

2010 Diciembre, 2(2): 1-2

GPAT2 ES UN GEN VINCULADO CON LA PROLIFERACIÓN CELULAR QUE SE EXPRESA EN ESPERMATOGONIAS Y EN CÉLULAS CANCEROSAS INDIFERENCIADAS

Pellon Maison M, Cattáneo ER, Lacunza E, Abba M, González-Baró MR

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata

e-mail: magalipellon@yahoo.com.ar

Introducción

El primer paso de la síntesis de glicerolípidos en células de mamífero está catalizado por la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT). Se han clonado hasta el momento cuatro genes que codifican para isoformas de esta enzima, los que se expresan en distintos tejidos y en diferentes localizaciones subcelulares. En particular, estamos interesados en la función de la GPAT2, isoforma que se expresa principalmente en testículo de rata, ratón y humano. Previamente hemos demostrado que Gpat2 se expresa en células de la línea espermática y que cuando este gen se sobreexpresa en células CHO-K1 aumenta la síntesis y almacenamiento de triacilglicéridos, así como también la proliferación celular.

Objetivo

En este trabajo nos propusimos establecer la especificidad de sustrato de GPAT2 con el propósito de identificar cuáles son los metabolitos derivados de su actividad que promueven la proliferación celular. Otro de nuestros objetivos fue establecer en qué tipo de células de la línea espermática se expresa este gen y analizar la expresión en distintos tipos de células tumorales.

Materiales y métodos

Células CHO-K1: se cultivaron células CHO-K1 en condiciones rutinarias y se realizaron transfecciones transitorias para sobreexpresar el gen que codifica para Gpat2 de ratón. Este modelo se utilizó para la medida de actividades enzimáticas, así como también para experimentos de marcado con ¹⁴C-araquidonato durante 3, 6 y 24 horas. En los tiempos indicados se extrajeron los lípidos totales, se separaron las distintas fracciones mediante TLC y se analizaron las placas mediante un escáner de radiactividad.

Actividades enzimáticas: se midió la actividad GPAT y AGPAT utilizando como muestra membranas derivadas de células que sobreexpresan Gpat2

Hibridización in situ: se utilizaron cortes de testículo de ratón adulto y se utilizaron sondas sentido y antisentido para determinar qué tipos celulares expresan Gpat2

Diferenciación de células 3T3-L1: se incubaron estas células con dexametasona e insulina para inducir la diferenciación celular. Se extrajo ARN a distintos tiempos del proceso de diferenciación, se sintetizó ADN complementario y se midió la expresión de Gpat2 mediante qPCR.

Resultados

La medida de actividades enzimáticas en células CHO-K1 que sobreexpresan el gen Gpat2, demostraron que esta enzima esterifica selectivamente al araquidonil-CoA, siendo activa tanto para la posición 1 del esqueleto del glicerol-3-fosfato (actividad GPAT), como en la posición 2 (actividad AGPAT). Mediante experimentos de marcación con ¹⁴C-araquidonato demostramos que la sobreexpresión del gen incrementa la marca en la fracción triacilglicéridos y disminuye la marca en la fracción fosfolípidos (PC y PE) a las 3 horas de incubación. A las 6 y 24 horas se observa un incremento significativo en la lisofosfatidilcolina radiactiva. Mediante hibridización in situ demostramos que Gpat2 se expresa en células mitóticamente activas (espermátogonias), y que la expresión disminuye dramáticamente cuando las células ingresan en la fase meiótica o de diferenciación celular. Mediante el análisis in silico de transcriptomas observamos que Gpat2 se expresa en células indiferenciadas y que disminuye la expresión en distintos modelos de diferenciación celular. Analizamos entonces la expresión de Gpat2 en células 3T3-L1 sometidas a diferenciación a adipocitos. A diferencia de las otras GPATs, el mensajero que codifica para Gpat2 no aumenta su nivel en este modelo de diferenciación, en concordancia con los resultados obtenidos in-silico. Mediante RT-PCR demostramos que Gpat2 se expresa en la línea celular

2010 Diciembre, 2(2): 2-2

MDA-MB 231, derivada de cáncer de mama. La expresión fue negativa en otras líneas de cáncer de mama más diferenciadas.

Conclusiones

Gpat2 es un gen que se expresa en espermatogonias en condiciones normales y aparece sobreexpresado en células tumorales indiferenciadas. Alguno de los metabolitos derivados de su actividad enzimática, ricos en araquidonato podrían funcionar como señales para la proliferación y/o supervivencia celular.