# LEZEN ARTIKELEN OVER GLUCOCORTICOID LIGANDEN:

**GELDANAMYCINE (17-AAG)**

**Leerdoelen**

* Je kunt wetenschappelijke artikelen begrijpen en informatie selecteren.
* Je kunt de vraagstelling en hypothese onderbouwen aan de hand van literatuur.

**Stof**

* overzichtsartikel van de Kloet (2014)
* artikel over het ligand geldanamycine (Bamberger et al., 1997)

**Deadline:** vóór aanvang van werkgroep 14

**Meenemen naar de volgende werkgroep**

* uitwerking van deze thuisopdracht
* uitwerking thuisopdracht ‘Opzet inleiding deel I’.
* artikel over het ligand geldanamycine (Bamberger et al., 1997).

**Opdracht**

Lees de het artikel over het glucocorticoïdligand geldanamycine (Bamberger et al., 1997). Dit ligand je gaat testen tijdens het practicum Celbiologie. Je hoeft alleen de grijs gemarkeerde delen van het artikel te lezen. Als je meer uitdaging wil, mag je natuurlijk ook de rest van het artikel doornemen. Lees het artikel aan de hand van onderstaande vragen.

Je hoeft nu nog niet alle begrippen uit de ‘Materials and methods’ te begrijpen. Lees dit alvast door om een indruk te krijgen van hoe je een methodensectie schrijft.

Om figuur 2a van Bamberger et al. (1997) te begrijpen, is het goed om een beetje voorkennis te hebben:

Een luciferase-assay is een experiment waarmee je kan onderzoeken hoeveel mRNA afgeschreven wordt van een gen van interesse. Hierbij geldt: hoe hoger de luciferase-activiteit, hoe meer mRNA er aanwezig is van het gen van interesse. In dit onderzoek is er gekeken naar genen die als respons op GR-binding worden getranscribeerd. Als je meer wil weten over dergelijke reporter gene assays, kan je dit filmpje bekijken: <https://www.youtube.com/watch?v=PD_6JU3NayE>

1. Hoe verhouden geldanamycine, de GR en heat shock protein 90 (hsp 90) zich tot elkaar?

De GR (of MR) zitten in een eiwitcomplex samen met hsp 90. Geldanamycine kan aan hsp90 binden, waarmee het het contact tussen de GR (of MR) en hsp 90 verstoord. Hierdoor kan de GR (of MR) niet goed functioneren. Geldanamycine is dus een (indirecte) antagonist van de GR (of MR).

1. Wat zie je in figuur 2a? De volgende stappen kunnen je helpen om het figuur te begrijpen.
2. Wat staat er op de x-as en wat staat er op de y-as? Wat betekenen die begrippen?

X-as: concentratie geldanamycine. Dat is een GR-antagonist. Y-as: percentage luciferase activiteit. Hoe meer activiteit, hoe meer transcriptie van GR-geïnduceerde genen.

1. Is dexamethasone een agonist of een antagonist van de GR? Zoek het op op internet.

Een GR-agonist.

1. Waarom is er ook een ‘unstimulated’ controle meegenomen?

Hierdoor weet je dat de luciferase-activiteit die je ziet, afkomstig is van de toegevoegde dexamethasone (GR-agonist). Als je zonder toevoeging van dex ook al luciferase activiteit zou zien, zou dat duiden op een GR-onafhankelijk mechanisme dat voor transcriptie van de genen zorgt.

1. Welke trend zie je in het figuur?

Hoe meer geldanamycine je toevoegt aan de cellen, hoe minder GR-geïnduceerde transcriptie er plaatsvindt.

1. Klopt dit met je verwachtingen? Waarom wel/niet?

Ja, geldanamycine is een antagonist van de GR. Je verwacht dus een verminderde werking van de GR.

1. Wat zie je in figuur 4b? Doorloop de stappen van vraag 2.

X-as: concentratie toegevoegd dex (agonist). Y-as: binding van ligand (dex) aan receptor (hoe hoger, hoe meer binding). Controle is om te laten zien dat het experiment werkt.

Je ziet dat hoe meer dex, hoe meer ligand er bindt aan de receptor. Als er geldanamycine wordt toegevoegd, treedt deze binding vrijwel niet meer op. Dit is in lijn met de verwachting: geldanamycine is een antagonist van de GR, je ziet dat het de binding van ligand aan de GR verhindert.

1. Tijdens het practicum ga je geldanamycine toevoegen aan HEK-cellen waarin je de hGR tot expressie hebt gebracht. Wat zijn je voorspellingen wat betreft translocatie van de hGR? Verwacht je dat de hGR zich na toevoeging van geldanamycine in het cytoplasma, in de nucleus, of in beide celcompartimenten bevindt? Waarom?

In het cytoplasma. In figuur 4b is te zien dat het de binding van ligand aan de GR verhindert. Hierdoor zal er geen translocatie plaatsvinden. In figuur 2a laat zien dat dit verderop in de cascade effect heeft: bij toevoeging van geldanamycine worden er minder GR-geïnduceerde eiwitten afgeschreven.