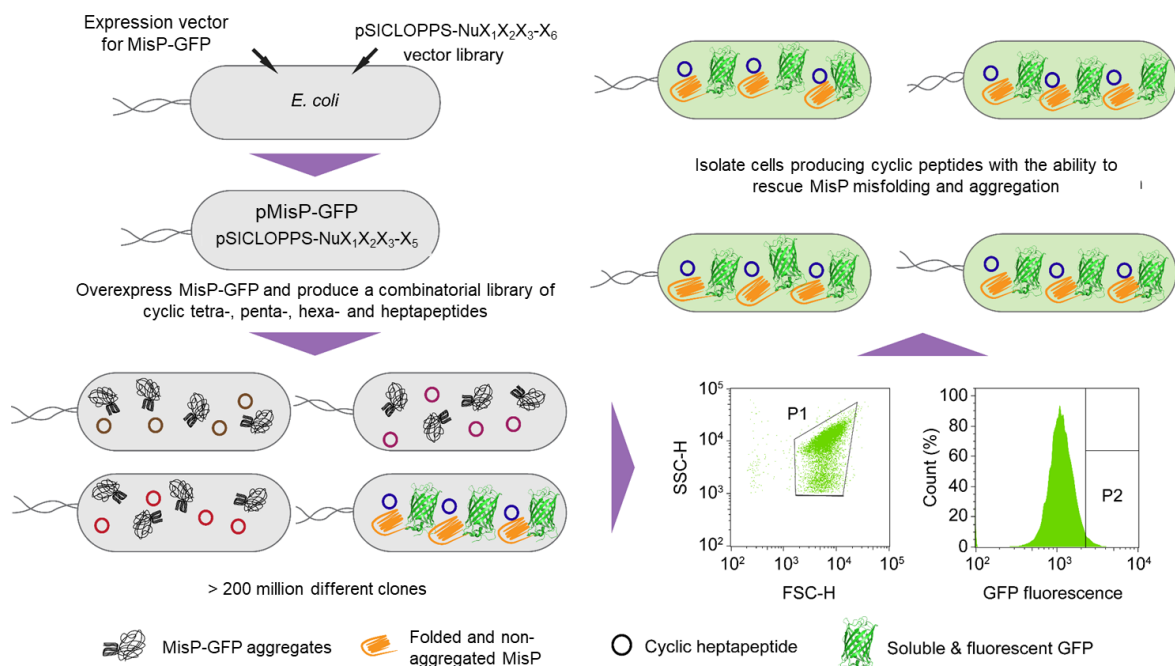


Πρόσκληση εκδήλωσης ενδιαφέροντος για εκπόνηση διδακτορικής ή μεταδιδακτορικής έρευνας

Το Εργαστήριο Ενζυμικής και Συνθετικής Βιοτεχνολογίας στο Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών (<http://www.eie.gr/nhrf/institutes/ibrb/programmes/enzymology-gr.html>), προσκαλεί την εκδήλωση ενδιαφέροντος από πτυχιούχους ΑΕΙ με Μεταπτυχιακό δίπλωμα εξειδίκευσης (Msc) ή Διδακτορικό δίπλωμα στη Βιολογία, Χημεία, Βιοτεχνολογία ή σε συναφείς ειδικότητες, για εκπόνηση διδακτορικής ή μεταδιδακτορικής έρευνας στις παρακάτω ερευνητικές κατευθύνσεις:

1. Ανακάλυψη δυνητικά θεραπευτικών μορίων κατά νευροεκφυλιστικών ή άλλων ασθενειών που προκαλούνται από προβληματική αναδίπλωση πρωτεϊνών με εφαρμογή μεθόδων συνθετικής βιολογίας και μοριακής εξέλιξης

Μελέτες των τελευταίων ετών έχουν δείξει ότι ένα πλήθος νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως η νόσος Alzheimer, η νόσος Huntington, η νόσος Parkinson κ.α., χαρακτηρίζονται από ένα κοινό μοριακό φαινόμενο: την προβληματική αναδίπλωση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και το σχηματισμό νευροτοξικών ολιγομερών/συσσωματωμάτων των πρωτεϊνών αυτών. Παρόλο το τεράστιο κοινωνικο-οικονομικό τους αντίκτυπο, οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις παραμένουν σήμερα ανίατες. Μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά των σοβαρών αυτών καταστάσεων είναι η ανακάλυψη μικρών μορίων με την ικανότητα να αποτρέπουν τη δημιουργία νευροτοξικών πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων. Το Εργαστήριο Ενζυμικής και Συνθετικής Βιοτεχνολογίας κατασκεύασε πρόσφατα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια που επιτυγχάνουν την εύκολη και γρήγορη ανακάλυψη εν δυνάμει θεραπευτικών μορίων κατά σοβαρών νευροεκφυλιστικών παθήσεων. Τα τροποποιημένα αυτά βακτήρια *Escherichia coli* έχουν την ικανότητα να βιοσυνθέτουν μεγάλες συνδυαστικές βιβλιοθήκες εκατοντάδων εκατομμυρίων διαφορετικών μακροκυκλικών πεπτιδίων και, ταυτόχρονα, να ανιχνεύουν τα βιοδραστικά μόρια με την ικανότητα να επιδιορθώνουν την προβληματική αναδίπλωση των πρωτεϊνών-στόχων χρησιμοποιώντας ένα σύστημα σάρωσης υπερυψηλής ρυθμαπόδοσης (Σχήμα 1). Η συγκεκριμένη τεχνολογία έχει ήδη εφαρμοστεί για την ανακάλυψη εν δυνάμει θεραπευτικών μορίων κατά της **νόσου Alzheimer** και της **πλάγιας μυοτροφικής σκλήρυνσης**. Σε επόμενες μελέτες, θα εφαρμόσουμε τη συγκεκριμένη τεχνολογία για την ανακάλυψη δυνητικά θεραπευτικών μορίων για επιπλέον ασθένειες, όπως ο **καρκίνος**, η **νόσος Huntington** και η **νόσος Parkinson**.



Σχήμα 1: Αναπαράσταση του βακτηριακού συστήματος ανακάλυψης χημικών επιδιορθωτών της προβληματικής αναδίπλωσης και συσσωμάτωσης προβληματικά αναδιπλωμένων πρωτεϊνών που σχετίζονται με ανθρώπινες νευροεκφυλιστικές (και άλλες) παθήσεις (misfolding-prone proteins, MisP). Σχετικές Αναφορές:

1. Delivoria, D. C., Chia S., Habchi, J., Perni, M., Matis, I., Papaevgeniou, N., Chondrogianni, N., Dobson, C. M., Vendruscolo, M., Skretas, G.* 2019. Bacterial production and direct functional screening of expanded molecular libraries for discovering inhibitors of protein aggregation. *Science Advances*. 5 : eaax5108.

2. Matis, I., Delivoria, D.C., Mavroidi, B., Papaevgeniou, N., Panoutsou, S., Bellou, S., Papavasileiou, K.D., Linardaki, Z., Stavropoulou, A.V., Vekrellis, K., Boukos, N., Kolisis, F.N., Gonos, E.S., Margarity, M., Papadopoulos, M.G., Efthimiopoulos, S., Pelecanou, M., Chondrogianni, N., Skretas, G*. 2017. An integrated bacterial system for the discovery of chemical rescuers of disease-associated protein misfolding.

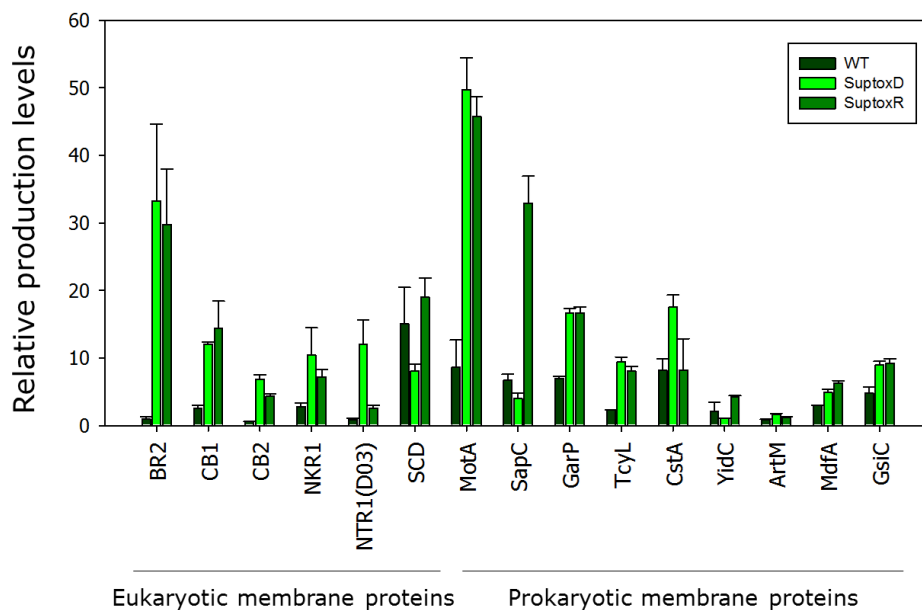
Nature Biomedical Engineering. 1(10): 838-852

<https://www.nature.com/articles/s41551-017-0144-3>

3. Kostelidou, K., Matis, M., and Skretas, G*. 2018. Microbial genetic screens and selections for monitoring protein misfolding: tools for the identification of disease-relevant genes and the discovery of potential therapeutic compounds against neurodegenerative diseases. *Current Pharmaceutical Design*. 24(19):2055-2075.

2. Ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων βακτηριακών κυττάρων που επιτυγχάνουν την παραγωγή ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών σε υψηλές ποσότητες

Οι μεμβρανοπρωτεΐνες επιτελούν πλήθος κυτταρικών λειτουργιών ζωτικής σημασίας σε όλους τους οργανισμούς και αποτελούν υψίστης σημασίας πρωτεϊνικούς στόχους για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Το βακτήριο *Escherichia coli* αποτελεί τον προτιμώμενο οργανισμό-ξενιστή για βιοχημικές και δομικές μελέτες ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών. Η βακτηριακή υπερέκφραση μεμβρανοπρωτεϊνών ωστόσο, χαρακτηρίζεται συχνά από πολύ μικρή κυτταρική παραγωγικότητα και έντονη κυτταροτοξικότητα, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνονται πολύ χαμηλά επίπεδα συσώρευσης τελικής βιομάζας και πολύ χαμηλές αποδόσεις συνολικής πρωτεΐνης. Σε προηγούμενες ερευνητικές δραστηριότητες του Εργαστηρίου Ενζυμικής και Συνθετικής Βιοτεχνολογίας, επιτύχαμε να αναδιοργανώσουμε το μηχανισμό πρωτεϊνικής σύνθεσης του βακτηρίου *E. coli* ώστε να ανθίσταται στην κυτταροτοξικότητα που προκαλείται κατά την υπερέκφραση μεμβρανοπρωτεϊνών. Αποτέλεσμα της προσπάθειας αυτής ήταν να κατασκευαστούν γενετικά τροποποιημένα στελέχη *E. coli*, τα οποία ονομάστηκαν *SuptoxD* και *SuptoxR*, με την ικανότητα να επιτυγχάνουν θεαματικά αυξημένα επίπεδα κυτταρικού πολλαπλασιασμού και συσώρευσης τελικής βιομάζας, και, ταυτόχρονα, να παράγουν δραματικά αυξημένες ποσότητες για μια ποικιλία ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών, τόσο προκαρυωτικής όσο και ευκαρυωτικής προέλευσης (Σχήμα 2). Ιδιαίτερος σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα κύτταρα *SuptoxD* και *SuptoxR* ξεπέρασαν σε αποδόσεις τα εμπορικά διαθέσιμα βακτηριακά στελέχη που χρησιμοποιούνται συχνά για την υπερέκφραση ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών. Σε επόμενες μελέτες, θα συνδυάσουμε τεχνικές πρωτεϊνικής μηχανικής και κατευθυνόμενης εξέλιξης πρωτεϊνών μαζί με μεθόδους γενετικής μηχανικής, με στόχο την κατασκευή βελτιστοποιημένων βακτηριακών στελεχών *E. coli SuptoxD* και *SuptoxR* δεύτερης γενιάς, τα οποία να είναι ακόμα πιο αποτελεσματικά στην υπερέκφραση ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών και να επιτυγχάνουν την παραγωγή τέτοιων πρωτεϊνών, τόσο προκαρυωτικών όσο και ευκαρυωτικών, σε δραματικά αυξημένες αποδόσεις.

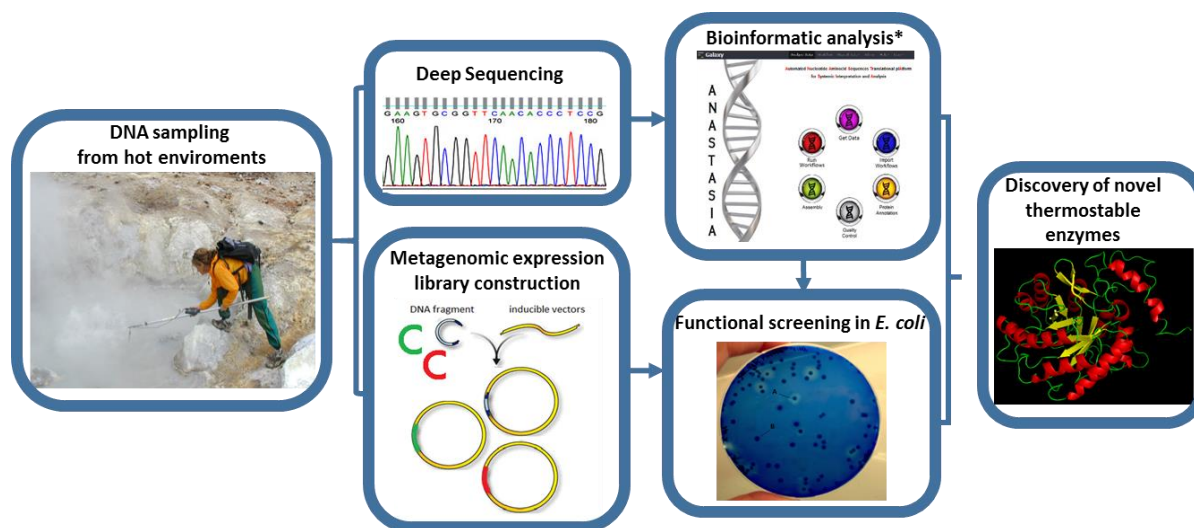


Σχήμα 2: Σύγκριση της αποδοτικότητας των γενετικά τροποποιημένων βακτηριακών στελεχών *E. coli* SuptoxD και SuptoxR στην παραγωγή μιας πληθώρας προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών ανασυνδυασμένων μεμβρανοπρωτεϊνών με αυτή των κυττάρων αγρίου τύπου (wild-type, WT).

Σχετικές Αναφορές:

1. Michou, M., Kapsalis, C., Pliotas, C., Skretas, G.* 2019. Optimization of recombinant membrane protein overexpression in the engineered *Escherichia coli* strains SuptoxD and SuptoxR. **ACS Synthetic Biology**. 8(7):1631-1641.
2. Gialama, D., Kostelidou, K., Michou, M., Delivoria, D.C., Kolisis, F.N., Skretas, G*. 2017. Development of *Escherichia coli* strains that withstand membrane protein-induced toxicity and achieve high-level recombinant membrane protein production. **ACS Synthetic Biology**. 6(2): 284-300.
2. Gialama, D., Delivoria, D.C., Michou, M., Giannakopoulou, A., Skretas, G*. 2017. Functional requirements for DjlA- and RraA-mediated enhancement of recombinant membrane protein production in the engineered *E. coli* strains SuptoxD and SuptoxR. **Journal of Molecular Biology**. 429(12):1800-1816.

3. Ανακάλυψη νέων θερμοανθεκτικών υδρολυτικών ενζύμων βιομηχανικού ενδιαφέροντος μέσω βιοπληροφορικής και λειτουργικής σάρωσης γονιδιωμάτων/μεταγονιδιωμάτων που προέρχονται από ακραία γεωγραφικά και θαλάσσια περιβάλλοντα



Σχετικές Αναφορές:

1. Zarafeta, D., Moschidi, D., Ladoukakis, E., Gavrilov, S., Chrysina, E.D., Chatziioannou, A., Kublanov, I., Skretas, G.*, Kolisis, F. N.*. 2016. Metagenomic mining for thermostable esterolytic enzymes uncovers a new family of bacterial esterases. *Scientific Reports*. 6: 38886.
2. Zarafeta, D., Szabo, Z., Moschidi, D., Phan, H., Chrysina, E.D., Peng, X., Ingham, C.J., Kolisis, F. N.*, Skretas, G.*. 2016. EstDZ3: a new esterolytic enzyme exhibiting remarkable thermostability. *Frontiers in Microbiology*. 7: 1779.
3. Zarafeta, D., Kissas, D., Sayer, C., Gudbergdottir, S. R., Ladoukakis, E., Isupov, M. N., Chatziioannou, A., Peng, X., Littlechild, J. A.*, Skretas, G.*, and Kolisis, F. N.* 2016. Discovery and characterization of a thermostable and highly halotolerant GH5 cellulase from an Icelandic hot spring isolate. *PLoS ONE*. 11(1): e0146454.
4. Wohlgemuth, R.*, Littlechild, J., Monti, D., Schnorr, K., Siebers, B., Menzel, P., van Rossum, T., Kublanov, I., Rike, A.G., Skretas, G., Szabo, Z., Peng, X., Young, M. 2018. Discovery of Novel Hydrolases from Hot Environments. *Biotechnology Advances*. 36(8): 2077-2100.
5. Ladoukakis, E., Koutsandreas, T., Pilalis, E., Zarafeta, D., Kolisis, F.N., Skretas, G., Chatziioannou, A.* 2019. ANASTASIA: a distributed pipeline for automated integration, analysis and functional characterization of next-generation sequencing metagenomic datasets. *Frontiers in Genetics*. 10:469.

Απαραίτητα Προσόντα:

Για τους υποψήφιους διδάκτορες: Πτυχίο AEI και μεταπτυχιακό δίπλωμα εξειδίκευσης (Msc) στη Βιολογία, Χημεία, Βιοτεχνολογία ή σε συναφείς ειδικότητες.

Για τους μεταδιδάκτορες: Πτυχίο και Διδακτορικό δίπλωμα στη Βιολογία, Χημεία, Βιοτεχνολογία ή σε συναφείς ειδικότητες. Εργαστηρική εμπειρία σε τεχνολογίες ανασυνδασμένου DNA, απομόνωση πρωτεϊνών από μικροβιακές καλλιέργειες, και βιοχημική ανάλυση πρωτεϊνών. Πρόσφατο και πλούσιο δημοσιευμένο επιστημονικό έργο.

Οι ενδιαφερόμενοι καλούνται να αποστείλουν βιογραφικό σημείωμα και στοιχεία επικοινωνίας για δύο συστατικές επιστολές ηλεκτρονικά στο **Δρ. Γεώργιο Σκρέτα** στη διεύθυνση gskretas@eie.gr με την ένδειξη: "Εκδήλωση ενδιαφέροντος για εκπόνηση διδακτορικής ή μεταδιδακτορικής έρευνας".