

El cluster catiónico de la fosfolipasa A₂ de grupo IVA está implicado en la translocación de la enzima a fagosomas en macrófagos humanos

María A. Balboa, et al.

*Instituto de Biología y Genética Molecular, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC),
Universidad de Valladolid, 47003 Valladolid, Spain*

February 1, 2010

La fosfolipasa A₂ citosólica de grupo IVA (cPLA₂) juega un papel en la actividad microbicida de las células inmunes al translocarse al fagosoma para iniciar la producción de eicosanoides antimicrobianos. En este trabajo se ha estudiado la participación del cluster catiónico de la cPLA₂ (Lys488/Lys541/Lys543/Lys544) en la translocación de la enzima a la copa fagosomal en macrófagos humanos respondiendo a zymosan opsonizado. La fagocitosis se acompañó de una liberación de ácido araquidónico libre, inhibible por pirrofenona. En células transfectadas con un cPLA₂ catalíticamente activa unida a GFP, se observó translocación a la copa fagosomal, lo que se corroboró con experimentos de fagocitosis frustrada en placas revestidas de inmunoglobulina G. Sin embargo, una cPLA₂ mutada en el cluster polibásico que no puede unirse al fosfolípido aniónico fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) no se translocó a la copa fagocítica. Por otro lado, la cPLA₂ se localizó en los mismos lugares del fagosoma que un dominio PH de fosfolipasa C1γ que específicamente une PIP₂. La alta expresión del dominio PH inhibió la translocación de la cPLA₂. Por otra parte, también se estudió el comportamiento de la fosfolipasa secretada de grupo V y la fosfolipasa A₂ independiente de calcio de grupo VIA, ambas unidas a GFP. Ninguna de ambas translocó al fagosoma. En conjunto, estos datos sugieren que el cluster polibásico de cPLA₂ (Lys488/Lys 541/Lys 543/Lys 544) participa en la localización subcelular de la enzima en fagosomas.

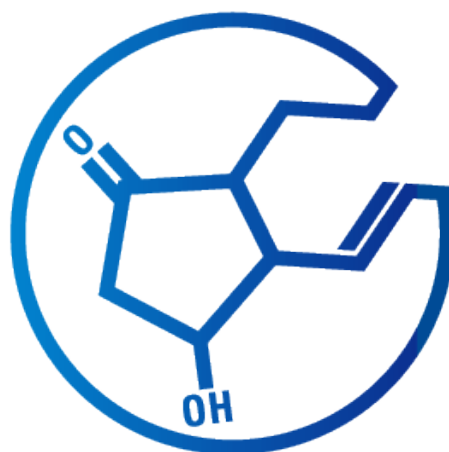
Financiación: Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2007-60055, BFU2007-67154)
Junta de Castilla y León, Consejería de Educación (CSI09-A08).

REFERENCES

1. Balsinde, J., M. A. Balboa, P. A. Insel, and E. A. Dennis. 1999. Regulation and inhibition of phospholipase A₂. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39: 175–189.
2. Balsinde, J., M. V. Winstead, and E. A. Dennis. 2002. Phospholipase A₂ regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Lett.* 531: 2–6.
3. Balsinde, J., and M. A. Balboa. 2005. Cellular regulation and proposed biological functions of group VIA calcium-independent phospholipase A₂ in activated cells. *Cell. Signal.* 17: 1052–1062.
4. Balboa, M.A., and J. Balsinde. 2006. Oxidative stress and arachidonic acid mobilization. *Biochim. Biophys. Acta* 1761: 385–391.
5. Casas, J., M. A. Gijón, A. G. Vigo, M. S. Crespo, J. Balsinde, and M. A. Balboa. 2006. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate anchors cytosolic group IVA phospholipase A₂ to perinuclear membranes and decreases its calcium requirement for translocation in live cells. *Mol. Biol. Cell* 17: 155–162.
6. Shirai, Y., J. Balsinde, and E. A. Dennis. 2005. Localization and functional interrelationships among cytosolic group IV, secreted group V, and Ca²⁺-independent group VI phospholipase A₂s in P388D₁

macrophages using GFP/RFP constructs. *Biochim. Biophys. Acta* 1735: 119–129 .

7. Casas, J., M. A. Gijón, A. G. Vigo, M. S. Crespo, J. Balsinde, and M. A. Balboa. 2006. Overexpression of cytosolic group IVA phospholipase A₂ protects cells from calcium-dependent death. *J. Biol. Chem.* 281: 6106–6116.
8. Balboa, M. A., Y. Shirai, G. Gaietta, M. E. Ellisman, J. Balsinde, and E. A. Dennis. 2003. Localization of group V phospholipase A₂ in caveolin-enriched granules in activated P388D₁ macrophage-like cells. *J. Biol. Chem.* 278: 48059–48065.
9. Balsinde, J., B. Fernández, and E. Diez. 1990. Regulation of arachidonic acid release in mouse peritoneal macrophages. The role of extracellular calcium and protein kinase C. *J. Immunol.* 144: 4298–4304.
10. Balsinde, J., B. Fernández, J. A. Solís-Herruzo, and E. Diez. 1992. Pathways for arachidonic acid mobilization in zymosan-stimulated mouse peritoneal macrophages. *Biochim. Biophys. Acta* 1136: 75–82 .
11. Balsinde, J., M. A. Balboa, P. A. Insel, and E. A. Dennis. 1997. Differential regulation of phospholipase D and phospholipase A₂ by protein kinase C in P388D₁ macrophages. *Biochem. J.* 321: 805–809 .
12. Balsinde, J., M. A. Balboa, S. Yedgar, and E. A. Dennis. 2000. Group V phospholipase A₂-mediated oleic acid mobilization in lipopolysaccharide-stimulated P388D₁ macrophages. *J. Biol. Chem.* 275: 4783–4786.
13. Balsinde, J., M. A. Balboa, and E. A. Dennis. 2000. Identification of a third pathway for arachidonic acid mobilization and prostaglandin production in activated P388D₁ macrophage-like cells. *J. Biol. Chem.* 275: 22544–22549.
14. Balsinde, J. 2002. Roles of various phospholipases A₂ in providing lysophospholipid acceptors for fatty acid phospholipid incorporation and remodelling. *Biochem. J.* 364: 695–702.
15. Balboa, M. A., Y. Sáez, and J. Balsinde. 2003. Calcium-independent phospholipase A₂ is required for lysozyme secretion in U937 promonocytes. *J. Immunol.* 170: 5276–5280.
16. Balboa, M. A., and J. Balsinde. 2002. Involvement of calcium-independent phospholipase A₂ in hydrogen peroxide-induced accumulation of free fatty acids in human U937 cells. *J. Biol. Chem.* 277: 40384–40389.
17. Pérez, R., R. Melero, M. A. Balboa, and J. Balsinde. 2004. Role of group VIA calcium-independent phospholipase A₂ in arachidonic acid release, phospholipid fatty acid incorporation, and apoptosis in U937 cells responding to hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 279: 40385–40391.



**THE EICOSANOID
RESEARCH DIVISION**
VALLADOLID