

és az erre alapozott racionális terápia kialakítását. A theranosticus megközelítésnek már ma is vannak kézzelfogható eredményei, és remélhetőleg a jövőben a klinikai gyakorlatban is alkalmazható megoldásokat fog nyújtani a pszichiátria területén is.

Adenozin-inozin RNS editing vizsgálata a zebrahal CAPS1 génjének két izoformájában

**Brauswetter Diána, Elizabeth Ferrick,
Randi Ulbricht, Ronald B. Emeson**

*Center for Molecular Neuroscience, Vanderbilt University,
Nashville*

Bevezetés: Az RNS editing egyik formája az RNS molekula poszttranszkripció adenosin-inozin konverziója, melyet az ADAR (adenosine deaminases that act on RNA) enzimsalád katalizál. Ez az enzim hidrolitikus deamináció során alakítja át a duplaszálú prekursor vagy érett mRNS molekulák adenosin bázisait inozinná. A legtöbb editing site nem-kódoló szekvenciákban található, mint az 5' és 3' UTR régió vagy intron szakaszok, és valószínűleg szerepük van az alternatív splicing, nukleáris retenció, RNS interferencia folyamatában illetve a miRNS-ekkel való interakcióban. Ritkábban előfordulhat a kódoló régióban is. Mivel az inozin az RNS molekulában guanozinként viselkedik, így citozinnal képez bázispárt. Amennyiben ez a báziscsere az RNS molekula kodonjában található, megváltoztathatja a képződő fehérje aminosavait, így változást idézve elő a fehérje funkciójában, módosítva működését.

Célkitűzés: Munkánk során célul tűztük ki a CAPS1 (Ca²⁺-dependent activator of protein secretion) ismert editing site-jának vizsgálatát. A CAPS1 fehérjének kulcsszerepe van a „large dense core” vezikulumok és szinaptikus vezikulumok dokkolásában. Kapcsolatot teremt a szinaptikus vezikulum és a sejtmembrán között, elősegítve Ca-dependens fúziójukat a neuroendokrin- és az idegsejtekben. A CAPS1 mRNS-e egy ismert editing site-tal (siteA) rendelkezik a C-terminális doménben, melynek kritikus szerepe van a vezikulum membránjával történő kapcsolatban. Ez a kódoló régióban található konverzió a fehérje glutamát (GAG) aminosavát glicinre (GIG) változtatja, változást idézhet elő a CAPS1 funkciójában, a neuroendokrin sejtek működésében.

Módszerek: A fehérje ismert editing helyét egy új biokémiai módszerrel, az ICE (inosine chemical erasing)

módszerrel vizsgáltuk zebrahalakban, mely segít elkülöníteni a valós adenosin-inozin konverziót a szekvenálási hibáktól vagy SNP-ktől. Az ICE-módszer kombinálja az inozin-specifikus cianoetilációt, reverz transzkripciót, és a direkt szekvenálás folyamatát az adenosin-inozin konverzió dektálására. A valós editing site-tal rendelkező RNS-ek cDNS amplitikonjának szekvenanciaanalízise során egy kettős adenosin-guanosin csúcsot láthatunk a konverziós helynek megfelelően. 15, 30 és 60 perc akrilnitril kezelés után az inozin molekulák specifikus kovalens módosításon esnek át, mely blokkolja az ezt követő reverz transzkripció folyamatát. A kezelt RT-PCR amplitikonok szekvenanciaanalízise során redukciót tapasztalunk a konverziós hely guanosin csúcsában, mely az inozint tartalmazó RNS molekula cDNS szintézisében történt gátlására utal. Az editinget ADAR2 transzgenikus zebrahalakon is vizsgáltuk.

Eredmények: Munkánk során a zebrahal CAPS1 fehérjéjének 11-es és 6-os kromoszómán (izoforma 1 és izoforma 2) található izoformáit vizsgáltuk. A vizsgálat 50 és 77 százalékos editinget igazolt az izoforma 1 és izoforma 2 esetében. ICE-módszerrel validáltuk a már ismert konverziós site-ot, és az izoforma 1 esetében egy új lehetséges editing site-ot (siteB) találtunk (30 százalékos editing aránnyal), melynek létezését a vizsgált cDNS szakasz klónozásával és szekvenanciaanalízisével igazoltuk.

Következtetés: Az általunk alkalmazott módszer optimalizálása új irányt jelent az editing site-ok vizsgálatában. A két izoforma eltérő arányú adenosin-inozin konverziója a szekvenciák különbözőségével magyarázható. Bár a két izoforma editing site-ja igen konzervatív (mindössze egyetlen bázisban különbözik), csak az izoforma 2 esetén találtunk két editálható helyet. Ezek az eredmények hozzásegíthetnek az ADAR enzim targetjeinek pontosabb azonosításában.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatás a Vanderbilt University VISRA nemzetközi nyári kutatói ösztöndíja segítségével jött létre. A szerző köszönetet mond az Emeson labor és a Sasvári labor valamennyi tagjának segítségéért és támogatásáért.

Időskori kórképek speciális terápiái

Csibri Éva

*Semmelweis Egyetem Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika,
Budapest*