

A TIOREDOXIN/TIOREDOXIN-REDUKTÁZ RENDSZER LEHETSÉGES HIÁNYA AZ ENDOPLAZMÁS RETIKULUM LUMENÉBEN

Veszelyi Krisztina Nóra¹, Németh Csilla Emese², Varga Viola¹, Besztercei Balázs¹, Margittai Éva¹

¹Semmelweis Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet, Budapest;

²Semmelweis Egyetem, Molekuláris Biológiai Tanszék, Budapest

Az endoplazmás retikulum egyik fő funkciója a fehérje-tiolok oxidációja a poszttranszlációs módosításuk során. Az oxidált állapotú fehérjék túlsúlya miatt az endoplazmás retikulum lumenét általánosan oxidatív jellegűnek tekintik; holott számos, redukáló ágenseket (NADPH-t) igénylő folyamat is zajlik itt. A kolokalizált tiol/diszulfid és redukált/oxidált piridin-nukleotid rendszerek a legtöbb kompartmentumban enzimatikusan összekapcsolódnak, így komplex redox-rendszereket képeznek. Az oxidált tiol-diszulfidok és a redukált piridin-nukleotidok párhuzamos jelenléte azonban arra utalhat, hogy az endoplazmás retikulum lumenéből hiányoznak a két rendszert összekapcsoló komponensek. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az egyik ilyen összekapcsoló rendszer, a tioredoxin/tioredoxin-reduktáz rendszer fehérjék jelenlétét a lumenben.

A tioredoxin/tioredoxin-reduktáz izoformák fehérje-expresszióját szubcelluláris frakciókon Western blot vizsgálattal vizsgáltuk, míg a rendszer aktivitását az egyes organellumokban kolorimetriás kit segítségével mértük. A tioredoxin/tioredoxin-reduktáz izoformáinak sejten belüli eloszlását immunfluoreszcens mikroszkóppal is megvizsgáltuk. Az egyes izoformák prediktált lokalizációjának analízisére *in silico* analízist végeztünk.

Kimutattuk, hogy a tioredoxin-reduktáz specifikus aktivitása az endoplazmás retikulumban közel nulla (0,02 U/mg \pm 0,01), míg a citoplazmában (1,26 U/mg \pm 0,11) és a mitokondriumban (1,57 U/mg \pm 0,19) magasabb aktivitás mérhető. Patkány máj szubcelluláris frakcióinak Western blot analízise azt mutatta, hogy a tioredoxin két és a tioredoxin-reduktáz három izoformája nem expresszálódik az endoplazmás retikulumban. Immunfluoreszcens analízissel vizsgálva a tioredoxin és tioredoxin-reduktáz izoformák nem mutattak kolokalizációt az endoplazmás retikulum-marker Grp94-gyel. Az *in silico* analízis luminális lokalizációra vonatkozó predikciói minden izoforma esetén nagyon alacsony valószínűségűek (0–5%).

Eredményeink azt mutatják, hogy a tioredoxin/tioredoxin-reduktáz rendszer egyik összetevője sem expresszálódik az endoplazmás retikulum lumenében. Ezen elektrontranszfer-lánc hiánya magyarázhatja a luminális redox-rendszerek szétkapcsoltságát, lehetővé téve a redukált piridin-nukleotidok és az oxidált fehérjék egyidejű jelenlétét.