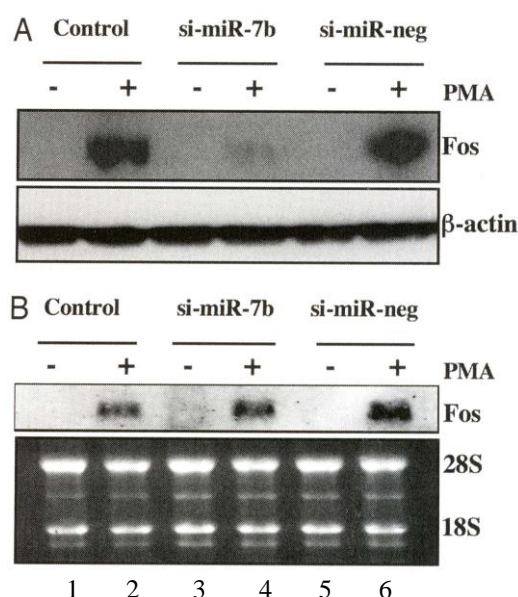


EGY MIKRO-RNS SZEREPE A FOS-GÉN EXPRESSZIÓJÁNAK SZABÁLYOZÁSÁBAN

Nézze át az alábbi fogalmakat, mielőtt nekiáll az ábraelemzésnek

*mikro-RNS-ek * Fos fehérje * génexpresszió * AP1 transzkripciós faktor * klónozás * expressziós vektor * plazmid * transzfekció * forbolészter * Western blot * Northern blot * etidium-bromid festés*

Az ábra



Az ábrán bemutatott eredmények olyan kísérletből származnak, melyben az miR-7b mikro-RNS szerepét vizsgálták. Az miR-7b részleges komplementaritást mutat a Fos fehérjét kódoló mRNS 3'-nemkódoló régiójának egyes szakaszaival. (A Fos protoonkogén fehérje a génexpresszió szabályozásában fontos szerepet játszó AP1 transzkripciós faktor egyik alkotórésze.) Az miR-7b RNS-t kódoló DNS-szakaszt és egy, a *fos*-mRNS-hez nem kapcsolódó mikro-RNS-t kódoló DNS-darabot expressziós vektorba klónoztak, majd a két plazmiddal (az ábrán si-miR-7b /3. és 4. minta/, illetve si-miR-neg /5. és 6. minta/ a jelölésük) egér fibroblasztokat transzfektáltak; kontrollként nem transzfektált sejteket használtak (1. és 2. minta). A tenyészetek egy részét forbolészterrel (PMA) kezelték (2., 4. és 6. minta), másokat kezeletlenül hagytak (1., 3. és 5. minta).

- A. 2 órával a kezelés után a sejtekből fehérjekivonatokat készítettek és anti-Fos (felső panel), illetve anti-aktin antitesttel (alsó panel) Western-blot analízist végeztek.
- B. 1 órás forbolészter kezelés után a sejtekből RNS-t izoláltak, formaldehid/agaróz gélelektroforézist és etidiumbromid festést (alsó panel), majd *fos*-cDNS próbával Northern-blot vizsgálatot végeztek (felső panel).

Válaszoljon az alábbi kérdésekre!

1. Mi volt a célja a β -aktin antitest alkalmazásának (A. ábra)?
2. Mi volt a célja az agaróz gél etídiumbromid festésének (B. ábra)?
3. Mi volt a célja a miR-neg RNS expressziójának?
4. Milyen hatása volt a forbolészter kezelésnek? Milyen jelátviteli fehérjén keresztül fejtette ki a hatását?
5. Milyen hatást fejtett ki a miR-7b mikro-RNS? A génexpresszió melyik szakaszát befolyásolta?

Az ábra forrása

Lee, H-J., Palkovits, M., Scott, Y.W. (2006) MiR-7b, a micro-RNA up-regulated in the hypothalamus after chronic hyperosmolar stimulation inhibits Fos translation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 103, 15669-15674.

Az Európai Unió támogatásával készült (TÁMOP-4.1.1.C-13/1/KONV-2014-0001).