



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален
фонд

ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ, СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Роля на протеините на топлинния стрес в регулацията на сперматогенезата и апоптозата

Силвина Запрянова Запрянова

секция “Имунобиология на размножаването”

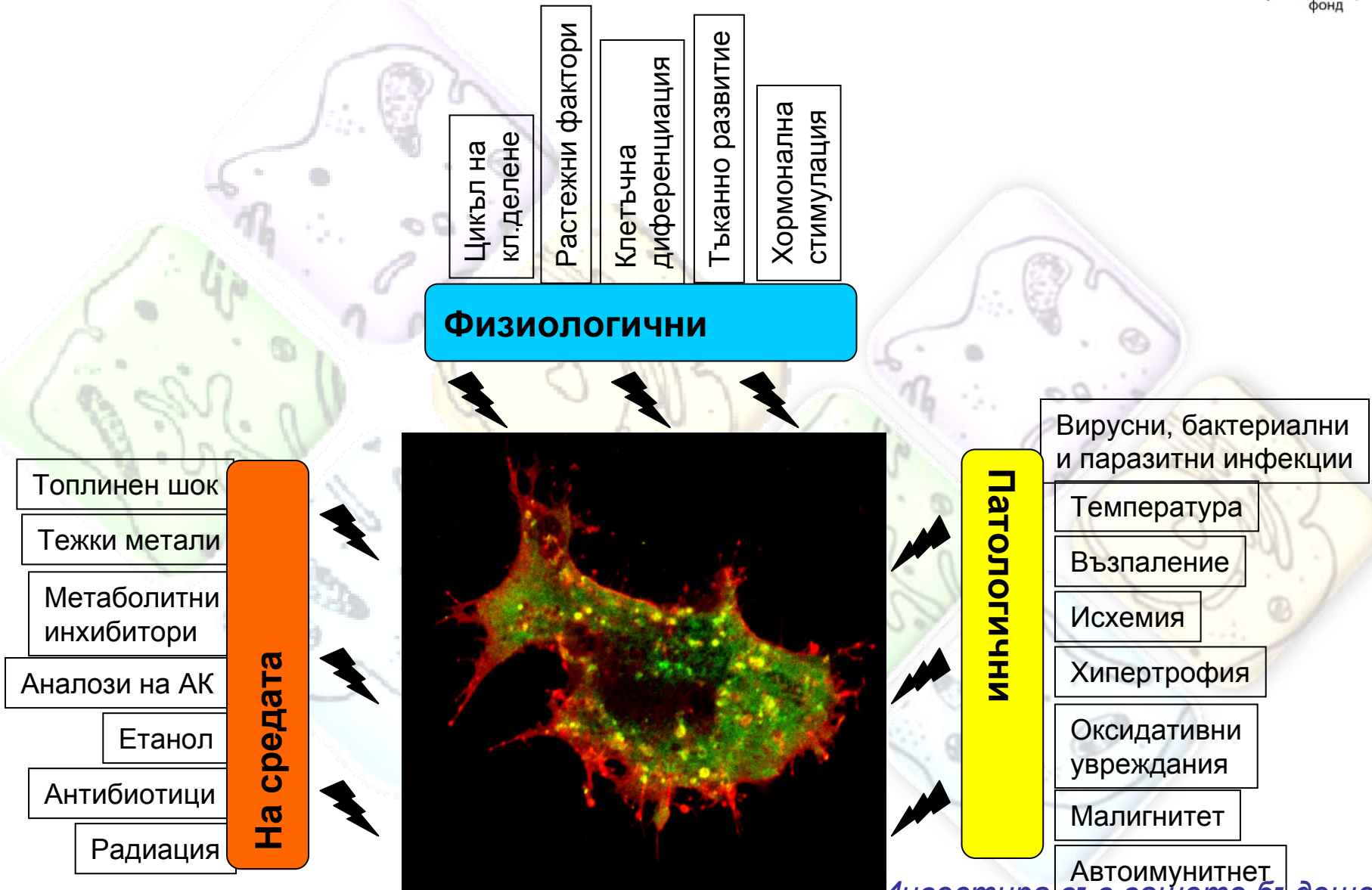
Институт по Биология и Имунология на Размножаването “Акад. Кирил Братанов”,
Българска Академия на Науките

Инвестира във вашето бъдеще



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
 МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
 ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
 BG051PO001-3.3.06 -0059



Инвестира във вашето бъдеще



Европейски съюз



Европейски социален фонд

Функции на HSP

Физиологични условия

Стрес

Шаперони

→ Правилно нагъване на новосинтезираните белтъци

→ Транспортиране на протеините през вътреклетъчните мембрани

→ Модулират стероид-рецепторната функция

→ Предпазват белтъците от агрегиране

→ Подпомагат Ag представяне

→ Възстановяват частично денатурираните протеини

→ Осигуряват протеолизата на абnormally нагънатите и/или дефектираните протеини

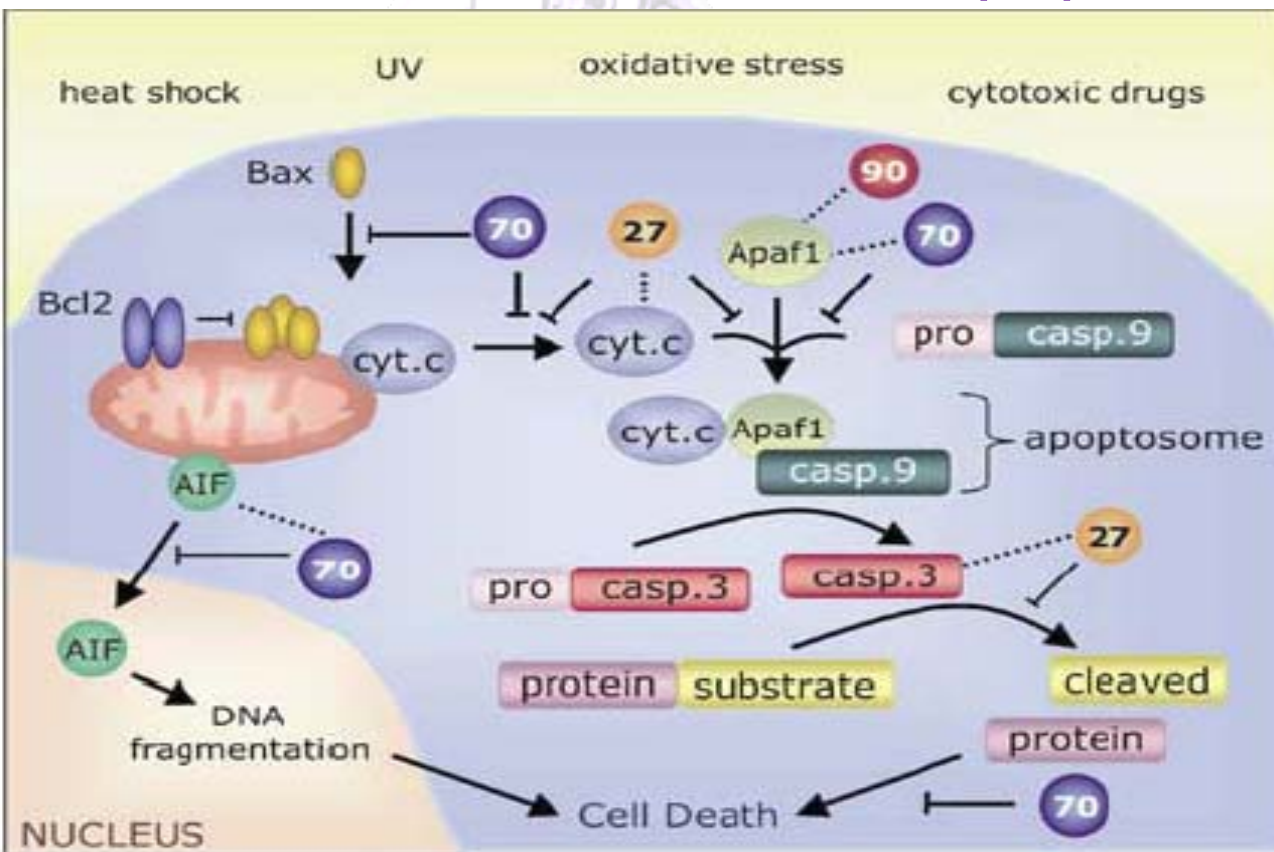
→ Участват в апоптотичните процеси



Европейски съюз



HSPs and Apoptosis



• **HSP70** е един от главните модулатори на апоптозата блокиращ освобождаването на **cyt C** от митохондриите и формирането на **апоптозомата**.

• **α B-crystallin** инхибира процесинга на **прокаспаза 3** и се свързва КЪМ проапототичните фактори **Bax** и **Bcl-Xs** като пречи на транслокацията им в митохондриите.

Инвестира във вашето бъдеще



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Значимост на разработката

Особено значение имат изследванията върху експресията на Hsp72 по време на различните фази на сперматогенеза. Интензивни са проучванията върху функционалната специфичност на двете изоформи Hsp72/73 на Hsp70 в половите клетки на бозайници, докато експресията на **α -crystallines** в **тестикуларна тъкан не е достатъчно добре проучена.**

Освен спонтанна, в тестиса се осъществява и индуцирана апоптоза, която е резултат от действието на различни екстремни фактори, включително повишената температура. **Изясняването на интимните механизми на термоиндуцираната апоптоза в тестиса ще разшири представите за увреждащия ефект на високата температура върху репродуктивното здраве на животните и човека.**

Инвестира във вашето бъдеще



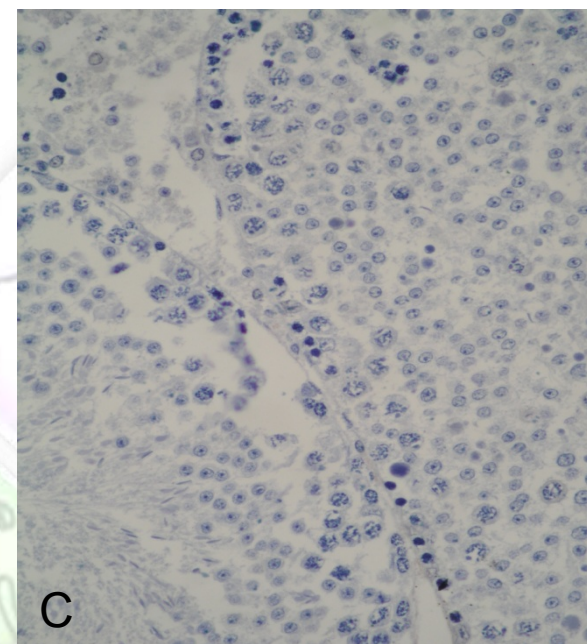
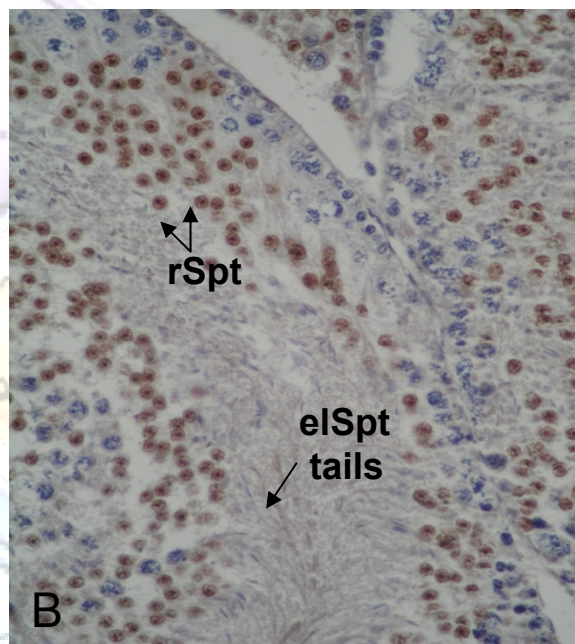
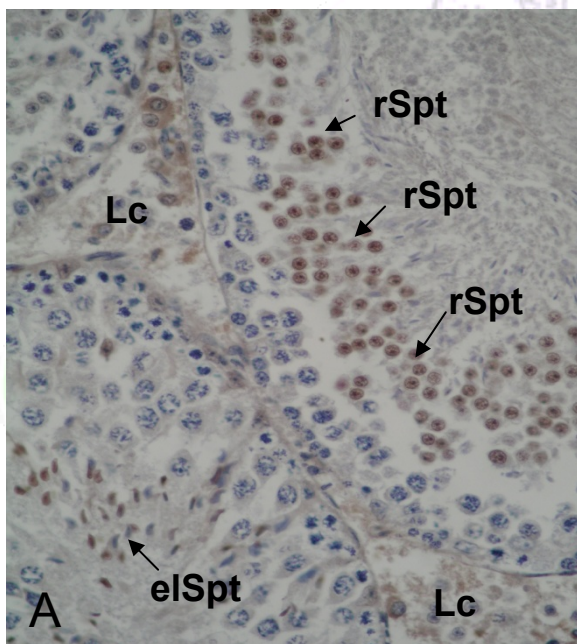
Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

Тъканни срези на тестиси от мишки на възраст 60 дни-контролна група



A- експресия на α B-сгу в Лайдигови клетки /Leydig cells/ (Lc), кръгли /round/ (rSpt) and удължени сперматиди /elongated spermatids/ (elSpt). 40x

B- α B-сгу локализиран в кръгли сперматиди/round spermatids/ и в опашките на удължените сперматиди /elongated spermatid tails/ (elSpt tails). 40x

C- срез инкубиран без първо Ab. 40x

Инвестира във вашето бъдеще

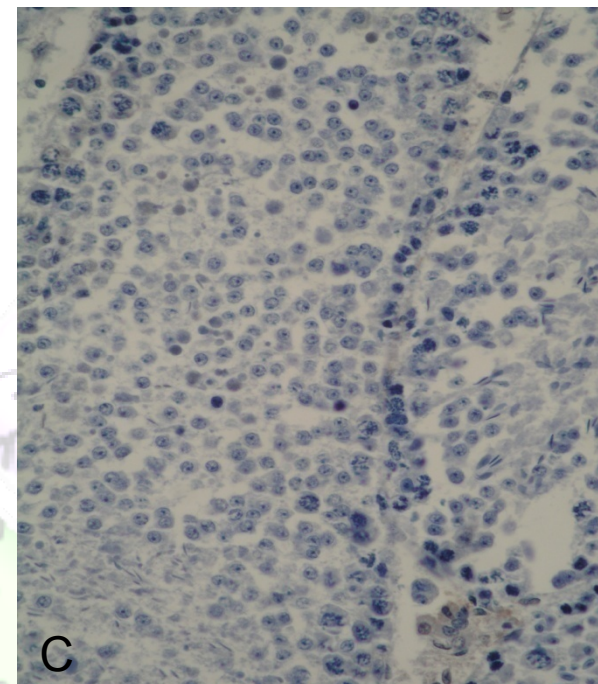
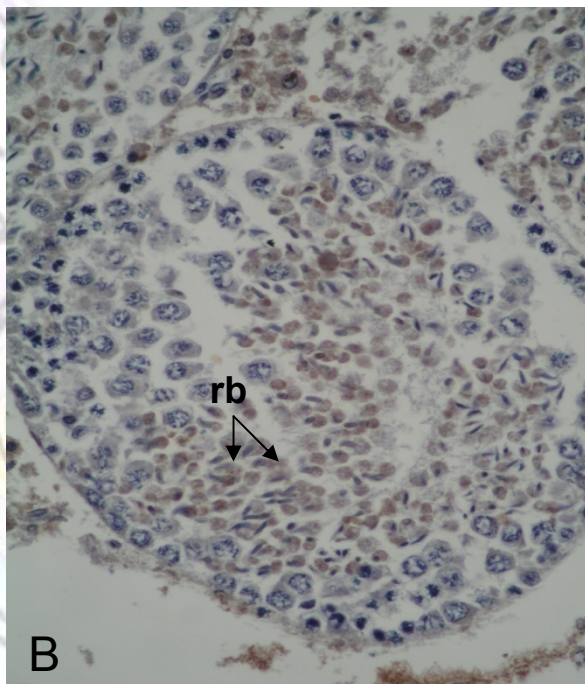
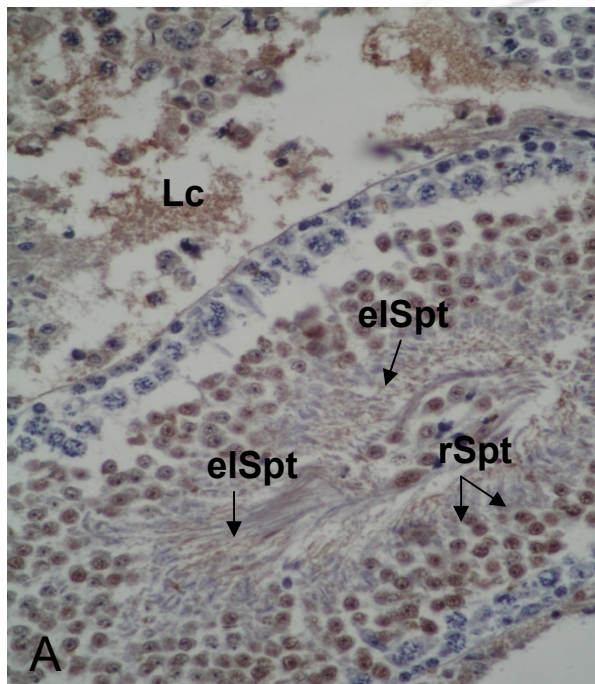


Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Тъканни срези на тестиси от мишки на възраст 60 дни-опитна група



A- силна експресия на α B-сру в Лайдигови клетки/Leydig cells/ (Lc), кръгли сперматиди/round spermatids/ (rSpt) и в опашки на елонгиране сперматиди/elongated spermatid tails/ (elSpt). 40x

B- положителна реакция за α B-сру в резидуалните телца/residual bodies/ (rb) на елонгираните сперматиди/elongated spermatids/. 40x

C-негативна реакция в срез инкубиран без първо Ab. 40x



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



ЦЕЛ

Целта на бъдещите изследвания е установяване на механизмите за осъществяване на апоптоза по време на сперматогенеза в условия на топлинен стрес, установяване на разликите в генната експресия на конститутивните и индуцируемите изоформи на Hsp70 и α B-crystallin, както и върху генната експресия на някои про- и антиапоптотични фактори чрез имунохистохимични методи, TUNEL assay и qRT-PCR.

Инвестира във вашето бъдеще



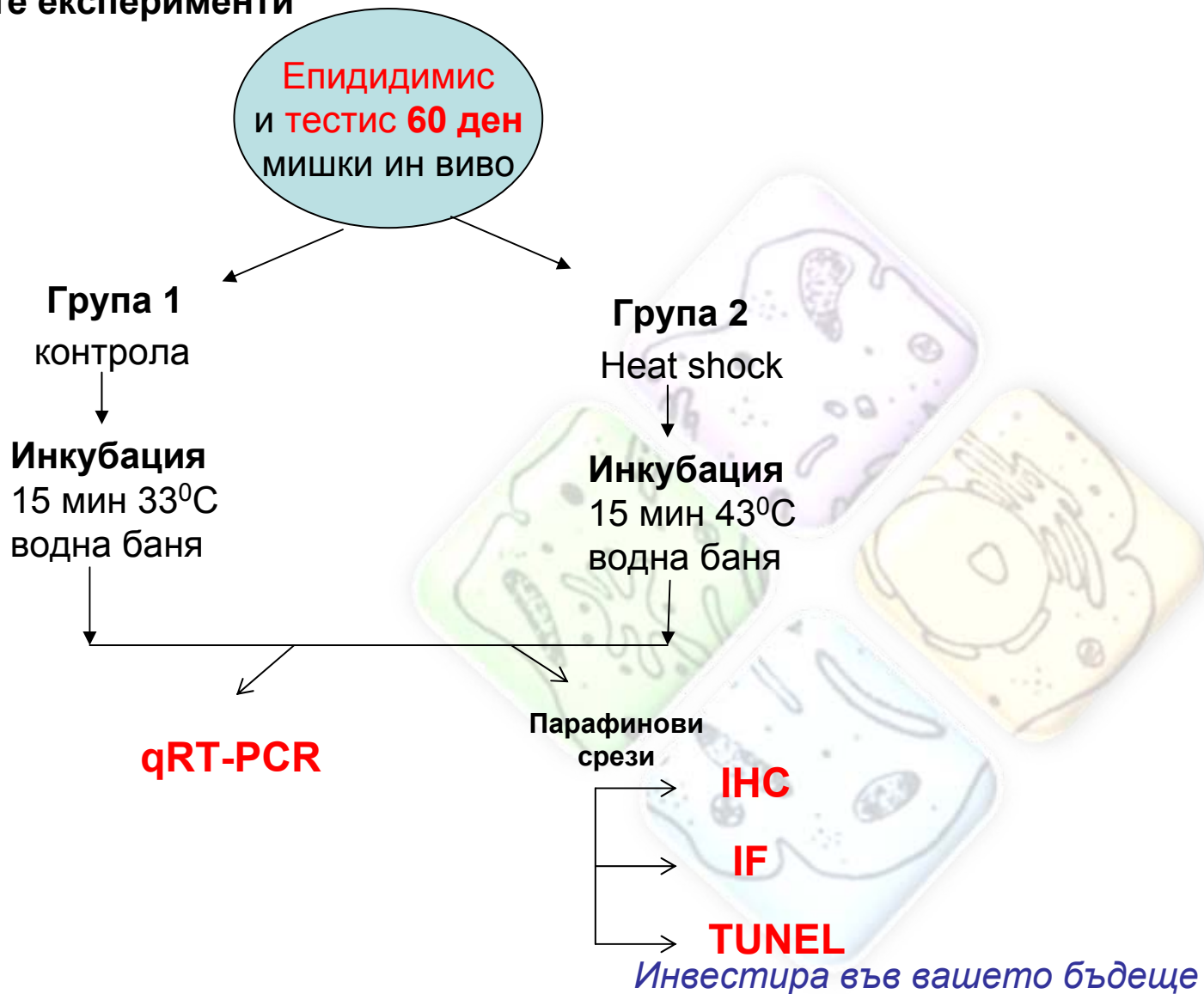
Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

Схема на планираните експерименти





Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



НЕОБХОДИМИ КОНСУМАТИВИ

Имунохистохимични методи за установяване на локализация на Hsp70 и α B-crystallin (и техните изоформи) в миши тестиси и епидидимис (60 ден), инкубирани на 33°C (контролна група) и 43°C (опитна група-термоиндуцирана апоптоза)

1. Имунопероксидазен метод

- IHC/ICC kit , приложим за тъканни срези включени в парафин
- Първи антитела : anti- α B-crystallin, anti-p- α B-crystallin, anti-Hsp70

2. Имунофлуоресцентен метод

- Втори антитела – конюгирани с флуоресцентно багрило

Установяване на апоптотични клетки в миши тестиси и епидидимис (контролна и опитна група) чрез прилагане на TUNEL метод

- **TUNEL apoptosis kit**

Инвестира във вашето бъдеще



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



НЕОБХОДИМИ КОНСУМАТИВИ

qRT-PCR

1. Получаване на total RNA чрез използване на RNA Purification kit
2. Получаване на cDNA чрез Reverse Transcription kit
4. Kit за qRT-PCR
5. Подбор на специфични двойки праймери

Гени

- α B-crystallin
- Hsp70
- p53
- Bax
- Bcl-2
- Caspase-3
- β -actin

Други консумативи – клетки за животни, предметни стъкла, кутии за стъкла, среда за покриване с DAPI за IF и други.

Инвестира във вашето бъдеще

A 3D illustration of a sperm cell fertilizing an egg cell. The sperm cell is shown in the foreground, swimming towards the egg cell. The egg cell is a large, textured sphere on the right side of the image. A bright orange glow is visible at the point of contact between the sperm's head and the egg's surface. Several other sperm cells are shown in the background, swimming towards the egg. The overall color scheme is a mix of blue and teal, with the orange glow providing a focal point.

Благодаря за Вниманието