

## Dedikált műszer programban a konzorciumi együttműködések eredményei

(BME, MTA TTK, ELTE)

### 1. Daganatok kialakulásához vezető fehérjehálózatok feltérképezése

*Turiák Lilla, Nyitay László*

A korábban legígéretesebbnek tűnő citromsavas foszfopeptid dúsító módszer további optimalizálásával 9-szeresére növeltük a dúsítás hatékonyságát 250 ng HeLa sejtlizátum vizsgálata során. Igazoltuk, hogy ez a módszer nagyobb kiindulási mintamennyiségek esetén (40 µg-ig) is kiválóan alkalmazható. A dúsítást megelőző sómentesítési lépés során fellépő veszteségek csökkentésére módosítottuk a csoportban alkalmazott protokollt. A fejlesztett módszereket tüdő-, emlő- és prosztatadaganatos szöveteken alkalmaztuk, melynek mérése és kiértékelése jelenleg is zajlik.

### 2. Specifikus miosztatin antagonisták kifejlesztése

*Patthy László, Perczel András*

A korábban miosztatin-gátló hatást mutató peptidből kiindulva racionális tervezéssel kíséreltük meg a miosztatint jobban gátló peptidek előállítását. CD mérések szerint az aminosav cserék a peptidek helikális hajlamát növelik, de génexpressziós reporter rendszerben nem gátolták jobban a miosztatint, ezért molekuláris dinamikai szimulációk segítségével tervezünk újabb peptideket. A miosztatin és a peptidek közötti kölcsönhatás NMR spektroszkópiai jellemzéséhez izotóppal jelölt fehérjéket állítunk elő.

### 3. Spektroszkópiai alapú (IR és SAXS) fehérjevizsgálati módszerek fejlesztése

*Salgó András, Gergely Szilveszter, Besenyő Gabi, Slezsák János, Bóta Attila, Mihály Judith, Fehér Bence*

A vörösben emittáló fluoreszcens Bovin Szérum (marhaszérum) Albumin-arany ion (BSA-Au) biokonjugátum szerkezetvizsgálatát és ehhez tartozóan IR spektroszkópiai metodikai fejlesztését végeztünk. A szintézishez hőkezelésre van szükség, amelynek a fehérje és a biokonjugátum finomszerkezetére gyakorolt hatását fűthető ATR kristállyal ellátott IR spektrométerrel követtük. A rezgési sávok komponens-analízise alapján a fehérje és a biokonjugátum eltérő és jelentős belső, finomszerkezeti változást szenvednek, míg a kisszögű röntgenszórás alapján követett, a molekulák egészének alakváltozása ezt nem követi.

### 4. αSNAP szerepe az autofág és krinofág vezikulafúziók során

*Juhász Gábor, Nyitray László*

Az elmúlt évben sikerült előállítanunk az autofág és krinofág vezikulafúziós fehérjék SNARE doménjeit (*Drosophila* Syx17/Syx13, SNAP29, Vamp7/Ykt6) fehérjekristályosításhoz megfelelő mennyiségben és tisztaságban. Ezt követően az egyes SNARE-komplexek 3-3 tagját összekevertük és szűrtük különböző kristályosító körülmények alkalmazásával. Jelenleg a szűrés pozitív találatait optimalizáljuk Röntgenkristallográfiás méréshez megfelelő egykristályok előállítására.

### 5. Kristályosító chaperon létrehozása amiloid-szerű szerkezeti elemekkel

*Harmat Veronika, Nyitray László*

A nehezen kristályosítható fehérjék kristályosodási hajlamának növelésére olyan kristályosító chaperon rendszert terveztünk, amik jól kristályosodó, a kristályokban más fehérjék számára alkalmas üregeket képező fehérje használatán (annexin 2, ANXA2); vagy specifikus fehérje/fehérje kölcsönhatásokon alapulnak (dinein könnyűlánc 1 (DYNLL)/EML3). Összehasonlító vizsgálatokban bizonyítottuk, hogy az ANXA2 kristályosító chaperonként változatos fehérjékkel alkalmazható, a

leggyakrabban alkalmazott MBP-nél jobb hatékonysággal; eredményeinket a Structure folyóiratban publikáltuk. A DYNLL/EML3 rendszer teszteléshez előállított, az EML3-t a kristályosítandó fehérjéhez egy linkerrel kötött címkéként tartalmazó 8-féle fehérjekonstrukcióval vizsgáljuk, az EML a peptid helyzetének, a linker hosszának és a célfehérje méretének (célfehérjék: MBP és PDZ domén) hatását a kristályosodási hajlamra. A kristályosítás első eredményei szerint a nagyobb méretű fehérje/EML peptid konstrukció rövid linkerrel használva kizáródott a képződő kristályokból, azok csak a DYNLL-t tartalmazták.

## **6. BME-ELTE krisztallográfiai infrastruktúra felhasználása a fehérjetudományban**

*Vértessy Beáta, Harmat Veronika*

A BME Biostruct Laboratórium és az ELTE-CrystalLAB együttműködése során együttműködésekkel, valamint mérési lehetőség biztosításával, és a fehérjekrisztallográfia elméleti és gyakorlati tárgyainak oktatásával, új tananyagok kidolgozásával (BME-ELTE biotechnológia MSc képzés; MSc és PhD kurzusok az ELTE és BME hallgatói számára) hozzájárulunk a szerkezeti biológia lehetőségeinek kitégítéséhez. Vizsgáljuk gyógyszercélpont fehérjék kölcsönhatásait fehérje természetű specifikus inhibitorokkal (dUTPáz-StI komplex), specifikus inhibitorokat tervezünk onkogén fehérje mutációkra (KRAS), karakterizáljuk a fenilalanin ammónia liáz fehérjék (PAL) új inhibitorait, amiloidképződés gócpontjaiként viselkedő peptidek önrendeződésének szerkezeti alapjait, cukoraminosavakból felépülő, rendeződő szerkezetű oligomereket és építőelemeiket, a dinein könnyű lánc csomóponti fehérje komplexeit.