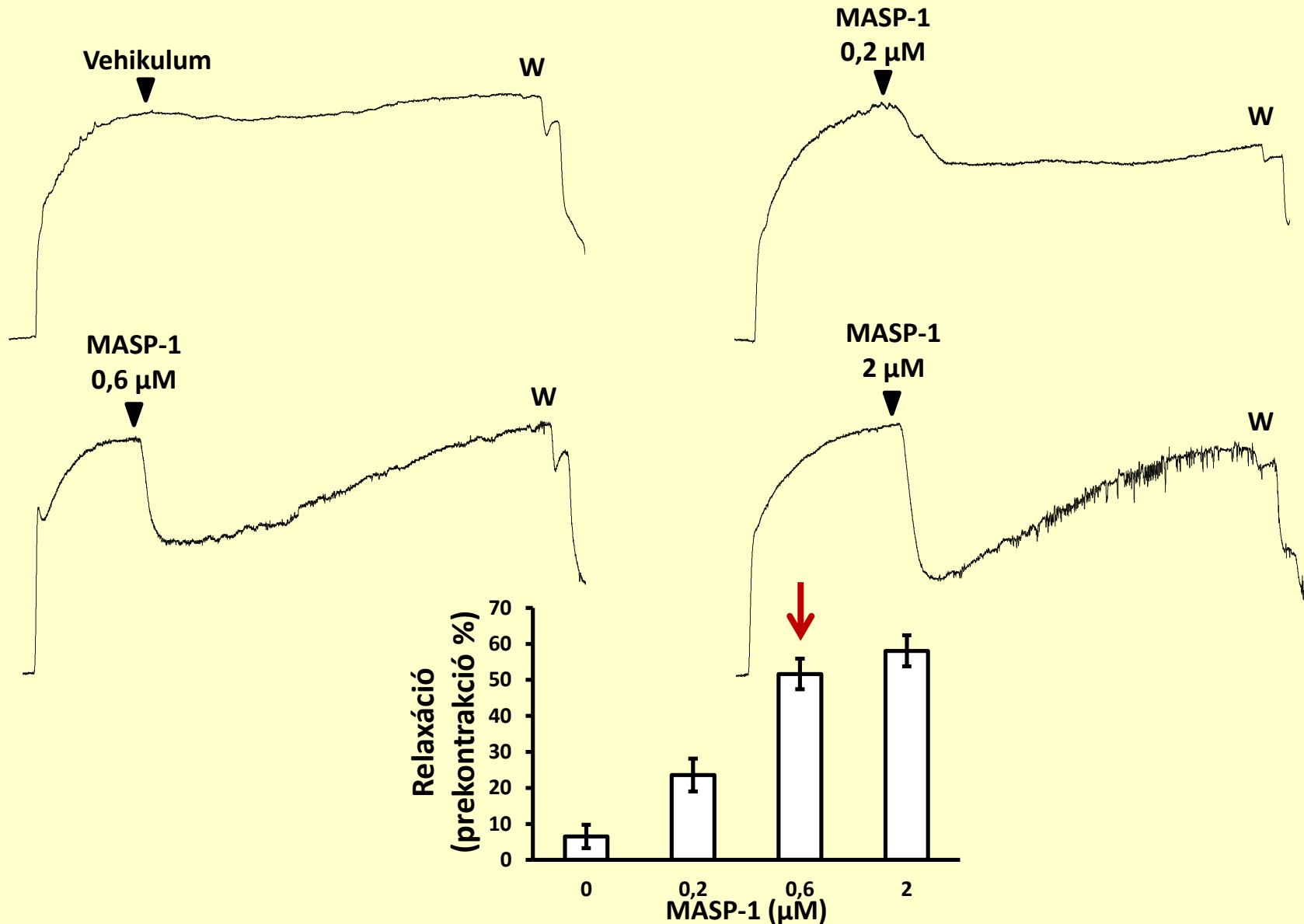
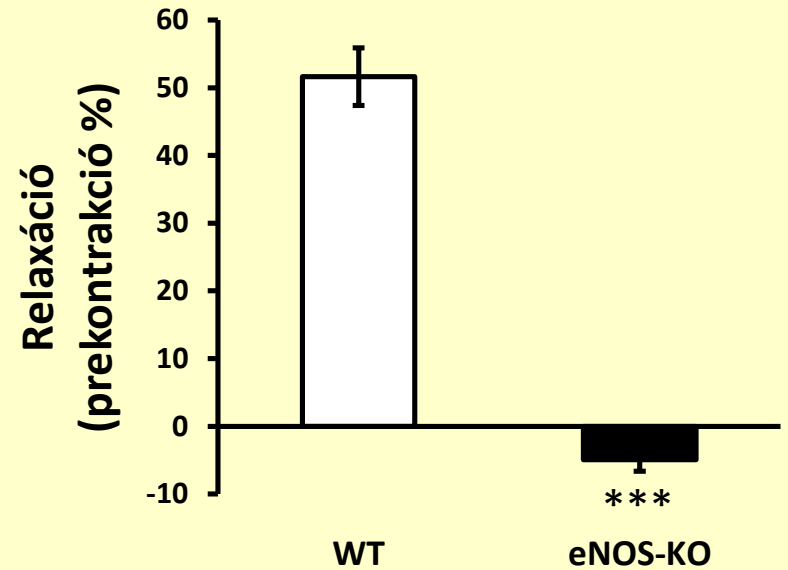
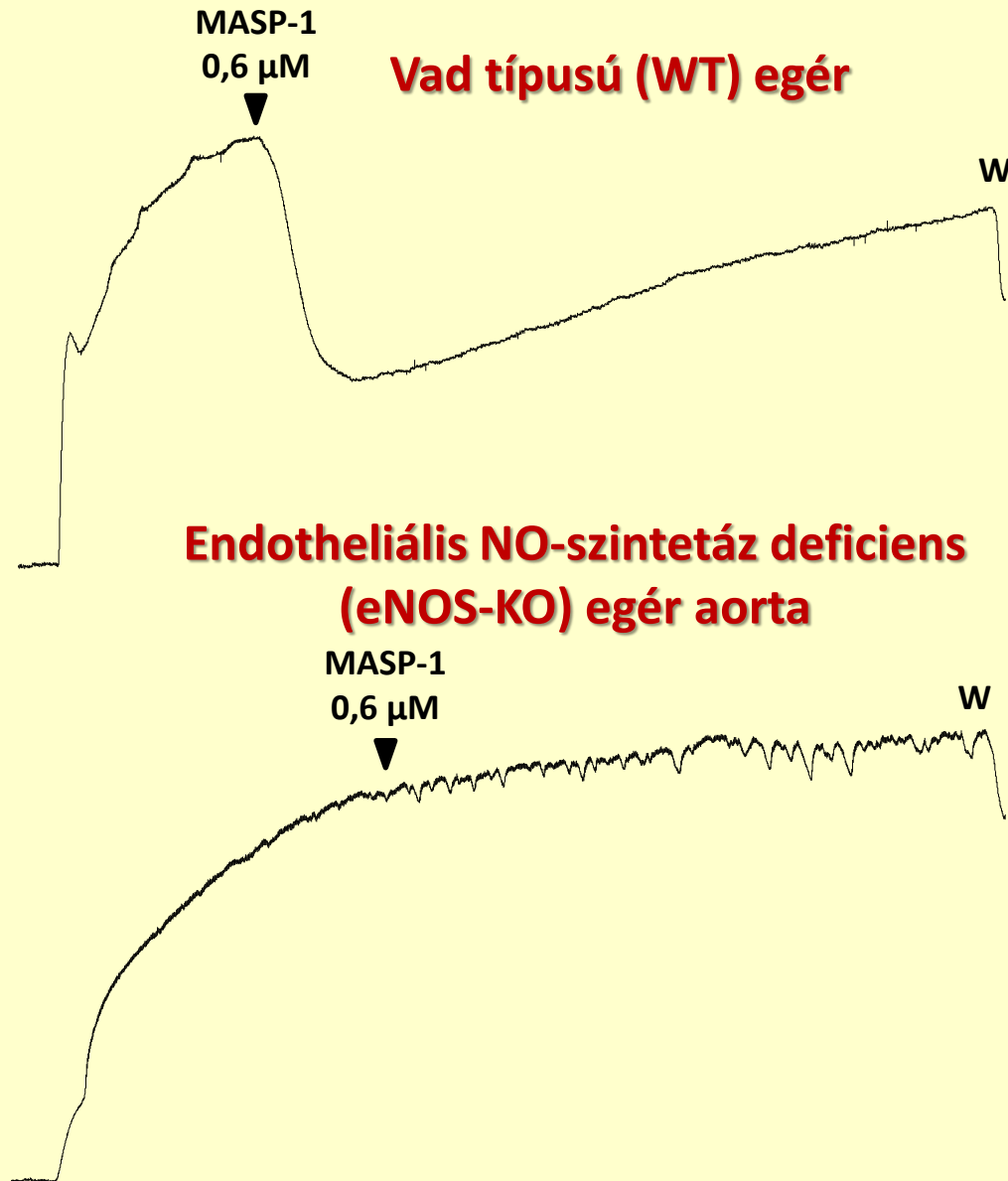


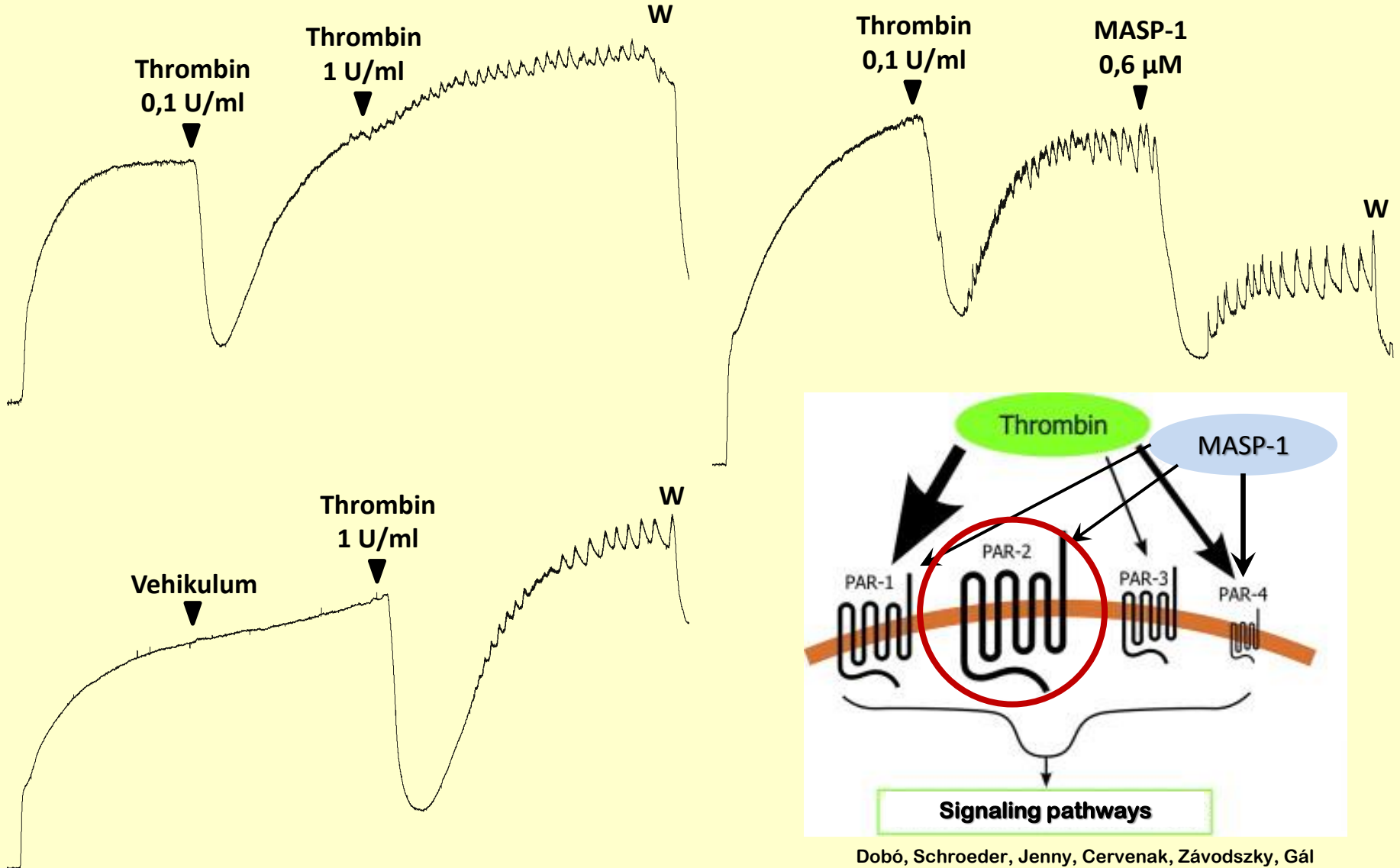
# A MASP-1 dózis-függő módon vazorelaxációt okoz egér aortában



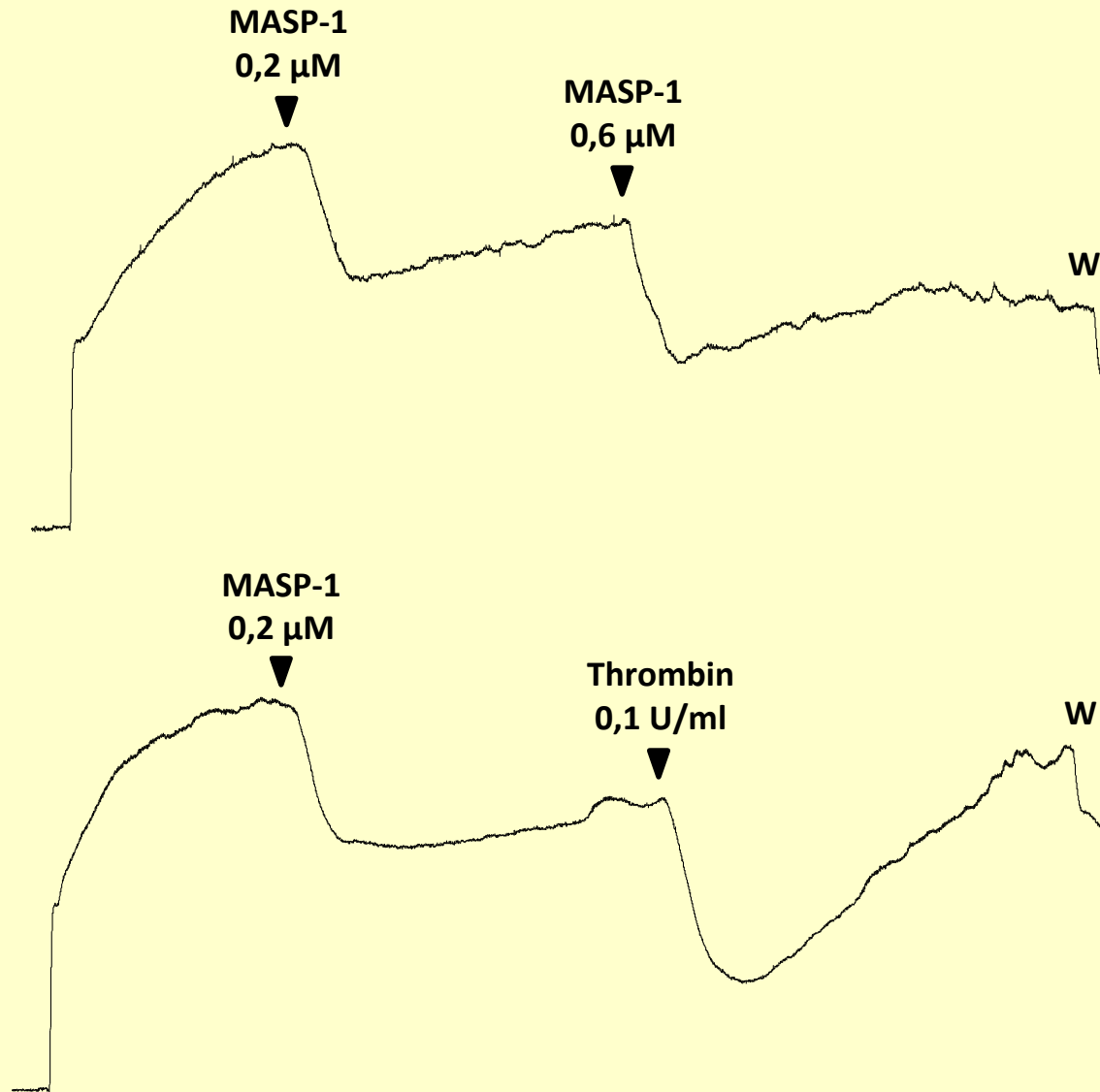
# Endotheliális NO közvetíti a MASP-1 vazorelaxáns hatását



# Thrombin hatására nem deszenzitizálódnak a MASP-1 hatását közvetítő receptorok



# Kis dózisú MASP-1 nem okoz deszenzitizációt



# Kalmodulin és az ér-reaktivitásban fontos eNOS és MLCK enzimek kölcsönhatásának szabályozása szfingolipid mediátorokkal



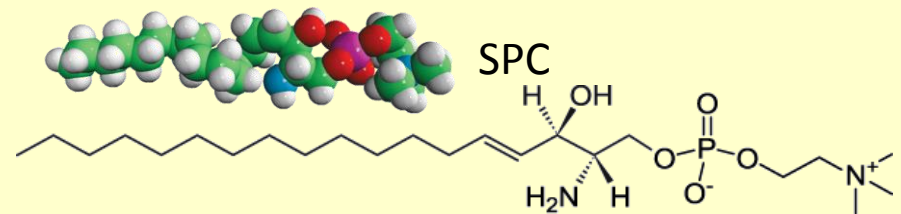
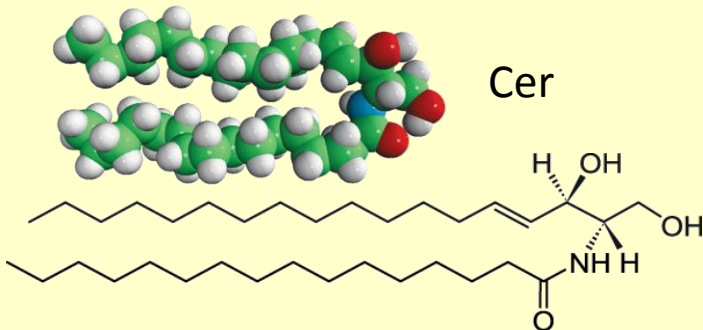
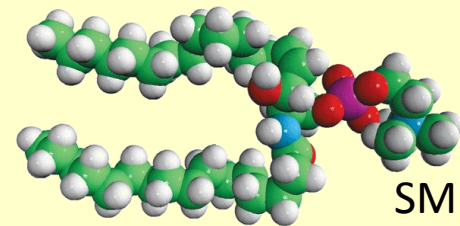
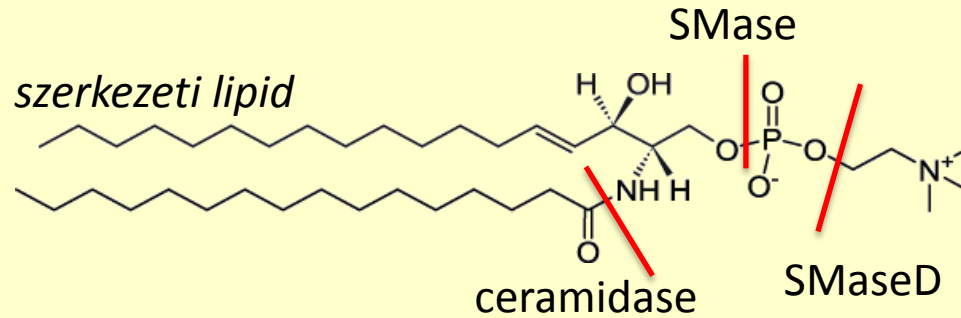
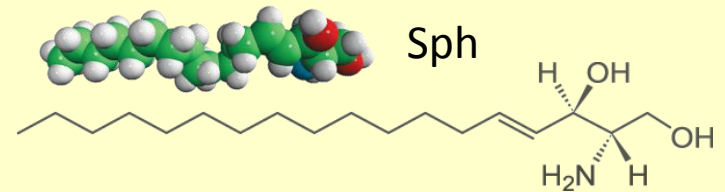
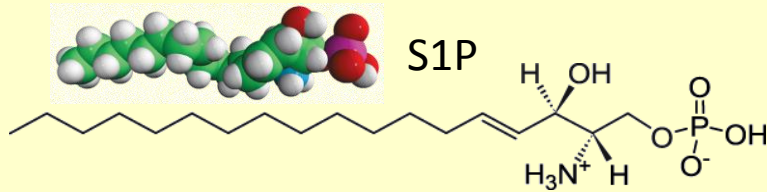
**Benyó Zoltán**  
**SE Klinikai Kísérleti Kutató-  
és Humán Élettani Intézet**



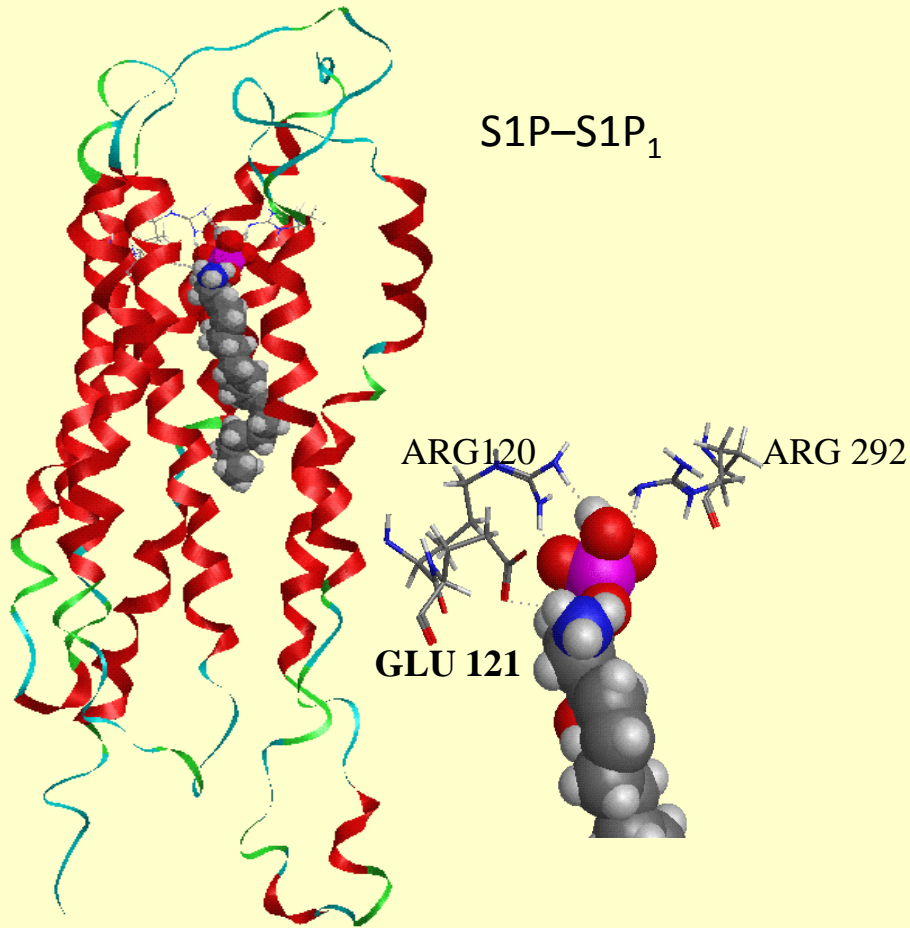
**Liliom Károly**  
**MTA TTK**  
**Enzimológiai Intézet**

MedInProt Fehérjetudományi Kiválósági Együtműködési Program konferencia  
Budapest, 2015. március 21.

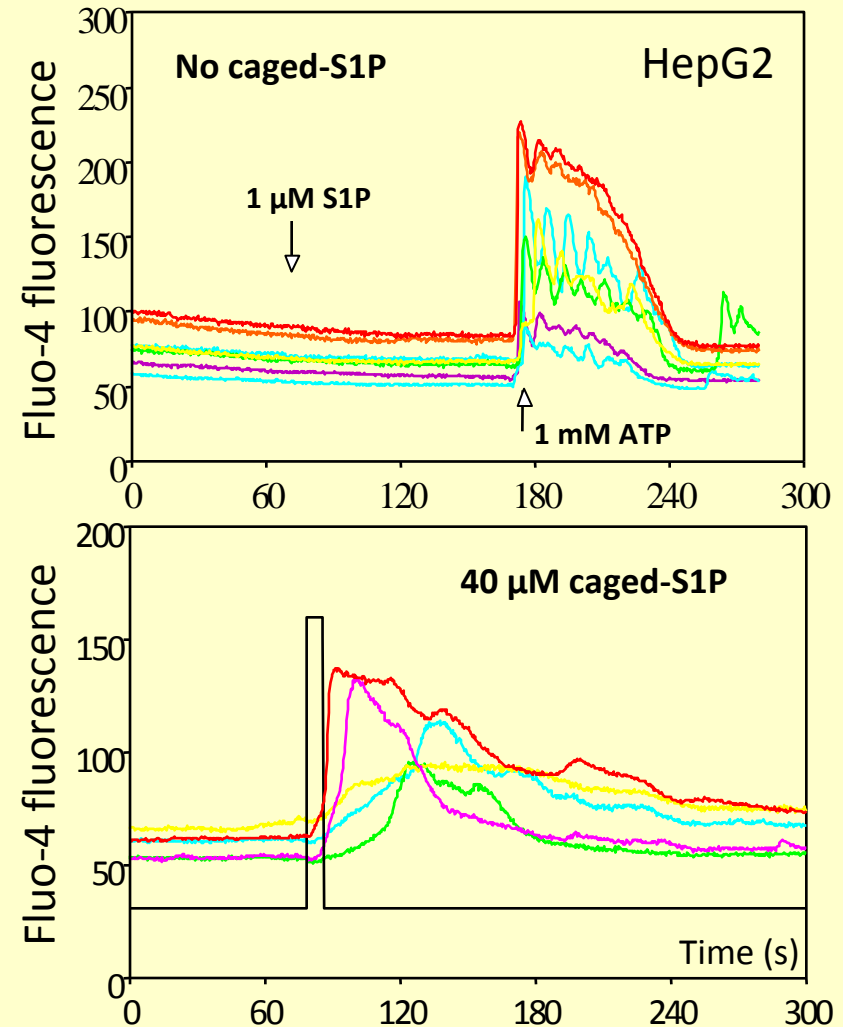
# Szvingolipid mediátorok



# Szféngolipid mediátorok receptorai

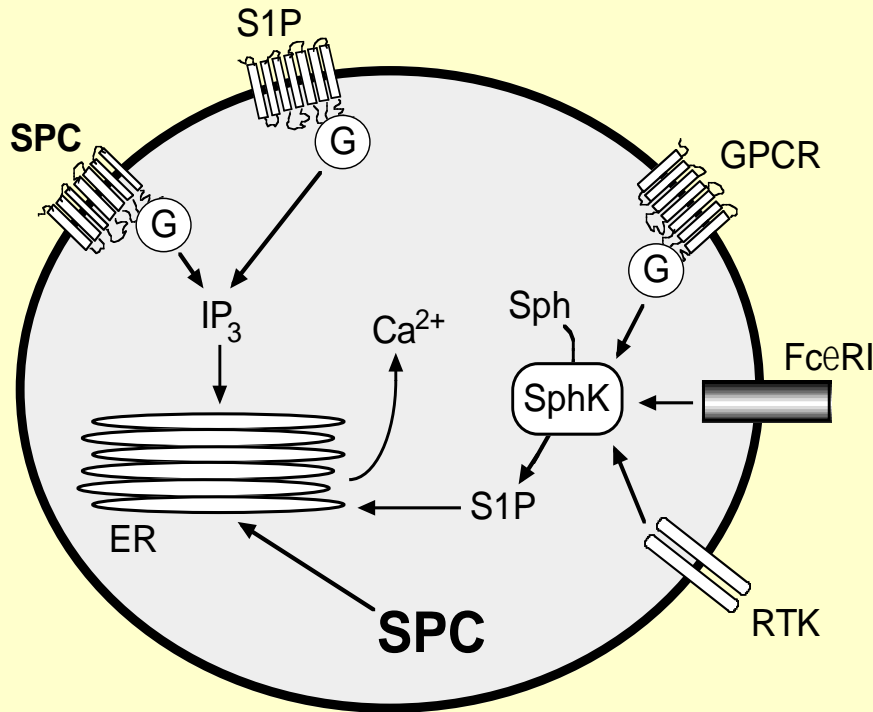


Parrill AL, Wang D, Bautista DL, Van Brocklyn JR, Lorincz Z, Fischer DJ, Baker DL, Liliom K, Spiegel S, Tigyi G (2000) J Biol Chem 275(50):39379-84., Wang DA, Lorincz Z, Bautista DL, Liliom K, Tigyi G, Parrill AL (2001) J Biol Chem 276(52):49213-20.



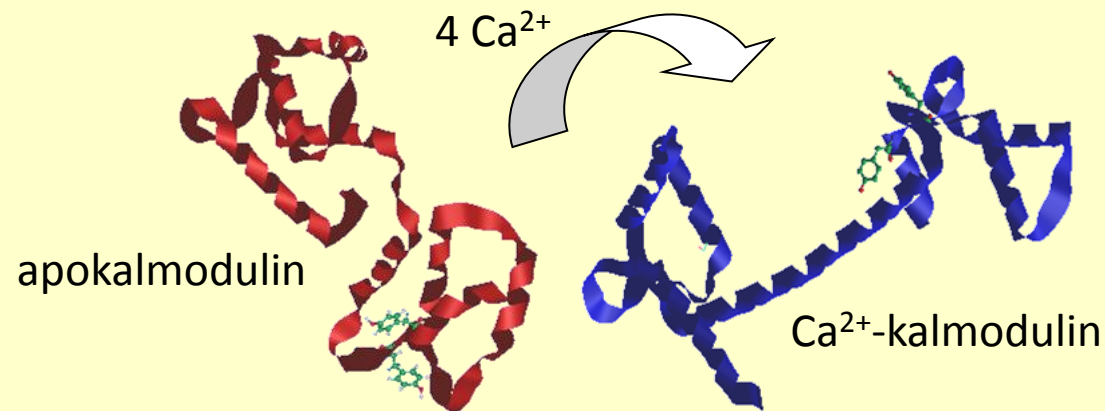
A HepG2 sejtek plazmamembránján nincsenek S1P receptorok.  
Meyer zu Heringdorf D, Liliom K, Schaefer M, Danneberg K, Jaggar JH, Tigyi G, Jakobs KH (2003) FEBS Lett 554(3):443-9

# Melyik fehérje közvetíti az intracelluláris hatást?



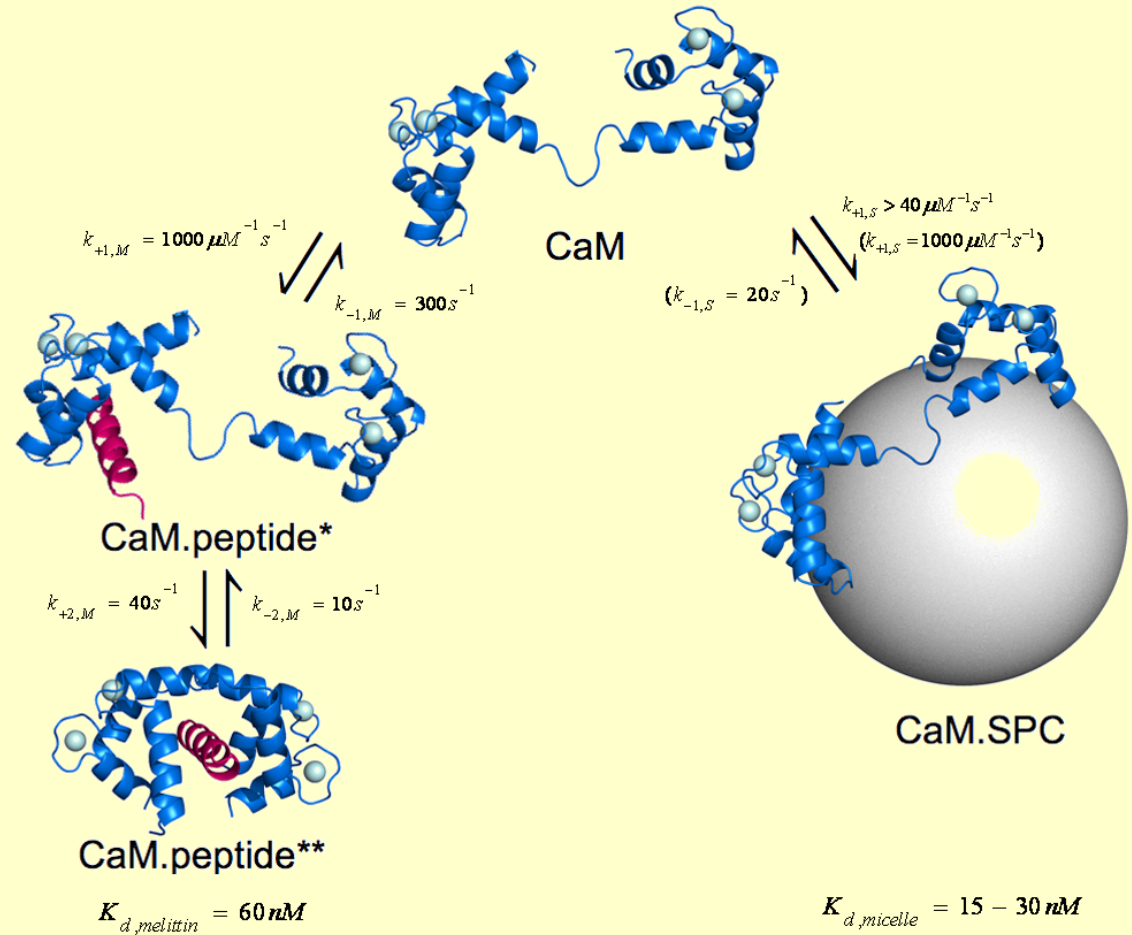
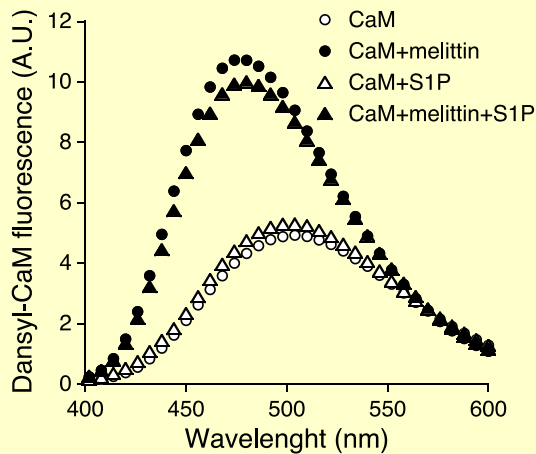
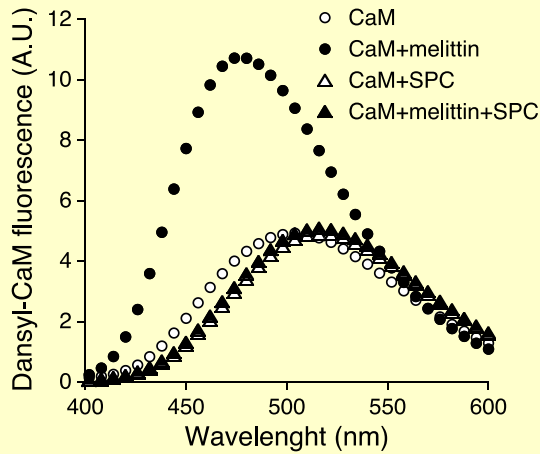
Az S1P és az SPC az IP<sub>3</sub>-receptortól függetlenül az ER thapsigargin-szenzitív tartályaiból szabadítja fel a Ca<sup>2+</sup>-ionokat. A kalmodulinról ismert, hogy szabályozza az IP<sub>3</sub>-receptort.

Hipotézisünk: az S1P és/vagy az SPC a kalmodulinra hatva mobilizálhatja intracellulárisan a Ca<sup>2+</sup>-ionokat.





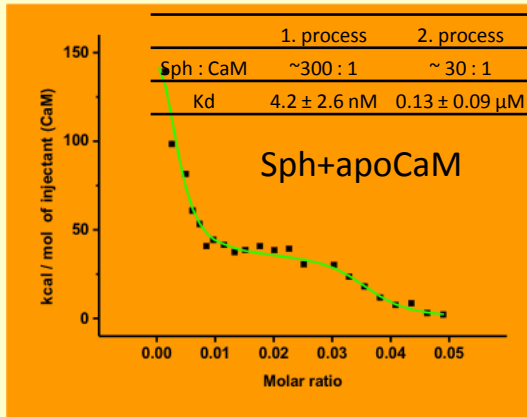
# Az SPC a kalmodulin kompetitív gátlószere



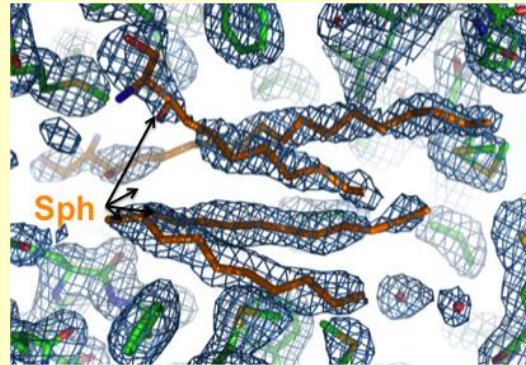
Kovacs E, Tóth J, Vértessy BG, Liliom K (2010) Dissociation of calmodulin-target peptide complexes by the lipid mediator sphingosylphosphorylcholine: implications in calcium signaling. J Biol Chem 285(3):1799-808  
 Kovacs E, Liliom K (2008) Sphingosylphosphorylcholine as a novel calmodulin inhibitor. Biochem J 410(2):427-37

# Kalmodulin kölcsönhatása szfingozinnal

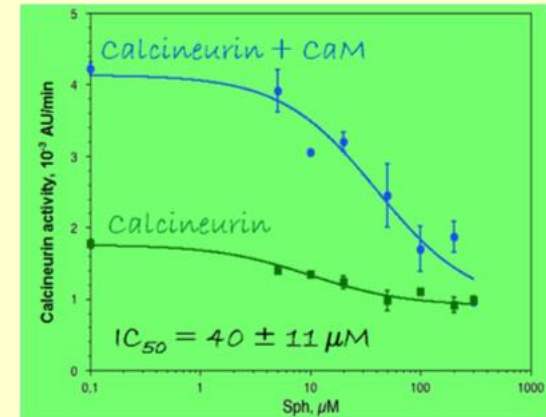
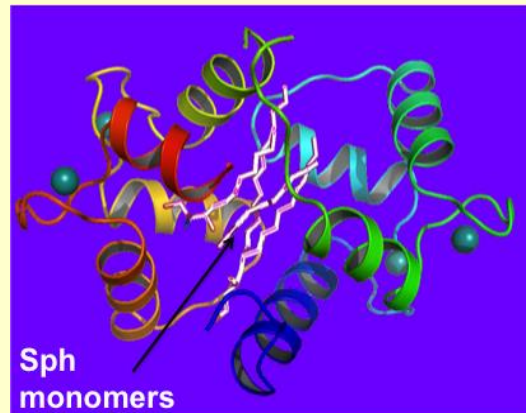
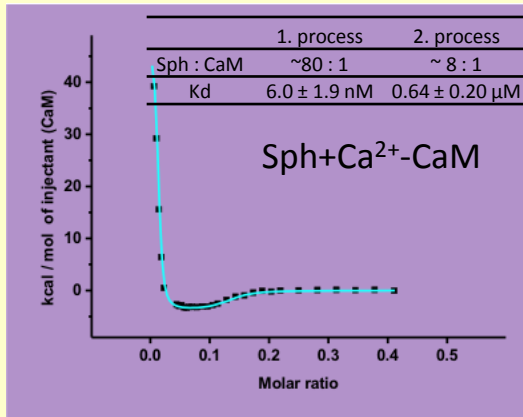
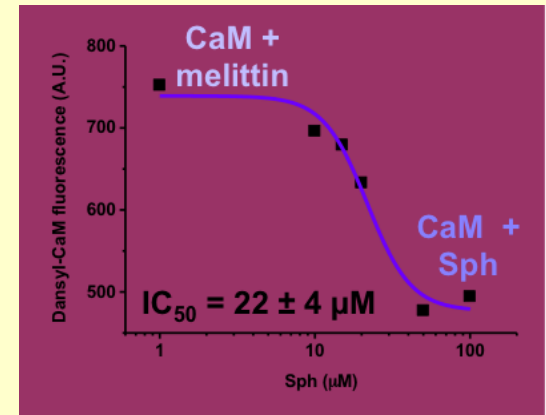
## Affinitás + sztöchiometria



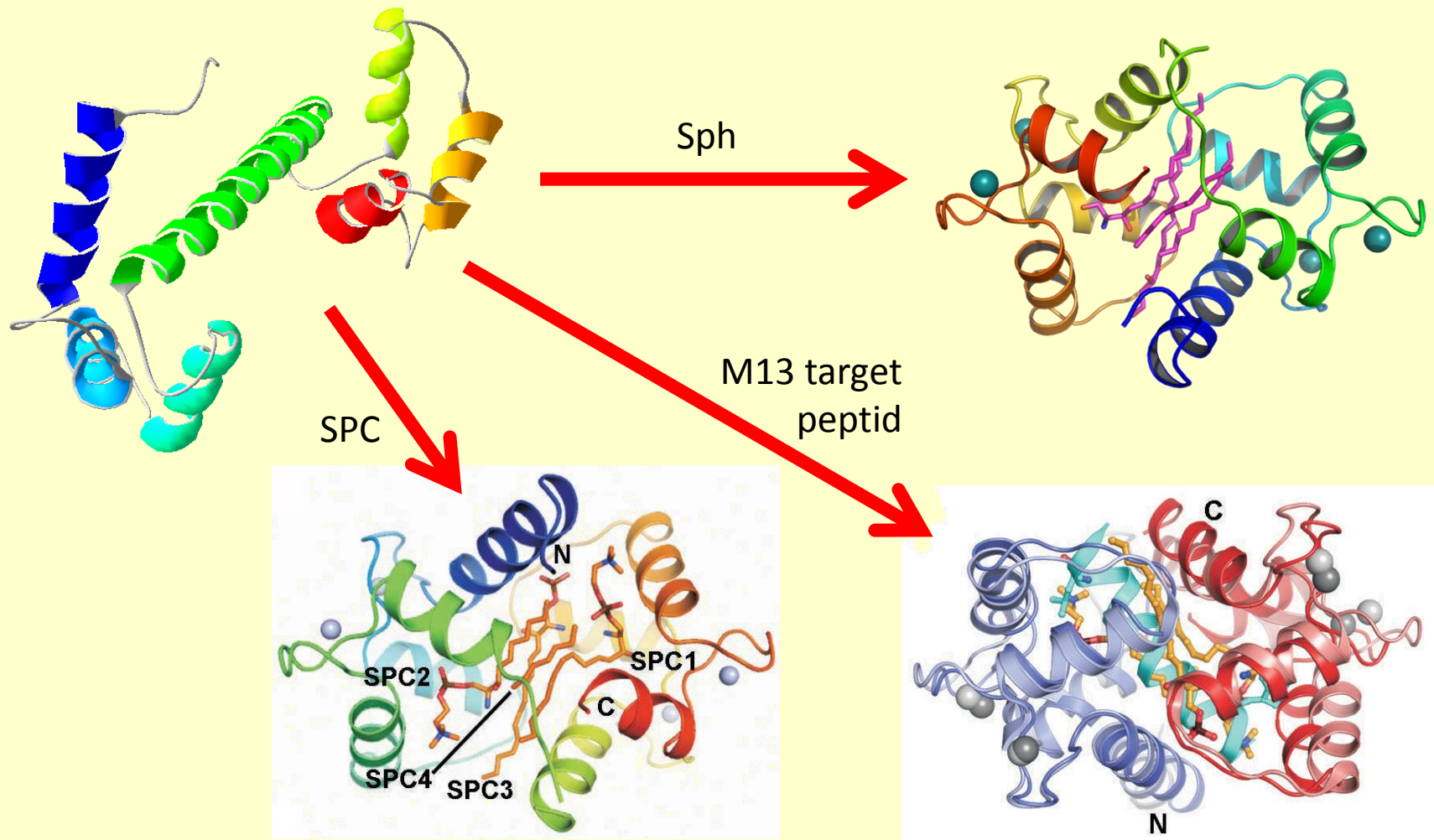
## Sph – Ca<sup>2+</sup>-CaM kristályszerkezete



## Funkcionális esszék

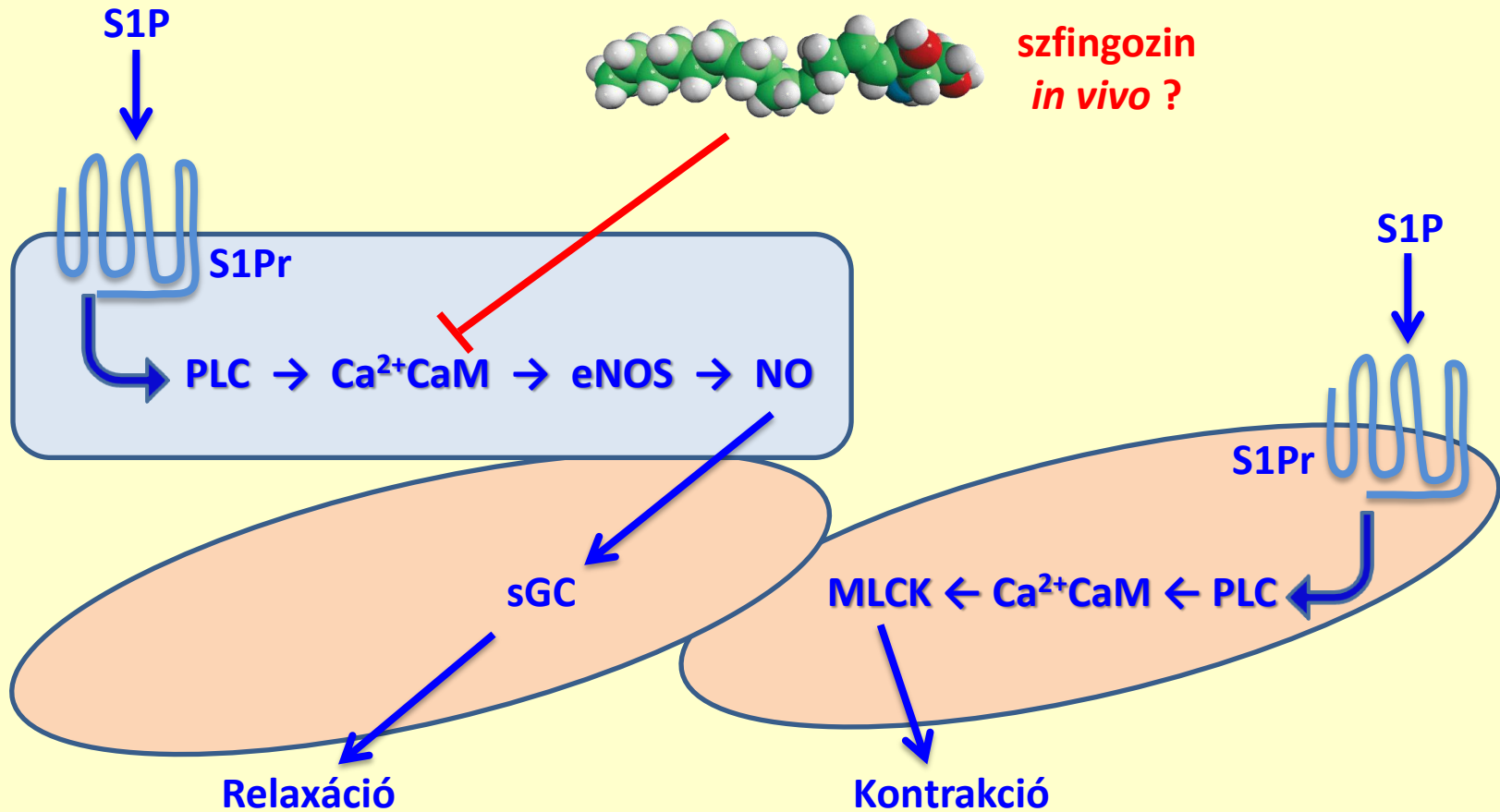


# A kalmodulin SPC és Sph hatására zárt inhibitorikus konformációt vesz fel

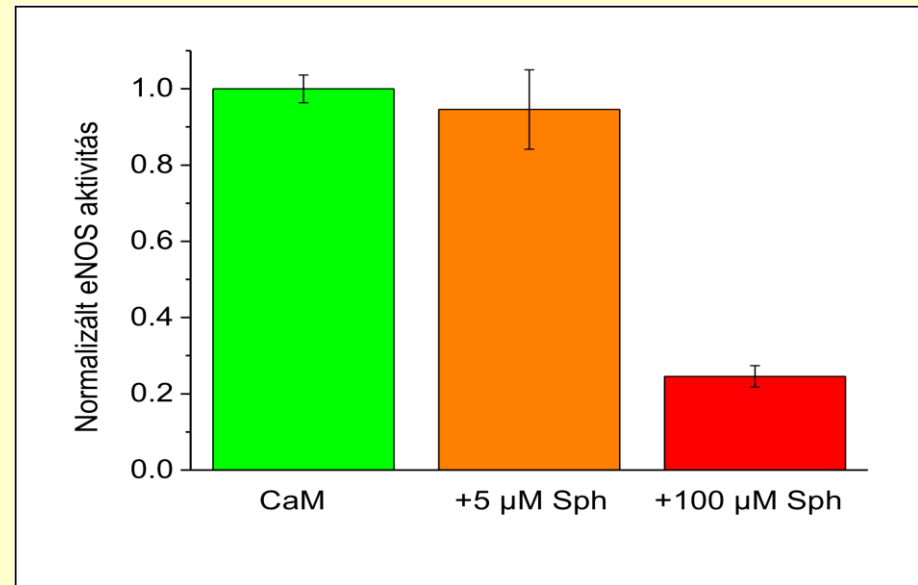
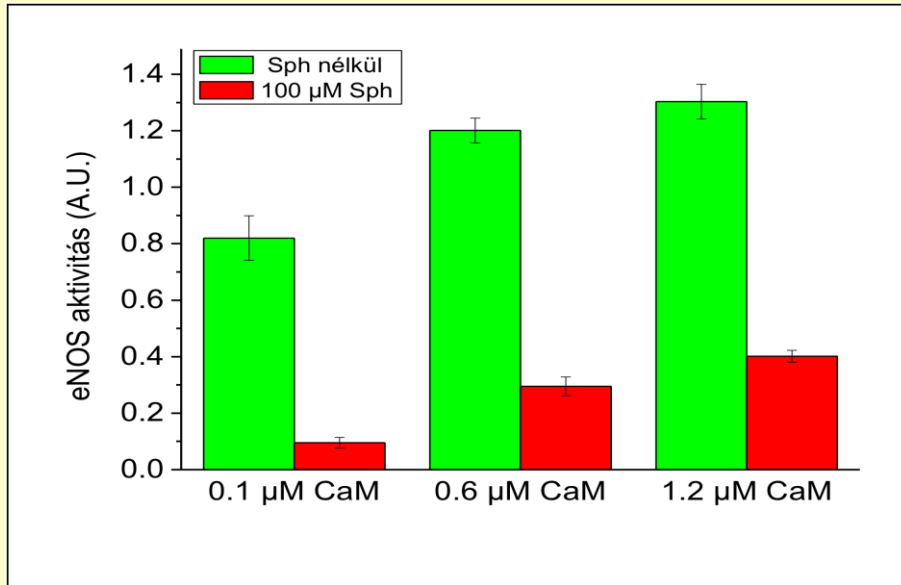


Kovacs E, Harmat V, Tóth J, Vértessy BG, Módos K, Kardos J, Liliom K (2010) Structure and mechanism of calmodulin binding to a signaling sphingolipid reveal new aspects of lipid-protein interactions. *FASEB J* 24 (10): 3829-3839

# eNOS és MLCK az értónus szabályozásában



# A szfingozin gátolja az eNOS aktivitását in vitro

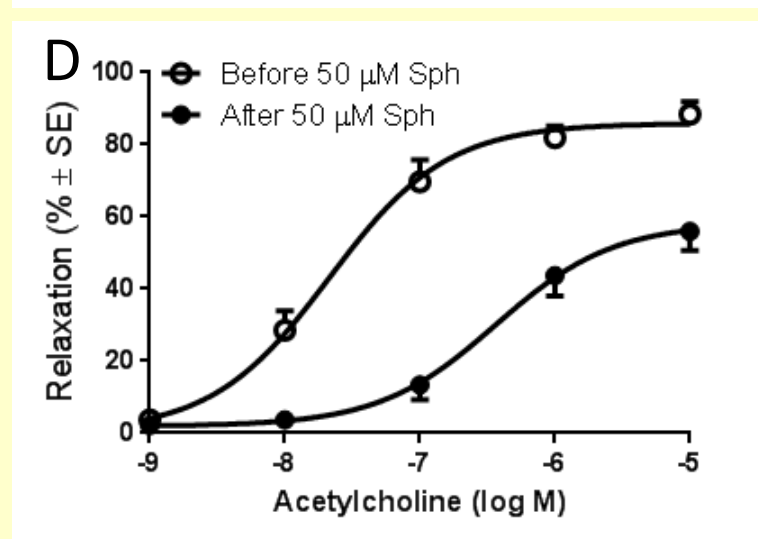
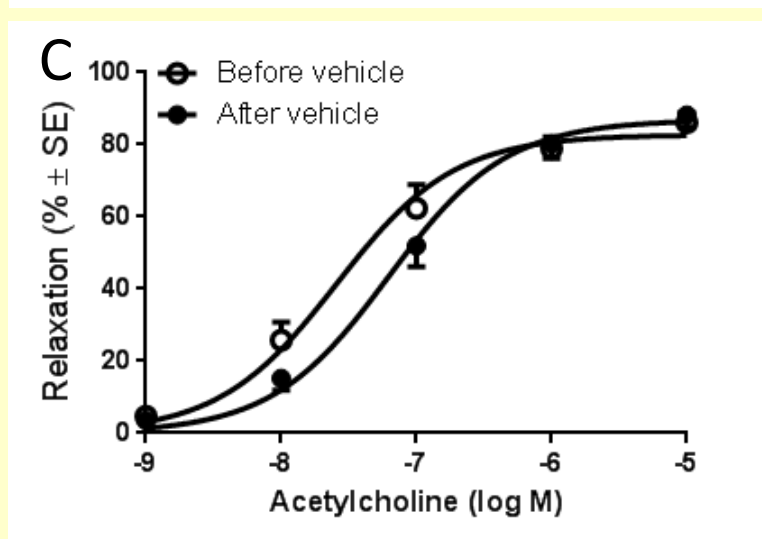
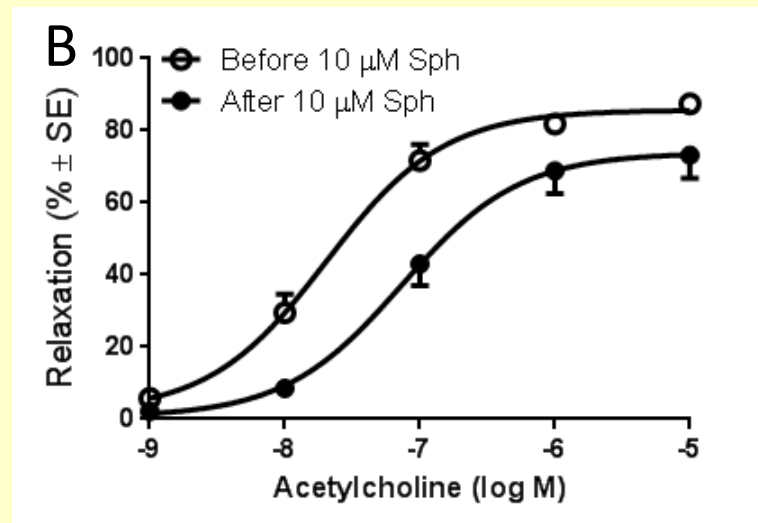
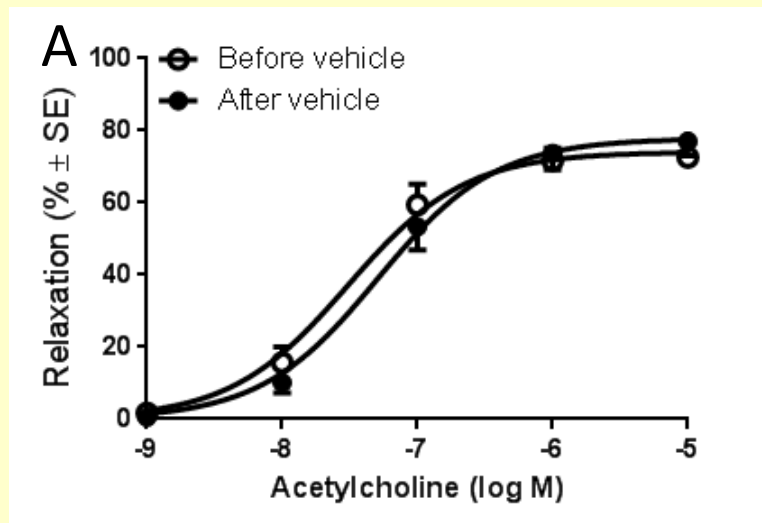


Az eNOS enzimet növekvő koncentrációjú kalmodulinnal aktiváltuk. 100 μM szfingozin mindegyik koncentrációban gátlást fejt ki.

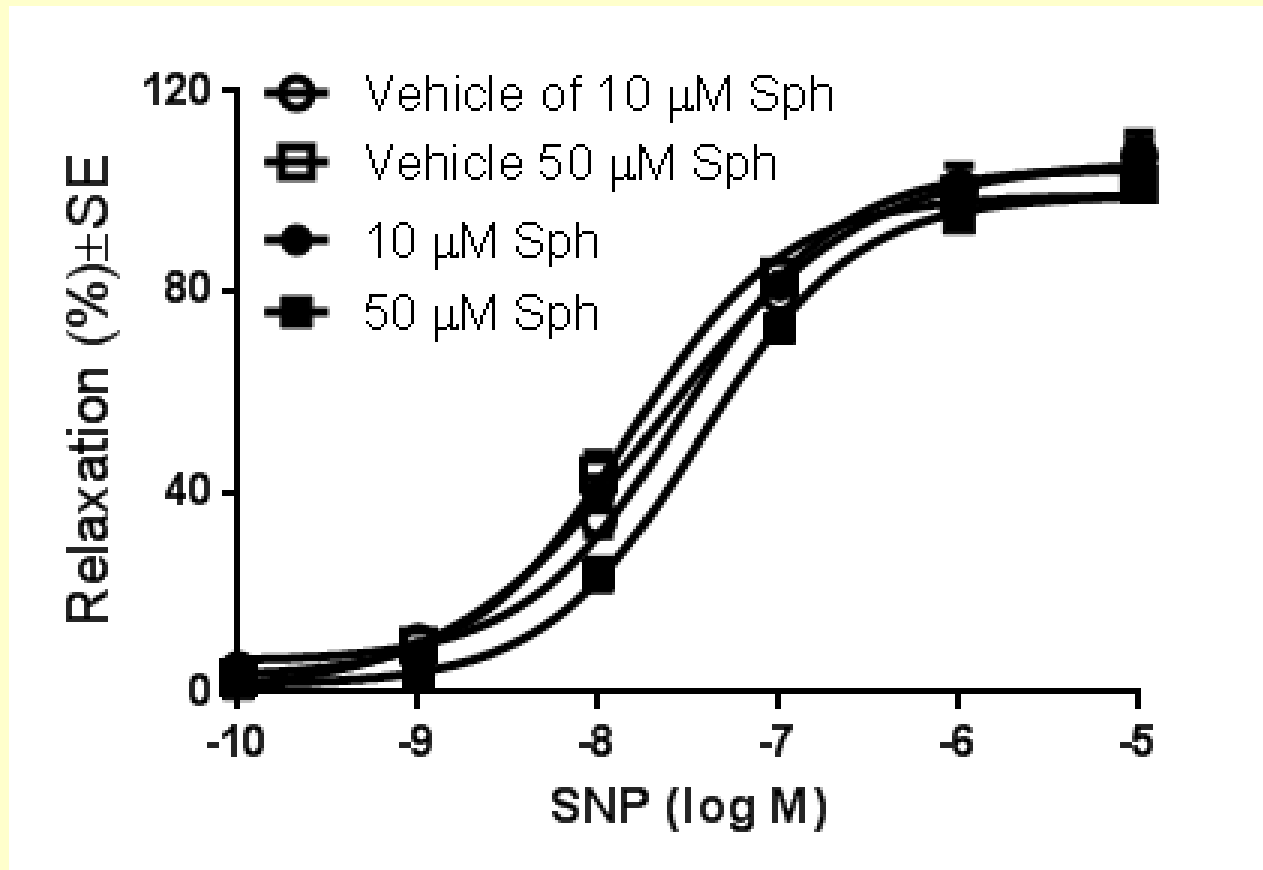
Az eNOS enzimet közepes koncentrációjú kalmodulinnal aktiváltuk. A szfingozin koncentráció-függő módon gátolja az eNOST.

A szfingozin gátolja a kalmodulin-függő foszfodiészterázt, kalcineurint, neuromodulint és eNOST.

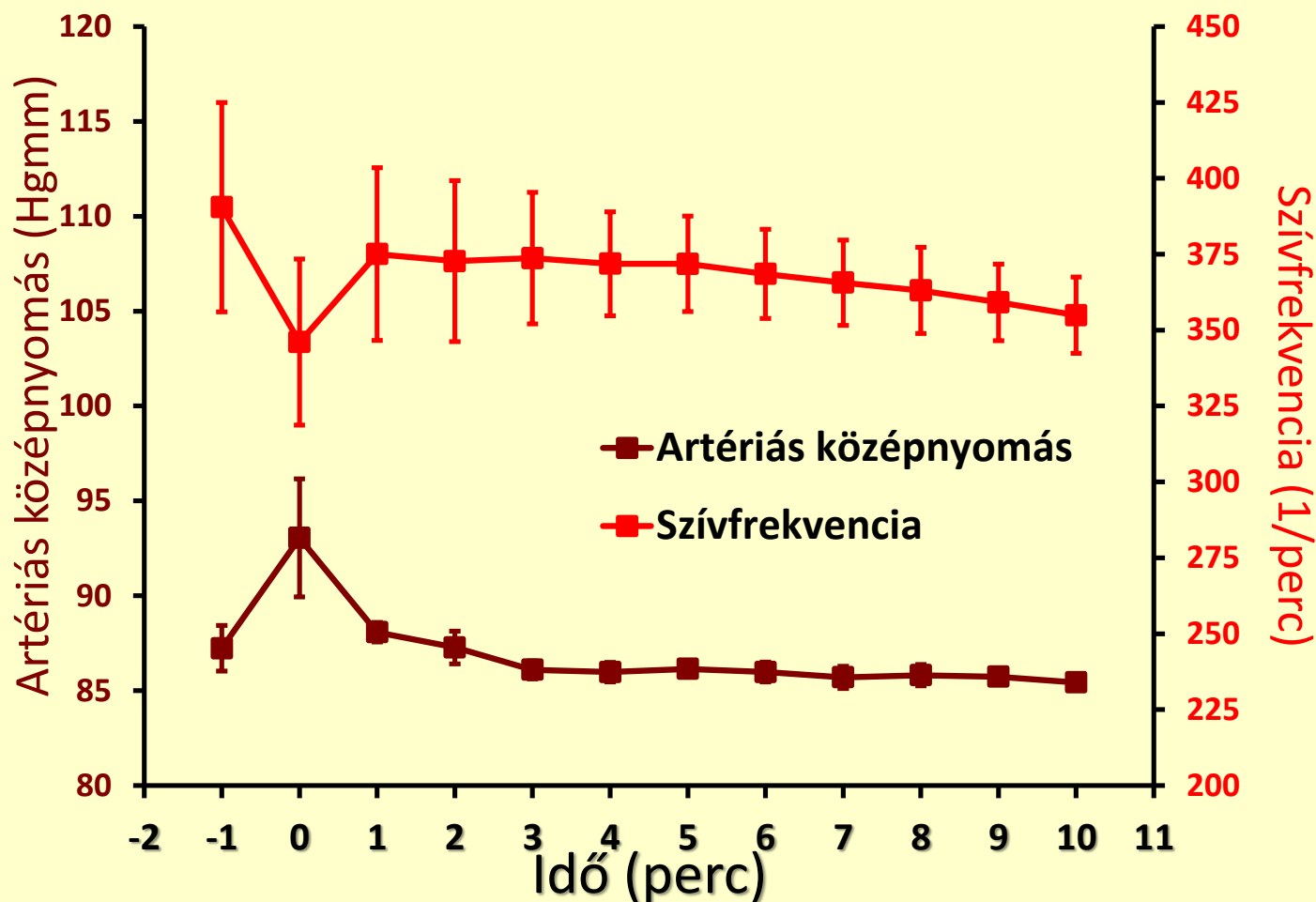
# Szvingozin (B panel: 10 $\mu$ M, D panel: 50 $\mu$ M) ill. vehikulumának (A és C panelek) hatása az acetilkolin endotélium-függő vazorelaxációs hatására



# Szvingozin (10 $\mu\text{M}$ és 50 $\mu\text{M}$ ) ill. vehikulumának hatása az NO-donor nátrium-nitroprusszid (SNP) vazorelaxáns hatására

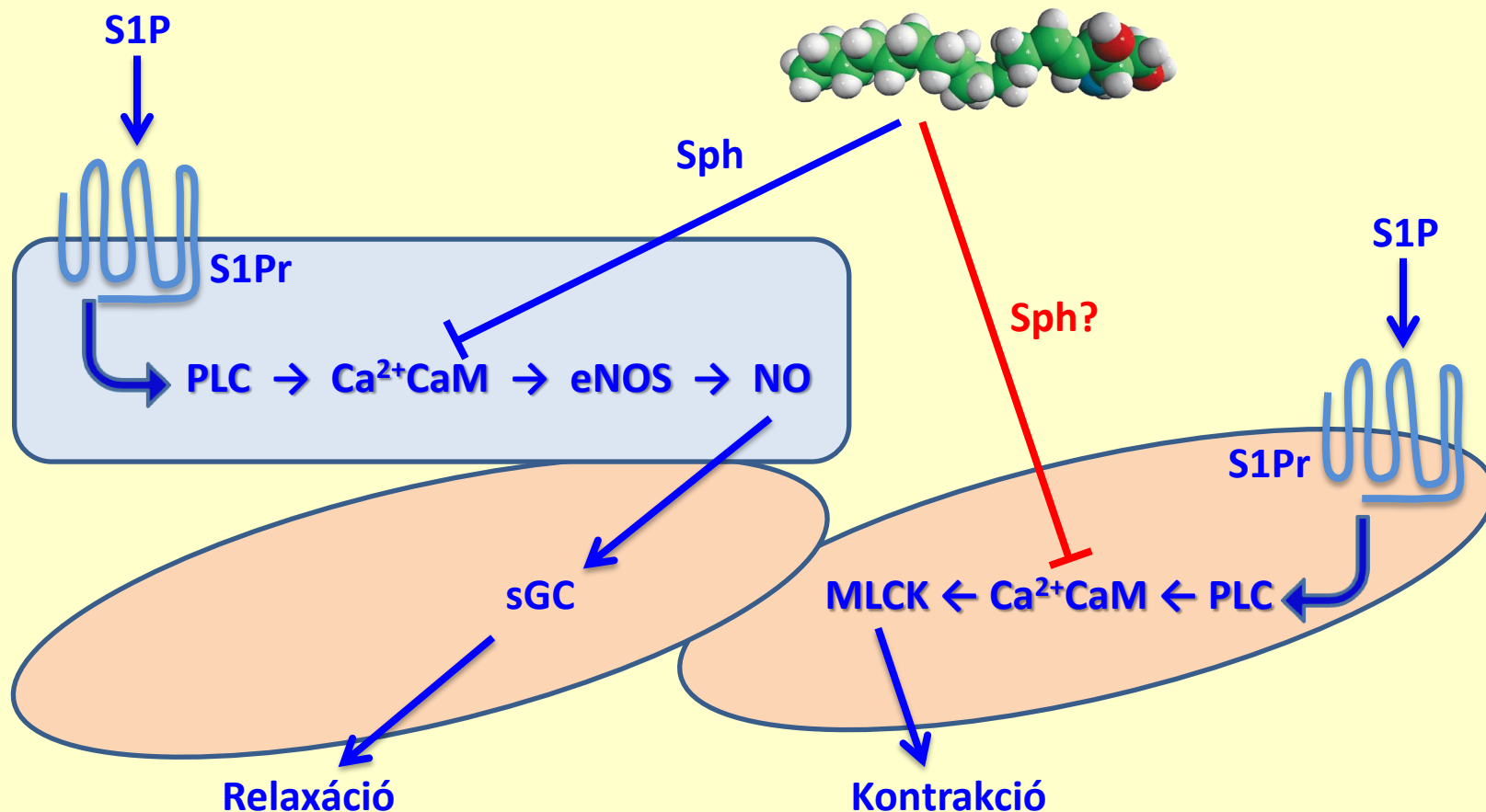


# Szvingozin (30 nmol/g, i.a.) hatása az artériás középnyomásra és a **szívfrekvenciára**

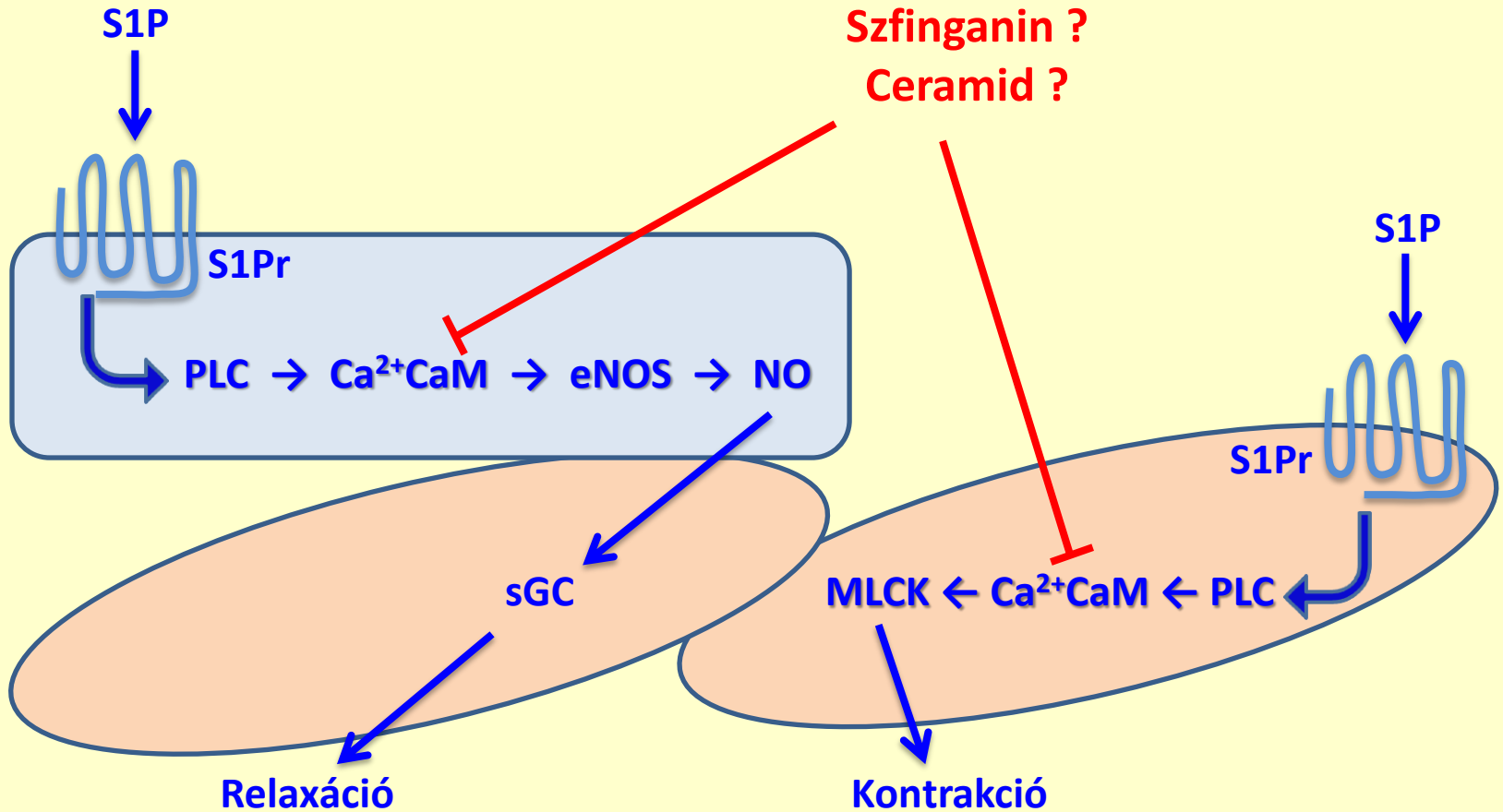




# A szfingozin kalmodulin-függő módon gátolja az eNOS aktivitását artéria-szeleteken ex vivo



# eNOS és MLCK az értónus szabályozásában



# Köszönetnyilvánítás

Ruisanchez Éva

Juhász Tünde

**Köszönjük a MedInProt támogatását!**