



EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM

TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

BIOKÉMIAI TANSZÉK

Bírálati vélemény

Hegedűs Tamás

„Membrán ABC fehérjék működése és gyógyszer-kölcsönhatásai a 3D bioinformatika tükrében”

című MTA doktori értekezéséről

Hegedűs Tamás értekezése a jelöltnek az ABC-fehérje szupercsalád kiemelkedő élettani és gyógyászati jelentőségű tagjaival kapcsolatos új tudományos eredményeit és a létrehozott eszköztár felhasználási lehetőségeit ismerteti. A tudományos tézisek három témakört ölelnek fel, amelynek mindegyikében a jelölt széleskörű szerkezeti bioinformatikai arzenál alkalmazásával, fejlesztésével, új alkalmazások, adatbázisok létrehozásával ért el jelentős új eredményeket. Ezek a témakörök a következők: (1) a cisztás fibrózis (CF) patomechanizmusának központi eleme, a cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia szabályozó (CFTR) fehérje élettani és hibás működésének szerkezet alapú feltárása; (2) az idegen anyagok sejtből történő kiválasztásában és a köszvény patomechanizmusában szerepet játszó ABCG2 fehérje szerkezeti-funkcionális felderítése; (3) ABC és más (főleg membrán-) fehérjék szerkezetével kapcsolatos információk hatékony feldolgozását lehetővé tevő alkalmazások fejlesztése, amelyek az élettani és kóros működések mélyebb megismerését és gyógyászati intervenciók tervezését szolgálják.

A jelölt a doktori művet tézises formában készítette el. A műhöz maradéktalanul csatolta az annak alapjául szolgáló publikációk különlenyomatait. A mű tíz publikáción alapul, amelyek mindegyike rangos illetve kiemelkedő presztízsű szakfolyóiratban jelent meg 2013 és 2022 között. Az első két tézis alapjául szolgáló cikkekben a jelölt társszerzőként működött közre, míg a többi cikk mindegyikét meghatározó (utolsó) szerzőként jegyzi. A doktori mű hiteles adatokat tartalmaz.

Az értekezés új tudományos eredményeket tartalmazó téziseit az alábbiakban foglalom össze.

1. A pályázó kollaborációs partnereivel együtt megmutatta, hogy a hibás szerkezetű $\Delta F508$ -CFTR fehérje funkcionális helyreállítását célzó korrektor vegyületek sajnálatosan alacsony hatékonyságának fontos komponense, hogy ezen anyagok hatása főként az NBD1/CL4 kölcsönható felszín stabilizálására korlátozódik. Ezért, jelentősebb NBD-stabilizáló hatás elérése érdekében, javasolták a hatóanyagszűrések kiterjesztését az említett felszínt stabilizáló szekvenciamódosulatokat tartalmazó CFTR variánsokra.
2. A fenti kollaboráció keretében kimutatták azt is, hogy a VX-770 potenciátor hatóanyag a $\Delta F508$ -CFTR fehérjevariáns funkcióját annak destabilizálásán keresztül javítja, ezért nem eredményezett szignifikáns javulást a VX-809 korrektorral együtt alkalmazva a diagnosztikus paraméterekben. Ez az eredmény új potenciátorok fejlesztésének szükségességét vetítette elő.
3. A jelölt molekuladinamikai (MD) szimulációkat alkalmazott a CFTR kloridion-vezetésre alkalmas geometriával rendelkező konformereinek azonosítása céljából. Eredményei tudományos és translációs jelentőségük annak fényében, hogy a korábban kísérletesen

meghatározott, aktív állapotú CFTR szerkezetekből nem volt azonosítható kloridion-vezetésre alkalmas útvonal.

4. Az ABCG fehérjék szerkezeti modellezését nehezítette, hogy ezen alcsalád tagjainak transzmembrán doménja kevesebb aminosavat tartalmaz a rokon alcsaládokhoz képest. A jelölt az ABCG5/ABCG8 heterodimer fehérje kísérletesen meghatározott szerkezete alapján modellezte az ABCG2 homodimer szerkezetét, és azonosította a fehérje betegségasszociált mutációinak lehetséges szerkezeti hatásait.

5. Az ABCG2 transzportfunkciójának feltárása céljából, húgysav szubsztrátot tartalmazó ABCG2 MD szimulációjával, karakterizálta a szubsztráttranszlokációs útvonalat.

6. A fenti munkában az ABCG2 különböző lipidösszetételű membránkörnyezetben végzett MD-szimulációjával azonosította a membrán koleszterintartalmának a transzportfolyamatra kifejtett hatását is.

7. Az ABCM2 webalkalmazás létrehozásával, szekvencia-illesztések alkalmazásával nagyban elősegítette az ABC fehérjék természetes és mesterséges variánsaival kapcsolatos információk szintézisét és értelmezését.

8. A kísérletesen meghatározott ABC-fehérjekonformációk összehasonlítása és osztályozása, illetve az adatok mélyebb értelmezése céljából szabványosított mérőszámokat, ún. konfforokat generált.

9. Az általuk kifejlesztett MemBlob munkafolyamat lehetővé teszi a krio-elektronmikroszkópiával kapott sűrűségterképekből a fehérjék lipidkörnyezettel körülvett transzmembrán és rendezetlen régióinak, illetve azok lipidkörnyezetének szerkezeti jellemzését.

10. A betanítás során membránfehérjékre nem érzékenyített AlphaFold2 szerkezetpredikciós eszközről kimutatták annak a membránfehérjék területén való használhatóságát, és annak alkalmazásával új humán ABC-dimer szerkezeteket építettek.

11. Az általuk létrehozott MemMoRF adatbázison alapuló webalkalmazás a lipidekkel kölcsönható rendezetlen fehérjerégiókkal kapcsolatos adatok elérését, feldolgozását teszi lehetővé.

A fenti tézisek mindegyikét új tudományos eredményként fogadom el.

A doktori mű kompakt, lényegre törő, jól olvasható; a szöveggel kapcsolatban mindössze az alábbi megjegyzéseket teszem.

1. A Célkitűzések (6-7. o.) megjelölését túl általánosnak, kevés konkrétumot tartalmazónak éreztem, illetve a Módszerek (7-8. o.) fejezetben is jól jöttek volna további, a szűk értelemben nem szakmabeli olvasó tájékoztatását segítő információk.

2. Az 5. ábra szövegében az ABCG2 Q141 aminosava elírva, Q142-ként szerepel.

Kérem, hogy a jelölt válaszoljon az alábbi, jelentős részben a mű gondolatindító jellegéből adódó kérdésekre.

1. Az 1. ábrán a jelöletlen barna szimbólumok feltehetően a között nukleotidot jelzik. Az ABC fehérjékben a transzportszubsztrát kötése illetve a nukleotidkötő doménekhez (NBD) kötött nukleotid állapota (nukleotidmentes, pre- illetve poszthidrolitikus stb.) közötti kapcsoltság milyen mértékben variál az ABC-fehérjék között, illetve milyen mértékben járul hozzá a transzportszubsztrát-specifitáshoz? Ismert olyan szubsztrát, amely köt ugyan a transzporterhez, de nem indukálja az NBD-k kölcsönhatását?

2. Az 1-2. tézisek alapjául szolgáló közlemények a legidézettebbek a disszertáció alapjául szolgáló cikkek közül. Ezekben a jelölt társszerzőként szerepel. Kérem ismertesse a munkákhoz való hozzájárulását.
3. Kérem röviden ismertesse a DOPA pontszám (7. o.) illetve a pLDDT pontszám (26. o.) mibenlétét, jelentőségét.
4. (9-10. o.) „[...] a CFTR fehérje feltekeredését segítő legígéretesebb korrektor vegyület, a VX-809 a $\Delta F508$ -CFTR sejtfelszíni mennyiségét a vad típus szintjének kevesebb, mint 15%-ára növeli.” Kezelés nélkül a betegekben milyen sejtfelszíni mennyiségben van jelen a $\Delta F508$ -CFTR fehérje?
5. (12. o.) A 4.1.3. fejezetben a jelölt említi, hogy a releváns, kísérletesen meghatározott CFTR szerkezet nem mutat a kloridion vezetésére alkalmas útvonalat. Mennyiben realiztikus illetve elvárható az, hogy az ionvezetés útvonala teljes hosszában láthatóan nyitott legyen bármely egyedi konformációban?
6. (15. o.) „[...] atomi szinten azonosítottuk és jellemeztük a kloridionok legvalószínűbb átjutási útvonalát.” A jelölt által azonosított útvonalra született később kísérletes validáció?
7. (20. o.) Kérem a jelölt röviden ismertesse a metadinamikai MD szimulációk lényegét.
8. (31. o.) A jelölt a mélytanulósos eszközökről megjegyzi, hogy „ezen algoritmusok egyike sem képes a dinamikát és a konformációs sokaságot jellemezni.” Elképzelhetőnek tartja, hogy mesterséges intelligencia segítségével, a rendelkezésre álló kísérletes molekuladinamikai adatokból kiindulva, a fehérjeműködés dinamikus aspektusai is hamarosan használható megbízhatósággal előre jelezhetők lesznek?
9. A jelölt témában közölt publikációinak megjelenése óta milyen haladás történt a cisztás fibrózis CFTR korrektorokkal illetve potenciátorokkal történő gyógyításában?

Összegezve, Hegedűs Tamás MTA doktori értekezése innovatív, precíz, kitartó, színvonalas munkát tükröz, amely jelentős tudományos és transzlációs értékű új eredményeket hozott. A doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom, és nyilvános vitára bocsátását támogatom.

Budapest, 2023.03.14.

Kovács Mihály
az MTA doktora
tanszékvezető egyetemi tanár, ELTE Biokémiai Tanszék