**Szinergia I összegző űrlap**

**Fehérjekomplexek szerepe jelátviteli és karcinogenezis folyamatokban**

**Fókuszpont:**

*Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben*

**Együttműködők:**

Buday László, MTA levelező tagja, intézetigazgató, MTA TTK (buday.laszlo@ttk.mta.hu)

Nyitray László, MTA Doktora, tanszékvezető egyetemi tanár, ELTE TTK (nyitray@ttk.elte.hu)

Vértessy G. Beáta, MTA Doktora, tanszékvezető egyetemi tanár, BME VBK (Beata Vertessy <vertessy@mail.bme.hu>)

**A MEDinPROT támogatást megköszönő publikációk:**

1. **Róna G, Borsos M, Ellis JJ, Mehdi AM, Christie M, Környei Z, Neubrandt M, Tóth J, Bozóky Z, Buday L, Madarász E, Bodén M, Kobe B, Vértessy BG.** *Dynamics of re-constitution of the human nuclear proteome after cell division is regulated by NLS-adjacent phosphorylation.* Cell Cycle. 2014;13(22):3551-64. doi: 10.4161/15384101.2014.960740. PubMed PMID: 25483092.
2. **Róna G, Borsos M, Kobe B, Vértessy BG.** *Factors influencing nucleo-cytoplasmic trafficking: which matter? Response to Alvisi & Jans' comment on Phosphorylation adjacent to the nuclear localization signal of human dUTPase abolishes nuclear import: structural and mechanistic insights.* Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2014 Oct;70(Pt 10):2777-8. doi: 10.1107/S1399004714020501. Epub 2014 Sep 30. PubMed PMID: 25286861.
3. **Nagy GN, Marton L, Contet A, Ozohanics O, Ardelean LM, Révész A, Vékey K, Irimie FD, Vial H, Cerdan R, Vértessy BG.** *Composite aromatic boxes for enzymatic transformations of quaternary ammonium substrates.* Angew Chem Int Ed Engl. 2014 Dec 1;53(49):13471-6. doi: 10.1002/anie.201408246. Epub 2014 Oct 5. PubMed PMID: 25283789.
4. **Róna G, Pálinkás HL, Borsos M, Horváth A, Scheer I, Benedek A, Nagy GN, Zagyva I, Vértessy BG.** *NLS copy-number variation governs efficiency of nuclear import--case study on dUTPases.* FEBS J. 2014 Dec;281(24):5463-78. doi: 10.1111/febs.13086. Epub 2014 Oct 25. PubMed PMID: 25283549.
5. **Szabó JE, Németh V, Papp-Kádár V, Nyíri K, Leveles I, Bendes AÁ, Zagyva I, Róna G, Pálinkás HL, Besztercei B, Ozohanics O, Vékey K, Liliom K, Tóth J, Vértessy BG.** *Highly potent dUTPase inhibition by a bacterial repressor protein reveals a novel mechanism for gene expression control.* Nucleic Acids Res. 2014 Oct 29;42(19):11912-20. doi: 10.1093/nar/gku882. Epub 2014 Oct 1. PubMed PMID: 25274731; PubMed Central PMCID: PMC4231751.
6. **Nagy GN, Leveles I, Vértessy BG.** *Preventive DNA repair by sanitizing the cellular (deoxy)nucleoside triphosphate pool.* FEBS J. 2014 Sep;281(18):4207-23. doi: 10.1111/febs.12941. Epub 2014 Aug 18. Review. PubMed PMID: 25052017.
7. **Hirmondó R, Szabó JE, Nyíri K, Tarjányi S, Dobrotka P, Tóth J, Vértessy BG.** *Cross-species inhibition of dUTPase via the Staphylococcal Stl protein perturbs dNTP pool and colony formation in Mycobacterium.* DNA Repair (Amst). 2015 Jun;30:21-7. doi: 10.1016/j.dnarep.2015.03.005.
8. **Marton L, Nagy GN, Ozohanics O, Lábas A, Krámos B, Oláh J, Vékey K, Vértessy BG.** *Molecular Mechanism for the Thermo-Sensitive Phenotype of CHO-MT58 Cell Line Harbouring a Mutant CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase.* PLoS One. 2015 Jun 17;10(6):e0129632. doi: 10.1371/journal.pone.0129632
9. **Horváth A, Batki J, Henn L, Lukacsovich T, Róna G, Erdélyi M, Vértessy BG.** *dUTPase expression correlates with cell division potential in Drosophila melanogaster.*FEBS J. 2015 May;282(10):1998-2013. doi: 10.1111/febs.13255
10. **Csaba, Á., Fekete, A., Bőgel, G., Németh, Z., Tőkési, N., Ovádi, J., Liliom, K., Pesti, S., Geiszt, M., Buday,** **L.** *Accumulation of the Pxdomain mutant Frank-ter Haar syndrome protein Tks4 in aggresomes.* Cell Commun and Signaling, 2015, 13:33
11. **Biri B, Kiss B, Király R, Schlosser G, Láng O, Kőhidai L, Fésüs L, and Nyitray L.** *Metastasis-associated S100A4 is a specific amine donor and an activity-independent binding partner of transglutaminase-2.* Biochem J., Oct 20, 2015, ; DOI: 10.1042/BJ20150843

(Jellemeztük az S100A4-TG2 komplexet, valamint megmutattuk, hogy a komplex jelentősen fokozza egy epiteliális eredetű karcinoma sejtvonal adhézióját az extracelluláris mátrixhoz.)

1. **Gógl G, Alexa A, Kiss B, Katona K, Kovács M, Reményi A, Nyitray L.** *Structural basis of RSK1 inhibition by S100B: modulation of the ERK signaling cascade in a calcium-dependent way.* J. Biol. Chem., in press

(A melanomákban túltermelődő S100B és RSK1 alkotta komplexet szerkezetét és funkcionális hatását jellemeztük.)

1. **Róna G, Marfori M, Borsos M, Scheer I, Takács E, Tóth J, Babos F, Magyar A, Erdei A, Bozóky Z, Buday L, Kobe B, Vértessy BG.** *Phosphorylation adjacent to the nuclear localization signal of human dUTPase abolishes nuclear import: structural and mechanistic insights.*Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2013 Dec;69(Pt 12):2495-505.
2. **Róna G, Scheer I, Nagy K, Pálinkás HL, Tihanyi G, Borsos M, Békési A, Vértessy BG.** *Detection of uracil within DNA using a sensitive labeling method for in vitro and cellular applications.* Nucleic Acids Res. 2015 Oct 1. pii: gkv977.
3. Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódott az alább megadott MedinProt **fókuszpontok** legalább egyikéhez *(max. 300 szó)****.***

Szinergia programunk a **„Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben”** és az **„NMR és MRI adta lehetőségek a fehérjék feltekeredésével kapcsolatos betegségek”** fókuszpontokhoz kapcsolódott.

Az együttműködésünk során olyan fehérjék szerepét kutattuk, melyekkel saját csoportjaink már korábban is foglalkoztak. Így a tervezett közös együttműködés során egymást kiegészítő kompetenciáink révén a jelátvitelben fontos szerepet játszó egyes fehérjék élettani funkcióit és ezzel párhuzamosan, az ezt meghatározó fehérjeszerkezeteket vettük górcső alá. A mechanizmus ismerete azért esszenciális, hogy azt megértve be tudjunk avatkozni ezekbe a folyamatokba, így távlati célként a daganatos megbetegedések terápiájára, megelőzésére tudjunk alapkutatásból kiinduló innovatív ötleteket adni.

Vizsgálataink során különös figyelmet fordítottunk a fehérjeszerkezet dinamikájára is, ez utóbbihoz az NMR spektroszkópia által biztosított eszközöket is használtuk. Így részlegesen a MedinProt másodikként megjelölt fókuszpontjához is kapcsolódott az együttműködésünk.

Az általunk vizsgált fehérjék mindegyike lényegi szerepet játszik daganatos megbetegedések kialakulásában és az áttetképzésben. Együttműködésünk páratlan lehetőséget kínált arra, hogy a fehérjékkel kapcsolatos orvosbiológiai kérdéseket az organizmus, a sejtek, in vitro rekonstituált komplexek, és nagyfelbontású 3D szerkezetek szintjén is megérthessünk. Egymást kiegészítő kompetenciáink és a rendelkezésünkre álló többszintű infrastruktúra lehetővé tette, hogy eredményeinkkel nemcsak az alapkutatás, de orvosbiológiailag fontos transzlációs kutatások irányába is eredményeket mutassunk fel.

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

…

A genomi integritásban fontos dUTPáz enzimcsalád élettani szerepének feltárása (9. publ.) során egy általános mechanizmust fedeztünk fel, amely az NLS-környéki foszforiláció szintjén szabályozza a nukleo-citoplazmatikus transzportfolyamatokat (1., 2., 4. és 13. publikációk). Az alfa-foszforatomon nukleofil támadást intéző enzimcsaládok számos mechanisztikus kérdését is tisztáztuk: ez az információ felhasználható lesz újféle kismolekulás inhibitorok tervezésében (3., 6.. Felfedeztünk egy új fehérje-inhibitort, ami szorosan kötődik több fajból származó dUTPázhoz is, és így lényegileg új eszközt jelenthet a genomi integritás szabályozásában (5. és 7. publ.). Kidolgoztunk egy új módszert a DNS-ben megjelenő uracil-bázis előfordulási mintázatát, ezzel terveink szerint lehetőségünk nyílik majd daganatos betegségekben használt kemoterápiák (14. publ.).

A daganatképzésben szerepet játszó S100 fehérjék kölcsönhatási hálózatából eredményesen vizsgáltuk az S100A4-annexin-A2 komplex szerkezetét, valamint azt is, hogy erre milyen hatást gyakorolt az ANXA2 foszforilációja. Az S100A4-NM2 (nem-izom miozin) komplex izoforma-specifitásának szerkezeti hátterét tártuk fel (11. publ.). Jellemeztük az S100A4 és a transzglutamináz-2 enzim komlexét, s leírtuk, a kölcsönhatás hatására jelentősen fokozódik egyes epidermális eredetű tumorsejtek adhéziója (12. publ.)

Sikeresen előállítottuk és tisztítottuk az Abl1 és Abl2 kinázok SH3 doménjeit. Mindkettőt foszforiláltuk a ligandum-kötő árokba eső, két tirozin-oldalláncon (Tyr(1) és Tyr(4)) az Ephrin B1 receptor tirozin-kináz segítségével. Meghatároztuk a foszforilált Abl1 és Abl2 SH3 domén kristályszerkezetét. Kalorimetriás és fluoreszcencia alapú titrálásos kísérleteink bizonyítják, hogy a foszforiláció (Tyr(1) és Tyr(4)) az Abl1 SH3 domén esetén gátolja a ligandum (3BP-1 fehérje) kötődését. A foszforiláció az SH3 domének dimerizációját okozza. Ezt kristály-kontaktusok, illetve oldatban végzett gélszűréses kromatográfiás kísérleteink is bizonyítják. Valószínű, hogy a dimerizáció hátterében az Tyr(1) oldallánc foszforilációja következtében kialakuló sóhidak állnak (kézirat előkészítés alatt).

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

A programunk egyik legfontosabb célja volt, hogy a hazai szerkezeti biológusok számára hozzáférhető Biostruct laboratóriumon keresztül (fenntartója VB) olyan együttműködési platformot, együttműködési hálózatot építsünk ki, ami szinergikus módon az összes szerkezeti biológiai kutatócsoport számára előnyt jelent. A röntgenkrisztallográfián alapuló szerkezet-meghatározáshoz ma már elengedhetetlen a szinkrotron forrásokhoz történő hozzáférés. Együttműködésünk másik fontosabb eredménye, hogy sikerült egy európai szintű „BAG” pályázatot elnyernünk, aminek a segítségével a magyar szerkezetbiológiai közösség számára nagyszámú szinkrotron látogatásra nyílik lehetőség.

A BAG pályázat elnyerése és a szerkezeti munka promótálásában is teljes értékű „szinergia tagnak” tekintettük Harmat Veronikát is. Vele és Reményi Attila csoportjával kitűnő együttműködés alakult ki, egy ideje közösen visszük a szinkrotron forrásokhoz az egyes laboratóriumok által előállított fehérjekristályokat.

Szintén pozitív fejleményként értékeljük, hogy a szerkezetvizsgálati arzenálba sikerült beállítanunk a SAXS módszert is. Ennek már publikációban is megjelent az eredménye (ld. 12. publ.), de a „szinergia-hálózat” bővülését is jelenti (együttműködések Bóta Attilával).

1. Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 szó)*

A programot alapvetően sikeresnek értékeljük, azzal együtt, hogy a szenior résztvevők bérkiegészítés formájában érkező támogatása csak korlátozottan tudta segíteni a jelentős anyagi ráfordítással járó „közös” kísérletek finanszírozását.

Amennyiben a jövőben is lesz hasonló pályázati kiírás, úgy javasoljuk, hogy kutatócsoportok esetén a szinergiában résztvevő diák vagy predoktor munkatársak számára is legyen igénybe vehető támogatási keret.

A támogatás hatékonyságát tovább növelné, ha egy-egy nyilvánvalóan szinergián alapuló projekt esetében a PI-ok és a fiatal résztvevők személyi támogatásán kívül dologi kiadásokra vonatkozó támogatási elem is bekerülhetne.

…