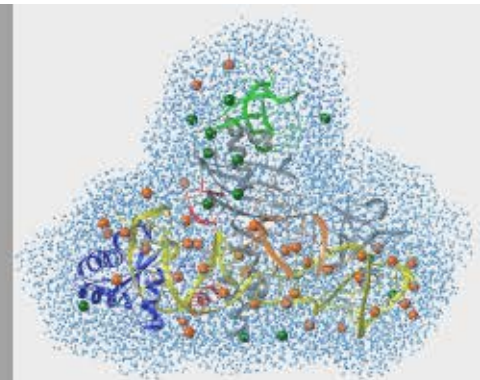


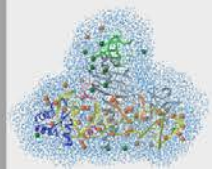
Diszkerin mutációk *in vivo*, *in vitro* és *in silico* jellemzése



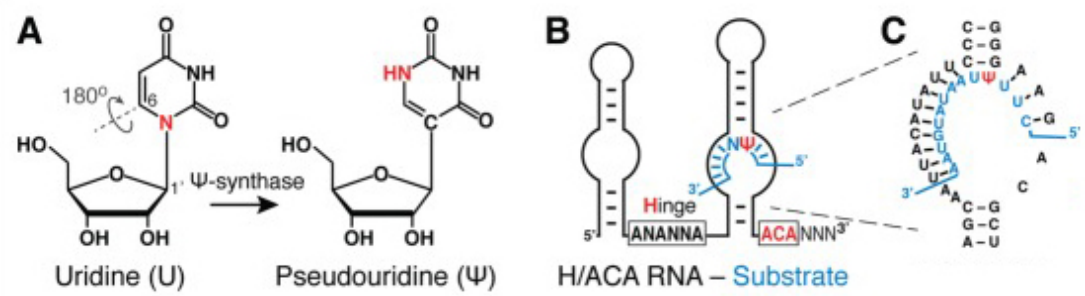
Ferenczy György – Schay Gusztáv – Varga Máté



MedInProt konferencia – 2016.11.19



Az RNS leggyakoribb módosítása, a pseudouridiláció

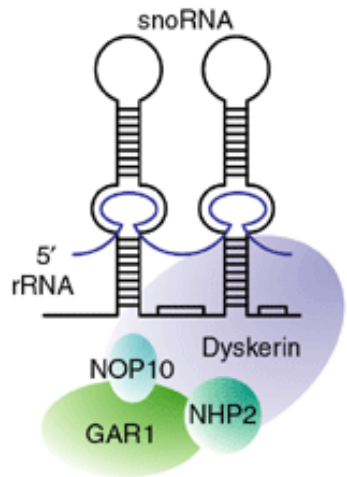


(Yu és Meier, 2014 *RNA Biology*)

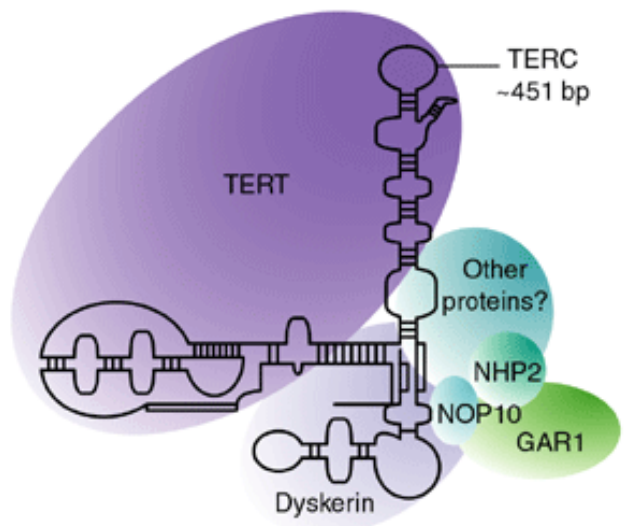
- pseudouridilálódhat:

- rRNS
- tRNS
- mRNS
- snRNS

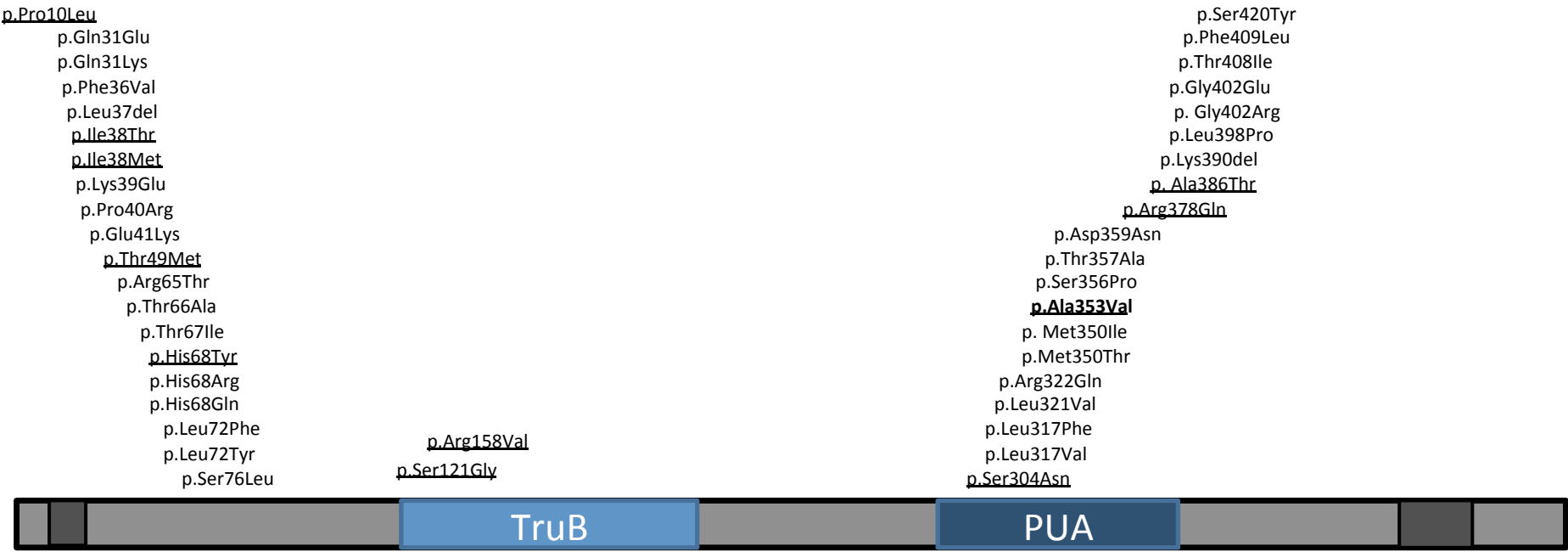
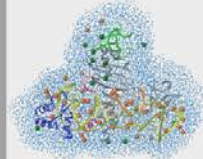
The 'pseudouridylation' complex



The telomerase complex



Emberi diszkerin-függő betegségek: dyskeratosis congenita



N'	Nukleáris Lokalizációs Szignál (11-21 aa.)	(110-226 aa.)	(296-371 aa.)	Lizin- gazdag Régió (446-514 aa.)	C'
----	---	---------------	---------------	--	----



Bőr pigmentációs zavar

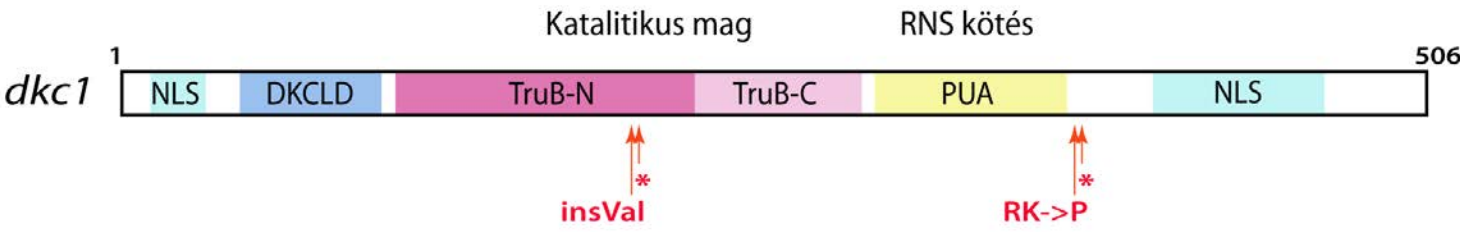
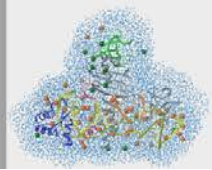


Köröm dystrophia

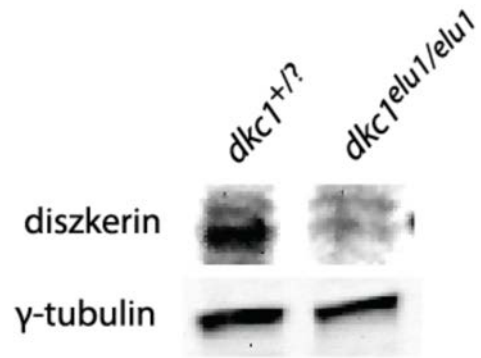


Orális leukoplákia

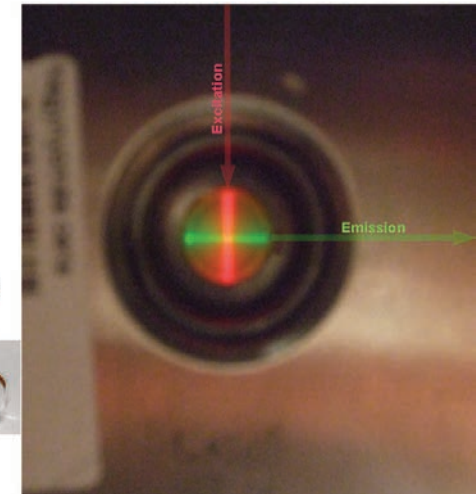
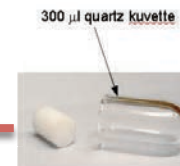
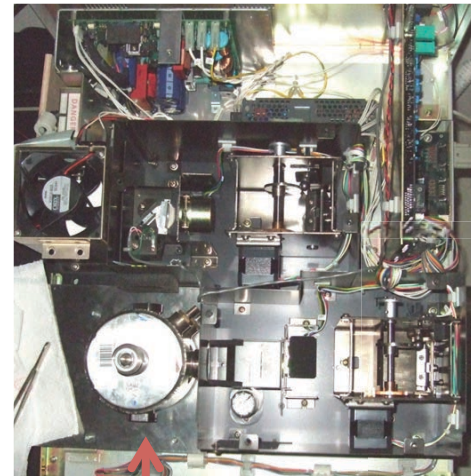
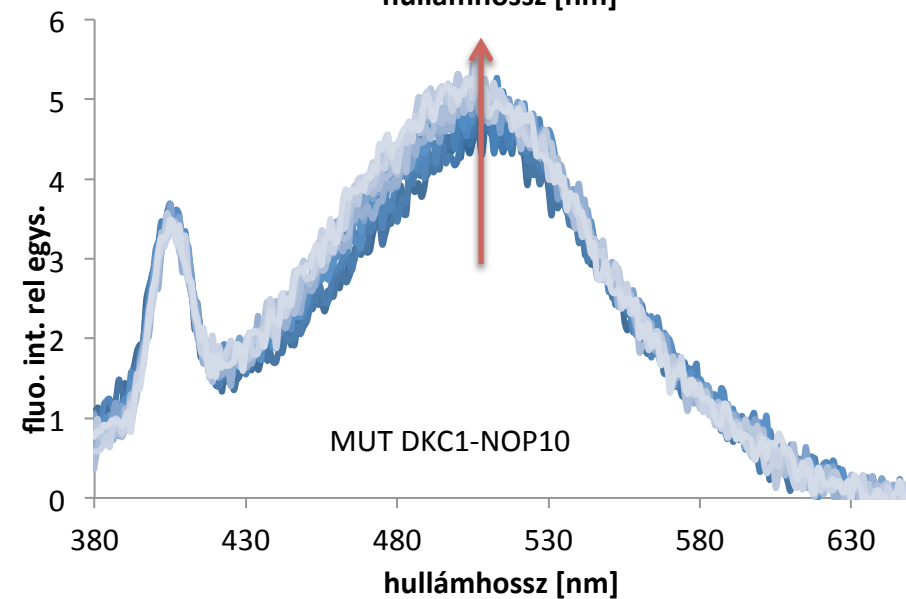
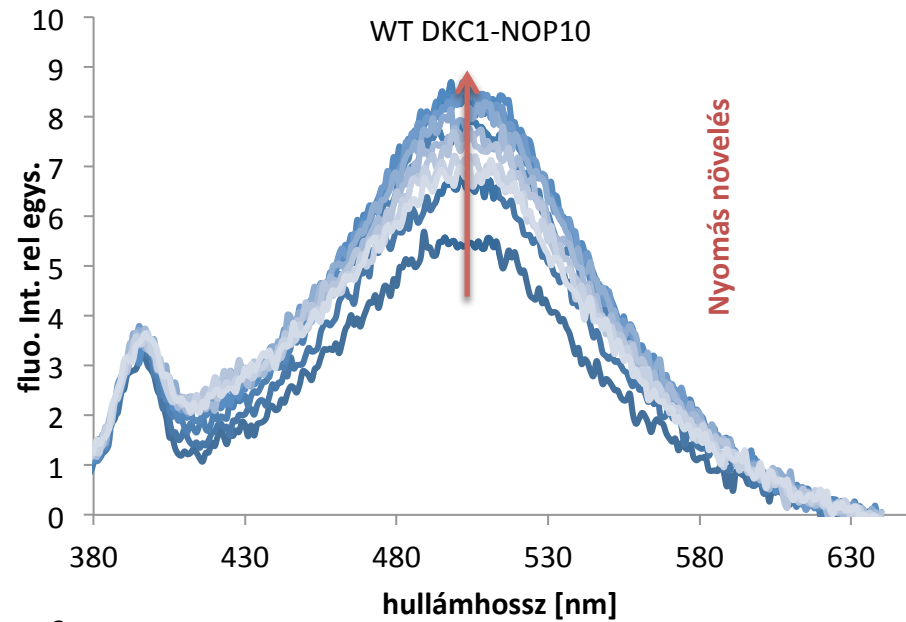
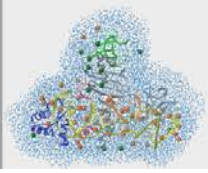
Hal diszkerin-mutánsok létrehozása



- CRISPR/Cas9-alapú mutagenezissel négy allélt (2 frame-shift, 2 in-frame) hoztunk létre

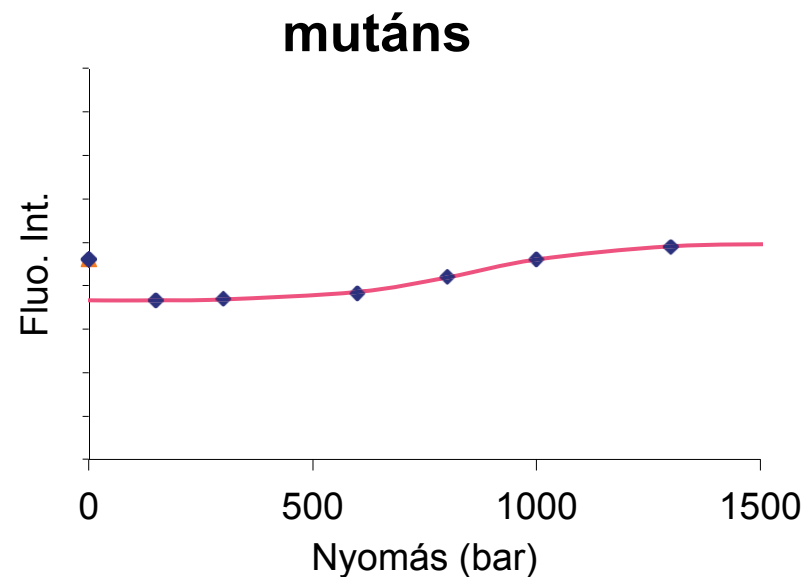
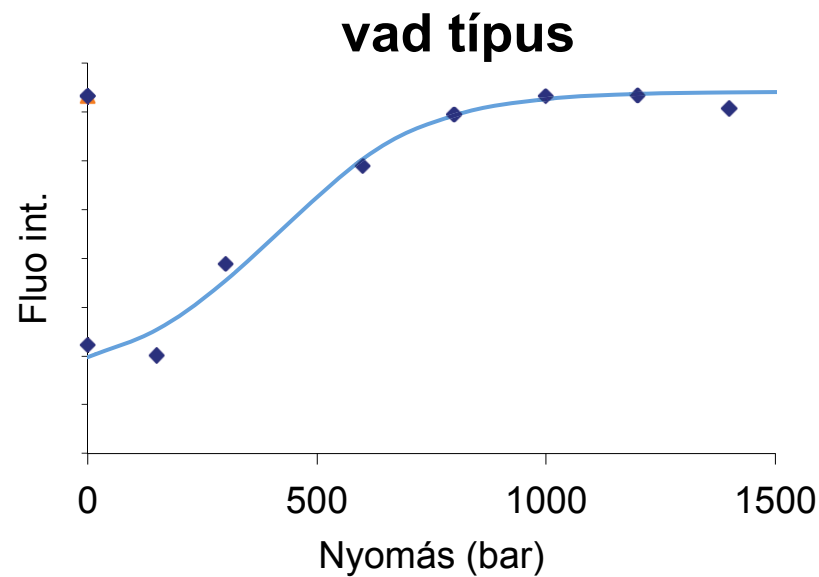
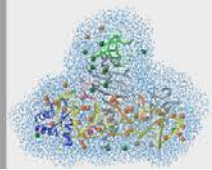


A diszkerin interakciójának vizsgálata nyomásperturbációs spektroszkópiával



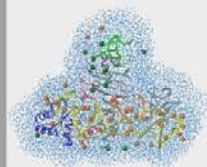
A határfelületek megnyílását ANS festéssel követtük.
A disszociáció fluoreszcencia növekedést okoz.

Mutáció hatása a DKC1-NOP10 komplex kötési erősségére



Illesztéssel megkapható a disszociációs
állandó (K_0) és a felszíni térfogat (ΔV)

$$I = I_0 + \Delta I \cdot \frac{\sqrt{K_0^2 e^{-2 \frac{p \Delta V}{RT}} + 16 C_0 K_0 e^{-\frac{p \Delta V}{RT}} - K_0 e^{-\frac{p \Delta V}{RT}}}}{8 C_0}$$

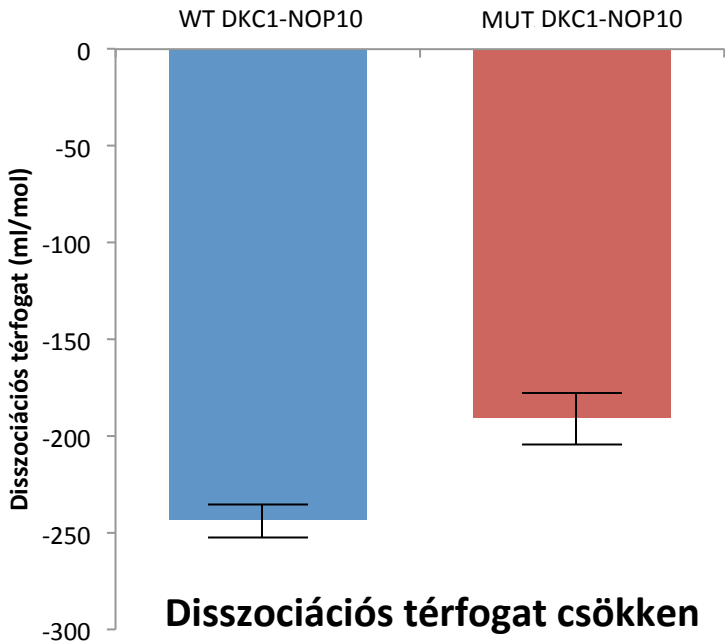
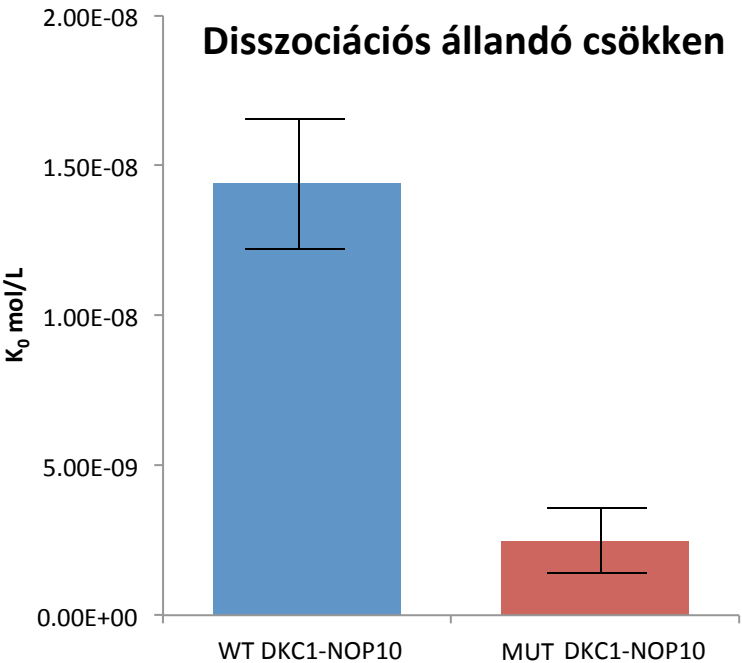


A mutáns diszkerin erősebben köti a NOP10 fehérjét

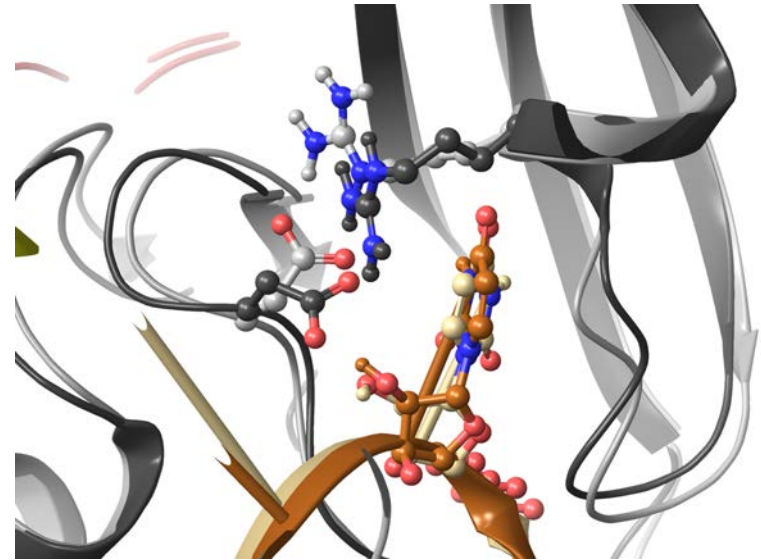
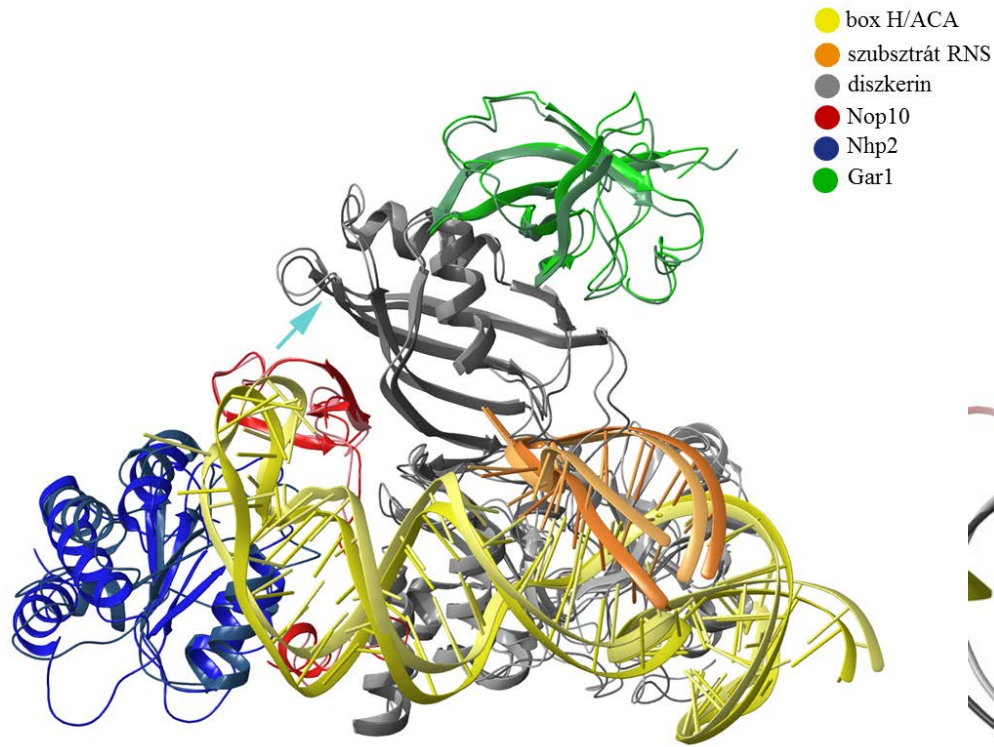
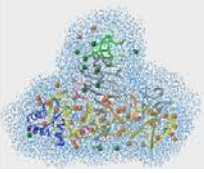
WT DKC1-NOP10	átlag	st.hiba
K ₀ [M]	1.44E-08	4.65E-09
dV [ml/mol]	-243.191	11.79

mut DKC1-NOP10	átlag	st.hiba
K ₀ [M]	2.46E-09	2.25E-09
dV [ml/mol]	-190.664	45.00

A kötés erősödik a mutáció hatására miközben a kötőfelszín polárisabb, és kisebb felszínű lesz

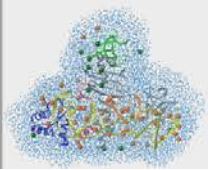


A mutáció hatására megváltozik az aktív centrum szerkezete

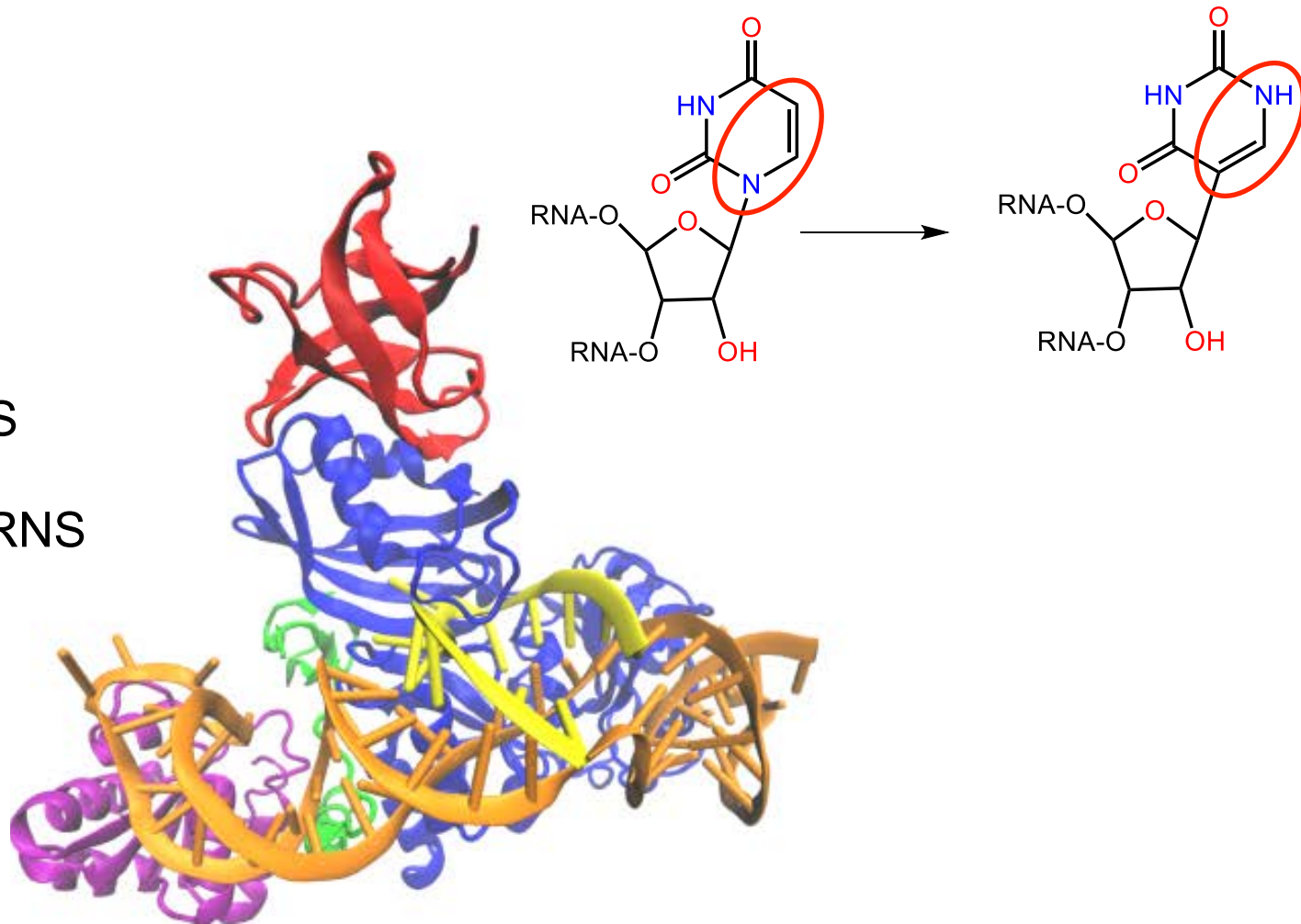


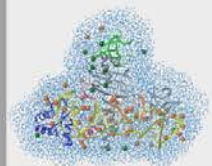
az aktív centrum megváltozik a mutáció következtében

Mi a pszeudouridiláció mechanizmusa?



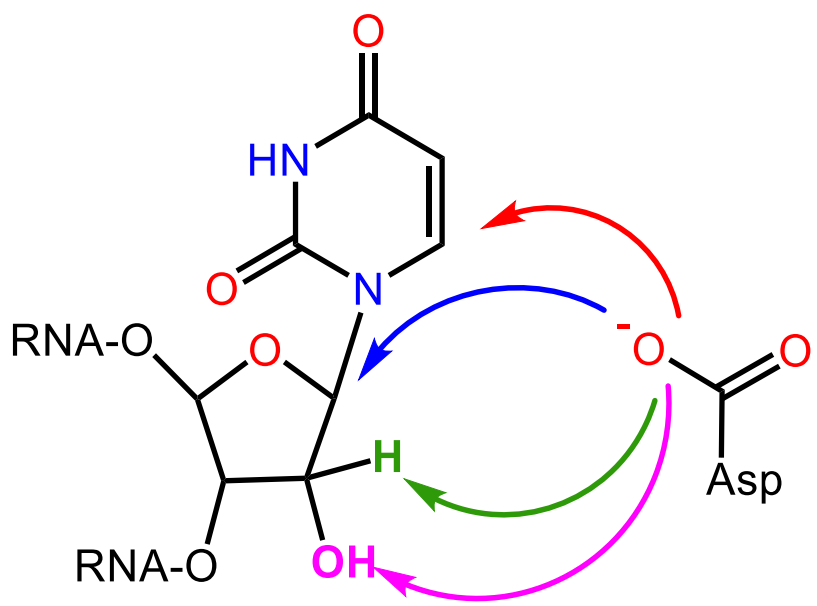
- Gar1
- Diszkerin
- Vezérlő RNS
- Szubsztrát RNS
- Nop10
- Nhp2



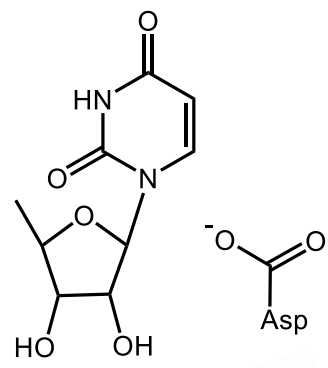


Kvantumkémiai számítások

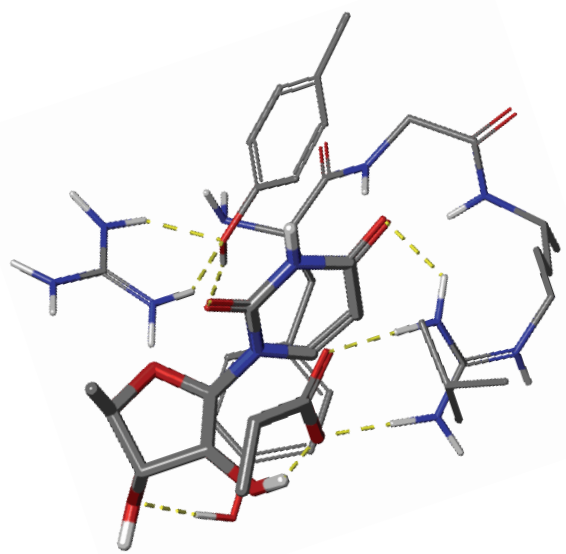
Javasolt mechanizmusokra



Különböző modellrendszerekkel

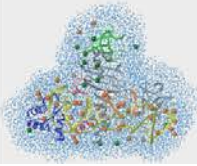


legkisebb
modell

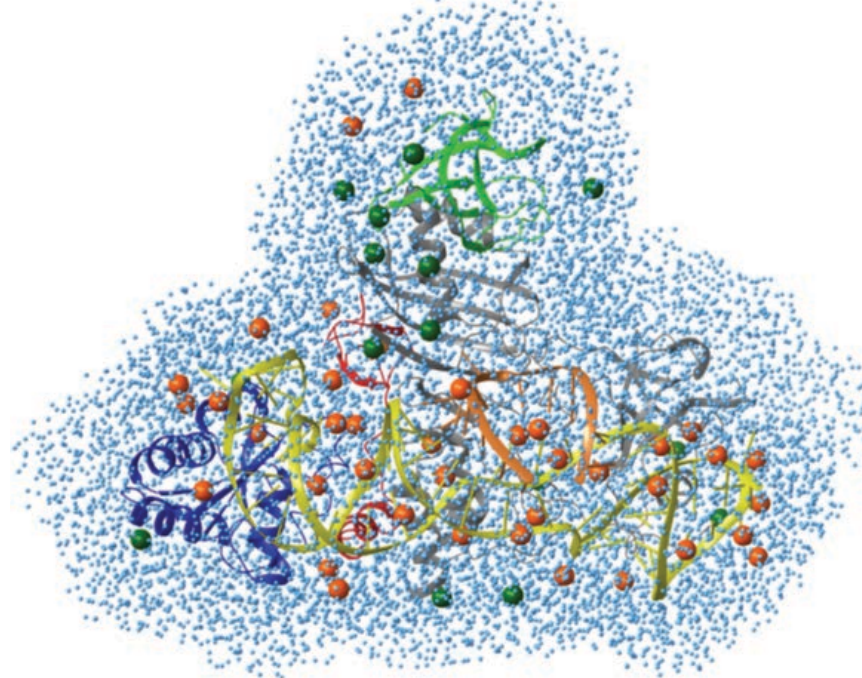


közvetlen
környezettel
kiegészített
modell

Reakciómechanizmus részleteinek számítása



részletek QM/MM
számítással



Mutáció

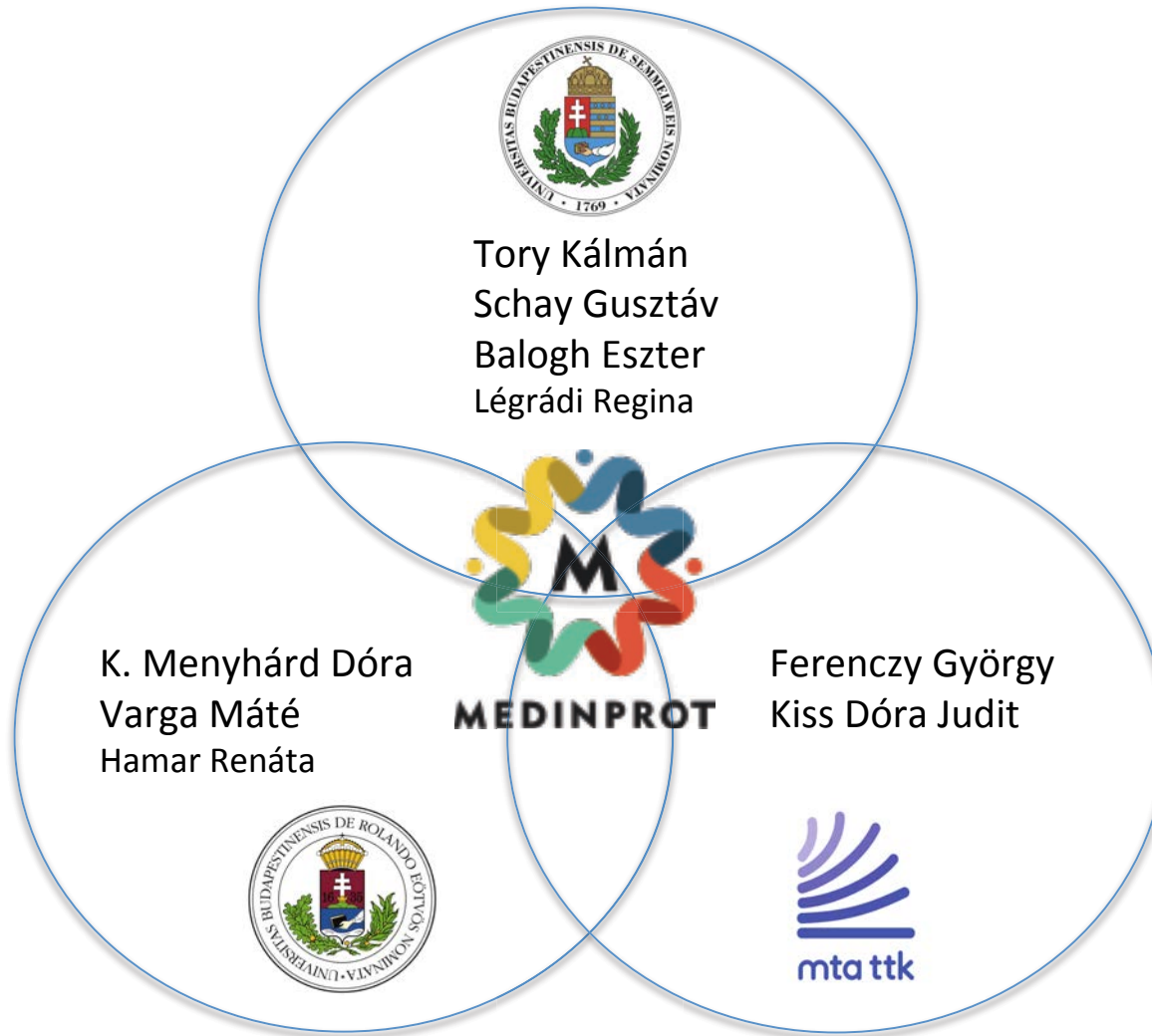
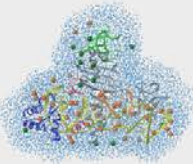
→ **Szerkezet**

→ **Reakció**

→ **Fehérjeszintézis**

→ **Fenotípus**

Köszönetnyilvánítás



További támogatók:

