

## **Tematikus programban konzorciumi együttműködések eredményei**

(BME, MTA TTK, ELTE)

### **1. Buday László - Geiszt Miklós**

#### **Tks4 állványfehérje intramolekuláris szabályozásának felderítése**

A Tks4 fehérjének olyan rekombináns DNS konstrukcióit terveztük meg, amelyeket expresszálna a fehérje N-terminális régiójában kialakuló kölcsönhatások feltérképezhetővé válnak. A projekt első félévében sikerült ezeket a fehérjeszakaszokat nagy mennyiségben és tisztaságban előállítani. Az előzetes SAXS mérések rámutattak, hogy a Tks4-nek kialakul egy zárt formája oldatban. Jellemeztük továbbá az első két SH3 domén prolin-gazdag régióhoz való kötődését, illetve a PX-SH3-SH3 szakasz harmadik SH3-prolin-gazdag régiót tartalmazó konstrukcióhoz való kötődését.

### **2. Gál Péter, Pál Gábor**

#### **Teljeshosszúságú humán komplement proteázok szerkezet-funkció vizsgálata**

A MASP-2 egy hat doménből álló mozaik fehérje, amely önmagában túl flexibilis ahhoz, hogy kristályosítsuk. A MASP-2 szintetikus génjét megterveztük, megszintetizáltattuk és eukarióta expressziós rendszerben kifejeztük a teljes hosszúságú molekulát, egyelőre kisebb mennyiségben. Letermeltük az ekotin vad típusú és P1 Arg variánsát a kísérletekhez elegendő mennyiségben és tisztaságban.

### **3. Horváti Kata, Mándity István, Beke-Somfai Tamás**

#### **Antimikrobiális potenciállal rendelkező önszerveződő oligopeptidok**

Együttműködésünk célja olyan új, hatékony antimikrobiális peptidok (AMPk) és származékok tervezése és előállítása, amelyek enzimrezisztenciáját, szelektivitását és biohasznosíthatóságát nem-természetes peptid foldamerek beépítésével tervezzük növelni. Munkánk során humán és egyéb organizmusokhoz köthető antimikrobiális peptidokat állítottunk elő és meghatároztuk a biofizikai és *in vitro* tulajdonságaikat. A foldamerek beépítésének optimális pozícióját molekuladinamikai szimulációk segítségével határoztuk meg. Ezen számítások alapján tervezzük a további szintéziseket.

### **4. Monostory Katalin, Szakács Gegely**

#### **Terápia-rezisztenciához vezető farmakokinetikai változások a daganatokban**

A daganatos sejtek megváltozott gyógyszer-elimináló képessége miatt kialakuló terápia-rezisztencia igazolásához 1) citokróm P450 'overexpresszió'-val rezisztenssé tett sejtvonalat hoztunk létre. A rezisztens adenocarcinoma (EKVX) sejtekben a paclitaxel metabolizmusában döntő szerepet játszó CYP2C8 kifejeződése jelentősen megnövekedett (mRNS és fehérje szinten) a parentális sejtekhez képest, ami a paclitaxel érzékenységet szignifikánsan befolyásolta. 2) A tumorokra jellemző genomi instabilitás miatt bekövetkező metabolizáló enzim-variációk (deléció, multiplikáció) vizsgálatára alkalmas módszert dolgoztunk ki, amelyet betegekből származó tüdő adenocarcinoma mintákon tesztelünk.

### **5. K. Menyhárd Dóra, Oláh Julianna**

#### **Hem enzimek szerepe a jelátvitelben és a rák kialakulásában és kezelésében**

A sejtszintű gázérzékelés megértésének céljából CO, NO és O<sub>2</sub> gázok diffúzióját vizsgáltuk három bakteriális H-NOX fehérje esetében molekuladinamikai számítások segítségével, és elkezdtük a QM/MM számításokat a spin-tiltott kémiai reakció mechanizmusára vonatkozóan. Megállapítottuk a három gáz diffúziós reakciósebességi együtthatóját a három fehérjében, amely O<sub>2</sub>>NO>CO sorrendben csökken, meghatároztuk a diffúziós útvonalakat és a gáztároló zsebeket. Két fő diffúziós útvonalat azonosítottunk, amely a hemzsebbe vezet, s megmutattuk, hogy különböző zsebek léteznek az egyes gázok tárolására.

### **6. Orbán Tamás, Vellai Tibor**

#### **Piwi fehérjék szerepe a nem öregedő (csíravonal és tumor) sejtekben**

A PIWI fehérjék ektopikus expressziója szomatikus sejtekben megnövelte *C. elegans* (fonalféreg) és *Drosophila* (rovar) modellállatok élettartamát, igazolva ezzel a fehérjék öregedésben betöltött sejtélettani szerepét. A humán PIWI fehérjéket vizsgálva kiderült, hogy a 4 paralóg (PIWIL1-4) kifejeződése szövet specifikus mintázatot mutat, így adott sejtípusokban az egyes fehérjék funkciója egyedileg vizsgálható. Kutatásaink jelenlegi fázisában célzott kísérletekkel próbáljuk felderíteni a PIWI fehérjék kölcsönható partnereit és RNS szubsztrátjait, és ezeken keresztül megérteni, hogy a humán paralógok közül melyek játszanak szerepet a mobilis genetikai elemek repressziójában, így a sejtek genomi stabilitásának megőrzésében.

### **7. Patthy László, Perczel András**

#### **Különböző Wnt-paralógokra specifikus WIF1 fehérjék előállítása**

A WIF1 fehérje N<sup>15</sup>-izotópjelölt WIF-doménjét bakteriális expressziós rendszerben állítottuk elő és meghatároztuk a fehérje HSQC spektrumát. A Wnt3a fehérjét egér L sejtekben állítjuk elő, hogy NMR spektroszkópiai módszerekkel vizsgálhassuk a WIF domén-Wnt kölcsönhatást. Egér L sejtekben koexpresszáljuk a teljes hosszúságú WIF1 és a Wnt3a fehérjéket annak érdekében, hogy krio-elektronmikroszkópiával meghatározhassuk a Wnt3a-WIF1 komplex térszerkezetét.

### **8. Poppe László, Vértessy Beáta, Bóta Attila**

#### **MIO enzimek szerkezetvizsgálata**

Aminosavakat átalakító MIO enzimek (aromás ammónia-liázok: HAL, PAL, TAL; és 2,3-aminomutázok: PAM ill. TAM) szerkezeteit és reakciómechanizmusát vizsgáltuk röntgenkristallográfiával, kisszögű röntgenszórással valamint molekuladinamikai szimulációkkal. Az újonnan felderített konzervált bekötődési útvonalakat célzott mutációkkal zártuk el, mely az enzimek aktivitását, illetve esetenként a szubsztrát- és enantiopreferenciáját is befolyásolta. Funkciójuk és mechanizmusuk jobb megértésének érdekében folyamatban van további ígéretes MIO enzimek (növényekben fellelhető izoenzimek, ősbaktériumokban található homológok) felkutatása bioinformatikai módszerekkel.

**9. Mező Gábor, Varga Zoltán, Szakács Gergely**

**Új megközelítés a multidrog rezisztens tumorok hatékony kezelésére**

Előállítottuk a multidrog rezisztencia – szelektív Q4 hatóanyag liposzómás formulációját és kimutattuk, hogy a formuláció már 4 óra alatt is jelentős *in vitro* citotoxikus hatással bír.

Elvégeztük a Q4 liposzómás formuláció pontos méret és koncentráció meghatározását mikrofluidikus ellenállás impulzus méréssel (MRPS).

Előállítottuk a liposzómák célzott tumorterápiában való felhasználását biztosító célzó peptid lipid-konjugátumát (DSPE-PEG2000-SREKA) és elvégeztük annak analitikai jellemzését.

**10. Szeltner Zoltán, Harami Gábor, Harami-Papp Hajnalka, Kovács Mihály, Szüts Dávid**

**A sérült DNS replikációjának vizsgálata sejtízátumokban**

Projektünk célja a sérült DNS replikációs mechanizmusainak vizsgálata sejtízátumokban szintetikus léziókat tartalmazó plazmidok és SV40 T antigén felhasználásával. A replikációs termékek szekvenálásával sikerült a lizátumokban aktív transzléziós szintézist, valamint nukleotidkivágó hibajavítást kimutatni. Fúziós fehérjék illetve a kötőhelyeket tartalmazó peptidok hozzáadása segítségével megmutattuk a PCNA fehérje interakcióinak és poszttranszlációs módosításainak szerepét a transzléziós szintézis folyamatában.

**11. Nyitray László, Schlosser Gitta, Turiák Lilla**

**S100 fehérje-fehérje kölcsönhatások specificitási térképe**

Elkészítettük az S100 család első specificitási térképét korlátozott számú kötőpartner felhasználásával, FP és ITC módszerekkel, valamint fenetikai és filogenetikai elemzéssel (PCA, UPGMA). Az eredmények publikálása folyamatban van (Simon et al, FEBS J). Az interaktomikai vizsgálatokhoz a megfelelő sejtípus kiválasztásán dolgoztunk és a sejtfeltárási, minta-előkészítési módszer optimalizálását kezdtük meg és MS mérések is történtek előkísérletek szintjén.