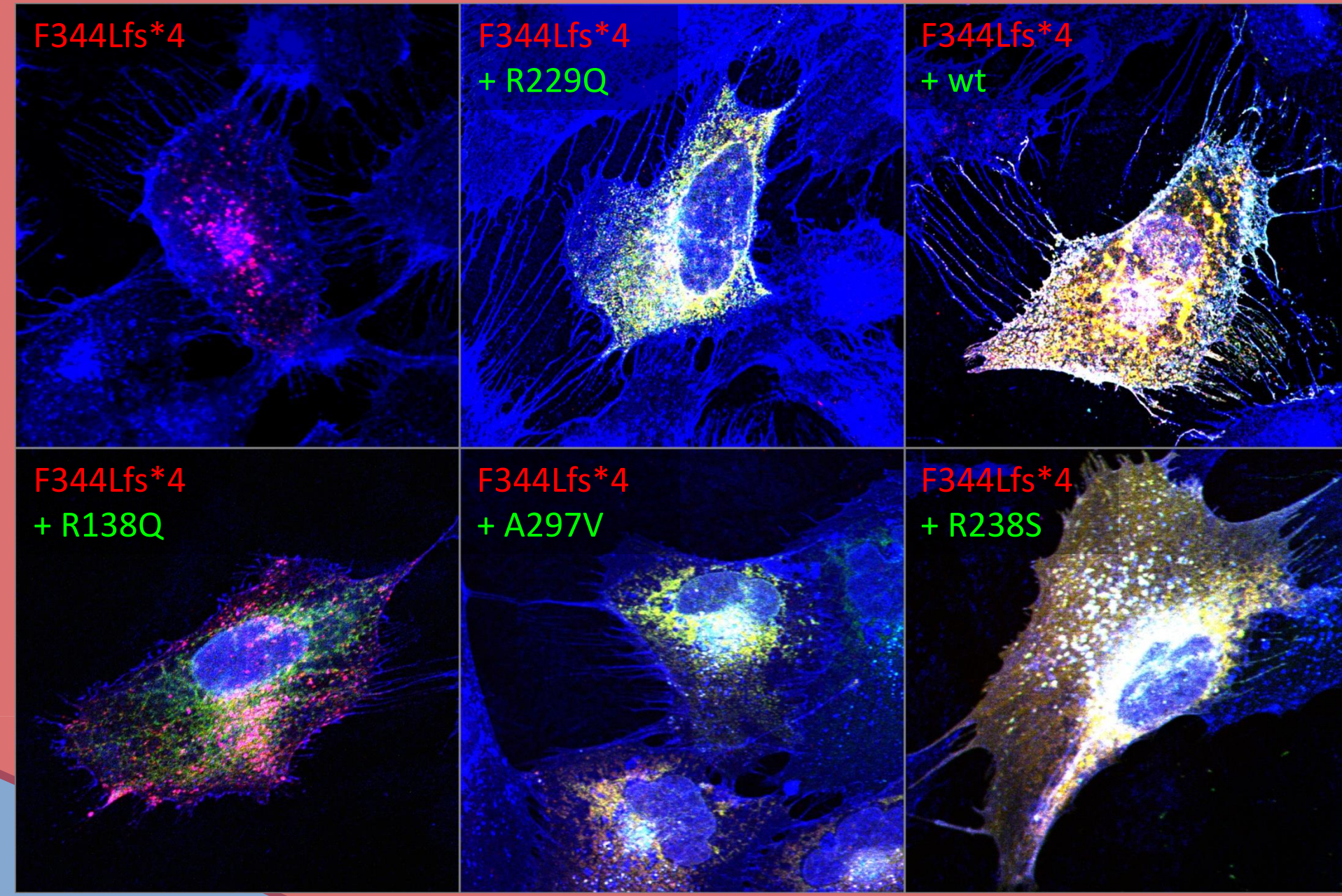


A párválasztás fontossága - A podocin-dimerizáció jótékony és káros hatása a membrán-lokalizációra



Kimutattuk, hogy a C-terminális trunkáns podocinok (F344Lfs*4, F344*, L346Yfs*2) intracelluláris elhelyezkedése endocitózis következménye, ugyanis az endocitózis gátlását követően ezen mutáns podocinok megjelennek a sejtmembránban. Ezen hatást más membrán-elhelyezkedésű vad vagy akár mutáns podocinnal való együttes expresszió is biztosítani tudja, ami arra utal, hogy a podocin-oligomer részeként stabilizálódhatnak a sejtmembránban.

Tory Kálmán
(SE, I. sz. Gyermekklinika)



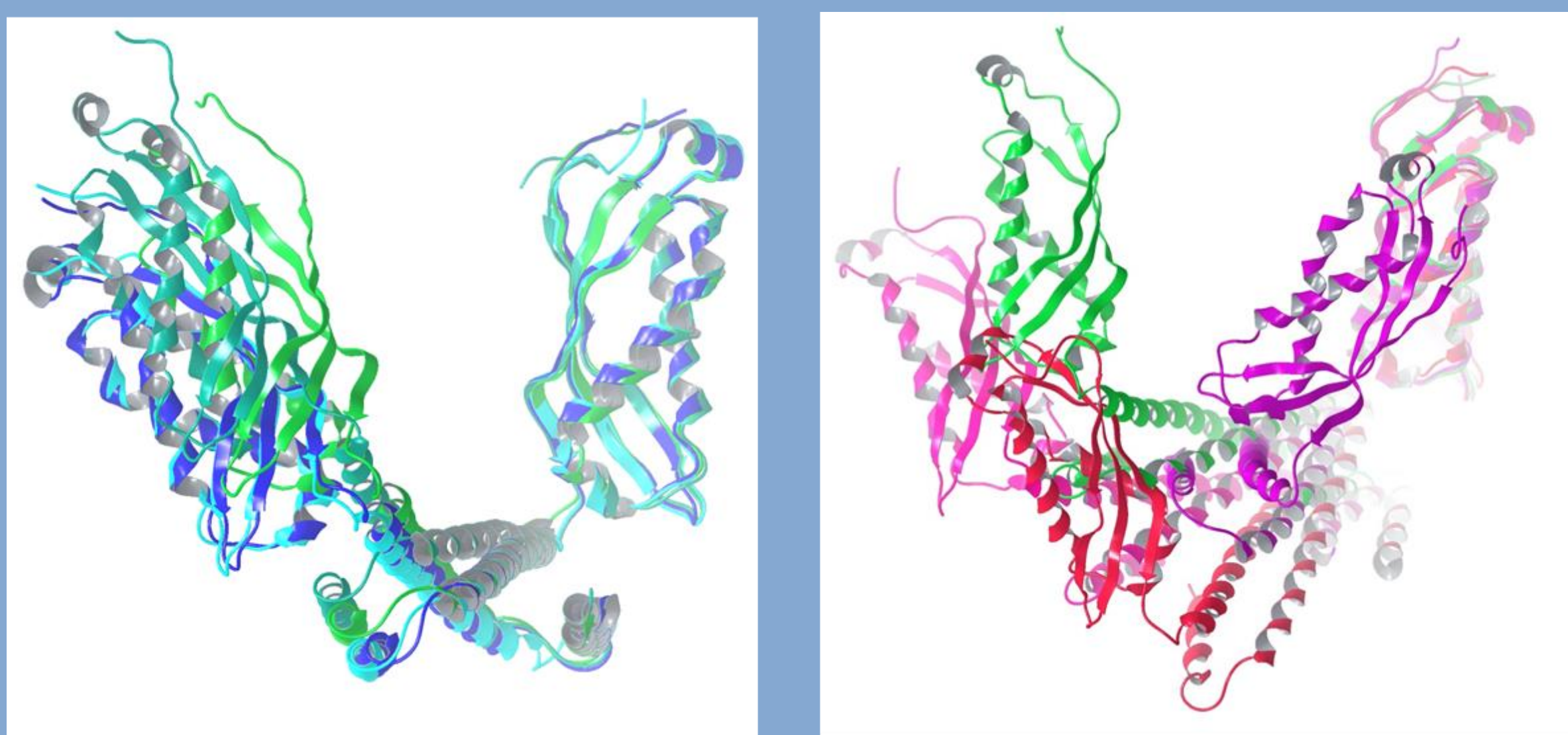
Karancsiné Menyhárd Dóra
MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport



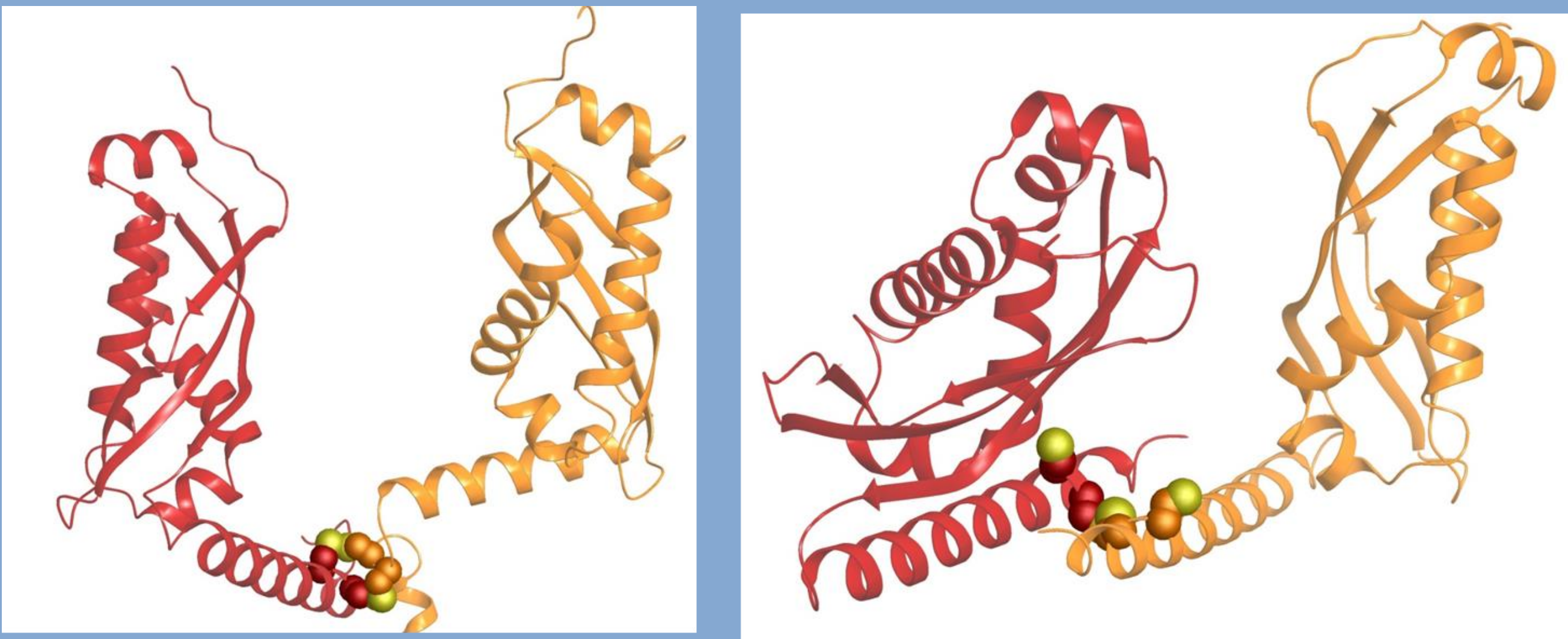
A podocin a vese glomeruláris filtrációs rendszerének fontos alkotóeleme. Mutációi autoszomális recesszíven öröklődő nefrózist okoznak. Korábban kimutattuk, hogy a két allél mutációjának interakciói – kóros heterodimerek létrejötte révén – döntő szerepet játszhatnak a betegség kialakulásában. Jelen munka során egy ezzel ellentétes hatást vizsgálunk. Bizonyos C-terminális trunkáns mutációk podocin-internalizációt okozó hatását más membrán-lokalizált mutációk együttes expressziója gátolni képes, arra utalva, hogy az oligomerizáció a korábban megfigyelt káros hatásával szemben stabilizáló, komplementáló szereppel is bírhat. Ezen hatások megértéséhez a podocin oligomerizációját befolyásoló szerkezeti hatásokat vizsgáljuk, melynek során sikerült a podocin C-terminális régióját a kristályosításhoz szükséges mennyiségben előállítani. Jelenleg a kristályosításon dolgozunk.

A dimer-asszociációk szerkezetének modellezése

A podocin dimer alapú oligomerek formájában aktív. Eredményeink arra utalnak, hogy a patogén mutációk módosult szerkezetű és stabilitású dimer-párokat eredményeznek.



Ártalmatlan és patogén misszensz mutációk hatása a podocin dimer szerkezetére



Kettő, illetve egy diszulfid-híd rögzítette kovalens dimer-párok az R286Tfs*17 variáns esetében

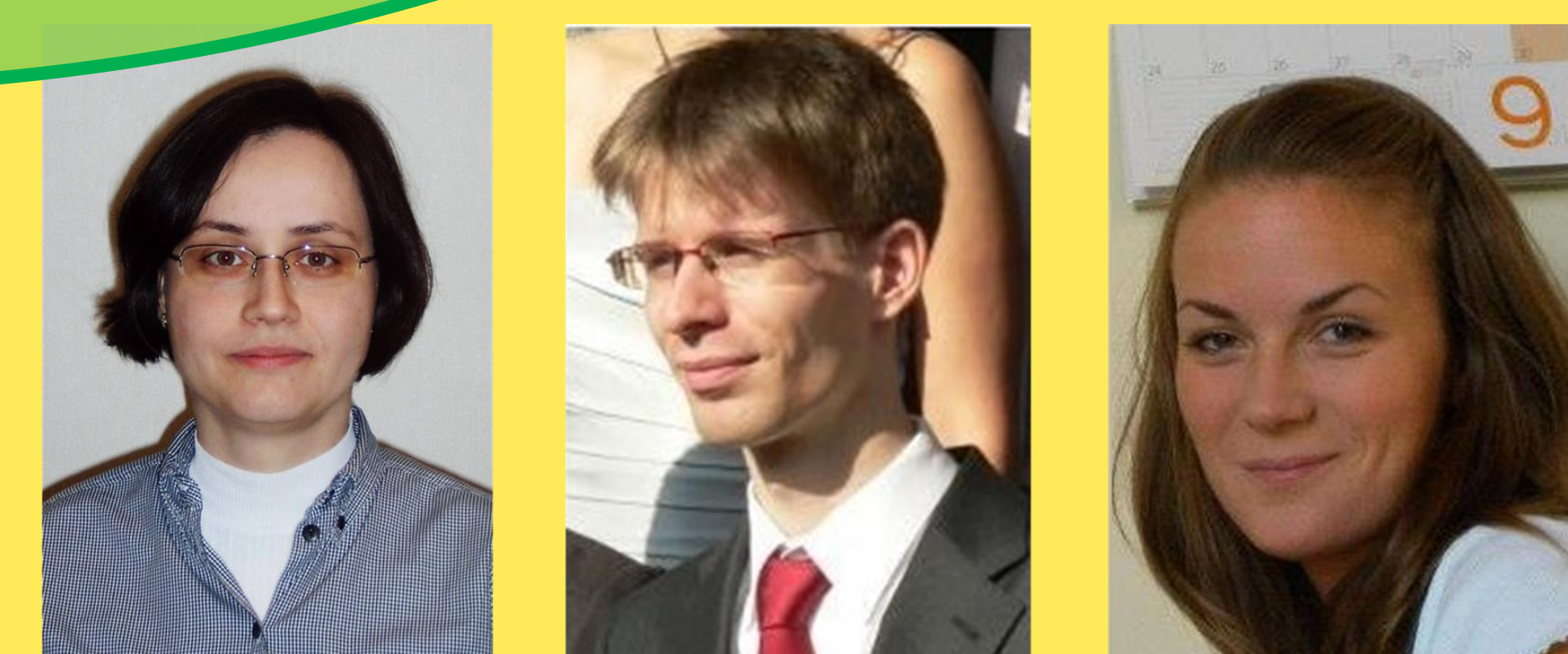
Az R286Tfs*17 frameshift mutáció szerkezeti hatásának vizsgálata

Ez a variáns sem a WT podocin sem az R229Q polimorf módosulat membrán-lokalizációját nem változtatja meg, ezért feltételezéseink szerint igen stabil homo-dimereket alkothat. Megvizsgáltuk, annak eshetőségét, hogy diszulfid-híddal kapcsolt párok alakulnak ki – a modellezés eredményei alapján, Cys→Ser mutánsok létrehozását tervezzük, hogy kísérletileg is igazoljuk ezen kapcsolatok jelentőségét.

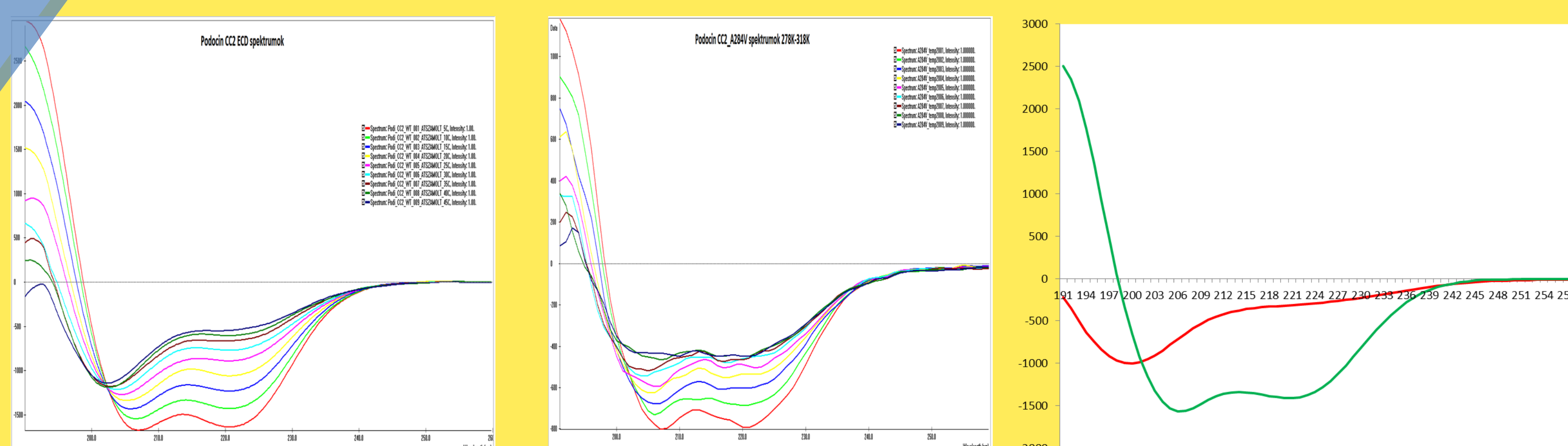
A coiled-coil domének vizsgálata ECD- és NMR-spektroszkópiával

A kísérletsorozat célja, hogy ECD spektroszkópiával és DOSY mérésekkel megállapítsuk a coiled-coil (CC) domén kölcsönhatások erősségét a mutációk függvényében.

A különböző pontmutációk (A284V, A297V, V290M) és a vad típusú fehérje coiled-coil doménjének stabilitásvizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a mutációk jelentős hőstabilitás-csökkenést okoznak. Ezen mutációk szerkezetre gyakorolt hatásának vizsgálata céljából a megfelelő GST-vel fuzionált fehérjedomének kristályosítási kísérleteit végezzük.

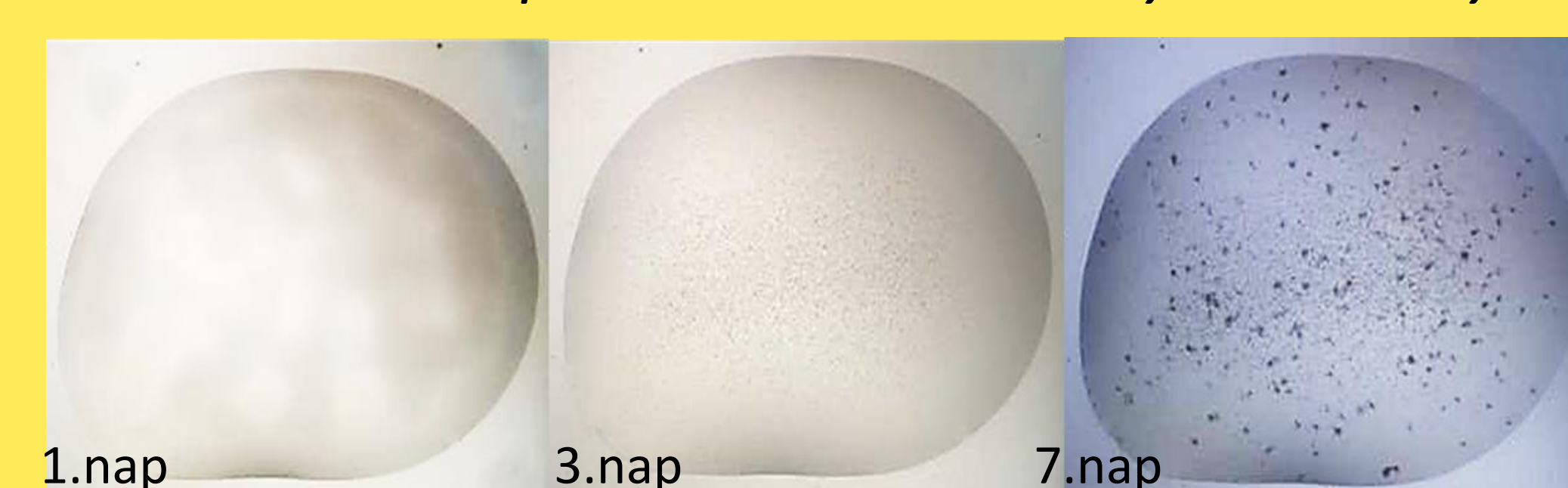


Harmat Veronika Stráner Pál Kiss-Szemán Anna
ELTE Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium
MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport



Podocin(CC) ECD spektrumok

Podocin(CC)A284V hőmérsékletfüggő (278-318 K) ECD spektrumok



1.nap 3.nap 7.nap

Podocin GST-podocin^{WT} első kristálykezdeményei