

IMPLICACIÓN DE LA MAQUINARIA DEL RNA-EXOSOMA EN LA FISIOPATOLOGÍA DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

¹²Prats-Escribano, A., ⁴de la Mata, L., ³Gutiérrez-Díaz, C., ³Moreno-Pareja, M., ⁴Nadeem H., ³Paz-Montalvo, S.

¹Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC);

²Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Universidad de Córdoba, Córdoba; ³Instituto IES Fidiana, ⁴Colegio Británico de Córdoba

Resumen

En este estudio, examinamos la función del complejo multiproteico altamente conservado conocido como la maquinaria del exosoma de RNA, que descompone, procesa y supervisa distintos tipos de RNA dentro de las células, en relación con el cáncer de próstata. Se investigó la maquinaria del exosoma de RNA en la fisiopatología del cáncer de próstata, con un enfoque en la expresión del gen *DIS3* (una de las principales herramientas que utiliza la maquinaria del RNA-exosoma para degradar RNA) en diversas líneas celulares de cáncer de próstata. Para ello, se cultivaron múltiples líneas celulares bajo condiciones estandarizadas y se extrajo RNA total utilizando el reactivo TRIzol. Posteriormente, las muestras de RNA fueron tratadas con ADNasa para eliminar cualquier contaminación de ADN genómico, asegurando una cuantificación precisa en los análisis posteriores. Tras este tratamiento, se llevó a cabo la síntesis de ADN complementario (ADNc) mediante retrotranscripción utilizando el kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis.

Los niveles de expresión de *DIS3* se evaluaron mediante PCR cuantitativa (qPCR) utilizando mezcla maestra SYBR Green. Se emplearon cebadores específicos para nuestro candidato con el fin de amplificar la secuencia objetivo, mientras que genes de referencia (housekeeping) sirvieron como controles internos para la normalización. Los datos de qPCR fueron analizados para comparar la expresión génica relativa en distintas líneas celulares de cáncer de próstata. Los resultados preliminares sugieren que el gen seleccionado presenta una expresión diferencial, posiblemente correlacionada con etapas o niveles de agresividad específicos del cáncer de próstata. Esta observación resalta la relevancia del complejo del exosoma de RNA en la biología del cáncer y sugiere que *DIS3* podría tener un papel como biomarcador o diana terapéutica.

En conjunto, la metodología utilizada —desde la extracción de RNA basada en TRIzol y el tratamiento con ADNasa, hasta la cuantificación mediante qPCR— proporciona un enfoque sólido para el análisis de la expresión génica en modelos de cáncer de próstata.

Palabras clave: Exosoma de ARN, DIS3, cáncer de próstata, Trizol, qPCR.

INVOLVEMENT OF RNA-EXOSOME MACHINERY IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF PROSTATE CANCER

¹²Prats-Escribano, A., ⁴de la Mata, L., ³Gutiérrez-Díaz, C., ³Moreno-Pareja, M., ⁴Nadeem H., ³Paz-Montalvo. S.

¹Maimonides Institute for Biomedical Research of Cordoba (IMIBIC);

²Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, University of Cordoba, Cordoba; ³IES Fidia Institute, ⁴The British School of Córdoba

Abstract

In this study, we examined the function of the highly conserved multiprotein complex known as the RNA exosome machinery, which breaks down, processes and monitors different types of RNA within cells, in relation to prostate cancer. It investigated RNA exosome machinery in prostate cancer pathophysiology, with a focus on gene expression *DIS3* (one of the main tools used by the RNA-exosome machinery to degrade RNA) in various cell lines of prostate cancer. To do this, multiple cell lines were cultured under standardized conditions and total RNA was extracted using the reagent TRIZOL. Subsequently, the RNA samples were treated with DNAase to eliminate any genomic DNA contamination, ensuring accurate quantification in subsequent analyses. After this treatment, the synthesis of complementary DNA (cDNA) was carried out by retrotranscription using the kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis.

The levels of expression of *DIS3* were evaluated by Quantitative PCR (qPCR) using SYBR Green master mix. Specific primers were used for our candidate in order to amplify the target sequence, while reference genes (housekeeping) served as internal controls for normalization. The data of qPCR were analyzed to compare relative gene expression in different prostate cancer cell lines. Preliminary results suggest that the selected gene presents differential expression, possibly correlated with specific stages or levels of aggressiveness of prostate cancer. This observation highlights the relevance of the RNA exosome complex in cancer biology and suggests that *DIS3* could have a role as a biomarker or therapeutic target.

Overall, the methodology used—from TRIZOL-based RNA extraction and treatment with ADNasa, to quantification by qPCR—provides a robust approach for gene expression analysis in prostate cancer models.

Key words: RNA exosome, DIS3, prostate cancer, Trizol, qPCR.