



PROGRAMFÜZET ÉS ABSZTRAKTKÖNYV

A Magyar Biokémiai Egyesület
Jelátviteli Szakosztályának III. Konferenciája

BELLEVUE KONFERENCIA ÉS WELLNESS HOTEL **** ESZTERGOM

2012. október 4 – 6.

Konferencia titkárság:
Weco Travel Kft. - Chemol Travel
Beutazási és kongresszsszervezési referetúra

H-1075 Budapest, Rumbach S. u. 19.

Tel.: +36 1 266 7032

Fax: +36 1 266 7033

E-mail: incoming@chemoltravel.hu

PARP-1 a citoplazma felé közvetített mechanizmust. Munkánkat az ÁOK-KA 34039/10-24, 34039/KA-OTKA/11-17, 34039/KA-OTKA/11-06, TÁMOP-4.2.1-B-10/2/KONV-2010-0002 A Dél-dunántúli régió egyetemi versenyképességének fejlesztése, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0029 Tudományos képzés műhelyének támogatása a Pécsi Tudományegyetemen pályázatok támogatták.

P-26

A miozin foszfatáz szerepe humán hepatocarcinóma sejtek sejtmagi folyamataiban

¹Sipos Adrienn, ¹Erdődi Ferenc, ¹Lontay Beáta;

¹Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Orvosi Vegytani Intézet, Debrecen;

A miozin foszfatáz holoenzim két fő alegysége a PP1 katalitikus alegység és a 110/130 kDa miozinhoz is kötődő regulátor alegység. A miozin foszfatáz először izomszövetben jellemeztek, szerepét az izomsejtek kontraktilis folyamataiban és más, miozinhoz kötött citoskeletális változások szabályozásában ismerték fel. A MYPT1 azonban sejtmagi lokalizációt is mutat patkány aorta simaizom sejtekben és HepG2 sejtekben is. Munkánk célja volt, primer idegsejt tenyészetekben és HepG2 sejtekben is. Munkánk célja volt, hogy az enzim sejtmagi lokalizációjának meghatározásával és a miozin foszfatázzal kölcsönható fehérjék kimutatásával vizsgáljuk az enzim sejtmagon belüli lehetséges szabályozó funkcióit. Kimutattuk a MYPT1 alegység jelenlétét HepG2 sejtek sejtmagi és szubnukleáris frakcióiban Western blot analízissel. A HepG2 sejtfrakciók specifikus PP1 inhibitorok mellett végzett foszfatáz enzimaktivitás vizsgálata alapján a PP1 bizonyult a fő protein foszfatáznak a sejtmagonban. A MYPT1 sejtmagon belüli lokalizációját immunfluoreszcencia technikával vizsgálva kimutattuk jelenlétét a sejtmag magvaszkán kívüli állományában a sejtmagmembránhoz való kötődés nélkül. Igazoltuk a PP1cő és MYPT1 sejtmagi kolokalizációját, ami arra utal, hogy a MYPT ezzel az izoformával alkot holoenzimet a sejtmagon belül. A potenciális sejtmagi MYPT1-kölcsönható fehérjék kimutatását pull down módszerrel végeztük sejtmagi frakcióiból Flag-MYPT1 fehérjével és ezt követő tömegspektrometria elemzéssel. Számos potenciális kölcsönható fehérjét azonosítottunk, így a hiszton 1, a splicing folyamatban résztvevő fehérjéket illetve a metilozóma komplex több tagját, mint például a PRMT5 fehérjét. A PRMT5 és MYPT1 fehérjék közötti kölcsönhatást fluoreszcens immunfestéssel és sejtmag frakcióval vizsgált pull down kísérlettel is igazoltuk. Immunfluoreszcencia segítségével bizonyítottuk a MYPT1 jelenlétét a spliceoszómákban (splicing faktor kompartmentek), ami a MP mRNS érés szabályozásában betöltött szerepére utalhat. A metilozóma fehérjékkel és spliceoszómákkal való kölcsönhatás behatóbb vizsgálata rávilágíthat a MP fiziológiai jelentőségére a transzkripció és az RNS érés szabályozásának folyamataiban. A kutatásokat az

OTKA PD 104878, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0024 pályázat és a Boljai Ösztöndíj támogatta

P-27

TRPV1 IONCSATORNÁK JELENLÉTÉ CSIRKE ÉS EGÉR KONDROGENIKUS MODELLEKBEN

¹Somogyi Csilla, ¹Matta Csaba, ¹Földvári Zsófia, ¹Katona Éva, ¹Takács Roland, ¹Juhász Tamás, ²Nánási Péter, ²Hegyi Bence, ²Szentandrássy Norbert, ¹Zakány Róza;

¹Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Anatómiai, Szövet- és Fejődéstan Intézet, Debrecen, ²Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Élettani Intézet, Debrecen;

Az egészséges vázrendszer fejlődése során elengedhetetlen feltétel, hogy a differenciálódó mezenchimális sejtek állandó kapcsolatban legyenek az őket körülvevő dinamikusan változó környezettel. Kutatócsoportunk már beszámolt a kondrogenikus sejtekben megjelenő jellegzetes intracelluláris kalciumkoncentráció-változásokról, azonban a kondrogenézis során végbemenő plazmamembrán-iontranszport mechanizmusok még nem igazán ismertek. A polimodális, nem szelektív kationcsatornák közül a Transiens Receptor Potenciál Vanilloid (TRPV) alcsoport alkalmas jelölőnek tűnik, ugyanis képes számos extracelluláris stimulust intracelluláris ionkoncentráció-változással járó jellel alakítani. Kísérleti modellünk egy kondrogenikus, magas sejtsűrűségű (high density culture HDC) rendszer, melyet 4 napos csirke-, illetve 11.5 napos egérmembrók végtagtelepeiből izolált sejtekből hozunk létre. Ezekben a HDC kultúrákban hat nap alatt spontán porcképződés történik. Mindkét modell sejteit TRPV család számos tagjának mRNS-ét expresszálljuk, kísérleteink jelenlegi fázisában a TRPV család legismertebb tagjára a TRPV1 ioncsatornára fókuszáltunk. A TRPV1 csatorna mRNS és fehérje szinten történő kifejeződése jól korrelál a kondrogenikus sejtek differenciáltsági állapotával. A madár TRPV1 hőre és alacsony pH-ra érzékeny, míg vanilloid jellegű vegyületekre érzéketlen, ezért a csirke modellen hőkezelést, az egér rendszerben pedig a jól ismert agonistákat, kapszaicint (CAP) és reziniferatoxint (RTX), alkalmaztuk. Mind a hőkezelés, mind az agonisták alkalmazása megemelte a metakromáziásan festődő extracelluláris mátrix mennyiségét. A termoszenzitív csatornák jelenlétére utalhat az a tény is, hogy az intracelluláris kalcium koncentráció szignifikánsan megemelkedett hőkezelés hatására. Ez az ic. kalcium koncentráció emelkedés azonban meglepő módon nem igényelte extracelluláris kalcium jelenlétét. Az egér modellben hőkezelésre és agonisták alkalmazására lejtészódó ic. kalcium koncentráció változások nyomkövetése és összehasonlítása a madár modellel még folyamatban van. Eredményeinkben elsőként írjuk le a TRPV1 jelenlétét differenciálódó porcszöveteken. Kísérleteinket a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-