

60

DISZKERIN MUTÁCIÓK IN VIVO ÉS IN VITRO JELLEMZÉSE

Balogh Eszter⁴, Schay Gusztáv^{2,7}, Tóry Kálmán^{4,5}, Karacsiné Menyhárd Dóra⁶, Ferenczy György¹, Kiss Dóra Judit¹, Varga Máté^{3,4}

- ¹MTA Természettudományi Kutatóközpont, Gyógyszerkémiai Kutatócsoport;
²Semmelweis Egyetem, Biofizikai Intézet;
³Eötvös Loránd Tudományegyetem, Genetikai Tanszék;
⁴MTA-SE Lendület Nephrogenetikai Kutatócsoport;
⁵Semmelweis Egyetem, I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Genetika Munkacsoport;
⁶MTA-ELTE Fehéjemodellező Kutatócsoport és Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium;
⁷MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport

A diszkerin molekula az eukarióta sejtek egyik legfontosabb RNS modifikációját, a pszeu-
 uridilációt katalizálja, melynek pontos szerepe a sejt működésében nem teljesen tisztázott.
 Irodalmi adatok sejteit, hogy a riboszomális RNS-ek pszeuouridilációja a riboszóma műkö-
 désében lehet elengedhetetlen, így elégtelen pszeuouridiláció a riboszomális komplex műkö-
 désének zavarát okozhatja, ami klasszikus riboszomopátiás kórtünet formájában jelentkezhet.
 A riboszomopátiák patogenezise viszonylag ismeretlen terület, így a diszkerin működésének
 feltárásával fontos ismereteket szerezhettünk ezen a téren. Munkánk során targetált genom-
 szerkesztéssel zebradanióban létrehoztunk több nullmutációt, illetve hipomorf allélt a *dkc1*
 génben. Bizonyítottuk, hogy a *dkc1* hiánya nagyon jellegzetes fejlődési rendellenességeket
 okoz, amelyek közül számos a sejtek differenciációjának elmaradásával hozható összefüggés-
 be. A molekula-komplexek *in-vitro* nyomásperturbációs fluoreszcencia spektroszkópiai vizs-
 gálata során azt tapasztaltuk, hogy a *dkc1* egy hipomorf mutációja révén – meglepő módon –
 erősebb komplexeket alakít ki a partner fehérjékkel, (pl. a NOP10-ei) mint a vad típus, majd-
 nem egy nagyságrendi csökkenést mutat a Kd (disszociációs állandó), míg ezzel párhuzamo-
 san a kötőfelszín nagysága csökken. Ebből arra tudunk következtetni, hogy az eddig vizsgált
 mutációk mindegyike jelentősen átrendezi a komplex összetartásáért felelős kölcsönható fel-
 színeket. A diszkerin tartalmazó box H/A/C/A pszeuouridin szintáz komplex által katalizált
 uridin-pszeuou uridin átalakulás reakciómechanizmusának tisztázásra kvantum kémiai számí-
 tásokkal vizsgálunk releváns modellrendszerket. Az így azonosított lehetséges mechanizmu-
 sokra pontosabb, vegyes kvantum mechanikai/molekulamechanikai számításokat végzünk.
 Ezek a mutációk és a komplex eleminek kötődése, valamint a pszeuou uridin képződés kata-
 lizise közötti összefüggésre adnak információt.

61

A MITOKONDRIALIS ANYAGCSERE MODELLEZÉSE

Sváb Gergely^{1,2}, Horváth Gergő¹, Ádám Veronika¹, Tretter László¹, Szederkényi Gábor²

- ¹ Semmelweis Egyetem, Orvosi Biokémiai Intézet, MTA-SE Neurobiokémiai Kutatócsoport;
² Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionika

A mitokondriumok fontos szerepet töltenek be a szervezet sejtjeinek anyagcseréjében. A
 kondriális citrát-kör által katalizált reakciók közismertek, viszont a mitokondrium ak-
 metabolizmusintjéről kevés információval rendelkezünk. Joggal vetődik fel az igény a ciklus
 résztvevő intermedierek időbeli koncentráció-változásának leírására, mivel ezek számos
 állapotban megváltoznak. Az irodalomban megtalálható modellek elsősorban az egyes
 állapotok leírásával foglalkoznak, melyeket a kinetikai és termodinamikai paraméterek
 határoznak meg. Ezek a modellek széles tartományban mozgó paramétereket igényelnek,
 a validációjuk során jelentős pontatlanságok figyelhetők meg.

A munkánk során egy pontosabb kvantitativ modell szeretnénk föltállítani a citrát
 folyamatok analízise érdekében, melynek célja a reakciókat katalizáló enzimek megvált
 működése során kialakult anyagcsere állapotok leírása. Emellett a mitokondrium új körü-
 nyekhez való metabolikus adaptációját vizsgáljuk.

A modellezés során a Michaelis-Menten enzimkinetikát használtuk a reakciósebesség
 a transzportok sebességeinek meghatározáshoz. Az enzimek és transzporterek paramé-
 tereinkinél méreseink és irodalmi adatok alapján határoztuk meg. A reakciók során l-
 ó koncentráció-változásokat differenciálegyenletekkel írtuk föl, és MATLAB környezeti
 implementáltuk.

A modellezés során fiziológias paraméterek és kezdeti értékek mellett a modell eredménye-
 elérték az egyensúlyi koncentrációktól, aminek okaként feltételeztük, hogy a modell
 vette figyelembe a mitokondrium és a környezete közti intermedier áramlását
 Transzportereket építve a modellbe elértük az egyensúlyi koncentrációkat, ezáltal szimul-
 az egészséges működést. Az iszkémiát követő módosult koncentrációkat kezdeti érték
 alkalmazva megfigyelhető volt, hogy a mitokondrium az iszkémia lezajlása után elkezd
 reállítani a szubsztrátok arányát a fiziológiás arányra.

Modellinket a későbbiekben más körülményekben kívánjuk felhasználni. Az egyes
 mek detektusának következtében megváltozott paramétereinek metabolizmusra gyak-
 hatását szeretnénk kvantitatívan megbecsülni. Ezáltal szeretnénk komplex képet kapni a
 kondrium metabolizmusáról és metabolomikájáról.

Támogatók: OTKA (NK 81983), TÁMOP (4.2.2./B-09/1), MTA (MTA TKI 2013), Nem
 Agykutatási Program (KTIA_13_NAP-A-III/6)