Elvégeztük a p53-mdm2 kötődésének vizsgálatát, valamint a vad és mutáns TAD régió másodlagos szerkezeti változásait. Megállapítottuk, hogy bár szabad állapotban a vad típusú és a mutáns TAD régió is rendezetlen, a vad típusú TAD régió magasabb alfa helikális tendenciát mutat mint a mutáns fehérje, és ez befolyásolja az mdm2 kötés képességét.

Kimutattuk, hogy szabad állapotban a kötő motívumokat hordozó üres szekvencia és a TNFR5, valamint az SF1 is igen magas rendezetlenséget mutat, másodlagos szerkezeti elem tartalmuk minimális. Mivel ezen kötőmotívumok komplexben megjelenő szerkezete ismert, ebből levonhatjuk azt a következetetést, hogy a vizsgált esetekben valószínűleg indukált feltekeredés áll a szerkezet kialakulásának hátterében, nem pedig konformációs szelekció.

# MedInProt Szinergia IV jelentés

2016. június 21.

* Adják meg a támogatott szinergia programjuk címét és szakmai fókuszpontját

**Cím**: Szerkezetvizsgáló módszer a rendezetlen fehérjék szerkezetének és kölcsönhatásainak jellemzésére

**Fókuszpont**: Munkánk során a rendezetlen fehérjék komplex biofizikai és funkcinális vizsgálatát a CD spektroszkópiával meghatározott másodlagos szerkezet vizsgálatával kombináljuk. Eredményeink hozzásegíthetnek, hogy jobban megértsük, milyen elsődleges és másodlagos szerkezeti jellegzetességek határozzák meg a rendezetlen fehérjék interakciós motívumainak biológiai viselkedését. Emellett egy, a gyakorlatban széles körben alkalmazható CD spektrum elemző programot is továbbfejlesztünk, mely kiemelten alkalmas lesz a rendezetlen fehérjék másodlagos szerkezetének vizsgálatára.

* Adják meg a szinergia program keretében együttműködő partnerek nevét, tudományos fokozatát, tudományos besorolását, e-mail címét.

Tantos Ágnes, PhD: Tudományos főmunkatárs, tantos.agnes@ttk.mta.hu

Kardos József, PhD: Tudományos főmunkatárs, kardos@elte.hu

* Csatolják a MedInProt programnak köszönhetően elkészült tudományos közleményeik**,** szakmai megjelenésükbibliográfiai adatait, valamint e dokumentum pdf-ét**.** Minden publikáció esetében fejtsék ki max. 2 mondatban a MedInProt relevanciáját.

Az első pár hónap eredményeit a MedInProt tavaszi konferenciáján poszter formában mutattuk be.

* Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódik az alább megadott MedinProt **fókuszpontok** legalább egyikéhez *(max. 300 szó)****.***

1. fókuszpont: A jelátviteli folyamatokban gyakran vesznek részt rendezetlen fehérjék, illetve rendezetlen fehérjerégióban elhelyezkedő kötőmotívumok, melyek felismerése és működési mechanizmusuk leírása előrevihet a különböző daganatos megbetegedések molekuláris mechanizmusának megértésében. Izotermális tirációs kalorimetriai és CD spektroszkópiai előkísérleteink ígéretesek pl. a p53 tumor szupresszor fehérje TAD doménje és mutánsai mdm2 fehérjéhez való kötődésének vizsgálatában.

A 2. fókuszponthoz kapcsolódva az általunk kifejlesztett új CD spektroszkópiai módszer lehetőséget ad az időigényes és drága NMR méréseket megelőző gyors és olcsó feltáró vizsgálatokra. Ezekkel a fehérjekonformációs betegségekben érintett fehérjék elsődleges (másodlagos) szerkezetvizsgálata elvégezhető, a konformációváltozások előrejelezhetők, és akár nagyobb áteresztőképességű módon molekulákat vagy körülményeket tesztelhetünk a megfelelő minták NMR méréshez történő kiválasztása érdekében.

Projektünk lazán kapcsolódik a 3. fókuszponthoz. Az öregedés során egyre nagyobb valószínűséggel lépnek fel degeneratív, különösen dementiával járó kórképek (pl. Alzheimer-kór). A modern orvostudomány egyik legintenzívebb törekvése, hogy - tekintettel az öregedő társadalomra - ezen kórképek minden aspektusát kezelni tudja. Különösen presszionáló olyan megoldások kidolgozása, amelyek az Alzheimer-kór kialakulását, a folyamat előrehaladását lassítják. Kutatásunkban az α-szinuklein és a β-amiloid peptidek különböző oligomerizációs fokú formáinak szerkezetét is tanulmányozzuk, amelyek pl. az öregedés során természetesen is fellépő szinapszisszám csökkenésre káros hatással vannak. Vizsgáljuk, hogy a kísérleti körülményeknek milyen hatása van az aggregációra, illetve, hogy egyes rendezetlen fehérje típusú chaperonok (pl. ERD-k), képesek-e az aggregáció lassítására, illetve gátlására.

* Foglalják össze **közérthetően** szinergia programjuk, és közös munkájuk eddigi eredményeit *(max. 300 szó).*

Az együttműködés első hat hónapjában a p53-mdm2 fehérjék kötődésének vizsgálatát, a kötődés során a p53 vad típusú és mutáns TAD régiójában bekövetkező másodlagos szerkezeti változások feltérképezését terveztük. Terveink között szerepelt ezen kívül a rendezetlen fehérjék kötőmotívumainak vizsgálatán belül a hordozó szekvencia, a TNFR5 és az SF1 CD spektrumának rögzítése és elemzése.

Terveinknek megfelelően sikerült elvégezni a p53-mdm2 kötődésének vizsgálatát, valamint a vad és mutáns TAD régió másodlagos szerkezeti változásait. Mérési eredményeinkből azt a következtetést vontuk le, hogy bár szabad állapotban a vad típusú és a mutáns TAD régió is rendezetlen, a vad típusú TAD régiónak magasabb az esélye az alfa helikális szerkezet kialakítására, mely az mdm2 kötésért felelős. A mutáns fehérje ezzel szemben nem mutat alfa helikális hajlamot, mellyel összefüggésben az mdm2 kötő képessége is csökken.

A rendezetlen fehérjék kötőmotívumainak szerkezeti vizsgálatának keretén belül első lépésként szabad állapotban vizsgáltuk a hordozó szekvencia, a TNFR5 és az SF1 másodlagos szerkezeti elem tartalmát. Megállapítottuk, hogy szabad állapotban mindhárom fehérje igen magas rendezetlenséget mutat, másodlagos szerkezeti elem tartalmuk minimális. Mivel ezen kötőmotívumok komplexben megjelenő szerkezete ismert, ebből levonhatjuk azt a következetetést, hogy a vizsgált esetekben valószínűleg indukált feltekeredés áll a szerkezet kialakulásának hátterében, nem pedig konformációs szelekció. A következő fél év során tervezzük vizsgálni a másodlagos szerkezeti elem tartalomban bekövetkező változásokaz partner kötés esetén, valamint ezen szerkezeti változások jellemzését NMR segítségével is.

* Értékeljék és véleményezzék eddigi közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).*

Legnagyobb megelégedésünkre a pályázat a munkatervnek megfelelően alakul, közös munkánk eddig komolyabb akadályokba nem ütközött. Fontosnak tartjuk a rendszeres kapcsolattartást és a reális munkaterv kidolgozását ahhoz, hogy a programokat sikeresen meg lehessen valósítani.

* Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)* szinergia programjuk, és közös munkájuk eddigi eredményeit *(max. 300 szó).*

A MedInProt pályázati rendszer egyedülálló a maga nemében azzal, hogy rövid távú, két- vagy többoldalú együttműködéseket támogat. Ezzel nagyban hozzájárul a fehérjekutatási terület kutatói hálózatának megerősödéséhez és új, eredeti projektek megvalósulását eredményezi. Kiemelnénk annak jelentőségét, hogy olyan ötletek is megvalósulhatnak, melyek egyéb támogatás hiányában elvesznének.

Elvégeztük a p53-mdm2 kötődésének vizsgálatát, valamint a vad és mutáns TAD régió másodlagos szerkezeti változásait. Megállapítottuk, hogy bár szabad állapotban a vad típusú és a mutáns TAD régió is rendezetlen, a vad típusú TAD régió magasabb alfa helikális tendenciát mutat mint a mutáns fehérje, és ez befolyásolja az mdm2 kötés képességét.

Kimutattuk, hogy szabad állapotban a kötő motívumokat hordozó üres szekvencia és a TNFR5, valamint az SF1 is igen magas rendezetlenséget mutat, másodlagos szerkezeti elem tartalmuk minimális. Mivel ezen kötőmotívumok komplexben megjelenő szerkezete ismert, ebből levonhatjuk azt a következetetést, hogy a vizsgált esetekben valószínűleg indukált feltekeredés áll a szerkezet kialakulásának hátterében, nem pedig konformációs szelekció.

Summary

We studied the p53-mdm2 binding and the secondary structural changes that occur in the TAD region of p53 upon binding. We concluded that although both the wild-type and mutant TAD region are disordered in the free form, the wild type TAD has a higher alpha helical propensity than the mutant TAD, influencing the capability of mdm2 binding.

We showed that the empty carrier sequence as well as TNFR5 and SF1 is highly disordered in their unbound form, their secondary structural propensity is minimal. Since the bound structures of these recognition motifs are known, we could conclude that in their cases the structural changes occur upon binding, which indicates that it is induced folding and not conformational selection that drives the formation of the bound structure.