחר באמצעותו משתנה הדינמיקה של החלבון PKM2 לאחר גירוי גלוקוז.

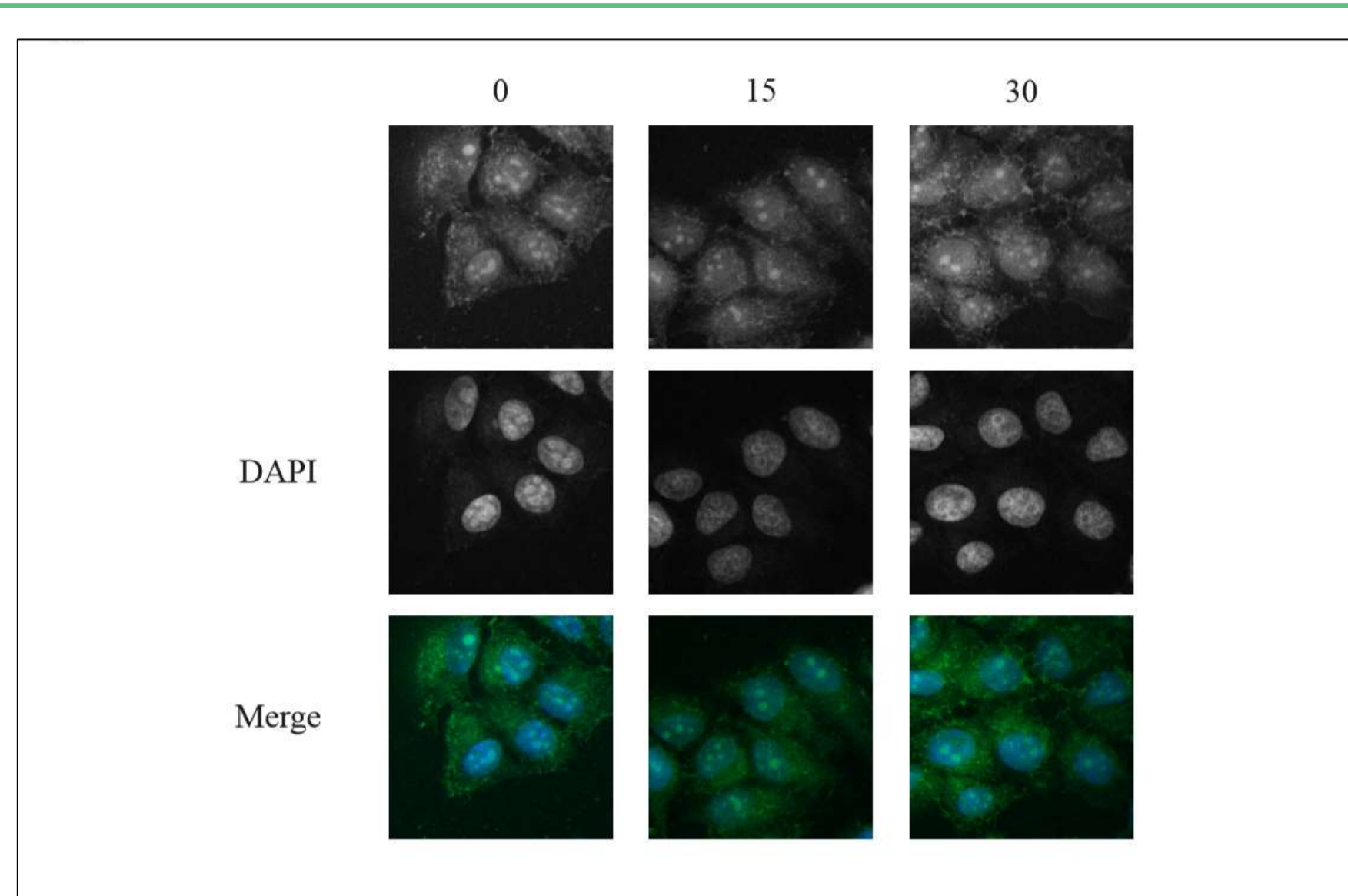
אימפורטין 4 ואימפורטין 5 גם כן שינו את הדינמיקה התוך תאית שלהם. על כן, אנו משערים כי אימפורטינים אלו מעורבים בהכנסה של חלבונים אחרים לגרעין התא לאחר גירוי גלוקוז.

## חשיבות המחקר

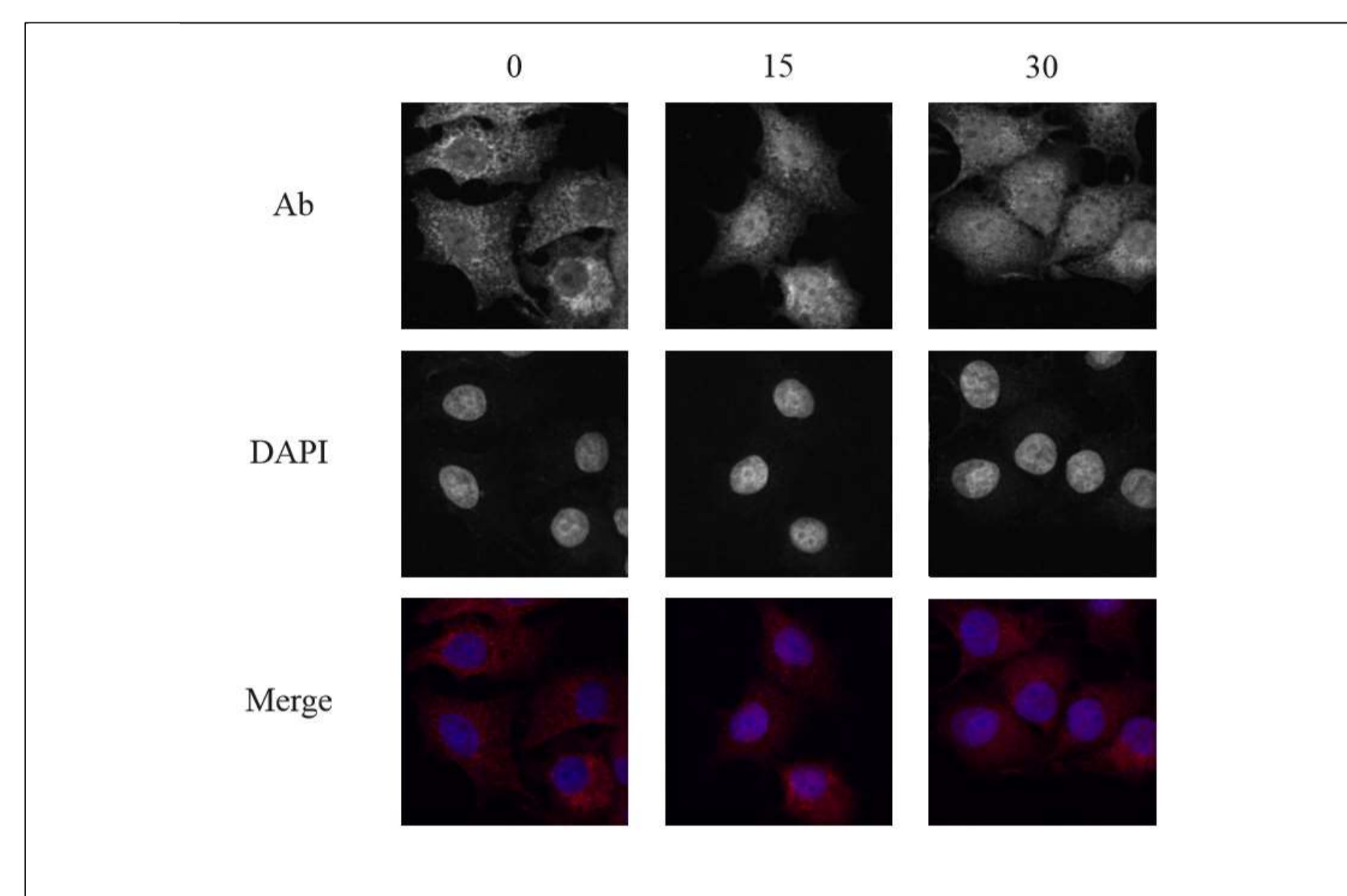
היות ותהליך ייצור האנרגיה בתא הסרטני (אפקט רובורג) נחשב לאחד מן המסלולים החשובים והקריטיים ביותר עבור קיום תא סרטני, תוצאות אלו בעלות חשיבות רבה. לא נודע על מעורבותם של אימפורטינים 4,5 בסרטן שד MCF7. גילוי החלבונים הקשורים לאימפורטינים 4,5 ירחיב את הידע אודות אפקט רובורג ובעתיד, יכול להוביל למציאת תרופה פוטנציאלית לסרטן שכן נטרול או עיכוב חלבונים אלו עלול להוביל למוות תאי (עקב פגיעה בתהליך ייצור האנרגיה).



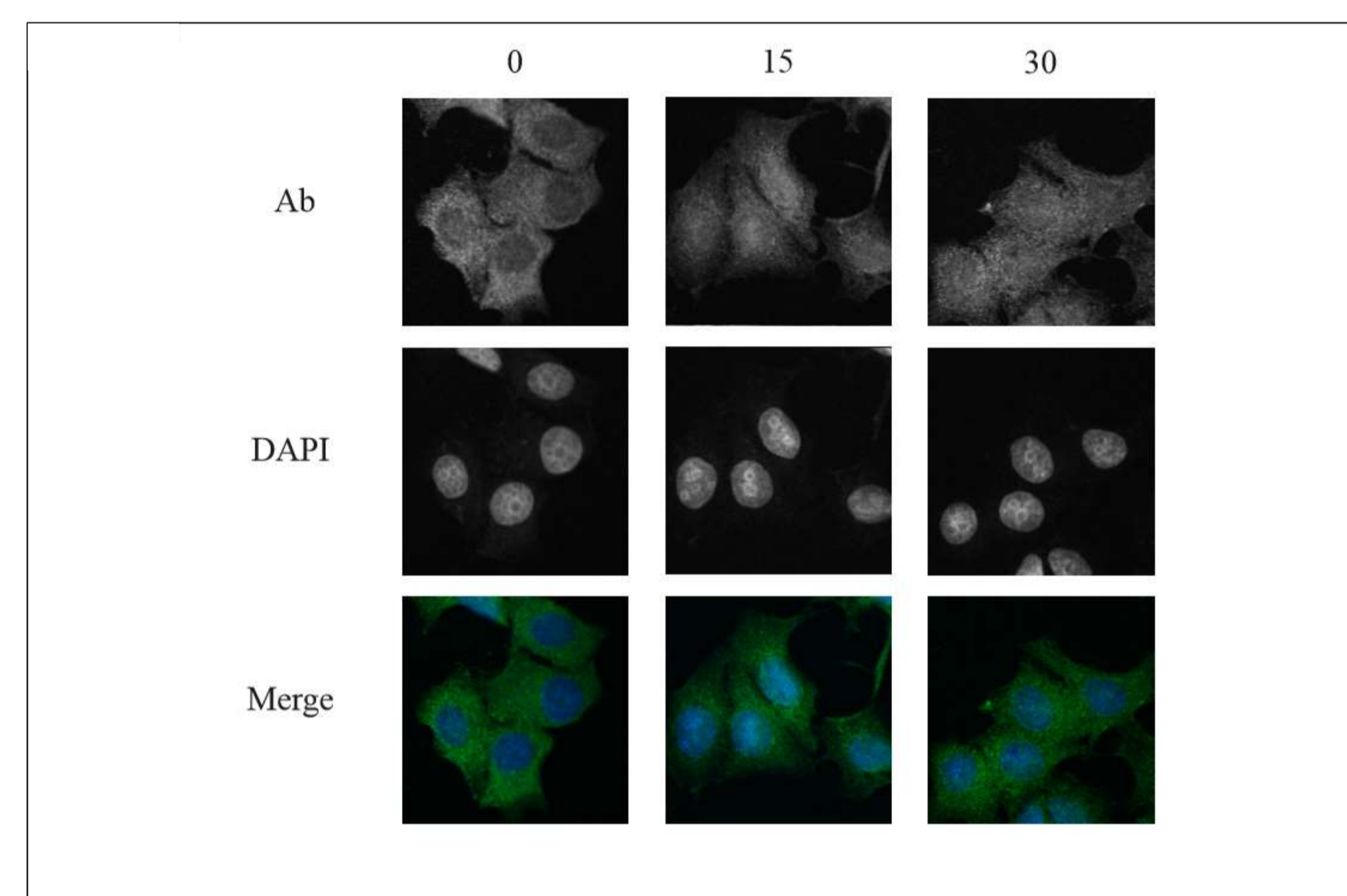
איור 2. בדיקת מיקום החלבון PKM2. Ab מייצג נוגדן הנקשר לחלבון PKM2, DAPI מייצג גרעין, Merge מיזוג הנוגדן יחד עם הגרעין, כאשר צבע הגרעין כחול, צבע הנוגדן ירוק. נבדקו תוצאות לפי זמני גירוי שונים - 0 דק', 15 דק', 30 דק'.



איור 1. בדיקת מיקום החלבון AMPK. Ab מייצג נוגדן הנקשר לחלבון AMPK, DAPI מייצג גרעין, Merge מיזוג הנוגדן יחד עם הגרעין, כאשר צבע הגרעין כחול, צבע הנוגדן ירוק. נבדקו תוצאות לפי זמני גירוי שונים - 0 דק', 15 דק', 30 דק'.



איור 4. בדיקת מיקום אימפורטין חמש. Ab מייצג נוגדן הנקשר לאימפורטין 5, DAPI מייצג גרעין, Merge מיזוג הנוגדן יחד עם הגרעין, כאשר צבע הגרעין כחול, צבע הנוגדן סגול. נבדקו תוצאות לפי זמני גירוי שונים - 0 דק', 15 דק', 30 דק'.



איור 3. בדיקת מיקום אימפורטין ארבע. Ab מייצג נוגדן הנקשר לחלבון אימפורטין 4, DAPI מייצג גרעין, Merge מיזוג הנוגדן יחד עם הגרעין, כאשר צבע הגרעין כחול, צבע הנוגדן ירוק. נבדקו תוצאות לפי זמני גירוי שונים - 0 דק', 15 דק', 30 דק'.

## מתחרים

זואי פרידמן

## ביה"ס

עירוני ה' ע"ש יצחק נבון,

מודיעין

## מורה מלווה

גב' נאוה שקל ששון,

ד"ר דקלה בן שושן-עפרון

## מנחה

ד"ר גיא נדל

פרופ' רוני זגר

מכון ויצמן למדע, רחובות

## הנחיה מטעם התחרות

ד"ר אילנה כספי

