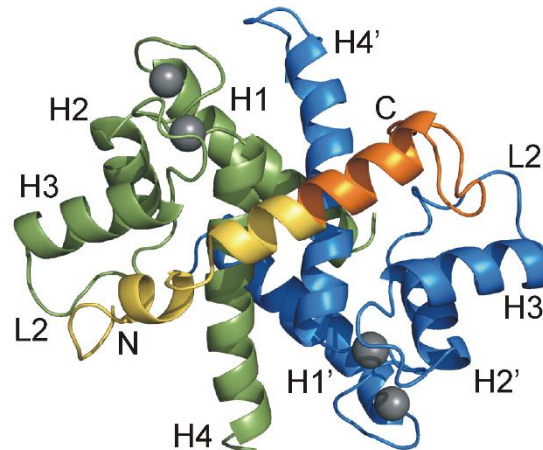


# Fehérjekomplexek szerepe jelátviteli és karcinogenezis folyamatokban

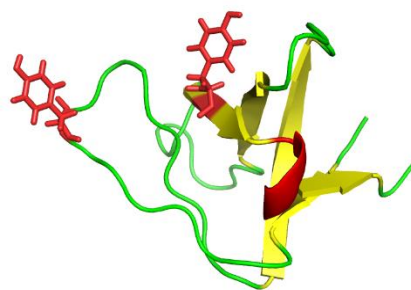
Buday László Nyitray László Vértessy Beáta



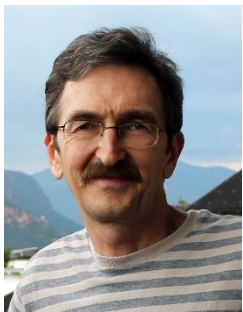


# Buday László és munkacsoportja

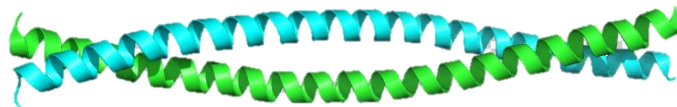
Tudományterület: **jelátvitel**



**SH3 domének tirozin foszforiláción keresztül megvalósuló regulációjának vizsgálata**



# Nyitray László és munkacsoportja



- Tudományterület: **biokémia / szerkezeti biológia**
  - Motorfehérjék (miozin) szerkezet-funkció összefüggések
  - Fehérje-fehérje kölcsönhatások (PPI) vizsgálata
    - LC8 csomóponti fehérje
    - S100 Ca<sup>2+</sup>-kötő fehérjecsalád





# Vértessy Beáta és munkacsoportja

Tudományterület: **genom metabolizmus**

**Uracil a DNS-ben: élettani szerep,  
molekuláris mechanizmusok**





# Biostruct Laboratórium

## Biostruct Laboratory

crystallography and more



[Genome Metabolism Laboratory](#)

[Lifesciservers](#)

[Contact us](#)

### WELCOME TO THE BIOSTRUCT LABORATORY



The laboratory was installed in May 2011, based on a major grant from the National Innovation Office. The state-of-the-art infrastructure allows crystallization and crystallography of small molecular compounds as well as macromolecules and their complexes. The infrastructure is available for qualified researchers.

#### Main

- > [Main Page](#)
- > [Instrument Setup](#)
- > [Projects](#)
- > [Gallery](#)
- > [Publications](#)
- > [News](#)
- > [Course 2013](#)

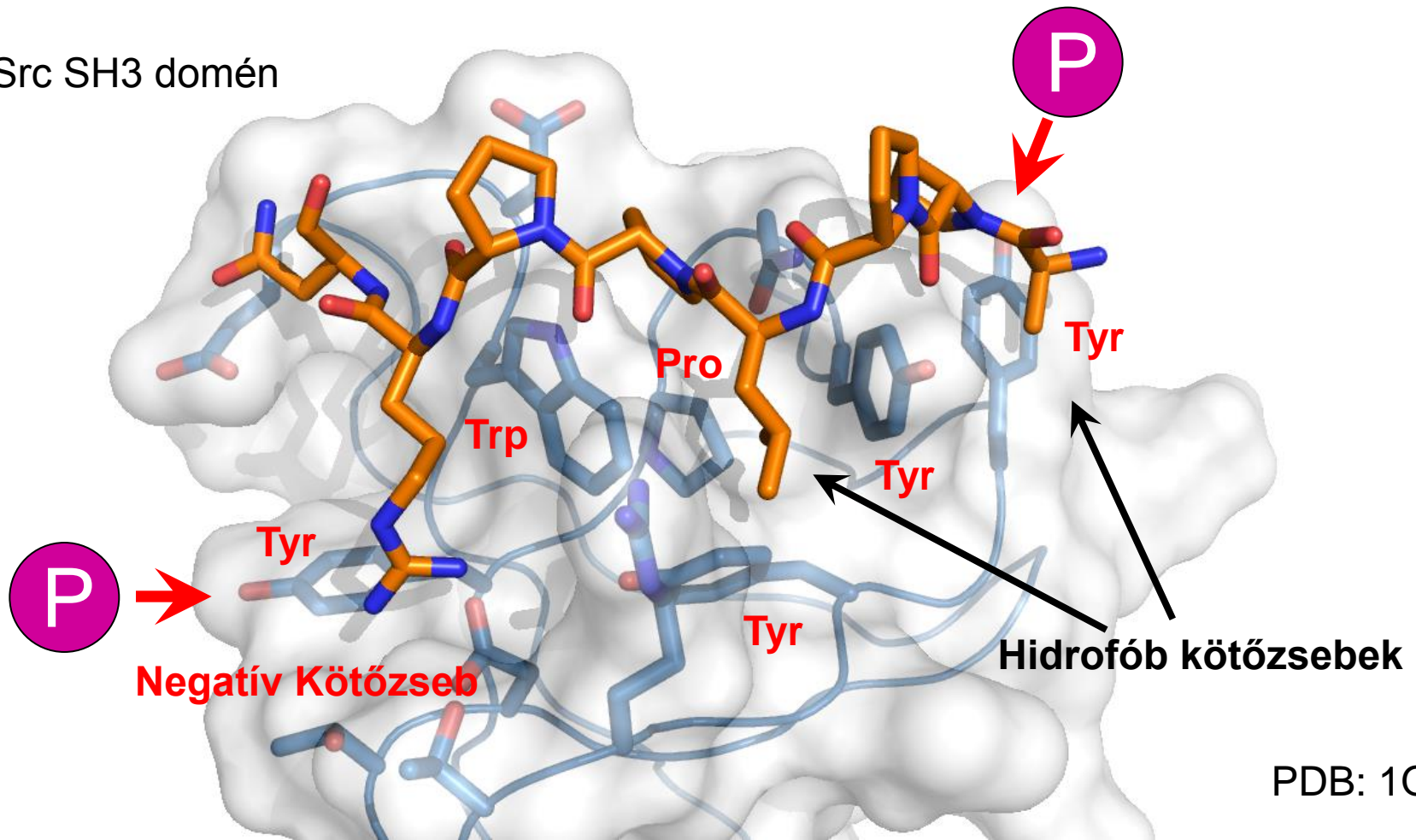
#### Members



# SH3 domének tirozin foszforiláción keresztül megvalósuló regulációjának vizsgálata

- Fehérje-fehérje interakciók
  - Lineáris kötőmotívumok: +xxPxxP vagy xPxxPx+
- Foszforiláció gyakran két konzervált tirozin-oldalláncon

c-Src SH3 domén



PDB: 1QWE

# Célkitűzés: A tirozin-foszforiláció SH3 doménekre gyakorolt hatásainak jellemzése

## Rekombináns fehérje expresszió

### SH3 domének:

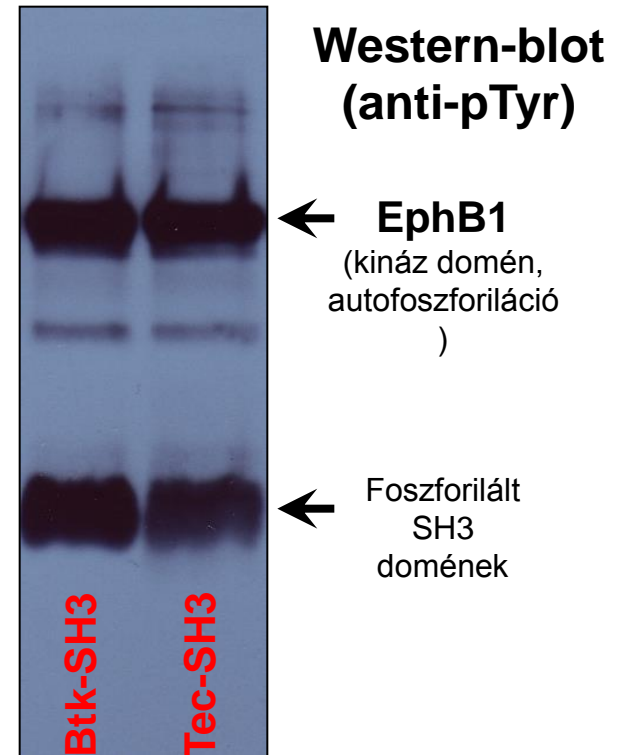
- **Kinázok:**
  - Btk
  - Tec
  - Abl1
  - Abl2
- **Adapter fehérjék:**
  - Grb2
  - Abi2
  - CrkII
- **Állványfehérjék:**
  - Caskin1

### Kináz domének:

- EphB1
- EGFR
- PDGFR
- Abl1
- Hck
- Tec

## Előzetes eredmények:

### *In vitro* foszforiláció



## Foszforilált SH3 doménekkel tervezett további vizsgálatok:

- **Ligandum kötés változásainak vizsgálata** (ITC, Stopped-flow, SPR)
- **Szerkezeti változások vizsgálata** (Röntgen-kristallográfia, NMR)

# S100 fehérje-fehérje kölcsönhatások szerkezetvizsgálata

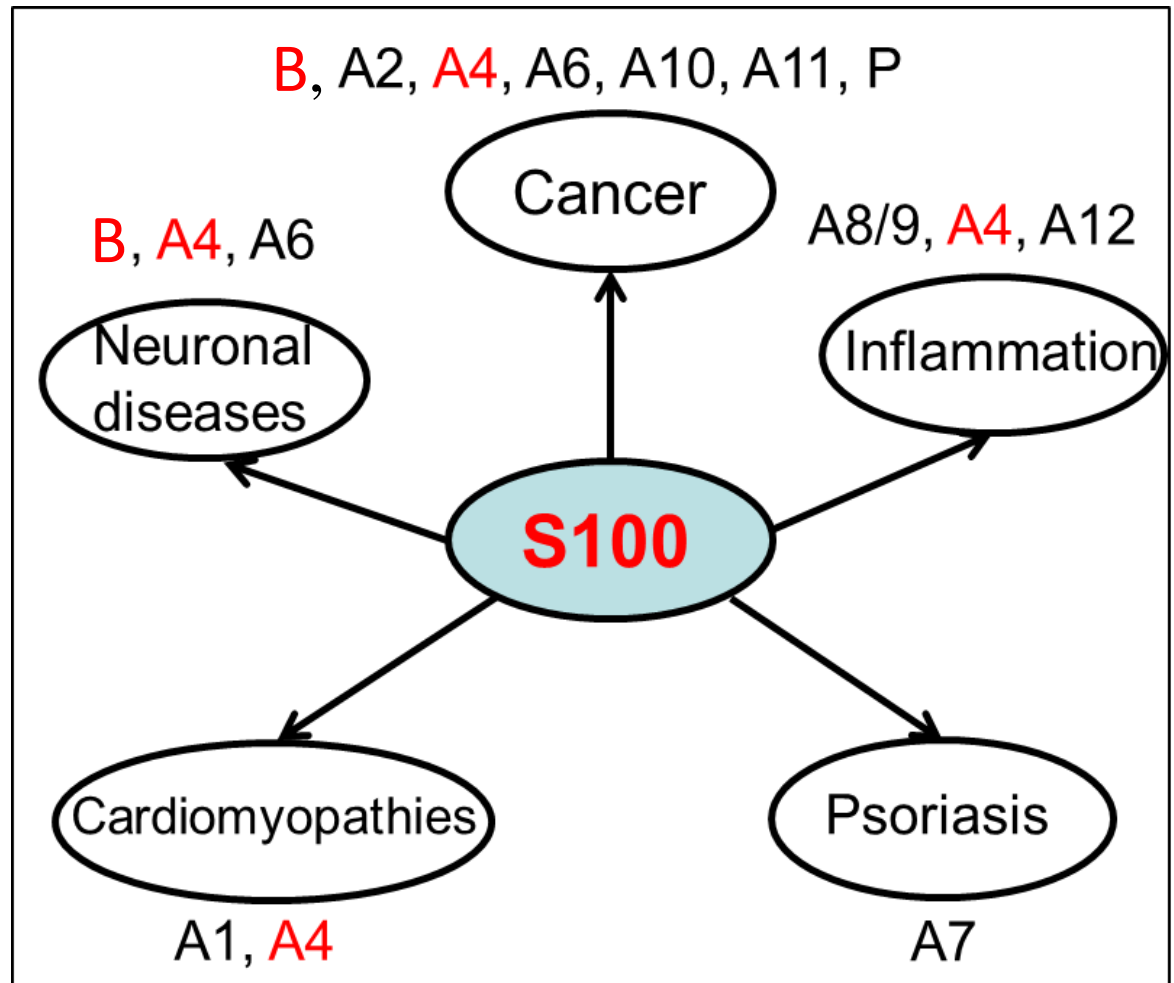
- Gerinces-specifikus  $\text{Ca}^{2+}$ -kötő fehérjecsalád (24 humán paralóg)
- $\text{Ca}^{2+}$ -kötés → fehérje-fehérje kölcsönhatások (PPI)
- Túltermelődés → betegségek

- **S100A4**

- Metasztázis
- Reumás artritisz
- Fibrózisok
- Allergia

- **S100B**

- Melanóma
- Agydaganatok



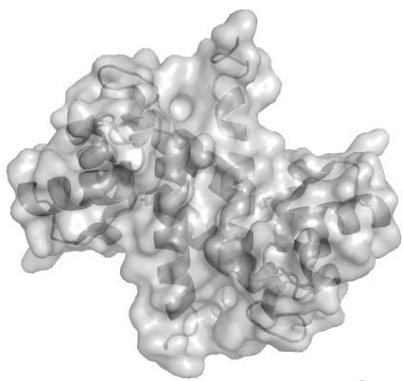


# S100-célfehérje komplexek

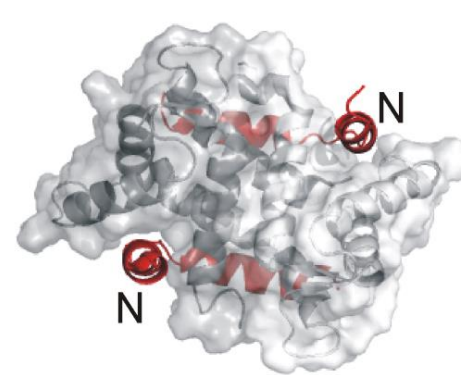
Potenciális terápiás célpontok!

(pl. tasquinimod: S100A9 inhibitor, prosztataraák ellen klinikai III. fázis)

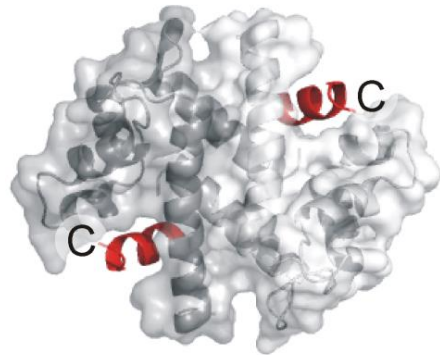
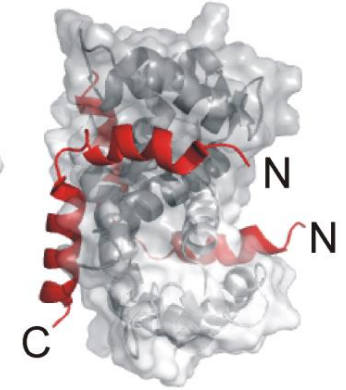
Irodalmi adatok: **szimmetrikus fehérje-fehérje kölcsönhatások**



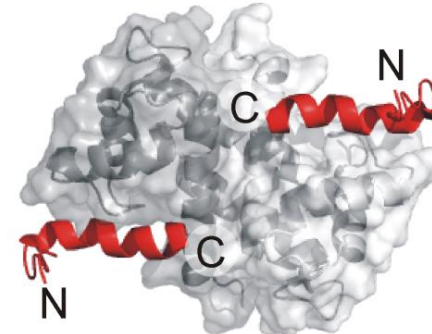
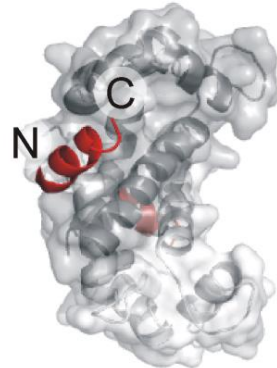
S100A4



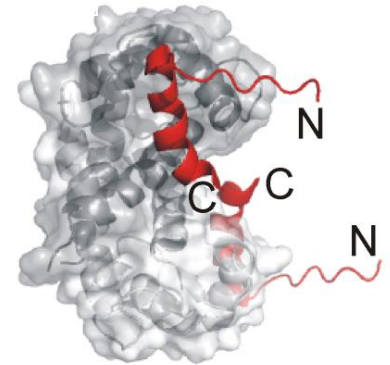
S100A6-SIP



S100A10-ANXA2

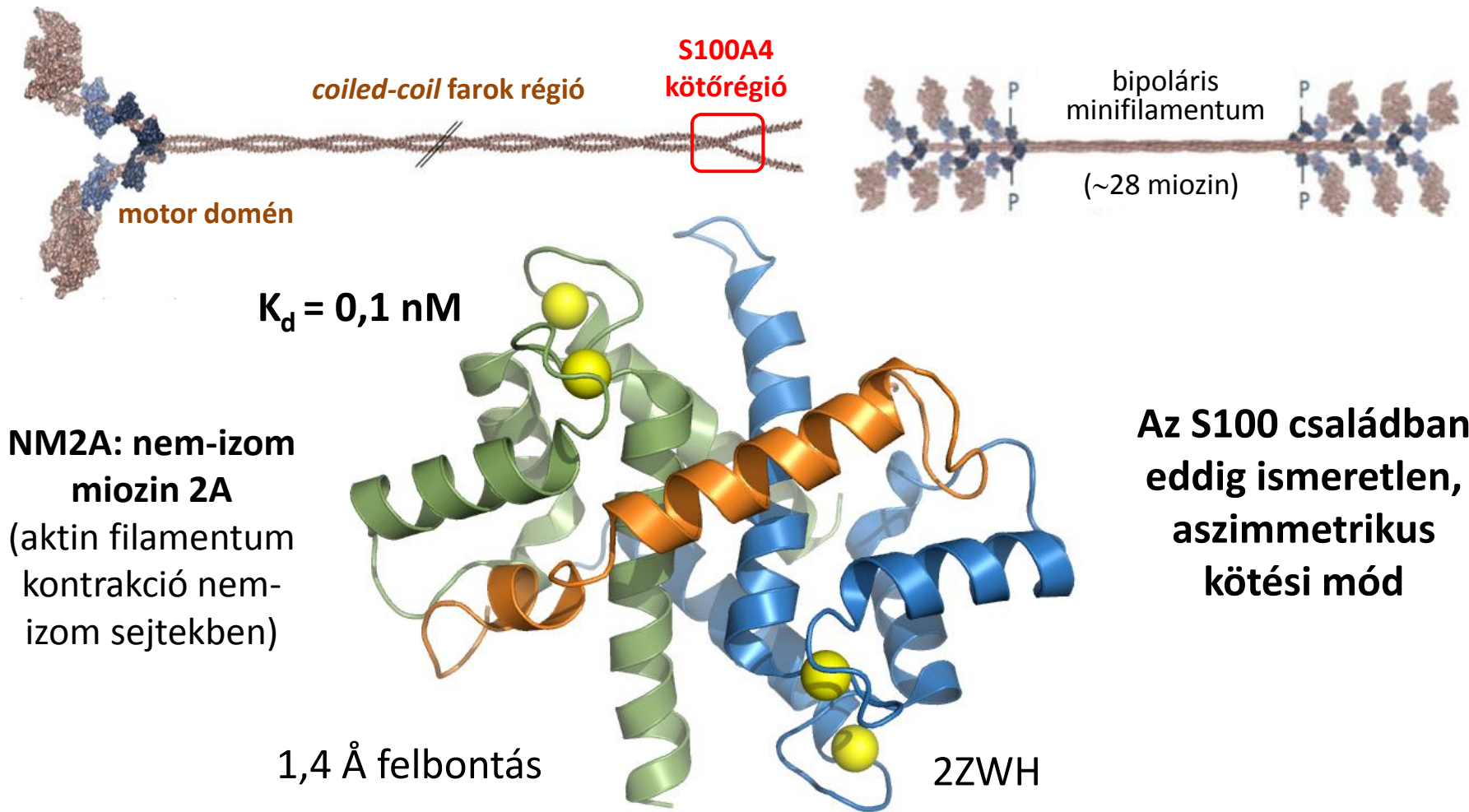


S100B-p53



# Aszimmetrikus S100A4-NM2A komplex

*Kiss et al: PNAS 2012 Duelli et al PLoS One, 2014*



**NM2A + S100A4 → filamentumok szétesnek → sejtadhézió csökken → sejtmigráció fokozódik**

## *Előzetes eredmények:*

# További aszimmetrikus S100-partner komplexek

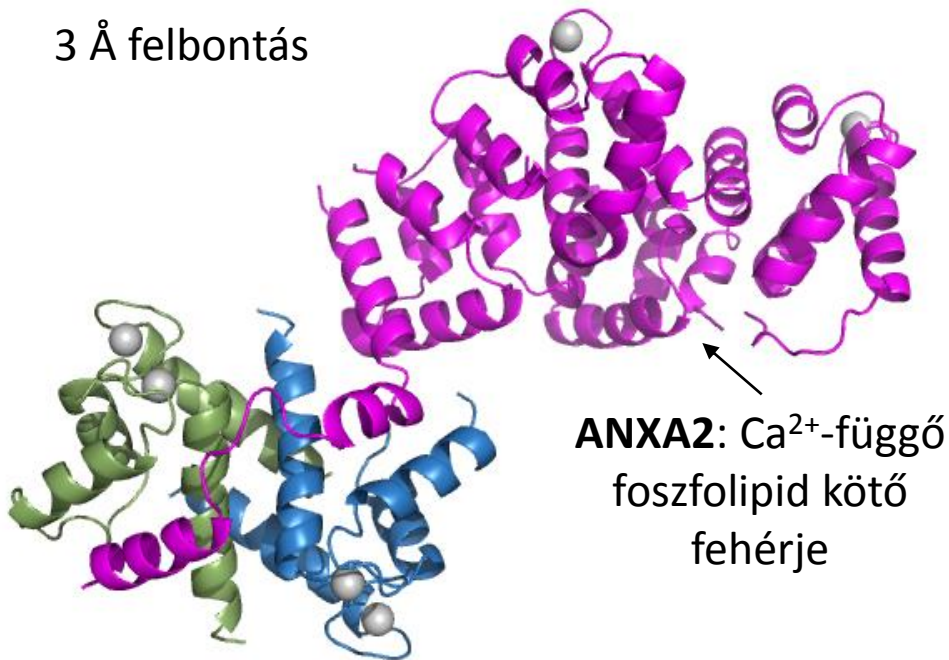
S100A4-annexin A2

kötődés → plazminogén  
aktiváció → sejtinvázió

S100A4-p53 TAD domén

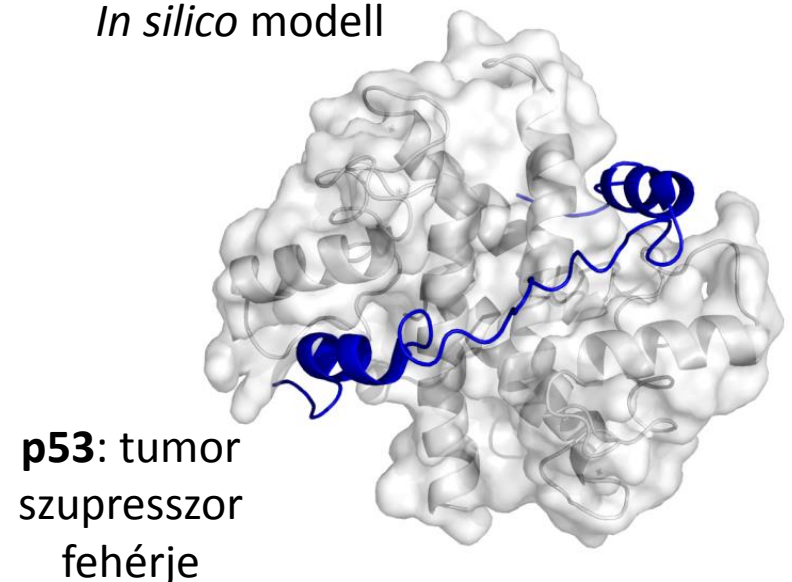
kötődés → apoptózis  
gátlás → sejttúlélés

3 Å felbontás



*Ecsédi, Leveles et al, unpublished*

*In silico* modell



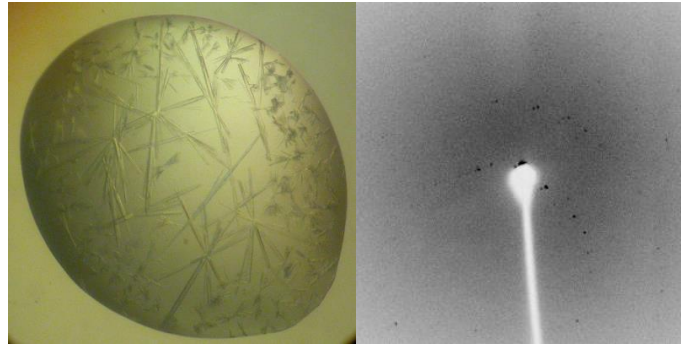
Kristályok növekszenek...!

*Kiss, Ecsédi et al, unpublished*

## Előzetes eredmények:

# További aszimmetrikus S100-partner komplexek

S100B-RS-kináz peptid  
kötődés → MAPK-útvonal  
módosítás → sejtülélés

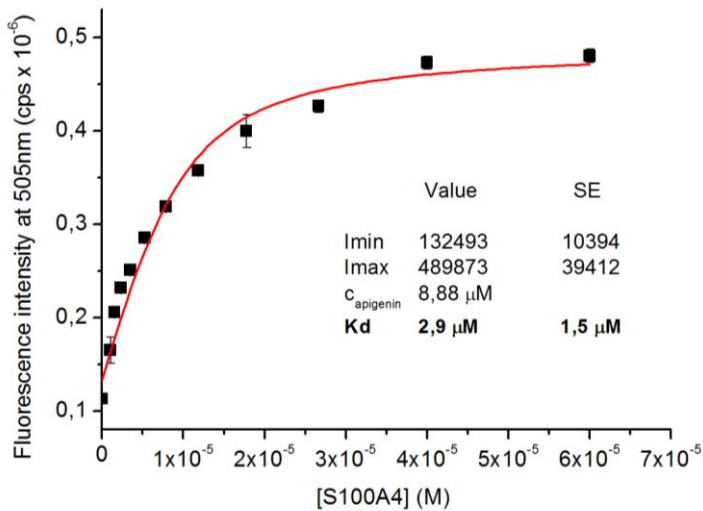


Kristályok  
szinkrotronra  
várnak...

*Gógl et al, unpublished*

## Előzetes eredmények:

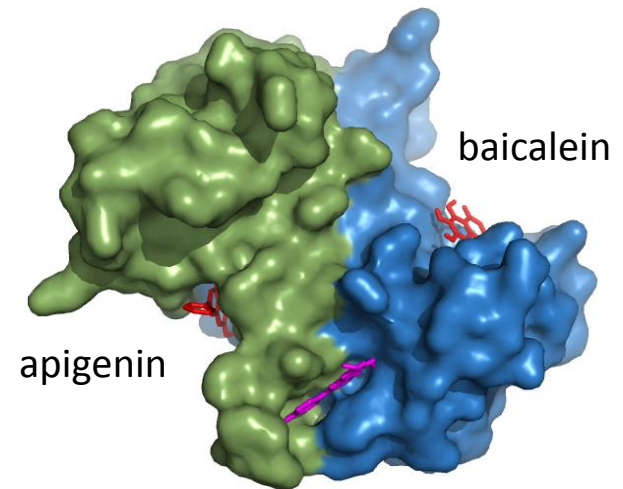
# S100A4 kölcsönhatások gátlása



Fluoreszcencia polarizációs titrálás

Flavonoidok  
(apigenin, baicalein)  
specifikusan kötődnek  
(K<sub>d</sub> ≈ 1 μM)

*Kiss, Hetényi et al, unpublished*



Molekuláris dokkolás



# Biostruct Laboratórium

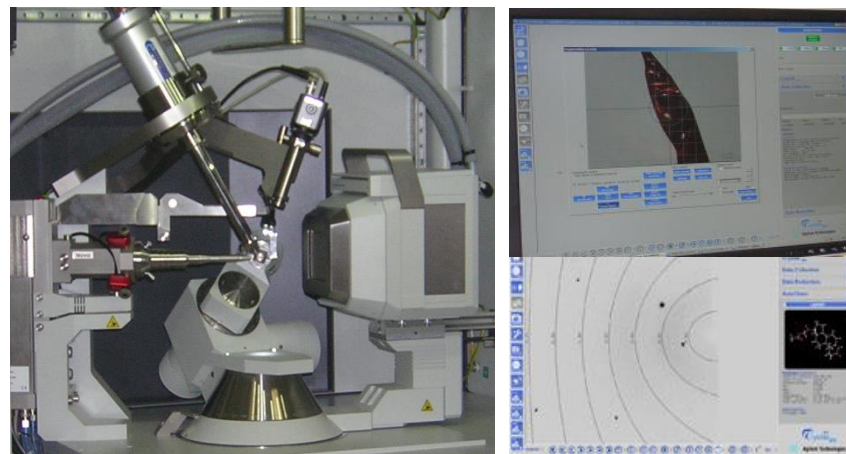
Kristályosítás és röntgenkristallográfia  
-kis- és makromolekuláris/komplexek-



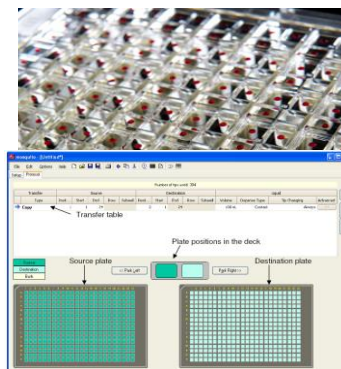
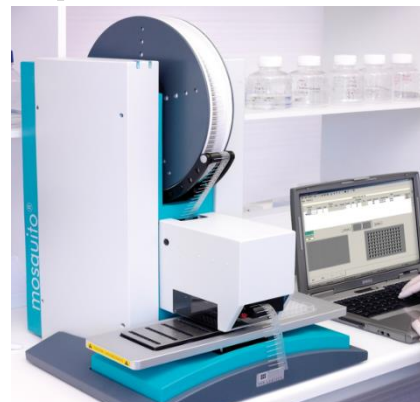
BME CH épület  
Biostruct laboratórium  
Budapest, 1113 Szt Gellért tér 4  
E-mail: [vertessy@enzim.hu](mailto:vertessy@enzim.hu),  
[leveles@enzim.hu](mailto:leveles@enzim.hu)

[www.biostruct.org](http://www.biostruct.org)

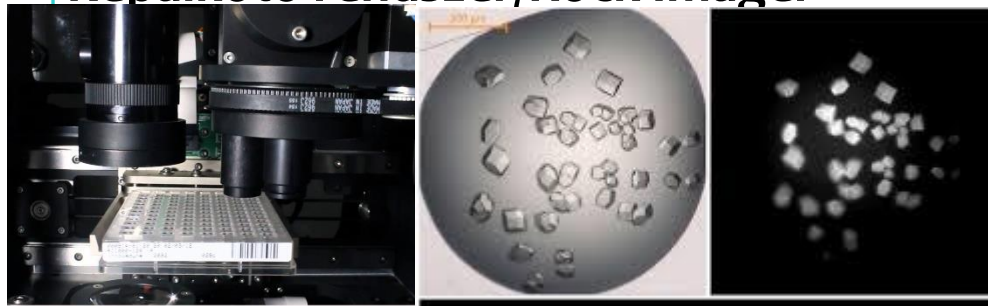
## SuperNova egykristály diffraktométer



## Mosquito kristályosító robot 96 csepp/2 per

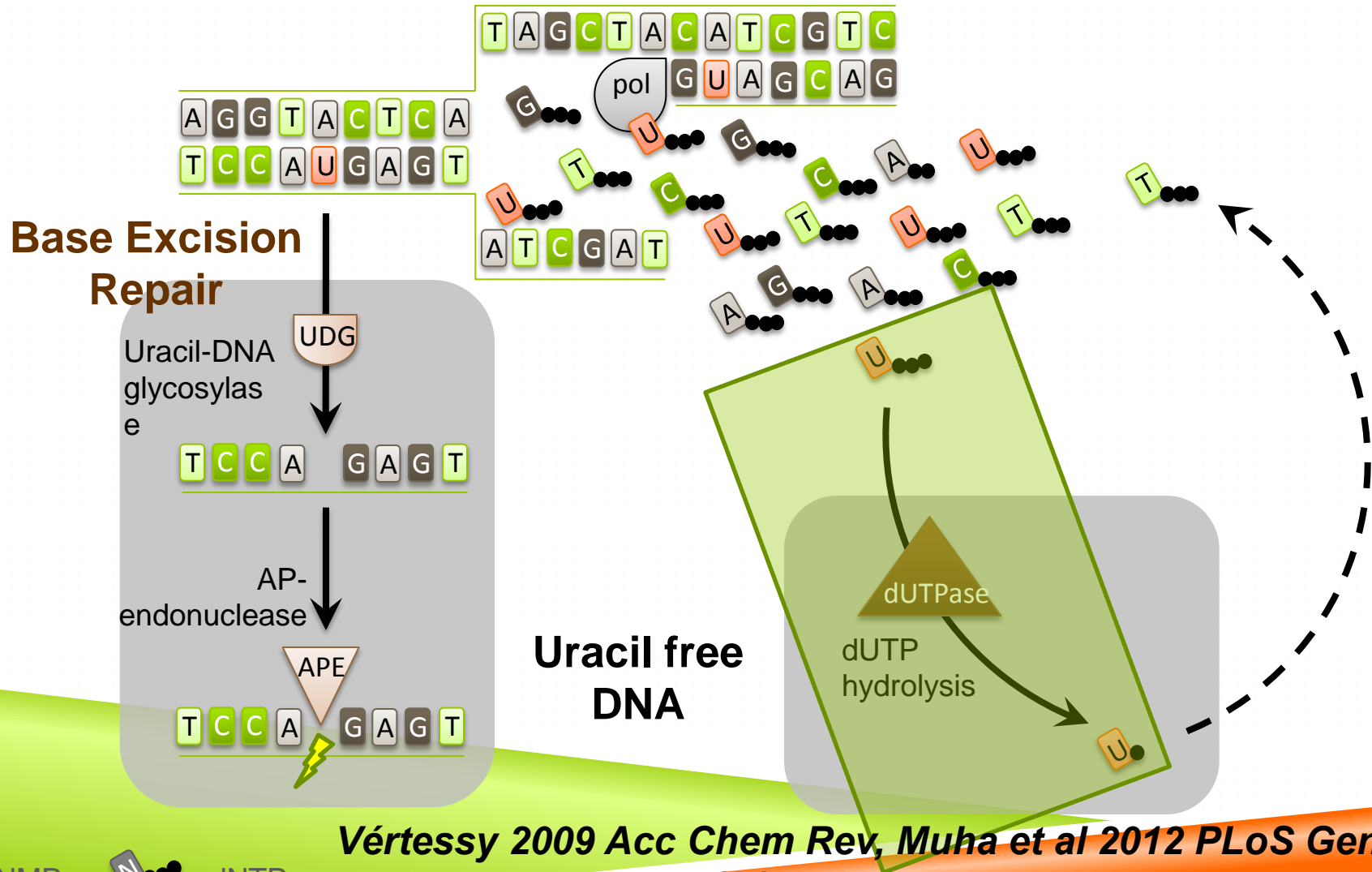


## Képkentő rendszer/Rock Imager

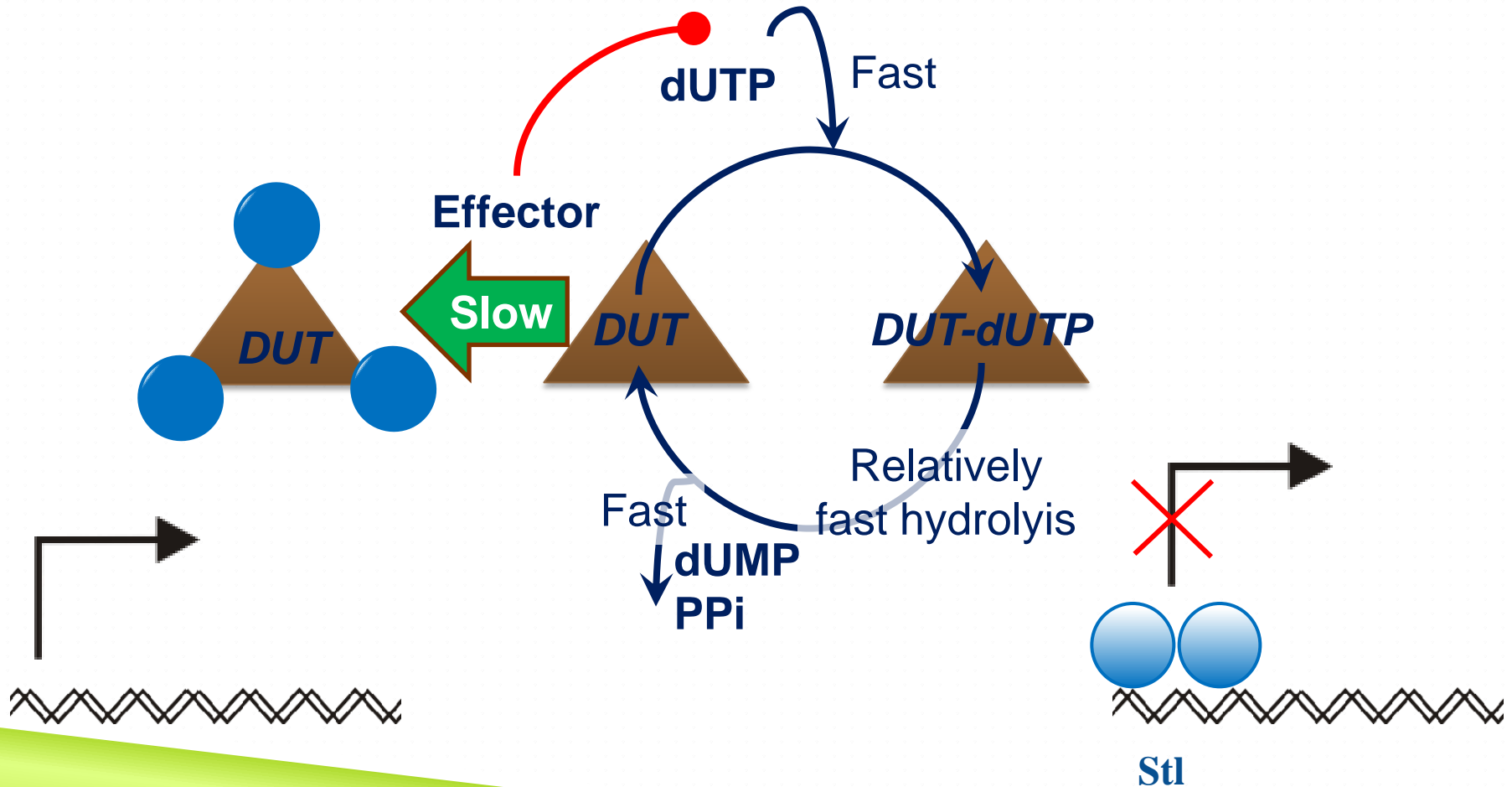


Visible and UV Imaging subsystem

# Preventív DNS javítás



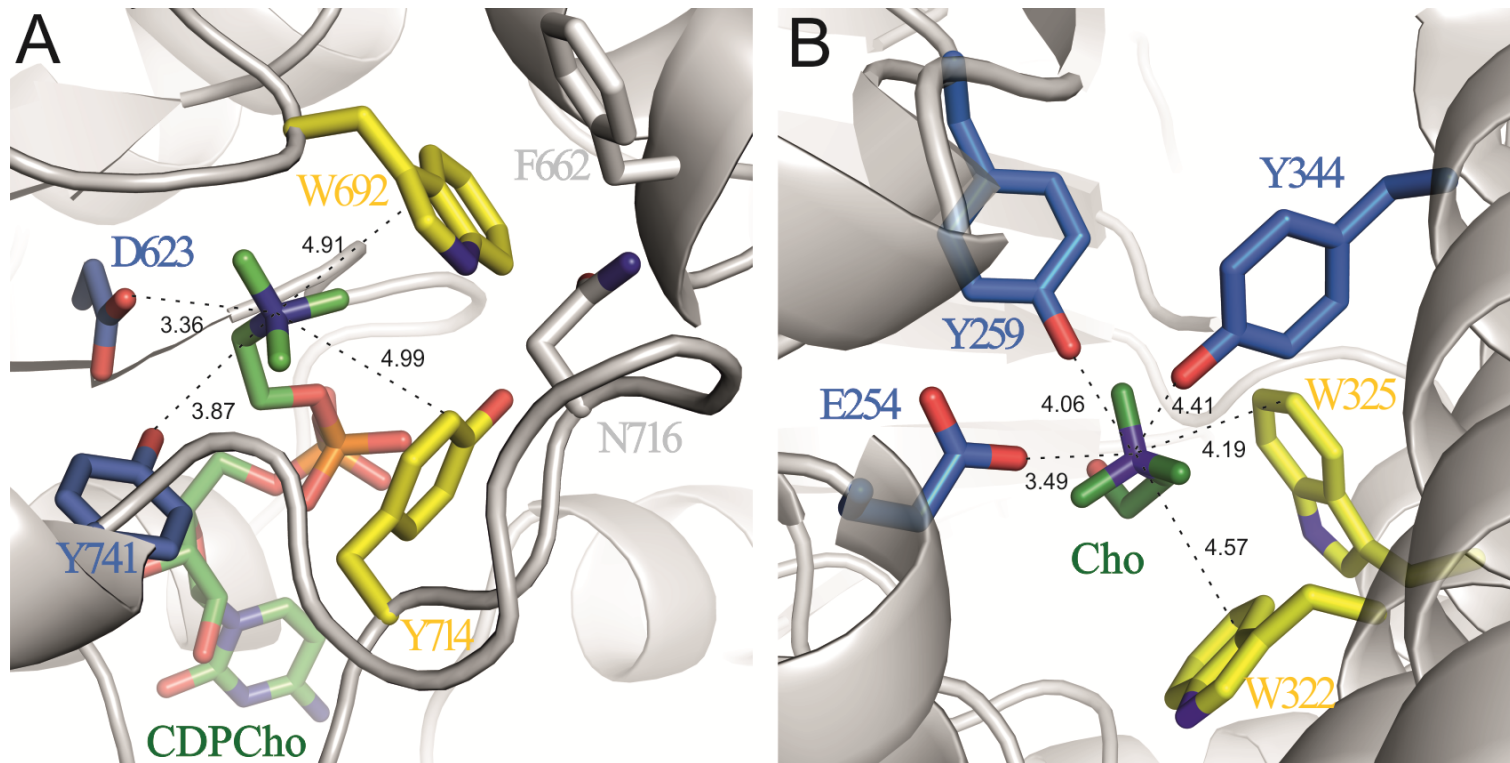
# Staphylococcus PI aktivációt a dUTPáz kapcsoló szabályozza



Low dUTP level : SaPI can be released

High dUTP level : SaPI stays repressed

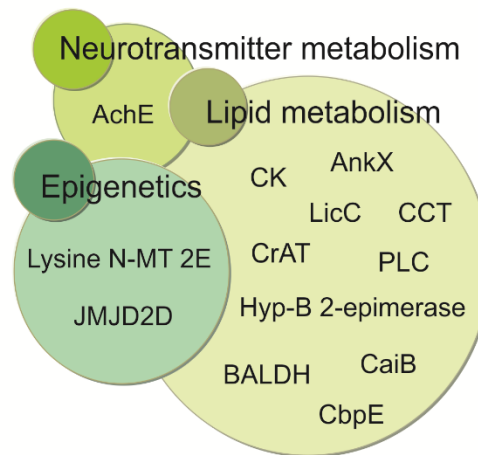
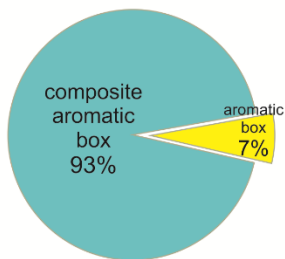
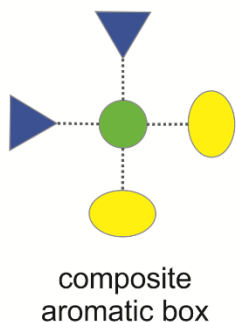
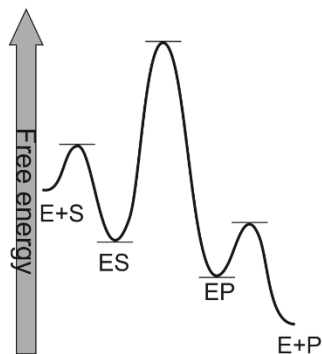
# Composite aromatic box: egy új szerkezeti motívum



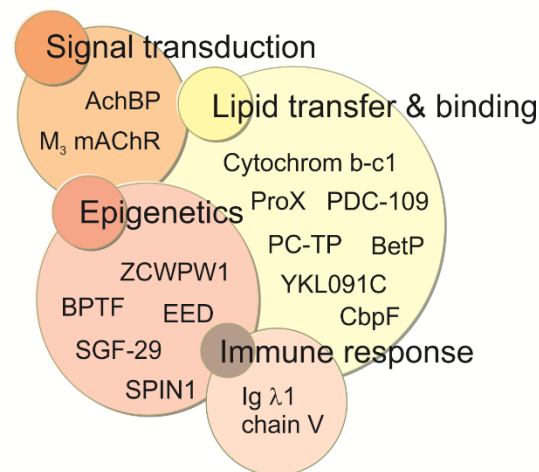
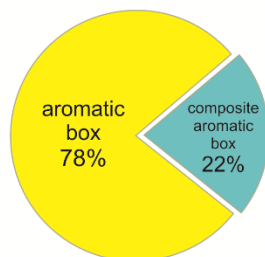
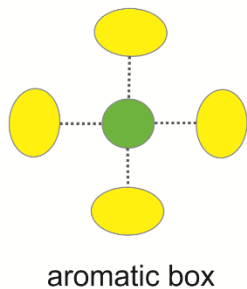
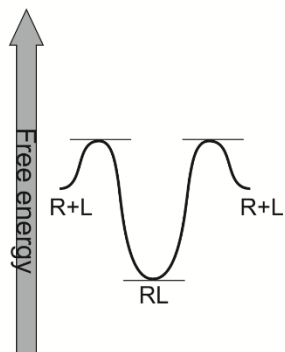


# Composite aromatic box: egy új szerkezeti motívum

Enzyme



Receptor



Nagy GN et al

Angewandte Chemie International Edition, in press

## Válogatott publikációk

- ❖ Nagy GN et al : Composite Aromatic Boxes for Enzymatic Transformations of Quaternary Ammonium Substrates  
*Angewandte Chemie International Edition, in press*
- ❖ Rona G et al : Dynamics of re-constitution of the human nuclear proteome after cell division is regulated by NLS-adjacent phosphorylation  
*Cell Cycle, in press*
- ❖ Szabo J et al : Highly potent dUTPase inhibition by a bacterial repressor protein reveals a novel mechanism for gene expression control  
*Nucleic Acids Research, in press*