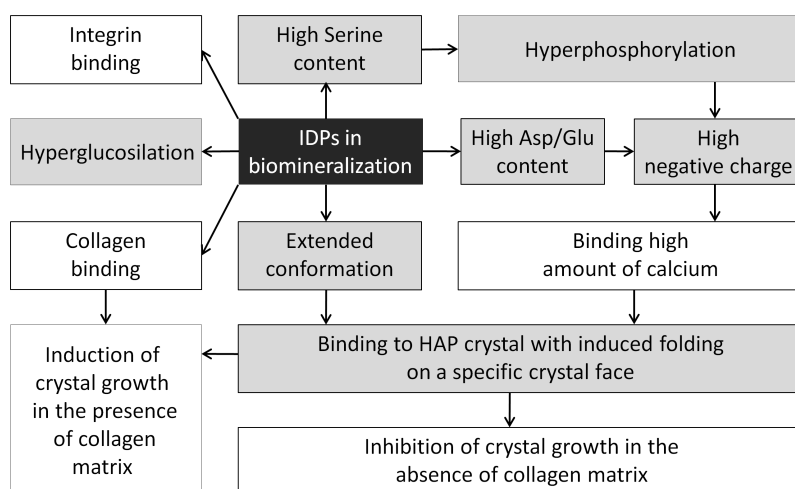


## Projekt záró beszámoló a PD83613/91102 pályázathoz

A PD OTKA pályázatom három éve alatt a kutatási projektjeim a pályázat címében is szereplő témához, a rendezetlen fehérjék evolúciójához kötődtek. A következő oldalakon az egyes témákat külön részletezem, egy-egy reprezentatív ábrával illusztrálva az eredményeket. A saját kutatási témáim mellett számos kooperációs munkában is részt vettem, ezt a beszámoló végén listászerűen részletezem.

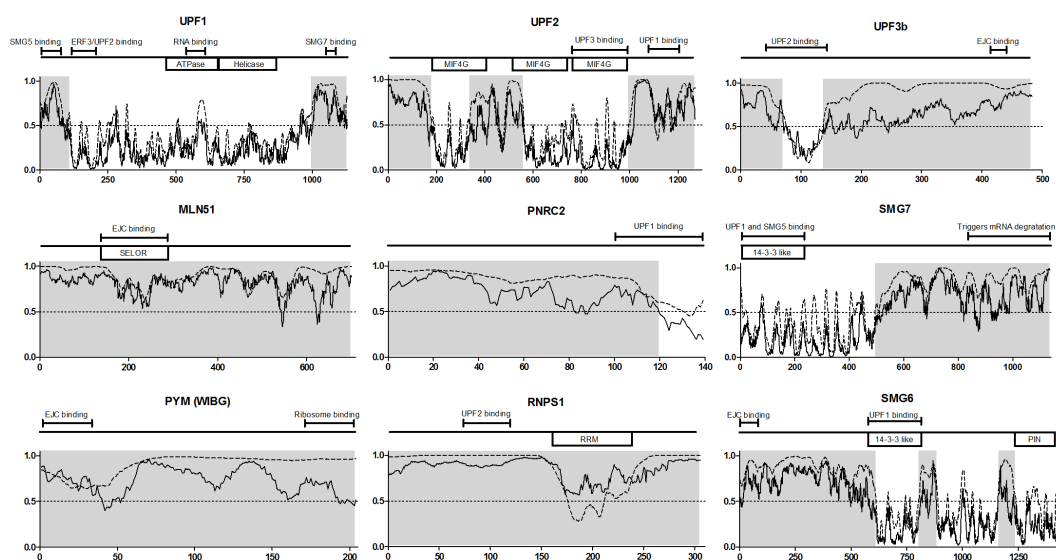
### Rendezetlen fehérjék szerepe a biomineralizációban

Vizsgálataink során kiderült, hogy a szervezetben végbemenő biomineralizációs folyamatok (csont- és fogképződés) kulcslépésében a rendezetlen fehérjék igen nagy szerepet játszanak. A szeretlen kristály kiválását szabályozottan irányító fehérjék (pl. Dentin sialophosphoprotein) szinte minden esetben teljes hosszukban rendezetlen fehérjék. Munkánkban megállapítottuk, hogy ez a folyamat, biokémiai és biofizikai sajátossága miatt, kizárólag rendezetlen fehérjék közvetítésével mehet végbe. A rendezetlen fehérjék kulcsszerepét alátámasztja, hogy a törzsfajlódás minden pontján, egymástól függetlenül, ahol szövetek / sejtek közti szeretlen kristály kiválással találkozunk (tojáshéj, kagylóhéj, kovamoszat), ezek a típusú fehérjék mindig megtalálhatók és rendezetlenek. Vagyis ez esetben a rendezetlenség együtt jár a funkció kialakulásával. Ebben a munkában Homola Dániel diákom segített, aki az ELTE Biológus BSc képzést befejezve, az itthon elért tudományos eredményeinek is köszönhetően felvételt nyert az Imperial College London bioinformatikus MSc képzésére. Jelenleg a képzést befejezve Londonban ugyanott folytatja tudományos karrierjét PhD hallgatóként. A munkában kooperációs partnerünk a Semmelweis Egyetem Orálbiológiai tanszékéről Varga Gábor professzor volt, aki biomineralizáció élettani hátterét évek óta tanulmányozza. A témából született publikáció a szakterület egyik vezető lapjában a Bone című újságban jelent meg. A következő cikkből származó ábra a rendezetlen fehérjék szerepét foglalja össze a biomineralizáció folyamatában.



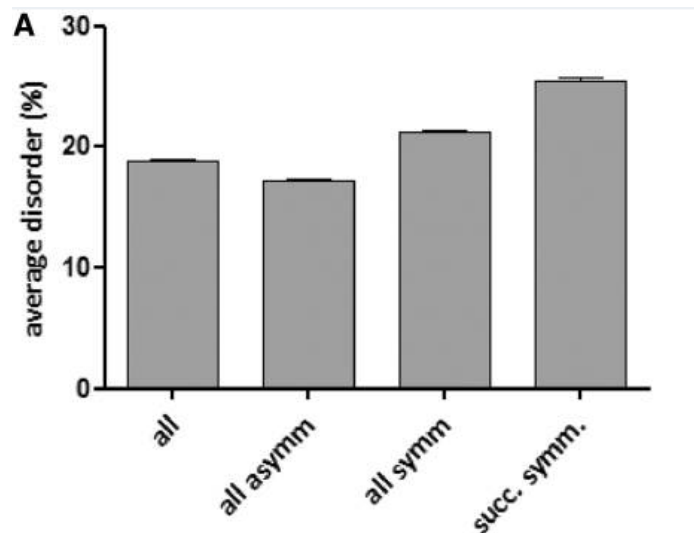
## Rendezetlen fehérjék szerepe a nonsense mediated decay mechanizmusában

A nonsense mediated decay (NMD) a sejt egyik minőség-ellenőrző folyamata, melyben a cél a korai stop kodont tartalmazó mRNS-ek lebontása, ezáltal a sejt védelme az aberráns, csonkolt fehérjéktől. A folyamat gerincesekben a transzláció első körében történik meg, melyben a riboszóma mellett több nagy fehérje komplex is részt vesz (exon junction complex, cap-binding complex, stb). A munkában vizsgálatunk elsősorban az NMD-ben kulcsszerepet betöltő fehérjék rendezetlenségére irányult, az egyes fehérjék funkció / szerkezet illetve funkció / rendezetlenség összefüggéseinek feltárását célozta meg. Vizsgálatunkban úgy találtuk, hogy a rendezetlen fehérjék / fehérje szakaszok elsősorban a nagyobb komplexek összeszerelésében, illetve a komplexek közötti kommunikációban játszanak szerepet. Ez utóbbi több szempontból is fontos, hiszen egyrészt a RNS mérete igen tág határok között mozoghat, így a komplexek közti távolság nagyon változó, melyet a rendezetlen fehérjeszakaszok a nagy hidrodinamias sugaruknak köszönhetően át tudnak hidalni. Másrészt ezek a komplexek közti kölcsönhatások azok, melyek meghatározzák az RNS további sorsát, ezen interakciók váltják ki korai stop kodon esetén a lebontó folyamatot. Vizsgálatunkban komoly hangsúlyt fektettünk a különböző törzsfajlódási szinteken megfigyelhető NMD mechanizmusok összehasonlítására is. Az elvégzett munkában nagy segítségemre volt diákom Ács Veronika. A projektben folyamatos kooperációban álltunk Silhavy Dániellel (Mezőgazdasági Biotechnológiai Központ, Gödöllő), aki az NMD mechanizmusát már több éve tanulmányozza növényekben. A munkából elkészült publikáció a Journal of Molecular Biology folyóiratban jelent meg. Az alábbi cikkből származó ábrán jól látható, hogy a folyamat számos kulcsfontosságú fehérjéjében igen magas a jóslott rendezetlenség mértéke (a diagram fölött a fehérje neve található, az x tengelyen az aminosav pozíció, az y tengelyen a rendezetlenségi valószínűség, a rendezetlen szakaszok szürkével kiemelve láthatók, a két különböző vonal két eltérő jósló módszer eredményét mutatja).



## Exon-fázis szimmetria a rendezetlen fehérjék génjeiben, moduláris evolúció

A genom elemeinek moduláris kicserélődésének egyik jelzője az exonok fázis szimmetriája, hiszen ezen esetekben a kódoló modul anélkül épülhet be egy másik génbe, hogy annak a leolvasási keretét elrontaná. Schád Éva kollégámmal kimutattuk, hogy a moduláris evolúcióra potenciálisan alkalmas szimmetrikus exonok a vártnál nagyobb mértékben kódolnak rendezetlen fehérje szakaszt. Több olyan gént is találtunk, melyben az egymás után következő (valószínűleg tandem duplikációval kialakult) szimmetrikus exonok hosszú rendezetlen fehérjét kódolnak. A rendezetlenség általános vizsgálata mellett több olyan funkcionális egységet is találtunk (pl. SH3-domén kötő motívum), melyek egy szimmetrikus exonon kódolva viszonylag rövid evolúciós idő alatt vihetnek új funkciót más génekbe. Az alábbi cikk ábrán jól látszik, hogy a genom összes exonja, nem szimmetrikus exonja, szimmetrikus exonja és egymás után következő több szimmetrikus exonja egymástól szignifikánsan eltérő mértékű rendezetlenséget (y tengelyen a kódolt átlagos rendezetlenség) kódol.



## Együttműködésből származó eredmények

- A KFKI-val együttműködésben vizsgáltuk a rendezetlen fehérjék köré épülő hidrátburkok tulajdonságait. Míg a KFKI-ban szilárd fázisú NMR mérésekkel mutatták ki a fehérjék környezetében található vizek mennyiségét, mozgását, energiáját, ezzel együtt én számítógépes módszerekkel, elsősorban molekula dinamikai (MD) szimulációk segítségével modelleztem ezen fehérjék kölcsönhatását vízzel. Eredményeink alapján a rendezetlen fehérjék hidrátburka jelentősen nagyobb (1 aminosavra viszonyított víz molekulák száma) mint a globuláris fehérjéké, valamint a felépítése is más, a globuláris fehérjék hidrátburka (főként az első teljes burok) jóval kompaktabb, mint a rendezetlen fehérjéké, ezzel magyarázható eltérő viselkedésük a szilárd fázisú vizsgálatok során. A munkából született közlemény a Biophysical Journal folyóiratban jelent meg.
- Korábbi munkahelyemen (ahol a PhD alatt végeztem kutatásaimat) egy genetikai vizsgálatban a fehérje szerkezetének pontosabb megismerése vált szükségessé. Tordai Attila csoportjával (Országos Vérellátó Szolgálat, Molekuláris

Diagnosztikai Labor) kimutattuk, hogy az ABL gén egyik splice variánsa, melynek következtében leolvasási keret eltolódás és korai stop kodon miatt kialakuló csonkolt fehérje keletkezik, a megmaradt kináz domén szerkezeti felépítése miatt nem játszhat szerepet a BCR-ABL transzlokáció okozta krónikus mieloid leukémia elleni imatinib kezelés ellen kialakuló rezisztenciában. A részletesen jellemzett szerkezeti változás olyan csonkolt domént eredményez, mely a felszínre került nagy hidrofób felület miatt valószínűleg aggregálódik. A munkából született eredményeket a Medical Oncology folyóiratban közöltük.

- A Prion fehérjéhez hasonló felépítésű (és valószínűleg funkciójú) Shadoo fehérje szerkezet-funkció összefüggéseit kutatja Welker Ervin kutatócsoportja (MTA TTK Molekuláris Farmakológiai Intézet). Közös munkánkban a fehérje egy érdekes rendezetlen régióját vizsgáltuk, melyben egy arginin aminosav ismétlődés található. Míg Welker Ervin csoportja a régió biokémiai és funkcionális karakterizálását végezte, én átfogó bioinformatikai vizsgálattal kimutattam, hogy a régió igen specifikus a Shadoo fehérjékre, és magas konzerváltságú az ismert fehérjéket tekintve. A munkából született eredményeinket a Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research folyóiratban közöltük.
- A Prof. Dr. Bagdy György által vezetett kutatócsoport a Semmelweis Egyetem Gyógyszerhatástani Intézetében különböző farmakonok és fiziológiás neuropeptidok alvásmintázatra gyakorolt hatását vizsgálja. A nagy mennyiségű kísérletes adat (elsősorban EEG vizsgálatokból származó), adatbázisba foglalását, feldolgozását és összehasonlítását nem lehetséges hagyományos felhasználói programok segítségével elvégezni. A kutatócsoport több tagjával együttműködve közösen fejlesztünk egy olyan adatbázist és ráépülő alkalmazást, mellyel a keletkezett nyers adatokból egy lépésben lehet kinyerni több különböző alvásszerkezeti eredményt. A tudományos együttműködésből több közös publikáció is született, melyeket neurológiai folyóiratokban közöltünk.