

Válaszok Dr. Tóth Judit bírálatára

Nagyon szépen köszönöm Dr. Tóth Juditnak az MTA doktori dolgozatomra adott pozitív és támogató bírálatát és a bírálatra fordított energiát.

A feltett kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

1) A dolgozatban bemutatott munka szilárdan az IUPred módszer energiabecslő mátrixának kidolgozásán alapul. Dosztányi Zsuzsa ezt követő eredményei és a független citációk is ékes bizonyítékai a módszer kiválóságának és hasznosságának. Ezt meg nem kérdőjelezve és a tudományos kíváncsiságtól hajtva teszem fel a következő kérdéseket. Ha jól értettem, a módszer 70 % körüli pontossággal jósolja meg helyesen a rendezetlenséget egy adott aminosav pozícióban. A módszer kidolgozásakor rendelkezésre álló globuláris fehérjeszerkezetek száma a töredéke volt a mainak. Ezek a szerkezetek, illetve a bennük található aminosavkölcsonhatások gyakorisága szolgált a párkölcsonhatási energiák számítására.

a) Egy jóval nagyobb adatszetten számított párkölcsonhatási energiamátrix növelné-e a rendezetlenség jóslásának megbízhatóságát? Van ennek elméleti határa vagy a gyakorlati határát lehetne kitapasztalni aránytalanul nagy befektetett munkával?

A jelenlegi formában, a jóval nagyobb adatszett önmagában nem javítja a rendezetlenség jóslásának megbízhatóságát. Jelenleg azon dolgozunk, hogy az energia becsléshez nem egy 20x20-as energia mátrixot használunk, hanem egy mélytanulósos neuronhálózatot. Ezzel már egy nagy adatszettet felhasználva tudunk javítani a módszerünk megbízhatóságán. További javulást várunk a kölcsonhatási energiafüggvény továbbfejlesztésével.

Illetve lenne-e egy még nagyobb rendezetlenség becslési pontosságnak gyakorlati jelentősége, és ha igen, mi?

A jelenlegi módszerek a legtöbb gyakorlati alkalmazásra elég jó eredményeket adnak, például viszonylag jól meg tudják mondani, mely részek lesznek kristályosíthatók, illetve hogy hol vannak hosszabb rendezetlen szakaszok. Ahol nagy szükség lenne javulásra, az a kontextusfüggő rendezetlen régiók, például a kötőrégiók becslése, illetve a rendezetlen fehérjék szerkezeti sokaságának leírása.

b) A párkölcsonhatási energiaszerű mennyiségek számításánál a fehérjeszerkezeten belül definiálható aminosav kontaktusokat veszik számításba. A kristálykontaktokon lévő kölcsonhatásokat lehetne-e és érdemes lenne-e számításba venni? Különösen olyan aminosavaknál, amelyek nagy arányban fordulnak elő fehérje felszíneken, hasznos lehet ez az információ?

Bár ezt a kérdést konkrétan nem vizsgáltam, azt igen, hogy nem monomerek, hanem komplexek alapján számolom a párkölcsonhatási energiát. Ez nem javított a módszeren, ezért azt feltételezem, hogy a kristálykontaktok figyelembe vétele sem javítana.

c) Figyelembe lehet-e venni irányítottan a konformációs lehetőségeket az aminosavak közötti párkölcsönhatások energiabecslésénél? A konformációs lehetőségek hatása a párkölcsönhatásra valószínűleg inherensen megnyilvánul a kölcsönhatások frekvenciájában, de alul reprezentált aminosavaknál, pl. a triptofán esetleg segíthet?

A jelenlegi formalizmusban, ahol 20x20-as energiamátrixot használunk, nincsenek már alulreprezentált aminosav párok. A konformációs lehetőségek ebben a megközelítésben nem igazán jelennek meg, mivel nem vesszük figyelembe a konformációs entrópiát.

2) A kontextusfüggő rendezetlenség és rendezetlen kölcsönhatás becslést lehetne-e olyan fizikokémiai paraméterekkel bővíteni, amelyek hatása az aminosavakra viszonylag egyértelműen definiálható, mint pl. a pH? Vagyis 3 lehetne-e rendezetlenséget/stabilitást és legfőképpen kölcsönhatást jósolni különböző pH-kon?

Ez egy nagyon izgalmas kérdés, azt gondolom, hogy a rendezetlenség, talán még stabilitás esetében is, a válasz igen, különösen a pH esetében. Sajnos ezt eddig nem tudtuk megvizsgálni, de remélhetőleg a közeljövőben sort keríthetünk rá. A legfőbb probléma, hogy viszonylag kevés adat áll rendelkezésre pH függő rendezetlen régiókra. A kötődés sokkal nehezebb probléma, mivel ott a specifikus kontaktusok és a lokális izoelektromos pont sokkal fontosabb lehet.

3) Lát-e arra elméleti és gyakorlati lehetőséget, hogy az ANCHOR kölcsönhatási pontszámait termodinamikailag is értelmezhető kölcsönhatási energia mennyiségre vetítsék le? Mennyi és milyen minőségű mért rendezetlen fehérje kölcsönhatási paraméter ismert, és ezek használhatóak lennének-e az ANCHOR kölcsönhatási paramétereinek skálázására?

A kötődés termodinamikai paramétereit csak egy adott partnerrel értelmezhetőek. Az ANCHOR módszer nem veszi figyelembe a lehetséges partnereket a rendezetlen kötőrégiók azonosítása során. Továbbá, a rendezetlen fehérjéknél azonban nagyon gyakori, hogy egy régió több partnerrel is kölcsönhatást létesít. Ezért nem gondolom, hogy az ANCHOR pontszámait lehetne termodinamikailag értelmezni.

Egy ehhez kapcsolódó izgalmas kérdés azonban, hogy egy-egy partner esetében tudjuk-e becsülni az ahhoz kötődő rendezetlen régiók termodinamikai paramétereit. Ezzel próbálkoztuk az LC8 lineáris motívumkötő domén esetében, aminek akkor körülbelül 30 partnerére ismertük a kötési erősséget. Azonban a megközelítésünk egyelőre nem ért el meggyőző eredményeket, tehát nem tudta jól megkülönböztetni a kötő és nemkötő motívumokat.

A rendezetlen kötőrégiókat tartalmazó DIBS (E. Schad et al. *Bioinformatics* 2018, 34, 535.) adatbázisban több, mint 100 rendezetlen/rendezett fehérje komplexre gyűjtöttük össze a Kd adatokat. Sajnos ezeknél előfordul, hogy a szerkezetben megadott régió nem egyezik a kölcsönhatási paraméterek meghatározásánál használt régióval. Egy-két kötődődomén esetében (pl SH3 or 14-3-3) nagyszámú kölcsönhatás erősségét jellemezték peptid illetve teljes fehérje szintjén is, melyek elérhetőek a kvantitatív interaktóm adatbázisban (G. Gogl, et al *Nat. Commun.* 2022, 13, 5472.). Az ezekre vonatkozó adatok a kiindulópontját adhatják az olyan módszernek, mely egy adott kötődődomén esetén nemcsak partnereket, hanem a

kötés erősségét is tudják becsülni ismert kötési mód esetén. Ez egy érdekes további projekt lehet.

Ismételten köszönöm Dr. Tóth Juditnak a bírálatot és kérdéseket. Kérem fenti válaszaim szíves elfogadását, és az MTA doktora cím odaítélésének támogatását!

Budapest, 2023. December 5.

Dr. Dosztányi Zsuzsanna