

CALMODULINA I CALMODULIN-BINDING PROTEINS EN LÍNIES TRANSFORMADES DE LIMFOCITS.

Josep Colomer, Neus Agell, Oriol Bachs.

En aquest estudi hem mesurat els nivells de mRNA dels tres gens de la calmodulina (CaM) i la concentració de CaM en els homogenats i nuclis de 8 línies transformades de limfòcits humans. També hem analitzat la presència de calmodulin-binding proteins (CaMBP) en homogenats i nuclis de limfòcits no activats, activats i de les línies.

Mitjançant la tècnica de Northern blot i utilitzant sondes específiques per a cada gen, hem vist que en aquestes línies s'expressen els tres gens de la CaM. El gen de la CaM I expressa un missatger de 1.7 Kb, la CaM II un de 1.4 Kb i la CaM III n'expressa dos, de 2.3 Kb i 0.8 Kb respectivament. Referent al nivell d'expressió no hi ha gaires diferències entre els limfòcits no activats i les línies pel que fa als gens CaM I i CaM II, però respecte el gen CaM III la major part de les línies tenen uns nivells de missatger molt alts (semblantment al que passa amb els limfòcits activats).

Hem mesurat la concentració de CaM en els homogenats de les línies i l'hem comparat amb la dels limfòcits sense activar. Les línies en general donen concentracions superiors als 0.52 ng CaM/ μ g prot dels limfòcits no activats, excepte la línia HPB-ALL que conté 0.43 ng CaM/ μ g prot. Les mesures fetes en els nuclis de dues de les línies (JY, la que més alta té la concentració de CaM en els homogenats, i la HPB-ALL, la més baixa) donen valors inferiors al dels nuclis controls sense activar.

Donat que l'acció de la CaM és a través de proteïnes que s'hi uneixen (CaMBP) i canvien la seva conformació, hem obtingut el patró de CaMBP d'alta afinitat mitjançant la tècnica d'overlay. Els homogenats mostren un patró de 235 KDa, 60 KDa, i 50 KDa comú. Com a diferències, les bandes de 150 KDa i 62 KDa s'observen més marcades en els limfòcits no activats que en les línies, mentre que unes bandes de 170 KDa i 120 KDa apareixen només en les línies. Als nuclis observem un patró de 235 KDa, 150 KDa, 60 KDa, i 50 KDa comú. Com a diferències, els nuclis de les línies i limfòcits activats mostren unes bandes de 180 KDa i 130 KDa i els nuclis dels limfòcits no activats mostren unes de 110 KDa, 62 KDa i 56 KDa. Utilitzant la tècnica de immunoblotting, demostrem que la banda de 235 KDa correspon a la α -espectrina, i la banda de 62 KDa es tracta de calcineurina.