

A sztearil-KoA deszaturáz 1 Met→Leu aminosav cserét okozó polimorfizmusa növeli az enzim intracelluláris szintjét

Absztrakt szerzője: Tibori Kinga¹

További szerzők: Csala Miklós¹, Kereszturi Éva¹

Munkahely(ek): 1 Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biológiai Tanszék, Budapest

A metabolikus szindróma egyre nagyobb populációt érintő komplex anyagcserezavar. Kialakulásában a szisztémásan magas zsírsavszint sejtkárosító hatása bizonyítottan kulcsfontosságú, azonban sem pontos patomechanizmusa, sem hatékony kezelése nem ismert. A lipotoxicitással szembeni védekezés kiemelt fontosságú enzime a telítetlen zsírsavak szintéziséért felelős sztearil-KoA deszaturáz 1 (Scd1). Az enzim fokozott aktivitása vagy túlzott termelődése azonban szintén kedvezőtlen élettani hatásokkal jár, többek között a 2-es típusú cukorbetegség hátterében valószínűsíthető.

Célul tűztük ki az Scd1 egy missense polimorfizmusának vizsgálatát, amely a fehérje 224-es pozíciójában Met→Leu aminosav cserét eredményez (rs2234970).

A vad típusú Scd1-et pcDNA3.1- expressziós vektorba klónoztuk. A p.M224L változatot és mindkét konstrukció GluGlu-tagelt változatát irányított mutagenézissel hoztuk létre. A fehérjéket tranziens transzfekcióval HEK293 és HepG2 sejtvonalakon vizsgáltuk. Az mRNS- és fehérjeszinteket qPCR-rel és immunoblottal követtük. A p.M224L variáció genotipizálását az általunk tervezett allélspecifikus TaqMan próbák segítségével végeztük.

Az Scd1 p.M224L variánsa intracellulárisan nagyobb mértékben mutatható ki a vad típusú fehérjéhez képest mind HEK293, mind HepG2 sejtekben. A megnövekedett enzim mennyiséghez két párhuzamos folyamat együttesen járulhat hozzá. Egyfelől a p.M224L esetén jelentősen megnő az Scd1 mRNS szintje, másfelől a cikloheximid kezelést követően enyhén, de jól mérhetően lassul az egyébként rövid fél-élet idejű enzim degradációjának sebessége. A p.M224L variáció mind kontroll, mind 2-es típusú diabéteszes személyekben megtalálható. A Leu allél, bár a statisztikai szignifikancia szintjét nem éri el, de feldúsulni látszik a beteg populációban.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy a p.M224L polimorfizmus megnöveli az Scd1 fehérje intracelluláris szintjét, mely így a 2-es típusú diabétesz lehetséges rizikófaktoraként azonosítható.

A munkát az NKFIH K_125201 és FK_138115 pályázatok segítették.

SCD1: Sztearil-KoA deszaturáz 1

qPCR: kvantitatív (real-time) PCR

p.M224L: a 224-es pozícióban Met helyett Leu aminosav található

GluGlu-tag: hat aminosavból álló (ebből kettő glutaminsav) peptid, mely növeli az immunoblot szelektivitását, érzékenységét és specificitását