

Az S100 fehérjecs család proteomikai vizsgálata

Simon Márton András¹, Varga Kata¹, Gógl Gergő¹, Turiák Lilla², Schlosser Gitta³, Nyitray László¹

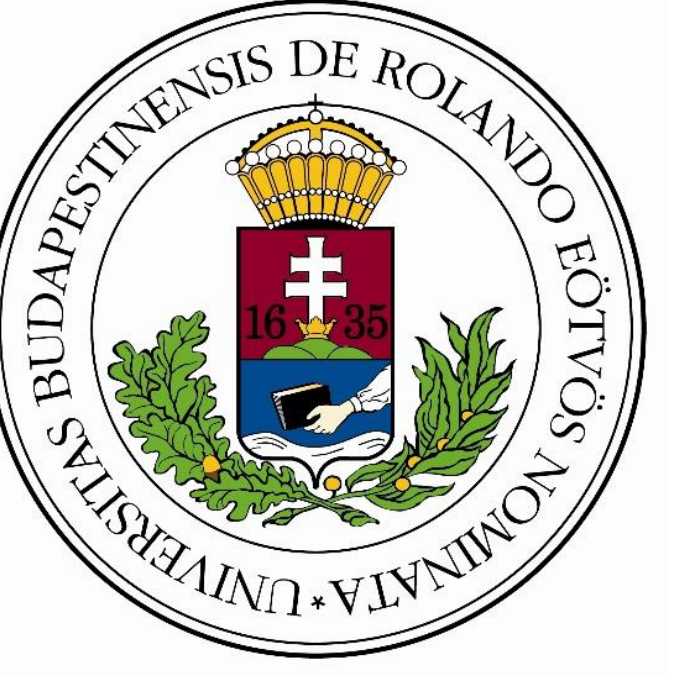
¹Biokémiai Tanszék, Biológiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem

²Természettudományi Kutatóközpont

³Analitikai Kémiai Tanszék, Kémiai Intézet, Eötvös Loránd Tudományegyetem



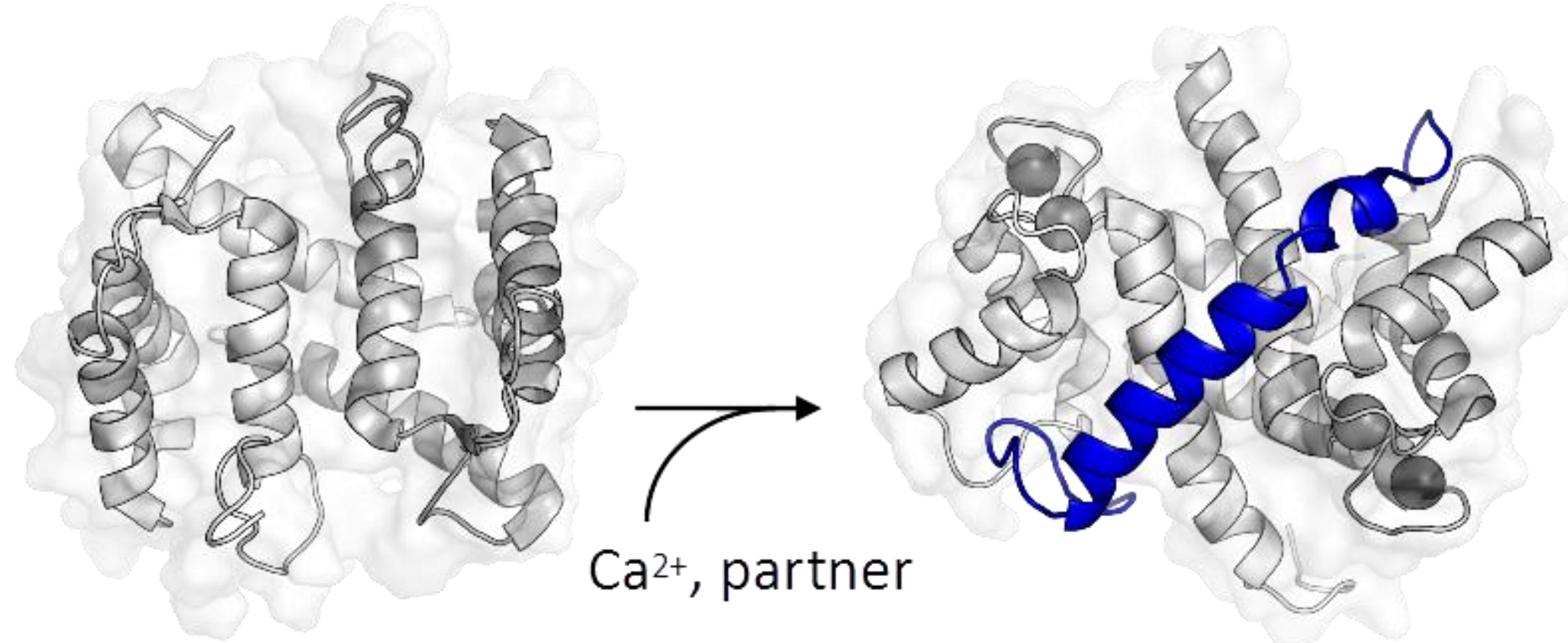
HUNPROTEXC



Bevezetés

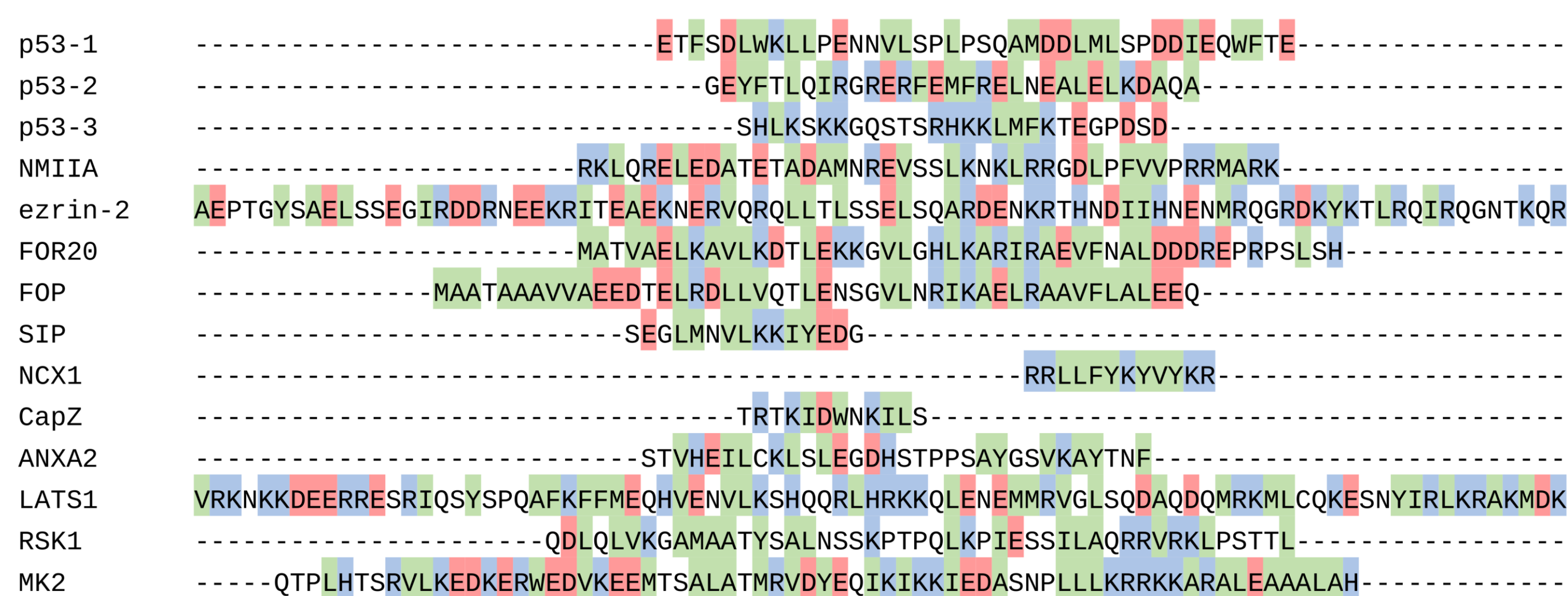
Az S100 fehérjecs család

- Gerinces-specifikus fehérjecs család
- Ca²⁺-aktivált állapotban rövid lineáris motívumok felismerése és megkötése
- 20 paralóg a humán genomban

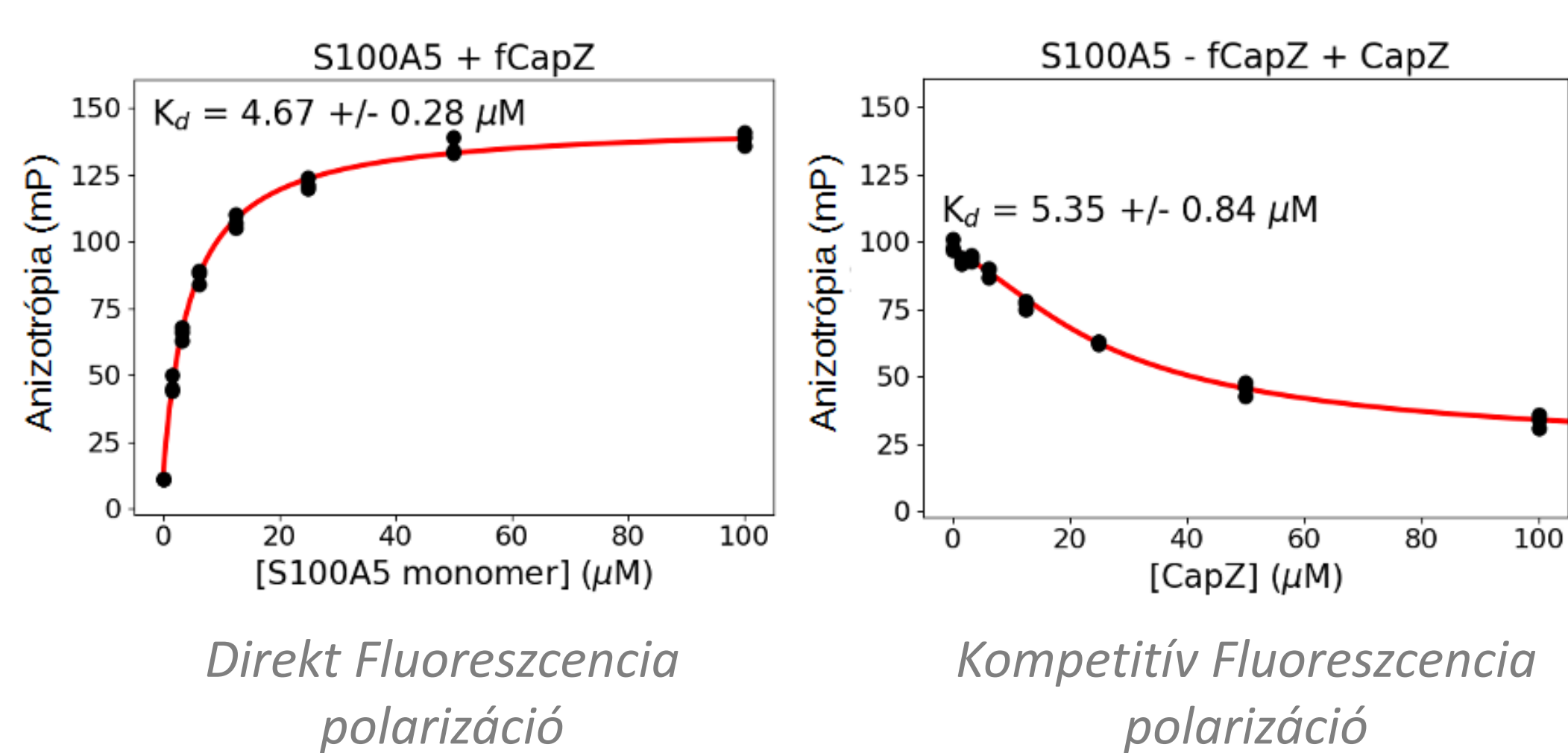


Kölcsönhatások

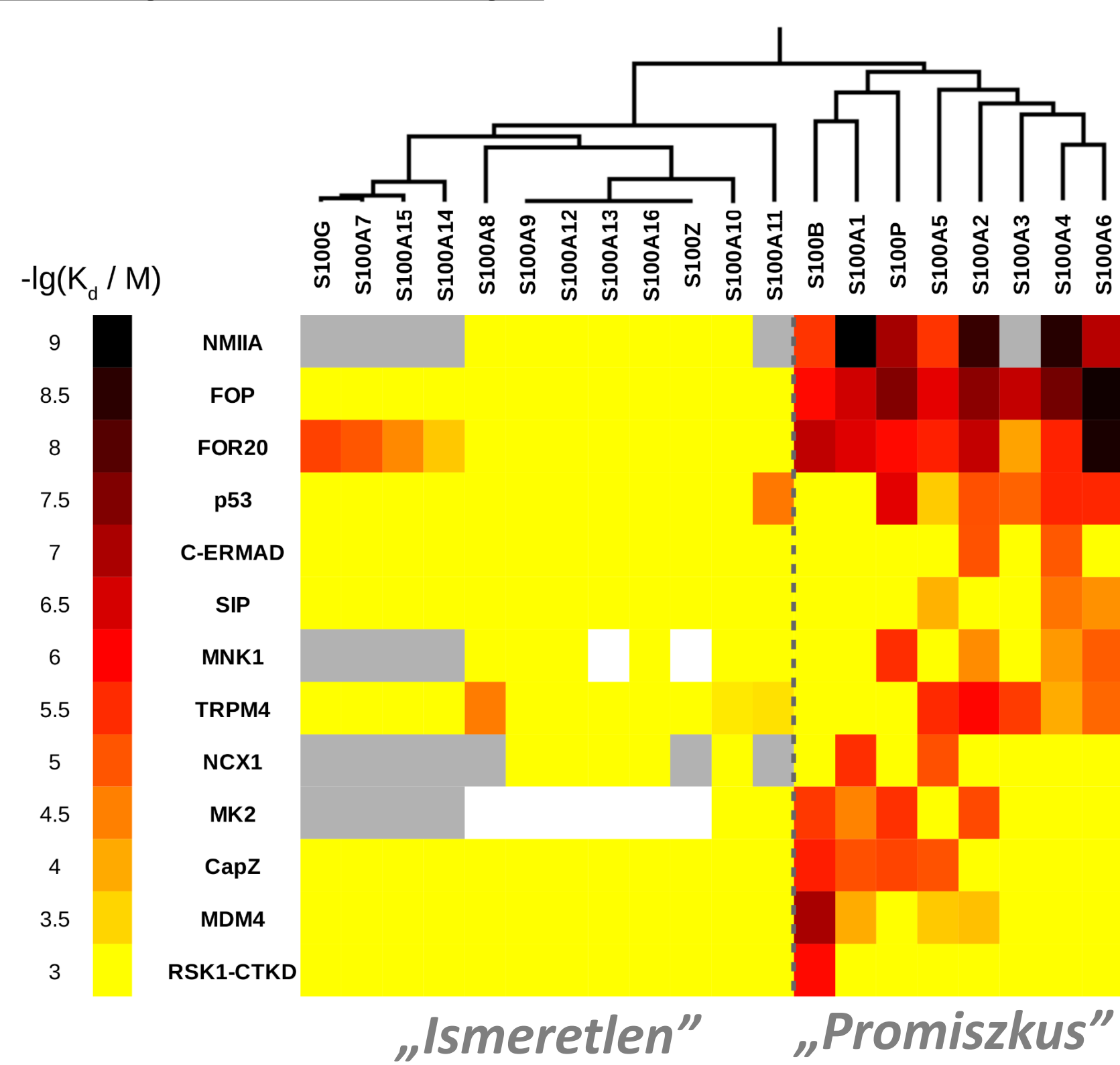
- Számos kölcsönható partnerük ismert, melyek közt döntően kinázok, citoskeletonális elemek és más fehérjék találhatók
- Habár rövid lineáris motívumokat ismernek fel, nem definiálható konszenzus kötőszekvencia



Kvantitatív kötődésvizsgálatok



Az S100 fehérjecs család specifitás-térképe



- Két csoportra osztható a humán S100om a mért affinitások alapján
- „Promiszkus”: szignifikáns partnerrel (4-5) kötést létesítő „tapadós” S100 fehérjék
- „Ismeretlen”: A vizsgált partnerekkel nem létesítettek kötést

Részleges Funkcionális Redundancia



Simon Márton András

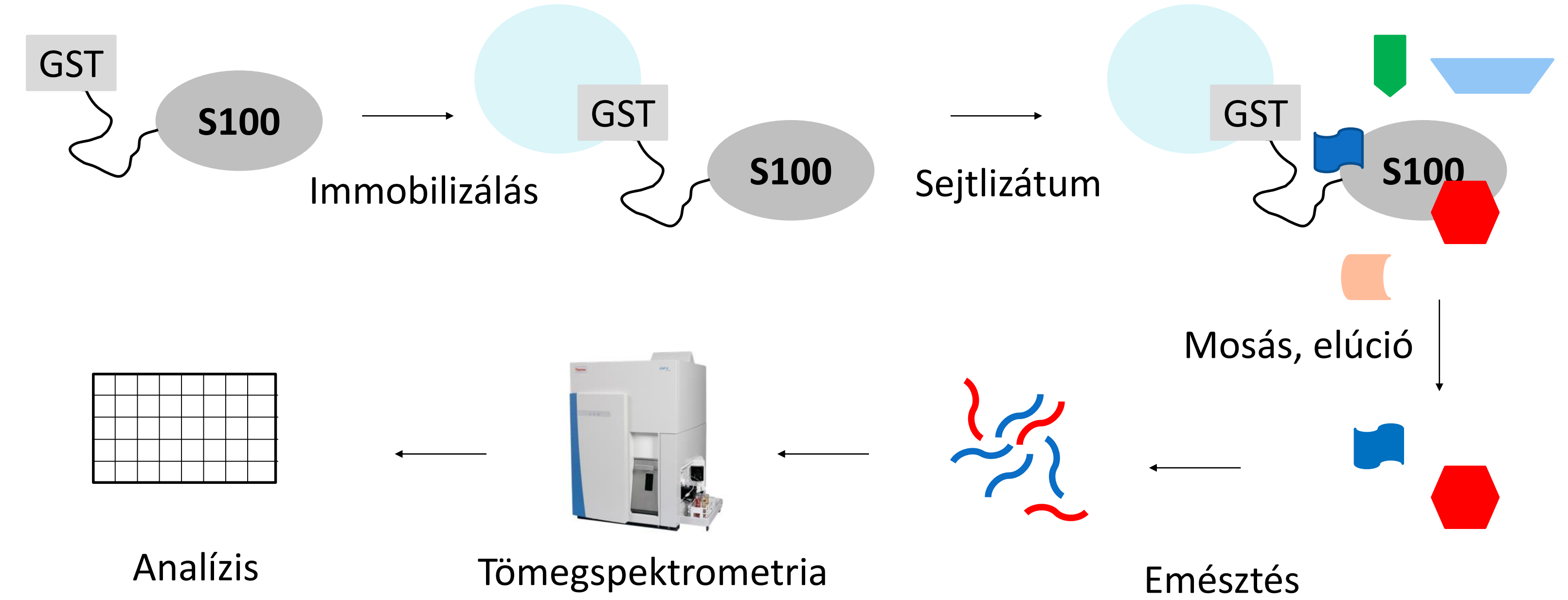
Turiák Lilla

Schlosser Gitta

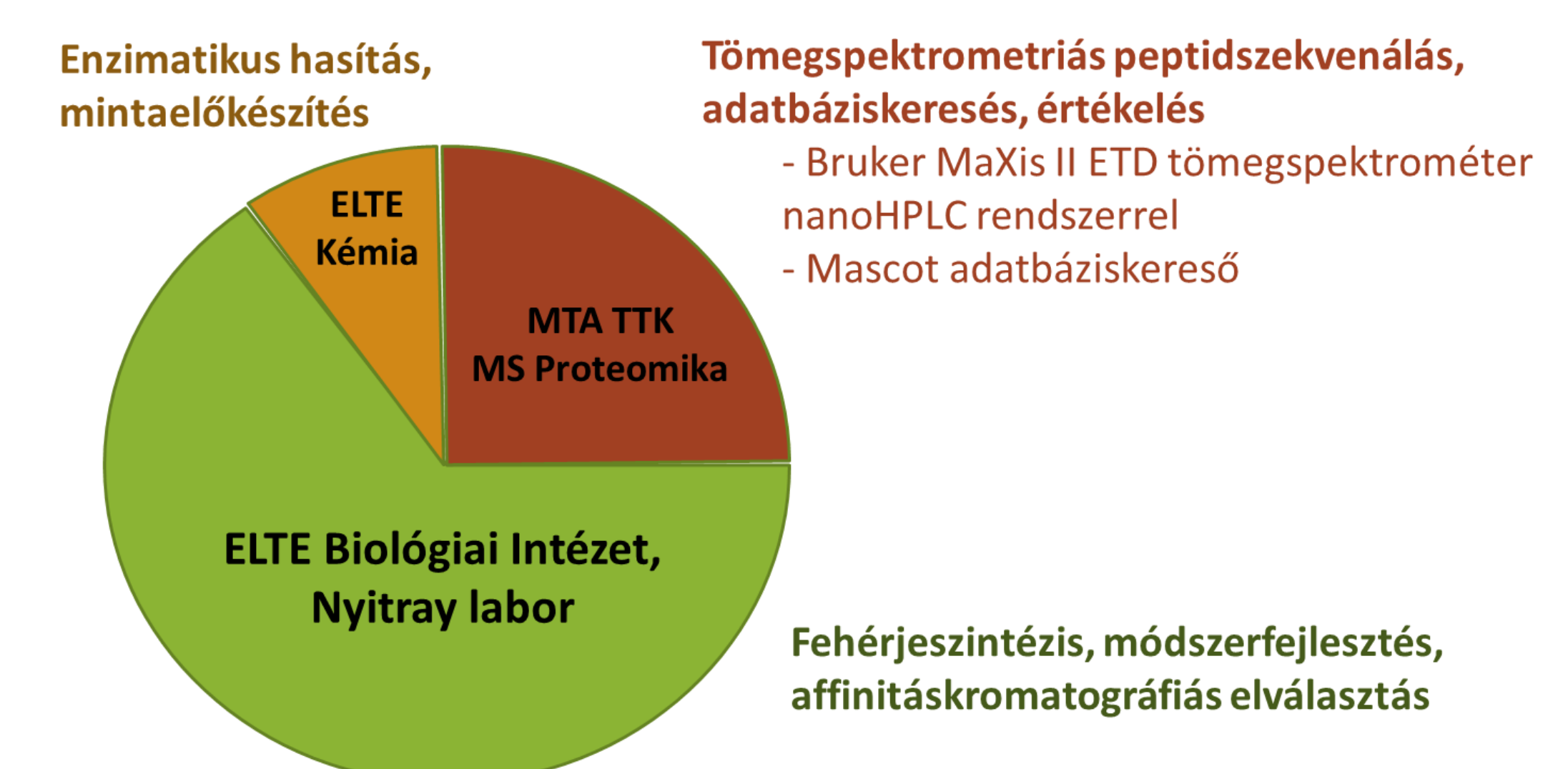
Nyitray László

Célkitűzés

- Az S100 interakom szisztematikus feltérképezése tömegspektrometria alkalmazásával
- Új kötőpartnerek azonosítása az „ismeretlen” csoport esetén

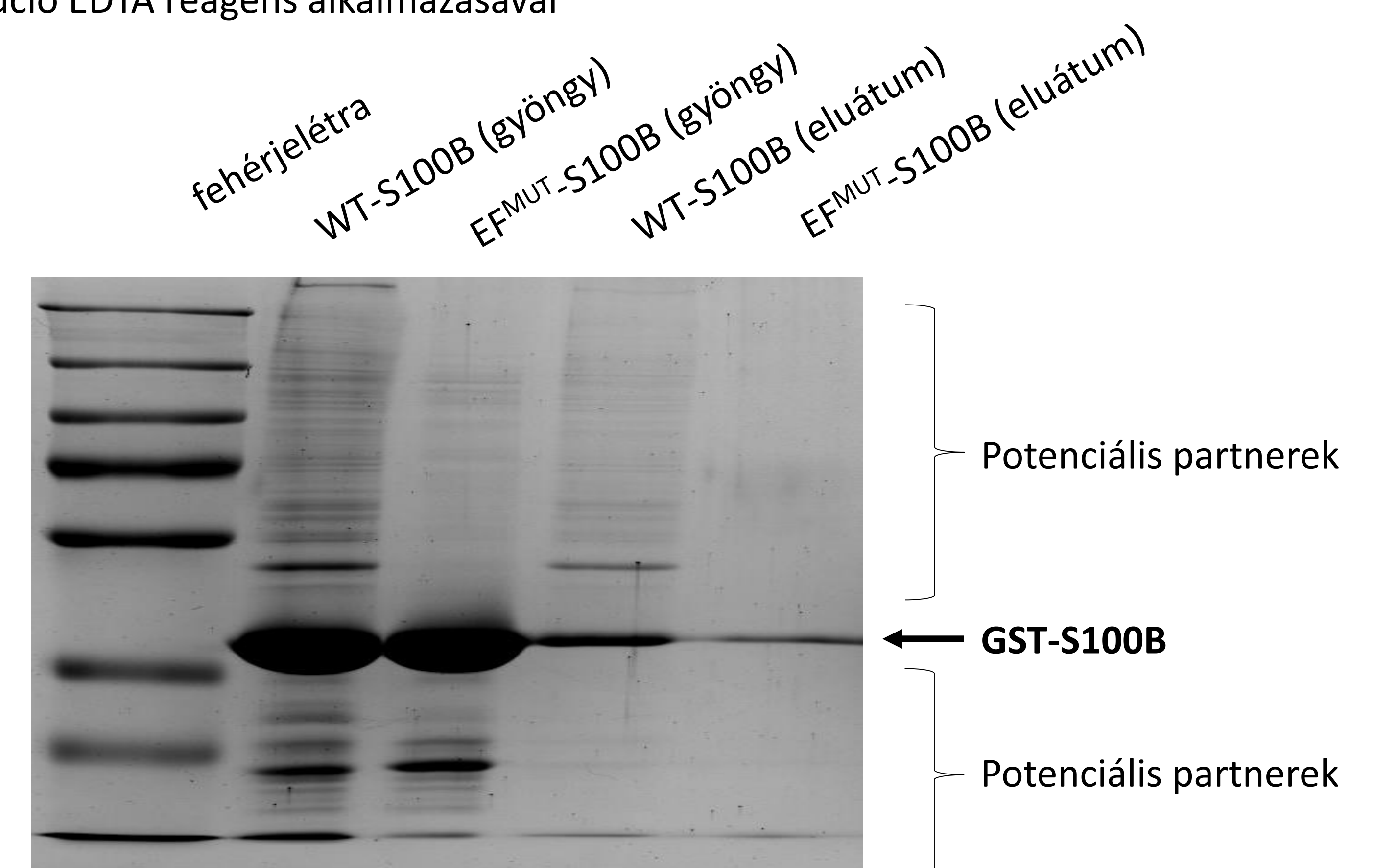


Együttműködő partnerek és feladatmegoszlás



Affinitáskromatográfia

- GST-fúziós rekombináns S100B (WT, vad típus; EF^{MUT}, EF-kéz mutáns, mely nem képes kalcium-ion kötésére) expressziója *Escherichia coli* BL21(DE) törzsekben
- Immobilizálás GST oszlopon
- HEK293T sejt lizátum
- Elúció EDTA reagens alkalmazásával



- Tömegspektrometriás analízishez a mosási és elúciós lépések optimalizálást igényelnek