

Bodor Andrea
ELTE TTK Kémiai Intézet,
Szerkezeti Kémia és
Biológia Laboratórium

*NMR
spektroszkópia*

Kalmár Lajos
MTA-TTK Enzimológiai
Intézet

*Bioinformatikai
analízis*

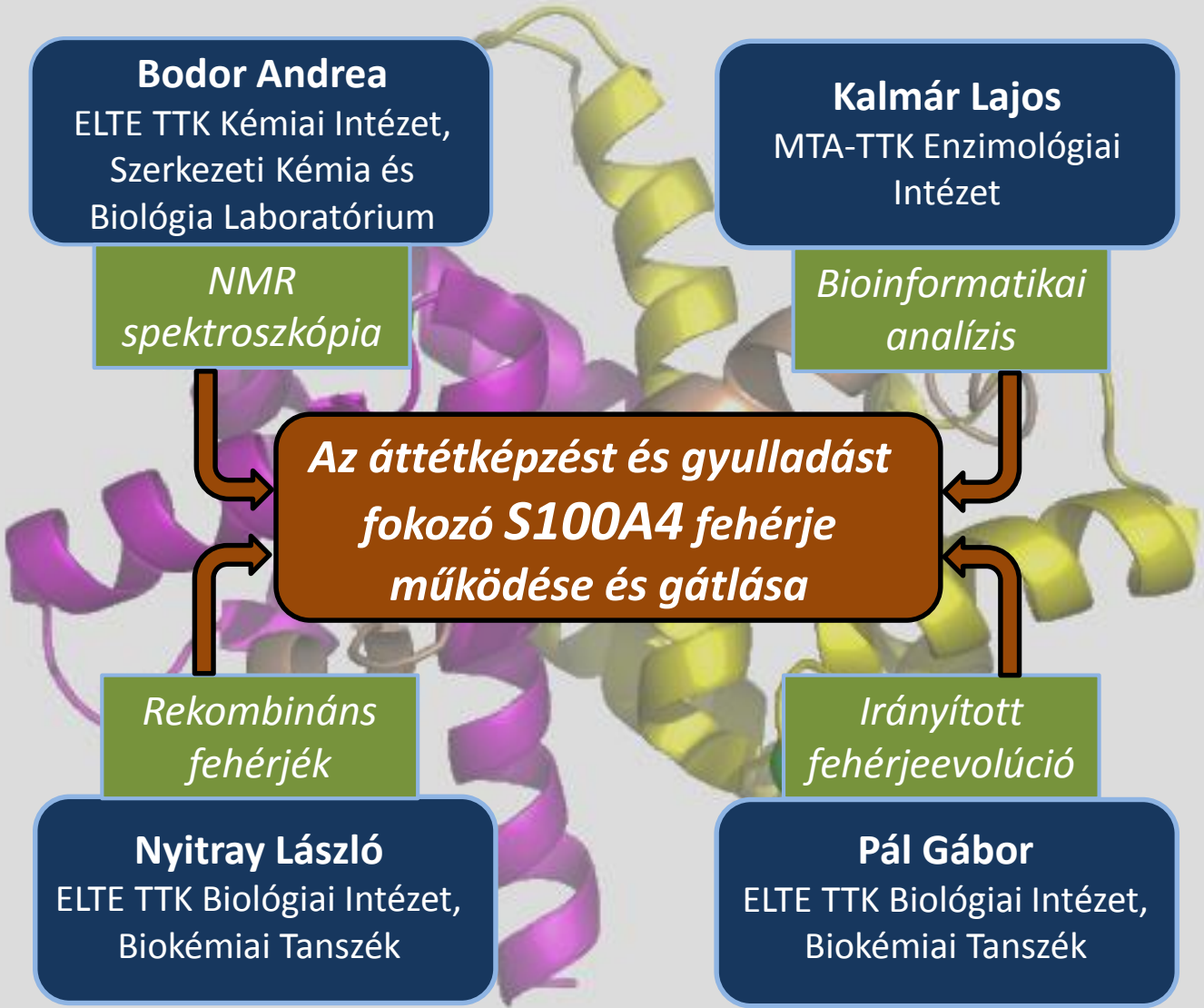
***Az áttétképzést és gyulladást
fokozó S100A4 fehérje
működése és gátlása***

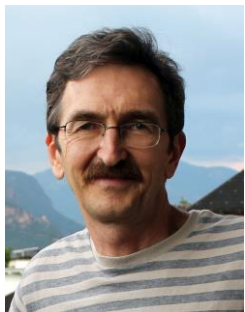
*Rekombináns
fehérjék*

Nyitray László
ELTE TTK Biológiai Intézet,
Biokémiai Tanszék

*Irányított
fehérjeevolúció*

Pál Gábor
ELTE TTK Biológiai Intézet,
Biokémiai Tanszék





Nyitray László és munkacsoportja

ELTE Biokémiai Tanszék

- Tudományterület: **biokémia / szerkezeti biológia**
 - Miozin motorfehérje szerkezet/funkció vizsgálatok
 - Fehérje-fehérje kölcsönhatások (PPI) vizsgálata
- Vállalás a szinergia projektben:
 - Rekombináns fehérjék előállítása
 - Fehérjekomplexek kvantitatív és funkcionális jellemzése



← **Kiss Bence**

S100A4/metasztazin

Gerinces-specifikus „EF-hand” Ca^{2+} -kötő fehérje
Funkciók (intra- és extracelluláris)

Kemotaktikus
sejtmigráció

EMT(ransition)

ECM
remodeling

Axon kinövés

Citokin-szerű
hatás

Túltermelődés → diszfunkciók, betegségek

Sejtmotilitás
fokozódik

Inváziós képesség

Sejttúlélés

Metasztázis

Reumás artritisz

Fibrózisok

Allergia

S100A4 célfehérjék

extracelluláris

AREG

RAGE

HSPG

uPAR

CCN3

TG2

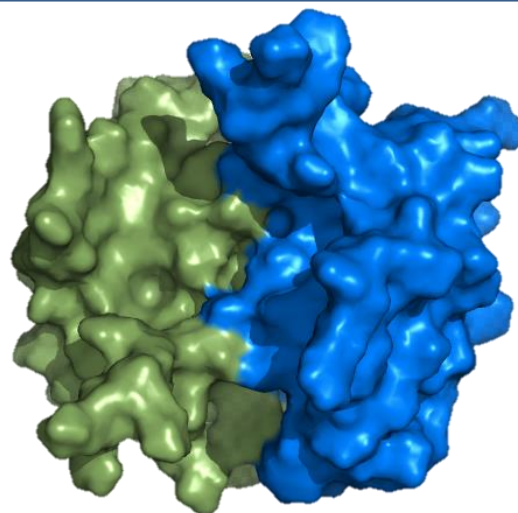
egyéb

MetAP2

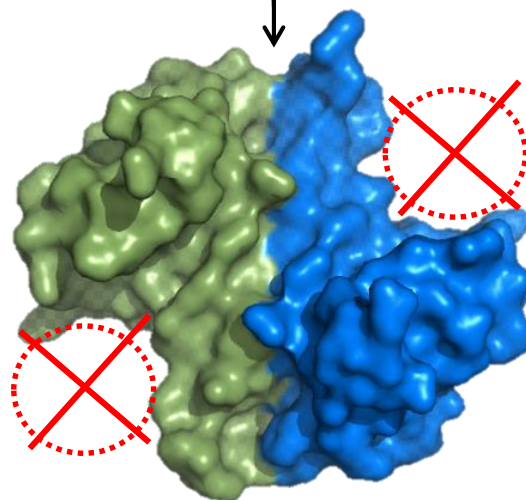
S100A1

p37

septins



Ca²⁺



citoszkeleton

liprin β 1

NM2A

NM2C

ezrin

ANXA2

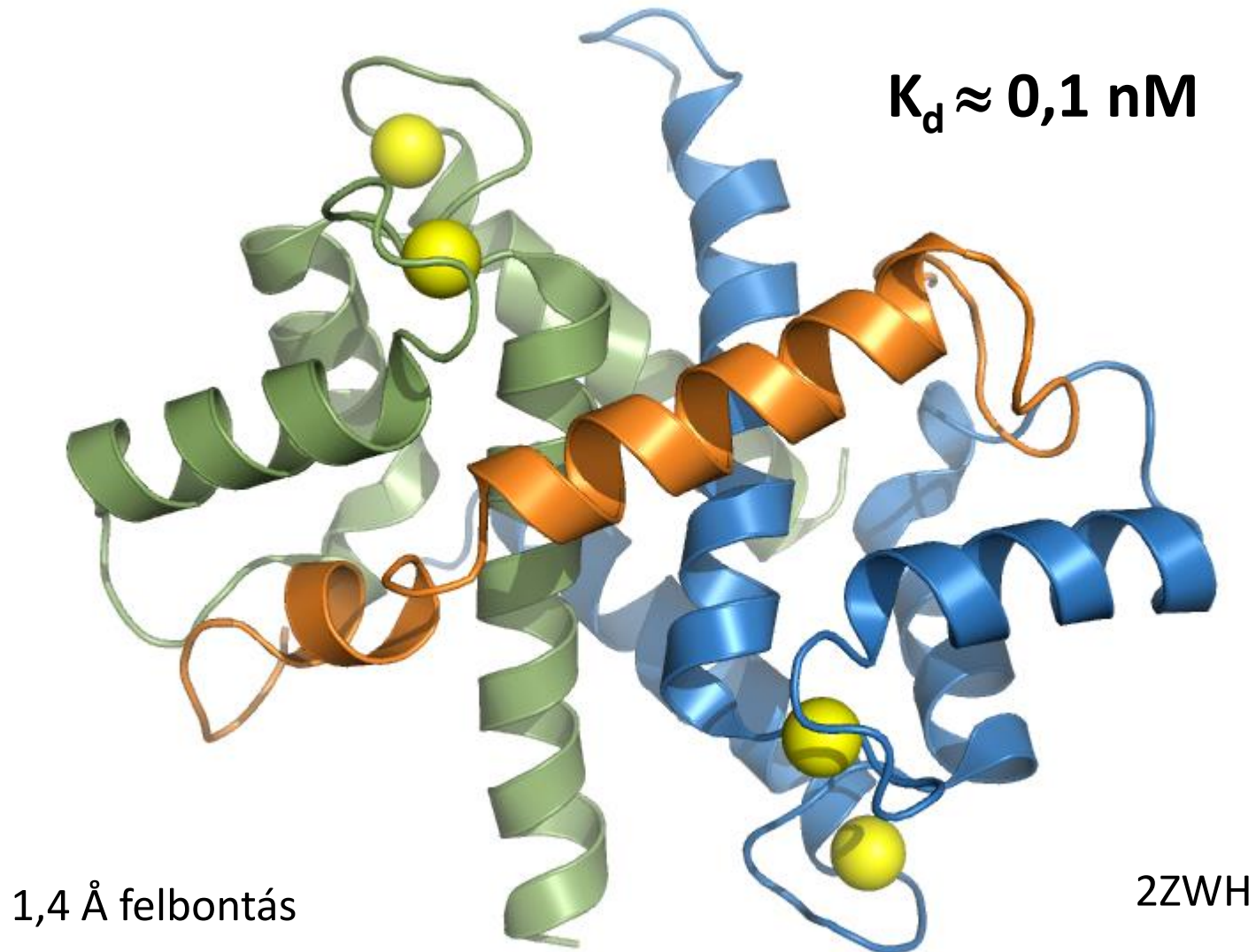
apoptózis

p53

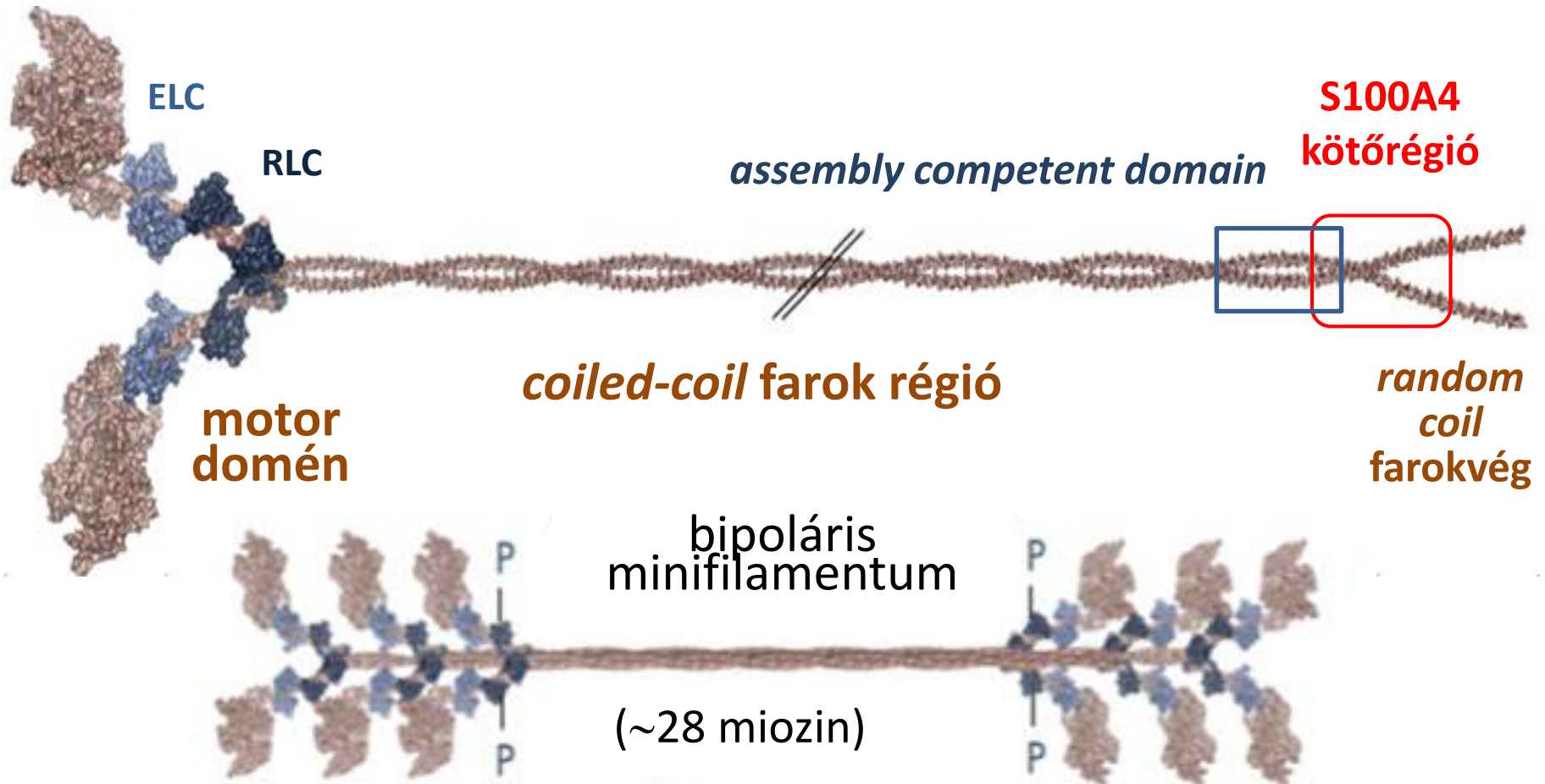
MDM2

Kölcsönhatás gátlása: terápiás hatás!

Aszimmetrikus S100A4-NM2A komplex



Nem-izom miozin-2A (NM2A)

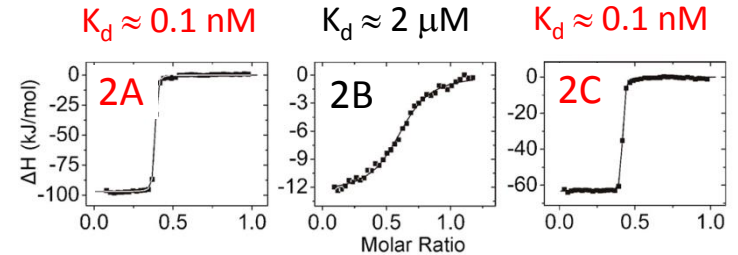


**+ S100A4 → miozin filamentumok szétesnek →
sejtadhézió csökken → sejtmigráció fokozódik**

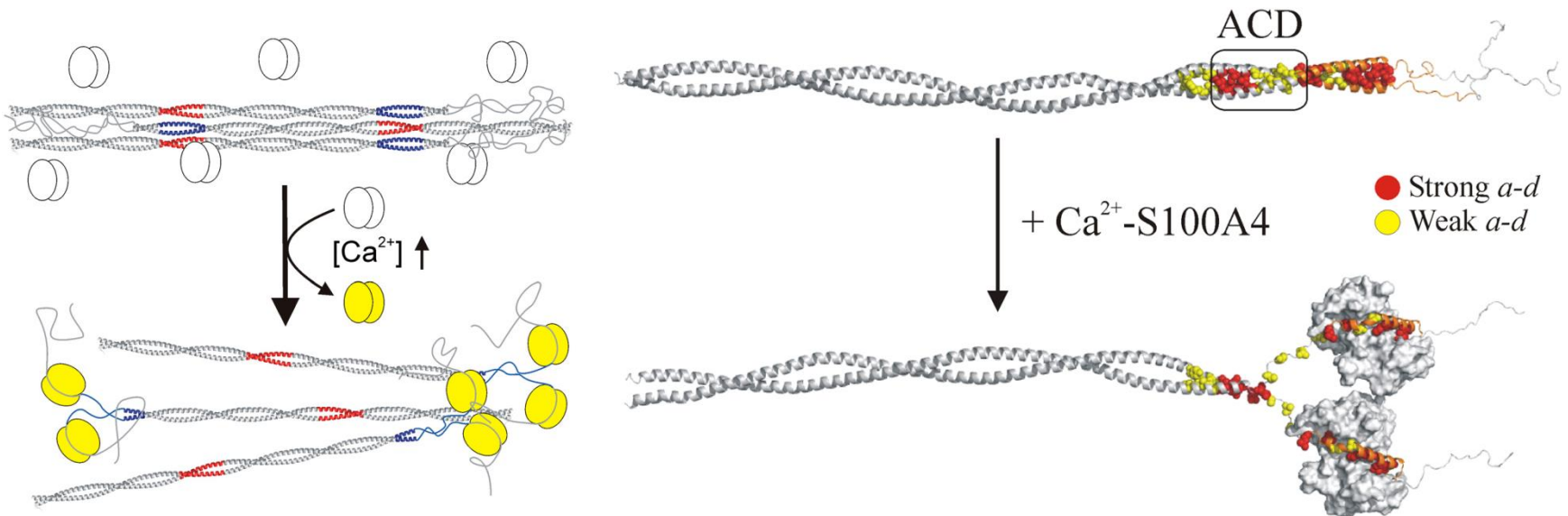
Célkitűzések

- Az S100A4-NM2 kölcsönhatás izoforma specifitásának molekuláris háttere

NM2A 1894 1904 1914 1924 1934
 Y R K L Q R E L E D A T E T A D A M N R E V S S L K N K L R R G D L P F V V P R R M A R K
 NM2B Y D A N E G L S T R G P I S F S S S . S G . R
 NM2C Y . R V . . S . E S T T . R . R P . T F T T R T V R Q V F



- Az S100A4-NMIIA kölcsönhatás és a filamentum szétesés mechanisztikus leírása



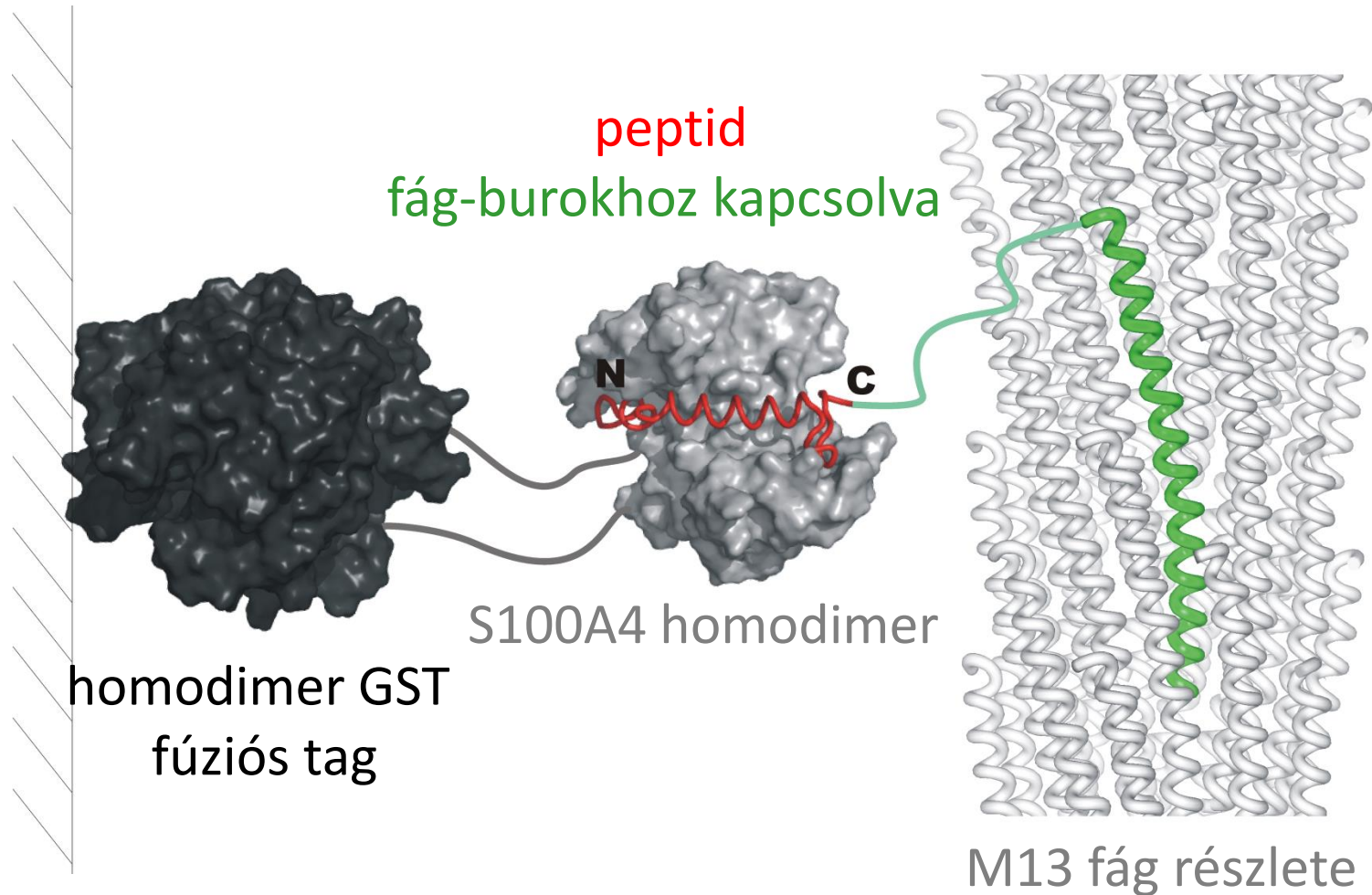


Pál Gábor

ELTE Biokémiai Tanszék

- Tudományterület: **biokémia / molekuláris biológia**
 - Specialitás: fehérje-fehérje kölcsön-hatások törvényszerűségeinek feltárása és új kölcsönhatások létrehozása *irányított fehérje-evolúcióval*
- Vállalás a szinergia projektben:
 - az S100A4 – NM2A kölcsönhatás részletes jellemzése irányított evolúcióval
 - nagy affinitású S100A4-antagonista peptidek evolválása

Az S100A4-kötő NM2-peptideket bakteriofág felszínén fejezzük ki

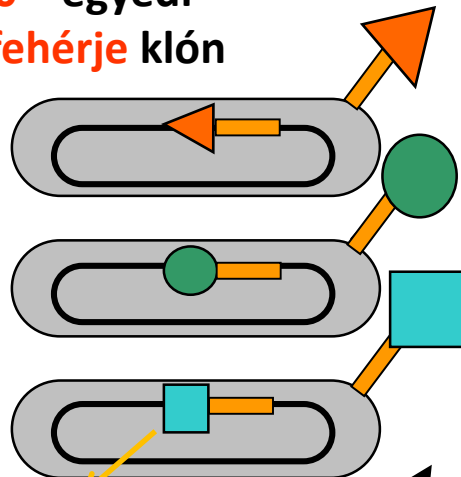




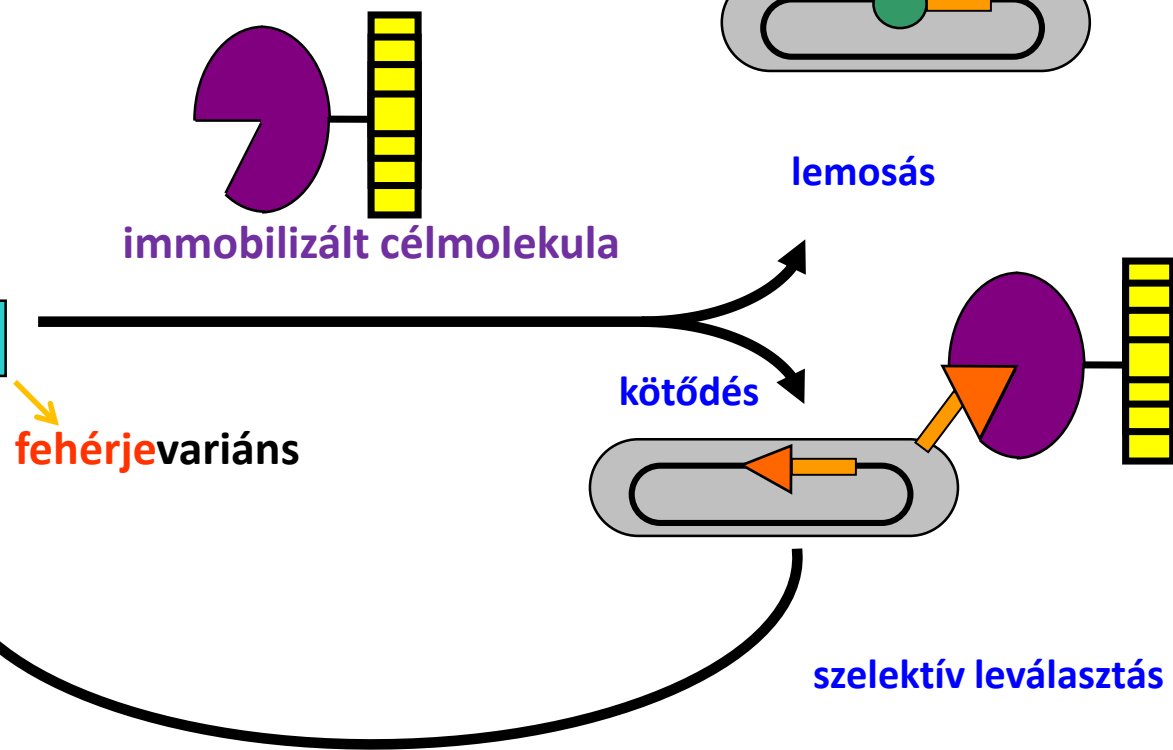
Írányított fehérjeevolúció fág-bemutatással

1) irányított variációképzés

$\approx 10^{10}$ egyedi fág-fehérje klón



2) in vitro szelekció immobilizált célmolekula kötése alapján



3) a szelektíven leválasztott funkcionális klónok elszaporítása baktériumban

NM2 izoformák S100A4-kötő régiójának evolválása

A



Erős kötők {
Gyenge kötő

NM2A	RK	LQ	RE	LE	DA	TET	AD	AM	NRE	VSS	LKN	KL	RR	GD	LP	FV	PR	RM	ARK														
NM2C	.	R	V	.	S	.	ES	.	.	.	TT	.	R	.	R	.	.	.	P	.	TF	TR	TV	RQ	VF		
NM2B	D	.	.	.	AN	EG	LS	.	.	.	T	.	.	R	.	.	.	GP	IS	F	SS	.	SG	.	R

izoforma diverzitás a helikális részen

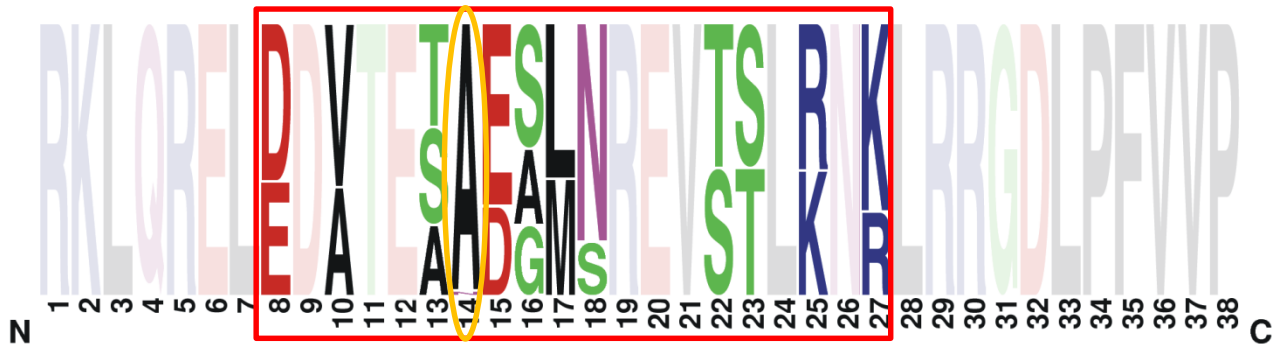
B



az izoforma-könyvtár szelekció előtti diverzitása

weblogo.berkeley.edu

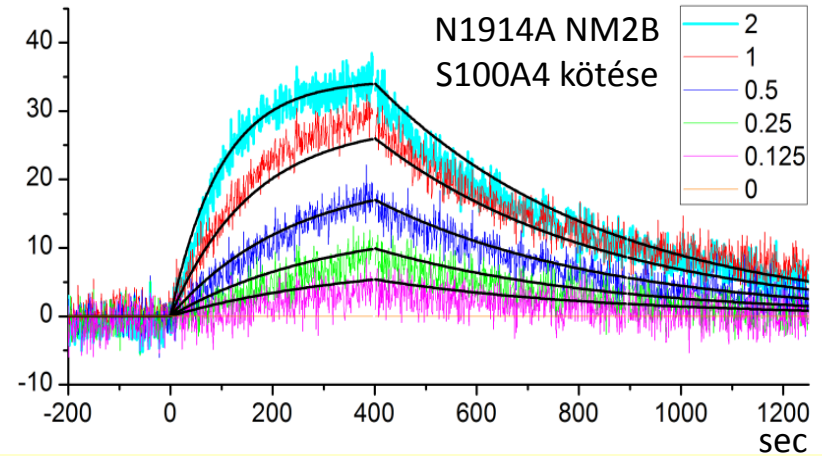
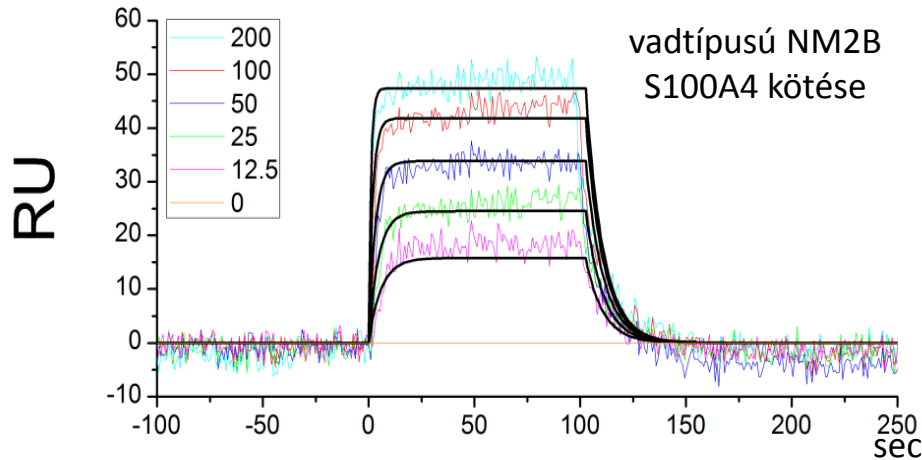
C



az izoforma-könyvtár szelekció utáni diverzitása

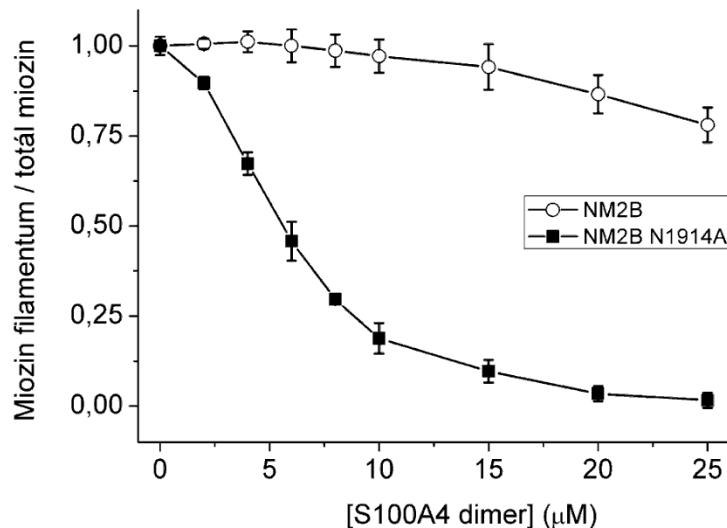
weblogo.berkeley.edu

Azonosítottuk az izoformák legfontosabb eltérését: Az N1914A csere erős S100A4-kötőve teszi a gyenge B izoformát



Felületi plazmon rezonancia:

az N1914A aminosav csere erőssé teszi az NM2B gyenge S100A4-kötését



Fényszórás:

Az S100A4 nem képes szétzilálni a gyengén kötődő NM2B miozin filamentumait.

Az S100A4 hatékonyan szétzilálja az N1914A NM2B miozin filamentumait

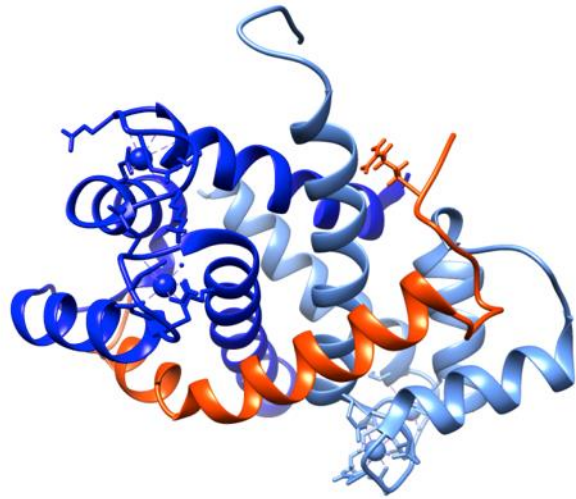


Kalmár Lajos

MTA TTK Enzimológiai Intézet

- Tudományterület: **szerkezet biológia / bioinformatika**
 - Specialitás: **Rendezetlen fehérjék** szerkezeti és funkcionális jellemzése, evolúciójuk kutatása
- Vállalás a szinergia projektben:
 - az S100A4 – NM2A kölcsönhatás részletes jellemzése molekula dinamikai szimulációval
 - Rendezetlen szakaszok evolúciós jellemzése, izoformák összehasonlítása

Az NM2A - S100A4 komplex kialakulásának modellezése



**Komplex ismert
röntgenszerkezete**

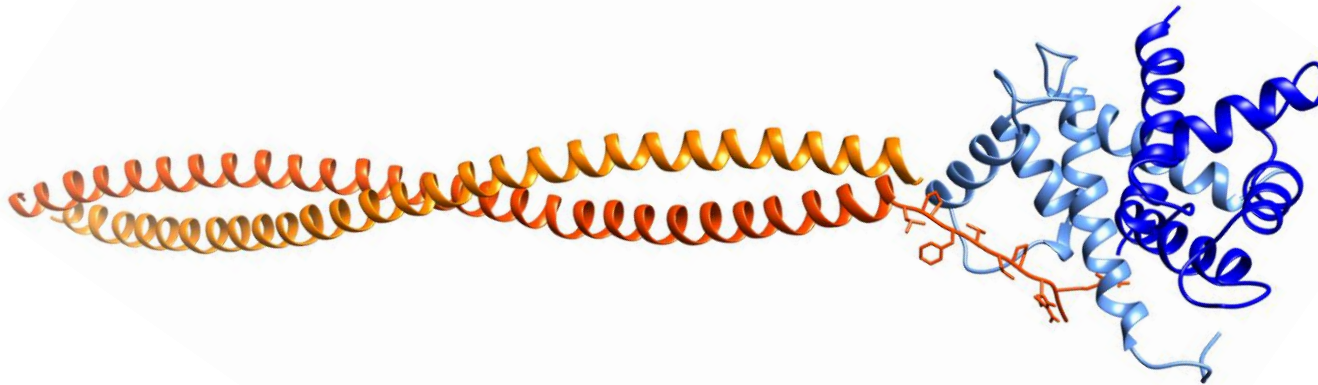
NM2A szekvencia



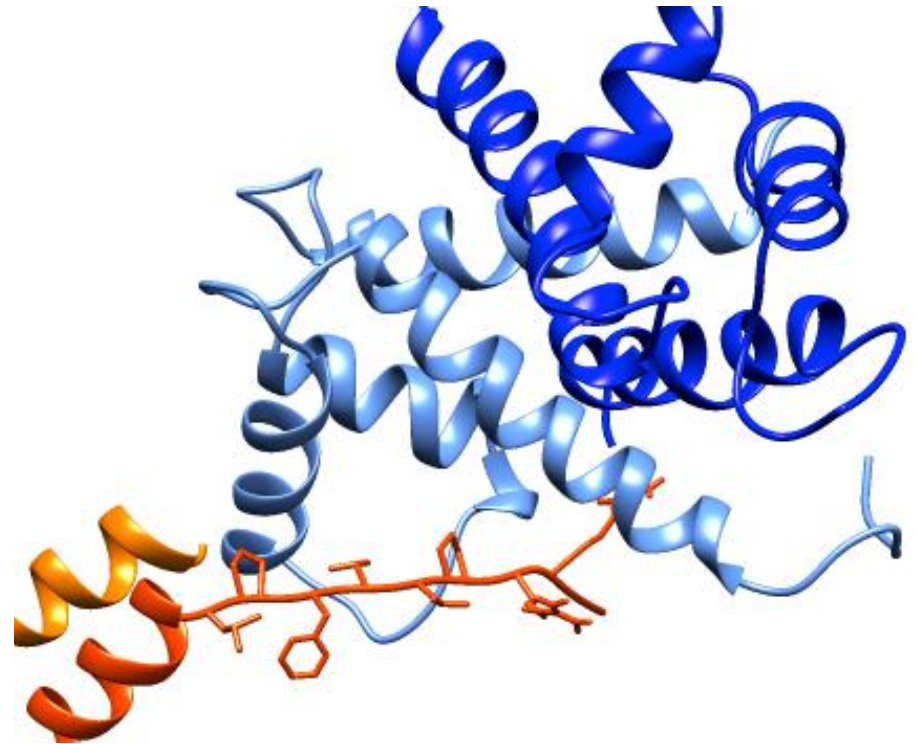
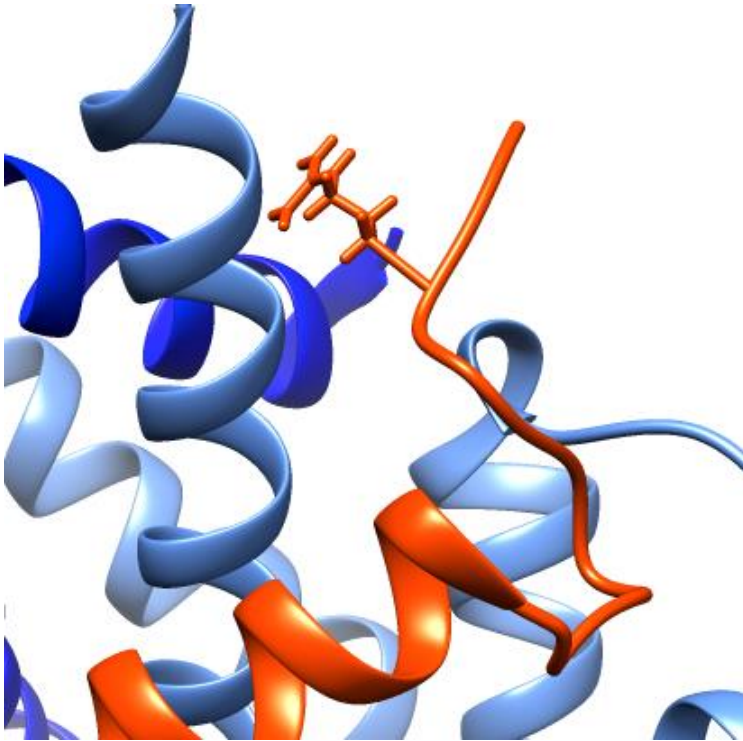
COILS predikció



CCBuilder

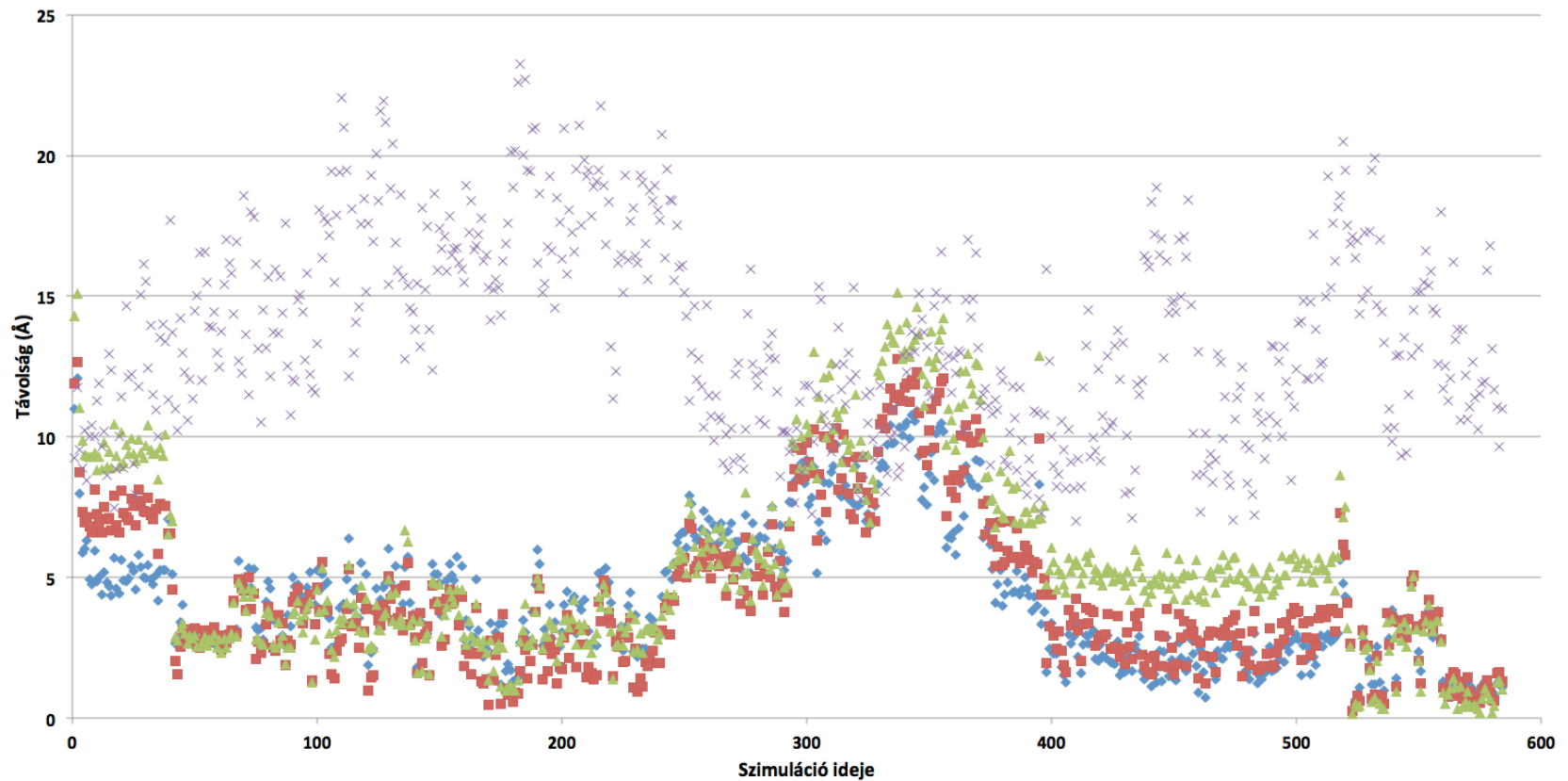


Az NM2A - S100A4 komplex kialakulásának modellezése

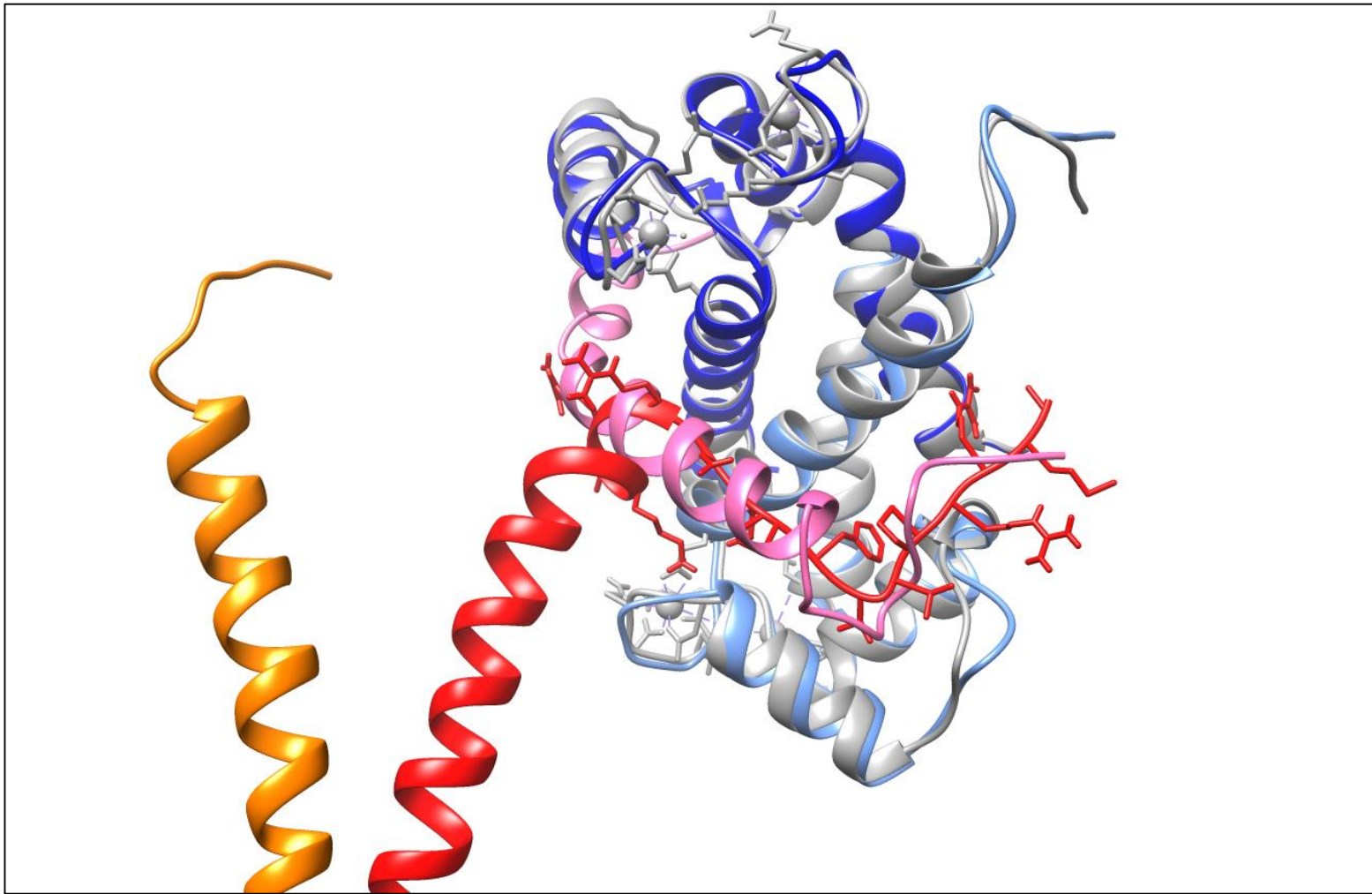


TRLKQLKRQLEEAEEEAQRANASRRKLQRELE DATETADAMNREVSSLKNKLRRGDLPFVVPRMA

Az NM2A - S100A4 komplex kialakulásának modellezése



Az NM2A - S100A4 komplex kialakulásának modellezése



Bodor Andrea

ELTE Kémiai Intézet

- Tudományterület: **NMR spektroszkópia**
 - Specialitás: **Fehérjék** szerkezeti és dinamikai jellemzése
- Vállalás a szinergia projektben:
 - az S100A4d13 szabad és NM2A kötött komplexének jellemzése és összehasonlítása;
 - A p53 és az S100A4-p53 komplex jellemzése;
 - gyors NMR módszerek alkalmazása, alkalmazhatósága

Az NMR spektroszkópia a fehérjetudományokban

SZERKEZET

- 1) Jelhozásrendelés, kémiai eltolódás: szerkezeti motívum
- 2) Távolsági kényszerfeltételek: szerkezetszámolás

DINAMIKA

ps-ns, s-ms, s
Gerincmozgások
Doménmozgások
Kémiai csere

Molekulaméret, aggregáció

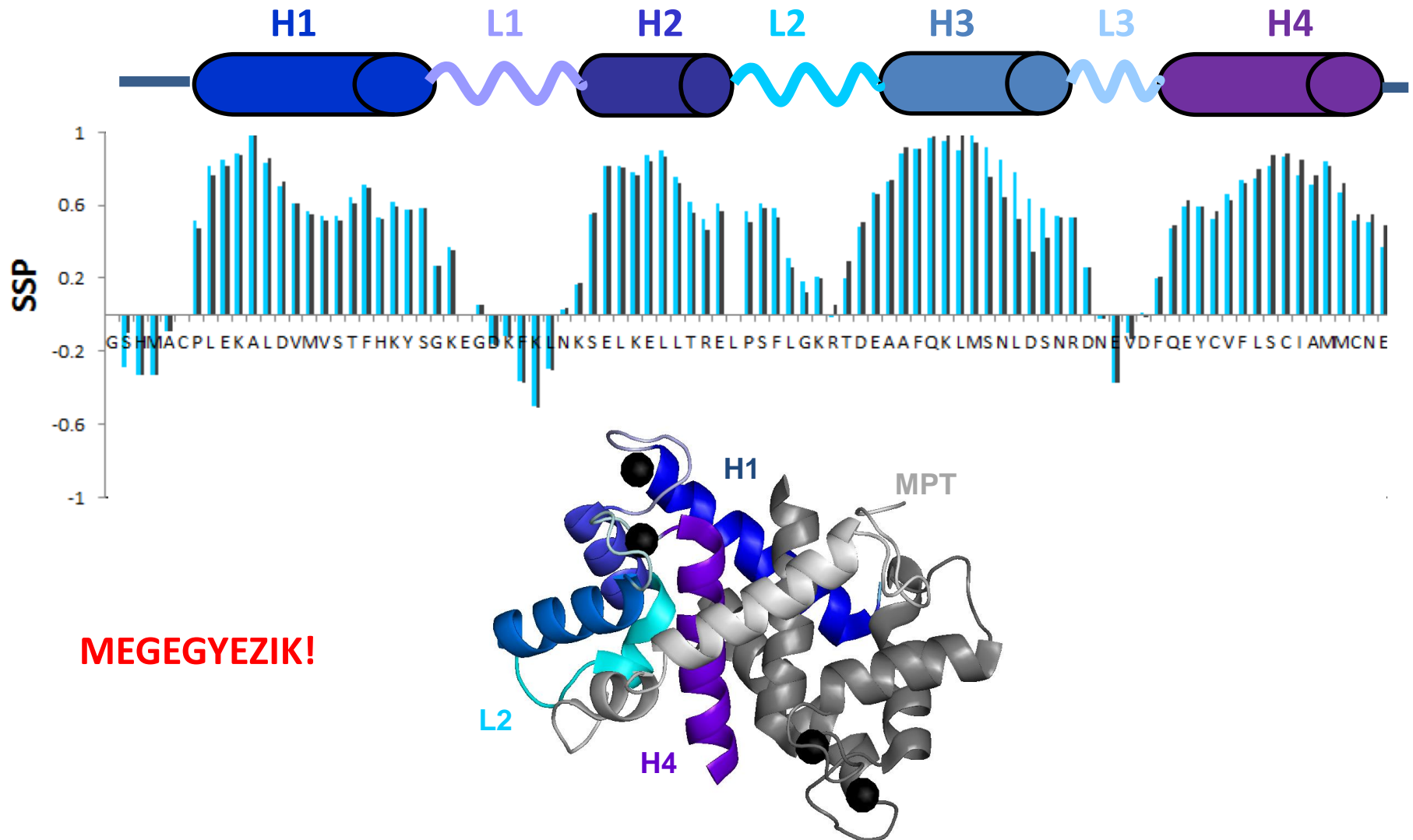
Kötődés vizsgálatok

In vitro vs in cell

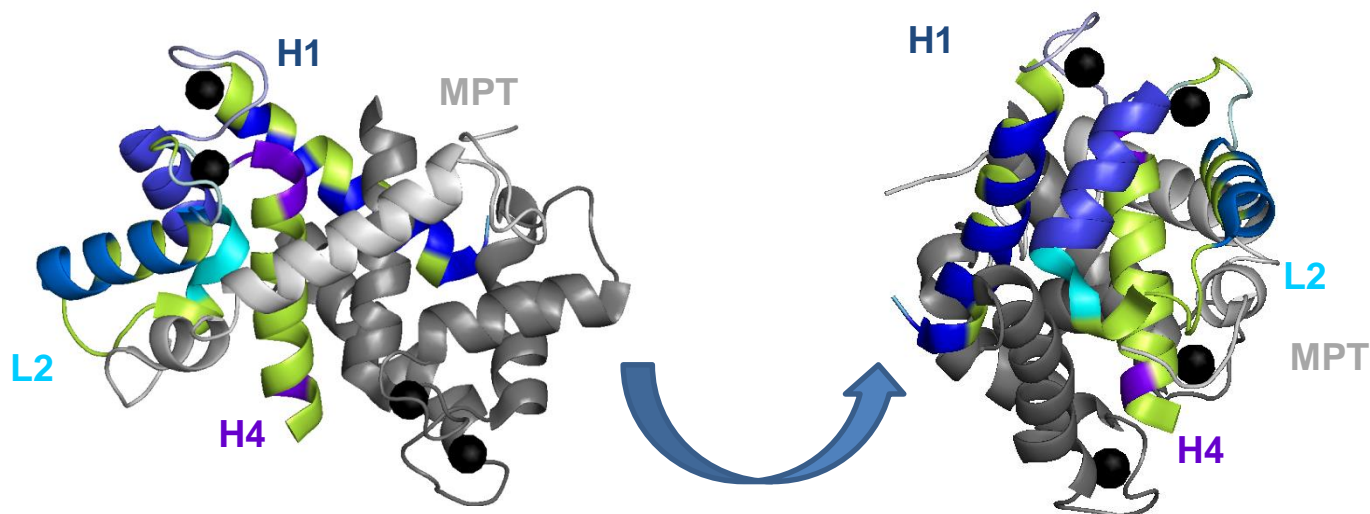
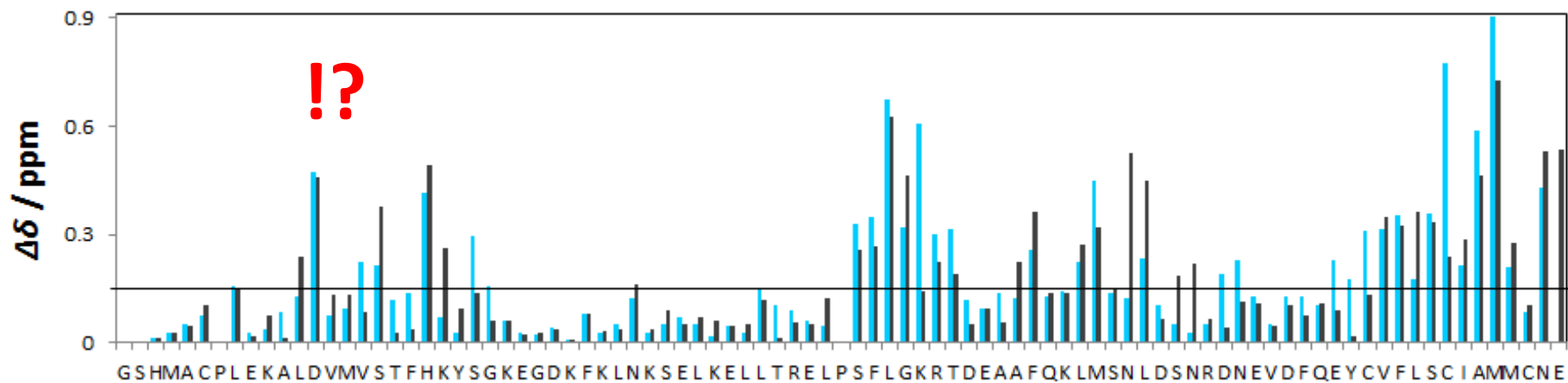
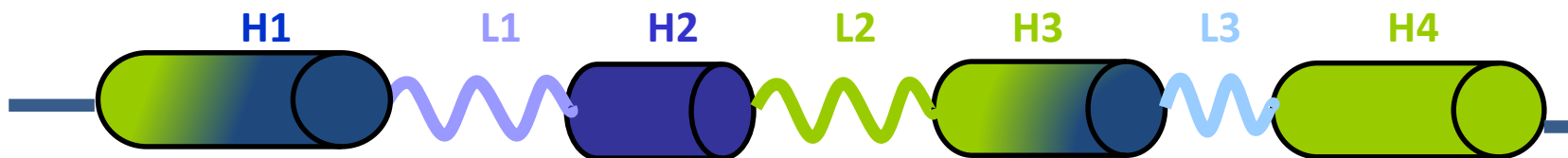
Klasszikus módszerek
GYORS módszerek

S100A4-NM2A: szerkezeti motívumok

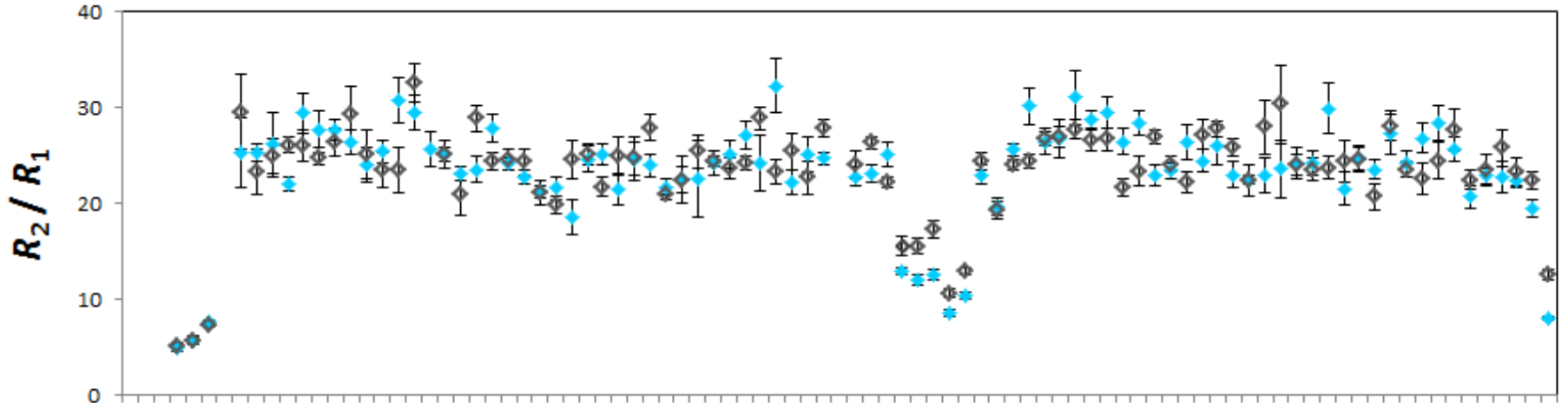
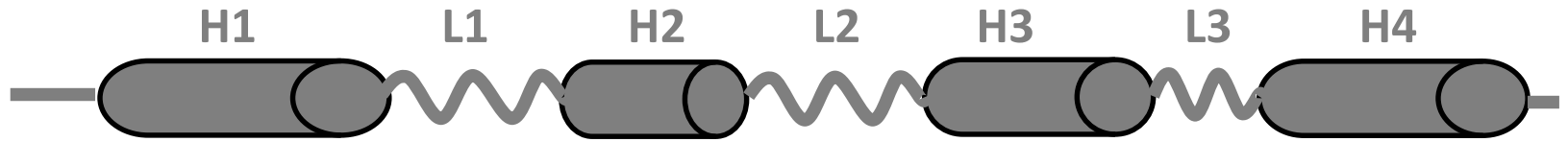
NMR vs. Kristályszerkezet



Kötőhelyek azonosítása

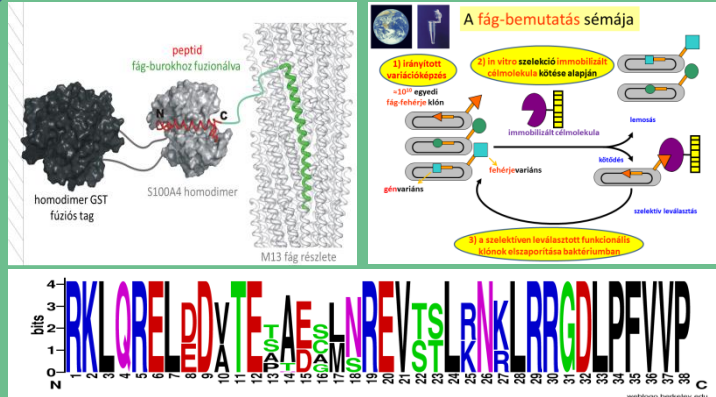


Relaxációs paraméterek





**Rekombináns fehérjék,
kölsönhatások mérése**



Irányított fehérjeevolúció

SZINERGIZMUS

Bioinformatikai analízis



NMR spektroszkópia





Szakterületeink részletes bemutatása

előadás sorozat

I. Az NMR spektroszkópia
október 21, 15.00

