



## SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

Biokémiai Tanszék

igazgató

Dr. Csanády László

### MTA Doktori Értekezés Bírálata

**Szerző/Jelölt:** Dr. Gáspári Zoltán, Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionikai Kar

**Disszertáció címe:** Fibrilláris és globuláris fehérjeszerkezeti elemek belső dinamikájának vizsgálata integrált szerkezeti bioinformatikai módszerekkel

A Jelölt doktori disszertációjának hivatkozások nélküli terjedelme 83 oldal (a hivatkozáslista 10 oldal terjedelmű, 178 hivatkozással). A dolgozat külalakra igényesen szerkesztett, a doktori szabályzatban írottak tekintetében is fokozatszerzés céljából megfelelő minőségű munka. A dolgozat gazdagon illusztrált a kísérleti/számítási eredményeket bemutató - tudományos igényességgel elkészített - színes ábrákkal, diagrammokkal és táblázatokkal. A disszertáció szövege tiszta, világos nyelvezetű. Helyesírási hibák a vártnál sűrűbben jelentkeztek, amely egyszerűen elkerülhető lett volna egy helyesírás-ellenőrző program alkalmazásával.

A disszertációban tárgyalt húsz közleményből kettőben a Jelölt társszerző, háromban első szerző, illetve 15 cikkben utolsó szerző. A Jelölt által bemutatott cikkek mind nemzetközi – többnyire igen színvonalas – folyóiratokban jelentek meg angol nyelven. A Jelöltnek a Scopus adatbázisban 66 közleménye van jegyezve ~2300 hivatkozással (h-indexe: 21).

A dolgozat egésze híven tükrözi a Jelölt felkészültségét a művelt tudományterületen. A Jelölt az Irodalmi Áttekintés és a Célkitűzések után az Alkalmazott Módszerek fejezetben leírta a vizsgálati módszerek legfontosabb elméleti megfontolásait, gyakorlati aspektusait és a kísérlettervezés egyes elemeit is. A disszertáció a Jelölt munkáját mutatja be a fehérje-bioinformatika, ill. szerkezeti biológia tudományterületeken. Az elvégzett kutatómunka a magányos  $\alpha$ -helikális régiókat, funkcionálisan rendezetlen és fibrilláris fehérjeszakaszokat, *de novo* fehérjeszekvenciákat, ill. a sokaság-alapú szerkezeti modellek alkalmazását/alkalmazhatóságát volt hivatott vizsgálni.

A magányos  $\alpha$ -helikális (SAH) fehérjerégiók tekintetében detektálásra alkalmas algoritmusokat fejlesztett (FT\_CHARGE módszer, ill. annak továbbfejlesztése). Értekezett a módszer gyakorlati alkalmazásával, a SAH régióknak a paraspeckle sejtmagi képlet felépítésében betöltött szerepével, ill. általánosan ezen régiók fehérjékben való előfordulásával kapcsolatban. Eredményeket mutatott be szintén a nagy töltéssűrűségű motívumok fehérje-fázisszeparációban betöltött potenciális szerepéről. A funkcionálisan rendezetlen, ill. fibrilláris fehérjeszakaszok vizsgálata tekintetében elemezte a predikciós eljárásokat és javaslatokat tett azok megfelelő alkalmazására. Szintén vizsgálta ún. *de novo* fehérjeszekvenciák szerkezeti preferenciáit. Dinamikus fehérjeszerkezeti sokaságok alkalmazására szintén módszereket fejlesztett (MUMO implementálás GROMACS-ba, DIPEND eljárás, CoNSEnsX webszerver). Ezen módszereinek alkalmazhatóságát be is mutatta később szerin-proteáz inhibitorok, parvulin-típusú peptidil-prolil cisz-transz izomerázok, a humán epesav-kötő fehérje, PSD95 fehérjedomének, ill. a miozin VI SAH-régió vizsgálatán keresztül.

A Jelölt új tudományos eredményeinek a következőket fogadom el:

1. Algoritmust készített a SAH régiók detektálására és alkalmazta azt proteomokban történő keresésekben. Megállapította, hogy a motívum RNS-kötő fehérjékben gyakran előfordul. Megmutatta, hogy a SAH és a szabályos töltésmintázatot mutató régiók gyakoribbak a fázisszeparációra hajlamos fehérjékben. Elkészítette a paraspeckle felépítésében résztvevő RNS-kötő fehérjekomplex szerkezeti modelljét.
2. Vizsgálta a fibrilláris motívumok és a funkcionálisan rendezetlen fehérjeszakaszok előrejelzésének módszereit. Megállapította, hogy a rendezetlen régiók könnyebb felismeréséhez figyelembe érdemes venni a fibrilláris szakaszokra optimalizált módszerek eredményeit is.
3. Konszenzus predikciók segítségével kimutatta, hogy az újonnan keletkező ún. *de novo* fehérjék esetében a rendezett, ill. rendezetlen régiók várható aránya erősen függ a kódoló nukleinsavszakasz GC-tartalmától. Hasonló eljárással korábbi evolúciós korokra javasolt genetikai kódtáblázatokat elemezve megállapította, hogy azok valószínűleg nem voltak alkalmasak globuláris fehérjék kódolására.
4. A Gromacs programba beépítette a MUMO eljárást. A módszer egy továbbfejlesztett változatát is elkészítette. Funkcionálisan rendezetlen fehérjeszakaszok sokaságainak modellezéséhez készített egy felhasználóbarát, nyílt forráskódú eljárást (Dipend algoritmus).

5. Létrehozott egy webszerveret (CoNSEnsX+), amely NMR adatokat vet össze szerkezeti sokaságokkal.
6. Megvizsgálta válogatott fehérjedomének dinamikus szerkezeti sokaságait és a megfelelő funkciókhoz kapcsolható belső mozgásokat. Javaslatot tett a kanonikus szerin-proteáz-inhibitorok klasszikus kulcs-zár elmélet szerinti működésének és a kötőhurok dinamikus viselkedésének az összehangolására. Egységes modellt állított fel a parvulin-típusú peptidil-prolil-izomerázok működési és szabályozási mechanizmusaira. A gasztrotropin fehérje ligandumkötési mechanizmusa kapcsán a portál-hipotézis pontosítását javasolta. Összefüggést talált a PSD-95 PDZ1-2 tandem domének intra- és interdomén dinamikai tulajdonságai között, és jellemezte a PDZ domének általános szerkezeti-dinamikai változatosságát. Sokaság-alapú modellt készített a miozin VI SAH-domén dinamikájának leírására.

A Jelölt általánosságban véve racionális konklúziókat vont le eredményeiből. A Jelölt által kifejlesztett módszerek és az azokon keresztül máris elért kutatási eredmények hozzájárulnak a bioinformatika, ill. a szerkezeti biológia eszköztárának gazdagodásához és a vizsgált rendszerek alaposabb megismeréséhez.

### **Kérdések**

1. A Módszerek fejezetben írtakkal kapcsolatban (3.5.1.): Nem használnak szuperszámítógép kapacitást a számításaikhoz? A GROMACS nem párhuzamosítható azokra a számításokra amiket használnak? A 3.5.1. fejezetben írottak nem voltak teljesen világosak ebből a szempontból a Bírálónak.
2. A Jelölt által fejlesztett ill. alkalmazott predikciós/bioinformatikai módszerek figyelembe veszik – és ha igen, milyen módon – a 21. aminosavat (Sec), ill. a (fajspecifikus) poszttranszlációs módosulási mintázatokat?
3. Kérem foglalja össze röviden és összehasonlításban milyen fehérjedinamikai információk, milyen időskálán nyerhetőek a három fő szerkezetmeghatározási módszerrel (röntgenkristallográfia, NMR, krio-EM). Vegye számba a különböző módszerek célirányos esetleges speciális alkalmazásait és a legmodernebb megközelítéseket. Létezik-e esetleg a CD spektropolarimetriában is olyan alkalmazás amelyből belső dinamikai információ nyerhető?

4. A Jelölt munkájából is látszik, hogy egyre jobban előtérbe kerül a fehérjedinamikai információk felhasználása az enzimechanizmusok atomi szintű feltárása során. Milyen dinamikai információkat lehet (és hogyan) általános értelemben integrálni a mechanisztikus elemzések során, ill. ismer-e még – a saját bemutatott példáin felül – esetleg olyan reprezentatív példákat, ahol dinamikai információkon keresztül sikerült tisztázni/pontosítani egy enzimechanizmust?
5. Hogyan épülnek/épülhetnek be a fehérjedinamikai paraméterek egy komplex enzimkinetikai mechanizmus részlépéseire jellemző kinetikai állandókba? Kifejthető a kinetikai paraméterekből a kvantitatív fehérjedinamikai hozzájárulás?
6. Van-e arra példa az irodalomban, hogy a statikus szerkezeti perturbáció felett lokális (vagy kiterjedtebb) belső dinamikai változásokkal (is) lehetett magyarázni egy patológiás fehérje-forma (pl. patogén mutáns) diszfunkcióját?
7. Hogyan lehet fehérjedinamikai információkat integrálni a szerkezet-alapú gyógyszertervezési protokollokba, ismer-e esetleg jó példákat?

A Jelölt MTA doktori dolgozatában bemutatott munka jelentős mértékben járult hozzá a vonatkozó tudományterület fejlődéséhez. A Bíráló a disszertációt és a tudományos teljesítményt/munkásságot magas - az MTA doktori fokozathoz elvárt - színvonalúnak ítéli meg. Ezek alapján a nyilvános vita kitűzését, ill. sikeres védelem esetén a cím odaítélését javasolja.

Dr. Ambrus Attila  
*egyetemi tanár*

Budapest, 2024. szeptember 30.