

CARACTERITZACIÓ DELS ELEMENTS RESPONSABLES
DE LA RESPOSTA A INSULINA DEL GEN
DE L'HMG-CoA SINTASA MITOCONDRIAL

Gabriel Gil-Gómez, Joan Carles Rodríguez, José Ayté, José Antonio Ortiz,
Laura Canadell, Cristina Mascaró, Fausto G. Hegardt i Diego Haro.
Unitat de Bioquímica. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

L'HMG-CoA sintasa mitocondrial és un dels principals punts de regulació de la biosíntesi de cossos cetònics. El gen codificant per a aquest enzim és regulat a nivell transcripcional i postranscripcional per la insulina de forma negativa. Un fragment de 1.2 kb de la zona 5' flanquejant del gen és suficient per guiar la transcripció d'un gen marcador (CAT) i conferir-li la mateixa regulació negativa per insulina observada per al gen endògen en línies d'hepatoma (HepG2). Mitjançant transfecció transitòria de derivats delectats d'aquesta regió hem mapejat la posició de dos elements involucrats en la resposta a insulina en un fragment de 254 bp. La fusió d'aquesta regió al promotor de la timidina kinasa del virus del herpes simplex, que originalment no respón a insulina, li confereix regulació negativa per insulina similar a la del promotor de l'HMG-CoA sintasa mitocondrial. Hem determinat les zones d'unió de proteïnes nuclears de fetge de rata a aquesta regió mitjançant footprinting amb DNaseI, i basant-nos en aquesta informació hem dissenyat sondes adients per realitzar experiments de retardació en gel. A una d'aquestes sondes (fragment B *SphI-DdeI* de 75 bp) s'uneix una proteïna nuclear que no està present a extractes nuclears de rates diabètiques però que reapareix al cap de 3 hores de tractar amb insulina a aquestes rates diabètiques. En extractes de rates controls aquesta proteïna també està present. Mitjançant experiments de Southwestern blot realitzats amb aquesta sonda marcada radioactivament hem pogut demostrar que el factor que s'hi uneix té un pes molecular aparent en gels d'SDS-PAGE de 100 kDa i és molt menys abundant a extractes nuclears de rates diabètiques que en extractes de rates diabètiques tractades amb insulina o extractes control.