

KIEMELKEDŐ EREDMÉNYEK

MTA TTK ENZIMOLÓGIAI INTÉZET

Jelátviteli és Funkcionális Genomika Kutatócsoport

A tirozin kinázokkal működő jelátviteli pályák fontos szerepet játszanak a sejtek életében, ugyanis szabályozhatják azok osztódását vagy mozgását, de az idegrendszer fejlődésében és működésében is meghatározóak. Ezen pályák sérülése igen gyakran vezet népbetegségek kialakulásához, mint ezt a rosszindulatú daganatok esetében láthatjuk. Nemrégiben kimutattuk, hogy a Tks4 állvány fehérje szerepet játszik az EGF jelátvitelben, ugyanis aktivált sejtekben komplexet képez az EGF receptorral és tirozin oldalláncokon foszforilálódik. Megállapítottuk továbbá, hogy HeLa sejtekben a Tks4 fehérje mennyiségének csökkentése - siRNS technikával - a sejtek mozgásának gátlásához vezet. Elkészítettük a Tks4 génhiányos egeret, mely súlyos fejlődési rendellenességeket mutat. Jelenleg intenzíven vizsgáljuk, hogy a fehérje hiánya miért vezet a drámai morfológiai kárhoz.

Publikációk

Lányi A, Baráth M, Péterfi Z, Bögel G, Orient A, Simon T, Petrovszki E, Kis-Tóth K, Sirokmány G, Rajnavölgyi E, Terhorst C, Buday L and Geiszt M (2011) The Homolog of the Five SH3-Domain Protein (HOF1/SH3PXD2B) Regulates Lamellipodia Formation and Cell Spreading. PLoS ONE 6, e23653

Bogel G, Gujdar A, Geiszt M, Lanyi A, Fekete A, Sipeki S, Downward J and Buday L, Frank-ter Haar syndrome protein Tks4 regulates EGF-dependent cell migration. J Biol Chem, 2012, 287(37):31321-9

Anna Fekete, Gábor Bögel, Szabolcs Pesti, Zalán Péterfi, Miklós Geiszt and László Buday, EGF regulates tyrosine phosphorylation and membrane-translocation of the scaffold protein Tks5, J Molecular Signaling, 2013, 8(1):8

Fehérjeszerkezet Kutatócsoport

A fehérjeszerkezet kutató Kutatócsoport által az utóbbi években közölt legfontosabb cikkek a rendezetlen fehérje szegmensek makromolekuláris kölcsönhatásairól valamint transzmembrán fehérjék topológia vizsgálatáról számolnak be. A legnagyobb visszhangot kiváltó cikkek a rendezetlen fehérje szakaszok fehérjekötő helyeinek becslésére szolgáló algoritmus, az algoritmusra épülő szerver, a ANCHOR megalkotása, a becslő módszer alkalmazásai, a fehérje kötésben résztvevő motívumok, illetve fontos adatbázisok, a PDBTM, a TOPDB a TOPDOM a létrehozásáról szólnak. A cikkek jelentős része a bioinformatika legrangosabb folyóirataiban: Bioinformatics, Brief > Bioinf., PLoS Comput. Biol. valamint rangos, 8 feletti impakt faktorú, interdiszciplináris folyóiratokban: Nat. Chem. Biol., TiBS, PNAS, JACS, NAR jelentek meg.

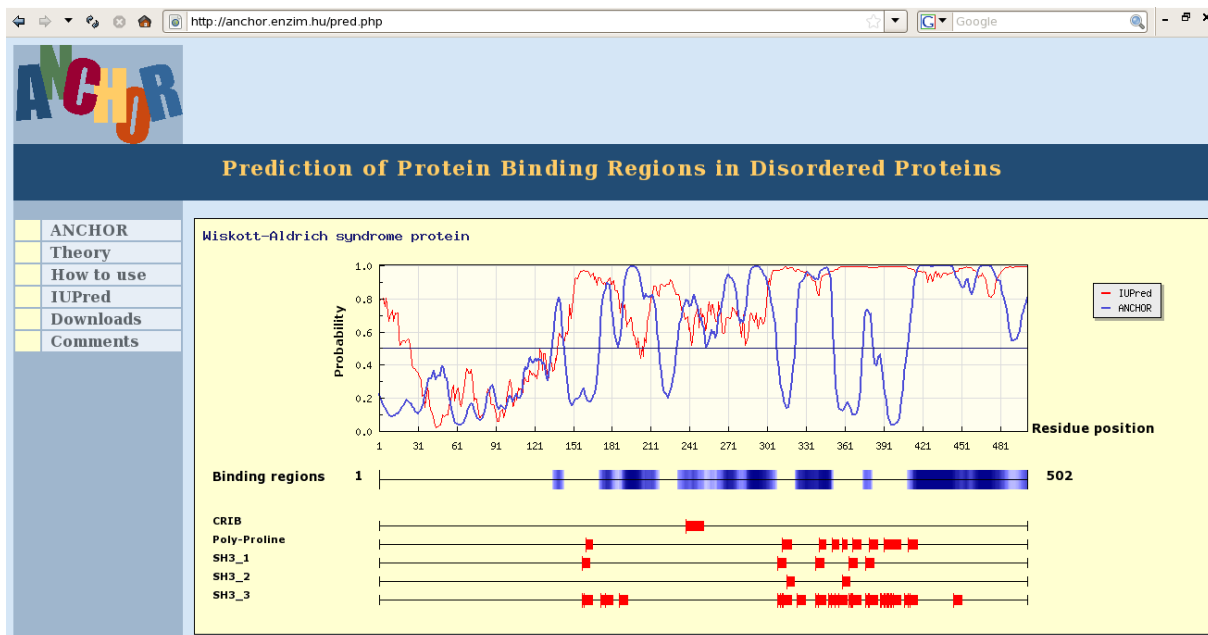


Figure: Screenshot of the ANCHOR web server run for the human Wiskott-Aldrich syndrome protein.

Sejtarchitektúra Kutatócsoport

A **központi idegrendszeri** (CNS) megbetegedések jelentős szociális és gazdasági problémaként jelentkeznek napjainkban, melynek oka, hogy a társadalom előregedésével egyre több embert érintenek, korai stádiumban nem diagnosztizálhatók és terápiás kezelésük sem megoldott. E betegségek jelentős csoportját képezik az ún. **konformációs** betegségek, mint pl. a Parkinson- (PD) vagy Alzheimer-kór (AD), valamint a sclerosis multiplex, egy ún. demyelinizációs betegség. Nyilvánvaló tehát, hogy e betegségek patomechanizmusának megismerése a modern kutatások egyik fontos feladata. A **Sejt Architektúra** kutatócsoport egy olyan agy-specifikus fehérjét azonosított, melynek atomi-, molekuláris-, sejtszintű valamint humán agyszöveti vizsgálatai jelentős mértékben hozzájárulnak a fentiekben leírt problémák kezeléséhez, új gyógyszertervezési stratégiák kidolgozásához.

Az izolált és rekombináns technikával előállított fehérjét, melyet *in vitro* funkciója és molekulatömege alapján a csoport **Tubulin Polymerization Promoting Protein**-nek (TPPP/p25) nevezett el molekuláris szinten jellemezték. A fehérje középső flexibilis *core* régióját (130 aa) két szerkezet nélküli szegmens (45/44 aa) határolja; a flexibilis régió tartalmaz fiziológiás (cink, GTP) valamint patológiás (α -synuclein, β -amyloid) kölcsönhatások szempontjából fontos kötődőmódot. A fehérje normál agyban elsődlegesen oligodendrocitákban (OLG) fordul elő; a TPPP/p25 optimális szintű kifejeződése elengedhetetlen az OLG-k differenciációjához, érési folyamatához, ami az axonokat körülölelő myelin hüvely felépüléséhez nélkülözhetetlen. A myelin hüvely károsodásával járó **sclerosis multiplex** kialakulása során megváltozik a fehérje szintje, a liquorban megemelkedett TPPP/p25 szint biomarkerként szolgálhat a betegség korai diagnosztizálásához.

A normál agy működéséhez a TPPP/p25 szint finom hangolása szükségeltetik, melyben poszt-transzkripció szinten specifikus microRNS (miR206), míg fehérje szinten a proteozóma rendszer vesz aktívan részt. A TPPP/p25 nem-fiziológiás szintje különböző CNS betegségek kialakulását fémjelzi, melyet a fiziológiás funkciókkal együtt az alábbi séma foglal össze (lásd. séma).

A **”neomorphic moonlighting”** fehérjék eltérő funkciót fejtenek ki fiziológiás és patológiás körülmények között: így pl. a TPPP/p25 fiziológiásan a mikrotubuláris rendszer dinamikáját és stabilitását szabályozza; azonban synucleinopátiák esetén felhalmozódik ko-lokalizálva az α -synucleinnel a zárványtestekben, mely a neuronok (PD), illetve az OLG-k (Multiple System Atrophy) pusztulásához vezet, ugyanakkor glióma esetén az OLG-kban nem mutatható ki TPPP/p25. Kulcsfeladat gyógyszercélpont validálása anti-Parkinson molekula (pl. *peptidomimetic foldamer*) kifejlesztése céljából.

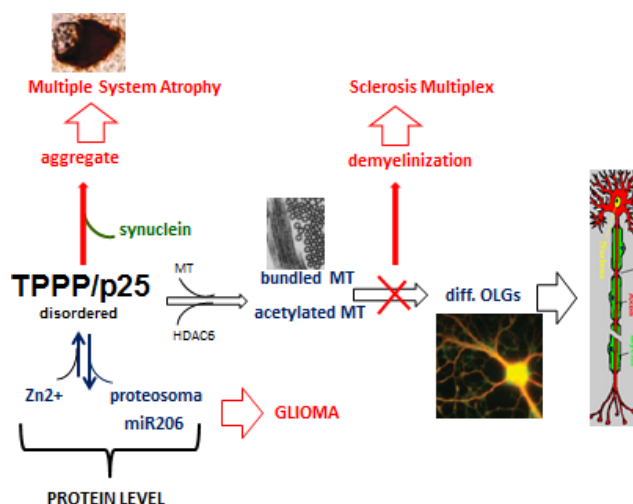
Publikációk

Ovádi J. Special issue Moonlighting proteins in neurological disorders. IUBMB Life (2011) 63, 453-456

Lehotzky et al. TPPP/p25 is critical for oligodendrocyte differentiation. Glia (2010) 58, 157-168

Oláh et al. Interactions of pathological hallmark proteins: TPPP/p25, α -amyloid and α -synuclein. J Biol Chem. (2011) 286, 34088-34100

Tökési et al. Identification of motives mediating alternative functions of the neomorphic moonlighting TPPP/p25. BBA-Molecular Basis of Disease (2014) 1842, 547–557



Aktív Transzportfehérjék Kutatócsoport

Az artériák meszesedése a populáció nagyon nagy hányadát érintő kórkép. Kialakulásában genetikai és környezeti faktorok egyaránt fontos szerepet játszanak. A májban jelen lévő ABCC6 fehérje csökkent működése két olyan genetikai betegséget okoz, amelyek az artériák fokozott és korai meszesedésére vezethetők vissza, sőt a tünetek más szervekben (szem, bőr, ízületek) is jelentkeznek. A fehérjét kódoló gén tehát egyike azoknak a genetikai tényezőknek, amelyek a fenti kóros folyamatokban fontos szerepet játszanak. Azonban a fehérje működése és az érfali meszesedés kapcsolata nem ismert. A kutatás első lépése az, hogy megállapítsuk, a fehérje a májsejtekben pontosan hol helyezkedik el. Eredményeink alapján egy hosszabb polémia végére sikerült megnyugtatóan pontot tenni: egér és emberi máj-mintákat valamint egér májából nyert élő sejteket tanulmányozva megállapítottuk, hogy az ABCC6 fehérje a sejtet borító (plazma) membránban helyezkedik el, a sejtek szinuszoid oldalán, és feltételezett funkcióját a véráramba történő anyagtovábbítással látja el. Ez az eredmény alapozza meg a csoportunkban folyó további munkát: olyan gyógyszeres beavatkozási eljárást dolgozunk ki, amely a betegséget okozó hibás

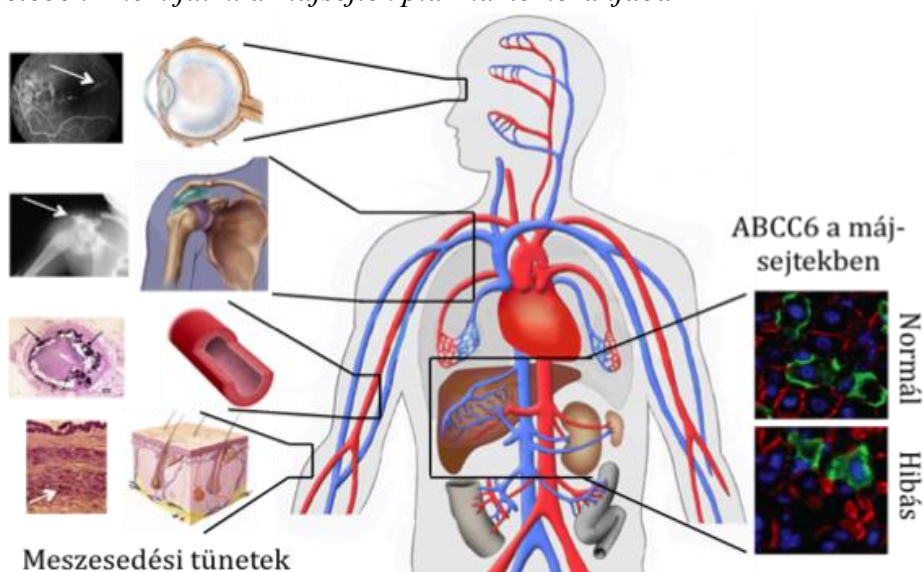
ABCC6 fehérjemolekuláknak segít abban, hogy kijussanak a plazmamembránba. Előzetes, különféle állatmodellekben elért eredményeink ennek az elgondolásnak az érvényességét igazolják.

Publikációk

Pomozi V, Le Saux O, Brampton CN, Apana A, Iliás A, Szeri F, Martin L, Monostory K, Paku S, Sarkadi B, Szakács G, Váradi A: ABCC6 is a basolateral plasma membrane protein. *Circ Res*, **112**:e148-51 (2013)

Pomozi V, Brampton CN, Fülöp K, Chen LH, Apana AL, Li Q, Uitto J, Le Saux O, Váradi A: Analysis of Pseudoxanthoma Elasticum-Causing Missense Mutants of ABCC6 in vivo; Pharmacological Correction of the Mislocalized Proteins. *J Invest Dermatol*. **134**(4):946-53 (2014)

1. ábra: Az egész szervezetet érintő kóros meszesedés, amikor az ABCC6 fehérje - bizonyos öröklődő betegségek esetében - nem jut ki a májsejtek plazmamembránjába



Jelátviteli és Funkcionális Genomika Kutatócsoport

A WFIKKN1 és WFIKKN2 fehérjék funkciója és orvosi biológiai jelentősége

A human genom bioinformatikai elemzésével két, egymással nagyfokú hasonlóságot mutató fehérjét azonosítottunk. A WFIKKN1 és WFIKKN2 fehérjék doménszerkezete azonos és molekuláris kölcsönhatásaik kialakításában is nagyon hasonlóan viselkednek: mindkét fehérje köti a TGF β növekedési faktor család több tagját és hatékony inhibitorai a miosztatin/GDF8-nak és GDF11-nek.

Publikációk

Trexler M, Bányai L. and Patthy L. (2001) A human protein containing multiple types of protease inhibitory modules. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98: 3705-3709

Trexler M, Banyai L, Patthy L.(2002) Distinct expression pattern of two related human proteins containing multiple types of protease-inhibitory modules. *Biol. Chem.* 383: 223-228

Kondás K, Szláma G, Trexler M, Patthy L.(2008) Both WFIKKN1 and WFIKKN2 have high affinity for growth and differentiation factors 8 and 11. *J Biol Chem.* 283:23677-84.

Szláma G, Kondás K, Trexler M, Patthy L.(2010) WFIKKN1 and WFIKKN2 bind growth factors TGF β 1, BMP2 and BMP4 but do not inhibit their signalling activity. *FEBS J.* 277:5040-50.
Kondás K, Szláma G, Nagy A, Trexler M, Patthy L.(2011) Biological functions of the WAP domain containing multidomain proteins WFIKKN1 and WFIKKN2. *Biochem Soc Trans.* 39:1416-20
Szláma G, Trexler M, Patthy L (2013) Latent myostatin has significant activity and this activity is controlled more efficiently by WFIKKN1 than by WFIKKN2. *FEBS J.* 280:3822-39.

A miosztatin/GDF8 gátolja az izomnövekedést a GDF11 pedig a csontváz és idegrendszer fejlődésében játszik szerepet. A miosztatin aktivitásának gátlása az izomtömeg és izomteljesítmény növekedését eredményezi, ezért az antimiosztatikus aktivitású vegyületeknek/fehérjéknek a különböző okokból bekövetkező legyengülések, izomtömeg csökkenések kezelésében lehet szerepük: a Duchenne izomdisztrófia modelljének tekintett mdx egerekben a miosztatin aktivitásának gátlása az izomtömeg növekedését és a teljesítmény emelkedését okozta. Izomgyengeség és az izomtömeg csökkenése nemcsak a különböző izomdisztrófiák esetében fordul elő, hanem kísérő tünete gyakori krónikus betegségeknek, pl. vese elégtelenség, rák, AIDS, COPD és kísérője a normál öregedésnek is. A miosztatin gátlása - az izomnövekedés mellett – a zsírlakódást csökkenti, így a miosztatin az elhízás elleni küzdelem célpontja is lehet. Gyógyászati jelentőségük miatt tisztázzuk a WFIKKN fehérjék antimiosztatikus és antiGDF11 aktivitásának szerkezeti alapjait és – az Országos Onkológiai Intézet kutatóival együttműködésben – vizsgáljuk a fehérjék hatását normál és tumor okozta izomvesztésben szenvedő egerek izomzatára. Ezek a vizsgálatok nem csak a miosztatin és GDF11 szabályozására vonatkozó ismereteinket bővítik, hanem lényegesen hozzájárulhatnak új terápiás eljárások és gyógyszerek kifejlesztéséhez is.

Molekuláris Sejtbiológiai Kutatócsoport

A Molekuláris Sejtbiológiai Kutatócsoport kutatási területe a membrántranszporterek (ABC fehérjék és kalcium transzporterek) biokémia és sejtbiológiai vizsgálata, valamint a humán pluripotens őssejtek jellemzése és modellrendszerekben történő felhasználásának lehetőségeinek vizsgálata. Legújabb kutatásiak eredményeként feltárták a májsejtekben meghatározó szerepet játszó ABC transzporterek sejten belüli mozgását és az ezt irányító szabályozó mechanizmusokat. Az őssejtkutatás területén létrehoztak olyan humán embrionális őssejtvonalakat, amelyek stabilan kifejeznek egy kalcium-érzékeny zöld fluoreszcens fehérjét, a GCaMP2-t. Ez a kalcium-szenzor nemcsak az őssejtek kalcium homeosztázisának direkt tanulmányozását teszi lehetővé, hanem ezekből a transzformált őssejtekből spontán vagy irányított differenciáció révén előállíthatók olyan leánysejtek (pl. szívmusclesejtek vagy idegsejtek), melyekben a kalcium szint változása közvetlenül detektálható.

Publikációk

Apáti Á et al. Characterization of calcium signals in human embryonic stem cells and in their differentiated offspring by a stably integrated calcium indicator protein. *Cell Signal.* 2013;25(4):752-9.
Apáti Á. et al. Calcium signaling in pluripotent stem cells. *Mol Cell Endocrinol.* (2012) 353(1-2):57-67.
Erdei Z et al. Expression pattern of the human ABC transporters in pluripotent embryonic stem cells and in their derivatives. *Cytometry B Clin Cytom.* 2014 [Epub ahead of print]

- Homolya et al. LKB1/AMPK and PKA Control ABCB11 Trafficking and Polarization in Hepatocytes. PLoS One. (2014); 9(3):e91921
- Penniston JT et al. Apart from its known function, the plasma membrane Ca²⁺-ATPase can regulate Ca²⁺ signaling by controlling phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate levels. J Cell Sci. (2014) Jan 1;127(Pt 1):72-84.
- Péntek et al. Analysis of intracellular calcium signaling in human embryonic stem cells. Methods in Molecular Biology 2014 [Epub ahead of print]
- Varga K et al. Histone deacetylase inhibitor- and PMA-induced upregulation of PMCA4b enhances Ca²⁺ clearance from MCF-7 breast cancer cells. Cell Calcium. 2014; 55(2):78-92.

Rendezetlen Fehérje Kutatócsoport

Rendezetlen szerkezetű fehérjék funkciójának feltárására

A klasszikus szerkezet-funkció paradigma szerint a fehérjék funkciójához jól definiált térszerkezetre van szükség. Az közelmúlt megfigyelési azonban arra figyelmeztetnek, hogy ez az összefüggés nem általános, bizonyos fehérjék natív körülmények között sem rendelkeznek kitüntetett térszerkezettel. Kutatócsoport elsőik között bizonyította, hogy a fehérjék szerkezetében található rendezetlen szakaszok nagyon fontos szerepet játszanak a fehérjék működésében. Rámutatott, hogy rendezetlen fehérjék nagy száma és funkcionális fontossága a szerkezet-funkció paradigma újragondolását igényli.

Publikációk

- Tompa P. The interplay between structure and function in intrinsically unstructured proteins. FEBS Lett. 2005 Jun 13;579(15):3346-54.
- Tompa P, Szász C, Buday L. Structural disorder throws new light on moonlighting. Trends Biochem Sci. 2005 Sep;30(9):484-9
- Tompa P, Fuxreiter M Fuzzy complexes: polymorphism and structural disorder in protein-protein interactions. Trends Biochem Sci. 2008 Jan;33(1):2-8
- Tompa P. On the supertertiary structure of proteins. Nat Chem Biol. 2012 Jun 18;8(7):597-600

A rendezetlen fehérjék funkcionális evolúciója

A harmadlagos szerkezettel rendelkező globuláris fehérjék evolúciójáról igen jelentős ismeretanyaggal rendelkezünk. A nemrégiben felfedezett, felismert rendezetlen fehérjék evolúciós kialakulásának, változásának megismerése azonban egy új kihívás mind a szerkezetbiológia, mind a bioinformatika számára. Az MTA TTK Enzimológiai Intézetének Rendezetlen Fehérje Kutatócsoportja évek óta kutatja ezt a területet, több nemzetközi publikáció kötődik a területhez. Jelenlegi munkáikban a rendezetlen fehérjék evolúciós változásainak alapjait, illetve a törzsfejlődés minden szintjén megjelenő funkcionális rendezetlenséget kutatják.

Publikációk

- Kovacs E, Tompa P, Liliom K, Kalmar L. Dual coding in alternative reading frames correlates with intrinsic protein disorder. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Mar 23;107(12):5429-34.
- Burra PV, Kalmar L, Tompa P. Reduction in structural disorder and functional complexity in the thermal adaptation of prokaryotes. PLoS One. 2010 Aug 11;5(8):e12069.

Tompa P, Kalmar L. Power law distribution defines structural disorder as a structural element directly linked with function. *J Mol Biol.* 2010 Oct 29;403(3):346-50.

Kalmar L, Homola D, Varga G, Tompa P. Structural disorder in proteins brings order to crystal growth in biomineralization. *Bone.* 2012 Sep;51(3):528-34.

Kalmar L, Acs V, Silhavy D, Tompa P. Long-range interactions in nonsense-mediated mRNA decay are mediated by intrinsically disordered protein regions. *J Mol Biol.* 2012 Dec 7;424(3-4):125-31.

Schad E, Kalmar L and Tompa P. Exon-phase symmetry and intrinsic structural disorder promote modular evolution in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2013 Apr;41(8):4409-22.

Biokémiai Farmakológiai Kutatócsoport



Egyéni szervezet - egyéni kezelés CYPtest™ –a gyógyszer-metabolizáló képesség becslése

A Metabolikus Gyógyszer-kölcsönhatások csoport, valamint a Semmelweis Egyetem, Transzplantációs és Sebészeti Klinikájának munkatársai az egyéni gyógyszer-metabolizáló kapacitás aktuális állapotának becslésére egy többlépcsős diagnosztikai rendszert dolgoztak ki, amelynek ismerete, valamint a potenciális gyógyszer-kölcsönhatások előrejelzése meghatározó információt jelent a kezelő orvos számára és kijelöli a gyógyszeres terápia korlátait. A gyógyszerlebontó képességet elsősorban a májban lévő citokróm P450 (CYP) enzimek mennyisége és aktivitása határozza meg, amely nagyban befolyásolhatja egy adott gyógyszer hatékonyságát és esetleges toxicitását. A humán populációban a méregtelenítésért felelős enzimmészleten belül mutatózó egyedi eltérések gyakran genetikai hibákra vezethetők vissza. A génhiba csökkent működő képességű, vagy teljesen működésképtelen enzimet, esetleg enzimhiányt idézhet elő. Ennek eredményeként az adott beteg gyógyszer-metabolizáló képessége gyengébb lesz. Az aktuális CYP enzimszintet a genetikai különbségeken felül külső (táplálkozás, gyógyszeres kezelés) és belső (kor, nem, betegségek) tényezők módosítják, azaz a gyógyszerlebontó képesség időről időre változik. A CYP-génhibával rendelkező személyek egész életre szóló csökkent gyógyszerlebontó képességgel rendelkeznek, amely permanens gyenge metabolizmust jelent. Míg a CYP-génhibát nem hordozó egyének is válhatnak átmenetileg gyenge metabolizálóká. A CYP enzimek expressziójának meghatározásán (CYP-fenotipizálás), valamint a DNS analízissel megállapítható génhiba kimutatásán (CYP-genotipizálás) alapuló CYPtest™ egyesíti a gén- és mRNS-szintű meghatározások eszköztárát. A perifériás vérből meghatározható CYP-státus alapján lehetőség van az esetleges 'gyenge' és 'ultra-gyors metabolizáló' fenotípus azonosítására, és a gyógyszerválasztással, valamint a dózis optimalizálásával elérhető a betegek hatékonyabb, kevesebb mellékhatással járó és költségtakarékos személyre szabott terápiájának kialakítása.

Publikációk

Temesvári M, Kóbori L, Paulik J, Sárváry E, Belic A, Monostory K: Estimation of drug-metabolizing capacity by cytochrome P450 genotyping and expression. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 341: 294-305, 2012

Kóbori L, Köhalmi K, Porrogi P, Sárváry E, Gerlei Zs, Fazakas J, Nagy P, Járay J, Monostory K: Drug-induced liver graft toxicity caused by cytochrome P450 poor metabolism. *British Journal of Clinical Pharmacology* 65: 428-436, 2008

Monostory K, Kóbori L, Paulik J: Estimation of drug-metabolizing capacity. EP 11184319.9, 2011 és PCT/IB2012/055299, 2012

Szerkezeti Biofizika Kutatócsoport

A komplementrendszer aktiválódási mechanizmusának feltárása *in vitro* evolúciós technikával előállított szelektív inhibitorok segítségével

A komplementrendszer a természetes immunválasz fontos effektor ágát képezi, elsődleges funkciója a fertőző mikroorganizmusok elleni védelem. A vérben keringő ún. mintázatfelismerő molekulák (pl. C1q, MBL, fikolinok) kötődnek a baktériumok felszínén lévő idegen struktúrákhoz, ami a felismerő molekulákhoz kapcsolódó szerin proteázok aktiválódásához vezet. A szerin proteázok a felismerési jelet egy kaszkádrendszer keretében nagymértékben felerősítik és aktiválják az immunrendszer egyéb elemeit. *In vitro* evolúciós technika (fág bemutatás) segítségével olyan szelektív inhibitorokat állítottunk elő, amelyek csak egy-egy célproteázt gátolnak nagy hatékonysággal. Ezek felhasználásával sikerült tisztáznunk az egyes proteázok pontos szerepét a komplementrendszer ún. lektin útjának aktivációjában. Munkánk eredményeként azonosítottuk azokat a potenciális gyógyszer-célpont molekulákat, amelyek gátlásával súlyos népbetegségek (pl. szívinfarktus, szélütés) kezelése válik lehetővé.

Publikációk

Kocsis, A., Kékesi, K.A., Szász, R., Végh, B.M., Balczer, J., Dobó, J., Závodszy, P., Gál, P. and Pál, G. (2010) [Selective Inhibition of the Lectin Pathway of Complement with Phage Display Selected Peptides against Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease \(MASP\)-1 and -2: Significant Contribution of MASP-1 to Lectin Pathway Activation.](#)

J. Immunol. **185**, 4169-4178

Héja, D., Harmat, V., Fodor, K., Wilmanns, M., Dobó, J., Kékesi, K.A., Závodszy, P., Gál, P. and Pál, G. (2012) Monospecific inhibitors show that both mannan-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 and -2 are essential for lectin pathway activation and reveal structural plasticity of MASP-2

J. Biol. Chem. **287**, 20290-20300

Héja, D., Kocsis, A., Dobó, J., Szilágyi, K., Szász, R., Závodszy, P., Pál, G. and Gál, P. (2012) Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **109**, 10498-10503

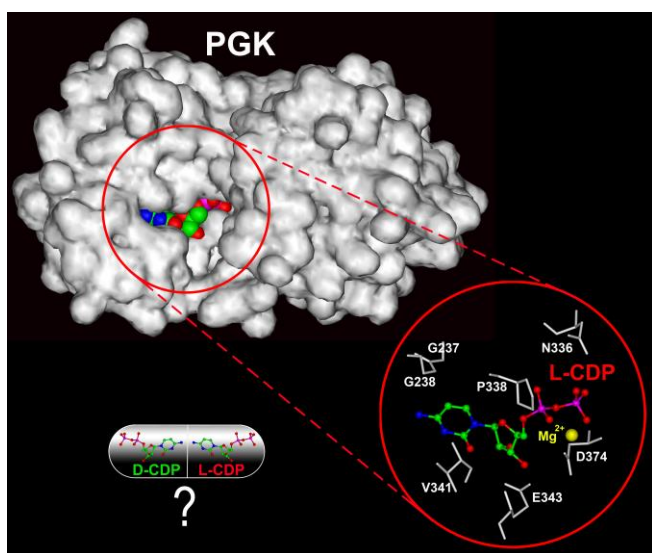
Megyeri, M., Harmat, V., Major, B., Végh, A., Balczer, J., Héja, D., Szilágyi, K., Datz, D., Pál, G., Závodszy, P., Gál, P. and Dobó J. (2013) Quantitative characterization of the activation steps of mannan-binding lectin (MBL)-associated serine proteases (MASPs) points to the central role of MASP-1 in the initiation of complement lectin pathway.

J. Biol. Chem. **288**, 8922-8934

A moduláris szerkezetű fehérjék (enzimek) működésének feltárása

A Straub-féle „fluktuációs fit” elmélet szellemében azt vizsgálták, hogy a fehérjék szerkezeti moduljai (domének vagy alegységek) közötti együttműködésben milyen szerepe van a szerkezet dinamikus jellegének és ez hogyan vezet az adott enzimfunkció megvalósulásához.

A két szerkezeti doménből felépülő „hinge-bending” enzim, a monomer 3-foszfoglicerát-kináz (PGK) esetén a klasszikus enzimológia módszereivel (kinetika, ligandkötőkés, kémiai módosítás, irányított mutagenézis, röntgenkristallográfia, SAXS, kalorimetria, CD- és fluoreszcens spektroszkópia) azonosították a fehérjemolekula fő csukló régióit és az oldalláncok szintjén felderítették azok működési mechanizmusát. Megállapították, hogy a fő csukló lényegében egy kettős molekuláris kapcsoló, amely az egyes doméneken külön-külön kötődő két szubsztrát által kontrollált alloszterikus útvonalak révén lép működésbe a katalízis során. Mindez fényt derített a PGK enzim által mutatott kinetikai anomáliák molekuláris eredetére is, melyekre évtizedekig nem volt ésszerű magyarázat. – A humán PGK-val végzett munka – az alaputatáson túlmenően - döntő



jelentőségű a különböző antivirális L-nukleozid-vegyület-típusok, mint gyógyszer-hatóanyagok aktiválása (enzimatis foszforilálhatósága) mechanizmusa felderítése szempontjából is, ugyanis ezek foszforilálását a PGK végzi a sejtek kináz-enzimei közül a leghatékonyabban. A fenti tudás birtokában új, jobb hatásfokú antivirális gyógyszerek hatóanyagait célzottabban tervezhetők.

1. Ábra: Varga és mti. (2011) *MOLECULAR BIOSYSTEMS* 7, 1863–73: A folyóirat címloldalán közölt ábra illusztrálja a PGK nukleotid-szubsztrátok felé mutatott enantioszelektivitásának hiányát.

Publikációk

- Flachner, B., Varga, A., Szabó, J., Barna, L., Hajdú, I., Gyimesi, G., Závodszy, P. & Vas, M. (2005) Substrate-Assisted Movement of the Catalytic Lys 215 During Domain Closure: Site-Directed Mutagenesis Studies of Human 3-Phosphoglycerate Kinase - *BIOCHEMISTRY* **44** 16853-865
- Varga, A., Flachner, B., Konarev, P., Gráczér, É., Szabó, J., Svergun, D., Závodszy, P. & Vas, M. (2006) Substrate-Induced Double Sided H-bond Network as a Means of Domain Closure in 3-Phosphoglycerate Kinase *FEBS LETT.* **260** 2698-2706
- Vas, M, Varga, A & Gráczér, É (2010) Insight into the Mechanism of Domain Movements and their Role in Enzyme Function: Example of 3-Phosphoglycerate Kinase *CURR. PROT. & PEPT. SCI.* **11** 118-147
- Cliff, M.J., Bowler, M.W., Varga, A., Marston, J.P., Szabó, J., Hounslow, A.M., Baxter, N.J., Blackburn, G.M., Vas, M. & Waltho, J.P. (2010) Transition State Analogue Structures of Human 3-Phosphoglycerate Kinase Establish the Importance of Charge Balance in Catalysis - *J. AM. CHEM. SOC.* **132** 6507-6516
- Zerrad, L., Merli, A., Schröder, G.F., Varga, A., Gráczér, É., Pernot, P., Round, A., Vas, M. & Bowler, M.W. (2011) A spring loaded release mechanism regulates domain movement and catalysis in phosphoglycerate kinase *JOURNAL of BIOLOGICAL CHEMISTRY* **286** 14040-14048
- Varga, A., Chaloin, L., Sági, Gy., Sendula, R., Gráczér, É., Liliom, K., Závodszy, P., Lionne, C. & Vas, M. (2011) Nucleotide promiscuity of 3-phosphoglycerate kinase is in focus: implications for

the design of better anti-HIV analogues (**Kiemelt publikáció: „HOT-PAPER”**) *MOLECULAR BIOSYSTEMS* 7 1863–1873

Vas, M. (2014) Phosphoglycerate kinase: A hinge-bending Enzyme, pp. 1-281, in a Series of Molecular Anatomy and Physiology of Proteins (Series Editor: Uversky, V.N.), *NOVA BIOMEDICAL PUBLISHER*, New York, USA (ISBN:978-1-62808-836-6)

Lizofosfolipid Kutatócsoport

Jelátvivő lipidek szabályozhatják a kalmodulin működését

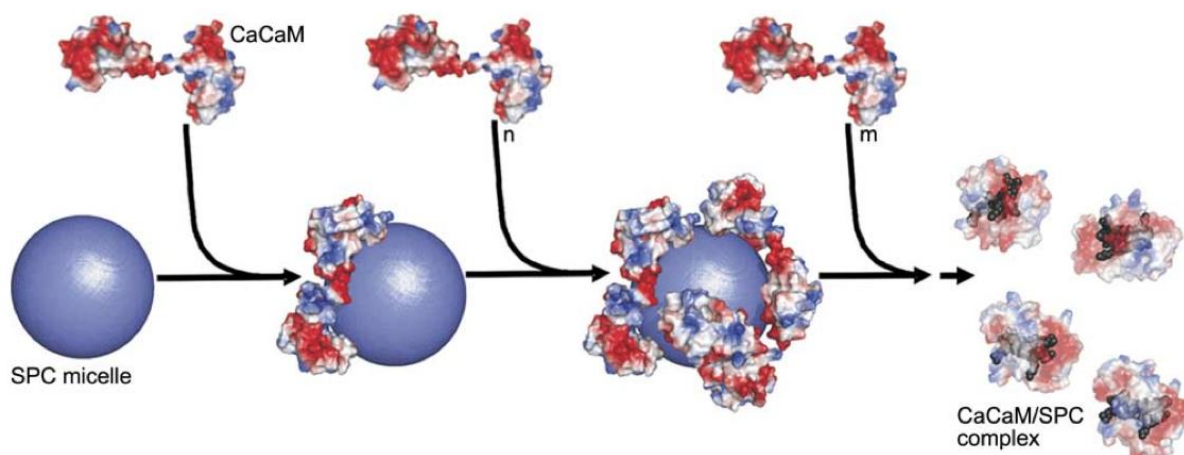
A sejten belüli folyamatokat összehangoló egyik legfontosabb szabályozó rendszer kalcium-ionnal működik, amely a kalmodulin nevű fehérjéhez kötődve fejt ki hatásait. Eddig úgy tudtuk, hogy a kalmodulin aktivitását a kalcium-ionon kívül más sejten belüli hírvivő molekula nem szabályozza. A Kutatócsoport kimutatta, hogy egyes információ-közvetítő lipidek, elsősorban a szfingozilfoszforilkolin és a szfingozin, a kalcium-iontól függetlenül képesek gátolni a kalmodulin működését. Ezek a lipid mediátorok jelátviteli folyamatok során, például sejt felszíni receptorok aktivációja következtében keletkeznek. Ugyanakkor receptoraktiváció következménye a sejten belüli kalcium-ion koncentrációjának emelkedése is, tehát a kalmodulin aktiválódását a lipid-mediátorok jelenléte ellensúlyozhatja, a különböző receptorok aktivitásának függvényében.

Publikációk

Kovacs E, Liliom K. Sphingosylphosphorylcholine as a novel calmodulin inhibitor. *Biochem J.* 2008 Mar 1;410(2):427-37.

Kovacs E, Tóth J, Vértessy BG, Liliom K. Dissociation of calmodulin-target peptide complexes by the lipid mediator sphingosylphosphorylcholine: implications in calcium signaling. *J Biol Chem.* 2010 Jan 15;285(3):1799-808.

Kovacs E, Harmat V, Tóth J, Vértessy BG, Módos K, Kardos J, Liliom K. Structure and mechanism of calmodulin binding to a signaling sphingolipid reveal new aspects of lipid-protein interactions. *FASEB J.* 2010 Oct;24(10):3829-39.



Kalmodulin (CaM) és szfingozilfoszforilkolin (SPC) komplexek. Magas lipid-fehérje aránynál (balra) a fehérje a lipid micella felületéhez kötődik. A fehérje koncentráció növekedésével (jobbra) kialakul a kalmodulin zárt konformációja, amelyben négy lipid molekulát zár közre.

Biomembrán Kutatócsoport

Az ABC transzporterek funkcióját és molekuláris szabályozását vizsgáló laboratórium tagjai nemzetközileg is kiemelkedő eredményeket értek el. A normális és daganatos emberi őssejtekben az ABCG2 fehérje gyógyszer-kölcsönhatásait vizsgálva specifikus, új kölcsönhatásokat ismertek fel (1,2). Részletesen elemezték az ABCC6 fehérje sejten belüli elhelyezkedését (3), eredményesen alkalmazták a transzpozon alapú módszereket emberi indukált pluripotens őssejtek előállítására (4), az őssejtekben a kalcium függő jelátviteli folyamatok vizsgálatára (5). Mindezek az eredmények a daganatok kezelésében, az emberi őssejtek vizsgálatában és a gyógyszerfejlesztésben is jelentős szerepet kaphatnak.

A csoport kiemelkedő eredményeket ért el továbbá az Alzheimer kórban és a szivacsos agysorvadásban kulcsszerepet játszó prionfehérjék, valamint közeli rokonuk, a Shadoo fehérje molekuláris szerkezetének, kölcsönhatásainak és sejten belüli vándorlásának vizsgálatában(6,7).

A molekuláris genetikával foglalkozó laboratórium kiemelkedő eredményeket ért el az RNS interferencia kutatásának a területén. A miRNS molekulák képződését vizsgálva sikerült igazolniuk, hogy egy alternatív processzási útvonal, a mirtron útvonal emlős sejtekben is működik, és igazolták a mirtron eredetű miRNS-ek érésének splicing-függő, de a Drosha/DGCR8 komplextől független folyamatát. Külön kiemelendő eredmény, hogy a nagy nemzetközi versenyben elfogadott közlemény összefoglaló ábrája az *RNA Biology* tudományos folyóirat 2012. szeptemberi számának a címlapjára került.

Publikációk

Winter E, Lecerf-Schmidt F, Jabor Gozzi G, Peres B, Lightbody M, Gauthier C, Ozvegy-Laczka C, Szakacs G, Sarkadi B, Creczynski-Pasa TB, Boumendjel A, Di Pietro A, Structure-activity relationships of chromone derivatives toward mechanism of interaction with, and inhibition of, breast cancer resistance protein ABCG2. JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY 56:(24) pp. 9849-9860. (2013) IF: 5.614

Telbisz A, Ozvegy-Laczka C, Hegedus T, Varadi A, Sarkadi B, Effects of the lipid environment, cholesterol and bile acids on the function of purified, reconstituted human ABCG2 protein. BIOCHEMICAL JOURNAL 450:(2) pp. 387-395. (2013), IF: 4.654

Pomozi V, Le Saux O, Brampton C, Apana A, Iliás A, Szeri F, Martin L, Monostory K, Paku S, Sarkadi B, Szakács G, Váradi A, ABCC6 is a basolateral plasma membrane protein. CIRCULATION RESEARCH 112:(11) pp. e148-e151. (2013), IF: 11.861

Grabundzija I, Wang J, Sebe A, Erdei Z, Kajdi R, Devaraj A, Steinemann D, Szuhai K, Stein U, Cantz T, Schambach A, Baum C, Izsvak Z, Sarkadi B, Ivics Z, Sleeping Beauty transposon-based system for cellular reprogramming and targeted gene insertion in induced pluripotent stem cells. NUCLEIC ACIDS RESEARCH 41:(3) pp. 1829-1847. (2013), IF: 8.278

Apáti A, Pászty K, Hegedus L, Kolacsek O, Orbán TI, Erdei Z, Szebényi K, Péntek A, Enyedi A, Sarkadi B, Characterization of calcium signals in human embryonic stem cells and in their differentiated offspring by a stably integrated calcium indicator protein CELLULAR SIGNALLING 25:(4) pp. 752-759. (2013), IF: 4.304

Tóth E, Kulcsár P.I. Ayaydin-Fodor F, Kalmár L, Borsy A.É. László L, Welker E.: The highly conserved, N-terminal (RXXX)8 motif of mouse Shadoo mediates nuclear accumulation. BBA Mol Cell RES, 1833: 1199–1211 (2013) IF: 4.8

Schäfer B, Orbán E, Borics A, Huszár K, Nyeste A, Welker E, Tömböly Cs.: Preparation of Semisynthetic Lipoproteins with Fluorescent Cholesterol Anchor and their Introduction to the Cell

Membrane without Detergents and Surplus Lipids. *BIOCONJ CHEM* 24:(10) 1684-1697 (2013) IF: 4.5

Schamberger A, Sarkadi B, Orbán TI: Human mirtrons can express functional microRNAs simultaneously from both arms in a flanking exon-independent manner. *RNA BIOLOGY* 9(9): 1177-85. (2012), IF: 4.933