

## Opponensi Vélemény

### **Dr. Reményi Attila „Fehérje alapú jelátviteli komplexek: szerkezet, funkció és evolúció” című MTA Doktori értekezéséről.**

Dr. Reményi Attila MTA doktori értekezése a MAP-kinázok által közvetített jelátviteli pálya hálózatba szerveződését, annak biokémiai, szerkezeti és funkcionális analizisét mutatja be. A mű élvezetesen írja le miként jöhetnek létre funkcionális jelátviteli komplexek a MAPK-ok és partnerfehérjéi közötti rövid lineáris dokkoló motívumok segítségével, illetve hogyan szerveződhetnek a jelpálya egyes tagjai komplex jelátviteli rendszerekké. A MAPK jelpálya kiemelkedően fontos kutatási terület mind a sejtek normális, mind kóros élettani sajátságai szempontjából, így a témaválasztás is kiváló. Ugyanis nem egy a MAPK jelpályában bekövetkező hiba, mutáció hozható összefüggésbe gyulladással vagy tumoros megbetegedésekkel, melyek általában a sejtek abnormális viselkedésével; az apoptózis hiányával, túlzott sejtosztódással/növekedéssel járnak.

A dolgozat mintegy tízéves kutatómunka eredményeit mutatja be 16 közlemény alapján. A munka első szakaszában (1-7 közlemények) a jelölt azon eredményeit írja le, amelyeket posztdoktorként a Kaliforniai Egyetemen végzett és amelyekből kiváló színvonalú közlemények születtek (Cell, Molecular Cell, Science). Megjegyzendő hogy ezekben a cikkekben dr. Reményi Attila több esetben kiemelt szerző. Fontos szempont, hogy dr. Reményi Attila hazatérte után előbb az ELTE Biokémia Tanszékén majd az MTA Természettudományi Kutatóközpont Enzimológia Intézetében hasonlóan magas színvonalon folytatta kutatásait; 2007-ben Wellcome Trust, majd hazai MTA Lendület támogatást nyert és ezek segítségével létrehozta önálló kutatóműhelyét. Kutatásai színvonalát híven tükrözi, hogy a disszertáció alapjául szolgáló közlemények átlag impakt faktora 13! Ezen túl is a jelölt tudományos paraméterei minden szempontból messze meghaladják az MTA doktori fokozat megszerzéséhez szükséges határokat (összesített impakt faktor: 350,8; független idézettség: 1424; Hircsh index: 16).

Rátérve magára az értekezésre, az írásmű 86 oldalból áll, világosan tagolt, lényegretörő, kifejezetten élvezetes olvasmány. A bevezető tömören összefoglalja a sejtjelátviteli pályák összeszerelődését. Szemléletes ábrák teszik érthetővé a MAPK jelpálya sokszor bonyolultnak tűnő összefüggéseit és rávilágítanak a regulációs hálózatokban az egyes fehérjekomponensek közötti lehetséges kapcsolatokra. Összehasonlítja a humán és élesztő MAPK jelpályákat és bemutatja a jelátviteli hálózatok evolúciójáról azokat az eredményeket, amelyek előzményként szolgáltak saját kutatásaihoz. A Célkitűzésekben röviden, célratorően fogalmazza meg azokat a kérdéseket, amelyekre aztán az eredmények fejezetben valóban választ kapunk.

Kifejezetten tetszett a metodikai rész, mert nem csak összefoglalása az alkalmazott módszereknek, hanem hasznos olvasmány, ahol az egyes módszerek buktatóival is megismerkedhet az olvasó. Továbbá képet kaphatunk arról a komplex, tudatosan összeállított megközelítési módszerről – fehérje szerkezet, biokémia, bioinformatika és a szerkezeti ismeretek tesztelése élő sejtekben - amelyet dr. Reményi Attila mindvégig alkalmazott, és amely követendő példája lehet hasonló típusú kutatásoknak.

Az Eredmények c. fejezet két részre tagolódik. Az első részben az élesztő szolgáló modell rendszerként, majd az ott szerzett tapasztalatokat hasznosítva emlős, elsősorban humán rendszerek kerülnek a kutatás fókuszpontjába. A komplex biokémiai rendszereket szemléletes ábrákkal teszi a jelölt emészhetővé és vezet végig azokon a kísérleteken, amelyek

meggyőzően alátámasztják a levont következtetéseket. Ezt követően a Diskusszió fejezet érdekes fordulattal kezdődik, ahol a jelölt egy „negatív” eredménnyel zárult kísérlet sorozatot mutat be; munkatársaival kimutatta, hogy a Ste5 élesztő vázfehérjével ellentétben a JIP1 humán vázfehérjének nincs hatása a MAPK aktivációra in vitro rekonstrukciós rendszerekben. Dr. Reményi Attila rámutat, hogy sajnos ilyen és ehhez hasonló negatív eredményeket nehéz közölni, amivel teljes mértékben egyetértve hozzáteszem, hogy az ilyen jellegű kísérletek közzététele sok fölösleges munkától mentené meg az amúgy is forráshiányos kutatókat. A fejezet további részében a jelölt értelmezi és rendszerbe foglalja eredményeit, és összeveti azokat az irodalmi adatokkal és saját legfrissebb kutatásaival. Különösen tetszett a dokkoló kölcsönhatások szerkezeti evolúció biológiáját leíró rész, amelyben kérdés/felelet formában logikusan vezet végig egy jelátviteli rendszer lehetséges evolúciós fejlődésén.

Legvégül az Eredmények összefoglalása c. fejezetben a jelölt tömören felsorolja új eredményeit, amelyeket az alábbiakban próbáltam összegezni:

1. Az élesztő Ste5 vázfehérje aktív módon vesz részt a MAPK által közvetített jelátvitelben.
2. A MAPK specificitását nem a foszforilációs hely konszenzus szekvenciája, hanem egy ettől független kb 10-15 aminosavból álló lineáris dokkoló motívum határozza meg, amely általában a fehérjék rendezetlen régióiban található.
3. A MAPK-kötő motívumok kölcsönhatásainak szerkezeti, biokémiai analízise lehetővé teszi hasonló profilú szintetikus peptidok tervezését.
4. A változatos genetikai mechanizmusok által létrejövő MAPK-kötő fehérje motívumok szolgálhatnak alapul a fiziológiai jelpálya specifikus, evolúciós szempontból dinamikus szabályozásának.
5. A lineáris motívumok „passzív” módon, míg egyéb rendszerszintű mechanizmusok (ubikvitináció, modulátor fehérjék) „aktívan” képesek befolyásolni magasabbrendű jelátviteli komplexek összeszerelődését.
6. A fehérje-peptid típusú dokkolás az élesztő Cbk1 kináz alapú jelátviteli pályákban az enzim-szubsztrát kapcsolatokat robusztusságát növeli.

Az eredmények, az abból levont következtetések és megbeszélésük teljes mértékben meggyőzőek. A disszertáció háttéréül szolgáló közlemények magas impakttal rendelkező nemzetközi folyóiratokban jelentek meg, így az itt bemutatott eredmények szigorú bírálaton estek át és megfeleltek egy átlagon felüli mérce elvárásainak. Ezért inkább csak a dolgozat olvasása közben felmerült kérdéseimre, észrevételeimre kérem a jelölt választát, véleményét:

Kérdések:

1. A MAPK alapú fehérje-fehérje komplexek tanulmányozása során azt tapasztalták, hogy az ERK2 MAPK dokkoló árkát egy másik ERK2 molekulából származó hidrofób aminosav töltötte ki. Nem képzelhető-e el, hogy ennek a szimmetriekvivalens ún. „káros” parkolódásnak fiziológiás jelentősége is van? Elképzelhető-e pl. dimerizáció ami akár hatással lehet az ERK aktivációra vagy más fehérjékkel való kölcsönhatások kialakulására?
2. Az egyensúlyi állandók alapján a MAPK komplexekben a fehérjék gyenge kölcsönhatásban vannak egymással, kivéve az Mkk5-ERK5 komplexet, amely az egyensúlyi konstansok alapján sokkal stabilabbnak tűnik. A jelpálya hatásossága érdekében lehet-e ezt úgy

elképzeln, hogy egy gyors és specifikus szubsztrát felismerést, gyors disszociáció követ?  
Vannak-e olyan vizsgálatok, amelyek a kötődés illetve disszociáció kinetikáját mérik, illetve terveznek-e ilyeneket? Érdekes kérdés lehet, hogyan befolyásolja illetve befolyásolja-e a szubsztrát foszforiláltsági állapota az egyes kinetikai paramétereket?

3. A jelátviteli pálya dinamizmusát a foszforilációs és defoszforilációs folyamatok együttesen határozzák meg. Vannak-e elképzelések arra vonatkozólag, hogy a MAPK felismerő helyekhez képest hol és mikor kapcsolódnak be a deaktiváló MAPK foszfatázok? Ismertek-e MAPK/MKP (kináz/foszfatáz) dokkoló kölcsönhatások, vannak-e erre vonatkozó szerkezeti adatok?

4. A jelölt a Diskusszió fejezet végén említi, hogy patológiás esetekben a fehérje-fehérje kölcsönhatásokon keresztül a MAPK rendszer összeszerelődésének befolyásolása alternatív terápiás lehetőségeket kínál. Tekintve, hogy a jelenleg alkalmazott kináz aktivitást célzó terápiás szerek esetében, az esetek döntő többségében rezisztencia alakul ki és az immunterápiának is komoly korlátai vannak, valóban érdemes lenne ez irányban tovább gondolkodni. Kérdésem, vannak-e jelenleg ilyen jellegű erőfeszítések?

Összefoglalásképp, dr. Reményi Attila értekezése egy már eddig is sikeres kutatói pálya összegzése. A disszertáció alapján megállapítom, hogy a jelölt az MTA doktori cím megszerzésének feltételeit messze meghaladó módon teljesítette. A disszertáció nyilvános vitára történő kitűzését és a sikeres védést követően az MTA doktori cím odaítélését feltétlen támogatom.

Budapest, 2017. Január 31.



Dr. Enyedi Ágnes  
az MTA doktora