**Szerkezetvizsgáló módszerek a rendezetlen fehérjék szerkezetének és kölcsönhatásainak jellemzésére**

Munkánk során a rendezetlen fehérjék komplex biofizikai és funkcinális vizsgálatát a CD spektroszkópiával meghatározott másodlagos szerkezet vizsgálatával kombináltuk. Az általánosan elterjedt CD spektrum elemző programokkal sokszor nehézségekbe ütközik a rendezetlen fehérjék másodlagos szerkezetének pontos becslése, mivel a programok gyakran túlbecsülik a béta szerkezetek arányát. Az új algoritmus segítségével ez a hiba kiküszöbölhető és nagyobb biztonsággal megkülönböztethetőek a valódi béta szerkezetek a rendezetlen szakaszoktól. A rendezetlen fehérjék kötőmotívumainak szerkezeti vizsgálatán keresztül tovább tudtuk fejleszeni az algoritmust, így az eddigieknél is nagyobb pontosságot tudtunk elérni a másodlagos szerkezet tartalom meghatározásban.

Együttműködésünk során 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.

**Szinergia összegző űrlap**

(a pályázók közösen ezt az űrlapot töltik ki)

* Adják meg a támogatott szinergia programjuk címét és szakmai fókuszpontját

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

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

**Dr. Tantos Ágnes**, PhD, tudományos főmunkatárs, tantos.agnes@ttk.mta.hu
**Dr. 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.

Eredményeinkből 2017 első félévében tervezünk közös publikációt írni.
1. Fejtsék ki pontosan, hogy a kutatási együttműködésük hogyan kapcsolódott 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 például 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, dementiával járó kórképek (például 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 például 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.
2. Foglalják össze **közérthetően** szinergia programjuk, és közös munkájuk eredményeit *(max. 300 szó).*

Munkánk során a rendezetlen fehérjék komplex biofizikai és funkcionális vizsgálatát a CD spektroszkópiával meghatározott másodlagos szerkezet vizsgálatával kombináltuk.
NMR és CD mérések kombinálásával feltérképeztük több rendezetlen kötőmotívum szerkezetét szabad állapotban (pl. Smad3, TNFR5, SF1). Eredményeink hozzájárulnak ahhoz, hogy jobban megértsük, milyen szerkezeti jellegzetességek határozzák meg a rendezetlen fehérjék interakciós motívumainak biológiai viselkedését. Sikerült kimutatnunk, hogy szabad állapotban az összes általunk vizsgált motívum 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.
Közös munkánk eredményeképpen továbbfejlesztettünk egy, a gyakorlatban széles körben alkalmazható CD spektrum elemző programot, mely így kiemelten alkalmassá vált a rendezetlen fehérjék másodlagos szerkezetének vizsgálatára. Az általunk kifejlesztett új CD spektroszkópiai módszer lehetőséget ad az időigényes és drága NMR méréseket megelőző gyors és olcsó feltáró vizsgálatokra. Ezzel a módszerrel a többi CD spektrum elemző módszernél pontosabban meg lehet különböztetni a béta-szerkezeteket a valódi rendezetlenségtől, ezzel megbízhatóbb információt kaphatunk egy adott fehérje másodlagos szerkezet összetételéről.
Együttműködésünk során 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.
3. Értékeljék és véleményezzék közös munkájukat (sikereiket, nehézségeiket, illetve azon ötleteiket, javaslataikat, amelyeknek köszönhetően a következő programok hatékonysága javulhat) *(max. 200 szó).*

Örömmel jelenthetjük ki, hogy a legfontosabb kitűzött célokat sikerült elérni, a pályázat a munkatervnek megfelelően alakult. Közös munkánk komoly akadályokba nem ütközött, a kapcsolattartás és a kísérletek elvégzésének összehangolása problémamentes volt. A Medinprot konferencián tartott beszámoló különösen ösztönző volt, hogy az addig elvégzett munkát összegezzük és tisztábban lássuk a még elvégzendő feladatokat.
4. Szabadon fogalmazzák meg a MedInProt kapcsán támogató és/vagy kritikus észrevételeiket. *(max. 200 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. Az új együttműködések támogatása kifejezetten ösztönzi a kutatókat új kapcsolatok kialakítására, ezzel jelentős mértékben gazdagítva és színesítve a hazai tudományos palettát. Kiemelnénk annak jelentőségét, hogy olyan ötletek is megvalósulhatnak, melyek egyéb támogatás hiányában elvesznének.

***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.*