

I. Molekuláris genetikai, genom-szintű és populációgenetikai eredmények:

I.1. Epigenetikai kutatások: Elsőként sikerült feltárnunk a humán ABCC6 gén transzkripció szabályozásának fő vonásait. Azonosítottunk két, az evolúció során konzerválódott CpG-szigeteket tartalmazó regulációs régiót. Különböző human sejtvonalakat használva összefüggést találtunk a régiók metiláltsági foka és a génről átíródó mRNA mennyisége között. A potenciális proximális promóter szerkezeti jellemzése révén egy aktivátor és egy „silencer“ régiót azonosítottunk (Arányi et al, 2005).

I.2. Genom-szintű kutatások: Bioinformatikai módszerek segítségével megállapítottuk, hogy az ABCC6 gén az emberei 16 kromoszómán egy olyan régióban helyezkedik el, amely segmentális duplikációkon ment keresztül az evolúció során. Az ABCC6 mutációi a pseudoxanthoma elasticum (PXE) nevű öröklődő betegségért felelősek. Leírtuk a segmentális duplikációk valószínű mechanizmusát. Modellt állítottunk fel, amely segítségével megmagyarázható, hogy a különös evolúciós események révén keletkezett ABCC6 pseudogének hogy járulnak hozzá a génben keletkező mutációkhoz. Az általunk felvázolt mechanizmus érvényes a hasonló kromoszomális környezetben elhelyezkedő génekre, így pl. a PKD1 (polycystic kidney disease 1) génre is. (Symmons, Váradi A and Arányi 2008).

I.3. Populációgenetikai kutatások: Megállapítottuk, hogy az ABCC6 gén funkcióvesztéssel járó R1141X mutációja jelentős (mintegy tízszeres) genetikai rizikófaktor a koronária szívbetegségekben (CAD), míg az agyi stroke-ban nem jelent rizikót (Köblös et al, 2009 submitted). Kutatási eredményünk felhívja a figyelmet a PXE hordozók fokozott kardiológiai preventív szűrésének fontosságára.

Megkezdjük az ABCC6 gén kópia-szám variánsainak (CNV) vizsgálatát.

I.4. Módszerfejlesztések: Módszert dolgoztunk ki a transzkriptumok mennyiségének pontos meghatározására (Bors et al, 2008). E módszer segítségével követjük a vizsgált gének (ABCC6 és ABCG5 valamint ABCG8) transzkripciójának változását különböző farmakológiai kezelések hatására, így térképezve fel a gének transzkripciójában szerepet játszó szignálútvonalakat

Megjelent közlemények száma: 3, IF: 15.39 (egy további közlemény beküldve)

II. A bioinformatikai kutatások eredményei:

II.1. Biserch Server: Kidolgoztuk, majd továbbfejlesztettük az általunk kidolgozott módszeren alapuló BISEARCH web-szerver, amely a promóter-régiók metilációs mintázatának meghatározására használatos kísérleti megközelítésben használt promerek tervezését teszi lehetővé (Tusnády et al, 2005, Arányi et al, 2006,). A módszer illetve a szerver a különféle összehasonlításokban a leghatékonyabb bioinformatikai eszköznek bizonyult a fenti specifikus probléma megoldására, és ezen túlmenően általános primer-tervező technikaként is népszerű. A szerver az Intézet honlapjáról akadémiai felhasználóknak nyilvánosan és ingyenesen elérhető, és rendkívül nagyszámú (tízezres nagygrendű) külső feladatot végzett el.

Megjelent közlemények száma: 2, IF: 12.50

III. Az ABC fehérjék szerkezetével kapcsolatos eredmények:

III.1. A humán ABC-fehérjék membrántopológiája és domén-szerkezete: Feldolgoztuk és meghatároztuk a humán ABC-fehérjék membrán-topológiáját (Tusnády et al, 2006). Módszerünk teljesen új megközelítésen alapul: a korábban kidolgozott igen eredményes membrán-topológiai módszert (HMMTOP) alkalmassá tettük az egyedi fehérjére jellemző kísérleti eredmények algoritmizálható befogadására (diszulfid hidak megléte, cukor-oldallánc pozíciója stb.). Ezen újszerű megközelítés az egyes ABC-alcsaládokon nyert hidrofobicitási profilok „összerendezésével“ (alignment) az eddigieknél sokkal megbízhatóbb membrántopológiákat eredményezett.

III.2. Az ABCC6 homológiamodellje: Létrehoztuk a humán ABCC6 fehérje homológiai modelljét (Fülöp et al, 2009). Megállapítottuk, hogy a PXE betegséget okozó misszensz mutációk a domén-domén interakciókban részvevő felszíneken csoportosulnak. Ez az eredményünk rámutat arra, hogy a vizsgált domén-domén kapcsolatok fontos szerepet játszanak a fehérje működésében. Ezen eredményünket a pseudoxanthoma elasticum betegséggel foglalkozó legfrissebb, nemzetközi együttműködésben íródott review-cikkben is elemeztük (Li Q et al, 2009). Statisztikai vizsgálataink alapján új mutánsok expresszióját és karakterizálását tervezzük.

Megjelent közlemények száma: 3, IF: 9.61

IV. Az ABC fehérjék működésének vizsgálata, szerkezet-funkció összefüggések

IV.1. Az ABCG2 működése során tapasztalható mind nagymértékű konformációs változások vizsgálata: E klinikai-farmakológiai szempontból rendkívül fontos, számos esetben a rákos sejtek multidrog rezisztenciájáért felelős transzporter működési mechanizmusa mind nagymértékű konformációs változásokon, mind a dimér kialakulásának a lehetőségén alapul. Megállapítottuk, hogy a 5D3 konformáció-érzékeny monoklonális antitest, amely a dimér egy bizonyos konformációs állapotát ismeri fel, nem érzékeny a dimér kialakulására (Özvegy-Laczka et al, 2005, Özvegy-Laczka et al, 2008).

IV.1. A 482 pozícióban található aminosav szerepe az ABCG2 működésében: Az adott pozícióban a transzporter Arg-t tartalmaz. Korábbi, szelekciós módszereken alapuló kísérletek alapján kiderült, hogy az pozíciót érintő Gly vagy Ser aminosav-cserék a transzporter megváltozott szubsztrát-specifitását okozzák. Módszeres vizsgálataink során további tíz mutánst állítottunk elő, és jellemeztünk. Számos funkcionyeréses mutációt sikerült így leírunk. Megállapítottuk, hogy az Arg oldallánc evolúciós megőrzöttsége valamilyen szabályzó funkcióval függ össze. (Özvegy-Laczka et al, 2006).

Megjelent közlemények száma: 3, IF: 16.78

V. Funkcionális (biokémiai és farmakológiai) vizsgálatok:

V.1. Az ABCG5-G8 heterodimer jellemzése: Létrehoztunk egy olyan expressziós rendszert, amely nagymennyiségű humán ABCG5 és G8 fehérje előállítására alkalmas. Megállapítottuk, hogy a két fehérje ko-expressziója funkcióképes, jellegzetes ATPáz aktivitással rendelkező heterodimert eredményez. Kimutattuk, hogy az ABCG5/G8 aktiv dimer által mutatott ATPáz-aktivitás adrostan-típusú szteroidokkal stimulálható és progeszteronnal gátolható. Ez az első biokémiai bizonyíték az ABCG5-G8 heterodiméreként való működésére (Müller et al, 2006). Két, az NIH-NCI által létrehozott adatbázis (NCI60 ABC transporter expression profile és NCI60 citox depository) informatikai kutatásával potenciális ABCG5/ABCG8 szubsztrát-jelölt molekulákat találtunk, amelyeket *in vitro* tesztelni fogunk. Elkészítettük mind az ABCG5 mind az ABCG8 különféle affinitás-tag-ekkel ellátott változatait, és megállapítottuk, hogy a megfelelő helyen elhelyezett tag szekvencia

nem okoz funkcióvesztést. Későbbi munkáinkban ezeket a fúziós fehérjéket megtisztítva és liposzomában rekonstruálva a fehérje-komplex és különféle lipidek kölcsönhatását kívánjuk majd vizsgálni.

V.2. *A membrán-koleszterin hatása az ABC transporterek aktivitására:* Megvizsgáltuk, hogy a koleszterin hogyan hat a különféle ABC-transporterek transzportaktivitására. Eredeti hipotézisünk az volt, hogy az ABCG5/ABCG8 aktiv heterodimert expresszáló sejtek membránját koleszterinnel feltöltve a heterodimer transzporter ATPáz-aktivitása megváltozik - lévén, hogy az ABCG5/ABCG8 a májból az epe felé a koleszterin transzportját végzi. Módszert dolgoztunk ki a rovarsejt membránnak ciklodextrin-koleszterin komplexével való feltöltésére, és ezzel az eljárással számos ABC-típusú transzportert vizsgáltunk meg. Az eredeti hipotézisünkkel ellentétben az ABCG5/ABCG8 nem mutatott érzékenységet, azonban az ABCG2 transzporter aktivitását specifikus módon és jelentős mértékben fokozta az általunk kidolgozott koleszterin-telítés (Telbisz et al, 2007).

V.3. *Nem-humán ABC-transporterek funkcionális jellemzése:* Egy spanyol kutatócsoporttal együttműködve megoldottuk a Leshmania egyik fontos ABC-transporterének expresszióját és funkcionális vizsgálatát (Cortes-Selva et al, 2005). Elvégeztük a Drosophila melanogaster "hosszú ABCC-típusu" fehérjéjének a transzport-biokémiai jellemzését. A fehérje (DMRP) a humán ABCC fehérjék ortológja. Megállapítottuk, hogy a DMRP hasonló szubsztrát-specifitással rendelkezik, mint a humán ABCC-transporterek, azonban a transzport-aktivitása lényegesen magasabb ("high turnover transporter"). Így ez a transzporter alkalmas részletes termodinamikai vizsgálatokra (Szeri et al, 2009). Ezeket a vizsgálatokat megkezdtük. Ilyen elemzések a humán transzporterek esetében az alacsony aktivitás miatt nem lehetségesek.

V.4. *Farmakológiai jelentőségű eredményeink:* Feltártuk az ABCG2 és a tirozinkináz gátló típusú, klinikailag kiemelkedő fontosságú rákellenes szerek kölcsönhatását (Elkind et al, 2005). Összefoglaltuk a farmakológiai szempontból legfontosabb ABC-transporterek szerepéről szerzett ismereteket, és azt, hogy ezek a transzporterek hogyan hatnak az egyes gyógyszerek felszívódására, metabolizmusára és a szervezetből való kiválasztására (Cervenák et al, 2006. Szakács et al, 2008).

Megjelent közlemények száma: 7, IF: 31.85

VI. A chemo-immunitás modellje

Az ABC-fehérjéknek a chemo-immunitást biztosító hálózatban betöltött szerepét leíró hipotézist dolgoztunk ki, és azt egy terjedelmes review-cikk kereteiben az élettudományok egyik legrangosabb, igen magas impaktfaktorú folyóiratában fejtettük ki (Sarkadi et al, 2006). Modellünk lényege, hogy a különféle szöveti határokon elhelyezkedő ABC transzporterek olyan ősi védelmi hálózatot alkotnak, amely sok vonásában a később kialakult immunrendszerrel analóg. Modellünk jelentős érdeklődést váltott ki, amelyet a rövid idő alatt elért nagyszámú citáció jelez (két év alatt 57 hivatkozás).

Megjelent közlemények száma: 1, IF: 31.44