

A 2005 és 2007 között megvalósított project célja transzmembrán fehérjék vizsgálata és az ehhez szükséges eljárások kifejlesztése volt. Ez utóbbi magába foglalta új adatbázisok és szerkezet becslő módszerek előállítását, az ezek működtetéséhez szükséges programok elkészítését, nyilvános szerverek telepítését, fenntartását és az adatok rendszeres frissítését. Ezeket a feladatokat sikerült elérnünk. Ugyanakkor, mint a részjelentésekben már jeleztem, az időközben ismerté vált új eredmények miatt a programot jelentősen bővíteni kellett. Főleg az egyébként transzmembrán fehérjékben is megtalálható rendezetlen fehérje szakaszok vizsgálatára való tekintettel. Kisebb részben a fehérjék stabilitását és fehérje tervezést érintő metodikai fejlesztések és funkcionális vizsgálatokra való tekintettel. A megvalósítás fedezetének biztosításában segített a végrehajtás közben megítélt OTKA 64307 kiegészítő támogatás is.

Kidolgoztunk egy eljárást, a TMDDET-et, amivel meghatározható a fehérjék elhelyezkedése és orientációja a membránhoz képest (<http://tmdet.enzim.hu/>). A TMDDET felhasználásával elkészítettük az ismert térszerkezetű transzmembrán fehérjék adatbázisát a PDBTM-et (<http://pdbtm.enzim.hu/>). Készítettünk továbbá egy transzmembrán fehérje topológiai adatbázist, a TOPDB-t (<http://topdb.enzim.hu/>). Az adatbázisokhoz kereső és elemző programokat is készítettünk. Korábban kifejlesztett topológia becslő algoritmusainkkal valamint a fenti szerverekkel összeállítást készítettünk a humán ABC transzporter fehérjékről. A kizárólag transzmembrán fehérjéket érintő módszerek mellett ki kellett dolgozni általános, minden fehérjét érintő eljárásokat is. IUPred néven algoritmust dolgoztunk ki fehérjék rendezetlen szegmenseinek becslésére. Az algoritmus alapján nyilvános szervert is készítettünk (<http://iupred.enzim.hu/>). A szerver egy sor fontos alapkutatói feladat megoldását tette lehetővé számunkra és vélhetően mások számára is, mert a szervert és annak biofizikai hátterét bemutató 2005-ben megjelent két cikkre már több mint 80 független hivatkozást kaptunk. Továbbá vizes közegben oldódó és transzmembrán fehérjék vizsgálatához is használható algoritmusokat dolgoztunk ki fehérjék stabilitásáért felelős aminosavak azonosítására (<http://sride.enzim.hu/>), és fehérje tervezések segítésére (<http://bisearch.enzim.hu/>). Számítógépes szerkezet vizsgálatokat végeztünk néhány gyakorlati szempontból fontos fehérjén is. Az eredmények OTKA pályázati periódusokon átnyúló hosszú ideig tartó munkák eredménye. A “közlemények” mellékletben 22 cikkből, főleg a 2005-ben megjelentekben közölt munkák nagyobb részben az előző T 34131 számú lettek finanszírozva és csak kisebb részben ebből a 49073 számú pályázatból illetve az ennek kiegészítésére kapott 64307 számú támogatásból. Annál a 15 cikknél, ahol a 49073 OTKA szám szerepel az “igen”, annál a 7-nél ahol a 34131 OTKA szám szerepel a “nem” választ adtam az “OTKA támogatás feltüntetve?” kérdésre. A cikkek mellett az eredmények közzétételének legfontosabb formája, hogy 6 új nyilvános szervert telepítettünk a világhálóra.

Az új szerverek és felhasználásuk alapkutatói célokra:

### 1. Transzmembrán fehérjék helyzete és orientációja, a TMDET szerver

Módszert dolgoztunk ki az ismert térszerkezetű transzmembrán fehérjék membránhoz viszonyított helyzetének és orientációjának becslésére. Ezek az igen fontos adatok ugyanis elvesznek a térszerkezet meghatározása során, mert a fehérje röntgen diffrakciós szerkezetvizsgálatához szükséges kristály előállításához azt ki kell vonni a membránból. Az atomi koordinátákból az egyes aminosavak hidrofobicitásának figyelembevételével ezek a hiányzó adatok nagy valószínűséggel megbecsülhetők. Ezek az adatok rendkívül fontosak például gyógyszertervezésnél, minthogy az ismert hatás mechanizmusú gyógyszerek döntő többségének célpontja valamilyen transzmembrán fehérje. A módszer segít a transzmembrán fehérje szerkezetének pontosabb megismerésében és a homológia modellezésben is. A módszer alapján TMDET néven nyilvános szerver készült, ami elérhető a világhálón: <http://tmdet.enzim.hu/>. A szerverről a Bioinformatics című folyóiratban közzeltünk cikket (Tusnady, 2005a).

### 2. Ismert térszerkezetű transzmembrán fehérjék adatbázisa: a PDBTM adatbázis

A fehérje térszerkezetekre vonatkozó információkat az egész világon a hetente frissített fehérje adatbankból (Protein Data Bank, PDB) szerzik be a felhasználók. Létrehoztunk a PDB-hez félautomatikus módon csatlakozó, tehát ugyancsak hetente frissülő adatbázist ami a TMDET algoritmus felhasználásával pótolja a transzmembrán fehérjékről a PDB-ből hiányzó lokalizációs és orientációs információkat, kiválogatja, rendszerezi a transzmembrán fehérjéket és különböző "kereső motorokkal" segíti a felhasználókat a releváns információk megtalálásában. A szerkezetek és részleteik megjelenítésére a PDBTM szerveren különböző algoritmusok szolgálnak. Elérhetősége: <http://pdbtm.enzim.hu/>. Az adatbázis és szerver leírását a Nucleic Acids Res folyóiratban közzeltük (Tusnady, 2005b).

### 3. A transzmembrán fehérje topológiai adatbázis, a TOPDB szerver

Létrehoztuk a jelenleg legteljesebb, nyilvánosan elérhető adatbázist, ami a transzmembrán fehérjéken végzett megbízható kísérleti eredmények alapján lett összeállítva. Az adatbázis alapja több mint ezer publikáció kritikai feldolgozása. Az ezekben a cikkekben közzelt munkákban a transzmembrán fehérjék topológiáját különböző közvetett, biokémiai, molekuláris biológiai módszerrel határozták meg. A sok esetben ellentmondásos információkból a legvalószínűbb topológia kiválasztásához

igénybevettük korábban kifejlesztett topológia predikciós módszereinket a HMMTOP-ot és a DAS-TMfiltert is. A TOPDB adatbázis és analizáló szerver tartalmazza a PDBTM-ben található röntgendiffrakciós módszerrel meghatározott szerkezetek topológiai adatait is. A szerver felhasználóbarát kereső és analizáló “motor”-okkal van ellátva. Az adatbázis és szerver leírását a *Nucleic Acids Res* folyóiratban közzeltük (Tusnady, 2008).

#### 4. Rendezetlen fehérjék, az IUPred szerver

Kidolgoztunk egy módszert a rendezetlen fehérjék és fehérje szegmenseknek az aminosav párok közötti kölcsönhatási energiáján alapuló becsléséhez. A párkölcsönhatásokon alapuló rendezetlenség becslés elméleti alapját a *J. Mol Biol* folyóiratban közzeltük (Dosztányi, 2005a). Az erre alapozott szervert az, IUPred-et, a *Bioinformatics* folyóiratban mutattuk be (Dosztányi, 2005b). A IUPred a CASP (Critical Appraisal Skills Programme) kompetíciók eredménye szerint az egyik legpontosabb rendezetlenség becslő szerver. A módszer pontosságát ellenőriztük a rendezetlen fehérjék azonosítására kifejlesztett kétdimenziós elektroforézis módszerrel is (Csizmók, 2007). Az eredetileg aminosav szintű becslésre alapuló módszert adaptáltuk domén szintű becslésre, ami jelentős segítséget jelent nagyobb adatbázisok szűrő vizsgálatában (Dosztányi, 2007). A becslő módszer lehetővé tette genom szintű rendezetlenségek összehasonlító vizsgálatát (Tompai, 2006) valamint rendezetlen fehérjék intermolekuláris kölcsönhatásainak a leírását, beleértve a hálózat építést is (Dosztányi, 2006; Fuxreiter, 2007; Mészáros, 2007; Nemeth-Pongracz, 2007; és Solt, 2006).

#### 5. Rendezett, globuláris fehérjék stabilitása, az SRide szerver

Korábban kifejlesztett SCpred és SCide stabilizációs centrumokat becslő és térszerkezetből azonosító algoritmusainkat kombináltuk az egyes aminosavak konzervativitását, hidrofobicitását és a nem-lokális kölcsönhatásokban való részvételi gyakoriságot jellemző ún. „long-range order”-t meghatározó algoritmusokkal. Így SRide néven metaszervert hoztunk létre, amellyel ismert térszerkezetű fehérjékben vélelmezhetők a stabilitás szempontjából legfontosabb aminosavak. A metaserver a világhálón elérhető: <http://sride.enzim.hu/>. A szervert és a használatát bemutató cikk a *Nucleic Acids Res* folyóiratban jelent meg (Magyar, 2005).

## 6. Egy DNS primer tervező eljárás, a Bisearch szerver

Kidolgoztunk egy DNS primer tervező eljárást, mely mind biszulfid kezelt, mind kezeletlen szekvenciákra alkalmazható. Tetszőleges genomokban végezhetünk szekvencia keresést a tervezett primer nem specifikus kötődésének kiszűrésére. A szervert még a pályázat futamideje alatt továbbfejlesztettük. A szervert bemutató cikkek Nucleic Acids Res.-ben (Tusnady, 2005c) és BMC Bioinformatics- ban jelentek meg (Arányi, 2006). A világhálón jelenleg a Bisearch szerver továbbfejlesztett változata található: <http://bisearch.enzim.hu/>.

A szerverek fejlesztése és felhasználása mellett számítógépes szerkezetvizsgálatokat végeztünk egyedi fehérjéken: a prolil peptidázon (Fuxreiter, 2005a), ahol a szubsztrátnak az enzim aktív centrumához jutásának lehetséges útvonalát határoztuk meg, valamint a BamHI restriktív endonukleázon, ahol a hidrátburok szerepét állapítottuk meg a specifikus szubsztrát felismerésben (Fuxreiter, 2005b), illetve a fémionok szerepét az enzim funkciójában (Mones, 2007a, Mones, 2007b). Ezek a számítások vizsgálati objektumokban nem, de metodikai szempontból szorosan kötődtek a fentebb tárgyalt munkákhoz.

Közlemények:

- Arányi T. et al. (2006) *BMC Bioinformatics* 7, No. 431.
- Csizmók V. et al. (2007) *Curr Protein Pept Sci* 8, 173-179.
- Dosztányi Zs. et al. (2005a) *J Mol Biol* 347, 827-839.
- Dosztányi Zs. et al. (2005b) *Bioinformatics* 21, 3433-3434.
- Dosztányi Zs. et al. (2006) *J Proteome Res* 5, 2985-2995.
- Dosztányi Zs. et al. (2007) *Curr Protein Pept Sci* 8, 161-171.
- Fuxreiter M. et al. (2005a) *Proteins* 60, 504-512.
- Fuxreiter M. et al. (2005b) *Biophys J* 89, 903-911.
- Fuxreiter M. et al. (2007) *Bioinformatics* 23, 950-956.
- Magyar Cs. et al. (2005) *Nucleic Acids Res* 33, W303-W305.
- Mészáros B. et al. (2007) *J Mol Biol* 372, 549-561.
- Mones L. et al. (2007a) *Biol Chem* 388, 73-78.
- Mones L. et al. (2007b) *Biochemistry* 46, 14514-14523.
- Németh-Pongrácz V. (2007) *Nucleic Acids Res* 35, 495-505.
- Solt I. et al. (2006) *Proteins* 64, 749-757.
- Tompa P. et al. (2006) *J Proteome Res* 5, 1996-2000.
- Tusnady GE et al. (2005a) *Bioinformatics* 21, 1276-1277.
- Tusnady GE et al. (2005b) *Nucleic Acids Res* 33, D275-D278.
- Tusnady GE et al. (2005c) *Nucleic Acids Res* 33, Methods Online No. e9.
- Tusnady GE et al. (2006) *FEBS Lett* 580, 1017-1022.
- Tusnady GE et al. (2008) *Nucleic Acids Res* 36, D234-D239.