

Az NDST3 heparán szulfát bioszintézis enzim biokémiai vizsgálata

Biochemical analysis of the NDST3 heparan sulfate biosynthesis enzyme

IVÁN Réka Boglárka^{1,2}, Dr. NAGY Gergely Nándor^{1,2}

¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

1111, Budapest, Műegyetem rakpart 3.

<https://abet.vbk.bme.hu/>, rekaivan2@edu.bme.hu

²HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Élettudományi Intézet
1117, Budapest, Magyar Tudósok Körútja 2.

<https://www.ttk.hun-ren.hu/>

ABSTRACT

Heparan sulfates (HS) are linear cell-surface polysaccharides that play essential roles in many biological processes. Their function mainly depends on their diverse sulfate patterns, which result from consecutive but incomplete enzymatic modifications. The N-deacetylase/N-sulfotransferase (NDST) enzymes perform the initial sulfation modifications on HS chains through deacetylation and re-sulfation of glucosamine units. The four human NDST isoenzymes (NDST1-4) create different sulfation patterns, providing the foundation for further HS modifications. NDST3 is a neural tissue-specific isoenzyme with significantly lower sulfotransferase activity compared to NDST1, NDST2, and NDST4; however, the molecular reasons for this difference remain unknown. To explore this enzymatic function, we optimized the recombinant expression and purification of the NDST3 sulfotransferase domain by refining domain boundaries, designing fusion protein constructs, and introducing rationally designed thermostabilizing surface mutations. This experimental system allowed the production of a thermostable and enzymatically active heparan sulfate N-sulfotransferase, offering a means for comparative studies of NDST isoenzymes and a deeper understanding of their roles in HS biosynthesis.

Keywords: Heparan sulfate biosynthesis, NDST, N-sulfotransferase, Protein engineering

ÖSSZEFOGLALÓ

A heparán szulfátok (HS) sejtfelszíni poliszacharidok, melyek számos biológiai folyamatban kulcsfontosságúak. Szerepüket nagymértékben meghatározza változatos szulfát mintázatuk, melynek kialakítását elsőként az N-dezacetiláz/N-szulfotranszferáz (NDST) enzimek végzik a glükózamin egységek módosítása révén. A négy humán NDST izoenzim (NDST1-4) eltérő mintázatokat alakít ki, melyek a további HS módosítások alapjául szolgálnak. Az idegszövetben kifejeződő NDST3 szulfotranszferáz aktivitása alacsonyabb a többi izoenzimhez képest, ennek molekuláris háttere azonban ismeretlen. Az NDST3 N-szulfotranszferáz domén jellemzéséhez fehérjemérnökségi megfontolások alapján *E. coli* expressziós rendszerben fehérje konstrukciókat terveztünk és állítottunk elő. Meghatároztuk az optimális doménhatárokat, fúziós fehérjéket és tisztítási körülményeket, valamint optimalizáltuk a fehérjeexpressziót. Az így előállított fehérje hőstabilitása megfelelő volt, és enzimatis aktivitást mutatott. Eredményeink egy kísérletes rendszert alapoznak meg, amely lehetővé teszi az NDST izoenzim aktivitásának összehasonlító vizsgálatát és szerepük pontosabb megértését a HS bioszintézisben.

Kulcsszavak: Heparán szulfát bioszintézis, NDST, N-szulfotranszferáz, Fehérjemérnökség