

## Válaszok Dr Sümegi Balázs bírálatára:

Köszönöm Sümegi Balázs érdeklődését doktori pályázatomban bemutatott munka iránt, a bírálatban feltett kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

*1) A rendkívül érdekes munkáik alapján gondoltak-e arra, hogy előállítsanak peptid, vagy nem peptid inhibitorokat, a fenti interakciók in vivo (sejtkultúrás) gátlására?*

Peptid alapú, sejtpenetráló címkét is tartalmazó reagensekkel mi is foglalkoztunk. Ezek a peptid alapú reagensek valóban működhetnek, mint biológiai eszközök fehérje-fehérje kölcsönhatások specifikus gátlására, de alkalmazásuk sok olyan technikai problémát vet fel, ami miatt az utóbbi időben a kis molekulás hatóanyagok fejlesztésének az irányába is elmozdult az érdeklődésünk.

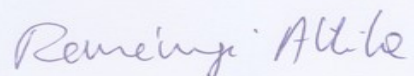
*2) Az irodalomban találtam néhány cikket, melyek azt állítják, hogy egy peptid gátol fehérje-fehérje interakciót az adott kináz útvonalon, PLoS one. 2015 Apr 9;10(4):e0119204, PLoS one. 2015 Jun 25;10(6):e0130477 és, hogy ennek lehetnek fontos következményei. Ugyanakkor a változások, és ön maga a technikák nem voltak túl meggyőzőek.*

Peptid alapú reagensek használata sejten belüli folyamatok gátlására véleményem szerint csak nagyon limitált alkalmazást tesz lehetővé. A probléma a következő: 1) egy peptid alapú stratégián keresztül a specificitás adott illetve könnyebben elérhető, de az ilyen reagensek sejten belüli eloszlása és az effektor molekulákhoz való eljuttatása szolgáltatja a technikai nehézséget, 2) kis molekulás reagensek esetén az utóbbi kisebb kihívás, de ebben az esetben viszont a jelátviteli kölcsönhatásokra általában jellemző sekély kötőfelszínnek megfelelő affinitású és specifikus célzása adja a biokémiai kihívást.

*3) Enzim-enzim interakciók fontosak lehetnek különböző kináz kaszkádok szabályozásában, illetve elágazási pontok esetén az adott interakció gátlása/aktiválása határozhatja meg a folyamatok irányát. Amit az irodalomban láttam az ilyen folyamatok in vivo követésére, illetve ezek meglétének vagy gátlásának az in vivo mérésére azok nem voltak túlságosan meggyőzőek. Gondolkoztak-e esetlegesen új mérési technikák kifejlesztésén?*

Igen, fehérje-fehérje kölcsönhatások élő sejteken belüli monitorozására alkalmas esszék közül sokat kipróbáltunk már (pl. FRET, BRET, illetve fragmens komplementáción alapuló módszerek: YFP és luciferáz). Korábbi tapasztalatainkra építve és sok egyéb szempontot figyelembe véve mi a luciferáz komplementáción alapuló esszék irányába fejlesztünk. Reményeink szerint ezek az esszék alkalmasak lesznek majd nagyáteresztőképességű szűrővizsgálatokhoz is, melyeket olyan kis molekulák azonosítására tervezünk, amik a munkánkban vizsgált, szerkezetileg is karakterizált kötőfelszínhez kötődve a jelátviteli szempontból aktív komplexek szétkapcsolására lesznek

bevezethetőek majd hosszabb távon.

A handwritten signature in blue ink that reads "Reményi Attila". The signature is written in a cursive style and is placed on a light blue rectangular background.

Reményi Attila  
MTA TTK, Enzimológiai Intézet  
tudományos főmunkatárs

Budapest, 2017.03.06