

27

A PROTEIN FOSZFATÁZOK SZEREPE A KERATINOCITA HOMEOSZTÁZISBAN ÉS A SEBZÁRÓDÁSBAN

Horváth Dániel, Bátori Róbert, Dedinszki Dóra, Sipos Adrienn, Iván Judit, Kónya Zoltán, Kiss Andrea, Tamás István, Erdődi Ferenc, Lontay Beata

Debreceni Egyetem ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet

Bőrünk megannyi stresszhatásnak van kitéve, ilyenek például az ultraibolya sugárzás és a különféle sérülések. A keratinociták megváltozott viselkedése jelátviteli folyamatokkal is együtt jár, melyekben a szerin/reonin specifikus protein foszfátázok is részt vesznek. Célunk, hogy tanulmányozzuk a protein foszfátáz-1 (PP1) enzimnek szerepét a sebzárási folyamatban. Kutatásainkat humán keratinocita (HaCaT) sejtkultúrán és egérbőrön végeztük.

Balb/c egerek bőrén azonos méretű sebeket ejtettünk, melyeket 6 napon keresztül PP1-specifikus gátlószert tautomycinnel (TM) és RhoA-aktivált kináz (ROK) inhibitor H1152-vel kezeltünk. Azt tapasztaltuk, hogy a H1152 gyorsította, míg a TM kezelés szignifikánsan lassította a sebzárást a kontroll sebekhez képest. HaCaT sejteket H1152-vel és TM-mel 24 órán át kezelve a TM-sejtölő hatását tapasztaltuk MTT assay-vel. A tautomycinnel kezelt HaCaT sejtek, illetve a TM-kezelt sebszövet protein foszfátáz aktivációja egyaránt mintegy 50%-kal csökkent a kontrollokhoz képest, ami arra utal, hogy a protein foszfátáz aktiváció közel felelős a PP1 enzimnek felelősek a keratinocitákban és a sebszövetben.

Konfluens HaCaT monolayert megkarcoltunk, és a fent említett inhibitorokkal kezeltünk majd 24 órán át növesztettük. A karcolat (scratch) zártását mikroszkóppal illetve Judd készlettel követjük nyomon, utóbbi óránként készített felvételeket a sejtkultúráról. A scratch assay is azt mutatta, hogy a TM csökkent, míg a H1152 elősegíti a sejtek migrációját. HaCaT sejtekben csendesítettük a PP1 enzimesaládba tartozó, a ROK szubsztációját defoszforiláló miozin foszfátáz holoenzim szabályozó alegységét. A csendesítés hatására scratch assay-vel a sebzárási lassulását tapasztaltuk.

Eredményeink azt mutatják, hogy a protein foszfátáz-1 enzimnek – közöttük a miozin foszfátáz – elősegítik, míg a ROK gátolja a sebzárási folyamatát.

Támogatás: OTKA PD104878, TÁMOP 4.2.2.A-11/KONV-2012-0025, BMC Korea Fund Magyar és Szodoray Ösztöndíj, és a Debreceni Egyetem (RH/751/2015).

Rövidítések: PP1: protein foszfátáz-1, HaCaT: humán keratinocita, TM: tautomycin, H1152 (S)-(+)-2-metil-1-[(4-metil-5-isokinolinil)sulfonil]homopiperazin-2HCl, ROK: RhoA-aktivált kináz, MTT: metil-tiazol-tetrazolium.

28

A MITOKONDRÁLIS CIKLOFILIN D FEHÉRJE NEUROPROTEKTÍV HATÁSAI; VIZSGÁLATOK BÉTA-AMILOIDOT TERMELŐ EGÉRMODELLBEN

Horváth Gergő, Horváth Máttyás, Tóth Krisztina, Sváb Gergely, Ádám Veronika, Tretter László

Semmelweis Egyetem, Orvosi Biokémiai Intézet, MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport

Az Alzheimer-kór a β -amiloid (A β) és a tau fehérjék felhalmozódása jellemzi. A betegség korai szakaszában az A β kapcsolódása a különböző mitokondriális fehérjékhez előidézheti a bioenergetikai funkciók romlását, az oxidatív stressz fokozódását ennek következtében neuron károsodást és sejtpusztulást eredményez. A mitokondriumban lévő ciklofilin D (CypD) fehérje a mitokondriális permeabilitás tranzíciós pórus egyik fő regulátora. A mitokondriális pórus nyílását követően a sejt pusztulása következhet be. Egy mitokondriumban végzett kísérleteinkben a CypD fehérje géntűlésének neuroprotektív hatását vizsgáltuk kóros mennyiségű A β jelenlétében. Hipotézisünk szerint a CypD-KO-val keresztezett Alzheimer-kór egérmódelben kevésbé sérülnek a bioenergetikai paraméterek.

Kísérleteinket 4 fajta egér (vadotrs, Alz (Alzheimer-kór egérmódel-mutáns APP és mutáns PSEN1), CypD-KO és Alz/CypD-KO) agyból izolált mitokondriumokkal végeztük. A vizsgálatunk során különböző légzési szubsztátok mellett mértük a mitokondriális O₂ fogyasztást, az ATP-termelést illetve a H₂O₂-termelést.

Kísérleteink során csökkent O₂ fogyasztást és ATP-termelést tapasztaltunk az Alz-egerekben, ehhez a jelenséghez fokozott mitokondriális H₂O₂-termelés társult. Az Alz/CypD-KO hibrid bioenergetikai paraméterei jobbnak bizonyultak, mint az Alz-mintákké. Az Alz/CypD-KO mitokondriumok eredményei a CypD-KO-val voltak összemérhetők.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy az Alzheimer-kór egérmódelben a mitokondriumok működése károsodott, viszont a CypD fehérje kiütése javította a mitokondriumok bioenergetikai funkcióit. A vizsgálat alapján elmondható, hogy a CypD akár potenciális gyógyászati célpont lehet a neurodegeneratív betegségekben kezelésben.

Támogatás: OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2.B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nemzeti Kutatási Program (KTI13_NAP-A-III/6)