**Szinergia összegző űrlap**

**Cím:**

A humán epesavkötő fehérje szállító és célba juttató funkciójának felderítése integrált biofizikai megközelítéssel

**Együttműködő partnerek:**

Tőke Orsolya, Ph.D., tudományos főmunkatárs, MTA TTK SZKI

Biczók László, MTA doktora, tudományos tanácsadó, MTA TTK AKI

Kovács Mihály, MTA doktora, egyetemi tanár, ELTE TTK Biokémiai Tsz.

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

Az emésztésben betöltött szerepükön kívül az epesavak fontos szignál molekulák is egyben, amelyek receptor fehérjékkel történő kölcsönhatások és jelátviteli kaszkádok aktiválása *(1.* fókuszpont) révén fontos szerepet játszanak az anyagcsere folyamatok (pl. koleszterinszint) szabályozásában. A vékonybél távoli szakaszában, az ileumban termelődő I-BABP kulcsszerepet tölt be az epesavak metabolikus célbajuttatásában, valamint újabb kutatások szerint a nukleáris farnezoid receptor transzkripciós aktivitásának szabályozásában. Ily módon a humán I-BABP-epesav kölcsönhatás mechanizmusának kutatási együttműködésünkben végzett NMR spektroszkópiai (2. fókuszpont) és biofizikai vizsgálata hozzájárulást jelenthet számos anyagcsere rendellenesség és rosszindulatú megbetegedés (1. fókuszpont) kezeléséhez és megelőzéséhez.

Az epesavak megkötése és metabolikus célbajuttatása során transzportfolyamatok mennek végbe az I-BABP fehérje és a sejtmembrán között, melyet a fehérje részleges letekeredése kísér. Feltételezésünk szerint ez utóbbi egyensúlyt a ligandum jelenléte modulálja, és a feltekeredett állapot irányába tolja el. A vizsgálataink tárgyát képező I-BABP fehérjék tehát jó modellrendszernek tekinthetők mind a sejtmembránhoz köthető jelátviteli folyamatokban kulcsszerepet játszó amfitróp fehérjék lipid kölcsönhatásainak, mind pedig a fehérjék feltekeredésének (2. fókuszpont) tanulmányozására.

Végül az I-BABP fehérje feltekeredésének és stabilitásának tanulmányozására irányuló szinergia programunk támpontot nyújthat az intracelluláris lipidkötő fehérjék kagylószerű állványzatán alapuló mesterséges fehérjék tervezéséhez, melyek segítségével a jövőben célzott gyógyszercélbajuttatás (4. fókuszpont) valósítható meg.

Ezen szempontok alapján kutatási együttműködésünk több ponton is kapcsolódik a szinergia program szakmai fókuszpontjaihoz.

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

Kutatási együttműködésünkben az epesavak humán I-BABP által történő metabolikus célbajuttatásában szerepet játszó fehérje letekeredés termodinamikai és kinetikai vizsgálatára koncentráltunk. Megállapítottuk, hogy mind a hődenaturáció NMR spektroszkópiás, mind a kémiai renaturáció *stopped-flow* fluoreszcenciás vizsgálata többállapotú folyamatra utal. Összhangban ezen vizsgálatokkal, fluoreszcencia és CD spektroszkópiás, valamint DSC mérések alapján a fehérje olvadása nem egyetlen kooperatív lépés, hanem 53-63 °C között elnyúló többlépéses átmenet. Az NMR mérésekkel nyert aminosav-specifikus információ ugyanakkor a szekvencia mentén nem egységes hőmérséklet választ jelez, amely a fehérje hidrofób magja és a perifériális N-terminális szegmens eltérő viselkedésére utal. A fel- és letekeredés termodinamikai, kinetikai és szerkezeti vizsgálatából származó eddigi eredményeinket egy beküldés előtt álló kéziratban foglaltuk össze.

Együttműködésünk másik fő célkitűzése a ligandumkötés mechanizmusának tisztázása a humán I-BABP fehérjében. Korábbi szerkezeti és dinamikai vizsgálataink alapján felmerült a tautomer egyensúlyok szerepe a ligandumkötésben, melynek tisztázása érdekében pH-függő ITC, gyorskinetikai és NMR relaxációs vizsgálatokat végeztünk. Az utóbbi segítségével megállapítottuk, hogy az *apo* fehérjében jelenlevő μs-ms konformációs fluktuáció a fehérje portálként működő ún. EFGH régiójában pH csökkenés hatására szignifikánsan emelkedik. Ezzel párhuzamosan a termodinamikai mérések a pH csökkenésével mérsékelten növekvő affinitást, a *stopped-flow* vizsgálatok gyorsabb bimolekuláris kinetikai lépést jeleznek. Ezek alapján feltételezhető, hogy a ligandumok kötőüregbe jutását szabályozó nyitott és zárt konformációs állapot közötti egyensúlyt a pH csökkenése a kötődésnek kedvező nyitott állapot irányába tolja el. A ligandumkötés mechanizmusára irányuló pH-függő NMR és biofizikai vizsgálatokon alapuló kéziratunk szerkesztés alatt áll.

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

Szinergia programunk eltelt egy éve alatt sikerült egy az anyagcsere rendellenességek és rosszindulatú megbetegedések kialakulásában szerepet játszó fehérje működése szempontjából fontos fehérje letekeredési folyamat vizsgálatára irányuló új projektet elindítani. NMR spektroszkópiai és biofizikai vizsgálatok segítségével termodinamikai, kinetikai és szerkezeti információt nyertünk a folyamat mechanizmusáról. Ugyanezen fehérje ligandumkötésének mechanizmusára irányuló vizsgálatokkal új bizonyítékot nyertünk a ligandumok kötőüregbe jutását szabályozó korábban feltételezett konformációs szelekcióra, és feltártuk ennek új aspektusait. A szintén a terveink között szereplő fehérje-membrán kölcsönhatás tanulmányozásához a kísérleti körülmények optimálása jelenleg is zajlik, és a 2016-os évben a letekeredés liposzómák jelenlétében történő fluoreszcenciás és NMR spektroszkópiai vizsgálatával kívánjuk a munkát folytatni.

Eddigi eredményeinkből két kézirat szerkesztés alatt áll:

[1] Horváth G., Biczók L., Mihály J., Majer Zs., Kovács M., Tőke O.

Temperature- and urea-induced conformational transitions in human ileal bile acid-binding protein

[2] Horváth G., Fizil Á., Nyitrai M., Biczók L., Kovács M., Tőke O.

The effect of pH on the binding properties and internal dynamics of human ileal bile acid-binding protein

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

A MedInProt segítségével lehetőségünk nyílt egy új, korábban nem létező háromoldalú együttműködés kialakítására, amelyben az egyes partnerek eltérő szaktudását kihasználva, egymást hatékonyan kiegészítve végezhetjük kutatásunkat.

***A szinergizmus szakmai fókuszpontjai, kiemelt kutatási témák****:*

1. *Jelátviteli fehérjék szerepe gyulladásos és daganatos megbetegedésekben,*
2. *NMR és MRI adta lehetőségek a fehérjék feltekeredésével kapcsolatos betegségek molekuláris hátterének megértésében,*
3. *Szabályozó fehérjék szerepe az öregedési folyamat(ok)ban,*
4. *Alkalmas nanorendszerek fejlesztése peptid- és fehérjealapú hatóanyagok stabilitásának és felszívódásának fokozása érdekében.*