

Záró-beszámoló az OTKA T37357-es kutatási témájáról

Molekuláris chaperonok és a citoskeleton kölcsönhatásai

Témavezető: Csermely Péter

A Hsp90 új farmakon kötőhelyeinek felfedezése és jellemzése

2002-ben azonosítottuk a Hsp90 második, C-terminális nukleotid kötőhelyét. Jellemeztük e kötőhely nukleotid specificitását és több felkért közleményben összefoglaltuk a felfedezés jelentőségét a gyógyszertervezés szempontjából. E munka folytatásként, új kísérleti eredményként a Hsp90 egy újabb gyógyszerkötőhelyét, a taxol kötőhelyét tártuk fel (www.chaperone.sote.hu). E kötőhely sem az N-, sem a C-terminális nukleotidkötőhellyel nem fed át, a Hsp90 középső részén található. A taxolkötés a két nukleotidkötéssel szoros kölcsönhatásban áll és lényegesen más szubsztrátokat érint, mint bármelyikük. Kísérleteinkben élesztő modellrendszeren (ahol a taxol az élesztő tubulinra nem hat) tisztáztuk, hogy a Hsp90 csak másodlagos targetként vesz részt a taxol sejt-ölő hatásmechanizmusában és taxol-függő gátlása minden bizonnyal csak kiegészíti a taxol jól ismert, és a klinikumban is széleskörűen alkalmazott tubulin-függő sejt ölő, rákellenes hatásait. A Hsp90 középső, rendezetlen régiójának szerepét mind konkrét, A Biochemistryben közölt kísérletekben, mind a FASEB Journalban megjelent, igen széles körben idézett elméleti cikkünkben körüljártuk. A rendezetlen régiók és a chaperonok összefüggéseit egy Biochem. J.-ben megjelent cikkben együttműködő partnerként jártuk körül. (7 cikk, IF: 31)

Chaperonok és apoptózis

A Hsp90 inhibitorairól és a Hsp90 valamint más chaperonok anti-apoptotikus hatásairól több, máris széles körben idézett összefoglalót jelentettünk meg. A chaperonok és az apoptózis kapcsolatát együttműködésben készült kísérletes munkában, a chaperon ko-inducerek anti-apoptotikus hatásának kimutatásával is igazoltuk. E munkánk a CMLS-ben jelent meg. Újabb kísérleteinkben egyre nagyobb hangsúlyt kap a Hsp90 izoformáinak vizsgálata. Ezt ugyancsak már sokat idézett összefoglaló cikkben jártuk körül és jelenleg a Hsp90 inhibitorok izoforma-specifikus hatásait vizsgáljuk magyar-görög együttműködésben. Újabb kutatásainkban nagy szerepet kapott a Hsp90 apoptózisban játszott szerepe az öregedés során. E területet számos cikkben foglaltuk össze. A jelenleg beállított kísérletekben mind öregedő szervezetből nyert sejtekben, mind pedig öregedő (szeneszcens) sejt kultúrákban vizsgáljuk a chaperonoknak és ezen belül a Hsp90-nak az apoptózisban betöltött szerepének változását az öregedés során. (8 cikk, IF: 26)

A Hsp90, mint a citoplazma rendezettségét biztosító laza fehérjehálózat része

Korábbi sikeres vizsgálatainkat a permeabilizált sejtek citoplazmatikus tartalmának eleresztésére kontroll és geldanamicin előkezelt állapotban kiterjesztettük más modellrendszerekre is, és megmutattuk, hogy a komplement rendszer által indukált sejtlízis általában is fokozódik Hsp90 inhibitorok hatására. Az immunrendszer ölő-hatásának felerősítése a chaperon inhibitorok egy új rákellenes hatásmechanizmusbeli eleme lehet. Az immunrendszer és a chaperonok kapcsolatát a Trends in Immunology-ban megjelent cikkünkben általánosan is bemutattuk. A Curr. Op. Cell Biol.-ban megjelent összefoglaló közleményünkben felvetettük, hogy a chaperonok a mitokondriális és ER hálózat összekötésében játszhatnak szerepet. Stressz (chaperongátlás) esetén e hálózat szétkapcsolhat, ami a mitokondriumokat védi a szomszédjaik károsodásának átvételétől. (5 cikk, IF: 38)

A chaperonok részvétele a civilizációs betegségek kialakulásában

2001-ben közölt „chaperon overload” elméletünk bizonyításával összefüggő kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a fehérjetekeredési zavarok hogyan függenek össze a sejt redox

homeosztázisával. Vizsgálatainkban mind diabetesben, mind pedig az elrontott fehérjeként mutáns alfa-1-antripszint túltermelő állatban kimutattuk, hogy az elrontott fehérjék megjelenése az endoplazmatikus retikulum oxidált állapotát a redukált állapot irányába tolja el, valamint hogy a citoplazmában a redukáló mechanizmusok felszaporodásával és aktiválódásával a sejt kivédi az oxidatív stressz megjelenését. Igazoltuk, hogy a FAD specifikusan, membrán- és protein diszulfid izomeráz-függő úton oxidálja az endoplazmatikus retikulum fehérjét. Ezen eredményeinket a JBC-ben, a FASEB Journal-ban és a BBRC-ben összesen 5 cikkben közöltük. E vizsgálatok továbbfejlesztéseként jelenleg az endoplazmatikus retikulum fehérjéket oxidáló Ero1-protein diszulfid izomeráz komplexének stresszfüggő változásait jellemezzük. A komplex stresszmentes közegben diszulfid hidakkal, stressz esetén pedig ezek nélkül, hidrofób felszínekkel stabilizálódnak. E közben összetétele is változik. Másik folyamatban lévő kísérletes irányként a chaperon overload az elmúlt évben előállított sejtes rendszereiben vizsgáljuk azt, hogy a betekeretlen fehérjék megjelenésének időtartama, azaz a stressz hossza hogyan változtatja meg a sejt válaszait. A stressz hosszát tetraciklin-függő és más promoterek segítségével be- illetve kikapcsolt betekeretlen fehérjék termeltetésével szabályozzuk. A stresszfüggő jelenségekről és ezek molekuláris mechanizmusáról Vigh Lászlóval együttesen szerkesztett könyvet jelentetünk meg. A chaperonok a szájban tapasztalható hatásait két cikkben írtuk le. (1 könyv, 7 cikk, IF: 28)

Új kutatási téma folytatása: fehérje- és más hálózatok

2003-ban megdöbbentő eredmények láttak napvilágot a chaperon overload-dal kapcsolatban (Bergman és Siegal, Nature 424,549). Kiderült, hogy a Rutherford és Lindquist által felismert, instabilizálódással járó jelenségeket

1. nemcsak a chaperonok, hanem számos más, velük funkcionális rokonságban nem lévő fehérje (prionok, p53, stb. stb.) is közvetíti, valamint
2. hogy a jelenség ennél feltehetően sokkal általánosabb: nemcsak az egyedfejlődésbeli diverzitásra, instabilitásra, hanem az élőlények által produkált *minden* instabilitásra és diverzitásra igaz, hogy a sejt számos fehérjéje képes a puffereelésére, azaz stabilizációjára, illetve a magasabb fejlődési szinten, diverzitásának visszaszorítására.

A fentiek alapján bizonyossá vált előttünk, hogy a stabilizációs hatások végső oka nem a chaperonhatás, hiszen számos olyan fehérje is képes ennek kiváltására, amely ezzel nem rendelkezik. A stabilizációt ennél valami sokkal általánosabb ok szabja meg. Kiderült továbbá, hogy a sejtet alkotó genetikai-, fehérje- és metabolikus hálózatok számos elemükben kísértetiesen hasonlítanak a világon található más hálózatokra (makromolekulák, szervek, állatközösségek, társadalmak, ökoszisztémák, stb.). Felmerült, hogy a stabilizációs hatásoknak mindezen rendszerekben közös oka van. Az egyikfajta stabilizátorral, a chaperonokkal korábban elvégzett kísérleteink tanulságaként tudtuk és tanítottuk, hogy a fehérjék szinte mindennel laza, alacsony affinitású kölcsönhatásban vannak. Ebből fakadt a felismerés: *a többi elemmel gyenge kölcsönhatásban lévő elemek minden komplex rendszert stabilizálnak*. A fenti állítást széleskörű irodalmi tájékozódásunk alapján – nagy megdöbbenésünkre – jónéhány évvel ezelőtt már számos tudományterületen bebizonyították, mindennek ellenére az összefüggés általános felismerésére eddig sor nem került. E tétel igazolására és körüljárására jelenleg

- angol és magyar nyelvű könyvet jelentettünk meg (Springer és Vince)
- a Trends in Biochem. Sci-ben megjelentettük a téma első összefoglalóját
- kidolgoztunk és részben bizonyítottunk egy új gyógyszertervezési paradigmát (amely szerint a multi-target gyógyszerek hatékonyabbak, mint a jelenleg alkalmazott single-target gyógyszerek), amely a Physical Reviews E-ben és a Trends in Pharmacol. Sci-ben jelent meg

- megszerveztünk egy kb. húszfős, új munkacsoportot (LINK-group, www.weaklink.sote.hu). A munkacsoport nagymértékben támaszkodik a középiskolás kutató diák mozgalomra (www.kutdiak.hu), amely létrehozásáért a témavezető a beszámolási időszakban elnyerte az EU Descartes-díját, és amelyről három könyvet jelentettünk meg. A LINK-csoportban számos egyedi bioinformatikai és biokémiai kísérletet dolgoztunk ki és kezdtünk meg. A LINK-csoport első munkái gyanánt
 - Pál Csabával, Papp Balázssal, valamint német és angol laboratóriumokkal közös munkában hozzájárultunk az endoszimbionta baktériumok metabolikus hálózatát megjósoló modellezési eljárás kidolgozásához, e cikkünk a Nature-ben áll megjelenés alatt;
 - Kovács Istvánnal, az ELTE TTK III. éves fizikus hallgatójával elvileg is új, rendkívül hatékony eljárás-családot dolgoztunk ki hálózatok átfedő moduljainak meghatározására; az eljárás-család magában foglalja és kibővíti az eddigi eljárások jónéhány változatát, és alkalmas a hálózatok igen nagy hatékonyságú ábrázolására is; az eljárást szabadalmi bejelentésben védtük le, jelenleg írjuk belőle az első közleményeket;
 - megkezdtük a játékelmélet alkalmazásának átgondolását a fehérje-fehérje és sejt-sejt kölcsönhatások magyarázatában. Ezen utóbbiról a FEBS Letters-ben jelentettünk meg egy közleményt;
 - Szalay Mátéval, a BMGE II. éves informatikus hallgatójával, ifjúsági Bolyai-díjassal, kidolgoztunk egy digitális élőlény-rendszert, amelyet Scavengernek neveztünk el. Az élőlény-rendszer egy ökoszisztéma (tápláléklánc) evolúcióját modellezi és a hálózatdinamikai elemzések igen hatékony eszköze lesz. E munkánk a szabadalmi bejelentés után jelenleg áll közlés alatt;
 - Vicsek Tamással és Vellai Tiborral együttműködésben a *C. elegans* jelátviteli hálózatait elemezzük és keressük meg e hálózatok azon pontjait, amelyek alkalmasak lehetnek arra, hogy segítségükkel a gazda-élőlény viselkedését nem triviális módon tudjuk alapvetően befolyásolni.

(5 könyv, 1 szabadalom, 5 cikk, IF: 66)

Összesen: 6 könyv, 1 szabadalom, 32 cikk, IF: 189