

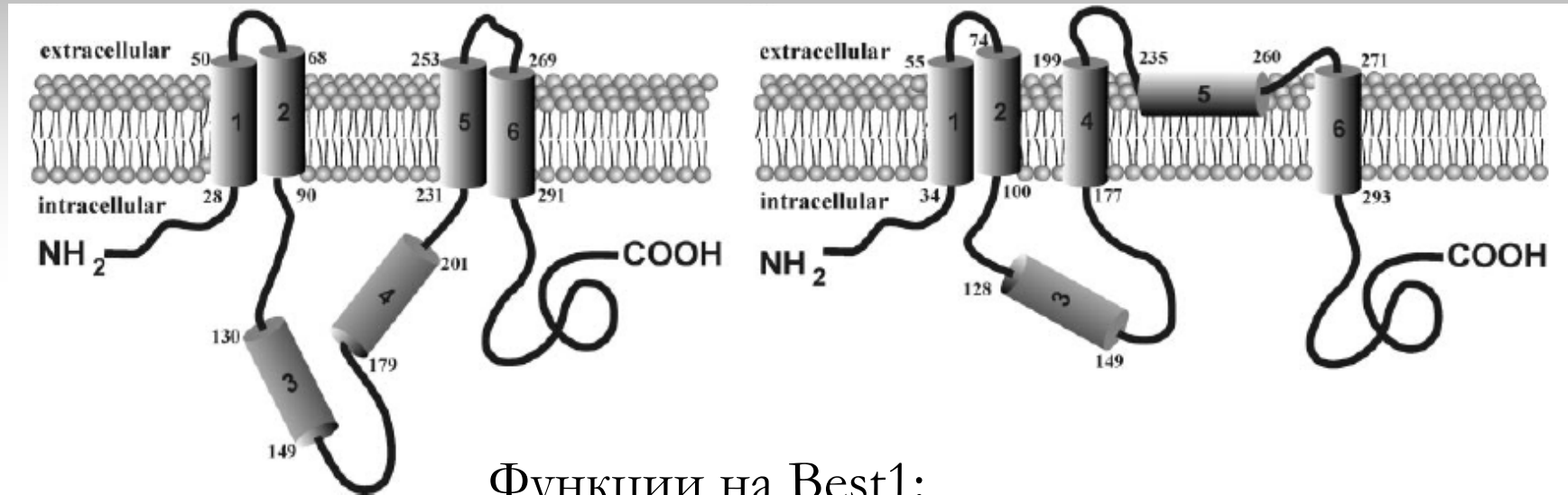
**ВЛИЯНИЕ НА БОЛЕСТ-ПРЕДИЗВИКВАЩИ МУТАЦИИ
В ПОТЕНЦИАЛНИ СОРТИРАЩИ МОТИВИ
НА БЕЛТЪКА БЕСТРОФИН-1 (Best1)
ВЪРХУ ТРАНСЕПИТЕЛНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА
МДСК II КЛЕТКИ**

Гл. ас. Веселина Московска-Думанова

катедра “Цитология, хистология и ембриология”

**Биологически факултет
СУ “Св. Климент Охридски”**

Белтъкът бестрофин-1/ Best1



Функции на Best1:

- Хлорен канал, активиран от вътреклетъчни Ca²⁺ канали
- Инхибитор на вътреклетъчните потенциал-зависими Ca²⁺ канали
- HCO₃⁻ канал
- Участие във функциите на лизозомите
- Участие в регулирането на вътреклетъчното рН
- Участие в правилното развитие на окото
- Участие в глутаматния транспорт

Бестрофинопатии

- Вителиформна макулна дегенерация на Бест (BVMD)



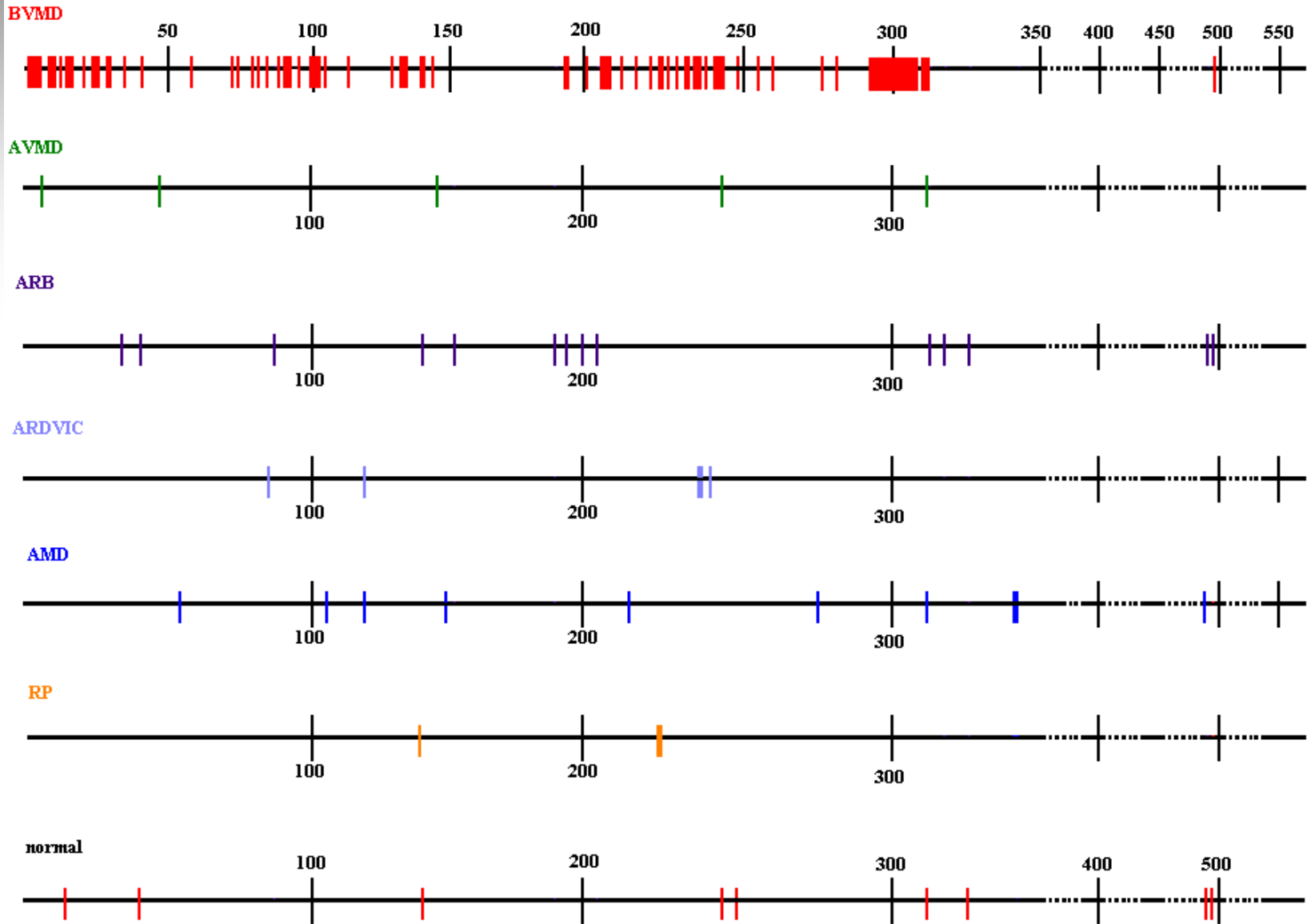
- Къ (A
- Ав
- Ав

ерация

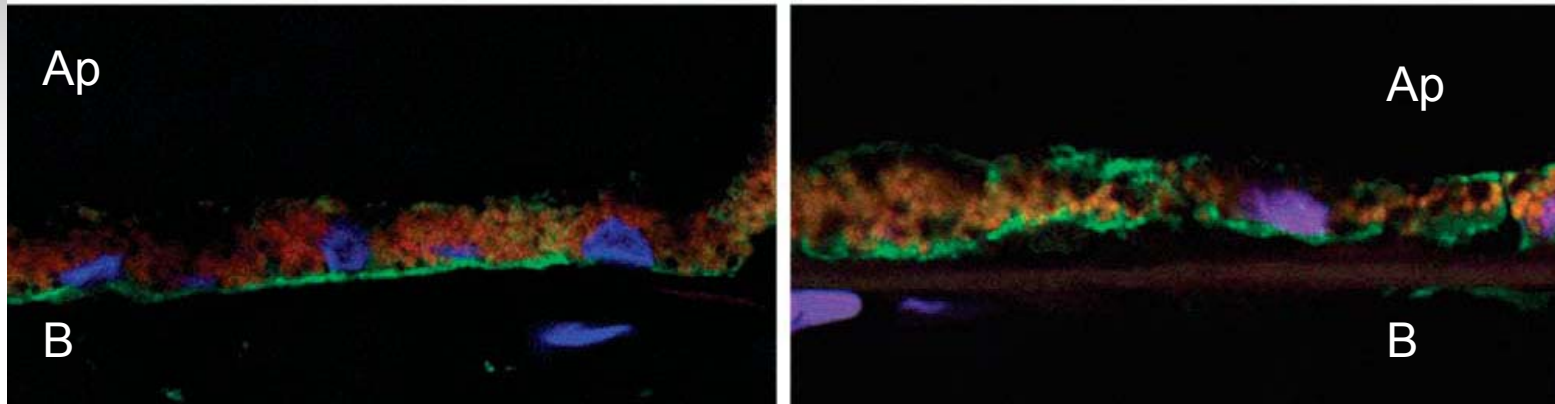
Ав

- възрастово обусловена макулна дегенерация (AMD)
- пигментен ретинит (RP)

Мутации в Best1



Нарушена локализация на Best1

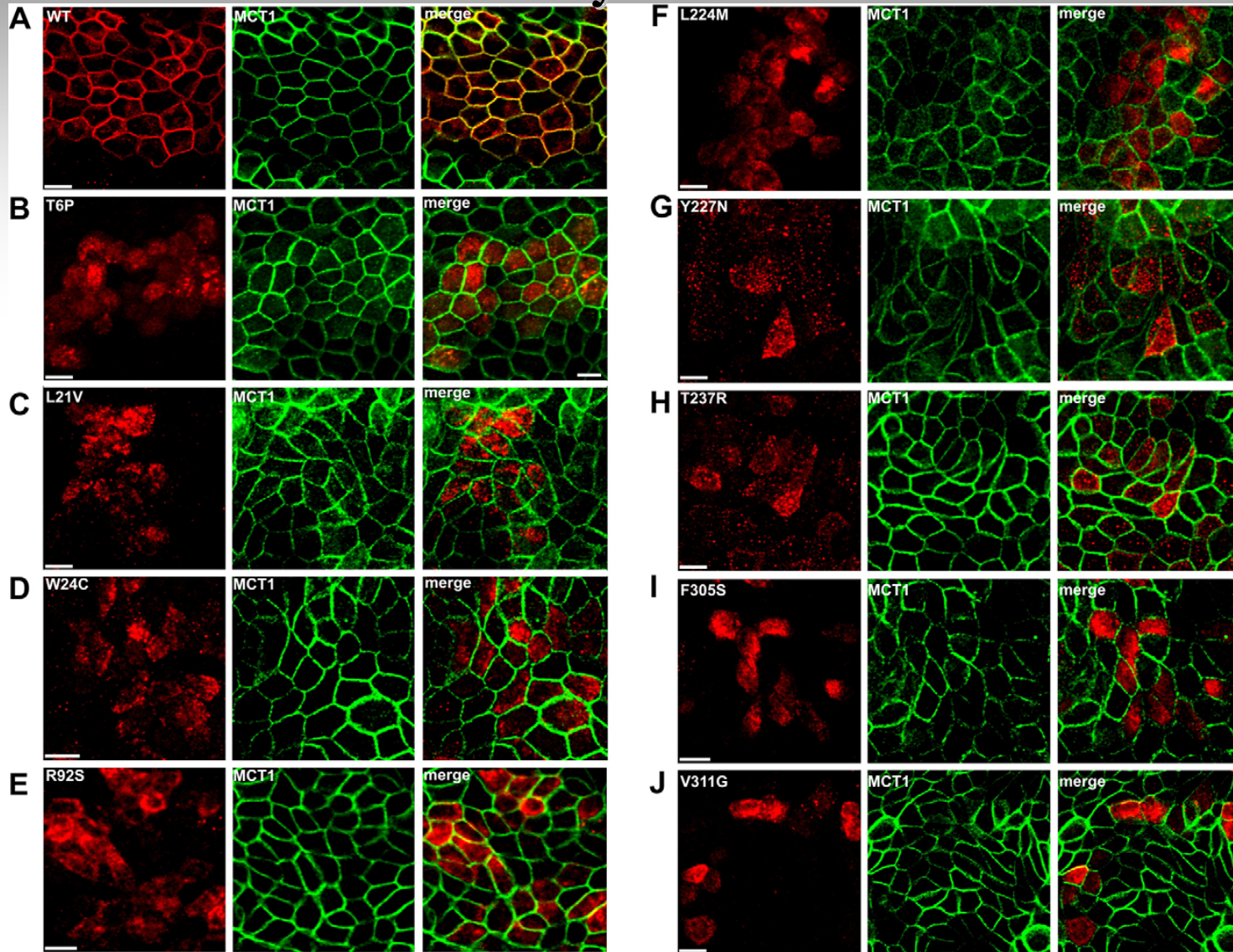


Mullins, Arch ophthalmol, 2005

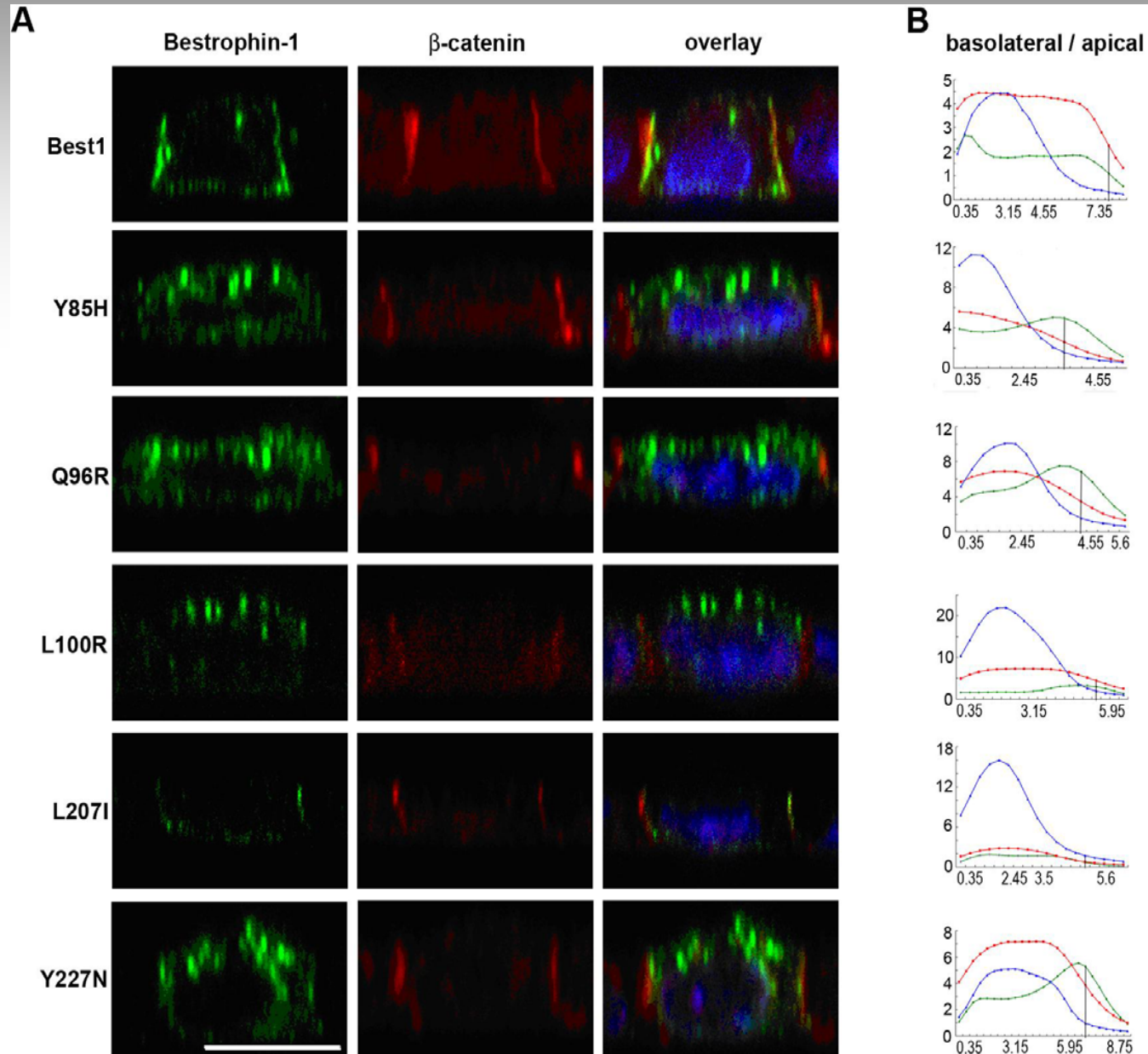
Имунофлуоресцентна локализация на Best1 в хистологичен препарат от ретината на човек, нестрадащ от заболяване на ретината.

Имунофлуоресцентна локализация на Best1Y227N в хистологичен препарат от ретината на 93 годишен мъж, развил БВМД на 75 год. възраст.

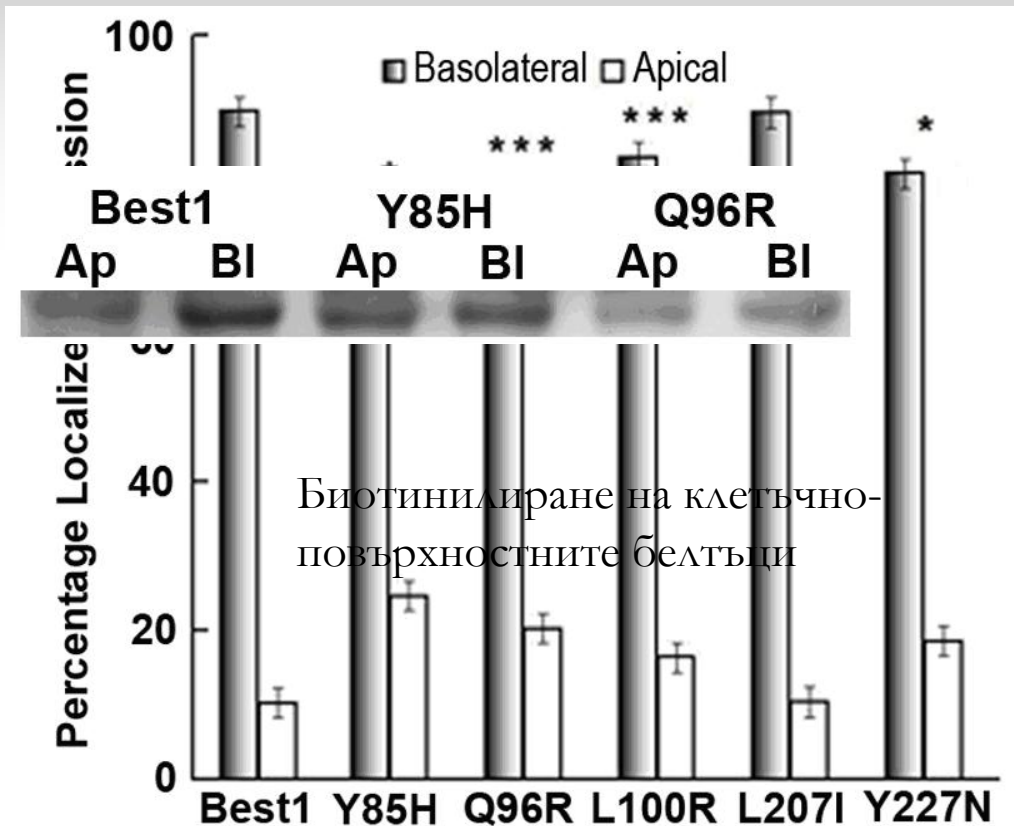
Задържане в цитоплазмата на някои Best1 - мутанти



Влияние на VMD-свързаните мутации в Best1 върху базолатералната локализация на белтъка



Количествено разпределение на Best1 между базолатералния и апикален домен на клетките, преходно трансфектирани с различните мутанти на Best1

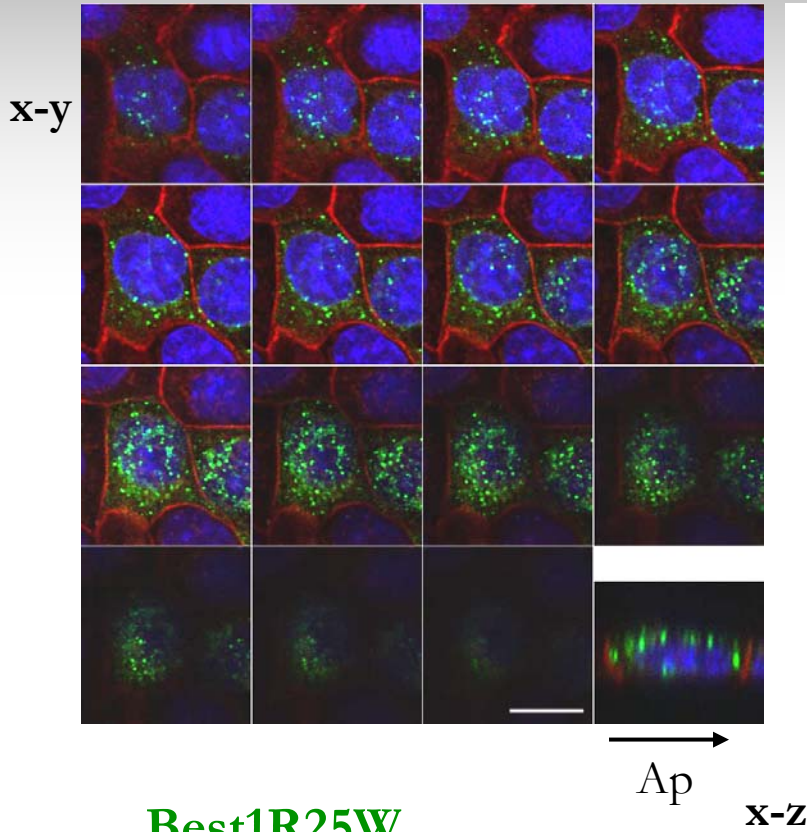


	BL	Ap
Best1	90%	10%
Y85H	75%	25%
Q96R	80%	20%
L100R	84%	16%
L207I	90%	10%
Y227N	81%	19%

mean \pm s.e.m., n = 10, * $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$

Влияние на мутацията R25W, която не е част от потенциален сортиращ мотив, върху клетъчната локализация на Best1

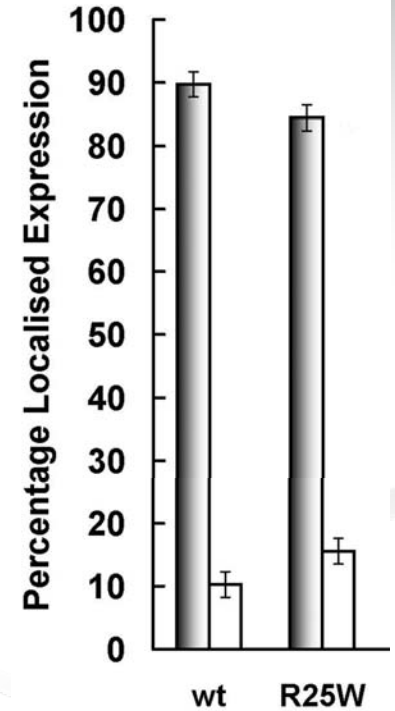
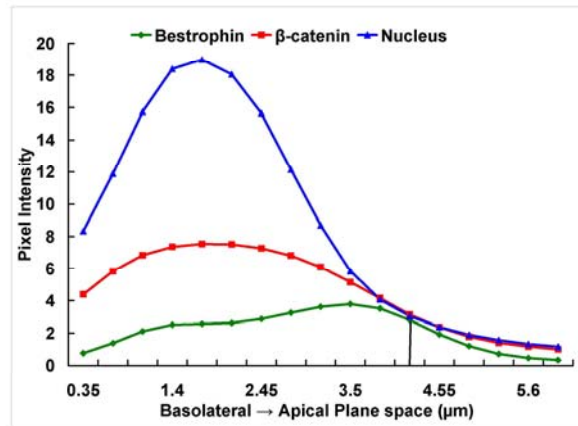
BL →



Best1R25W

β-катенин

Кл. ядра

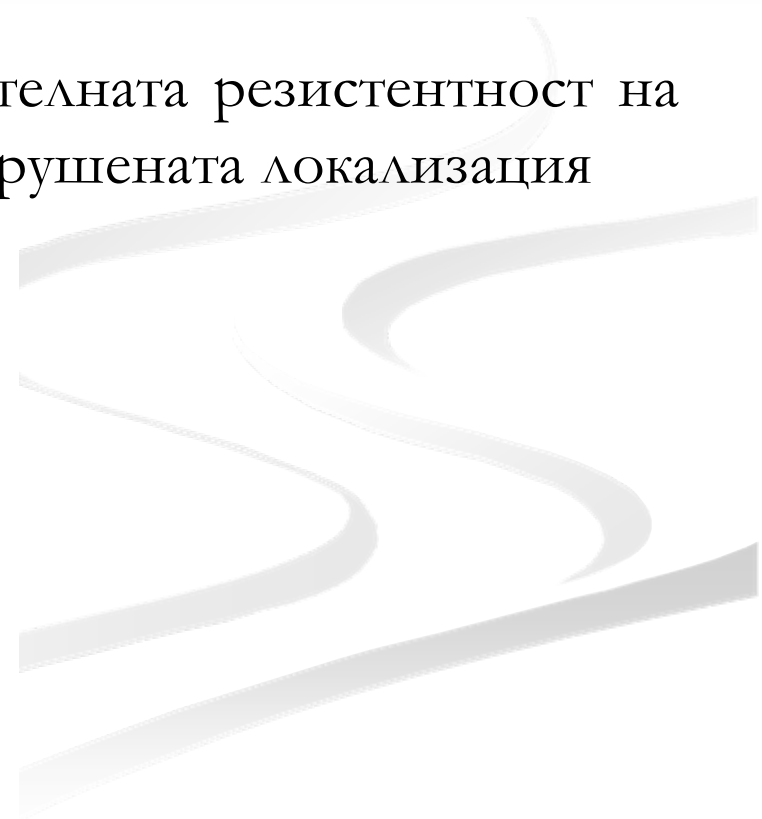
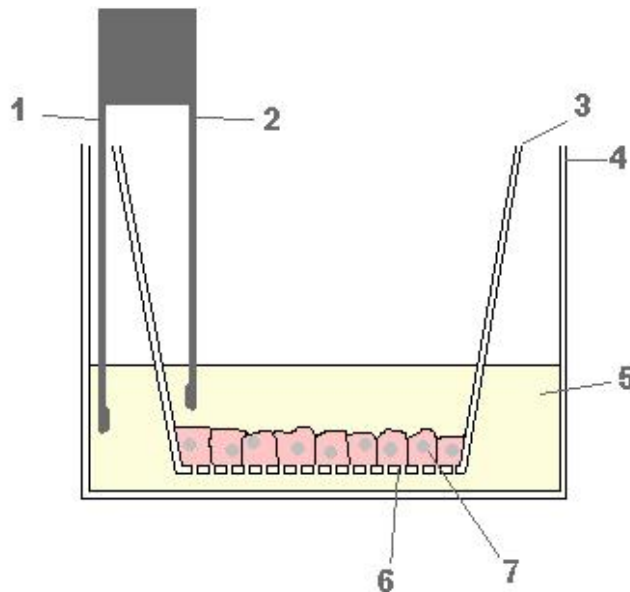


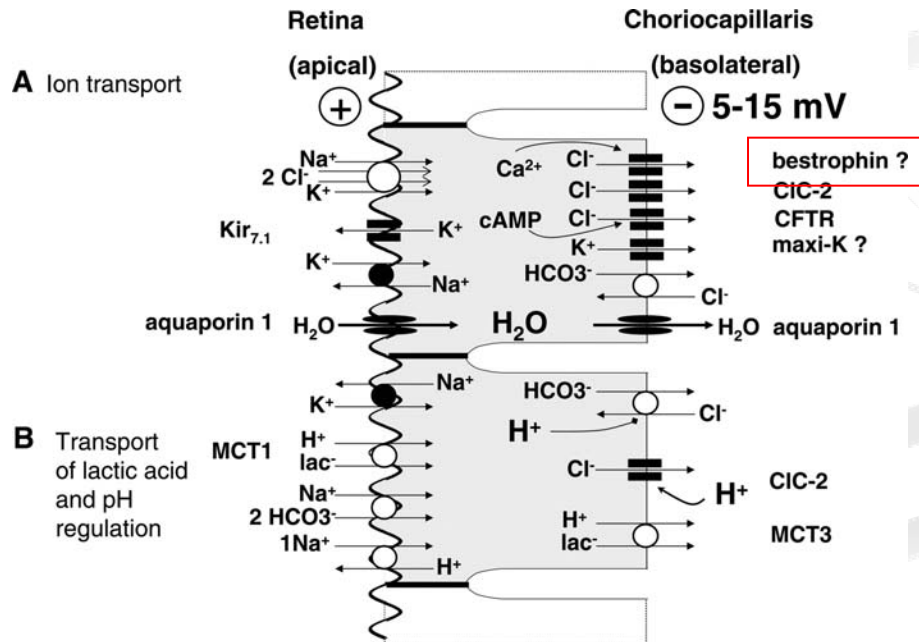
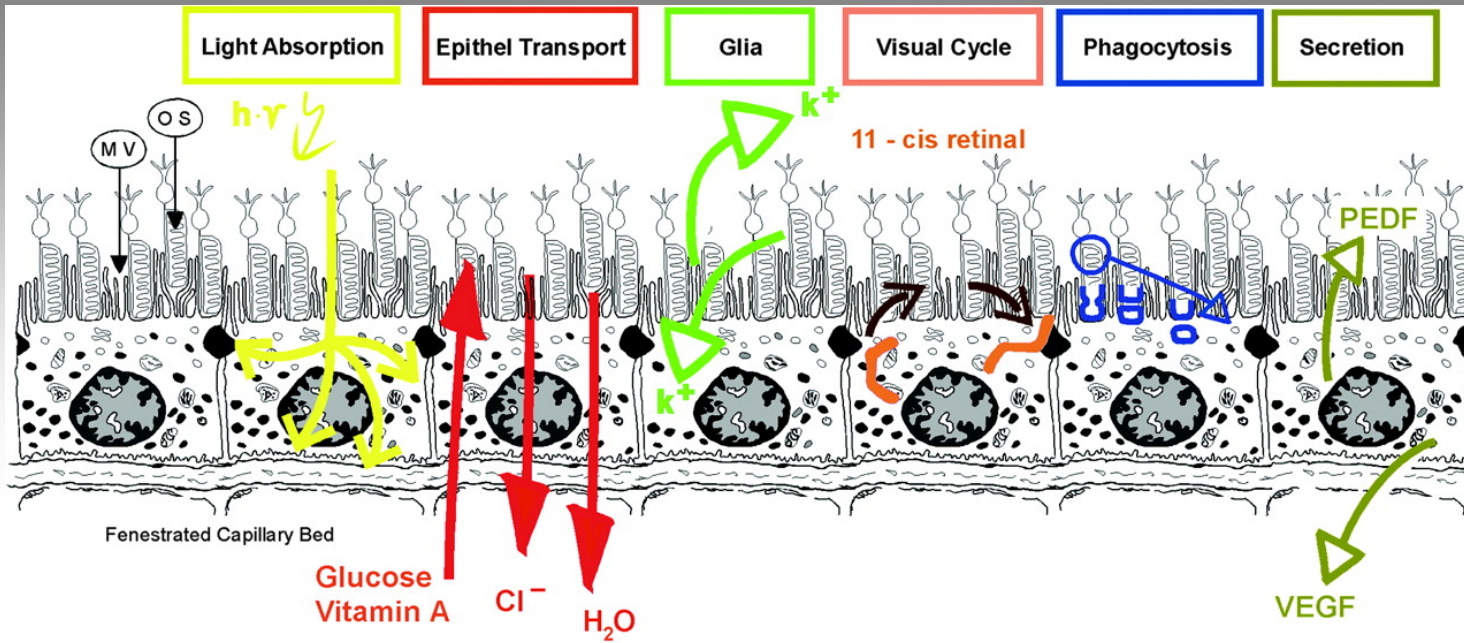
(mean ± s.e.m., n = 10, P < 0.005)

Заключение: Изследваните от нас мутации променят клетъчната локализация на белтъка Best1 при преходна трансфекция в поляризирани клетки от линията MDCK II.

Бъдещи планове:

- създаване на стабилни клетъчни линии, експресиращи тези и други мутантни форми на белтъка Best1
- Създадените клетъчни линии ще бъдат използвани за:
 - изследване на промените в локализацията на Best1, с цел идентифициране на сортиращите мотиви в молекулата на белтъка.
 - изследване на промените в трансепителната резистентност на клетъчния монослой, в резултат на нарушената локализация





- Получените резултати ще дадат информация за механизмите на патогенезата на Вителиформната макулна дегенерация на Бест, предизвикани от изследваните мутации, която би могла да послужи за създаването на нови ефективни терапевтични подходи.

ESF-EMBO Symposium
CELL POLARITY AND MEMBRANE
TRAFFICKING

Polonia Castle Pultusk, Poland, 10.5 - 15.5 2014
(closing date: 9. February 2014)



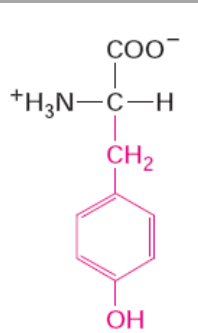
May 03 - 07, 2015
Denver, Colorado

консуматив	производител	цена с ДДС	Количество	общо
anti-Best1 antibody (E6-6)	Novus Biologicals Inc.	1200	2	2400
beta-catenin antibody	Sigma-Aldrich	1200	1	1200
Effectene (transfection kit)	Qiagen	1000	1	1000
transwells (6 wells)	Corning	240	4	960
Fetal calf serum	Sigma-Aldrich	140	2	280
DMEM (high glucose)	Sigma-Aldrich	60	2	120

Благодаря за вниманието!

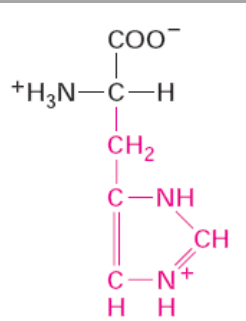
The background features several light gray, wavy, ribbon-like lines that flow from the bottom right towards the center of the slide, creating a sense of movement and depth.

Y85H



Tyrosine
(Tyr or Y)

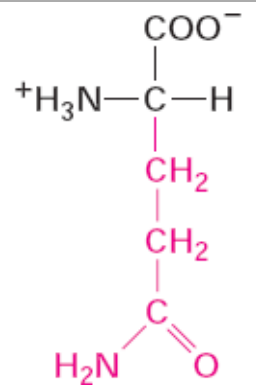
Хидрофобна
АК



Histidine
(His or H)

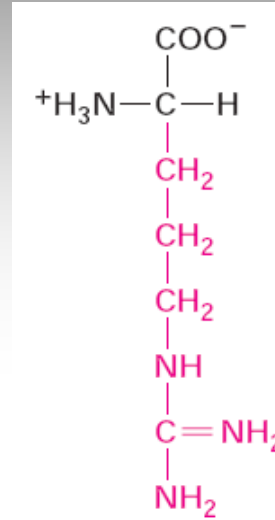
Хифрофилна,
основна
АК

Q96R



Glutamine
(Gln or Q)

Хидрофилна,
полярна,
незаредена
АК

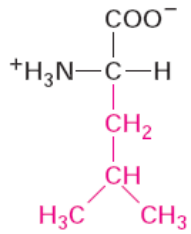


Arginine
(Arg or R)

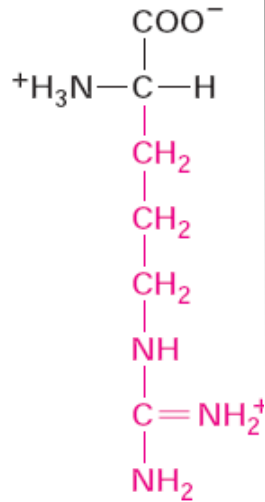
Хидрофилна,
основна АК

L100R

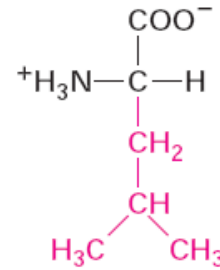
L207I



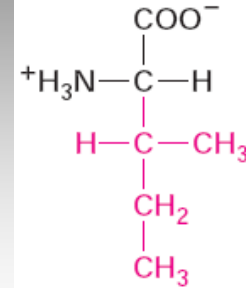
Leucine
(Leu or L)



Arginine
(Arg or R)



Leucine
(Leu or L)



Isoleucine
(Ile or I)

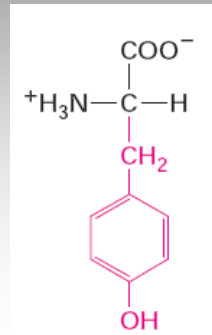
Хидрофобна
АК

Хидрофилна,
основна АК

Хидрофобна
АК

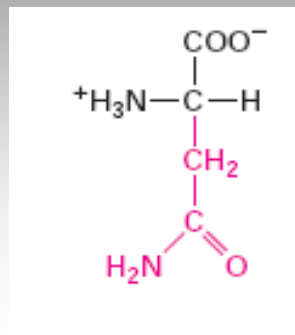
Хидрофобна
АК

Y227N Y227F, Y227E



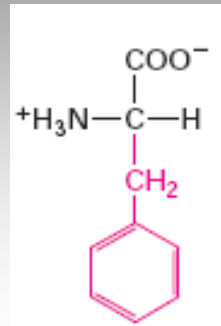
Tyrosine
(Tyr or Y)

Хидрофобна
АК



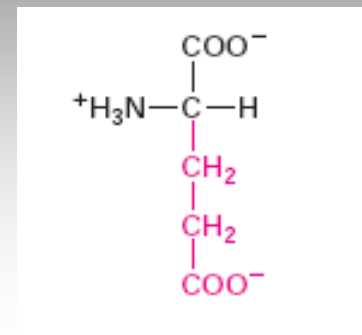
Asparagine
(Asn or N)

Хидрофилна,
полярна,
незаредена
АК



Phenylalanine
(Phe or F)

Хидрофобна
АК



Glutamate
(Glu or E)

Хидрофилна,
кисела АК

Електроокулограма и светлинен пик



Fig. 50. Placement of the electrodes for recording an EOG.

EOG recording of a normal person

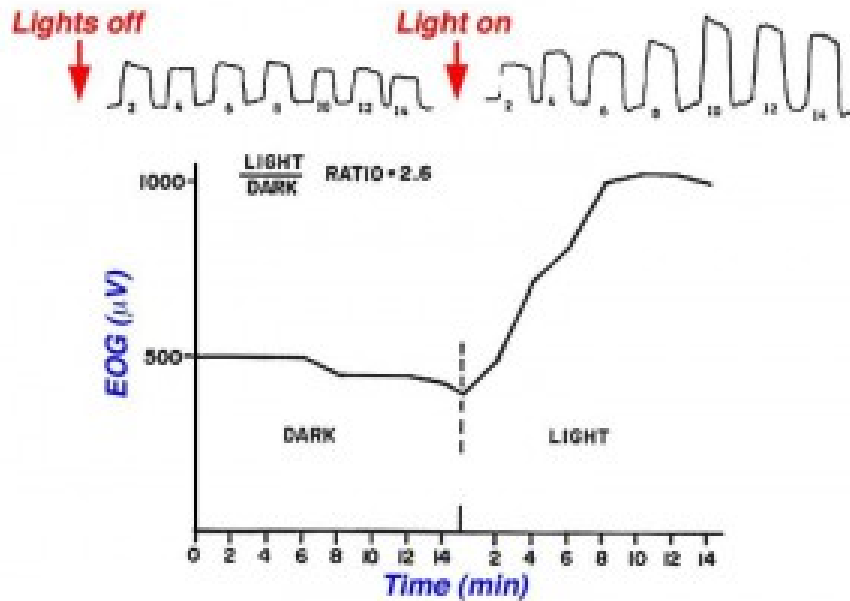


Fig. 54. Normal EOG recording.

EOG in Best's disease

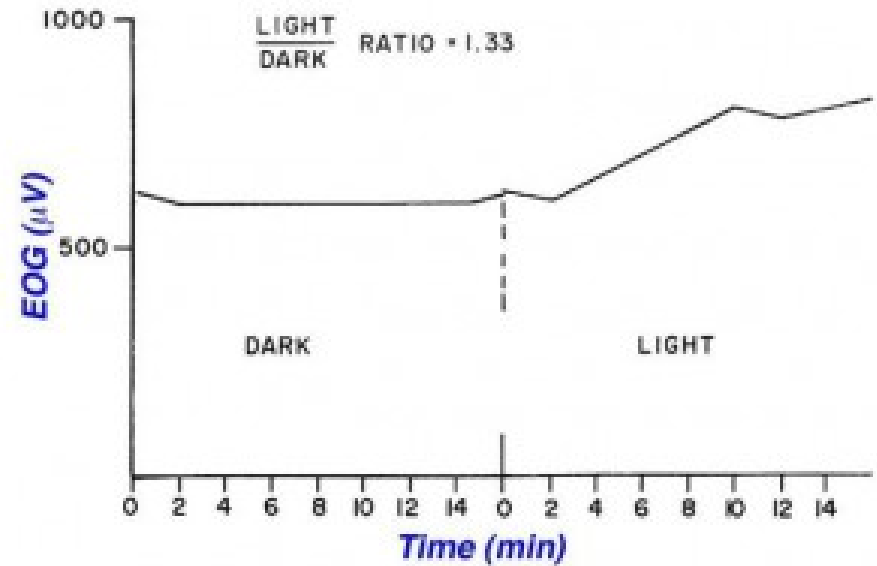
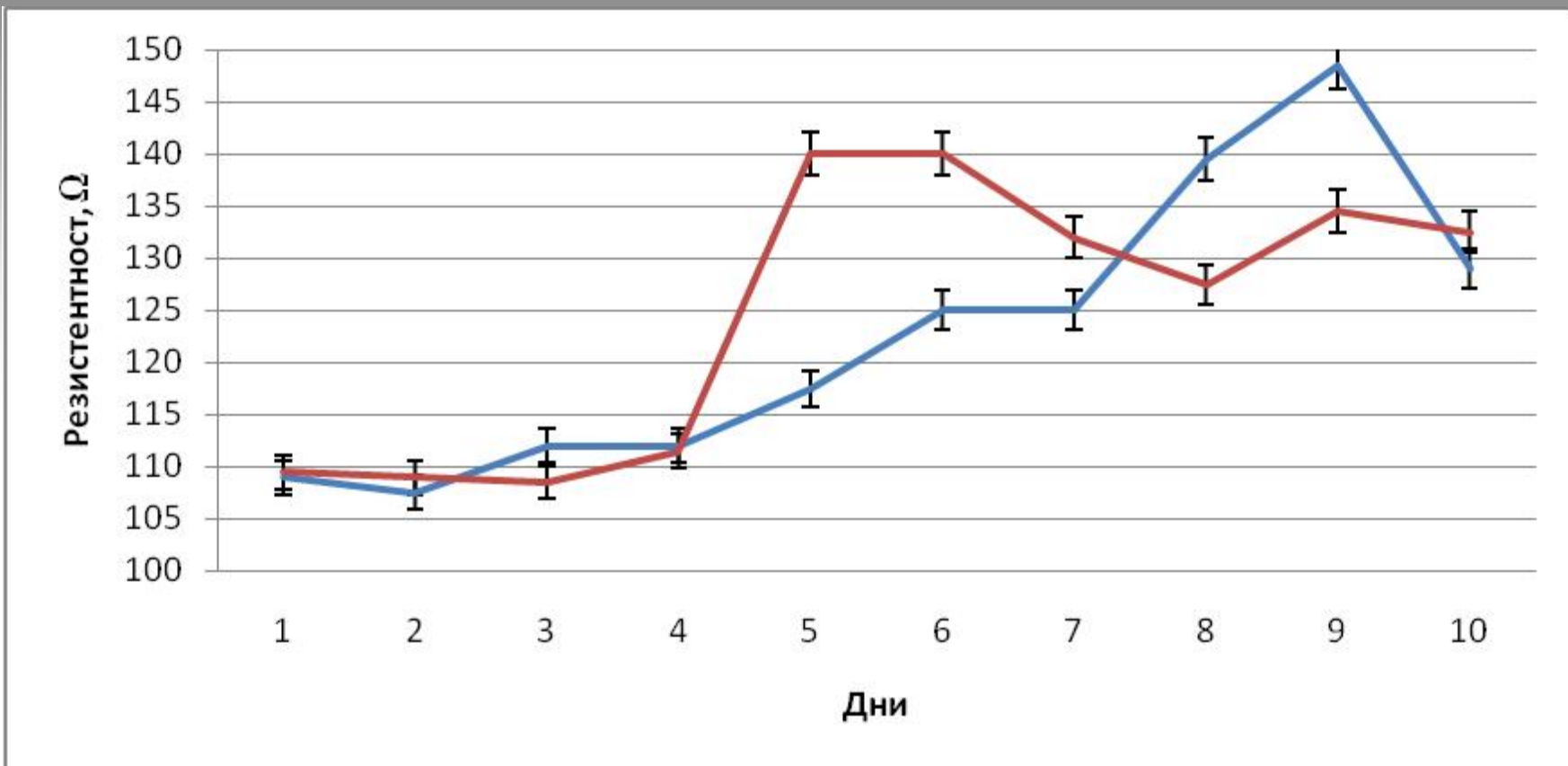


Fig. 55. EOG from a patient with Best's disease.



MDCK II

hBest1 MDCK II

Етапи в развитието на BVMD

