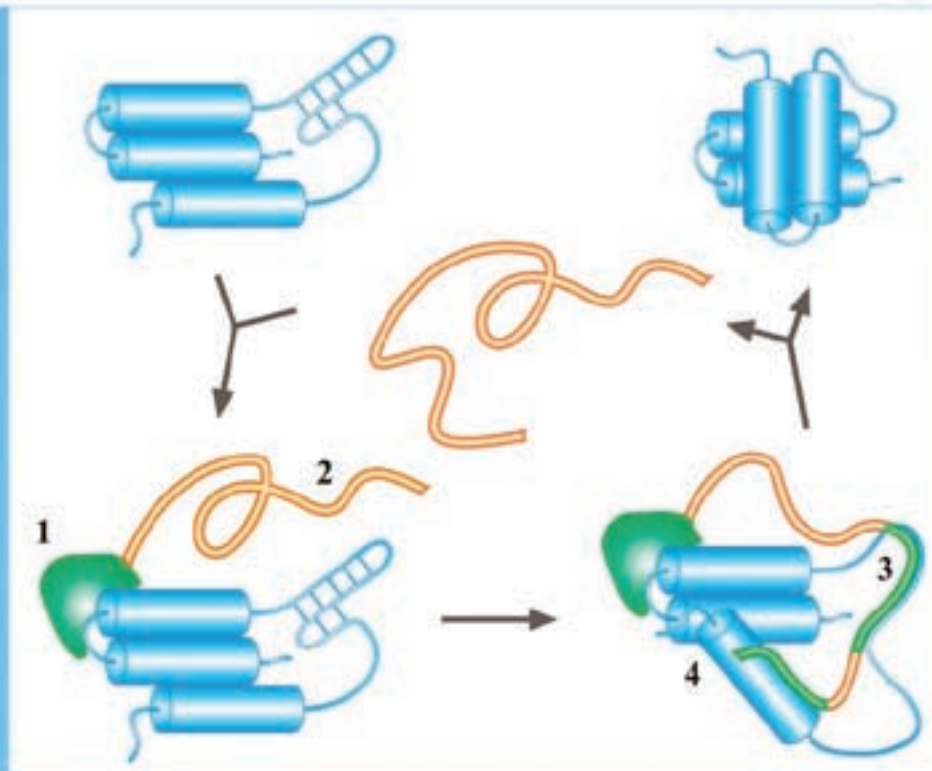
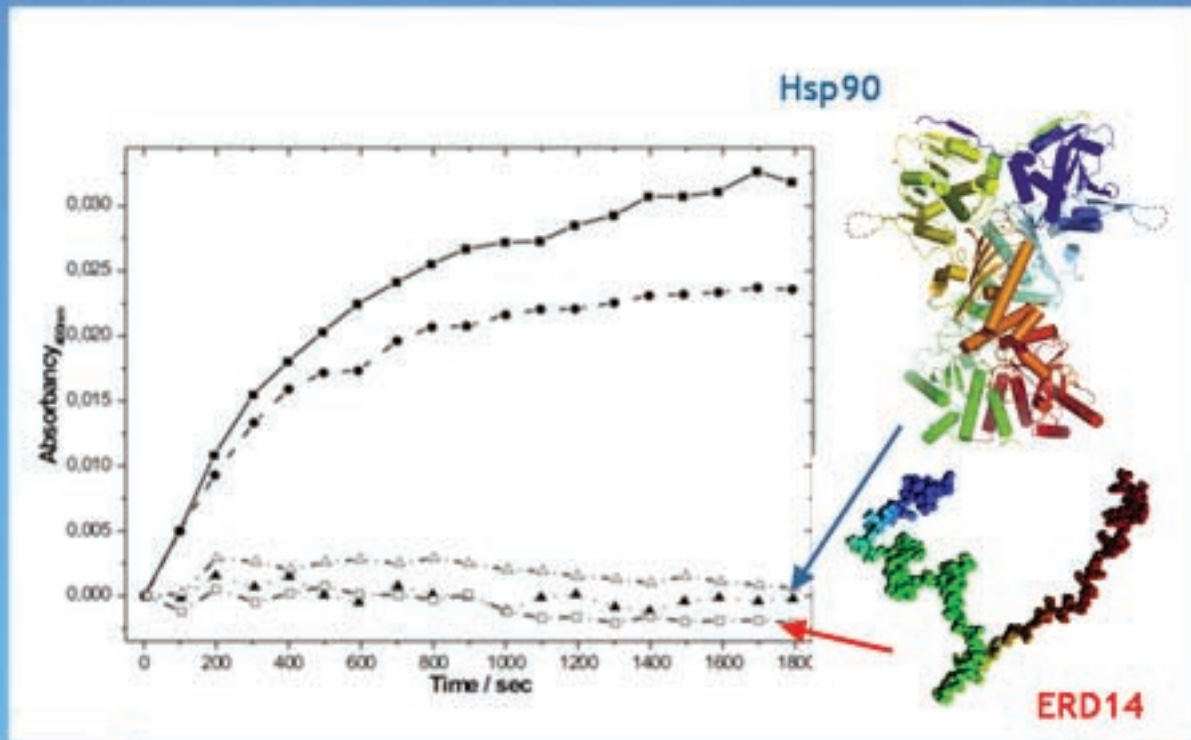


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata  
XXXV. ÉVFOLYAM 2. SZÁM 2011. június



# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

Bősze Szilvia, Erdődi Ferenc, Ifj. Gallyas Ferenc, Keserű György, Kiricsi Mónika (titkár),  
Nyitray László, Sarkadi Balázs, Székács András, Szondy Zsuzsa, Váradi András

Főszerkesztő:  
Szűcs Mária

Technikai szerkesztő:  
Márki Árpád

XXXV. ÉVFOLYAM 2. SZÁM

2011. június

## TARTALOMJEGYZÉK

**Címlapkép:** *Egy rendezetlen növényi chaperon (ERD14) hatása (luciferáz aggregációs assay-ban, Hsp90-nel összemérhető a hatás), illetve az ennek magyarázatára (már korábban) kidolgozott „entropia-transzfer” modell, lásd Tompa Péter írását.*

### AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

- Kitüntetések, díjak ..... 3.
- A Széchenyi-díjas Erdei Anna életútja..... 5.
- A 2010. évi Straub-plakett kitüntetettje Tompa Péter ..... 7.
- Junior Prima Díjat kapott Lipinszki Zoltán..... 14.

### HAZAI TUDOMÁNYOS ISKOLÁK

- 40 éves az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontja ..... 25.

### TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNY

- Szöllősi-Szitás Edit, Kalmár Lajos, Tompa Péter: Rendezetlen fehérjék nagy áteresztő képességű vizsgálata proteomikai és bioinformatikai módszerekkel 33.

### KONFERENCIA BESZÁMOLÓK

- A 41. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg ..... 44.
- Az MBKE Gyógyszerbiokémiai Szakosztály 2011. évi munkaértekezlete, Balatonöszöd ..... 45.
- Az MBKE 2011. évi Vándorgyűlése ..... 47.
- European Conference on Chemistry for Life Sciences ..... 48.
- FEBS3+, Opatija, Croatia ..... 49.

### TUDOMÁNY ÉS MŰVÉSZET

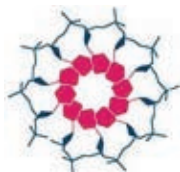
- Pósfai György: Magyarország legnagyobb fái – dendrománia ..... 50.

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 4012 Debrecen, Pf. 6, <http://www.mbkegy.hu/>

Felelős kiadó Dr. Fésűs László

Az engedély száma III/SZI/397/1977, HU ISSN 2060 8152 (Online)

HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)



## AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI

A **Széchenyi-díj** a legrangosabb magyar állami kitüntetés, a korábbi Állami Díj helyett 1990-től szolgál a tudományos élet kiemelkedő képviselőinek elismerésére. A díjazottakat a miniszterelnök jelöli ki, a díj pénzjutalommal és egy kispasztikával jár. Kitüntetésben részesült **Erdei Anna**, immunbiológus, akadémikus, az ELTE Immunológiai Tanszék tanszékvezető egyetemi tanára. Az immunválasz kialakulásának mechanizmusa, a természetes immunitás szerepe és az adaptív immunitással való kapcsolódása, az immunfolyamatok szabályozása terén végzett, nemzetközileg is számon tartott tudományos, kutatói munkássága, oktatói, tankönyvírói tevékenysége elismeréseként kapta meg a díjat.

A magyar tudomány legnagyobb értékű, 100 ezer euró pénzdíjjal járó elismerését, a **Bolyai-díjat Perczel András**, az ELTE Természettudományi Kara Szerves Kémiai Tanszékének egyetemi tanára, az MTA levelező tagja kapta a fehérjék és építőkövek szerkezetének és kölcsönhatásainak kutatásában elért eredményeiért. A világhírű matematikusról elnevezett díjat négy üzletember, Somody Imre, Karsai Béla, Lantos Csaba és Várkonyi Attila alapította, a kezdeményezéshez 2001-ben csatlakozott Alexander Brody. A kitüntetést olyan magyar tudósok kaphatják meg, akik nemzetközi szinten is kimagasló eredményt értek el munkájukban.

A Magyar Zoltán Felsőoktatási Közalapítvány kuratóriuma a **Szilárd Leó Professzori Ösztöndíjat** ünnepi tudományos ülésen évente adja át olyan kimagasló eredményeket felmutató tudósoknak, akik a felsőoktatás fejlesztésben eredményes tevékenységet folytató oktatói-kutatói közösség legkiemelkedőbb személyiségei. A díjazott személyére állami és állam által elismert magyar felsőoktatási intézmény szenátusa, az intézményben dolgozó kiemelkedő tudós ajánlásával tehet javaslatot, Magyarországon tevékenykedő oktatók és kutatók köréből. Az MBKE tagjai közül **Gergely Pál**, akadémikus, egyetemi tanár, a Debreceni Egyetem Orvosi Vegytani Intézetének igazgatója részesült az elismerésben.

Az **Akadémiai Ifjúsági Díjat** a Magyar Tudományos Akadémia vezetői a tudományos élet területén dolgozó fiatal kutatók eredményeinek elismerésére hozták létre. A díj elnyerésére olyan egyéni vagy csoportos munkával elért eredménnyel lehetett pályázni, amely az adott tudományterületen kiemelkedő teljesítményt mutat fel. A pályaműveket a tudományterületileg illetékes szakbizottságok rangsorolták és véleményük alapján az Akadémiai Kutatóintézetek Tanácsa alakította ki a díjazásra vonatkozó javaslatait, amelynek figyelembevételével az Akadémia elnöke döntött a díjazottak személyéről:

**Kovács Erika**, az MTA Enzimológiai Intézet tudományos segédmunkatársa az „Egy új lipid-fehérje kölcsönhatás azonosítása, szerkezeti és funkcionális jellemzése” című pályamunkájáért.

**Kovács Károly**, az MTA Szegedi Biológiai Központ Biokémiai Intézet tudományos segédmunkatársát a „Stochasticity in protein levels drives

colinearity of gene order in metabolic operons of Escherichia coli (A fehérjeszintek sztochasztikussága eredményezi a gének kolineáris sorrendjét az Escherichia coli metabolikus operonjaiban)” című pályamunkájáért.

**Matusek Tamást**, az MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézet tudományos munkatársát az „Egy új Drosophila formin szövetspecifikus funkcióinak vizsgálata” című pályamunkájáért.

Az akadémia 2011-ben a kutatóintézetek mellett az egyetemekre is kiterjesztette a **Lendület programot**. A kutatók életkoruk szerint is két kategóriában pályázhattak: az MTA külön kezelte az ígéretes fiatalokat és a tapasztaltabb, tartósan kiemelkedő munkát végző, professzori kiválóságú kutatókat. A Lendület nyertesei ötéves ösztöndíjat kapnak, de ha kutatásuk eredményesnek bizonyul, végleges állást és kutatócsoportot is kaphatnak. Egyesületünk tagjai közül díjat kapott:

**Geiszt Miklós**, a Semmelweis Egyetem Élettani Intézetének docense a reaktív oxigénszármazékok képződésével és hatásával kapcsolatos kutatásokra, amelyek termelése életfontosságú a kórokozókkal folytatott küzdelemben.

**Kovács Mihály**, az ELTE TTK Biokémiai Intézet tudományos főmunkatársa, aki a DNS-szerkezetátalakító működésében és a genom karbantartásában szerepet játszó motorenzimekkel foglalkozik - a program keretében arra törekszik, hogy feltárja az összefüggést az egyes enzimek haladási sebessége, erő kifejtése, energetikai hatékonysága, illetve a makroszkópiusan megfigyelhető genetikai és evolúciós folyamatok, sajátosságok között.

***Gratulálunk a kitüntetetteknek!***

## ERDEI ANNA ÉLETÚTJA



Fotó: Vámos Judit

Nagy megtiszteltetés számomra, hogy érdeemesnek tartottak a Széchenyi-díjra. Természetesen ez az elismerés nem csak nekem szól, hanem a munkatársaimnak is, akikkel sok éve együtt dolgozom az Eötvös Loránd Tudományegyetem Immunológiai Tanszékén és az MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoportjában. Szerencsés vagyok, mert szakmailag és emberileg is kiváló kollegáim vannak, stimuláló és családi légkörben töltjük együtt napjaink nagy részét. A kitüntetés – persze az elismerésen túl – azért is fontos, mert megerősít abban, hogy érdemes folytatni a munkát, és további inspirációt ad.

Szerencsés vagyok azért is, mert a pályám kezdetétől fogva azt csinálhattam, amit szeretek. Az ELTE biológia-kémia tanári szakán harmadéves voltam, amikor Gergely János tanár úr elkezdett immunológiát tanítani önálló tárgyként; elsőként az országban. Ő hozta létre az ország első Immunológiai Tanszékét is az ELTE-n. Meghatározó élmény volt magával ragadó előadásait hallgatni; egy éppen abban az időben önállósuló tudomány izgalmas eredményeit megismerni. Akkoriban még nem sokat hallhattunk máshol az ellenanyagok szerkezetéről és funkciójáról, a különböző immunsejtekről, immunreceptorokról, a celluláris és a humorális immunválasz rejtelméről. Ezeket az előadásokat hallgatva döntöttem el, hogy immunológus leszek, és Gergely tanár úr vezetésével már egyetemista koromban bekapcsolódhattam a kutatómunkába, szerencsémre! Mindig is vonzott a „fehérköpenyes” laboratóriumi munka, amit táplált egyrészt az, hogy Édesanyám izotóp laborban dolgozott, és persze a Marie Curie életéről még gimnazista koromban olvasott könyv is.

Az egyetem elvégzése után az ELTE Immunológiai Tanszékére kerültem, ahol végigjártam a „ranglétrát”, és – két hosszabb (Oxfordi Egyetem, Bázeli Immunológiai Intézet) és számos rövidebb (Robert Koch Intézet, Innsbruck-i Egyetem, Weizmann Intézet) külföldi úttól eltekintve - mindig az ELTE munkatársa voltam.

Kutatásaink az immunrendszer működésének szabályozásával kapcsolatosak, elsősorban azzal, hogy az ún. *veleszületett* immunrendszer hogyan vesz részt a nagy fajlagossággal bíró és egyben immunológiai memóriát is biztosító *tanult* – vagy *adaptív* immunrendszer működésében. Elsők között ismertük fel, hogy egyes komplementfehérjék - melyek a veleszületett immunrendszer elemei közé tartoznak – nagyon fontos szerepet játszanak a hatékony immunválasz kialakításában, különböző immunfolyamatok szabályozásában. A komplementrendszer tagjai jelen vannak a vérünkben és a különböző testnedveinkben, és aktiválódásuk jól jelzi, ha pl. kórokozó kerül a szervezetbe, vagy ha károsodnak bizonyos immunfunkciók. Fontos felfedezésünk, hogy a vérben legnagyobb koncentrációban (1,2-1,5 mg/ml) jelenlevő komplementkomponens, a C3 döntő módon be-

folyásolja a B-limfociták aktiválódását, ellenanyagtermelő képességét. Kimutattuk, hogy emberi B-sejteken a C3 molekula különböző aktivációs termékeit kötő receptorok funkciója ellentétes, mivel a C3b fragmentumot kötő egyes típusú receptor (CR1) gátolja, míg a C3d-vel reagáló CR2 fokozza a B limfociták aktiválódását, ellenanyagtermelő képességét. Így tehát e sejtek működése szabályozásának egy újabb szintjét ismertük meg, ami az antigénekhez – kórokozókhoz – közvetve, vagy közvetlenül kapcsolódó komplementfragmentumok révén valósulhat meg. Eredményeinkkel felhívtuk a figyelmet arra is, hogy a CR1 és a CR2 komplementreceptorok B-sejtek funkciójában betöltött szerepe nem azonos egérben és emberben, mivel az előbbiben a két struktúra *alternatív splicing* eredményeként jön létre, ezért a CR1 és a CR2 funkciója szinte teljesen azonos, emberben pedig két külön gén kódolja e receptorokat. Ez alapvetően befolyásolhatja az egér-modellen végzett kísérletek (pl. vakcináció) eredményeinek emberre való alkalmazását.

Egy másik komplementfehérje, a C1q molekula hatását kutatva kimutattuk, hogy jelentősen befolyásolja az adaptív immunválasz első, meghatározó lépését, vagyis a dendritikus sejtek érését, aktiválódását és antigénbemutató képességét. Újabb kutatásaink során azt vizsgáljuk, hogy bizonyos kóros folyamatokban – főként különböző autoimmun betegségek esetében – hogyan módosul ezeknek a veleszületett immun-elemeknek a szerepe, illetve hogyan járulnak hozzá az immunrendszer működésének defektusához.

A laboratóriumban végzett munka mellett mindig szerettem tanítani is. Meggyőződésem, hogy a színvonalas oktatásnak elengedhetetlen feltétele az, hogy a „háttérben” színvonalas kutatótevékenység folyjon. Nagy kihívás az immunológiát oktatni, érdeklődést felkeltően bemutatni a komplex folyamatokat, megpróbálni láttatni, hogyan működik az immunrendszer. Stimuláló, ha látja az ember az izgalmat és érdeklődést a diákok szemében, majd az óra végén nagyon jó kérdéseket kap - és persze fontos a visszajelzésük is. Ezért volt jó érzés, amikor a hallgatók pár éve nekem ítelték a Kar Kiváló Oktatója címet, és az is, amikor Aranyérmes Mestertanár lettem az OTDK-n két ízben is. Természetesen a PhD-t szerzett tanítványaimra is nagyon büszke vagyok; közülük néhányan külföldön is bizonyították kimagasló képességeiket, és számosan kerültek vezető pozícióba. Fontosnak tartom a fiatalokkal való kapcsolatot, mert a jelenlétük, részvételük a kutatómunkában, vagy alkalmanként a különböző közös társas eseményeken - stimuláló hatású. Jó látni, hogy ők is jól érzik magukat a tanszéken.

**Erdei Anna**  
**tanszékvezető egyetemi tanár**  
**Eötvös Loránd Tudományegyetem,**  
**Immunológiai Tanszék**  
**[anna.erdei@freemail.hu](mailto:anna.erdei@freemail.hu)**

## A 2010. ÉVI STRAUB PLAKETT HÁTTÉRÉBEN; AZ ENZIMEKTŐL A RENDEZETLEN FEHÉRJÉKIG



Meghatározó élményem volt az ELTE TTK Vegyész szakán, hogy a Gyógyszerkémiai Szakirányú Képzés keretében 1982-83 során sejtbiológiai és biokémiai speciálkollégiumokat hallgattam. Mai napig emlékszem az élet történéseinek molekuláris-atom szintű leírása által okozott izgalomra, az elkötelezettség érzésére, hogy pályámat ilyen irányban fogom folytatni. Így is történt, 1983-ban a Szegedi Biológiai Központ (SZBK) Enzimológiai Intézetében, vagy ahogy sokan jobban ismerik, a „Karolina úton”, kezdtem dolgozni. A szakdolgozatot követően TMB ösztöndíjasként (a PhD programok elődje volt) is az intézetben maradtam, Keleti Tamás

nagyobb csoportján belül Batke József irányításával dolgoztam. A Keleti csoport ekkortájt kezdett a fehérje-fehérje kölcsönhatások vizsgálatába, ebbe a témába kapcsolódtam be én is. A glikolitikus és citrátköri enzimek kölcsönhatásainak vizsgálata során nagyon sok érdekes és fontos fehérjekémiai technikával ismerkedtem meg. A fehérjék kölcsönhatásait még nem az azóta népszerűvé vált nagy-áteresztőképességű technikákkal (pl. élesztő két-hibrid, TAP-tag) vizsgáltuk – ezek akkor még nem is léteztek –, sokkal egyszerűbb megközelítéseket alkalmaztunk, fluoreszcens jelölések segítségével a jel anizotrópia változásait követtük nyomon, vagy éppen a kölcsönhatás kinetikai következményeit vizsgáltuk. Legfontosabb elvi és kísérleti eredményünk a kölcsönhatás következtében kialakuló „channeling” megfigyelése volt, vagyis annak a jelenségnek a leírása és értelmezése, hogy az anyagcsereút egymást követő enzimeit az intermediert egymásnak közvetlenül átadni képesek. Későbbi pályám és sikertémám (a rendezetlenség kutatása) szempontjából fontos volt, hogy az első évek kutatásai teljes mértékben a hagyományos szerkezet-funkció paradigma gondolkörében teltek, természetesnek vettük, hogy a vizsgált enzimeknek jól definiált térszerkezete van, amit röntgen kristallográfia segítségével meg lehet oldani. Bár még nem létezett a PDB (Protein Data Bank), számos enzim szerkezete ismert volt, és nemcsak az enzim katalízis, hanem a channeling jelensége is értelmezhető volt ezen az alapon, ahogy azt a triptofán szintáz komplex esetén amerikai kutatók le is írták. A fehérje-fehérje kölcsönhatás vizsgálatára épülő szemlélet másik fontos következménye volt számomra, hogy meghívást kaptam Amerikába Prof. Sidney Bernhard (University of Oregon, Eugene, Oregon) laboratóriumába. Az ott töltött másfél év alapvetően meghatározó volt kritikus szakmai szemléletmódom kialakulása szempontjából, mivel Sidney-től megtanultam, hogy az ember addig nem érti a megfigyelt jelenséget, amíg nem közelíti meg minden lehetséges szempontból, minden korábbi ismerete fényében és tükrében. Azelőtt azt hittem, sokat tudok, akkor rájöttem, hogy épphogy elkezdtem a tanulást. Amerikából hazatérve, 1991-ben szereztem meg PhD (akkor kandidátusi) fokozatomat, és határoztam el, hogy valami nagyobb kihívást jelentő témát keresek. Az a megtiszteltetés ért, hogy Friedrich Péter személyesen hívott a laboratóriumába. Péter rendkívül érdekes személyisége, eredeti gondolatmenete, problémafelvetései és újonnan induló nagyon érdekes témája (a me-

móriajelenségek molekuláris alapjainak kutatása) teljesen magukkal ragadtak. Azt gondoltam, ez a biológiai probléma elég komplex, emberi mivoltunkhoz elég közeli ahhoz, hogy átéljem megint azt a korábbi izgatottságot, hogy képesek lehetünk megérteni magát az életet a molekulák és atomok szintjén. Fantasztikus kísérletek szemtanúja lettem, amelyek során a csoportban ecetmuslicákban (*Drosophila melanogaster*) alakítottak ki elemi memórianyomot – vagyis arra tanították őket, hogy emlékezzenek arra, milyen illatok és szagok milyen egyéb, gyakran kellemetlen élményekkel társulhatnak –, majd megpróbálták megállapítani, hogy ez milyen fehérjeszintű változásoknak felelt meg. Enzimaktivitások, poszttranszlációs módosítások, expressziós szintek tartós megváltozása – ehhez hasonló jelenségek álltak a memória háttérében –, és bár a kérdés sokkal bonyolultabbnak bizonyult, minthogy az akkori itthoni lehetőségek között meg tudtuk volna válaszolni, az világossá vált számomra, hogy kreativitásból és képzelőerőből soha nem lehet elég egy kutatónak. Ilyen szellemben kapcsolódtam hát én is be a Friedrich csoport kutatásaiba, és a memóriakutatás két kevésbé vizsgált részterületén érdekes vizsgálatokat folytattunk, fontos részeredményeket értünk el. Mivel a memóriafolyamatok a neuronok kommunikációjának tartós megváltozására vezethetők vissza, amelyek a mikrotubuláris rendszer tartós morfológiai átrendeződéseivel hozhatók kapcsolatba, részletesen vizsgáltuk a mikrotubulus-asszociált fehérje 2 (MAP2) foszforilációjának, szerkezetének változásait, miközben figyelmünk egyre inkább a kalcium jel intracelluláris feldolgozására, és azon belül is a kalcium-aktivált intracelluláris proteázra (kalpain) irányult. Ennek oka az volt, hogy egy 1988-ban publikált modell szerint a kalpain az emléknym kialakulásában kulcsszerepet játszó kalcium-szignál aktiválja, és célzott proteolitikus aktivitása, pl. a MAP2 specifikus hasítása révén, előidézi a neuronok kommunikációjáért felelős szinapszisok tartós morfológiai átrendeződéseit. A kalpain aktiválódásának releváns és érdekes vonásairól mintegy 20 közleményt publikáltunk, legnagyobb visszhangot azok a munkáink váltottak ki, amelyekben az auto-aktiválódás (autolízis) mechanizmusának kérdéseit boncolgattuk, vagy éppen rámutattunk, hogy a különböző kalpainok egymást aktiváló kaszkádba (kalpain-kaszkád) rendeződhetnek. A szerkezeti rendezetlenség fontosságának felismerése, az ezt célzó vizsgálatok elindítása tekintetében több szempontból is meghatározók voltak ezek a kutatások.

Kiemelkedő jelentősége volt például annak a vizsgálatsorozatnak volt, amelyben a kalpain rejtélyes szubsztrátspecifitását vizsgáltuk. A kalpain más proteázoktól (pl. tripszin, kimotripszin) eltérően nem egy jól felismerhető szekvencia motívum mentén hasít, hanem egy lazán definiált szekvencia-preferencia és egyéb globális jelek kombinációját ismeri fel. Több mint száz, irodalomban leírt szubsztrát hasítóhelyének elemzésével rámutattunk, hogy az enzim kedveli a kisméretű, töltött és hidrofil aminosavakat, és a hasítóhely közvetlen környezetétől távolabb preferálja a prolin jelenlétét is. Utólag könnyű felismerni, hogy ezek a megállapított szekvencia motívumok egyértelműen magukon hordják a szerkezeti rendezetlenség jegyeit, vagyis mai eszemmel azt mondanám, a kalpain a fehérjék rendezetlen régióiban (felszíni loop-ok, domének közötti linkek) szeret hasítani. A memória molekuláris mechanizmusának vizsgálata egy további nagyon érdekes és a rendezetlenséghez szintén kapcsolódó ötlethez is

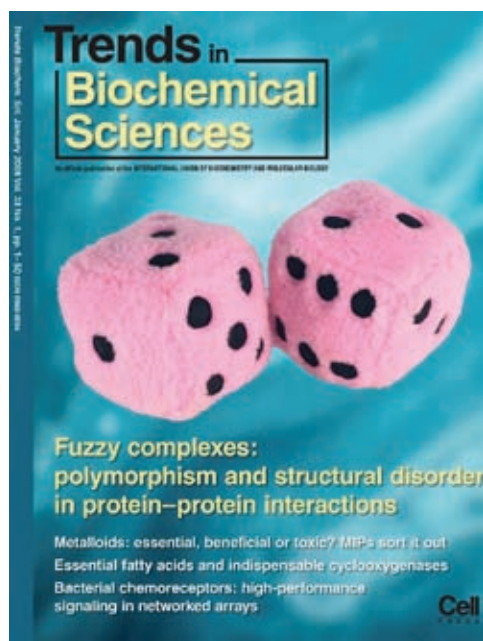


elvezetett, mivel a világon elsőként vetettük fel, hogy a prionok autokatalitikus szerkezetváltozása nem csak patológiás folyamatokban játszhat szerepet, hanem fiziológiás jelentősége is lehet, molekuláris információtárolásra való alkalmassága szélső esetben akár a memórianyom kialakulásának mechanizmusa is lehet – azóta ezt a Nobel-díjas Eric Kandel a tengeri csiga (*Aplysia californica*) memóriamechanizmusainak vizsgálatával igazolta is. A prionokról azóta nagyon sokat írtak, felismerték, hogy nem csak patológiás, hanem fiziológiás (vagyis a sejt normál folyamataiban szerepet játszó) prionok is vannak, és ezek részletes vizsgálata rámutatott, hogy a fehérjék prion tulajdonságért felelős része gyakorlatilag mindig lokálisan rendezetlen. Teljesen rendezetlen az általunk sokat vizsgált MAP2 fehérje is, ami két funkciót kombinál, egyrészt mikrotubulus-kötő doménje stabilizálja az inherensen instabil mikrotubulusokat, másrészt projekciós doménje entropikus okokra visszavezethetően szabályozza a tubulin kötegek távolságát, vagyis a citoskeleton ultrastrukturális felépítését.

A fehérjék szerkezeti rendezetlenségének felismerésében azonban döntő szerepet játszott, hogy a kalpain vizsgálatokban szoros együttműködést alakítottunk ki a kalpain szerkezet-funkció kutatás egyik kiemelkedő személyiségével, Koiichi Suzuki professzorral, akinek a meghívásra 2000-ben három hónapot töltöttem Japánban, a Tokiói Egyetemen. A tanulmányút során a humán kalpain III-as doménjének jellemzésén dolgoztam, és kimutattam, hogy az enzimnek ez a régiója részt vesz a kalcium kötésében és az enzim kalcium általi aktivációjában. Sokkal fontosabbnak bizonyultak azonban azok a bioinformatikai vizsgálatok, amelyek során a kalpain inhibitorának (kalpasztatin) a génjét kerestem az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) genomjában. A genom szekvenciáját épp akkor publikálták, ami alapján tudtuk, hogy furcsa módon az enzimnek (kalpain) a muslicában négy génje is van, az inhibitornak (kalpasztatin) azonban egy sem. Mivel kalpasztatin gént távoli homológia kereső módszerek segítségével sem sikerült kimutatnom a genomban, megpróbáltam a nagyon távoli hasonlóságok megfigyelése céljából az inhibitor aminosav összetételi mintázatát elemezni és a genomban hasonlóságokat találni. A munka eredménye az a váratlan felismerés lett, hogy a kalpasztatin aminosav összetétele rendkívül szokatlan, a fehérje szinte alig tartalmaz hidrofób aminosavakat, ugyanakkor szokatlanul sok töltött aminosav és prolin figyelhető meg benne. Mivel a kalpasztatinról korábban is tudtuk, hogy natív, funkcionális körülmények között is az enzimek denaturált állapotára hasonló „random-coil” szerkezete van, és a megfigyelt aminosav összetétel rendkívül szokatlan volt, ennek a kapcsolatnak a felismerése hatására elhatároztam, hogy ezzel a jelenséggel fogok foglalkozni. Ahogy fentebb írtam, ebben az elhatározásban megerősített az általam akkor már kísérletileg vagy elméletileg részletesen vizsgált másik két fehérje, a prion és MAP2 is, amelyek részben vagy egészen ugyanilyen szokatlan tulajdonságokat mutatnak. Budapestre hazatérve megpróbáltam összeszedni, elolvasni és rendszerezni minden korábbi, a rendezetlenséghez kapcsolódó megfigyelést – már ekkor több ezer ilyen publikáció volt –, ennek eredménye lett a rendezetlen fehérjék éppen akkor születő területének egyik alapműve („Intrinsically unstructured proteins” Tompa 2002, *TiBS* 27, 527-33), amely azóta több mint 600 hivatkozást kapott.

A fehérjék rendezetlenségének – illetve a rendezetlenség fontosságának – elsők között való felismerése alapvetően változtatta meg tudományos karrieremet, ennek és az ezt követő munkáknak köszönhetően 2002-ben elnyertem a Wellcome Trust „International Senior Research Fellowship”-jét. Az ISRF öt évig kiemelt kutatási támogatásról és ennek megfelelően szakmai függetlenségről gondoskodott és lehetővé tette, hogy önálló csoportot alapítsak. A csoportalapítás Friedrich Péterrel való kiemelkedően jó kapcsolatomban következte, nem jelentett szétválást, sokkal inkább még jó darabig szoros együttműködést, a két téma szimbiózisát, a szakmai hangsúly fokozatos eltolódását. A kalpákkal kapcsolatos kutatások eredményeiről még évekig publikáltunk közösen, és 2006-ban a kalpáin témában írt dolgozatommal („A kalpáin aktiválódás mechanizmusa”) nyertem el az MTA doktora címet, amikor a fehérjék rendezetlenségének témája már nagy hangsúlyt kapva folyt a laboratóriumban. A rendezetlenség kutatását, ami az évek során az Enzimológiai Intézet egyik sikertémája lett, a Wellcome Trust támogatást követően egy kiemelt OTKA pályázat, majd EU és más nemzetközi pályázatok tették lehetővé.

A siker titka nagyrészt abban rejlett, hogy kiderült, a szerkezeti rendezetlenség általánosan elterjedt az eukarióta proteomokban (az emberi fehérjék csaknem felében van legalább egy hosszú rendezetlen szakasz, és mintegy 10 százalékuk teljesen rendezetlen), és domináns funkcionális szerepet játszik szabályozó és jelátviteli fehérjékben, például jelátviteli állványfehérjékben és transzkripciós faktorokban. A rendezetlenség számos funkcionális előnnyel jár, és sok esetben egyedi és a globuláris fehérjéktől eltérő funkciókat tesz lehetővé. A rendezetlenség megismerése, részletes szerkezeti-funkcionális analízise így az elmúlt évtizedben a molekuláris sejtbiológia és fehérjekémia egyik kiemelkedő területe lett. Kiderült az is, hogy a jelátviteli folyamatokban játszott fontossága és gyakorisága miatt kiemelkedő szerepet játszik betegségekben is, mivel a rákban (p53, cMyc) vagy éppen neurodegeneratív betegségekben (alfa-szinuklein, tau fehérje) meghatározó szerepet játszó fehérjékben egyrészt nagyon magas a rendezetlenség aránya, a betegségeket okozó mutációk gyakran esnek a rendezetlen szakaszokba, és a rendezetlenség (elsősorban a neurodegeneratív amiloidózisokban, pl. Alzheimer és Parkinson kórban) a betegség kialakulásához vezető molekuláris eseményekkel egyértelműen kapcsolatba hozható.



**1. ábra. Rendezetlenség kötött állapotban (bolyhosság, „fuzzi-ness”) a TiBS címlapján, 2008.**

Mivel a jelenség felismerésében kulcsszerepet játszottunk, és az elsők között kezdtünk hozzá a szisztematikus elemzéséhez, vizsgálataink alapvetően járultak hozzá a rendezetlenség fontosságának elismeréséhez és megismerhetőségének általános elfogadásához. Az elmúlt évtized során laboratóriumunkban átlag

mintegy 15-en dolgoztak a témán, az évek során gyakran 4-5 posztdok és 5-6 diák, aminek eredményeképpen laboratóriumunk kiemelkedő szerepet játszott és játszik a rendezetlen fehérjék vizsgálatában. Kutatásaink során elsősorban három területre koncentrálnak. Mivel a rendezetlenség ellentmond a hagyományos szerkezet-funkció összefüggésnek, számos munkánk irányult a rendezetlen fehérjék funkciói általános szabályszerűségeinek megállapítására, az új szerkezet-funkció paradigma megfogalmazására, egy új „szótár” megalkotására, melynek segítségével leírhatjuk, rendszerezhetjük, racionalizálhatjuk a területen tett megfigyeléseket. Ennek keretében alapvető felismeréseket tettünk, például lefedtünk a rendezetlen fehérjék funkcionális osztályozásának alapjait, megalkottuk a funkcionális sokféleség (funkcionális promiszkuítás, moonlighting), a rendezetlen domének, valamint a kötött állapotban is megfigyelhető rendezetlenség (bolyhosság, fuzziesség) koncepcióját. Eredményeink általában jelentős hivatkozási visszhangot hoztak, és többször is a közlő folyóiratok címlapjaira kerültek, például a moonlighting és fuzziesség esetében, vagy a domén koncepció kiterjesztésekor.

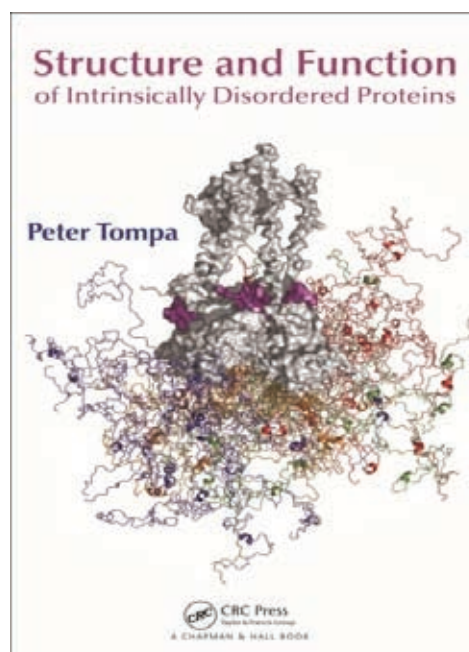
Sok és jelentős felismerést értünk el bioinformatikai megközelítések alkalmazásával is. Az Enzimológiai Intézet a bioinformatikai kutatások egyik hazai központja, ahol korábban számos eredeti felismerés történt a moduláris fehérje-evolúció és transzmembrán fehérjék területén. Csoportom Simon István csoportjával együttműködve számos érdekes vizsgálatot folytatott, amelyekben nagy súlyt fektettünk fontos és általános biológiai kérdések megválaszolására. Ezek közül is kiemelkedik a rendezetlenség szekvenciából történő predikciójára szolgáló algoritmus (IUPred) és szerver kidolgozása, a rendezetlenség és felismerő funkciók közötti kapcsolat megállapítása, az előre kialakuló tranzien szerkezeti elemek („pre-formed structural elements”) felismerő funkciójának megállapítása, valamint a rendezetlen fehérjék repeat-expanzióval történő evolúciójának megfigyelése és funkcionális elemzése. További fontos eredményünk volt annak felismerése, hogy – a várakozással ellentétben – a rendezetlen fehérjék életideje élő sejtben átlagosan nem rövidebb, mint a globuláris fehérjéké, és a sejtben nincs szükségük dajkafehérjék (chaperonok) védelmére. Kimutattuk továbbá azt is, hogy a rendezetlen fehérjék átlagosan nagyobb számú fehérje-fehérje kölcsönhatásban vesznek részt, és gyakran kulcsszerepet játszanak nagy komplexek szervezésében. Egyik legérdekesebb megfigyelésünk, hogy a genom azon szakaszai, amelyek alternatív splicing következtében kettős kódolást mutatnak, az egyik olvasási keretben („reading frame”) csaknem kizárólag teljesen rendezetlen szakaszt kódolnak. Ez a megfigyelés alapvető fontosságú lehet a rendezetlenség eukariótákban való hirtelen megjelenésének evolúciós magyarázata szempontjából.

A rendezetlen fehérjék felismerését követően a legfontosabb koncepcionális átörösz annak felismerése jelentette, hogy a rendezetlenség szerkezetileg és funkcionálisan is részletesen jellemezhető, vagyis a hagyományos szerkezet-funkció paradigma kiterjeszhető. Ez természetesen részletes kísérletes szerkezeti vizsgálatokat igényel, új megközelítések segítségével, vagy a már ismert szerkezeti technikák újszerű alkalmazásával. Egy ilyen lehetséges kutatási projekt mintája azon vizsgálatssorozatunk, amely során a rendezetlenség és chaperone funkció

kapcsolatát tettük részletes vizsgálatok tárgyává. A kérdésselvetés alapja az a korábban általunk tett megfigyelés volt, hogy hagyományos chaperonokban gyakran található a funkció szempontjából fontos rendezetlen szakaszok, és gyakran teljesen rendezetlen fehérjék is hatékony chaperon hatást mutatnak. A jelenség magyarázatára dolgoztuk ki az „entrópia-transzfer” modellt, lásd címlap és Tompa, P. és Csermely, P. 2004, FASEB J. 18, 1169-1175. A modell ellenőrzésére részletes vizsgálatokat folytattunk rendezetlen növényi stressz-fehérjékkel (Kovács D. és mtársai 2008, Plant Physiol 147, 381-390). Ezen vizsgálatok megkoronázása annak élő sejtekben történő NMR nagy-felbontású szerkezeti technika (in-cell NMR) segítségével való kimutatása, hogy ezek a fehérjék *in vivo* is rendezetlenek, és ennek a rendezetlenségnek fontos szerepe van a fehérjéknek a sejteket dehidratációs stressz ellen védő chaperone funkciójában. Kísérletes erőfeszítéseink további fontos eredménye egy új 2D elektroforézis technika kidolgozása is, amely alkalmas a rendezetlen fehérjék elválasztására és új rendezetlen fehérjék sejt kivonatból történő azonosítására. Az új módszer lehetővé tette az első adatbázis, a DisProt (<http://www.disprot.org/>) adatokkal való feltöltését is.

A rendezetlenség felismerése alapvetően változtatja meg és terjeszti ki a fehérjéről alkotott nézeteinket. A területen játszott meghatározó szerepünket és hozzájárulásunkat sokféle elismerés is megerősítette, pl. állandóan meghívott előadóként szerepelek fehérjekémiai konferenciákon (évente 5-10 alkalommal), illetve vendégprofesszorként előadásokat tartottam mintegy 50 egyetemen. EMBO támogatással sikerült megszervezni az első teljesen ennek a témának szentelt konferenciát (EMBO-SPINE2 Workshop „Intrinsically unfolded proteins: from structure to function”, 2007 május, Budapest). Egyik fő szervezője (vice-chair) voltam a rendezetlen fehérjékkel foglalkozó első Gordon konferenciának („Intrinsically Disordered Proteins”, 2010 július, Davidson, NC, USA), illetve elnöke leszek a második ilyen Gordon konferenciának (2012 július, West Dover, VT, USA). A tudományos kutatások és előadások mellett az oktatásból is aktívan kiviszem a részemet, PhD kurzusokat tartottam az ELTE-n (2005 és 2010), a St. Jude Kórházban (Memphis, USA, 2004), a Weizmann Intézetben (Rehovot, Izrael, 2006) és az ECUST Egyetemen (Sanghaj, Kína, 2008). A laboratóriumban az elmúlt években 8 PhD dolgozat készült vagy van készülőben.

Kutatási eredményeimből eddig összesen mintegy 100 cikk és 10 könyvfejezetet jelent meg, és 2009-ben felkérésre én írtam meg a terület első monográfiáját („Structure and function of intrinsically disordered proteins”, 2009, Taylor and Francis). Publikációimra összesen mintegy 3500 hivatkozás érkezett. Kutatásaimért 1993-ban Akadémiai Ifjúsági Díjban, 1999-ben és 2003-ban Bolyai János



**2. ábra. A rendezetlen fehérjék területének első monográfiája (Taylor and Francis, 2009).**

kutatási ösztöndíjban, 2010-ben Akadémiai Díjban, illetve Straub Plakettben részesültem. Kutatómunkámon kívül fontosnak tartom, hogy a tudományos közéletből is kivegyem a részem, többféle tudománypolitikai szerepet is vállaltam és vállalok, az Enzimológiai Intézet tudományos titkára, az MTA Biokémiai és Molekuláris Biológiai Bizottsága titkára, majd elnöke, az OTKA Infraindividuális I szakzsűri tagja, majd az OTKA Molekuláris Biológia (MOLBI) szakzsűri elnöke voltam. Eredményeim elismeréseként meghívtak a Flamand Biotechnológiai Intézet (VIB) Szerkezeti Biológiai Intézete (Brüsszel, Belgium) igazgatójának, amit 2011 májusától elvállaltam, miközben kutatásaimat az Enzimológiai Intézetben is tovább folytatom.

***Tompa Péter***  
***tudományos tanácsadó***  
***MTA Szegedi Biológiai Központ***  
***Enzimológiai Intézet***  
***Budapest***  
***és***  
***igazgató***  
***Flamand Biotechnológiai Intézet (VIB)***  
***Szerkezeti Biológiai Intézete***  
***Brüsszel, Belgium***

## A 26S PROTEASZÓMA POLIUBIQUITIN RECEPTORAINAK VIZSGÁLATA ECETMUSLICÁBAN

Lipinszki Zoltán\*

Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Kutatóközpont,  
Biokémiai Intézet (lzoltan@brc.hu)

### Összefoglaló

Az ubiquitin-proteaszóma rendszer feladata a rövid féléletidejű vagy sérült regulátor fehérjék szelektív lebontása. Szerepet játszik a sejtciklus és a fehérje-minőségellenőrzés szabályozásában, ezért hibás működése komoly betegségek okozója lehet. A proteaszóma rendszer alapvető működését, hogy hogyan ismeri fel a lebontásra kijelölt fehérjét, és azok hogyan jutnak el a degradációs apparátushoz, már részletesen ismerjük élesztőben! Kutatócsoportunk az ecetmuslica proteaszóma rendszerét vizsgálva a szubsztrátfelismerő receptorok újfajta, a magasabbrendű eukariótákra jellemző szabályozására mutatott rá. Kimutattuk, hogy a poliubiquitin receptorok koncentrációja változik az egyedfejlődés folyamán, melyet specifikus szerin-proteázok szabályoznak. A receptorok egymással való kölcsönhatását pedig poszttranszlációs módosítások határozzák meg, melyek fontos szerepet játszanak a receptorok proteaszómális vagy extraproteaszómális elhelyezkedésében is. Ezek az eredmények hozzájárulhatnak a humán proteaszóma rendszer működésének pontosabb megértéséhez, amely létfontosságú a sikeres diagnosztikai és terápiás eljárások kifejlesztéséhez!

### Bevezető

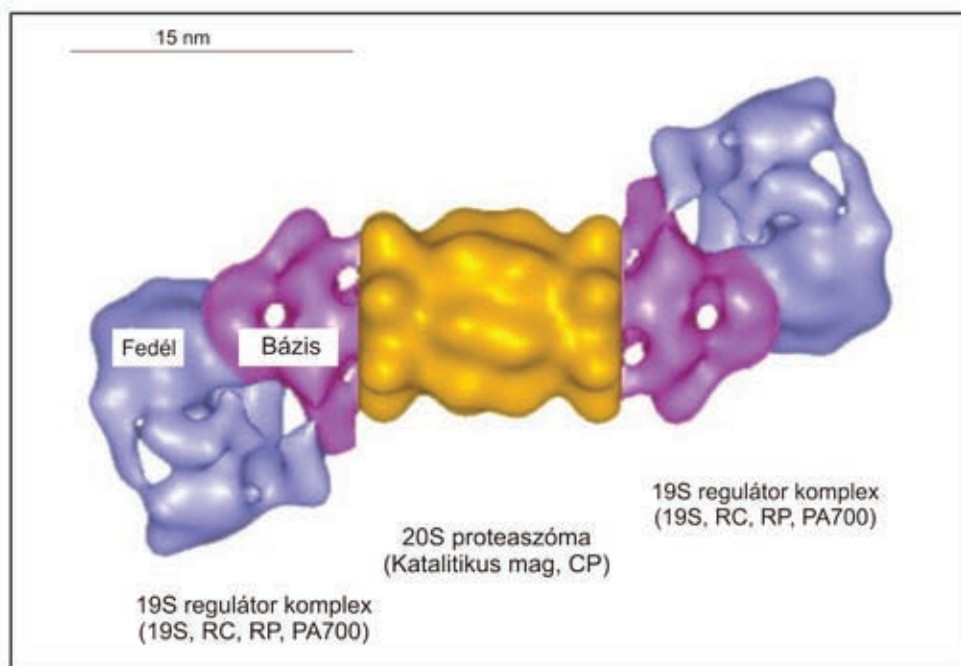
#### Az ubiquitin-proteaszóma rendszer működése

Az eukarióta sejtekben az ubiquitin-proteaszóma rendszer (UPR) végzi a funkcióvesztett és a rövid féléletidejű regulátor fehérjék (pl. sejtciklus szabályozók és transzkripciós faktorok), valamint az ERAD (endoplazmatikus retikulumhozkapcsolt protein degradáció) részeként a szekretoros transzportláncba került, irreverzibilisen denaturálódott fehérjék szelektív, gyors és kvantitatív lebontását. Olyan sejtbiológiai folyamatok szabályozásában vesz részt, mint a sejtciklus és sejtosztódás, génexpresszió, antigén prezentáció, szignál transzdukció, fehérje-minőségellenőrzés, DNS hibajavítás, stb., ezért a funkciónyeréses vagy veszteses mutációk, vagy a káros környezeti hatások okozta hibás működése komoly sejtélettani zavarokhoz és végső soron különféle betegségek (pl. neurodegeneratív, kardiovaszkuláris, daganatos, autoimmun, stb.) kialakulásához vezethet. A legtöbb ismeretanyagunk az UPR-ről (amely alapvetően eléggé részletes) egysejtű élesztőkkel végzett kísérleti megfigyelésekből származik. Habár az UPR számos résztvevője és folyamata nagyfokú konzerváltságot mutat az eukarióta fajok között, egyre több olyan eredmény lát napvilágot, amely a különbségekre mutat rá, főleg alacsonyabb- és magasabbrendű eukarióták között. Ezért létfontosságú az UPR mélyreható vizsgálata olyan modellorganizmusokban

\*Lipinszki Zoltán 2010-ben Junior Prima Díjat kapott, lásd *Biokémia XXXIV. évfolyam 4. szám.*

is (*Drosophila*, egér), melyek elősegíthetik a humán proteaszóma működésének megértését és a hibáiból adódó betegségek diagnosztizálását, kezelését és gyógyítását. Azt, hogy mennyire fontos is az UPR megismerése, nem csak a 2004-ben Hershko-nak, Ciechanover-nek és Rose-nak az UPR felfedezéséért kapott Kémiai Nobel-díja bizonyítja, hanem az is, hogy ma már sikeresen alkalmazunk proteaszóma gátlószereket a myeloma multiplex kezelésére [1].

A szabályozott intracelluláris degradáció két különböző, de egymással kölcsönhatásban álló rendszerből áll. Az első a lebontandó célfehérje jelölésének szakasza (ubiquitiláció), a második pedig a szubsztrát felismerése, a degradációs komplexumhoz (26S proteaszóma) történő szállítása és végül lebontása. Az ubiquitiláció során a lebontandó fehérje poliubiquitilálódik [2], melyet az ubiquitilációs enzimek katalizálnak (E1-ubiquitin aktiváló, E2-ubiquitin konjugáló és E3-ubiquitin ligáz) [3]. A poliubiquitiláció folyamán a célfehérje valamely kitüntetett lizin aminosavához ( $\epsilon$ -aminocsoportjához) kovalensen kapcsolódik egy 76 aminosavból álló, konzervált polipeptid, az ubiquitin. Ezután a primer ubiquitin 48-as pozíciójában elhelyezkedő lizin oldallánchoz egy újabb ubiquitin monomer kapcsolódik, és több ilyen ciklus végeredményeként létrejön az ún. K48-as poliubiquitin lánc. Ezt a típusú ubiquitin láncot ismerik fel a poliubiquitin receptorok, amelyek megkötik, és a 26S proteaszómához szállítják a lebontandó szubsztrátot.

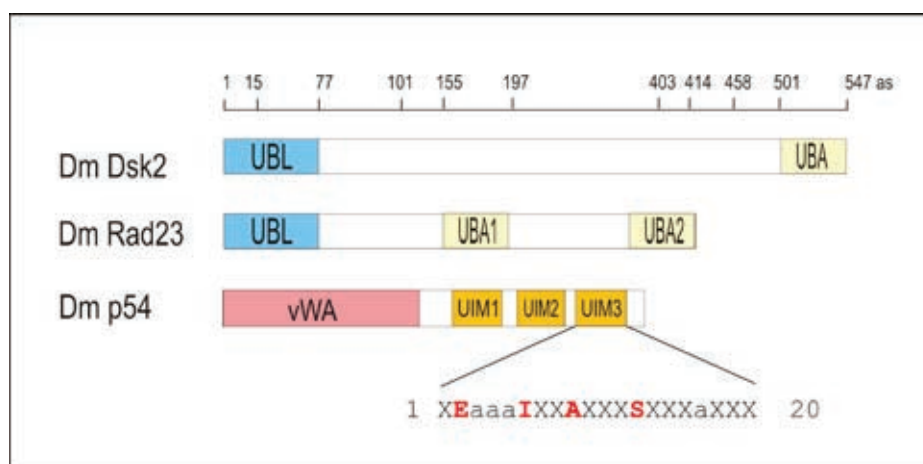


**1. ábra. A *Drosophila* 26S proteaszóma 3D modellje** (Voges et al., (1999) *Ann Rev Biochem* 68, 1015-1068).

A degradációs apparátus az ún. 26S proteaszóma holoenzim (1. ábra) két kisebb alkomból, a 20S partikulumból és egy vagy kettő 19S regulátor komplexből áll [4]. A 28 alegységes, hordó alakú, 20S katalitikus mag három ún. nanokamrát hordoz, melyeket egy keskeny, zárt végű, központi csatorna köt össze [5]. A 19S regulátor komplex, amelyet két alkomból (bázis és fedél) alkot [6], dokkolási felszínt biztosít [7] a szubsztrátot szállító poliubiquitin recepto-

rok számára, az ubiquitin monomereket reprocessálja a citoplazmába [8, 9], anti-chaperon [10] aktivitásának köszönhetően letekeri a lebontandó fehérjét, kinyitja a 20S partikulum zárt csatornáját, és a széttekert fehérjét a központi nanokamrába pumpálja [11].

## A poliubiquitin receptorok



**2. ábra. A *Drosophila* fő poliubiquitin receptorainak sematikus képe.** UBL – ubiquitin-szerű domén, UBA – ubiquitinnel-asszociáló domén, UIM – ubiquitin-interakciós motívum. Az UIM **E**, **I**, **A** és **S** aminosavai konzerváltak és szükségesek az ubiquitin vagy az UBL kötéséhez.

Kutatásaink központi szereplői a poliubiquitin receptorok, amelyek két családba sorolhatók: 1. az extraproteaszómális UBA-UBL ingázó fehérjék (**Dsk2**, **Rad23** és **Ddi1**) [12], melyek nem a proteaszóma alegységei; 2. a proteaszóma saját alegységei (**p54** és **p42E**) [13, 14]. A Rad23 és Dsk2 UBA (ubiquitin-asszociáló) [15, 16] doménjükkel kötik meg a poliubiquitilált szubsztrátokat, míg UBL (ubiquitin-like) doménjükkel (2. ábra) ideiglenesen a regulátor komplexum valamely alegységéhez kapcsolódnak. A p54 az UIM (ubiquitin-interacting motif [15]) motívumaival lép kölcsönhatásba a szubsztrát poliubiquitin láncával, míg vWA (von-Willebrand A) doménjével (2. ábra) a regulátor komplex bázis-fedél határához illeszkedik. Habár az egyes receptorok domén- és motívum összetétele nagyon hasonló a különböző eukarióta fajokban megjelenő ortológok között, mégis számos különbséget vélhetünk felfedezni a működésük és szabályozásuk terén. Élesztőben például a poliubiquitin receptorok a 19S regulátor komplexum Rpn1/Rpn2 alegysége által létrehozott gyűrűhöz kapcsolódnak, s a Dsk2 és p54/Rpn10 (*Drosophila*/élesztő ortológok) versengenek ezért a kötőhelyért [17]. A Dsk2 csak akkor tud az Rpn1/Rpn2-höz kapcsolódni, ha a p54/Rpn10 nincs jelen a komplexumban. Sarjadzó élesztőben ráadásul a poliubiquitin receptorokat kódoló gének egyenkénti deléciója nem okoz különösebb zavart a sejt életében [18, 19]. Ezzel szemben *Drosophilában* a p54 vagy a Dsk2 [20, 21], és egérben a p54/Rpn10 (*Drosophila*/egér ortológok) [22] fehérjék hiánya fejlődési rendellenességeket és végül letalitást okoznak. Ezek az adatok azt sugallják, hogy míg alacsonyabbrendűekben a poliubiquitin receptorok képesek komplementál-

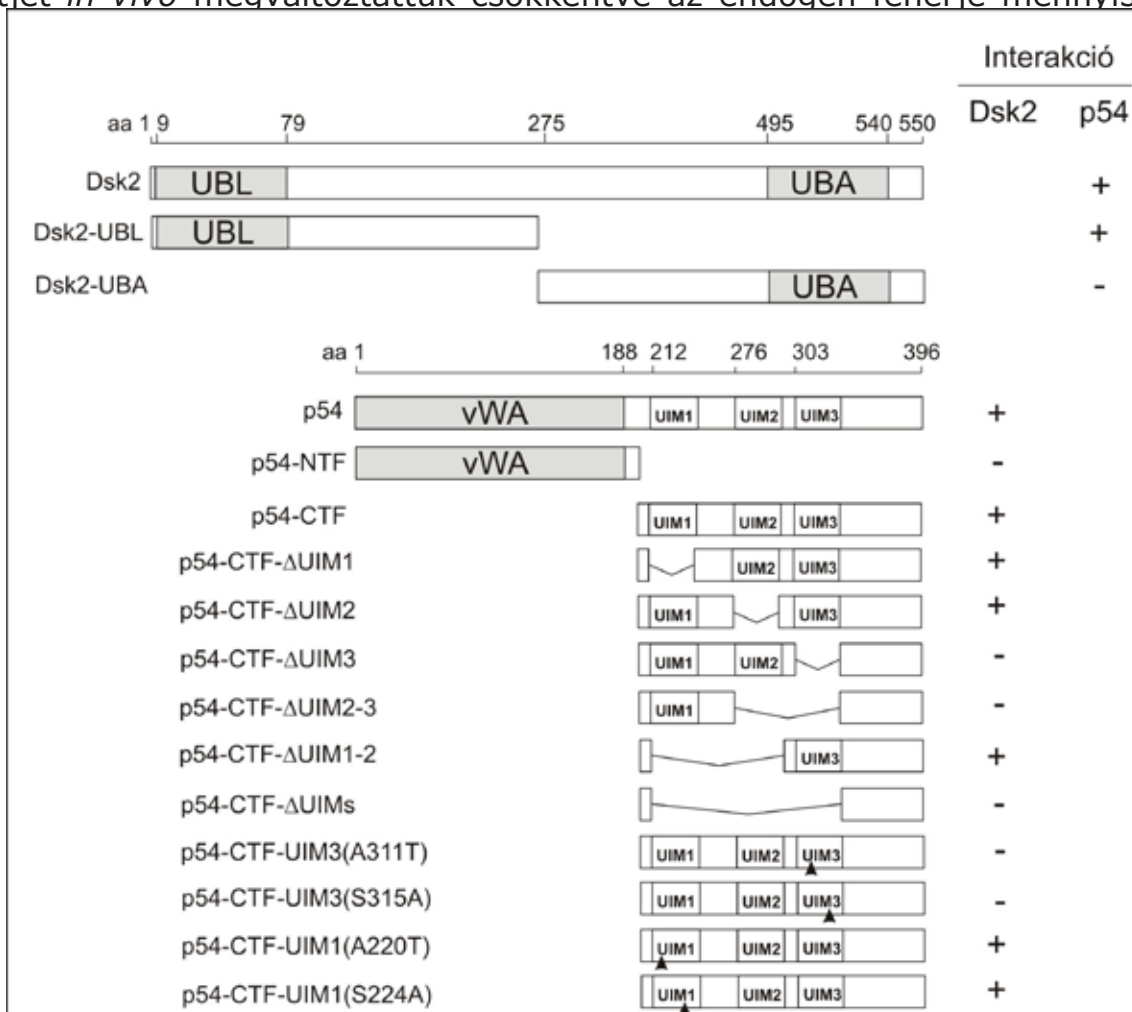


ni egymást, addig magasabbrendűekben minden ilyen receptornak megvan a maga esszenciális funkciója.

### Eredmények

#### A muslica p54 és Dsk2 poliubiquitin receptorai esszenciálisak és kölcsönhatnak

Már régóta tudjuk, hogy a *Drosophila* p54 null-mutánsa ( $\Delta p54$ ) életképtelen, és ezekben az állatokban mitotikus aberrációk, a poliubiquitilált fehérjék és a proteaszóma többi alegységének felhalmozódása, valamint polifázisos letalitás figyelhető meg [20]. A modern UAS-Gal4 (23) és RNS-interferencia [24] technikákat alkalmazva transzgénikus muslicákban legyengítve a p54 kifejeződését, amely a p54 fehérje szintjének drasztikus csökkenését okozta, a fenti null-mutánsra jellemző fenotípust kaptuk. Ezzel egyértelműen bizonyítottuk, hogy az élesztővel szemben a muslica p54 esszenciális alegysége a proteaszómának. A p54 túltermeltetése ugyanakkor nem okozott semmilyen elváltozást, és az állatok életképesek és fertilisek voltak. Ha a Dsk2 UBA-UBL poliubiquitin receptor szintjét *in vivo* megváltoztattuk csökkentve az endogén fehérje mennyiségét,



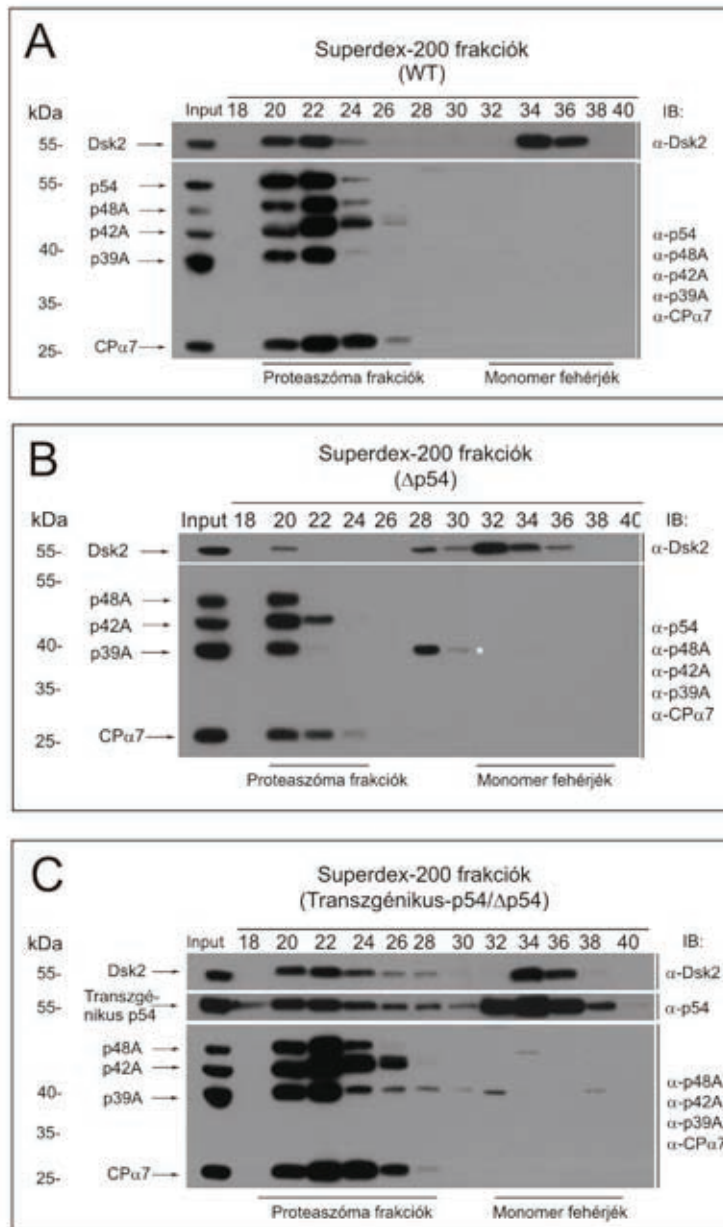
3. ábra. A fehérje-fehérje kölcsönhatások feltérképezésénél használt p54 és Dsk2 darabok sematikus képe. A p54 UIM-3 szükséges és elégséges a Dsk2 UBL doménjének kötéséhez.

vagy éppen növelve a celluláris koncentrációját transzgénikus Dsk2 túltermelésével, felhalmozódtak a poliubiquitilált fehérjék, és az állatok bábstádiumban elpusztultak, ami a Dsk2 nélkülözhetetlen szerepére mutatott rá [Lipinszki Z és munkatársai, közlésre benyújtva]. Ezek a kísérletek azt igazolták, hogy ecetmuslicában a fő poliubiquitin receptorok esszenciálisak, és nem képesek átvenni egymás szerepét, vagyis mindegyiknek megvan a saját személyre szabott feladata a sejtben.

Amikor a p54-et és a Dsk2-t együtt expresszáltattuk ugyanazon légyvonalban, az állatok kikeltek és fertilisek voltak. A transzgénikus p54 képes volt menekíteni a túltermeltetett Dsk2 okozta fejlődési rendellenességeket és letalitást, genetikai kölcsönhatást feltételezve e két receptor között. *In vitro* fehérje-fehérje kölcsönhatási kísérleteket végezve kimutattuk, hogy a p54 harmadik UIM-a (**UIM-3**; 2. ábra) fizikai kölcsönhatásba lép a Dsk2 **UBL** doménjével (2. ábra), amit később transzgénikus állatokkal végzett kísérletekkel *in vivo* is igazoltunk (3. ábra). Aminosavcserés vizsgálatokkal bebizonyítottuk (az UIM-1 (kontroll) és UIM-3 konzervált aminosavait (2. ábra, pirossal kiemelve) [15] elrontva), hogy a p54 UIM-3 szükséges és elégséges a Dsk2 UBL doménjének kötéséhez (3. ábra).

### A Dsk2 a p54-en keresztül kapcsolódik a proteaszómához

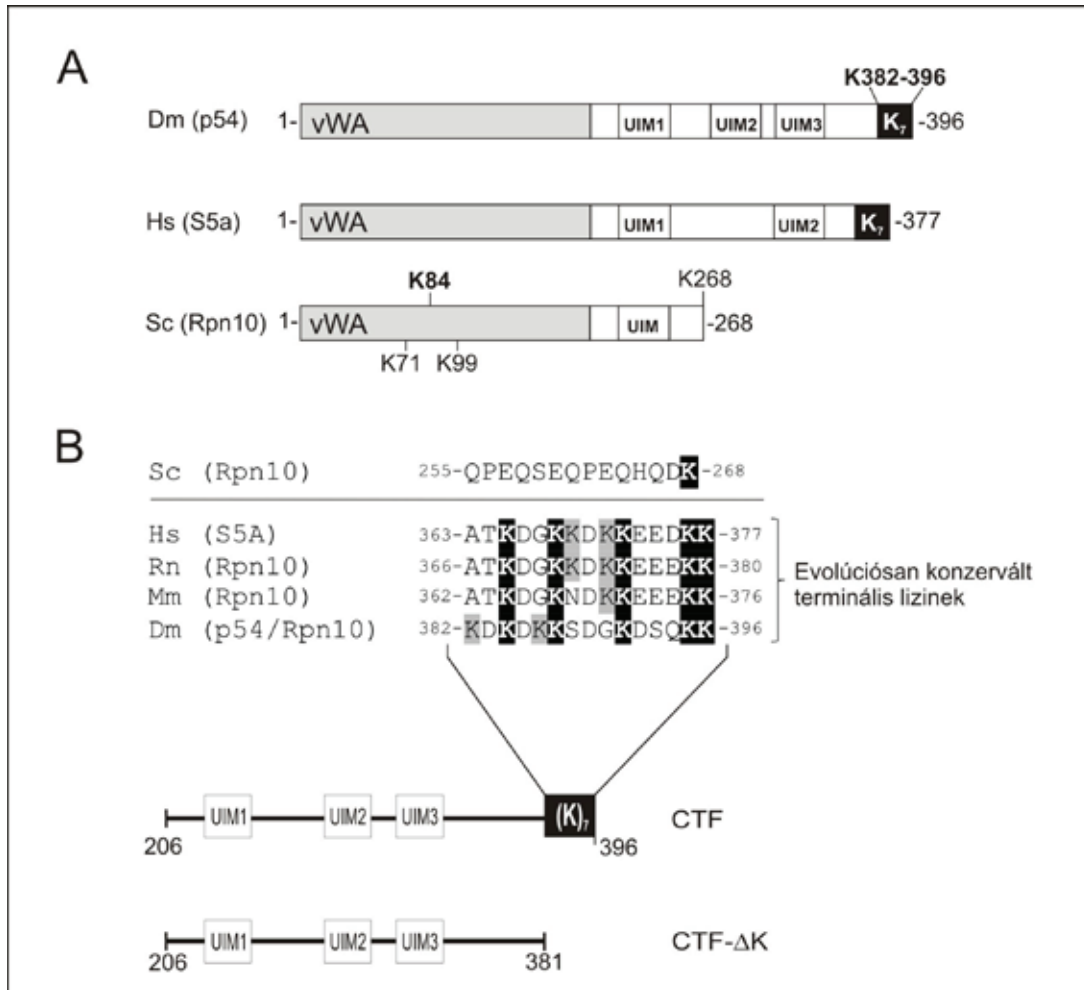
A fenti eredmények egyértelmű kapcsolatot mutattak ki a p54 és Dsk2 poliubiquitin receptorok között, ezért felmerült annak lehetősége, hogy a *Drosophila* Dsk2 a p54-en keresztül (is) képes kapcsolódni a proteaszómához. Vad típusú állatok fehérje extraktumát felhasználva gél-sűrési kromatográfiát végeztünk, amellyel natív körülmények között elkülöníthető a proteaszóma (és vele együtt a p54) az extraproteaszómális fehérjéktől. Ahogyan azt vártuk is, az endogén Dsk2 egy része a p54-tartalmú vad típusú proteaszómával együtt eluálódott, míg a maradék extraproteaszómálisan, a monomer fehérjék között halmozódott fel (4A. ábra). A  $\Delta$ p54 null-mutáns állatokban a Dsk2 szinte kizárólag extraproteaszómálisan jelent meg, s csak nyomokban volt kimutatható a proteaszómális frakciókban (4B. ábra); a p54 hiányában nem (vagy csak nagyon kis affinitással) tudott kapcsolódni a komplexumhoz. Végezetül, ha a  $\Delta$ p54-es háttéren transzgénikus p54-et expresszáltattunk, az beépült a holoenzimbe, ahol újra megjelent az endogén Dsk2 is (4C. ábra). Ennek ismeretében bátran kijelenthetjük, hogy a *Drosophila* Dsk2 a p54-en keresztül kapcsolódik a proteaszóma regulátor komplexumához [Lipinszki Z. és munkatársai, közlésre benyújtva], ami szöges ellentétben áll az élesztőben megfigyeltekkel, ahol a Dsk2 nem közreműködik, hanem verseng a p54/Rpn10-zel [17]. Mi okozhatja a két faj között ezt a különbséget? Ha közelebbről megvizsgáljuk az élesztő p54/Rpn10 alegységét, máris szembetűnik, hogy sokkal rövidebb, mint a magasabbrendű ortológjai (5A. ábra), továbbá, csak egyetlen UIM-ot hordoz, szemben a *Drosophila*, egér és humán p54/Rpn10/S5a-val. Az élesztő egyetlen UIM-a pedig a *Drosophila* (valamint az egér és a humán) első UIM-ának felel meg (5A. ábra). Feltehetően magasabbrendűekben az extra UIM-ok megjelenése egy újfajta kölcsönhatásra (és szabályozásra) adott lehetőséget, amely a p54 és Dsk2 között alakult ki. Humán sejtekben hasonló interakciót találtak a p54/S5a és a Rad23 között [25].



**4. ábra. A Dsk2 csak a p54 jelenlétében kötődik a proteasómához. A)** Vad típusú állatokban a Dsk2 egy része a proteasómához kötött (fr. 20-24), míg a többi extraproteasómálisan halmozódik fel (fr. 34-36). **B)** Δp54-es állatokban a Dsk2 csak nyomokban mutatható ki a proteasómában. **C)** A transzgénikus p54, amely beépül a Δp54-es proteasómába a Dsk2 újbóli proteasómális megjelenését okozza. IB - immunoblot: anti-Dsk2, anti-p54, anti-p48A, anti-p42A és anti-p39A (a 19S regulátor komplex alegységei), anti-CPα7 (a 20S katalitikus mag alfa alegysége). **(Lipinszki Z és munkatársai, közlésre benyújtva).**

#### A p54 C-terminális lizinjei ubiquitilálódnak

Habár a p54 a proteasóma saját alegysége, régóta feltételezzük (és *in vitro* kísérletekkel igazoltuk is), hogy képes kilépni a proteasómából, extraproteasómálisan működni, majd visszaépülni a holoenzim-komplexumba [26]. Hogy modellezzük a p54 extraproteasómális állapotát, létrehoztunk egy transzgénikus törzset, amelyben túltermeltettük a p54 C-terminális felét (CTF). A CTF (5B. ábra), amely nem hordozza az N-terminális vWA domént, a vártnak meg-



**5. ábra. A p54 és ortológjainak, a terminális lizinek és a CTF/CTF-ΔK transzgénikus fehérjék sematikus képe A)** A muslica, humán és élesztő p54/S5a/Rpn10 sematikus képe. Az élesztő Rpn10 csak egyetlen UIM-ot tartalmaz, amely a humán és muslica UIM-1-nek felel meg. Az ubiquitilációs helyek (K) számmal vannak jelölve. **B)** A magasabbrendűek p54 ortológjaiban a terminális lizinek (5 a 7-ből) evolúciósan konzerválódtak. **(Lipinszki Z és munkatársai, közlésre benyújtva).**

felelően extraproteaszómáisan halmozódott fel, viszont az állatok lárvastádium végi pusztulását okozta. Az affinitás-kromatográfiával tisztított transzgénikus CTF tömegspektrometriai elemzése kimutatta, hogy a CTF *in vivo* ubiquitilálódik. A CTF-ben található egy, a magasabbrendűekben konzerválódott, terminálisan elhelyezkedő lizin csoport (5B. ábra). Ha ezeket a lizineket eltávolítottuk (CTF-ΔK), a transzgénikus fehérje nem ubiquitilálódott, és habár extraproteaszómáisan felhalmozódott, nem ölte meg az állatot. Ebből arra következtettünk, hogy a p54 extraproteaszómális tartózkodása folyamán ubiquitilálódik, és valamilyen fontos fejlődés-életteni szerepet tölt be. Ha ezt megzavarjuk, az állat elpusztul. Ezért megvizsgáltuk a proteaszóma endogén p54 tartalmát az egyedfejlődés különböző fázisaiban, és kimutattuk, hogy az más és más koncentrációban van jelen az ontogenezis folyamán: embrió korban magas a szintje, majd lárváiban drasztikusan lecsökken, s csak a bebábozódást követően éri el újra a maximumát [21]. Érdekes felfedezés volt, hogy a Dsk2 és Rad23 extraproteaszómális receptorok is hasonlóan viselkednek. Mindennek a háttérben olyan lárvastádium-specifikus szerin-proteázok állnak (ezeket homogenitásig tisztított-

tuk, azonosítottuk, és részletesen jellemeztük), amelyek kizárólag a fő poliubiquitin receptorokat ismerik fel és bontják le, vagyis a poliubiquitin receptorok fejlődésstádium-specifikus szabályozása proteolitikus szinten valósul meg. Azt is kimutattuk, hogy a CTF túltermelő állatok lárváiban drasztikusan felhalmozódik az endogén p54, Dsk2 és Rad23, melynek háttérében az őket normális körülmények között lebontó szerin-proteázok transzkripciójának gátlása áll. A CTF- $\Delta$ K-t túltermelő állatokban ilyen típusú transzkripciós gátlást nem lehetett kimutatni. Ma még nem tudjuk pontosan, hogy az extraproteaszómáisan felhalmozódott és ubiquitilált CTF hogyan képes ezt a gátlást előidézni. Azt feltételezzük, hogy a poliubiquitin receptorok fejlődésstádium-specifikus szabályozását végző proteázok és e receptorok között negatív visszacsatolási utak működnek. Jelenleg ennek a háttérét vizsgáljuk.

A CTF *in vivo* ubiquitilációjának típusa és mechanizmusa újabb érdekességnek számít. Kimutattuk, hogy a p54 C-terminális lizinjei többszörösen monoubiquitiláltak, és ez a módosítás egyértelműen nem degradációs jel (az ubiquitilációnak számos fajtáját ismerjük, és ezek közül csak a K48-as poliubiquitin számít degradációs jelnek), hiszen az ubiquitilált CTF féléletideje több mint 2 nap. A CTF ubiquitilációjának lejátszódásához pedig szükséges az UIM-3 (és annak konzervált aminosavainak) jelenléte, vagyis a terminális lizinek ún. kapcsolt ubiquitiláció révén módosulnak. A kapcsolt ubiquitiláció (amelyet az endocitózisban szerepet játszó UIM tartalmú fehérjéknél mutattak ki [27]) lényege, hogy az ubiquitilálandó fehérje UIM-a megköti a fehérjét módosító monoubiquitilált vagy UBL doménnel rendelkező ubiquitin-ligázt (E3), amely csak ezután tudja megjelölni a megfelelő lizin aminosavat. Egyszóval, az UIM tartalmú fehérje a saját maga posztszintetikus módosítását szabályozza.

### **A Dsk2 csak a módosíthatatlan p54-gyel lép kölcsönhatásba**

Fehérje-fehérje kölcsönhatási kísérleteink azt igazolták, hogy az ubiquitilált CTF nem képes kapcsolódni a Dsk2 UBL doménjéhez, vagyis a módosítás megzavarja a két fehérje közti interakciót. A teljes hosszúságú p54-et termelő törzseket megvizsgálva kiderült, hogy a transzgénikus, teljes hosszúságú p54 is ubiquitilálódik (ha a konzervált terminális lizinjei jelen vannak), viszont a módosított formák soha sem jelennek meg a proteaszómában, kizárólag extraproteaszómáisan halmozódnak fel. Azt is kimutattuk, hogy a Dsk2 csak a módosíthatatlan p54-hez kötődik, valamint, hogy nagyobb affinitással kapcsolódik a proteaszómába beépült p54-hez, mint a szabadon lévőhöz [Lipinszki Z és munkatársai, közlésre benyújtva]. Valójában az ubiquitiláció, mint egyfajta molekuláris kapcsoló játszik szerepet ebben a folyamatban, és meggátolja a Dsk2 extraproteaszómális p54-hez történő kötődését.

### **Diszkusszió**

A muslica poliubiquitin receptorai az ontogenezis folyamán különböző koncentrációban vannak jelen. Lárvastádiumban megjelenik egy szerin-proteáz garnitúra, melyek hatékonyan és specifikusan képesek lebontani a fő poliubiquitin receptorokat. A bábstádium elején szerin-proteáz inhibitorok jelennek meg, melynek hatására a poliubiquitilált fehérjék szintje emelkedni kezd, így a p54 (vagy annak extraproteaszómális ubiquitilált formájának) hatására ezen szerin-

proteázokat kódoló gének is kikapcsolnak. Hogy pontosan miért van szükség a poliubiquitin receptorok alacsony szinten tartására a lárvákban, azt ma még nem tudjuk. Egyik lehetséges magyarázat szerint lárvakorban, amikor az állatok hipoxiás környezetben élnek, lecsökken a proteasóma aktivitása, és egy új, agresszívebb proteáz csoport jelenik meg, amely a denaturálódott fehérjék eltávolítását hatékonyabban, de kevésbé precízen végzi. Ilyen proteázokat sikerült tisztítanunk és azonosítanunk.

Muslicában a fő poliubiquitin receptorok kölcsönhatnak egymással. A p54 harmadik UIM-a, amely megfelel a humán p54/S5a második UIM-ának, erős kapcsolatot képes kialakítani a Dsk2 UBL doménjével, amely így a proteasómához tudja szállítani a szubsztrátjait. Extraproteasómális tartózkodása során a p54 többszörösen monoubiquitilálódik, amely a (magasabbrendűekben konzervált) terminális lizinjein megy végbe. A p54 ilyen fajta posztszintetikus módosítása nem degradációs jel, feltehetően a fehérje stabilitásában és a kölcsönhatásainak szabályozásában van szerepe. Az ubiquitilált p54 kizárólag extraproteasómálisan jelenik meg és nem képes a Dsk2 kötésére, megakadályozva a szubsztrátot szállító Dsk2 kizáródását a proteasómából. Habár élesztőben is kimutatták, hogy a p54/Rpn10 monoubiquitilálódik [28], a módosítás a fehérje különböző pontjain elhelyezkedő, evolúciósan nem konzervált lizineken alakul ki (5A. ábra). Tovább élesztőben a monoubiquitilált p54/Rpn10 előfordul a proteasómában is, és nem a Dsk2, hanem a poliubiquitilált fehérjék kötődésének szabályozását végzi.

### Köszönetnyilvánítás

Kutatásaink kivitelezése a kollaborátorok, valamint az MTA SZBK Biokémiai intézetének támogatásával valósulhatott meg. Egyéb forrás nem állt a rendelkezésünkre. A szerző hálásan köszöni témavezetőjének, Dr. Udvardy Andornak a támogatását és közreműködését, Udvardy Katalinnak és Gonda Arankának a technikai segítséget. Akiket szintén köszönet illet: Dr. Pósfai György, Dr. Kiss Petra, Dr. Pál Margit, Dr. Deák Péter, Dr. Medzihradzky F. Katalin, Dr. Hunyadi-Gulyás Éva, Dr. Klement Éva, Dr. Márkus Róbert, Dr. Szabó Áron, Nagy Olga, Kovács Levente és Lipinszki-Ugró Tímea.

### Irodalomjegyzék

1. Navon, A., and Ciechanover, A. (2009) The 26 S proteasome: from basic mechanisms to drug targeting. *J Biol Chem* **284**, 33713-33718
2. Ravid, T., and Hochstrasser, M. (2008) Diversity of degradation signals in the ubiquitin-proteasome system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **9**, 679-U625
3. Hochstrasser, M. (2006) Lingering mysteries of ubiquitin-chain assembly. *Cell* **124**, 27-34
4. Zwickl, P., Seemuller, E., Kapelari, B., and Baumeister, W. (2001) The proteasome: a supramolecular assembly designed for controlled proteolysis. *Adv Protein Chem* **59**, 187-222
5. Groll, M., and Huber, R. (2003) Substrate access and processing by the 20S proteasome core particle. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **35**, 606-616

6. Holzl, H., Kapelari, B., Kellermann, J., Seemuller, E., Sumegi, M., Udvardy, A., Medalia, O., Sperling, J., Muller, S. A., Engel, A., and Baumeister, W. (2000) The regulatory complex of *Drosophila melanogaster* 26S proteasomes: Subunit composition and localization of a deubiquitylating enzyme. *Journal of Cell Biology* **150**, 119-129
7. Elsasser, S., Gali, R. R., Schwickart, M., Larsen, C. N., Leggett, D. S., Muller, B., Feng, M. T., Tubing, F., Dittmar, G. A. G., and Finley, D. (2002) Proteasome subunit Rpn1 binds ubiquitin-like protein domains. *Nature Cell Biology* **4**, 725-730
8. Verma, R., Aravind, L., Oania, R., McDonald, W. H., Yates, J. R., Koonin, E. V., and Deshaies, R. J. (2002) Role of Rpn11 metalloprotease in deubiquitination and degradation by the 26S proteasome. *Science* **298**, 611-615
9. Yao, T. T., and Cohen, R. E. (2002) A cryptic protease couples deubiquitination and degradation by the proteasome. *Nature* **419**, 403-407
10. Braun, B. C., Glickman, M., Kraft, R., Dahlmann, B., Kloetzel, P. M., Finley, D., and Schmidt, M. (1999) The base of the proteasome regulatory particle exhibits chaperone-like activity. *Nature Cell Biology* **1**, 221-226
11. Kohler, A., Cascio, P., Leggett, D. S., Woo, K. M., Goldberg, A. L., and Finley, D. (2001) The axial channel of the proteasome core particle is gated by the Rpt2 ATPase and controls both substrate entry and product release. *Molecular Cell* **7**, 1143-1152
12. Su, V., and Lau, A. F. (2009) Ubiquitin-like and ubiquitin-associated domain proteins: significance in proteasomal degradation. *Cellular and Molecular Life Sciences* **66**, 2819-2833
13. Deveraux, Q., Ustrell, V., Pickart, C., and Rechsteiner, M. (1994) A 26-S PROTEASE SUBUNIT THAT BINDS UBIQUITIN CONJUGATES. *Journal of Biological Chemistry* **269**, 7059-7061
14. Schreiner, P., Chen, X., Husnjak, K., Randles, L., Zhang, N. X., Elsasser, S., Finley, D., Dikic, I., Walters, K. J., and Groll, M. (2008) Ubiquitin docking at the proteasome through a novel pleckstrin-homology domain interaction. *Nature* **453**, 548-552
15. Hurley, J. H., Lee, S., and Prag, G. (2006) Ubiquitin-binding domains. *Biochemical Journal* **399**, 361-372
16. Dikic, I., Wakatsuki, S., and Walters, K. J. (2009) Ubiquitin-binding domains - from structures to functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **10**, 659-671
17. Matiuhin, Y., Kirkpatrick, D. S., Ziv, I., Kim, W., Dakshinamurthy, A., Kleifeld, O., Gygi, S. P., Reis, N., and Glickman, M. H. (2008) Extraproteasomal Rpn10 Restricts Access of the Polyubiquitin-Binding Protein Dsk2 to Proteasome. *Molecular Cell* **32**, 415-425
18. Funakoshi, M., Sasaki, T., Nishimoto, T., and Kobayashi, H. (2002) Budding yeast Dsk2p is a polyubiquitin-binding protein that can interact with the proteasome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 745-750
19. vanNocker, S., Sadis, S., Rubin, D. M., Glickman, M., Fu, H. Y., Coux, O., Wefes, I., Finley, D., and Vierstra, R. D. (1996) The multiubiquitin-chain-binding protein Mcb1 is a component of the 26S proteasome in *Saccharomyces cerevisiae* and plays a nonessential, substrate-specific role in protein turnover. *Molecular and Cellular Biology* **16**, 6020-6028
20. Szlanka, T., Haracska, L., Kiss, I., Deak, P., Kurucz, E., Ando, I., Viragh, E., and Udvardy, A. (2003) Deletion of proteasomal subunit S5a/Rpn10/p54 causes lethality, multiple mitotic defects and overexpression of proteasomal genes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Cell Science* **116**, 1023-1033

21. Lipinszki, Z., Kiss, P., Pal, M., Deak, P., Szabo, A., Hunyadi-Gulyas, E., Klement, E., Medzihradzky, K. F., and Udvardy, A. (2009) Developmental-stage-specific regulation of the polyubiquitin receptors in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Cell Science* **122**, 3083-3092
22. Hamazaki, J., Sasaki, K., Kawahara, H., Hisanaga, S., Tanaka, K., and Murata, S. (2007) Rpn10-mediated degradation of ubiquitinated proteins is essential for mouse development. *Molecular and Cellular Biology* **27**, 6629-6638
23. Duffy, J. B. (2002) GAL4 system in *Drosophila*: A fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis* **34**, 1-15
24. Naito, Y., Yamada, T., Matsumiya, T., Ui-Tei, K., Saigo, K., and Morishita, S. (2005) dsCheck: highly sensitive off-target search software for double-stranded RNA-mediated RNA interference. *Nucleic Acids Res* **33**, W589-591
25. Kang, Y., Zhang, N., Koepf, D. M., and Walters, K. J. (2007) Ubiquitin receptor proteins hHR23a and hPLIC2 interact. *J Mol Biol* **365**, 1093-1101
26. Kiss, P., Szabo, A., Hunyadi-Gulyas, E., Medzihradzky, K. F., Lipinszki, Z., Pal, M., and Udvardy, A. (2005) Zn<sup>2+</sup>-induced reversible dissociation of subunit Rpn10/p54 of the *Drosophila* 26 S proteasome. *Biochemical Journal* **391**, 301-310
27. Woelk, T., Oldrini, B., Maspero, E., Confalonieri, S., Cavallaro, E., Di Fiore, P. P., and Polo, S. (2006) Molecular mechanisms of coupled monoubiquitination. *Nature Cell Biology* **8**, 1246-U1223
28. Isasa, M., Katz, E. J., Kim, W., Yugo, V., Gonzalez, S., Kirkpatrick, D. S., Thomson, T. M., Finley, D., Gygi, S. P., and Crosas, B. (2010) Monoubiquitination of RPN10 Regulates Substrate Recruitment to the Proteasome. *Molecular Cell* **38**, 733-745



Lipinszki Zoltán 1981-ben született Zentán. Egyetemi tanulmányait az SZTE TTK biológus szakán végezte. 2002-ben csatlakozott Dr. Udvardy Andor kutatócsoportjához az MTA SZBK Biokémiai Intézetében, ahol az *ecetmuslica* proteasóma rendszerének működését vizsgálta. Itt írta diplomamunkáját (2006) és PhD disszertációját (2009). 2010-től az SZBK tudományos munkatársa. Számos ösztöndíjat, kitüntetést és versenyt nyert, munkásságát 2005-ben Pro Scientia Aranyéremmel, 2010-ben Junior Prima Díjjal jutalmazták. A FEBS ösztöndíjasaként idén júniusban kezdte

meg posztdoktori tanulmányait az angliai Cambridge-ben, az egyetem Genetika Tanszékén, ahol a sejt osztódásában szerepet játszó foszfatáz enzim-komplexumokat tanulmányozza.



## 40 ÉVES AZ MTA SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONTJA

### **A biológia forradalma a hatvanas évek Magyarországon**

A Szegedi Biológiai Kutatóközpont jelenleg az MTA legnagyobb kutatóintézete, tevékenysége kiterjed a teljes modern molekuláris és sejtbiológiára, a biológiai tudományok fellegvára. Azt ma már kevesebben tudják, hogy története is szorosan összekapcsolódik a modern biológia magyarországi meghonosításával.

A háborút követő időben, mint Magyarországon szinte mindent, a biológiai gondolkodásmódot is meghatározta a szovjet minta: ennek egyik alapvető komponense az öröklés elveinek teljesen téves dogmája volt („a genetika imperialista áltudomány...”). Az ötvenes évek végére, hatvanas évek elejére - különösen a látványos nyugati eredmények miatt, amiket persze a legjobb magyar kutatók jól ismertek - a magyar tudós közösség előtt is nyilvánvalóvá vált, hogy a biológia tudomány lényeges megújítása nélkül tragikusan elmaradunk a világtól. Szerencsére a Szovjetunióban is új szelek kezdtek fújni, és ott is sok kiváló elme óhajtotta a megújulást. Az öröklődés molekuláris mechanizmusának megismerése, a DNS-kutatások, a molekuláris biológia születése hatalmas perspektívát nyitottak az élettudományok előtt. Az életfolyamatok molekuláris mechanizmusainak megismerése előrevetítette, hogy addig elképzelhetetlen mértékben fogunk tudni beavatkozni az élő rendszerek viselkedésébe, és ez óriási hatással lesz az élet valamennyi területére: a legkülönbébb betegségek megértésére, gyógyítására, persze az állattenyésztésre, növénytermesztésre is. A biológia tudomány jelentősége megsokszorozódott, a biológia forradalma a tudományágat az életünket talán legjobban befolyásoló területté tette. A legkiválóbb biológusok a magyarországi biológia megújítása mögé álltak. A mozgalom motorja Straub F. Brunó lett.

Abban az időben a Magyar Tudományos Akadémia osztályszerkezete is kifejezte a biológia csekélyebb tekintélyét: a tudományterületet az Orvosi Tudományok Osztályán a Biológiai Csoport képviselte. A Csoport vezetője Straub F. Brunó volt. Ő ebben az időben nagy energiával igyekezett megváltoztatni a helyzetet: egyrészt próbálta meggyőzni az Akadémia vezetését önálló Biológiai Osztály szükségességéről, másrészt a biológiai kutatási infrastruktúra lényeges fejlesztését is el akarta érni.

### **Az MTA Biológiai Tudományok Osztályának megalakulása és a Szegedi Biológiai Központ (SZBK) koncepciójának megszületése**

Az Orvostudományi Osztály Biológiai Csoportjának 1962. évi beszámolójában Straub F. Brunó örömmel konstataulta, hogy az utóbbi néhány év törekvéseinek sikereként az MTA Elnöksége 1961. október 21.-én megállapította és jóváhagyta a Biológiai Osztály megalapításának szükségességét. Egyúttal főbb vonalaiban meghatározta a biológiai tudományok fejlesztésének irányait is. Az értékelés természetesen nem tárgyalta nyíltan a modern biológiai irányzatok hiányának valódi okát, de meggyőző érvekkel indokolta a biológiai alap kutatások alapvető

megújításának szükségességét. Megállapította, hogy a „fizikai, kémiai ismeretek felhasználásával a biológiában új korszak kezdődött, és fontos gyakorlati problémák, mint pl. a rák kutatása csak alapvető biológiai ismeretek alapján (a sejtek differenciálódásának kémiai és fizikai alapjainak megismerésével) érhet el döntő eredményeket”. A növény – „...nemesítési munka a genetikai ismereteknek olyan fejlődését tételezi fel, amely csak a molekuláris szinten végzett vizsgálatok ... útján képzelhető el”. Fontos mondata az értékelésnek - különösen persze az SZBK sorsa szempontjából: „Elmaradtunk az alap kutatások új bázisainak létesítése terén”.

Az MTA Elnöksége az említett ülésen így határozott: „Meg kell változtatni az Akadémián belül a biológia szervezeti helyzetét. Elismerve, hogy a biológia alaptudomány, melynek művelése az orvosi és agrártudományok haladásának előfeltétele, létre kell hozni egy külön Biológiai Osztályt, melynek feladata a korszerű alaptudomány művelése, a fent megjelölt irányok fejlesztése.”

A Biológiai Osztály létrehozása tehát szervesen összekapcsolódott a biológiai kutatási infrastruktúra megújításának az igényével, e folyamat szervezése az újonnan alakuló Osztály legelső feladata volt. Már az induló lépések során, 1963-ban meghatározták a komoly infrastruktúra-fejlesztéssel támogatandó irányokat. A meglévő Biokémiai és Genetikai Intézetek lényeges fejlesztését jelölték ki, illetve két új intézet – biofizikai és növényélettani – alapításának szükségességét állapították meg. Figyelemreméltó, hogy a koncepció rögtön központ-jellegű létesítményre vonatkozott. Az új központ egy régebbi, 1950-ben készített tanulmány modernizációjának is tekinthető – akkor a Fővárosi Növény- és Állatkertet a Hűvösvölgybe gondolták áttelepíteni, és ehhez kapcsolódva terveztek létrehozni egy Kutató Allomást. Bár az Állatkert elköltöztetése lekerült a napirendről, a Biológiai Osztály új koncepcióját e régebbi terv újraélesztésével kívánta megvalósítani, természetesen a Hűvösvölgyben.

Az, hogy a Központ végül Szegeden épült meg, az akkoriban domináns kultúrpolitika eredménye volt, amely a decentralizációt helyezte előtérbe; az Országos Tervhivatal csak vidéki telephelyen támogatta az új intézet létesítését. A történeti hűséghez hozzátartozik, hogy a vidéki elhelyezést kezdetben nem támogatták a létrehozók, köztük Straub sem, de végül a felsőbb politika döntött – a kérdés már csak az maradt, melyik vidéki város lesz a szerencsés kiválasztott.

Straub F. Brunó ezt követő hozzáállásában nyilvánvalóan közrejátszott, hogy korábban ő maga is Szent-Györgyi Albert munkatársaként nagyon eredményesen dolgozott Szegeden, és ez nemcsak az ő életében volt meghatározó, hiszen ez a szegedi időszak kiemelkedett a magyar tudomány történetében, valódi aranykor volt. Végül valamennyi adottságot mérlegelve a Tudományos és Felsőoktatási Tanács Szeged mellett tette le a garast („... ahol a meglévő egyetemi tanszékekkel, illetve klinikákkal, valamint a Botanikus Kerttel való jó együttműködés és a továbbfejlesztés feltételei megfelelően biztosíthatók”).

## **A biológiai kutatóközpont megvalósítása az akadémiai kutatóhálózat kereteiben**

Megszületett tehát a döntés a Szegedi Biológiai Központ létrehozásáról. A központ az MTA kutatóintézeti hálózatának új tagja lett. Általa teljesedett ki az akadémiai kutatóintézetek tematikai palettája; ma valamennyi tudományterület képviselteti magát a rendszerben. Kell itt néhány szót ejteni az akadémiai kutatóintézetekről általában, hiszen a kutatóhálózat teljes koncepciója, az ország kutatási rendszerében betöltött helyzete időnként viták tárgya. A kutatóhálózat valóban szovjet mintára jött létre a második világháború után. Az eredeti szovjet koncepciónak része volt az is, hogy a szellemi függetlenséget igénylő kutatásokat válasszák el a fiatalokkal foglalkozó egyetemektől, ahol a nagytömegű szakemberképzés révén a fiatalokkal kialakuló intenzív szellemi kapcsolat miatt a gondolkozást jobban akarták ellenőrizni. Mivel a kutatást a kisszámú kutatóintézetekre koncentrálták, itt jelentősen előnyösebbek voltak a körülmények, mint az egyetemeken. Ez a kiváltságos helyzet Magyarországon azonban a nyolcvanas évekre teljesen megszűnt, mégis, a dogmák sokáig tartják magukat, ma is gyakran találkozunk olyan véleményekkel, amelyek a kutatóintézetek megkülönböztetett támogatásáról szólnak. Időnként a kutatóintézetek szükségességét is megkérdőjelezzük, mondván, a mai helyzetben elegendő az egyetemek kutatói kapacitása egy ország tudományos aktivitásához. A szovjet minta sem használt az általános kép alakulásának. Jó azonban emlékeztetni arra, hogy az eredeti szovjet akció mintája a német Kaiser Wilhelm Institut hálózata volt, ez alakult át később a méltán híres mai Max-Planck intézethálózattá. Anélkül, hogy e helyen különösen részletesen érvelnénk a kormány által fenntartott, koncentrált tudományos kutatást lehetővé tevő kutatóintézetek létjogosultsága mellett, elég talán megjegyezni, hogy valamennyi fejlett országban, amelyekben magas színvonalú kutatás-fejlesztés folyik, és amelyekhez egyébként minden tekintetben hasonlítani szeretnénk, működnek ilyen intézethálózatok. Ezen intézetek szervezeti helyzete országonként más és más. Magyarországon úgy alakult, hogy a gazda a Magyar Tudományos Akadémia. Meggyőződésem, hogy ez a megoldás kiállta az idők próbáját, jól működő rendszer alakult ki. E környezetben hosszú távon biztosítva van a kutatóintézetek jó hatásfokú, biztonságos működése.

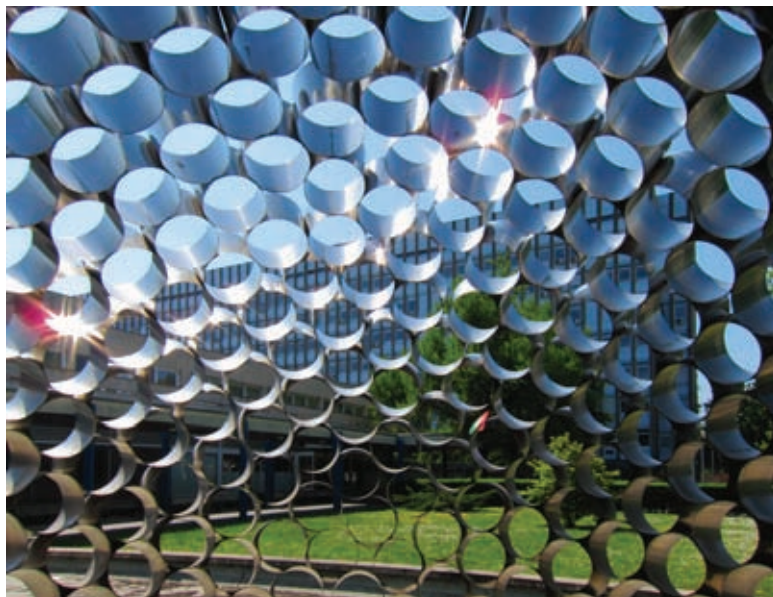
## **Az SZBK beindítása**

Az SZBK megalapításáról szóló 1965-ös döntéstől az 1971. évi beindításig hátralevő hat év intenzív előkészítő munkával telt. A szervezés motorja Straub F. Brunó, illetve Láng István, az MTA akkori főtitkára voltak. Jól megtervezett koncepcióval, szisztematikus munkával válogatták a majdani szegedi kutatókat: már tapasztalatot szerzett 30-40 éves, vezetőnek kiválasztott kutatókat és frissen végzett tehetséges fiatalokat nyertek meg az ügynek, évente tervszerűen új kutatói státuszokat adtak e célra. Az SZBK-hoz rendelt státuszokkal a gyarapodó gárda a legjobb magyar kutatóintézményekben dolgozott, képezte magát. E rendkívül gondos, előrelátó előkészítés eredményeként az 1971-es induláskor már egy nagyjából kialakult kutatói csapattal tudott beindulni a munka. Az indulást az UNESCO másfél millió dolláros támogatása is segítette: ezzel lehetőség nyílt nagyműszerek vásárlására, külföldi szakértők meghívására, illetve a magyar kutatók külföldi tanulmányútjainak a finanszírozására.

A fenti lehetőségek és a példátlanul demokratikus akkori vezetés eredményeként aztán nagyon hamar igen aktív, a bezártságot nem ismerő, inspiráló kutatói atmoszféra alakult ki Szegeden, ez akkortájt (az akkori viszonyok ismerői pontosan tudják, miről beszélek) valóban kivételes közeget teremtett, sok évvel megelőzte korát. Mindazok, akik részesei lehettek ennek az aranykornak, nosztalgiával és szeretettel gondolnak vissza erre az időszakra – amely persze a fiatalságuk okán is különleges helyet foglal el életükben. Természetesen ez a kiváltságos helyzet mára megszűnt, a környezet mindenütt megváltozott, az akkori korra jellemző korlátok mindenütt eltűntek, az anyagi lehetőségek kiegyenlítődték. Ez így természetes. Mindenesetre a hősi kor tanúi, résztvevői szeretnék a hangulatból, a lelkesedésből minél többet megtartani, átadni a fiataloknak, és a jelenlegi vezetés is mindent megtesz azért, hogy a ház méltó legyen a nagy elődökhöz.

### **A Központ működése**

Az új intézet kutatóközpontként valósult meg. A koncepciót részben az alkalom szülte, hiszen egyszerre több intézetet hoztak létre a molekuláris biológia teljes tematikájának a lefedésére. Az új kutatóközpont egyetlen telephelyen épült meg. A szegedi központhoz (Biofizikai, Biokémiai, Genetikai és Növénybiológiai Intézet) csatlakozott az eredeti, budapesti székhelyű Biokémiai Intézet, ez, mint a Szegedi Biológiai Központ Enzimológiai Intézete, a Központ



ötödik intézete lett. Ebben a felállásban remekül működött a központ, egészen a közelmúltig. 2009-ben, alapvetően adminisztratív okok (új kincstári törvényi előírások) miatt nem maradhatott meg egy intézményként a több telephelyű szervezet, és az Enzimológiai Intézet, mint MTA Enzimológiai Intézete jogilag és szervezetenként függetlenné vált. Ettől függetlenül, az adminisztratív döntés a szakmai kapcsolatokat nem befolyásolja, a szoros együttműködés változatlanul folytatódik.

A központ jellegű működés számos előnnyel jár, mind a működtetés, mind pedig a szakmai élet szempontjából. A független, de rokon területeken működő és ezért hasonló infrastrukturális igényekkel rendelkező kutatóintézetek kiszolgálása közös szervezetekkel gazdaságosan megoldható. Az épület fenntartási költségei is alacsonyabbak, mintha külön lennének elhelyezve az intézetek. A ház működését biztosító, illetve adminisztratív feladatokat (gazdasági vezetés, üzemeltetés, karbantartás, beszerzés, kapcsolattartás, stb.) közösen fenntartott csoportokkal oldjuk meg.

Legalább ilyen lényegesek a tematikailag rokon intézetek hasonló érdeklődéséből, igényeiből adódó előnyök. A szakmai rokonság a műszerigényeket is meghatározza, a nagyműszerparkunk a teljes központot szolgálja ki, lényegesen javítva a rendszer határfokát. Az SZBK-ban központi egységek is működnek, amelyek magas fokú műszerezettséggel segítik a kutatócsoportok tevékenységét. Ide tartozik a Bioinformatikai Csoport, a Proteomikai Csoport, DNS-Szekvenáló Laboratórium, a Funkcionális Genomikai Laboratórium, a Mikroszkópos Sejtanalízis Laboratórium, a Nukleinsav Szintézis Laboratórium, és a Sejtszorter Laboratórium. Ugyanígy közös a könyvtár, a négy intézet erőforrásainak összegzésével egyedülálló biológiai könyvtárat sikerült kialakítanunk, és mindent megteszünk fenntartásáért a mai nehéz időkben.

Talán a legfontosabb hozadéka a közös elhelyezésnek az intenzív szakmai kapcsolat. A kutatás egyik legfontosabb megtermékenyítője a tapasztalatcsere hasonló területen dolgozó kutatókkal. Úgyszintén nagyon fontos a kapcsolat a távolabbi területek kollegáival, a rendszeres eszmecserék, egymás munkáinak megismerése segít a látókör kiterjesztésében, új szempontok elsajátításában, ezek megtermékenyítően hathatnak új irányzatok elindításában. Természetesen e kapcsolatok kiépítése, ápolása fontos, függetlenül attól, hogy milyen körülmények között dolgozik a kutató. A Szegedi Biológiai Kutatóközpontban e jó kapcsolatteremtési lehetőségek mind megvannak, a kutatók feladata ezek optimális kihasználása. Valóban, intenzív együttműködés folyik az egyes intézetek csoportjai között – a vezetés feladata e kapcsolatok további erősítése.

A kutatóintézetek igazgatói felelősek a kutatás fő irányvonalaért és színvonalaért. Egyikük - intézetvezetői feladatai ellátása mellett - az SZBK főigazgatói tisztét is betölti. Az SZBK eddigi főigazgatói: Straub F. Brunó 1970-1977, Alföldi Lajos 1978-1988, Keszthelyi Lajos 1989-1993, Venetianer Pál 1994-1996, Dudits Dénes 1997-2009, Ormos Pál 2010-napjainkig. Az SZBK egészét érintő kérdéseket a főigazgató elnökletével az Igazgató Tanács hivatott megtárgyalni.

### **Alapfeladatunk: a kutatás**

Alapfeladatunk a magas színvonalú kutatás a modern molekuláris és sejtbiológia területén. Korábban már említettem, hogy alapításunkkor forradalmi változást képviselt a központ a magyarországi molekuláris biológiában. A modern biológia egyik kulcsfogalma a génebézés. Az eljárás az élőlények genetikai állományának megismerését, akár megváltoztatását takarja. Rendkívül szerteágazó ma már a terület, alapjaiban változtatta meg az élettudományokat, a biológiai, orvosi kutatás, valamint az egészség- és gyógyszeripar, a növénynevelés, állattenyésztés területén mindenhol használt eljárás. A módszer magyarországi megjelenése az SZBK-hoz kötődik, kutatóink voltak a technika hazai úttörői. A magyarországi térhódításban is meghatározó szerepünk volt, közvetítésünkkel, gyakran SZBK-ból elszármazott kutatókkal kerültek az új módszerek más kutatóhelyekre, illetve gyakorlati alkalmazásra.

Mára már kivételezett helyzetünk megszűnt, a kiegyenlített lehetőségek mellett

igyekszünk fenntartani a kutatás elvárhatóan magas színvonalát. Mindent megteszünk a színvonal emeléséért. Idejében újdonságnak számító intézkedéssel 1998-ban megkértük az európai molekuláris biológia legtekintélyesebb tudományos szervezetét, az EMBO-t (European Molecular Biology Organization) a központ intézeteinek felmérésére, jellemzésére, egyúttal tanácsadásra a kutatásra, kutatásszervezésre vonatkozóan. A nagyon alapos értékelés megállapította erőnyeinket, ugyanakkor hasznos tanácsokat is adtak módosításokra. Ezeket általában figyelembe vettük és elvégeztük a javasolt korrekciókat, valóban lényeges javulást hozva a működésünkben. Kiemelendő lépcsőfok a 2000-es év, amikor elnyertük az Európai Unió Kiválósági Központja (Center of Excellence of the European Union) címet. A címmel anyagi támogatás is járt. E forrást részben nemzetközi tanácsadó testület megalapítására, működésének finanszírozására fordítottuk. Látván a közelmúlt fejleményeit a Magyar Tudományos Akadémia kutatóintézet-hálózatában, a Kutatóintézeti Tanácsadó Testületi rendszer megszervezését, az értékelési-tanácsadó eljárások beindítását, ezen intézkedéseink megelőzték korukat.

A Szegedi Biológiai Kutatóközpont jelenleg 250 kutatóval, összesen 450 dolgozóval rendelkezik. Munkánkat természetesen a hazai és nemzetközi kutató közösség tagjaként végezzük, számos aktív együttműködés segít eredményeink elérésében. Legjelentősebb pályázati forrásaink: FP7, OTKA, NKTH, Howard Hughes, Wellcome Trust, TÁMOP.

Kutatómunkánkat az elvárt magas színvonalon végezzük. A minőséget tudományometriai adatok tükrében értékeljük. Az évek folyamán az utolsó öt évben nagyjából egyenletes teljesítményt nyújtunk. Jellemző a legutolsó, 2010-es év eredménye: 156 közlemény született, összesen 573 impakt faktoralal.

Az eredményeknek köszönhetően központunk kutatói a tudós társadalom nagyrabecsült tagjai. Fennállása során az SZBK öt intézetében a Magyar Tudományos Akadémia 19 tagja dolgozott, közülük 11 fő jelenleg is nálunk (8 fő Szegeden és 3 fő az Enzimológiai Intézetben) dolgozik.

### **Innováció**

Tevékenységünk jellege felfedező kutatás: célunk új biológiai jelenségek, összefüggések felfedezése, új ismeretek szerzése. Eredményeink az egyetemes tudást gazdagítják, egyúttal az új ismeretek hozzásegítenek új ipari eljárások kidolgozásához. Tisztában vagyunk azzal, hogy a társadalom hasznosságot vár tőlünk, felfedezéseinknek végül anyagi értéket kell termelniük, elő kell segítsék a társadalom jólétét. Jól működő társadalomban az ipar a tudomány eredményeit jó határfokkal hasznosítja, igazán fejlett, korszerű ipar a tudomány felfedezéseire épül, azokat alkalmazza új eljárásaiban. Munkánk, kutatásaink beágyazódnak az ország kutatás-fejlesztésének rendszerébe.

Magunk is hozzájárulunk, hogy a Kutatóközpontunkban született tudományos eredmények gyakorlati hasznosulása minél hamarabb megtörténjen. Segítjük a felfedezésekre épülő ún. spin-off vállalkozások létrejöttét-működését. Jelenleg

körülbelül 65 ipari szabadalom védi a rövid távon is alkalmazható eredményeink jogait, 10 spin-off cég alakult és működik a nálunk elért eredmények gazdasági hasznosítására. Mindent megteszünk e cégek további fejlődésének elősegítéséért, mert meggyőződésünk, hogy az ezek által kínált lehetőségek fontos kitörési pontjai lehetnek a korszerű magyar ipar fejlődésének.

## **Oktatás**

Annak ellenére, hogy központunk alapvető feladata a kutatás, az oktatás is szervesen beépült életünkbe, e tevékenység kutatómunkánk elválaszthatatlan része. Az oktatás valamennyi szintjén részt veszünk, természetesen adottságainknak megfelelően.

Legfontosabb az egyetemi oktatási tevékenységünk. Többféle módon bekapcsolódunk az alap és posztgraduális szintű oktatómunkába. Tisztában vagyunk azzal, hogy az oktatás, a tudás átadásához szükséges rendszerezés a kutatói gondolkozást is segíti. Kutatóink szinte minden szóba jöhető egyetemi szak, illetve doktori iskola aktív résztvevői, alapkursusokat, speciális kollégiumokat tartanak. Legfontosabb kapcsolatunk természetesen a Szegedi Tudományegyetem, de szoros oktatási és kutatási kapcsolatot tartunk az ország szinte minden egyetemével.

Sok egyetemi hallgató központunkban készíti diploma dolgozatát, illetve végzi a PhD fokozat elnyeréséhez szükséges kutatómunkát. Jelenleg kb. 80 szakdolgozó és 60 PhD hallgató dolgozik nálunk, így mondhatjuk, hogy a szegedi egyetemi oktatás jelentős része az SZBK-hoz kötődik. Az e fiatalok által végzett munka nagyon fontos összetevője a kutatói aktivitásnak, nélkülük sokkal nehezebb lenne a munka. Természetesen a fiatal munkatársak képzése az utánpótlás nevelésének is a legfontosabb útja. Sok nálunk végzett hallgató folytatja tudományos karrierjét központunkban.

Speciális oktatási forma az SZBK-ban az International Training Course (ITC). Ezt nem sokkal a központ alapítása után, UNESCO segítségével, 38 éve indítottuk be. Az alapítást segítő támogatás keretében külföldi, elsősorban fejlődő országokból érkező, egyetemet végzett diákok egy évet töltenek az SZBK-ban, elméleti oktatásban részesülnek, illetve egy kutatócsoporthoz csatlakozva részt vesznek a kutatásban. Bár a támogatás igen hamar, öt év után megszűnt, a kurzust saját erőből fenntartjuk, mert a konstrukció igen jól bevált, mintegy előkészítő doktori iskolaként működik. Az ITC hallgatók végzésük után is kötődnek az SZBK-hoz; 2006-ban megrendeztük az eddig végzett 702 diák találkozóját, amit idén szeptemberben a Reunion II rendezvény követ.

Megfelelő intenzitással veszünk részt az oktatás további szintjein is. Rendszeresen tartunk nyílt napokat, itt elsősorban a középiskolásokat próbáljuk megnyerni az élettudományoknak. Kiemelendő e téren a Straub Alapítvány gondozásában rendszeresen megrendezett Középiskolás Élettudományi Kutatótábor, ahol kiváló érdeklődő (magyarországi és határon túli magyar) fiatalok elméleti és gyakorlati ízelítőt kapnak a kutatómunkából.

Az általános ismeretterjesztés területén is igyekszünk teljesíteni kötelességünket, tájékoztatjuk a társadalmat munkánkról. Jellemző adatok: 2010 folyamán nagyjából 30 újságcikk jelent meg kutatóink munkájáról, illetve 20 televíziós műsor készült eredményeinkről.

Az SZBK 40. születésnapjáról jubileumi tudományos rendezvénnyel és a „40 év a tudományért” című tudományos kiadvánnyal emlékeztünk meg.

Az SZBK egyes intézeteiben működő csoportok kutatási profilja megismerhető az SZBK honlapján: <http://www.brc.hu>.

**Ormos Pál**  
**főigazgató**  
**akadémikus**



## RENDEZETLEN FEHÉRJÉK NAGY ÁTERESZTŐ KÉPESSÉGŰ VIZSGÁLATA PROTEOMIKAI ÉS BIOINFORMATIKAI MÓDSZEREKKEL

**Szőllősi-Szitás Edit<sup>1</sup>, Kalmár Lajos<sup>2</sup>, Tompa Péter<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Richter Gedeon Vegyészeti Gyár NyRt.; <sup>2</sup>MTA SzBK Enzimológiai Intézet,  
Budapest

Jóllehet, már évtizedek óta ismert, hogy a fehérjék egyes *flexibilis* régiói nem rendelkeznek jól meghatározott térszerkezettel, a rendezetlenség teljes, funkcionálisan aktív fehérjékre történő kiterjesztésére csak a 80-as évektől nyílt mód, miután egyre több fehérjéről bizonyították, hogy funkcióikat épp szerkezet nélküliségük révén képesek ellátni. A rendezetlen fehérjék (RF) megismerése paradigmaváltásra készítette a fehérje biokémiát, így mára a klasszikusnak számító kulcs-zár modellt felváltotta az ún. „fehérje szentháromság” [1], illetve a „fehérje quartet” [2] modell. A DISPROT adatbázisban található a ma ismert, kísérletesen is bizonyított, teljes hosszukban vagy bizonyos régióban rendezetlenként azonosított fehérjék, melyek száma (~650) azonban elenyésző a jólt rendezetlenség mértékéhez, vagy éppen a Protein Data Bank-ben (PDB) fellelhető rendezettséghez köthető 70 ezer térszerkezethez képest. Az elmúlt évtizedben a biokémia RF-vel foglalkozó ága nagy fejlődésen ment keresztül, a rendezett fehérjék megismerésére használatos módszerek közül számos kísérleti technika bizonyult valamilyen szinten használhatónak a rendezetlen fehérjék vizsgálatában. Ezzel párhuzamosan számos bioinformatikai eszközt fejlesztettek a rendezetlenség jóslására, funkcionális elemzésére. Jelen cikk a rendezetlenség egyedi vizsgálati módszerein túl képet ad a rendezetlenség nagyobb áteresztő képességű biokémiai (2D elektroforézis, MS) és bioinformatikai elemzésének lehetőségeire, rávilágítva e módszerek egymástól való függésére is.

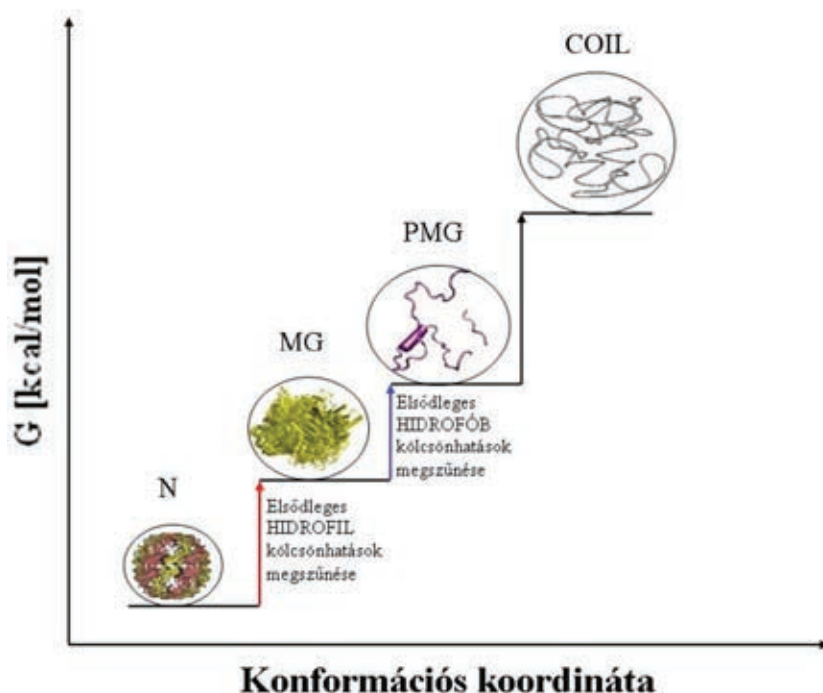
### Bevezetés

A fehérjék működésével kapcsolatos meghatározó nézet, a szerkezet-funkció paradigma szerint, a fehérjék funkciójához elengedhetetlenül szükséges egy jól definiált háromdimenziós szerkezet. Az elmúlt 15-20 évben azonban számos fehérjéről és fehérje-doménről írták le NMR vizsgálatok során, hogy a funkcionálisan aktív formájuk inkább a globuláris fehérjék denaturált állapotához hasonlít, úgymond rendezetlenek, és ezt a szerkezeti sajátosságot más fizikokémiai módszerrel (cirkuláris dikroizmus spektroszkópia, gélfiltrálás, differenciál pásztázó mikrokolorimetria, SAXS, stb.) is alátámasztották. A leírt fehérjék között találhatóunk sejtciklus szabályozókat (p21<sup>Cip1</sup>/p27<sup>Kip1</sup> [3], génexpresszióban szerepet betöltő fehérjéket (FlgM [4]), inhibitorokat (kalpasztatin [5]), chaperonokat (riboszomális S12 fehérje [6]), jelátviteli fehérjéket és a transzkripció faktor fehérjék transzaktivátor doménjét [7] is.

A rendezetlen fehérjék megismerése sok új kérdést vet fel a fehérjék funkcionálisával kapcsolatban. Létük nem illeszthető bele a Fisher alkotta szerkezet-funkció paradigmába, így annak kiterjesztése, újragondolása szükséges. A kibővített elmélet felállítása viszont csak akkor lehetséges, ha statisztikailag megfelelő számú rendezetlen fehérjét tanulmányozunk. Problémát jelent azonban, hogy az irodalomban eddig közel hatszázötven fehérjéről és körülbelül 1400 fehérjerégióról jelent meg rendezetlenséget igazoló bizonyíték, mivel a rendezetlen fehérjék azonosítása mind a mai napig véletlen megfigyeléseken alapul, pl. egy funkcionálisan érdekes fehérje szerkezeti anomáliáinak leírásával kezdődik. Ezzel szemben több, fehérjetulajdonságokon alapuló becslés is azt sugallja, hogy a különféle genomok által kódolt fehérjék 6-17 %-a teljesen rendezetlen lehet [8-13].

### Mi a rendezetlenség?

A rendezetlen fehérjék leginkább a globuláris fehérjék denaturált állapotaihoz hasonlíthatók, éppen ezért gyakran jellemzik őket random coil-szerű fehérjéként [14, 15], annak ellenére, hogy erős denaturáló körülmények között sem létezik tényleges random coil szerkezet [16]. A rendezetlenség azonban nem környezeti hatások következménye, hanem a fehérjék funkcionális szempontból fontos sajátossága. Pontosabb tehát úgy fogalmazni, hogy a rendezetlen fehér-



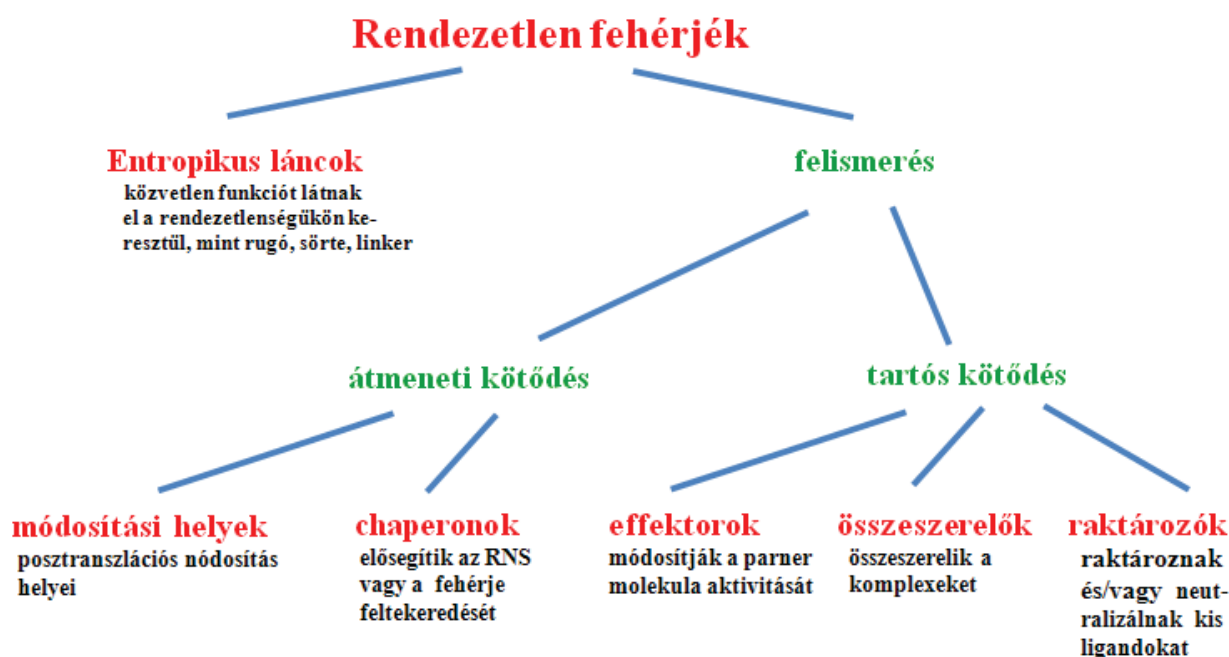
**1. ábra. A globuláris fehérjék denaturációja során végbemenő konformációváltozások termodinamikájának sematikus ábrázolása.** (N) Natív globuláris, (MG) molten globule, (PM) premolten globule, (COIL) rendezetlen, random coil állapot. A denaturáció során a globuláris fehérjék a térszerkezetük megtartása szempontjából kedvezőtlen környezetben (magas hőmérséklet, kémiai szerek, kedvezőtlen pH) először a szerkezetet összetartó elsődleges hidrophil kölcsönhatásaikat veszítik el, melynek során az ún. molten globule konformációt veszik fel. A denaturáló hatás növekedésével az elsődleges hidrophób kölcsönhatások is megszűnnek, a fehérjék premolten globule konformációba alakulnak át és csak ezt követően veszítik el teljesen a szerkezetüket és alakul ki az ún. random coil állapot.

jék olyan fehérjék, melyek a hiányzó harmadlagos kölcsönhatásoknak köszönhetően nagyszámú, egymásba gyorsan átalakuló szerkezettel jellemezhetők. Leginkább abban különböznek a globuláris fehérjéktől, hogy natív körülmények között, szabadon is képesek bejárni a konformációváltás azon szakaszait, melyet a globuláris fehérjék csak denaturáló körülmények között (1. ábra).

### **A rendezetlenségből eredő előnyök és funkcionális osztályozásuk**

A globuláris szerkezet hiánya a fehérje szempontjából jelentős előnyökkel járhat. Egyik előny a reverzibilis, mégis specifikus kölcsönhatás kialakítása. Ez a bennük található lokális szerkezeti elemeknek köszönhető, amelyek hatására a kölcsönhatás során a partner lokális rendeződést indukál. Az így bekövetkező rendeződés során a fehérje konformációs entrópiája csökken és a kötődés specificitása és erőssége elválk egymástól (a nagy specificitás kis affinitással párosul). További előnyt jelent, hogy jóval gyorsabban, azaz lényegesen nagyobb kötődési sebességgel képesek partnerükkel kölcsönhatni, ami annak köszönhető, hogy a rendezetlen fehérjék nagy távolságból és kezdetben akár aspecifikusan is kötődhetnek partnerükhöz. Ez a tulajdonság a szabályozó funkciók ellátásában játszhat komoly szerepet. Ezen túlmenően a nagy, nyitott kölcsönható felszín lehetővé teszi, hogy a fehérje több ponton, specifikusabban kötődjön a partneréhez és/vagy egyszerre nagyszámú partnert kössön. Ez a nagy komplexek összeszerelésekor, illetve a különböző partnerek térbeli koordinálásakor előnyös tulajdonság. A rendezetlenség magában hordozza annak a lehetőségét is, hogy a fehérje különböző partnerekhez adaptálódjon, és akár többféle funkciót is el tudjon látni. Ez nagymértékben megnövelheti a fehérje-kölcsönhatások komplexitását a gének számának növekedése nélkül.

A rendezetlen fehérjék funkcionálisan alapuló osztályozásával először Dunker és mtsi próbálkoztak [8], akik 28 osztályt állítottak fel több szempont alapján. Az egyik szempont a fehérjék kölcsönható partnere (fehérje, DNS, RNS, lipid, fémion) volt, a másik, hogy rendezetlenségüket funkcióik ellátása során hogyan használják ki (linkerek, spacerek, entrópiikus sörte, entrópiikus óra, entrópiikus rugó), továbbá, hogy milyen módosítások történnek bennük (acetiláció, glikolizáció, metiláció, foszforiláció), illetve hogyan vesznek részt a szabályozásban (autoregulátorok, proteolízis szabályozók). Valamint megállapították, hogy lehetnek fehérje detergenssek és több komponensből felépülő komplexek „köötőanyagai” is. Egy másik, de lényegesen átláthatóbb osztályozás már csak hatféle alapvető osztályba sorolja a rendezetlen fehérjéket a működésük alapján [17]. Eszerint két nagyobb csoportra oszthatjuk a rendezetlen fehérjéket. Az egyikbe azok a fehérjék tartoznak, amelyek funkciójuk ellátása során nem kötődnek partnerhez. Ezek az ún. entrópiikus láncok vagy a szerkezeti változásokkal szemben fejtenek ki ellenállást, vagy a hozzájuk kapcsolódó domének orientációját/lokalizációját befolyásolják. A másik csoportba a molekuláris felismerésben résztvevő fehérjék tartoznak, azaz amelyek tartósan vagy átmenetileg más makromolekulákhoz kötődnek. Az ebbe a csoportba tartozó fehérjéket az ellátott funkció alapján további öt alcsoportra oszthatjuk: bemutató helyek, chaperonok, effektorok, összeszerelők, raktározók (2. ábra).



**2. ábra. Rendezetlen fehérjék funkcionális osztályozásának sematikus ábrázolása [17].**

### Egyedi fehérjék szerkezetvizsgálatára alkalmas módszerek

A ma ismert rendezetlen fehérjék és fehérje régiók száma igen alacsony, ahhoz képest, hogy többféle predikciós algoritmus is azt sugallja, hogy a különféle proteómokban ennél jóval elterjedtebbek. Ennek az a magyarázata, hogy a rendezetlenség megállapítása mind a mai napig véletlen megfigyelésekkel, egy-egy funkcionálisan érdekes egyedi fehérje szerkezetvizsgálati eredményeinek leírásával kezdődik. A tiszta fehérjepreparátumok rendezetlensége számos közvetett és közvetlen fizikokémiai módszerrel állapítható meg. Az alábbiakban ezek a technikák vannak felsorolva.

#### Hőstabilitás vizsgálat

Az egyik módszer, amely közvetetten a rendezett szerkezet hiányára utal, a hőstabilitásuk vizsgálatán alapul [10]. Magas hőmérsékleten a globuláris fehérjékben a térszerkezet kialakításáért felelős másodlagos kötések felbomlanak, így a fehérjemolekulák denaturálódnak, majd többnyire irreverzibilisen aggregálódnak. A szerkezet nélküli fehérjék viszont magas hőmérsékleten sem aggregálódnak, megőrzik oldhatóságukat, ezért a rendezetlen fehérje preparátumok készítése során gyakran használnak kiforralási lépést tisztításként.

#### Limitált proteolízis

A rendezetlen fehérjék extrém proteolitikus érzékenységük alapján is azonosíthatók közvetett módon. A globuláris fehérjék és fehérje domének igen ellenállóak a proteázokkal szemben, míg a rendezetlen fehérjék a teljes lánc mentén könnyen és gyorsan hasíthatók, ezáltal pedig hatékonyan szabályozhatók [8, 18]. Mivel a lehetséges hasítóhelyeket nemcsak a felszínen való elhelyezkedés (hozzáférhetőség) határozza meg, hanem a flexibilitás is, ennek megfelelően a

limitált proteolízissel a rendezetlenségen túl feltérképezhetők a globuláris fehérjék flexibilis régiói is.

#### *Differenciál pásztázó mikrokalorimetria*

A globális térszerkezetről, azaz rendezetlen fehérjék esetében a kooperatív „folding”-átmenet hiányáról nyerhetünk információt differenciál pásztázó mikrokalorimetriával (DSC) is, ami során a hőmérséklet folyamatos emelése mellett közvetlenül mérhető a denaturációs entalpia. Adott fehérje kalorimetriás görbéjében a hőabszorpciós csúcsok jelenléte, illetve hiánya a rendezett harmadlagos szerkezet meglétéről, illetve hiányáról közöl információt.

#### *Cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia*

Közeli ultraibolya (UV) tartományban (260-320 nm) készített CD-spektrumokból a harmadlagos szerkezetről kapunk információt. Mivel a rendezetlen fehérjék nem rendelkeznek kompakt hidrofób maggal, ezért ezzel a technikával könnyen detektálható a rendezetlenség. A távoli UV tartományban (180-260 nm) felvett CD spektrumból a másodlagos szerkezeti elemek ( $\alpha$ -hélix,  $\beta$ -szerkezet, rendezetlen/random coil láncok) meglétére, illetve ezek arányára következtethetünk. A rendezetlen fehérjék CD spektrumában 200 nm-nél egy nagy, negatív minimum figyelhető meg, míg a 220 nm-en mért ellipticitás értékek a nullához közelítenek.

#### *Szilárdtest NMR mérések (FID intenzitás hőmérséklet függése)*

A rendezetlenség mértékére, illetve a lehetséges átmeneti rendezettség meglétére a polipeptidlánc és fragmenseinek szuboptimális hidratációjából is következtetni lehet. A hidratáció mértékét egydimenziós, szilárdtest  $^1\text{H}$  NMR méréssel egyszerűen meghatározhatjuk, mert általa a hidrátburokban kötött víz mennyisége a szabad víz kifagyása után könnyen megállapítható. A fehérjeminta lehűtése során a víz „szabad”, azaz nem-kötött frakciója  $-6$  és  $-12^\circ\text{C}$ -on teljesen kifagy, ezért e hőmérséklet alatt mért FID intenzitás a fehérjéhez kötött víz protonjaiból származik. A fehérje és a jég fázisban lévő víz protonjainak FID jele jórészt a spektrométer holtidejébe esik, és ezért nem járul hozzá a mért FID intenzitáshoz.

#### *$^1\text{H}$ NMR mérések*

A fehérjék másodlagos szerkezeti elemeinek tartalmáról NMR spektroszkópiával is szerezhethetünk információkat. A rendezetlen fehérjék esetében a polipeptidlánc inherensen flexibilis, melynek következtében többféle konformációt is képesek magukra öltetni. Az egyik konformációból a másikba alakulásuk nagyon gyors folyamat, emiatt a kémiai eltolódások igen kicsi diszperziója látható az NMR spektrumban. Ez azt jelenti, hogy a rendezetlen fehérjék egy dimenziós NMR spektruma láthatóan jelszegényebb, és a jelek csoportokba rendeződnek.

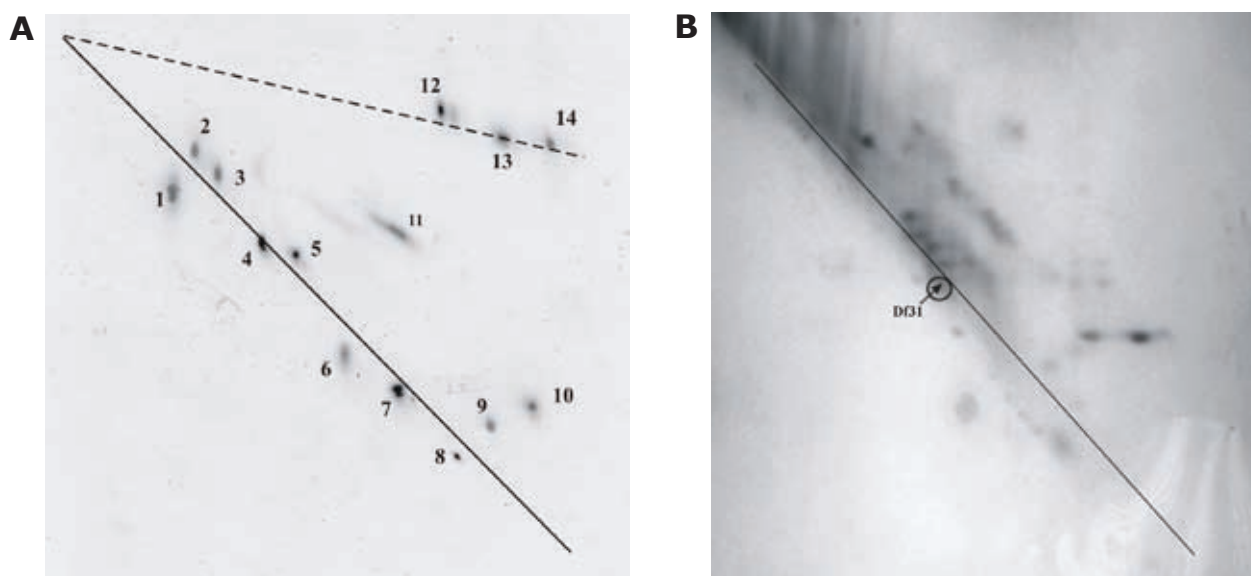
#### *Hidrodinamika technikák*

A rendezetlenség számos hidrodinamikai technikával is jellemezhető, mint például gélfiltráció, szedimentációs analízis, kisszögű röntgenszórás. Ezek a technikák elsősorban a fehérje hidrodinamikai viselkedéséről ( $R_{\text{hyd}}$ : hidrodinamika sugár,  $R_s$ : Stockes-sugár,  $R_g$ : girációs sugár) adnak felvilágosítást. A rendezet-

len fehérjék hidrodinamikai tulajdonságai különböznek a globuláris fehérjékétől [19]. A Stokes-sugár egy olyan hipotetikus gömb sugara, amelynek hidrodinamikai sajátosságai azonosak a fehérjével, a girációs sugár pedig egy polimerlánc pontjainak a tömegközépponttól mért átlagos távolságát jelenti. Az említett paraméterekben a rendezetlen fehérjéket denaturált globuláris fehérjének tekintik. A gélfiltráció inkább a hidrodinamikai méret szerint választ el, mint a molekulatömeg alapján. Ez azt jelenti, hogy az adott fehérje egy kalibrált gélfiltrációs oszlopon inkább az  $R_s$  értékről ad információt, mint a molekulatömegről.

### Rendezetlen fehérjék nagy áteresztő képességű azonosítása 2D gélelektroforézissel

Egészen idáig nem állt módunkban, hogy szisztematikusan keressünk és azonosítsunk rendezetlen fehérjéket, mert nem állt rendelkezésünkre olyan módszer, amellyel gyorsan, egyszerűen, viszonylag nagy áteresztőképességgel megtehetjük volna ezt. Az általunk kifejlesztett új, egyszerű, reprodukálható, diagonális 2D elektroforetikus technika (3. ábra) azonban lehetővé teszi, hogy elválasszuk ezeket a fehérjéket egymástól és a globuláris fehérjéktől különböző organizmusokból készült sejtkivonatokból [20]. A technika előnyei között említhető más kísérleti és



**3. ábra.** Az új diagonális 2D technika alkalmazása tiszta fehérjék elegyére (A) és *Drosophila melanogaster*ből készített sejtkivonatra (B). A) A technika elvi helyességét bizonyító kontroll gél natív és 8 M ureás dimenziója is 7,5% akrilamidot tartalmazott. A fehérjék elegyét, mely minden fehérjéből 1-1  $\mu\text{g}$ -ot tartalmazott, mintafelvétel előtt nem forraltuk ki. A gélmintázatot kolloidális Coomassie festéssel hívtuk elő. A rendezetlen fehérjék: 1) Stathmin; 2) Microtubule-associated protein 2; 3) Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12A (304-511); 4) Dehydrin ERD10; 5) Beta casein; 6) Alpha-synuclein; 7) CSD1; 8) Protein BOB1; 9) Protein phosphatase 1 regulatory subunit 1B; 10) Alpha casein. A globuláris fehérjék: 11) Alpha-2-HS-glycoprotein; 12) 3-isopropylmalate dehydrogenase; 13) Serum albumin; és 14) Ovalbumin. A folyamatos vonal jelöli az átlót, ahová a rendezetlen fehérjék futnak, a szaggatott vonal mutatja a globuláris fehérjék pozícióját [20]. B) *D. melanogaster* sejtkivonat 2D elektroforézissel kapott gélmintázata. Mindkét dimenzióban 7,5-15% akrilamid tartalmú gradiens gélt használtunk. A gélmintázatot kolloidális Coomassie festéssel hívtuk elő. A karikával jelölt foltot Df31 fehérjeként azonosítottuk, és a szerkezetvizsgálatok során bizonyítottuk rendezetlen karakterét [21].

bioinformatikai módszerekkel összehasonlítva, hogy még az ellentmondásos esetekben is megbízhatóan becsülhető vele a globális rendezetlenség. Ezen túlmenően, használatával akár egy adott fehérjéről megállapítható rendezetlen/rendezett karaktere is, amihez igen kevés és nem túl tiszta fehérje is elegendő. Ez jelentős előny az olyan technikákhoz képest, mint például a CD és NMR spektroszkópia, amelyeknél csak nagyobb mennyiségű tiszta fehérjével tudunk dolgozni.

Hátránya a felbontó képességében rejlik, mivel az első dimenzió egy natív gél, aminek a felbontó képessége nem hasonlítható össze a hagyományos 2D-s technikáival. A felbontóképesség azonban javítható, ha nem teljes sejtkivonatokat, hanem sejt fragmentumokból vagy szervekből/szövetekből készült kivonatokat vetünk alá a vizsgálatnak. Talán a módszer lényegesebb korlátja, hogy a jelenleg optimalizált körülmények között a bázikus fehérjéket elvesztjük. Ezek elválasztásához egy másik pufferrendszer beállítására van szükség, ami egyelőre nem megoldott.

### **Rendezetlen fehérjék vizsgálata bioinformatikai módszerekkel**

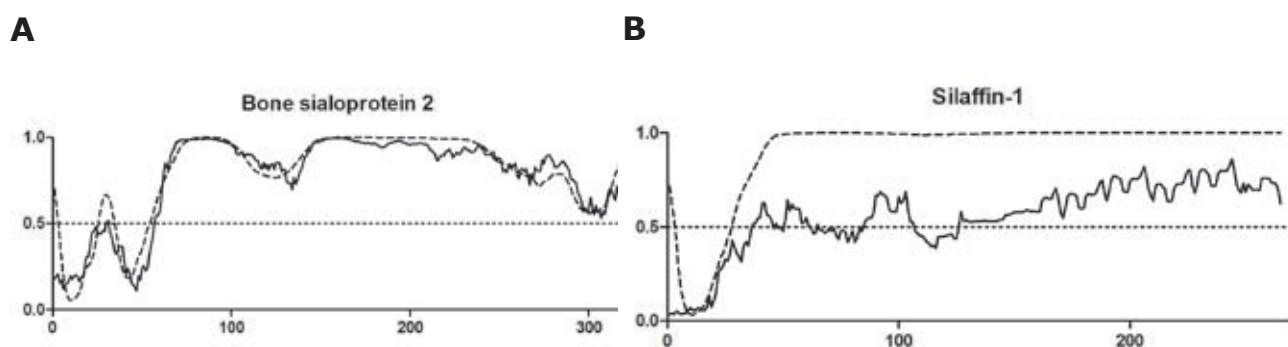
A rendezetlen fehérjék tömeges, nagy áteresztő képességű vizsgálatára jelenleg kizárólag a bioinformatika ad megoldást. Az egyre fejlettebb és megbízhatóbb módszerek a fehérje elsődleges szerkezetéből képesek igen pontos becslést adni a rendezetlenség mértékére, illetve a rendezetlen régiókon belül található, kiemelt jelentőségű (például potenciális kötőhely) szakaszok megjelölésére.

Az elmúlt évtizedben számos szoftveres megoldás született az aminosav sorrendből történő rendezetlenség becslésre. A rendezett és rendezetlen fehérjék aminosav kompozíciója jelentős mértékben eltér, így a szekvencia igen jó alapot szolgáltat az elkülönítésre, azonban a probléma megközelítésére több mód is van. A rendezetlenséget jósló algoritmusok fejlesztésének első alappillére a megfelelő adathalmaz kiválasztása, melyen a programot betanítják, optimalizálják. A kísérletesen bizonyított, vizsgált rendezetlen fehérjék adatait foglalja magába a DISPROT adatbázis [22] mely jó kiinduló alap lehet a rendezetlenséget jósló programok fejlesztéséhez. Az adatbázis azonban kevesebb, mint 650 fehérjét tartalmaz (2011. február 2-i verzió) ami még a becsült humán rendezetlen fehérjék mennyiségének is csak töredéke. A viszonylagosan kis mintaszám miatt nem állítható biztosan, hogy a DISPROT-ban megtalálható fehérjék reprezentatív adathalmazként használhatók, így az ezekre a fehérjékre optimalizált jósló programok tévedhetnek addig ismeretlen típusú rendezetlenség megítélésében. A jelenleg használatos rendezetlenség jósló programok közül több is a DISPROT-ra épül [23, 24]. Az alacsony mintaszámból adódó problémák kivédésére alternatívát kínál a rendezett, globuláris fehérjék több évtizedre visszatekintő részletes ismeretanyaga. A fehérjék szerkezeti információit magába foglaló, naprakész adatbázisban, a Protein Data Bank (PDB)-ben jelenleg több mint 70 ezer 3 dimenziós térszerkezet található, melyek mára nagy valószínűséggel megfelelő arányban fedik le a rendezett fehérjék világát. A rendezetlenség jóslásának egy indirekt módja lehet, hogy a szerkezeti információkat felhasználva olyan algoritmust fejlesztünk, mely a rendezettségűtől eltérő aminosav kompozíciót ismeri fel, vagyis a rendezetlenséget, mint a rendezettség hiányát jósolja. A PDB emellett

alapul szolgálhat a rövid rendezetlen szakaszok felismeréséhez is, hiszen ezek a rövid jól definiálható szerkezettel nem rendelkező fehérjeszakaszok a legtöbbször globuláris fehérjék felszínén található loopok. Több nagy hatékonyságú és széles körben elterjedt rendezetlenség jósló program használja a PDB adatait forrásként, ezzel indirekt módon jóslva a rendezetlenséget [25, 26]. Az adathalmaz kiválasztása mellett a rendezetlenség jóslás másik alappillére a feldolgozó, kiértékelő algoritmus. Bár a jelenleg használatos jósló programok különböző technikákat alkalmaznak (neural network, statisztikus potenciál, stb.), mégis úgy tűnik, hogy ez a tényező kevésbé befolyásolja a program megbízhatóságát, a téves negatív és pozitív rátáját, mint az optimalizálásra használt adathalmaz.

Ígéretes megoldásként merült fel az utóbbi időben a meta-prediktorok megjelenése [27, 28]. Ezek a programok több önálló jósló program eredményét kombinálva jelenítik meg a rendezetlenség jóslás eredményét. Fontos azonban megjegyezni, hogy ezek a programok csak akkor igazán hasznosak, ha valamilyen konszenzus eredményt adnak ki végeredményként. A konszenzus eredmény eléréséhez azonban, vagyis annak eldöntéséhez, hogy a használt több különböző jósló program eltérő eredményeit milyen súllyal vegye figyelembe a végeredményben, szintén optimalizálást, adathalmazokon tesztelést igényel. Vagyis a meta-prediktor megbízhatósága is azon múlik, hogy mennyire megfelelő adathalmazt használnak a teszteléséhez. Napjainkban egyre többen használják a meta-prediktorokat, illetve szintén gyakori a több egymástól jelentős mértékben különböző jósló program (pl. IUPred + PONDR VSL2) párhuzamos használata és eredményeik összevetése, vagy akár párhuzamos kiértékelése (4. ábra).

Az utóbbi években merült fel az igény arra, hogy specifikus rendezetlenség jóslásra is legyen lehetőség [29, 30]. Egyértelmű például, hogy magas hőmérsékleten élő organizmusokban a fehérjék energiaviszonyai teljesen mások, mint 37 °C-on, vagyis egy olyan jósló program használata lenne indokolt pl. hipertermofil organizmusok esetében, ami ilyen fehérjéken lett optimalizálva, tesztelve.



**4. ábra. Rendezetlenség jóslás aminosav sorrend alapján bioinformatikai módszerekkel.** A fehérjék teljes hosszában (x tengelyen az aminosav pozíciót ábrázoltuk) jósltunk rendezetlenséget az IUPred (vonal) és PONDR VSL2 (szaggatott vonal) programmal. A jelölt 0,5-ös küszöbérték fölötti pozíciókban a programok rendezetlenséget jósolnak. Míg az A-panelen jól látható, hogy a humán Bone Sialoprotein 2 (UniProt: SIAL\_HUMAN) esetében a két különböző megközelítéssel dolgozó program nagyon hasonló eredményt ad, addig a B-panelen látható kovamoszat Silaffin-1 (UniProt: SIL1\_CYLFU) fehérje esetében már jelentős különbségek adódnak.



A bioinformatikai módszerekről tehát elmondható, hogy bár az utóbbi években igen sokat fejlődtek a rendezetlenség jóslásában, igazán áttörő és nagymértékben megbízható eredményeket akkor érhetnénk el, ha a jelenleginél jóval (minimum egy nagyságrenddel) több kísérletes információ állna rendelkezésünkre a rendezetlen fehérjékről, melyek segítségével megbízhatóbb, pontosabb, vagy akár specifikusabb jósló programok készülhetnének.

### Megbeszélés

Az elmúlt években megtörtént paradigma váltás után a rendezetlen fehérjék a szerkezet- és molekuláris biológiai kutatások középpontjába kerültek. A rendezetlen fehérjék felismerése és funkciójuk kutatása nem csupán az alapkutatások témája, hiszen számos egészében vagy nagy részében rendezetlen fehérje (pl.  $\alpha$ -synuclein, tau, p53) kulcsfontosságú szereppel bír betegségek kialakulásában [31]. A rendezetlen fehérjék megismerésében a hagyományos szerkezetbiológiai módszerek közül számos használható, azonban ezek leginkább egyedi fehérje vizsgálatra alkalmasak [5, 10, 19]. Miután a rendezetlen fehérjék aminosav sorrendje kevésbé konzervált mint a globuláris fehérjéké (ahol a funkció mellett a szerkezeti integritásért felelős aminosavak is konzerváltak), így a rokon fehérjék, fehérje családok megtalálása rendezetlen fehérjék között nehezebb. A hagyományos szerkezetbiológiai módszerek mellett tehát a rendezetlen fehérjék gyorsabb megismerése érdekében új proteomikai és bioinformatikai módszerekre van szükség. A cikkben ismertetett 2D elektroforézis módszer túlmutat az egyedi fehérje azonosításon, segítségével sejttenyészetből, szövetekből azonosíthatunk rendezetlen fehérjéket, melyekkel azután MS-sel beazonosítva bővíthetjük a kísérletesen bizonyított rendezetlen fehérjék körét.

Az ilyen módon megismert, kísérletesen is bizonyított rendezetlen fehérjék köre még igen kicsi, ami elsősorban az ezekre az adatokra épülő bioinformatikai módszerek megbízhatóságát befolyásolja. A rendezetlenség evolúciójának, funkciójának mélyebb megismeréséhez napjainkban még elengedhetetlen eszköz a bioinformatika [9, 29, 30, 32], azonban az összes munka a jelenleg elérhető rendezetlenség jósló programok megbízhatóságától függ.

Kijelenthetjük tehát, hogy mind új, rendezetlen fehérjék felfedezésében, mind a rendezetlenség jelenségének, funkcionális evolúciójának megismerésében szükség van olyan kísérletes módszerekre, melyek nagy áteresztő képességükkel kiinduló pontként szolgálnak egyedi fehérje vizsgálatokhoz, illetve ismeretanyag bővítéssel hozzájárulnak a bioinformatikai módszerek hatékonyságának növeléséhez.

### IRODALOMJEGYZÉK

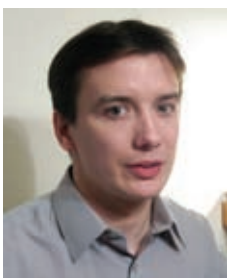
1. Dunker, A.K., Lawson, J. D., Brown, C. J., Williams, R. M., Romero, P., Oh, J. S., Oldfield, C. J., Campen, A. M., Ratliff, C. M., Hipps, K. W., Ausio, J., Nissen, M. S., Reeves, R., Kang, C., Kissinger, C. R., Bailey, R. W., Griswold, M. D., Chiu, W., Garner, E. C., Obradovic, Z., Intrinsically disordered protein. *J Mol Graph Model*, 2001. **19**(1): p. 26-59.
2. Uversky, V.N., Natively unfolded proteins: a point where biology waits for physics. *Protein Sci*, 2002. **11**(4): p. 739-56.

3. Kriwacki, R.W., Hengst, L., Tennant, L., Reed, S. I., Wright, P. E., Structural studies of p21Waf1/Cip1/Sdi1 in the free and Cdk2-bound state: conformational disorder mediates binding diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(21): p. 11504-9.
4. Daughdrill, G.W., Chadsey, M. S., Karlinsey, J. E., Hughes, K. T., Dahlquist, F. W., The C-terminal half of the anti-sigma factor, FlgM, becomes structured when bound to its target, sigma 28. *Nat Struct Biol*, 1997. **4**(4): p. 285-91.
5. Konno, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Takano, E., Maki, M., A circular dichroism study of preferential hydration and alcohol effects on a denatured protein, pig calpastatin domain I. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997. **1342**(1): p. 73-82.
6. Clodi, E., Semrad, K., and Schroeder, R. , Assaying RNA chaperone activity in vivo using a novel RNA folding trap. *EMBO J.*, 1999. **18**: p. 3776-3782.
7. Triezenberg, S.J., Structure and function of transcriptional activation domains. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1995. **5**(2): p. 190-6.
8. Dunker, A.K., Brown, C. J., Lawson, J. D., Iakoucheva, L. M., Obradovic, Z., Intrinsic disorder and protein function. *Biochemistry*, 2002. **41**(21): p. 6573-82.
9. Dunker, A.K., Obradovic, Z., Romero, P., Garner, E. C., Brown, C. J., Intrinsic protein disorder in complete genomes. *Genome Inform Ser Workshop Genome Inform*, 2000. **11**: p. 161-171.
10. Kim, T.D., Ryu, H. J., Cho, H. I., Yang, C. H., Kim, J., Thermal behavior of proteins: heat-resistant proteins and their heat-induced secondary structural changes. *Biochemistry*, 2000. **39**(48): p. 14839-46.
11. Tompa, P., Intrinsically unstructured proteins. *Trends Biochem Sci*, 2002. **27**(10): p. 527-33.
12. Ward, J.J., Sodhi, J. S., McGuffin, L. J., Buxton, B. F., Jones, D. T., Prediction and functional analysis of native disorder in proteins from the three kingdoms of life. *J Mol Biol*, 2004. **337**(3): p. 635-45.
13. Wootton, J.C., Sequences with „unusual” amino acid compositions. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1994. **4**: p. 413-421.
14. Gast K, D.H., Eckert K, Schulze-Forster K, Maurer HR, Müller-Frohne M, Zirwer D, Czarnecki J, Damaschun G., Prothymosin alpha: a biologically active protein with random coil conformation. *Biochemistry*, 1995 **34**(40): p. 3211-8.
15. Schweers, O., et al., Structural studies of tau protein and Alzheimer paired helical filaments show no evidence for beta-structure. *J Biol Chem*, 1994. **269**(39): p. 24290-7.
16. Shortle, D., The denatured state (the other half of the folding equation) and its role in protein stability. *Faseb J*, 1996. **10**(1): p. 27-34.
17. Tompa, P., Szasz, Cs., Buday, L., Structural disorder throws new light on moonlighting. *Trends Biochem Sci*, 2005. **30**(9): p. 484-9.
18. Wright, P.E., Dyson, H. J., Intrinsically unstructured proteins: re-assessing the protein structure-function paradigm. *J Mol Biol*, 1999. **293**(2): p. 321-31.
19. Kriwacki, R.W., Wu, J., Tennant, L., Wright, P.E., Siuzdak, G., Probing protein structure using biochemical and biophysical methods. Proteolysis, matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, high-performance liquid chromatography and size exclusion chromatography of p21Waf1/Cip1/Sdi1. *J. Chromatogr. A*, 1997. **777**: p. 23-30.
20. Csizmók, V., Szollosi, E., Friedrich, P., Tompa, P. , A novel two-dimensional electrophoresis technique for the identification of intrinsically unstructured proteins. *Mol. Cell Proteomics*, 2006. **5**(2): p. 265-273.
21. Szollosi, E., et al., Intrinsic structural disorder of DF31, a Drosophila protein of chromatin decondensation and remodeling activities. *J Proteome Res*, 2008. **7**(6): p. 2291-9.

22. Sickmeier, M., Hamilton, J. A., LeGall, T., Vacic, V., Cortese, M. S., Tantos, A., Szabo, B., Tompa, P., Chen, J., Uversky, V. N., Obradovic, Z., Dunker, A. K., DisProt: the Database of Disordered Proteins. *Nucleic Acids Res*, 2007. **35**(Database issue): p. D786-93.
23. Obradovic, Z., Peng, K., Vucetic, S., Radivojac, P., Dunker, A. K., Exploiting heterogeneous sequence properties improves prediction of protein disorder. *Proteins*, 2005. **61 Suppl 7**: p. 176-82.
24. Yang, Z.R., Thomson, R., McNeil, P., Esnouf, R. M., RONN: the bio-basis function neural network technique applied to the detection of natively disordered regions in proteins. *Bioinformatics*, 2005. **21**(16): p. 3369-76.
25. Dosztanyi, Z., Csizmok, V., Tompa, P., Simon, I., IUPred: web server for the prediction of intrinsically unstructured regions of proteins based on estimated energy content. *Bioinformatics*, 2005. **21**(16): p. 3433-4.
26. Linding, R., Russell, R. B., Neduva, V., Gibson, T. J., GlobPlot: Exploring protein sequences for globularity and disorder. *Nucleic Acids Res*, 2003. **31**(13): p. 3701-8.
27. Ishida, T., Kinoshita, K., Prediction of disordered regions in proteins based on the meta approach. *Bioinformatics*, 2008. **24**(11): p. 1344-8.
28. Xue, B., Dunbrack, R. L., Williams, R. W., Dunker, A. K., Uversky, V. N., PONDR-FIT: a meta-predictor of intrinsically disordered amino acids. *Biochim Biophys Acta*, 2010. **1804**(4): p. 996-1010.
29. Burra, P.V., Kalmar, L., Tompa, P., Reduction in structural disorder and functional complexity in the thermal adaptation of prokaryotes. *PLoS One*, 2010. **5**(8): p. e12069.
30. Pavlovic-Lazetic, G.M., Mitic, N. S., Kovacevic, J. J., Obradovic, Z., Malkov, S. N., Beljanski, M. V., Bioinformatics analysis of disordered proteins in prokaryotes. *BMC Bioinformatics*, 2011. **12**: p. 66.
31. Uversky, V.N., C.J. Oldfield, and A.K. Dunker, Intrinsically disordered proteins in human diseases: introducing the D2 concept. *Annu Rev Biophys*, 2008. **37**: p. 215-46.
32. Kovacs, E., et al., Dual coding in alternative reading frames correlates with intrinsic protein disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **107**(12): p. 5429-34.



*Szöllösi-Szítás Edit 2003-ban szerzett okleveles biomérnök diplomát a BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Karán, Ipari biotechnológia szakirányon. 2002 szeptember-2008 január között az MTA SZBK Enzimológiai Intézetében Dr. Tompa Péter csoportjában dolgozott tudományos segédmunkatárs pozícióban. Doktori értekezését „Rendezetlen fehérjék sejtkivonatokból történő azonosítása és mennyiségi meghatározásuk problémái” címmel készítette, melyet az idén véd meg. Jelenleg a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár NyRt. Felfedező Kémiai Kutatólaboratóriumának HTS laborjában dolgozik, mint Screen manager.*



*Kalmár Lajos 2000-ben végzett Alkalmazott Zoológusként a Szent István Egyetemen. 1997-től szakdolgozóként és tudományos diákköri munkában, majd később PhD hallgatóként a humán genetika területén örökletes betegségkókozó mutációk vizsgálatával foglalkozott az Országos Haematológiai és Immunológiai Intézetben Dr. Tordai Attila csoportjában. 2005 óta az MTA Enzimológiai Intézetének munkatársa, 2007-től bioinformatikusként dolgozik Dr. Tompa Péter csoportjában. Kutatási területe a rendezetlen fehérjék funkcionális evolúciója, a rendezetlenség kialakulásának, fajok közti változatosságának vizsgálata.*

## 41. MEMBRÁN-TRANSPORT KONFERENCIA

A 41. Membrán-Transzport Konferencia 2011. május 17-20. között került megrendezésre Sümegen, a hagyományoknak megfelelően. A szakmai programot idén Dr. Deli Mária és Dr. Krizbai István szervezte a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biofizikai Intézetéből. A konferencián 180 kutató, és rekordszámú szponzor és kiállító cég képviselője vett részt. A nyitónapon a membrán-transzport konferenciák választmányának elnökét, Prof. Fischer Emilt 70. születésnapja alkalmából Prof. Somogyi János, a választmány örökös tiszteletbeli elnöke köszöntötte, és Prof. Szollár Lajos, a választmány tagja méltatta. Ezt követően a Romhányi György díj átadására, és a díjazott, Prof. Erdei László (SZTE Növénybiológiai Tanszék) előadására került sor. Idén a Kovács Tibor díjat két fiatal kutató, Dr. Wilhelm Imola a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biofizikai Intézetéből és Dr. Kengyel András a Pécsi Tudományegyetem Biofizikai Intézetéből nyerte el.

A konferencia kiemelt tématerületei között szerepeltek a membránkutatás biofizikai vonatkozásai, a természetes és mesterséges mikrovezikulumok, a jelátviteli folyamatok - különös tekintettel a lipidek szerepére, a transzportfolyamatok biológiai barrieréken keresztül, valamint a nanotechnológia alkalmazásai élettudományokban. A több tudományterületet is átölelő tematikával sikerült továbbvinni a rendezvény hagyományosan multidiszciplináris jellegét, aminek a központjában a biológiai membránok vannak. A tudományos program szervezése során a tématerületek vezető hazai kutatóit kérték fel eredményeik ismertetésére, ugyanakkor lehetőség nyílt fiatal tehetségek számára is a bemutatkozásra. A konferencia során 29 plenáris előadás hangzott el és 63 posztert mutattak be két délutáni szekcióban, így jutott idő a poszterekre és informális megbeszélésekre is.

A magas színvonalú rendezvény a hagyományoknak megfelelően oldott, baráti légkörben zajlott. A konferencia helyszíne, a Hotel Kapitány minden igényt kielégítő otthont tudott nyújtani a résztvevőknek, akik szakmai élményekben és kellemes időtöltésben gazdag konferencián vehettek idén is részt.

**Deli Mária**  
**MTA SZBK Biofizika Intézet**  
**tudományos főmunkatárs**

## MBKE GYÓGYSZERBIOKÉMIAI SZAKOSZTÁLY MUNKAÉRTEKEZLETE

Az idei balatonőszödi összejövetel három igencsak aktuális téma köré összpontosult, ennek megfelelően alakultak ki a szekciók. A „FRET/BRET alkalmazások” szekcióban újszerű fluoreszcens-biolumineszcens technikák elméleti hátteréről, gyakorlatban való alkalmazhatóságáról, illetve az ezek segítségével elért kutatási eredményekről kaptunk részletes beszámolót hazai kutatóktól, ipari szakemberektől és a termékeket forgalmazó cégek képviselőitől.

A munkaértekezlet második napja teljes egészében a transzlációs kutatásoknak lett szentelve. A terület számos elismert akadémiai és gyógyszeripari szakértője által alapos betekintést nyerhettünk a transzláció és epigenetika témakörébe. Érdekesítő és izgalmas viták alakultak ki már maga a transzláció fogalma, nem kevésbé annak alkalmazása-alkalmazhatósága körül, sőt, első kézből hallhatuk több gyakorló klinikus véleményét is a témával kapcsolatban. Ezen a napon került sor a néhai szakosztályelnök, Kovács Gábor emlékére tavaly alapított díj átadására is, amelyet az előző év legjobb előadója, Meskó Bertalan (Debreceni Egyetem) kapott, aki idén is készült egy színvonalas előadással.

A záró napon az „Új megközelítések a gyógyszerkutatásban” szekció alatt – a nem is oly rég még science fiction kategóriába sorolt elképzelésekről – többek között az összejt-terápia lehetőségéről, illetve az összejtek gyógyszerkutatásban-fejlesztésben betöltött szerepéről kaptunk friss információkat.

A konferencia három napja közel 100 résztvevőjével és 30 előadóival idén is megmutatta jelentőségét, amely önmagában elősegítheti a létkérdésnek tekinthető együttműködést az akadémiai és ipari szféra között. Kiemelendő, hogy külföldi előadók, valamint a területen tevékenykedő cégek részvételükkel tovább emelték az esemény rangját. Mindez gyönyörű környezetben, nyári időben, jó hangulatban.

Köszönjük a szervezőknek a sok munkát, jövőre is ott leszünk!

**Kiss László**  
**kutató-fejlesztő**  
**Felfedező Kémiai Kutatólaboratórium**  
**Richter Gedeon Nyrt.**

**Előadások szekciók szerint:**

<b>FRET/BRET alkalmazások</b>	
Nagy Péter (DE)	Az ErbB fehérjeklaszterek kvantitatív jellemzése FRET mérésekkel
Kiss László (Richter)	TR-FRET mérések alkalmazása biomolekuláris kölcsönhatások vizsgálatára
Balla András (SE)	Agonisták hatása a receptorok plazmamembrán mikrodomén lokalizációjára
Ádám József (Perkin Elmer)	TR-FRET és ALPHA esszék új alkalmazásai receptor-ligand, kináz, proteáz, protein-protein, protein-oligo, immunológia, immunogenezis és epigenetikai esszékben
Kapui Zoltán (Chinoi)	Speciális FRET alkalmazások
Ziad Benelkadhi (CeBiosys)	Fluorescent and bioluminescent <i>In Vivo</i> imaging
<b>Transzlációs kutatások</b>	
Lévay György (Richter)	Epigenetikus targetek, epigenetikus markerek: új csillag a gyógyszerfejlesztés egén?
Melegh Béla (PTE)	Farmakogenetikai teszt: módszerek, orvosi compliance, finanszírozás
Meskó Bertalan (DE)	Génexpressziós profilozás az autoimmun kórképek és biológiai terápia világában
Tímár József (SE)	Daganatgenomikára alapozott célzott terápia-2011
Szabó Gábor (KOKI)	Mire használhatók a genetikailag módosított állatmodellek a gyógyszerkutatásban és fejlesztésben?
Mikus Endre (Chinoi)	Paradigmaváltás a farmakológiában
Farkas Sándor (Richter)	„Transzlációs kutatás” – „Fordító kutatás” – Mit fordítottunk a kutatás menetén?
Muszbek László (DE)	Transzlációs kutatás a hemosztázis laboratóriumi diagnosztikája területén
Urbán-Szabó Katalin (Chinoi)	A betegágytól a laborasztalig és vissza, avagy 'translational research' felhasználása immuno-inflammációs kutatásban
Gyertyán István (Richter)	Transzláció a pszichiátriában: mikor nemesb a lélek?
Gacsályi István (EGIS)	A MATRICS program a skizofrénia kutatásában: egy lépés a transzlációs medicina felé
Horváth Szatmár (SZTE)	microRNS interferencia alapú szkizofrénia modellezés transzgénikus egértörzsekben
Haller József (KOKI)	A cannabinoidok szerepe a magatartásban: hangsúlyeltolódás a specifikus hatásoktól a magatartási stratégiák felé
<b>Új megközelítések a gyógyszerkutatásban</b>	
Maksay Gábor (KKBKI)	A molekuláris evolúció gyógyszerbiokémiai aspektusai
Vas Ádám (Richter)	EU Innovative Medicines Initiative és a hazai Gyógyszerkutatási Platformszövetség: újabb fejlemények
Arányi Péter (ELTE Kémiai Intézet)	Az IMI PharmaTrain program: Angol nyelvű gyógyszerfejlesztő kurzus a Semmelweis Egyetemen
Tony J. Smith (BioScience)	NanoPro nanoimmunoesszé a jelátviteli folyamatok tanulmányozásához és a különböző fehérje izoformák nagyérzékenységű kvantálásához
Édes István (DE)	Saját csontvelői őssejt kezelés a miokardiális infarktust követően
Dinyés András (MBK)	Pluripotens őssejtekből szívizom- és idegsejtek előállítás <i>in vitro</i> gyógyszerterjesztelési célokra
Varga Viktor (KOKI)	A hippocampalis hálózat modulációjának vizsgálata optogenetikai módszerekkel
Peter Oledzki (Certara)	Tripos/Pharsight (Kémiai-biológiai adatkezelő rendszer)

**A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET 2011. ÉVI  
VÁNDORGYŰLÉSE**

PÉCS, 2011. AUGUSZTUS 28-31.

***Tisztelt Kolléga!***

Örömmel jelezzük, hogy a Magyar Biokémiai Egyesület **Pécsett** rendezi meg **2011.** évi Vándorgyűlését. A konferencia helyszíne a **Hotel Palatinus** (Király utca 5).

A konferencia tervezett témaköreiből:

- 1. Sejtorganellum biokémia (Szondy Zsuzsa és Vellai Tibor)*
- 2. Membrán és citoskeleton (Vígh László és Nyitrai Miklós)*
- 3. Neurobiokémia (Illés Zsolt és Sperlágh Beáta)*
- 4. Genomika és génműködés szabályozása (Melegh Béla és Boros Imre)*
- 5. Pathobiokémia (Gallyas Ferenc és Virág László)*
- 6. Genom instabilitás és karcinogenezis (Haracska Lajos és Vértessy Beáta)*
- 7. Biokémiai analitika (Miseta Attila és Berente Zoltán)*

A konferencián előadással, illetve poszterrel lehet részt venni. A Vándorgyűlés szervezőbizottsága a beérkezett előadás kivonatok alapján - figyelembe véve a lehetséges előadások korlátozott számát - szerkeszti meg a végleges programot. A poszterek esetében várhatóan minden szakmailag megalapozott jelentkezést el tudunk fogadni.

A Vándorgyűlés felhívása, illetve minden további információ az Egyesület honlapján található (<http://www.mbkegy.hu>), illetve a szervező irodától (e-mail: [incoming@chemoltravel.hu](mailto:incoming@chemoltravel.hu) , telefon: 266 7032 kontakt: Morlin Franciska / Sónyi Judit) kérhető el.

A rendezvény végleges programját és az előadások/poszterek összefoglalóit az egyesület lapja, a Biokémia 2011. évi 3. száma fogja részletesen közölni. Ugyanakkor az aktuális információk, esetleges változások az egyesület, illetve a szervező iroda honlapján folyamatosan elérhetőek lesznek.

Amennyiben felkeltettük érdeklődését, kérjük, hogy jelentkezését, illetve tervezett prezentációjának összefoglalóját elektronikus úton **2011. június 15-ig** küldje el.

Kérjük továbbá, hogy az érdeklődő kollégák figyelmét szíveskedjen felhívni a konferenciára.

Baráti üdvözlettel a szervezőbizottság elnöke:

**Sümegei Balázs**  
**PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet**

## KEDVES KOLLÉGÁK!

Idén **augusztus 31. - szeptember 3.** között Budapesten rendezzük meg a „**4<sup>th</sup> European Conference on Chemistry for Life Sciences**” című nemzetközi konferenciát. Változatos, biológiai témákhoz szorosan kapcsolódó szekciók, rangos meghívott előadók és kedvező árak várják az érdeklődő kollégákat és diákokat. A színvonalas tudományos programot az egyes szekciók magyar és külföldi elnökei garantálják.

### A tervezett szekciók:

- » **Biomolecules in 3D**
- » **Dynamics in Biology: Structural Disorder, Molecular Dynamics, Folding, and Misfolding of Proteins**
- » **Artificial Photosynthesis**
- » **From Bioinspired Organocatalysis to Enzyme Catalysis: Mechanisms and Functions,**
- » **Molecular Recognition and Biocatalysis**
- » **New Trends in Bioinorganic Chemistry: Metals and Metalloproteins**
- » **Computed Molecular Properties in Life Sciences, Computational Aspects of Biomolecules, Chemical Bioinformatics**
- » **Structural and Functional Diversity of Nucleic Acids**
- » **Glycochemistry - Glycoscience**
- » **Frontiers in Medicinal Chemistry, New Methods in Drug Design**
- » **Peptide/protein Bioconjugates for Diagnosis and Therapy**
- » **Neurochemistry; Molecular Mechanism of Neurodegeneration**
- » **Metals in Medicine**
- » **Perspectives in Systems Medicine in the Age of 'omics'**
- » **Bio-nanotechnology: Visualization and Manipulation of Individual Bio-macromolecules**
- » **Synthetic Biology: from Molecules to Synthetic Cells**
- » **Microbes make the World go round. Biogeochemistry at Global Scale and Daily**
- » **Tutorials towards Biology**

Az absztraktok benyújtási határideje 2011. április 15, a kedvezményes regisztrációé június 15. További információk: <http://www.4eccls.mke.org.hu/>

Minden érdeklődő kollégát és diákot szeretettel várunk!

A szervezőbizottság nevében:

***Perczel András, Nyitrai László***



## FEBS 3+ MEETING IN OPATIJA, CROATIA JUNE 13-16, 2012

The Croatia Society of Biochemistry and Molecular Biology (HSB), Hungarian Biochemical Society (HBS) and Slovenian Biochemical Society (SBS) is planning to organize a joint scientific congress through the FEBS3+ Meeting program. The congress will be considered as a National Annual Meeting of the HBS and CSBMB, thus at least 300 up to 450 participants are expected. The venue of the meeting will be **Hotel Adriatic, Opatija**.

The “**From molecules to life and back**” congress is planned to be organised with a purpose of gathering scientist in all fields of Biochemistry and Molecular Biology from the participating countries. The official language of the meeting will be English. The meeting aims to significantly contribute to scientific development of young researchers. Thereby, travel grants will be available to help their participation on the meetings from the three counties.

### The main topics will be:

- » Genomics
- » From DNA to Protein
- » Structure and Function of Proteins
- » Lipidomics
- » Computational, Structural and Synthetic Biology
- » Systems Biology
- » Molecular interactions, Communication and Trafficking
- » Molecular Basis of Diseases and Therapy
- » Food Biochemistry
- » Immunity and Inflammation
- » Membrane Biology
- » Prokaryote World
- » Plant Biochemistry

The participating Societies expressed their interest for organising parallel sessions in the following topics:

- » Biomolecular Engineering
- » Developmental Biology and Neuroscience
- » Host-microbe Interactions
- » Molecular Regulation of Cell Fate – Cell Death
- » Genomic Architecture: Regulation and Instability

All the details considering the meeting will be posted on a webpage.



Platán fa, Peresznye.



Fehér nyár (2002-ben kidőlt),  
Tápé-Vetyehá.



Fás legelő, Kákics.



Gesztenyés, Zengővárkony.



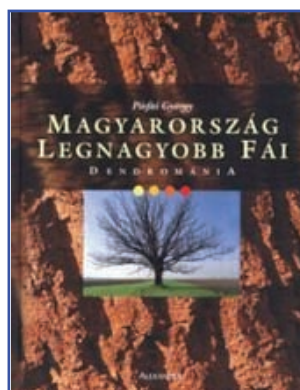
Kislevelű hárs, Zsennye.



Vénic szil. Kerkakutas.



Kocsányos tölgy  
(2006-ban megrokkant), Zsennye.



Ebben a számunkban Magyarország legöregebb, legnagyobb fái közül mutatunk be néhányat. A fotókat **Pósfai György**, az MTA SZBK Biokémia Intézetének igazgatója készítette, aki hobbiként katalogizálja az ország legnagyobb fáit. A fák adatai, pontos fellelhetőségükkel együtt, megtalálhatók a [www.dendromania.hu](http://www.dendromania.hu) honlapon, illetve Pósfai György „Magyarország legnagyobb fái” című, az Alexandra Kiadónál megjelent könyvében.