

Topic:

Characterization of the interaction between EHD proteins with its novel binding motif by Cryo-EM and immunofluorescence microscopy

題目：

透過 Cryo-EM 及免疫螢光顯微鏡證明 EHD 蛋白與新型的結合模序的相互作用

Abstract :

Phostensin (PTS), encoded by *KIAA1949*, is an EHD-binding protein. Most proteins interact with EHD proteins via the NPF motif. This motif binds to the EH domain of EHD proteins. However, PTS does not contain this NPF motif. Recently, in our lab, we have identified a novel EHD-binding motif, ILV(X)₄LRL in PTS, which binds to the dynamin-like domain of EHD. Mutation of this novel EHD-binding protein disrupts PTS binding to EHD proteins and affects endocytic trafficking of transferrin in 293T cells. Vps35 is the subunit of retromer and also contains this novel EHD-binding motif. In my study, I will explore the interaction between PTS and EHD proteins at the molecular level by using Cryo-EM approaching and examine whether mutation of this novel EHD-binding motif in Vps35 affect its co-localization with EHD4 protein in cells by using immunofluorescence microscopy. All results from my study will allow us to better understand biological function of PTS in regulation of endocytic recycling.

中文摘要：

由 *KIAA1949* 編碼的 Phostensin (PTS) 是一種 EHD 結合蛋白。而大多數蛋白質都是透過 NPF 模序與 EHD 蛋白相互作用。該模序會與 EHD 蛋白的 EH 結構域結合。但是 PTS 不含有此 NPF 模序。最近在我們的實驗室中，發現了一種新的 EHD 結合模序，即 PTS 中的 ILV(X)₄LRL，它與 EHD 的類似動力蛋白結構域結合。突變這種新型 EHD 結合模序會破壞 PTS 與 EHD 蛋白的結合，並影響 293T 細胞中轉鐵蛋白的胞吞運輸。Vps35 是逆向異構物的次單元，它也含有這種新的 EHD 結合模序。在我的研究中，我將透過 Cryo-EM 在分子層次上探討 PTS 和 EHD 蛋白之間的相互作用，並使用免疫螢光顯微鏡觀察 Vps35 中這種新型的 EHD 結合模序的突變是否影響其與 EHD4 蛋白在細胞中的共定位。我研究的所有結果將使我們更好地了解 PTS 在調節內吞循環方面的生物學功能。