



Podocin: szerkezet és öröklődés meghatározó kapcsolata egy membránfehérjében

K. Menyhárd Dóra, Schay Gusztáv, Tory Kálmán

Stráner Pál, Balogh Eszter, Mikó Ágnes, Kerti Andrea, Christelle Arrondel,

Kaposi Ambrus, Géraldine Mollet, Perczel András, Corinne Antignac

MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Kutatócsoport

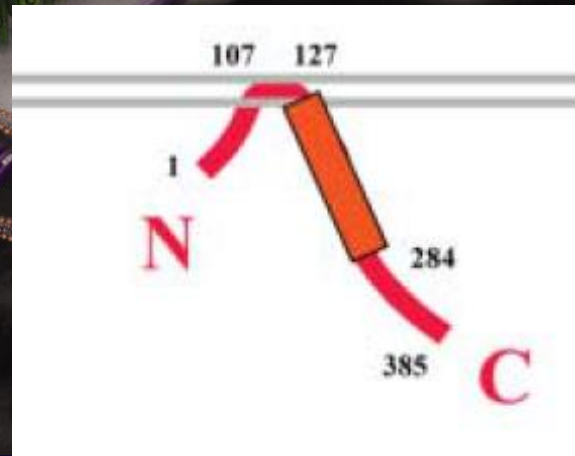
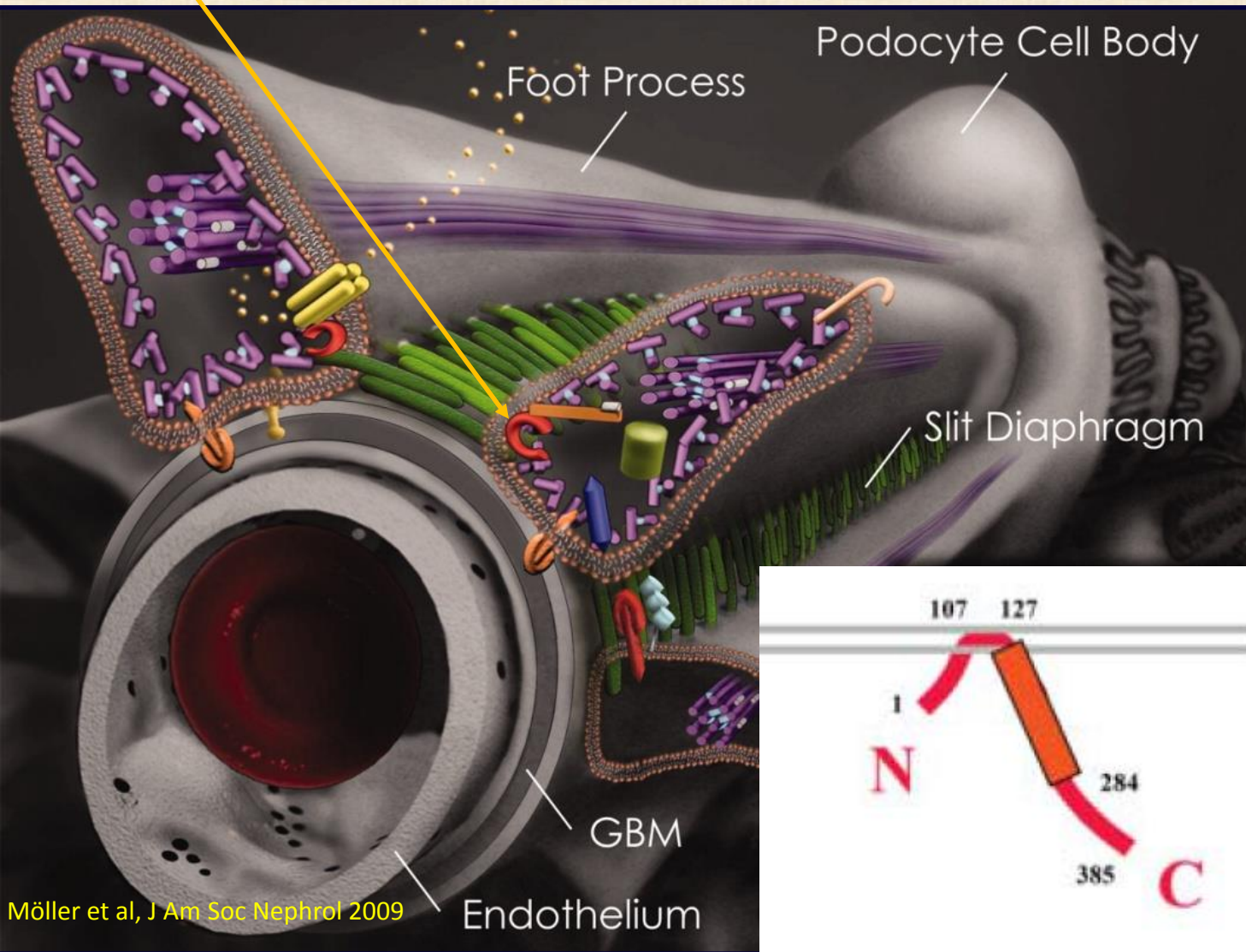
MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport

Semmelweis Egyetem, Biofizikai Intézet

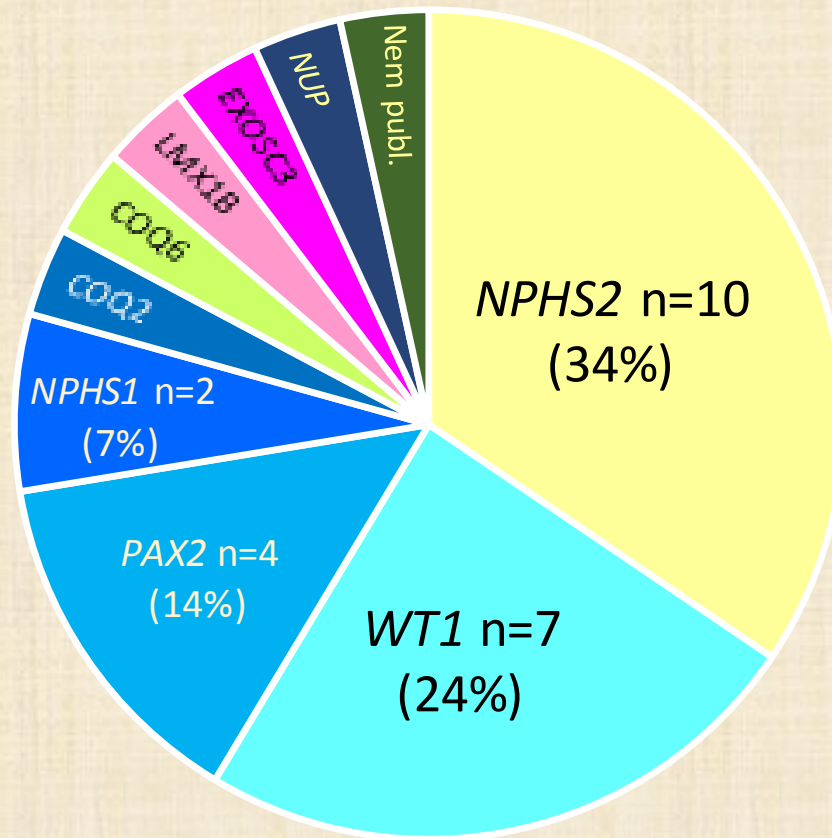
Laboratory of Hereditary Kidney Disorders, Institut Imagine, Párizs

Podocin, a glomerularis részmembrán alkotóeleme

podocin-diszfunkció → albuminuria → hypalbuminemia → odema



A podocint kódoló *NPHS2* mutációi a gyermekkori szteroid-rezisztens nephrosis leggyakoribb okai



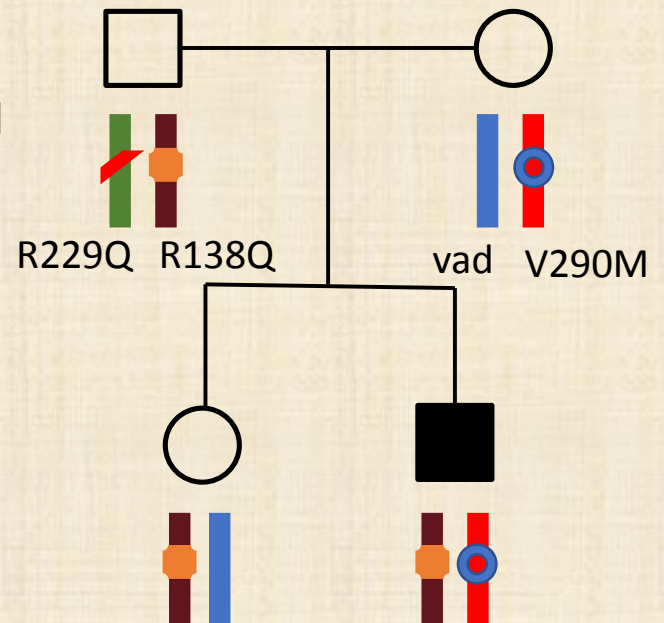
SE, I. Gyermekklinikán gondozott gyermekek körében

Az első humán variáns, melynek patogenitása a társult mutáció függvénye: *NPHS2*, R229Q

- R229Q allélfrekvenciája: 3,6% Európában

hypomorph variáns, ami ha mutációhoz társul, veseelégtelenséget okoz
(Tsukaguchi et al, J Clin Invest 2002)

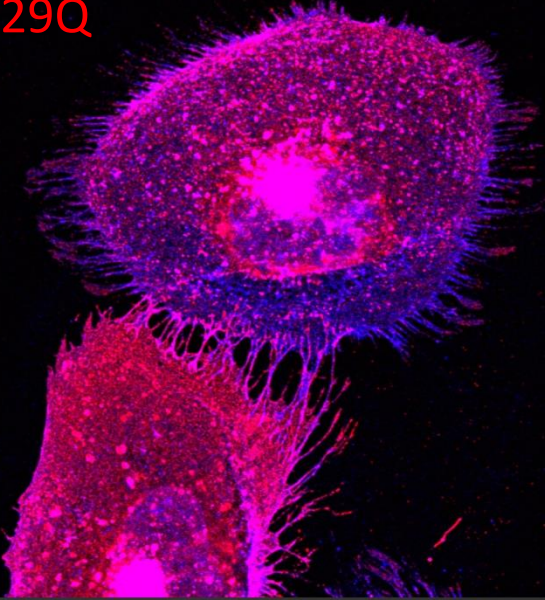
- De: két nagyságrenddel ritkábban írják le betegekben, mint kellene:
- **inkompletten penetráns kell legyen**
- a betegekben misszensz C-terminális mutációkhoz társul
- csak bizonyos mutációkhoz társultan lehet patogén



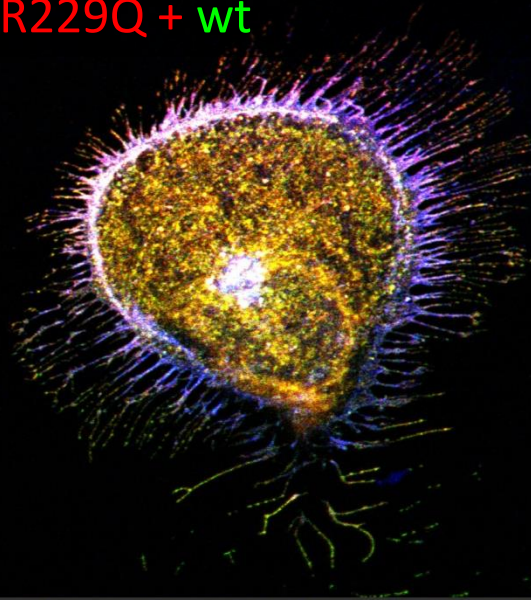
Tory K, Menyhard DK, Woerner S, Nevo F, Gribouval O, Kerti A, Straner P, Arrondel C, Cong EH, Tulassay T, Mollet G, Perczel A, Antignac C: Mutation-dependent recessive inheritance of *NPHS2*-associated steroid-resistant nephrotic syndrome. **Nat Genet** 2014.

Az R229Q podocin membrán-lokalizált

R229Q



R229Q + wt



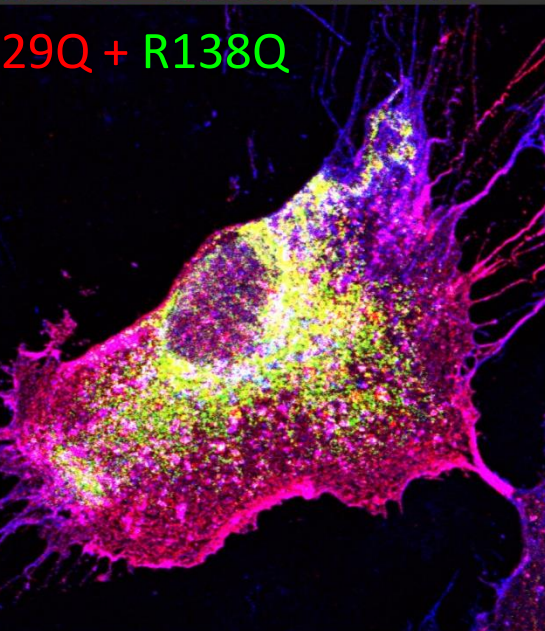
Podocita sejt kultúra

podocin^{R229Q}

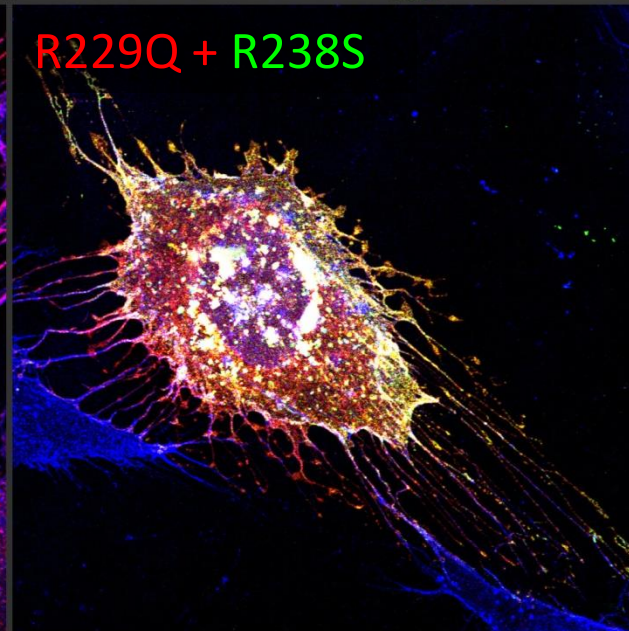
podocin^{mutáns}

sejtmembrán

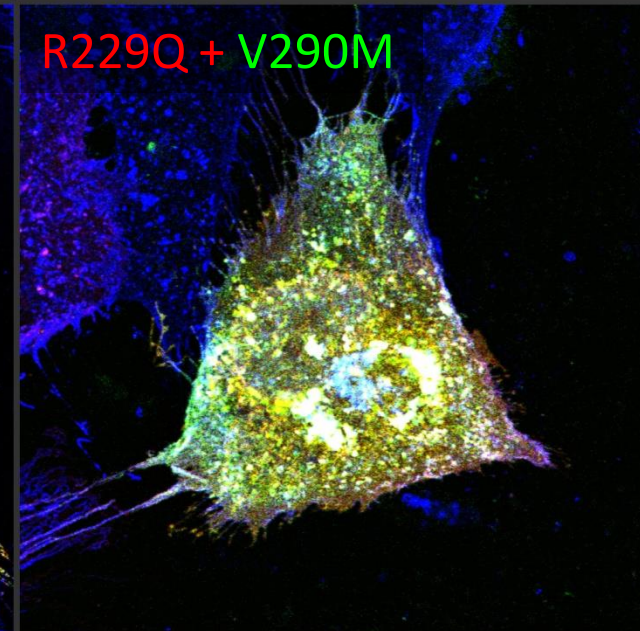
R229Q + R138Q



R229Q + R238S

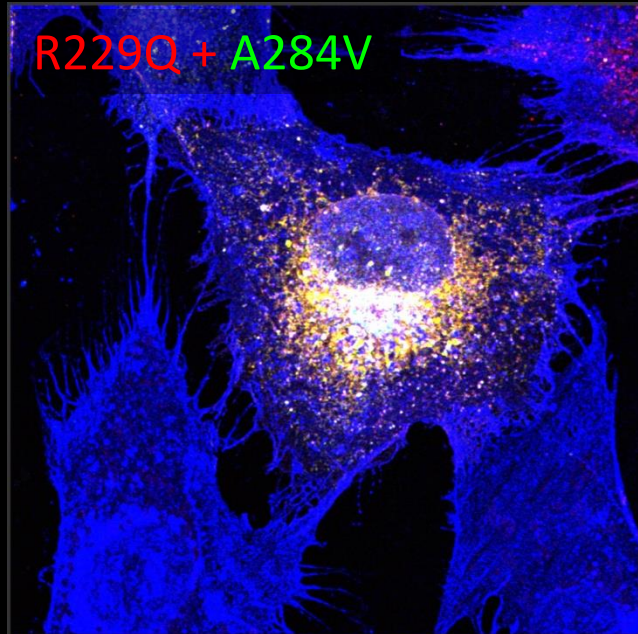


R229Q + V290M

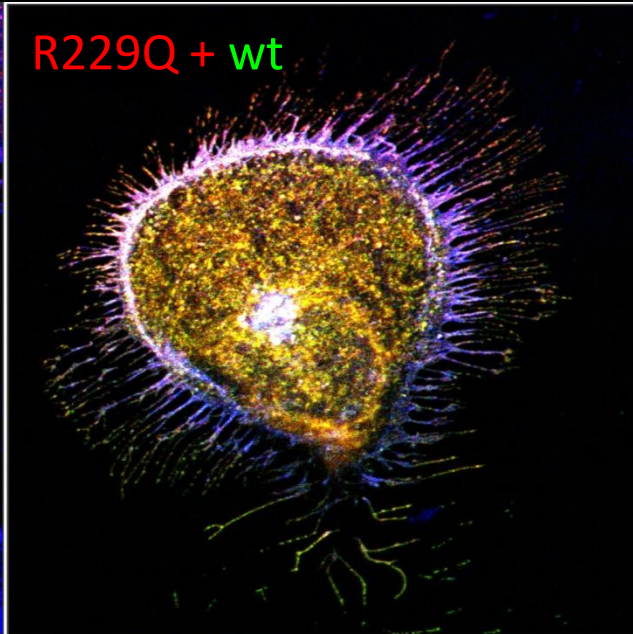


A patogén társulásokban azonban nem.

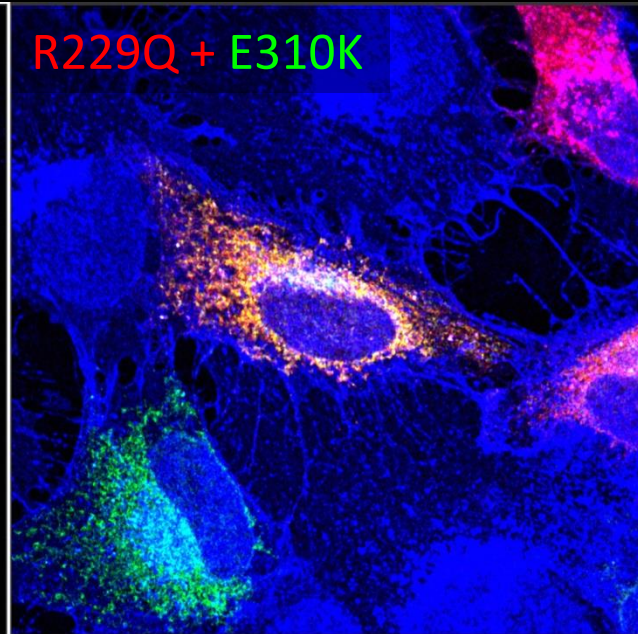
R229Q + A284V



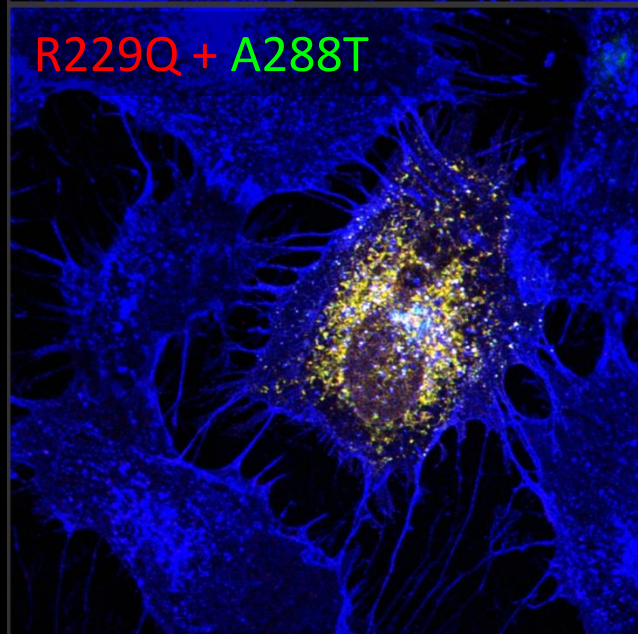
R229Q + wt



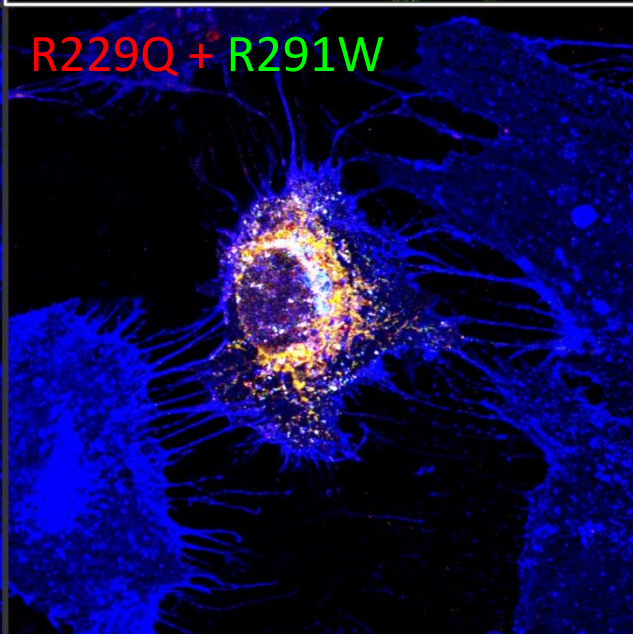
R229Q + E310K



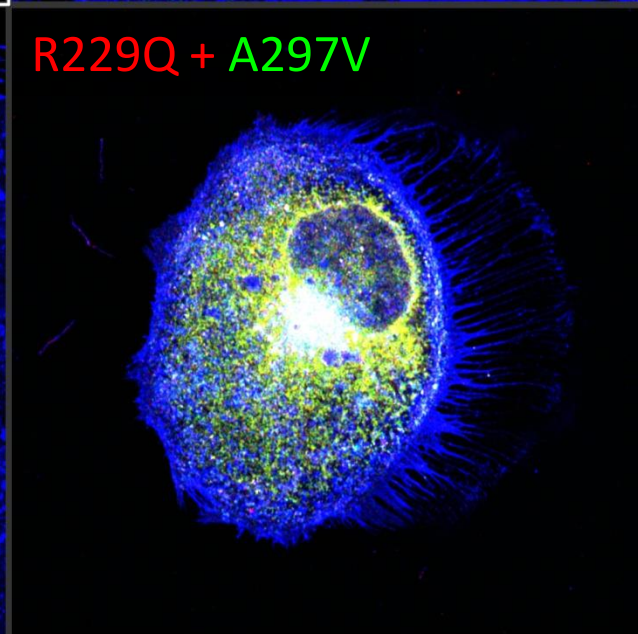
R229Q + A288T



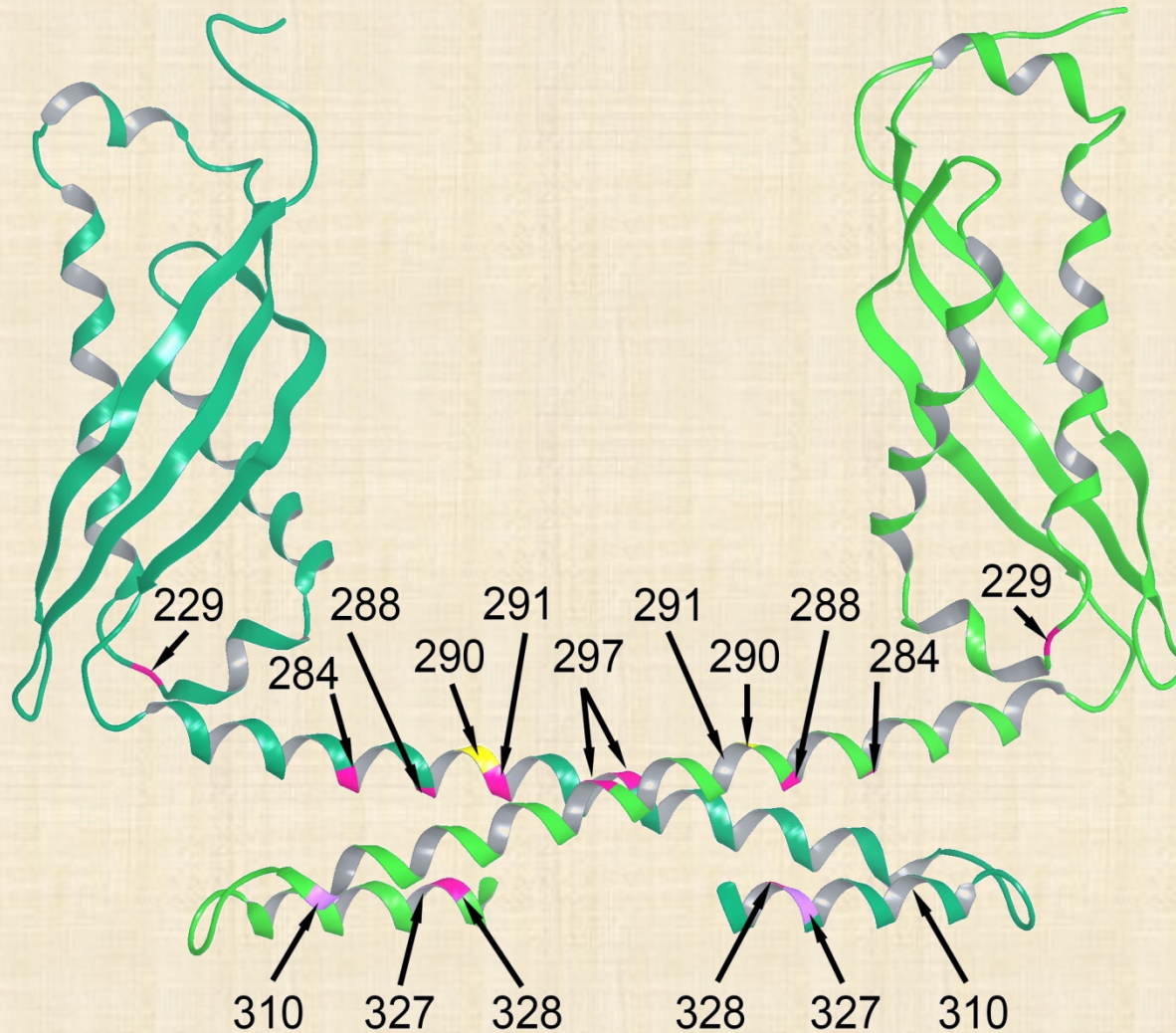
R229Q + R291W



R229Q + A297V



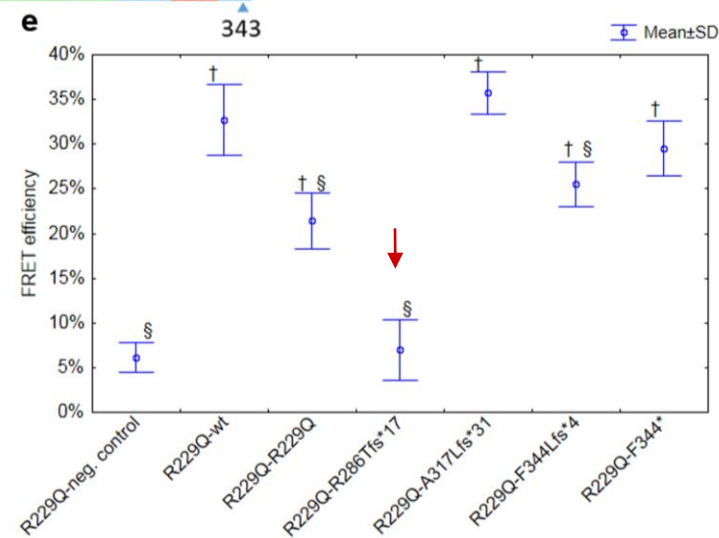
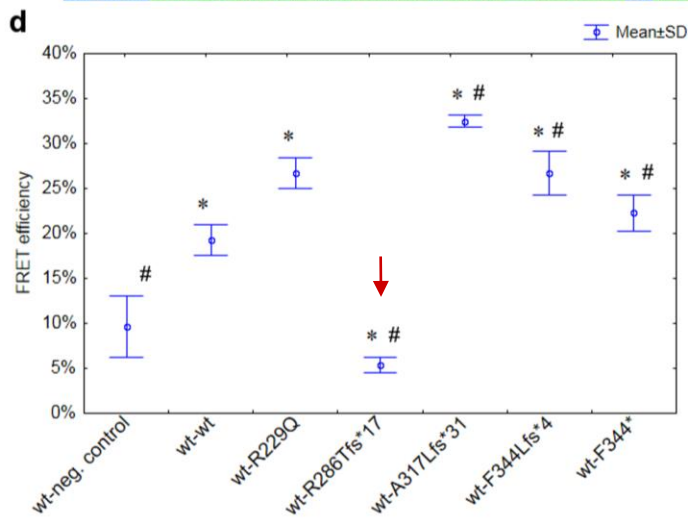
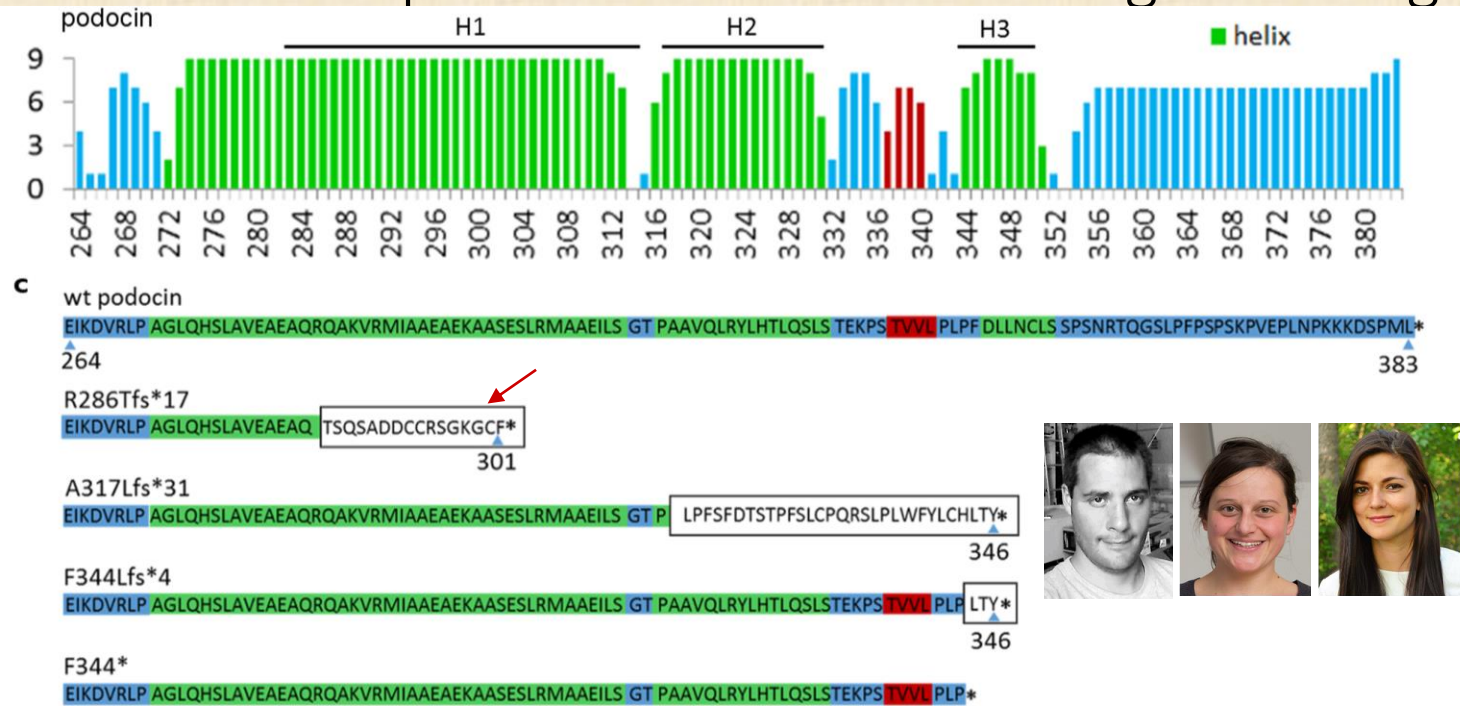
A dimer-modell alapján a domináns negatív mutációk befolyásolják az oligomerizációt



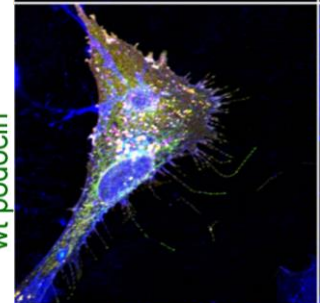
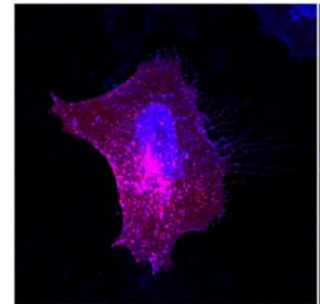
A podocin-homodimer szerkezete

a *Pyrococcus horikoshii* stomatin-dimer szerkezete alapján (Yokoyama et al, *J Mol Biol*, 2008)

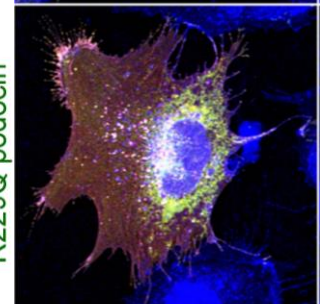
És valóban: a podocin a C-terminális régióban oligomerizálódik



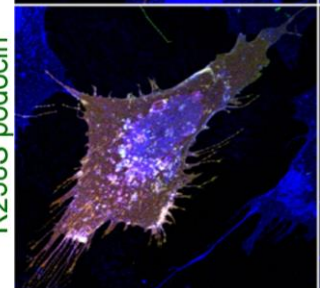
R286Tfs*17 podocin



wt podocin

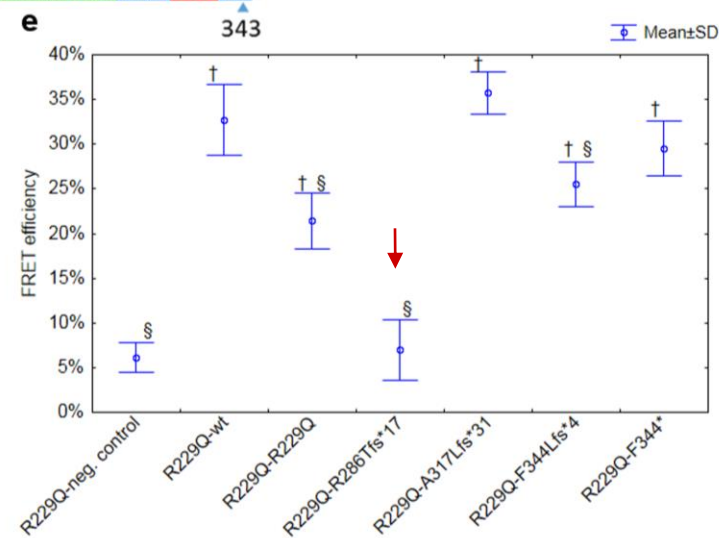
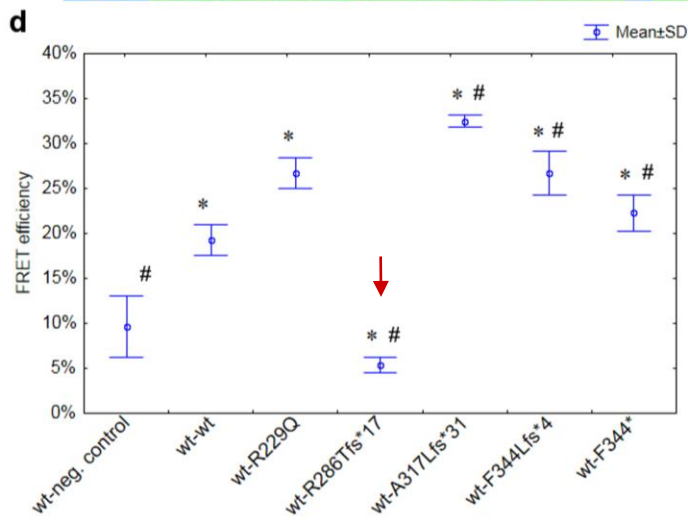
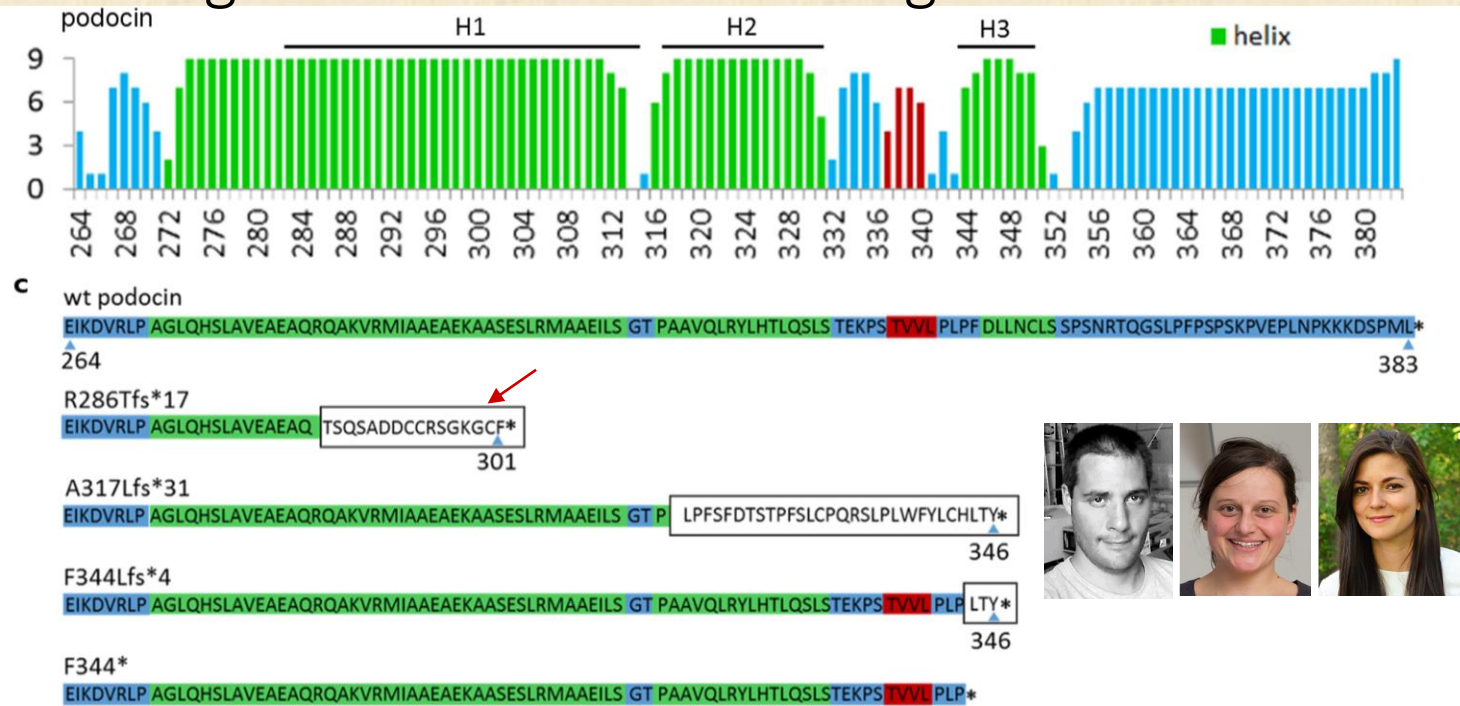


R229Q podocin

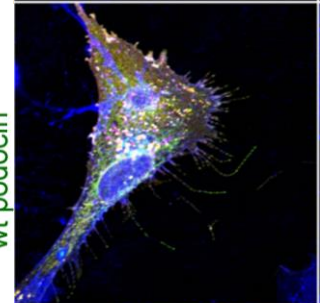
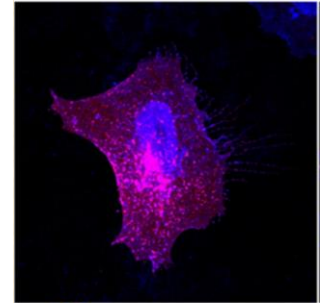


R238S podocin

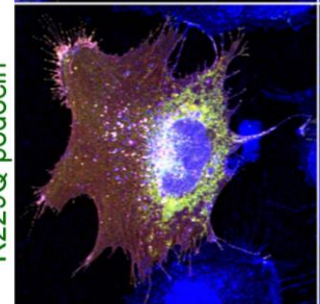
Az oligomerizáció nem szükséges a membrán-lokalizációhoz



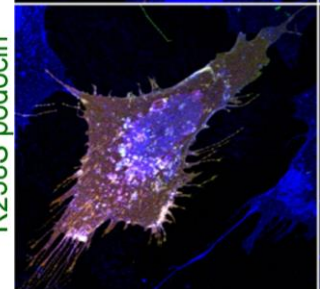
R286Tfs*17 podocin



wt podocin

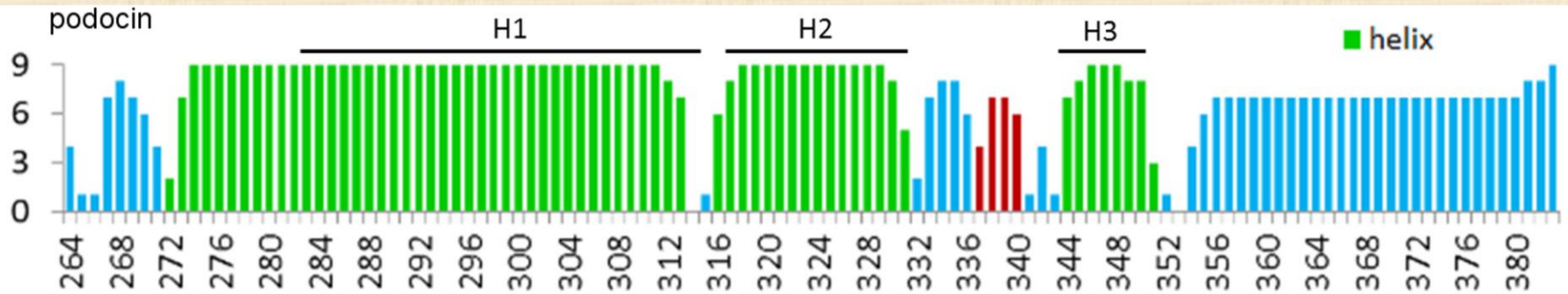


R229Q podocin

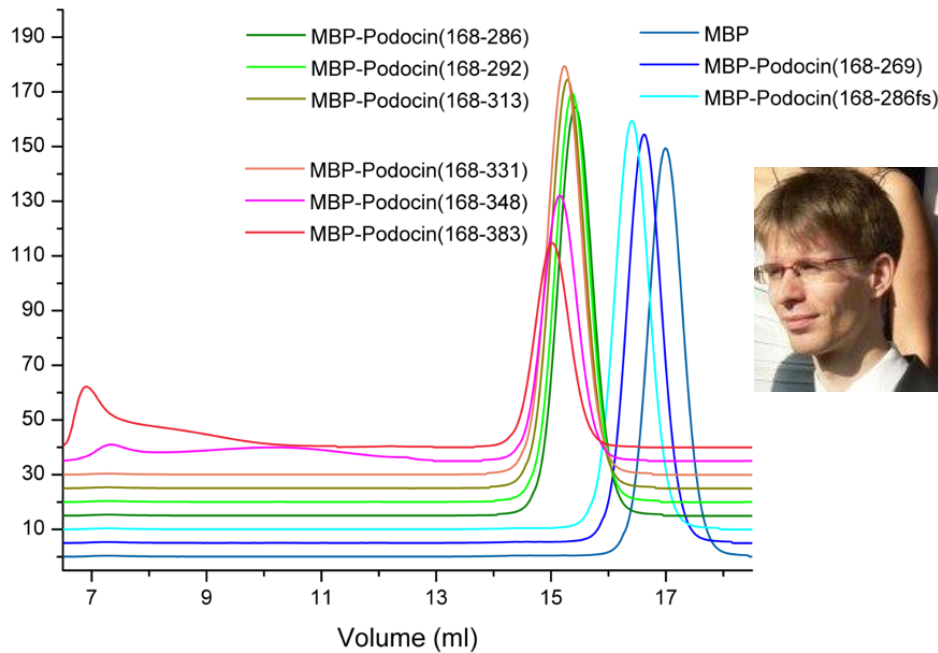


R238S podocin

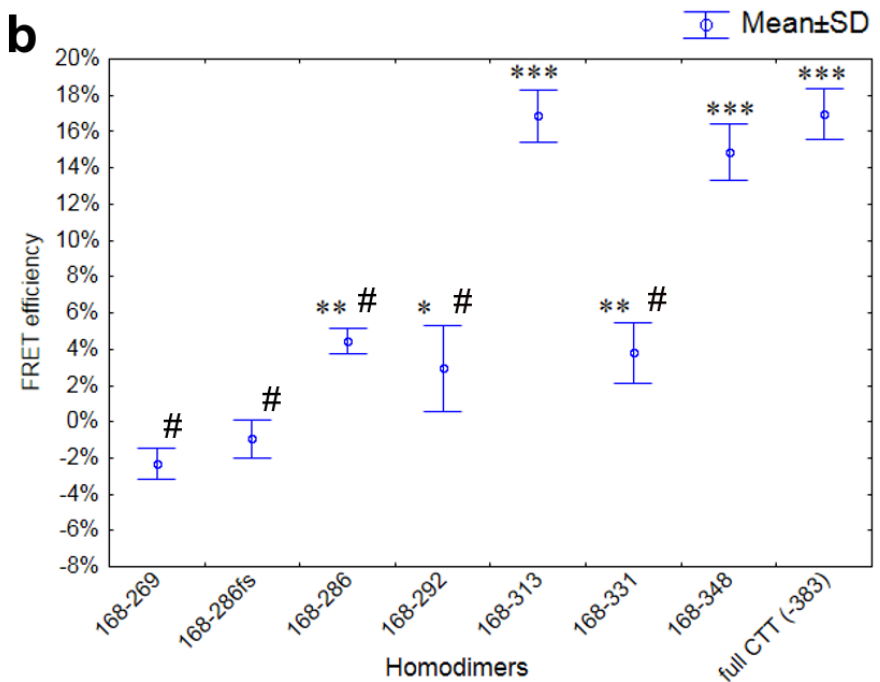
A két oligomerizációs régió: 283-313, 332-348



a



b

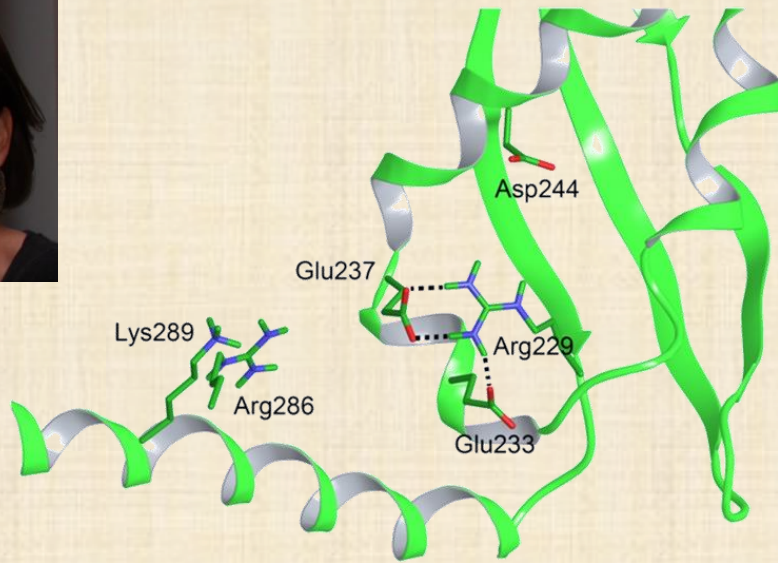


Stráner P, Balogh E, Schay G, Arrondel C, Mikó Á, L'Auné G, Benmerah A, Perczel A, K. Menyhárd D, Antignac C, Mollet G, Tory K: C-terminal oligomerization of podocin mediates interallelic interactions. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.** 2018. 1864:2448-2457.

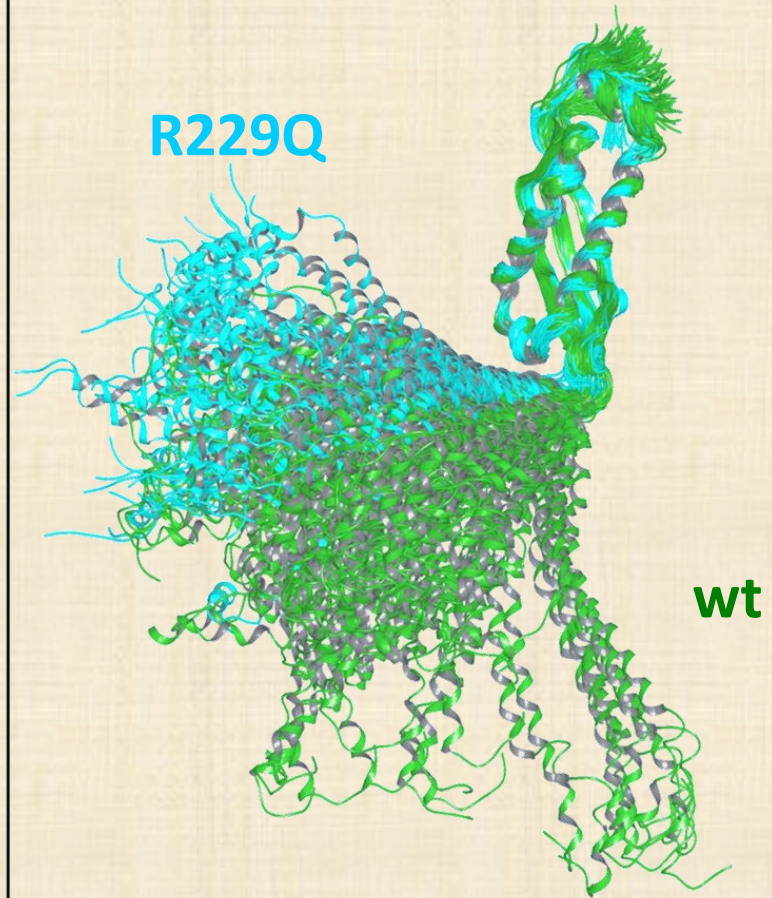
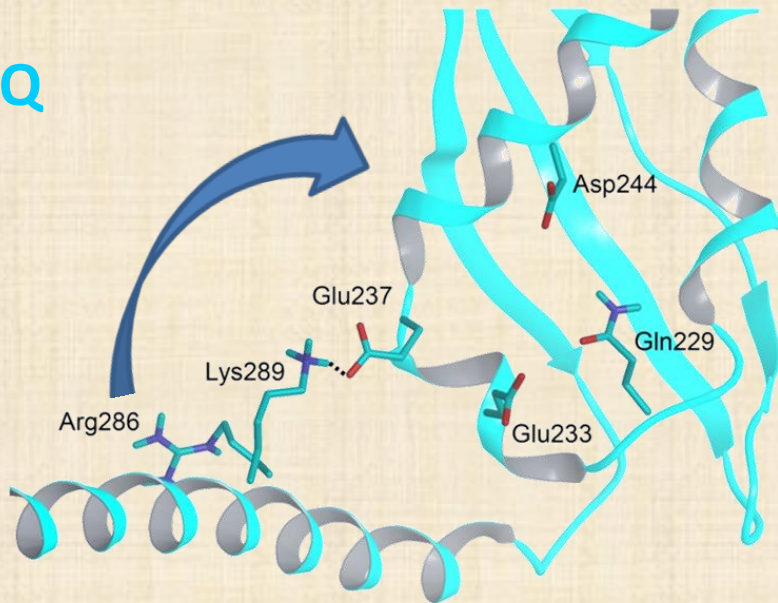
Az R229Q csökkenti a helikális régió flexibilitását



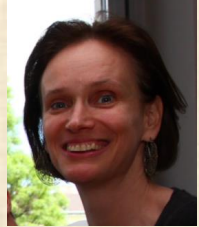
wt



R229Q



wt



A patogén dimerek szerkezete kóros

nem patogén dimerek

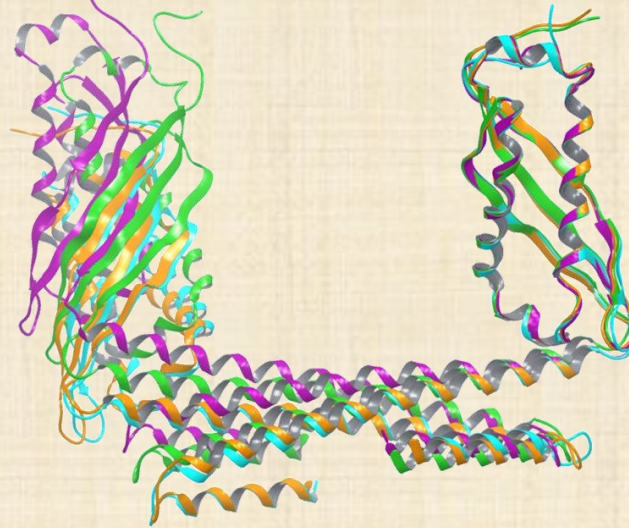
podocin^{R229Q/R229Q}

podocin^{V290M/R229Q}

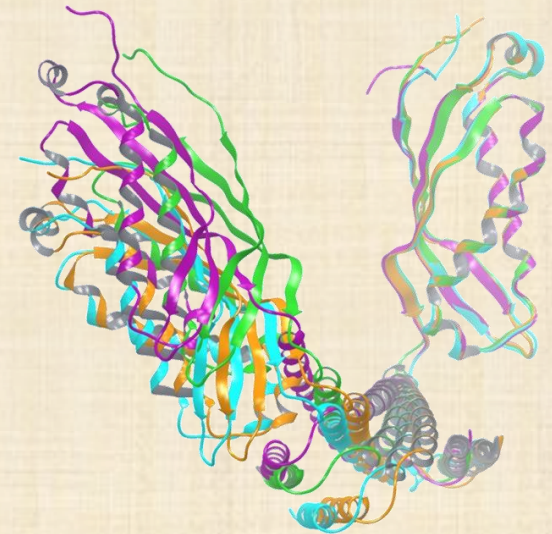
podocin^{A284V/wt}

podocin^{wt/wt}

A előlnézet



oldalnézet



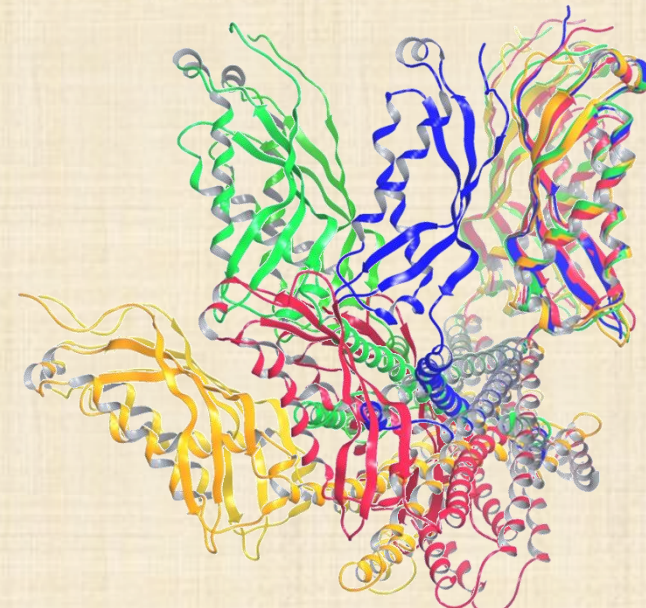
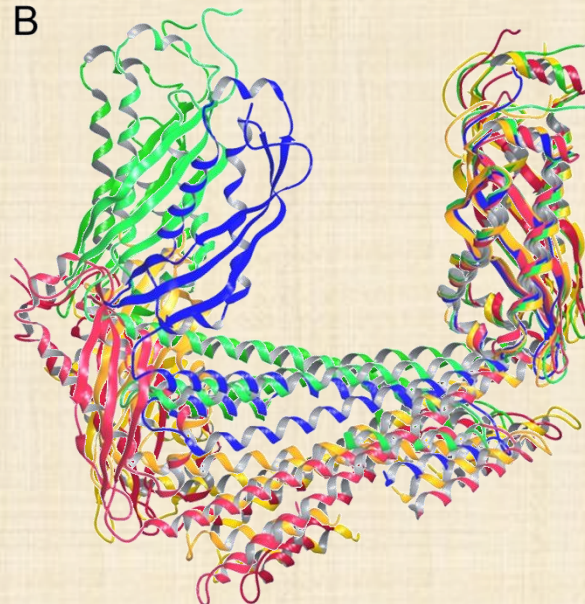
patogén dimerek

podocin^{A284V/R229Q}

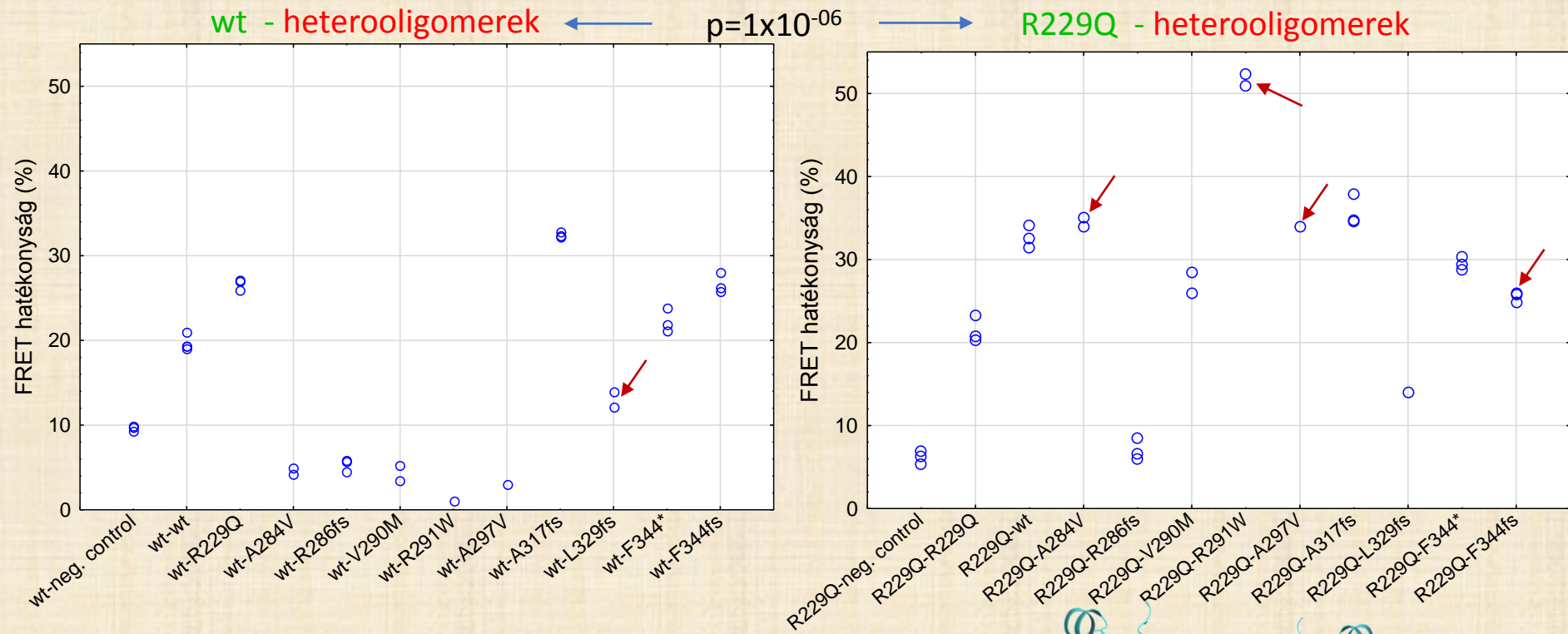
podocin^{A297V/R229Q}

podocin^{A284V/A284V}

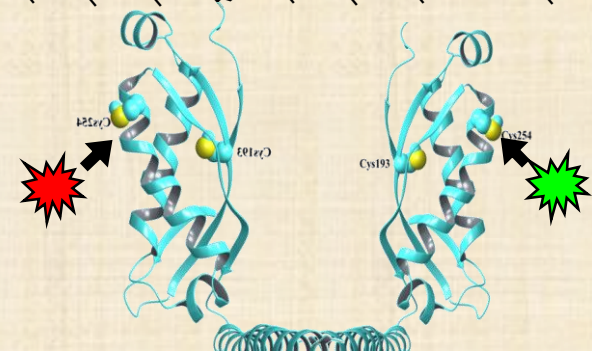
B



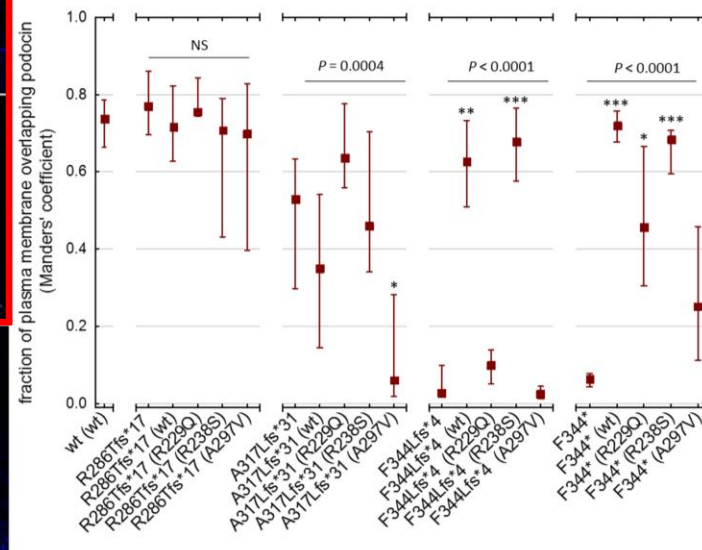
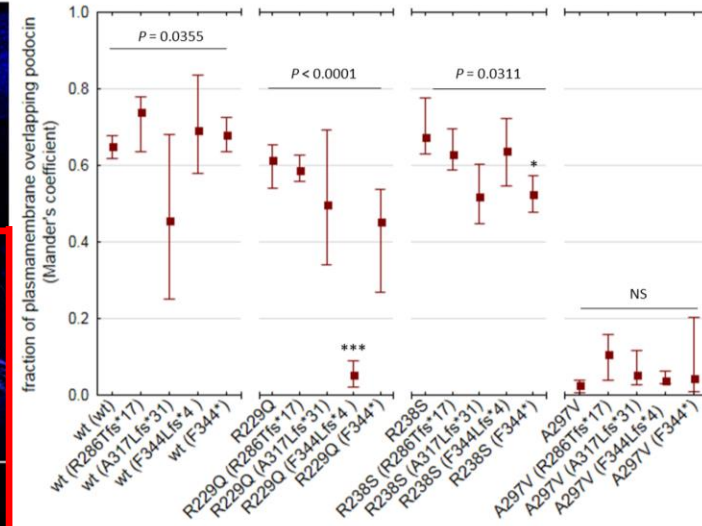
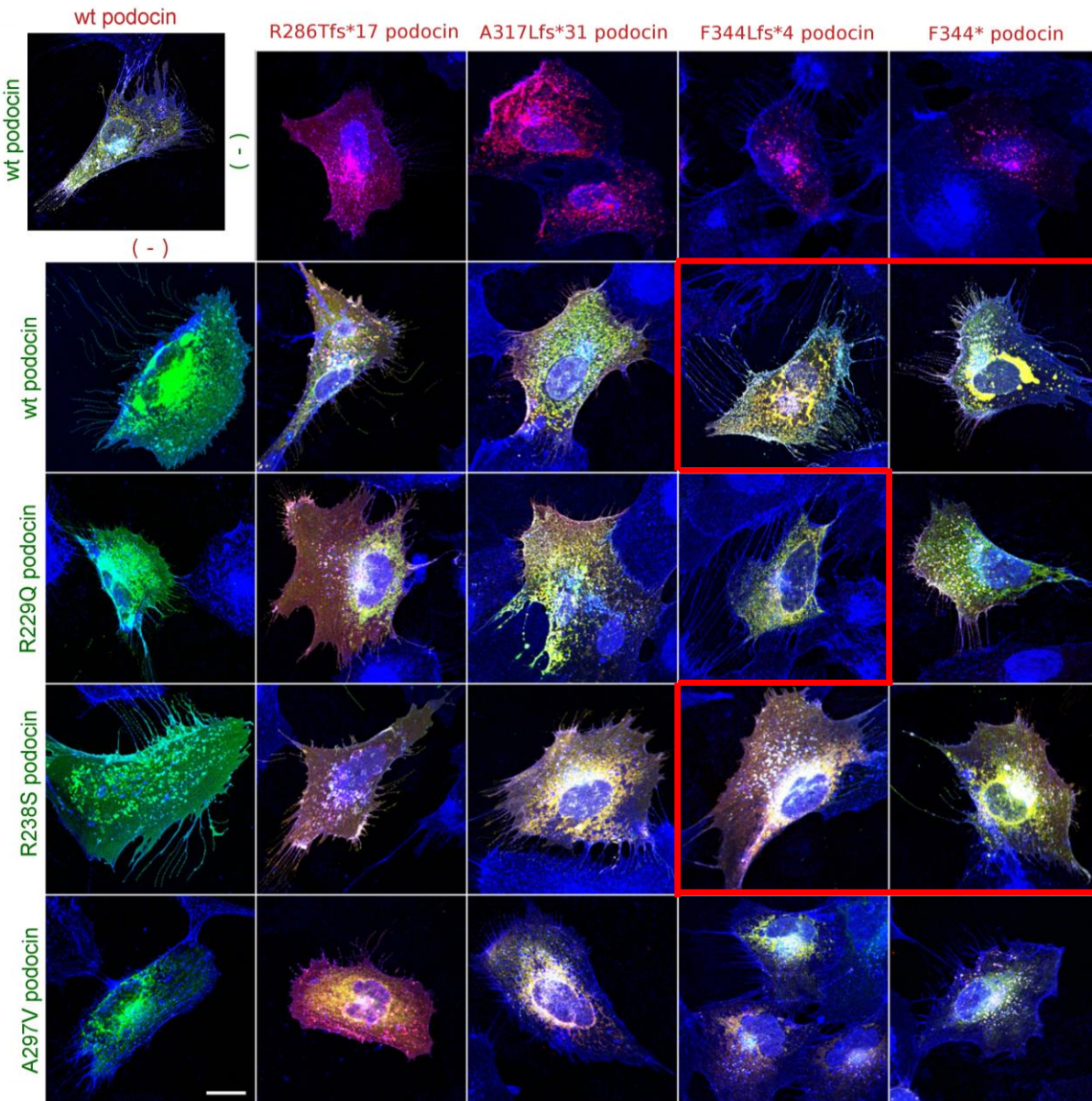
És valóban: az R229Q heterooligomerek, és különösen a patogén heterooligomerek FRET-hatékonysága magasabb



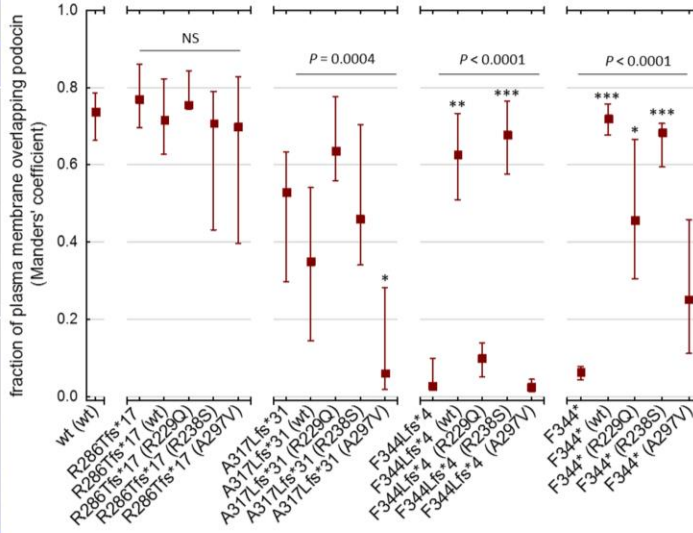
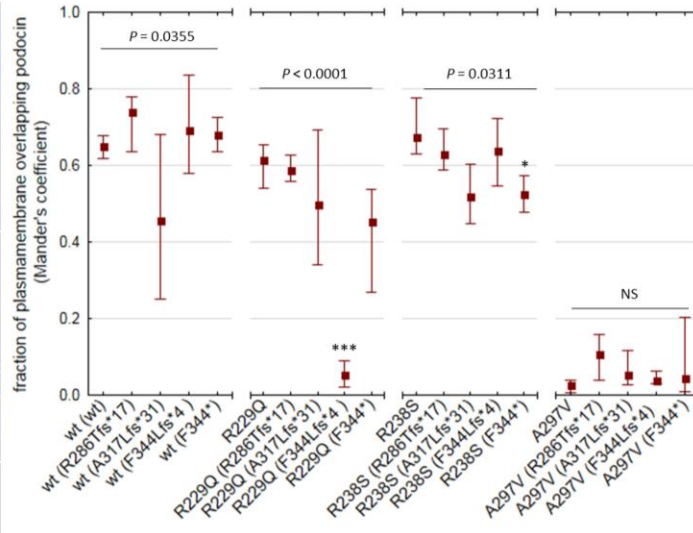
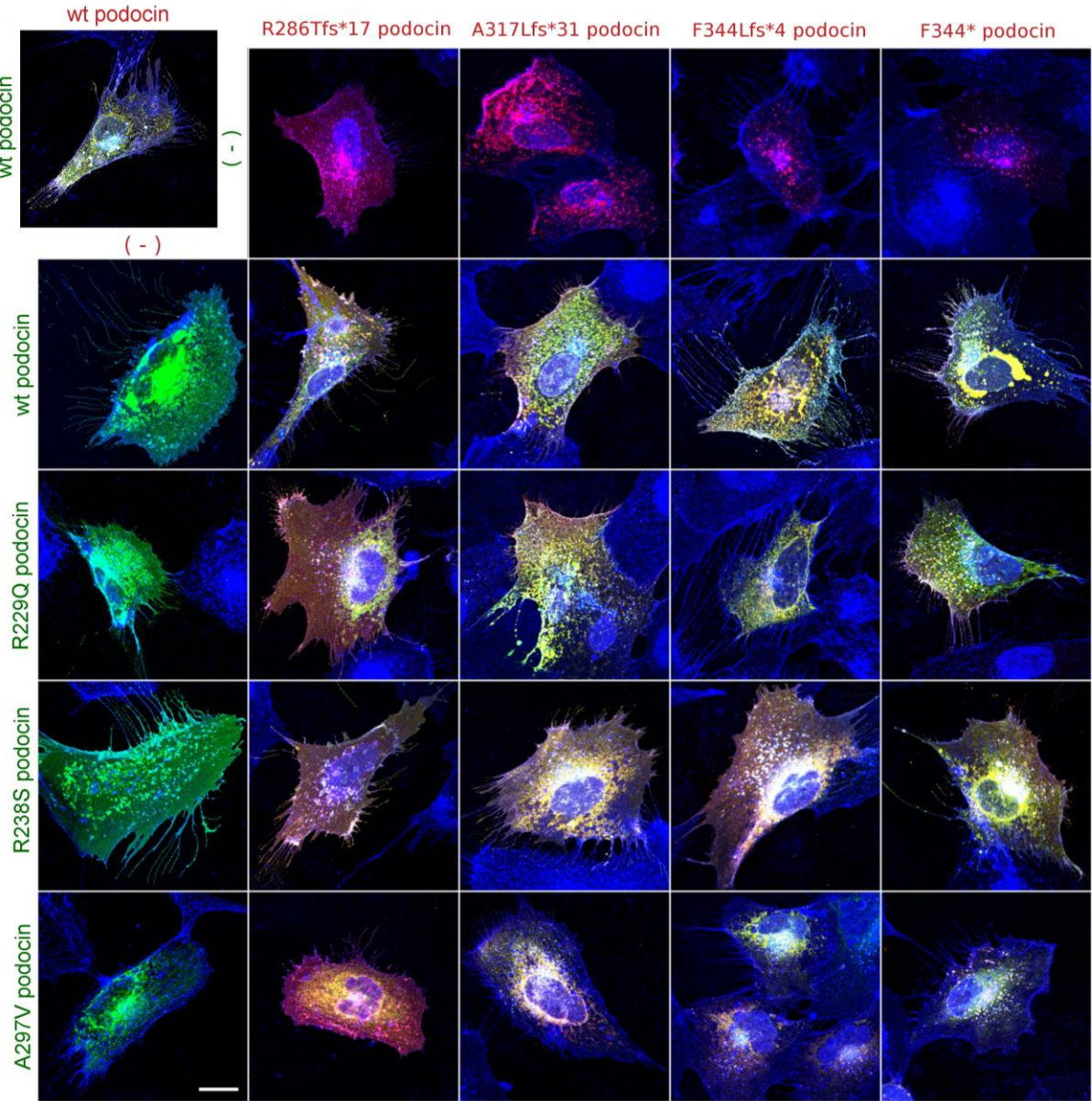
↓
patogén
társulások



Az F344Lfs*4 és az F344* podocin internalizációját más podocin variánsok meg tudják akadályozni: **komplementáció is lehetséges a dimerizáció révén**

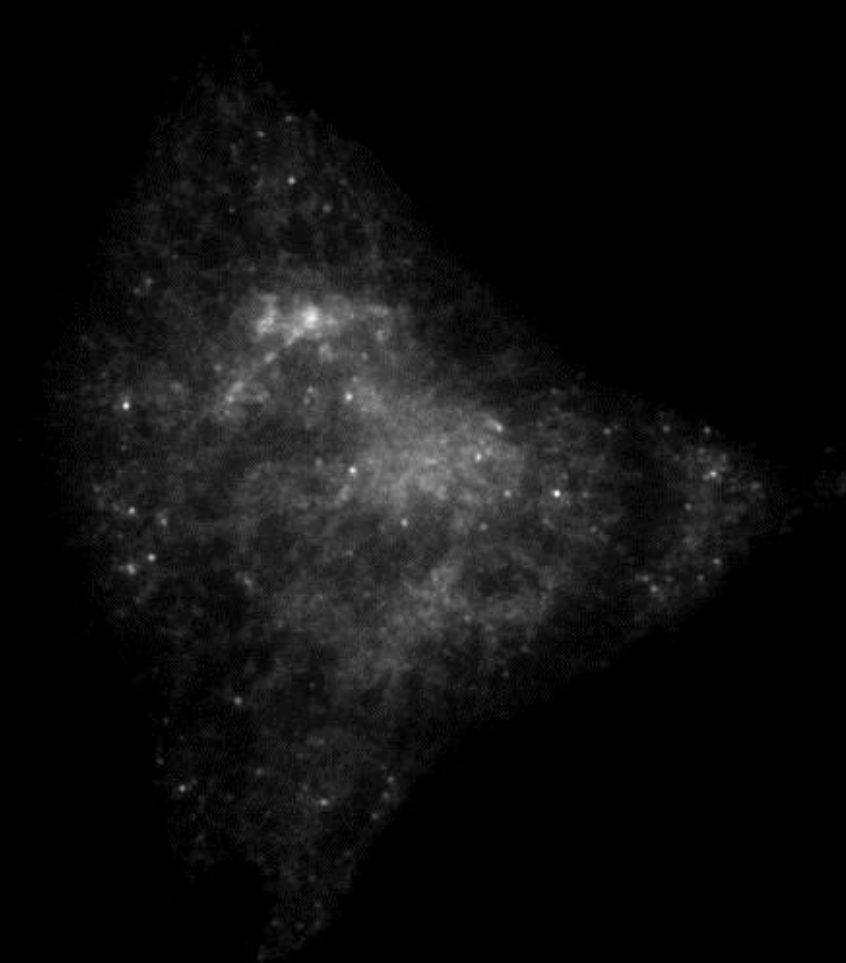
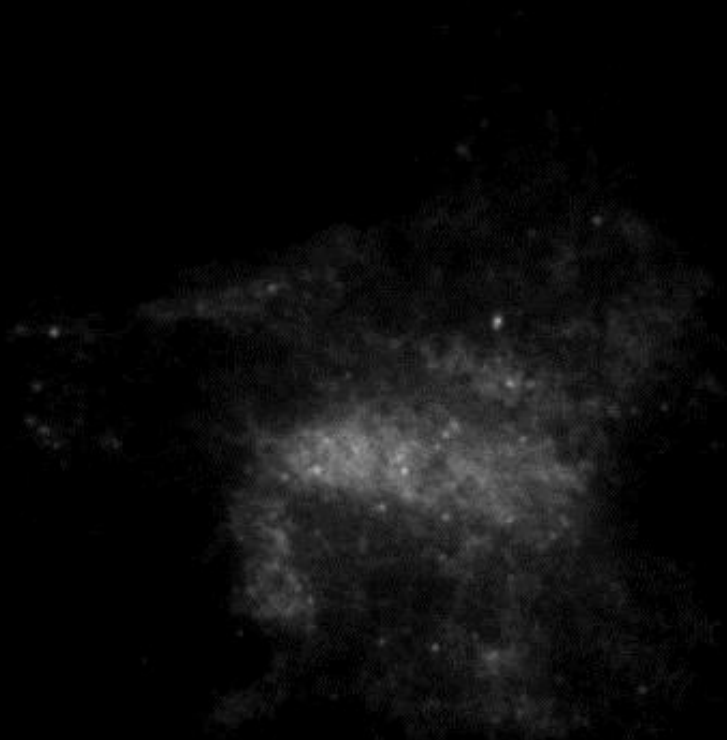


A podocin interakciói nem csak az R229Q variánst befolyásolják!

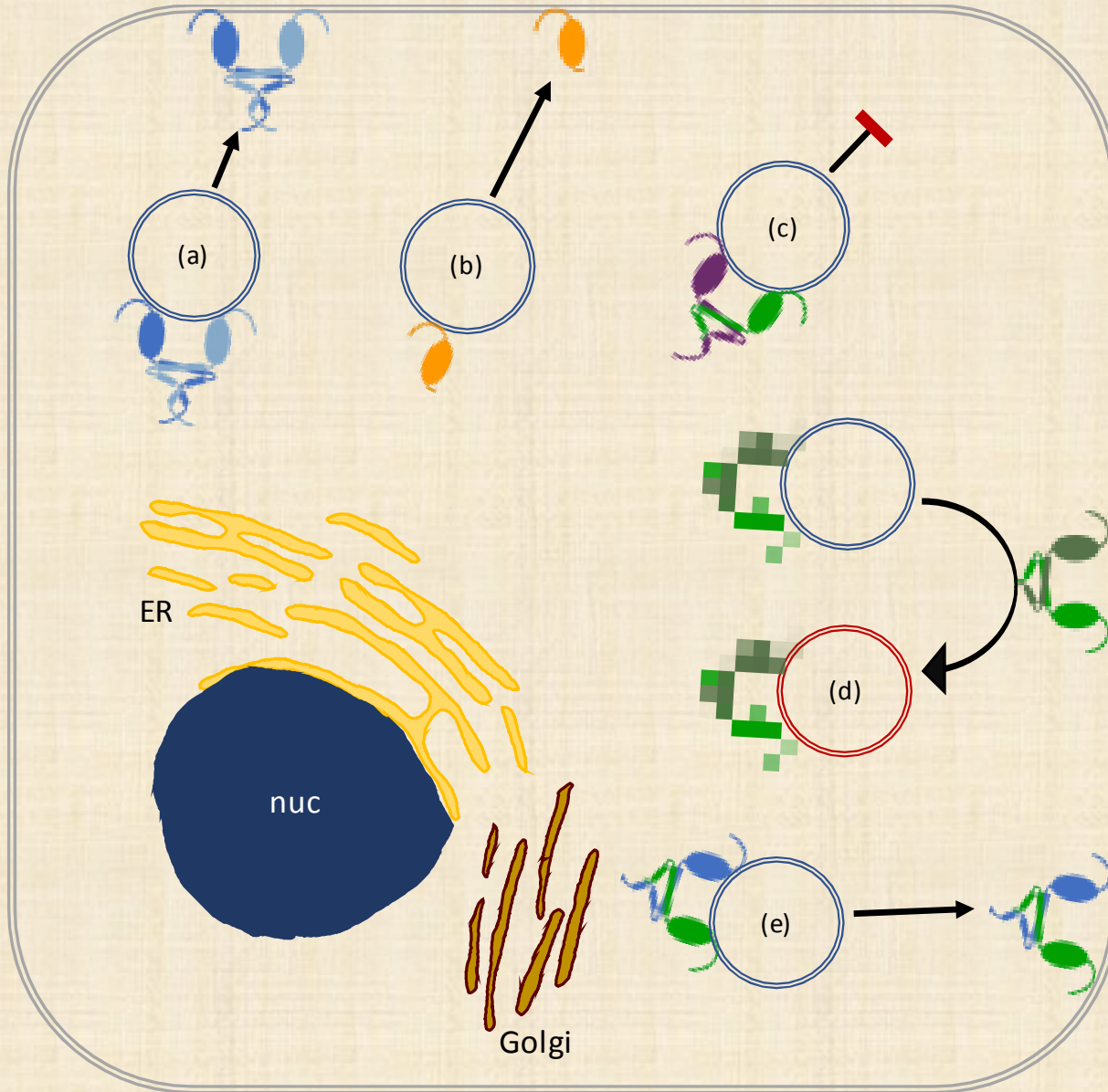


vad podocin transzportja

A297V podocin transzportja

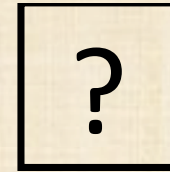


Oligomerizáció és membrán-lokalizáció sokrétű kapcsolata



Mely R229Q-társulások patogéneek?

Van-e értelme a beteget
immunszupprimálni?

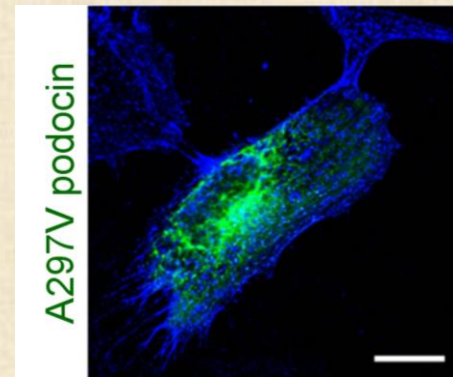


Mely szülőpárnak kell tartania beteg
gyermek születésétől?

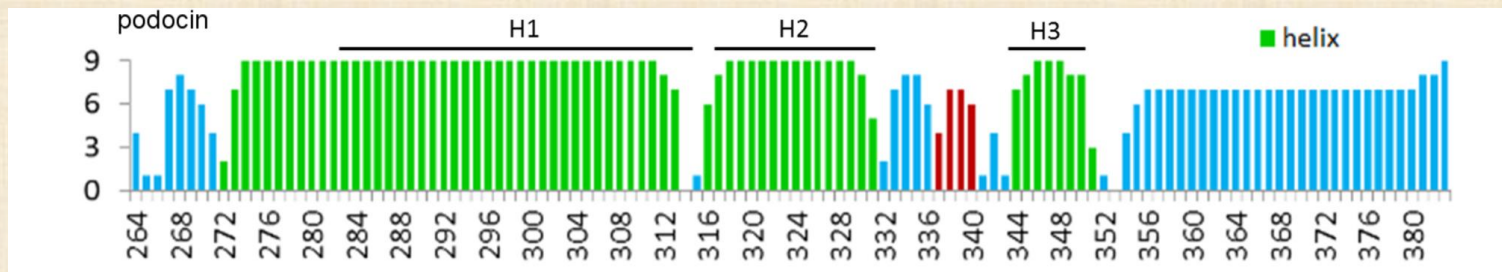


Mely betegben újulhat ki
transzplantációt követően a nephrosis?

Mely R229Q-társulások patogének?



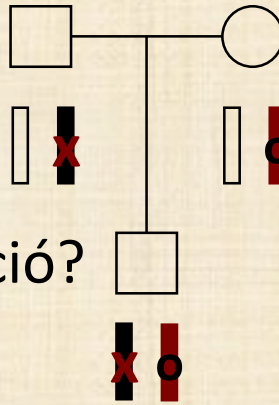
1. A domináns negatív mutációk önmagukban is patogének
 - az érintett aminosav evolúciósan konzervált kell legyen
2. A [mut];[R229Q] társulás várható gyakorisága az átlagpopulációban $<1:10^6$
3. A társult mutáció az oligomerizációs régiót (270-351) érinti, de nem gátolja meg az oligomerizációt



4. Az okozott betegség megfelel a [mut];[R229Q] társulások által okozott, késői lefolyású glomerulosclerosisnak

Mikó Á, K. Menyhárd D, Kaposi A, Antignac C, Tory K: The mutation-dependent pathogenicity of *NPHS2* R229Q: a guide for clinical assessment, **Hum Mutat**, 2018

Kérdések



- Létezik-e komplementáció?
- Más variánsok patogenitása is interakció függvénye-e?
- Befolyásolja-e podocin-oligomerizáció a nefrinét?
- Hogyan lehetne kijuttatni a kóros oligomereket a membránba?





Meghatározó kapcsolatok

- Szerkezet – Oligomerizáció - Öröklődés
- kémikus – fizikus – biológus - informatikus – genetikus
- ELTE – SE Biofizika – Gyermekklinika

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale



SZERKEZETI
KÉMIA ÉS
BIOLÓGIA LABORÁTORIUM





Köszönjük.

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale