

# Specifikus miosztatin antagonisták kifejlesztése

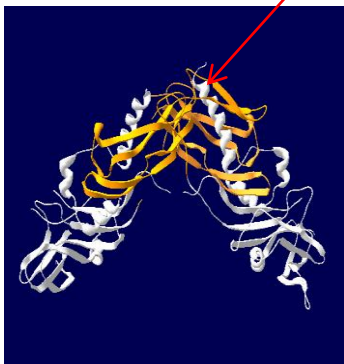


**Bányai László<sup>1</sup>, Fazekas Dóra<sup>2</sup>, Fazekas Zsolt<sup>2</sup>, Kerekes Krisztina<sup>1</sup>, Stráner Pál<sup>2</sup>, Trexler Mária<sup>1</sup>, Patthy László<sup>1</sup>, Perczel András<sup>2</sup>**  
<sup>1</sup> Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet, Jelátviteli és Funkcionális Genomika Kutatócsoport  
<sup>2</sup> MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport és Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium



## HÁTTÉR

A miosztatin/GDF8 gátolja az izomszövet növekedését, ezért a miosztatin antagonisták alkalmasak lehetnek az izomvesztéssel járó betegségek kezelésére. A miosztatin proteolízis révén képződik az inaktív promiosztatinból. A furin nevű enzim a prodomén és a miosztatin domén közötti kötést hasítja el, ám a prodomén ezután is nagy affinitással kötődik a miosztatinhoz és gátolja annak aktivitását. Ebből az ún. latens komplexből - a prodomén elhasításán keresztül - a BMP1 szabadítja fel a miosztatint. A miosztatin aktivitást a follisztatin, a WFIKKN1 és a WFIKKN2 is gátolja, ám ezek a fehérjék további növekedési faktorokat (pl. GDF11) is gátolnak.



A promiosztatin komplex térszerkezete: A prodomének N-terminális helikális régiói szorosan kötődnek a két, egymással diszulfidhíddal kovalensen összekötött növekedési faktorhoz (sárga szalag-modell).

## CÉLKITŰZÉS

Projektünk célja olyan miosztatin prodomén fragmentek előállítás, melyek erősen kötődnek a miosztatinhoz és hatékonyan gátolják a miosztatin aktivitását.

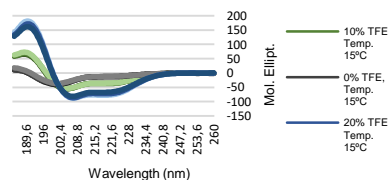
## EREDMÉNYEK

A promiosztatin térszerkezete alapján három (A,B,C) peptidet szintetizáltunk, jellemeztük a peptidek szerkezetét és a miosztatin aktivitására kifejtett hatásukat. CD spektroszkópia vizsgálatok azt mutatták, hogy az izolált peptidek csak 20% TFE jelenlétében vették fel a natív fehérjére jellemző alfa helikális szerkezetet és csak a C peptid gátolta a miosztatin aktivitását. A növekedési faktor szerkezetvizsgálatához szükséges mennyiségű fehérje előállítás érdekében bakteriális rendszerben a promiosztatin olyan mutánsát állítottuk elő, amelyben a furin- hasítóhelyet trombin-hasító helyre cseréltük.

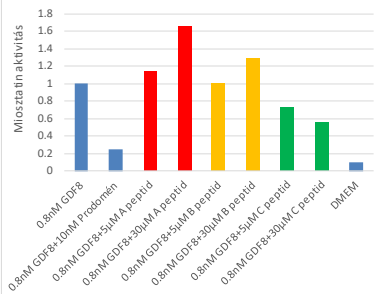
### Az promiosztatin α1 peptidjének variánsai

Peptid A: H-WRQNTKSSRIEAIKIQLSKLRL-NH<sub>2</sub>  
 Peptid B: H-WRQNTKSSRIEWIKIQLSKLRL-NH<sub>2</sub>  
 Peptid C: H-WRQHSRELRLESIKSILSKLRL-NH<sub>2</sub>

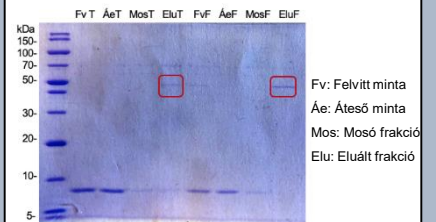
### CD mérések a C peptiden



### Peptidek hatása a miosztatin aktivitására



### A trombin-hasítóhelyet (T) illetve a furin hasítóhelyet (F) hordozó promiosztatin Streptactin oszlopkromatográfiás frakciói



## TOVÁBBI TERVEK

Bakteriális expresszióval előállítjuk az izotóp jelölt aktív növekedési faktort és a miosztatin prodomén egyes fragmentjeit. Ezekkel a fehérjékkel lehetővé válik a miosztatin növekedési faktor térszerkezetének meghatározása, a növekedési faktor és peptidek/prodomén fragmentek közötti kölcsönhatás jellemzése NMR spektroszkópiával.