

RETROVÍRUS-SZERŰ FEHÉRJÉK AZ EMBERI SZERVEZETBEN

Mótyán János András, Tózsér József
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

Összefoglalás

Az emberi szervezetben számos olyan fehérje expresszálódik endogén módon, melyek egyes doménjei nagyfokú hasonlóságot mutatnak olyan retrovírusok fehérjéivel, mint pl. a humán immundeficiencia vírus (HIV). Az emlősök evolúciója során számos ilyen retro-eredetű gén domesztikálódott, a retrovírus-szerű fehérjék doménjei pedig nem csak a szerkezeti, hanem a működési sajátosságait tekintve is hasonlítanak a retrovírus és retrotranszpozon fehérjékhez. Egyes emberi fehérjék doménjei homológok a retrovírus részecskék kialakításához nélkülözhetetlen gag szerkezeti fehérjékkel (pl. mátrix, kapszid) vagy az enzimatis aktivitással rendelkező nem-szerkezeti fehérjékkel (pl. proteáz). Az eukarióta szervezetek retrovírus-szerű fehérjéit az elmúlt évtized felfedezései nyomán kezdtük el igazán megismerni, a retrovírus fehérjékkel való szerkezeti és működési homológia meghatározása, továbbá az általános hasonlóságok és különbségek feltérképezése révén. Emellett számos kutatás irányult (pato)fiziológiás jelentőségük meghatározására, de géntranszfer rendszerekben történő alkalmazásuk lehetőségét is vizsgálták. Ezen összefoglaló közlemény célja retrovírus-szerű fehérjék és az őket érintő legújabb felfedezések és a jövőbeli kihívások bemutatása néhány példán keresztül.

Retrovírus fehérjék

A szerzett immunhiányos tünetegyüttes (AIDS) kialakulásáért felelős humán immundeficiencia vírusok (HIV-1 és HIV-2) a retrovírusok legismertebb képviselői. Az UNAIDS világszervezet adatai alapján 2022-ben világszerte körülbelül 39 millió HIV fertőzöttet tartottak nyilván. A HIV vírus 1980-as években történő azonosítását követően intenzív vizsgálatok kezdődtek a vírus megismerése és hatékony terápiás lehetőségek azonosítása érdekében. Ennek köszönhetően a HIV mára az egyik legrészletesebben ismert (retro)vírussá vált, a megszerzett ismeretek pedig hatékonyan alkalmazhatóak a retrovírusokéval homológ celluláris fehérjék vizsgálatában.

A retrovírusok nagy és igen változatos családjába közepes méretű burkos

vírusok tartoznak, melyek számos különböző emlőst képesek megfertőzni, köztük a főemlősöket és az embert is. A víruscsalád ismertetőjele az a replikációs stratégia, amelynek alapvető lépése a virális RNS DNS-sé történő átírása (reverz transzkripció), majd ennek a sejt genomjába történő „beillesztése” (integráció). Az integrálódott provirális DNS-ről folyamatosan keletkezhetnek új vírusok [1].

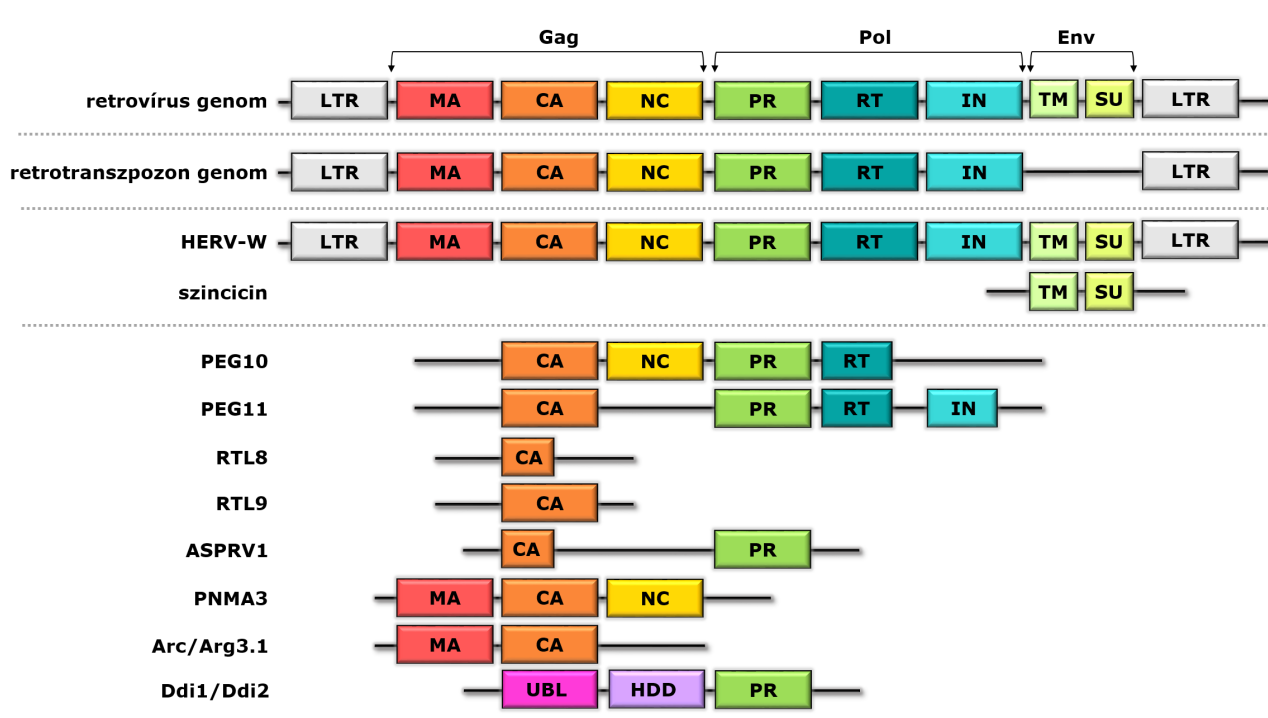
A retrovírusok két, pozitív egyszálú RNS-ből álló genommal rendelkeznek, a kanonikus genom hosszú, több konzervált doménból álló poliproteinek kódot (1. ábra). A *gag* génszakasz (csoportspecifikus antigén, *group-specific antigen*) kódolja a fő szerkezeti fehérjéket: a mátrix (MA), a kapszid (CA) és a nukleokapszid (NC) fehérjéket. Ezek felelősek a membránnal való kapcsolatok kialakításáért, a kapszidburok képzéséért, valamint a virális RNS genom kötéséért. A *pol* génszakasz kódolja a virális enzimeket, így a proteázt (PR), a reverz transzkriptázt (RT), valamint az integrázt (IN). A proteáz felel a poliprotein funkcionális egységekké történő hasításáért (limitált proteolízis), a RT a virális genomi RNS-t írja át DNS-é, melyet az IN illeszt be a gazdasejt genomjába. Az *env* génszakasz az extracelluláris vírusrészecskék kialakításához szükséges felszíni glikoprotein (SU) és transzmembrán fehérje (TM) genetikai információit hordozza [1]. A virális genom ilyen módon történő felépítése az ún. egyszerű retrovírusokra jellemző, azonban a fentebb felsorolt fehérjéken túl az összetett retrovírusok (pl. HIV) genomja további kiegészítő és szabályozó fehérjéket is kódolhat (pl. Tat, Rev), melyeknek szerepe van a génexpresszió szabályozásában, a gazdasejtben való túlélésben, valamint hozzájárulnak a megfelelő fertőzőképesség kialakításához.

Retrotranszpozonok és retrovírus-szerű fehérjék

Az emberi szervezet körülbelül 40%-a változatos, retrovírus- vagy retrotranszpozon-eredetű szekvenciákat tartalmaz, melynek jelentős részére „szemétként” (*junk DNA*) tekintettek. Későbbi vizsgálatok eredménye alapján azonban kiderült, hogy az evolúció során az emlősök által házasított retro-eredetű gének egy része olyan fehérjéket kódol, melyek a retrovirális és retrotranszpozon *gag* szerkezeti fehérjék vagy enzimek homológjainak tekinthetők és működőképességüket részben vagy egészben megőrizték [2, 3].

Az ún. retroelemek csoportjába igen változatos molekuláris entitások tartoznak, melyek minden eukarióta genomjában megtalálhatóak [1]. A sejtek közötti mozgásra képes (exogén) retrovírusokkal ellentétben a hosszú terminális

ismétlődést (*long terminal repeat, LTR*) tartalmazó, mozgékony genetikai elemeknek tekintett ún. LTR-retrotranszpozonok csak sejten belüli mozgásra képesek. Az ún. retrotranszpozíció replikatív módon történik, azaz a folyamat során az eredeti retrotranszpozonról másolat készül. A folyamathoz szükséges fehérjéket a retrotranszpozon genom kódolja, azonban hiányzik belőle a burokfehérjéket kódoló génszakasz (*env*), így az LTR-retrotranszpozonok csak a másolatuknak a genom más pozícióiba történő illesztésére képesek, a sejteket elhagyó extracelluláris részecskéket nem képesek kialakítani. Ezzel szemben a szintén a retroelemek csoportjába tartozó endogén retrovírusok (ERV) tartalmazzák a burokfehérjéket kódoló *env* génszakaszt is (1. ábra).



1. ábra. Néhány retrovírus-szerű humán fehérje domén-felépítésének összehasonlítása a retrovírusokéval, retrotranszpozonokéval és endogén retrovírusokéval. MA: mátrix, CA: kapszid, NC: nukleokapszid, PR: proteáz, RT: reverz transzkriptáz, IN: integráz, SU: felszíni glikoprotein, TM: transzmembrán fehérje, LTR: hosszú terminális ismétlődés, UBL: ubikvitin-szerű, HDD: helikális domén. Az ábra részben irodalmi adatok [7, 8] és részben saját elemzések eredménye alapján készült.

Az emberi szervezetben ilyen pl. a HERV-W endogén retrovírus, melynek *env* génjétől származik a placenta kialakulásához nélkülözhetetlen szincicin (*syncytin*, vagy másnéven ERVWE1) fehérje. Az endogén retrovírusok az emberi evolúció korai szakaszában bekövetkezett exogén retrovírus általi fertőzés „lábnyomainak” tekinthetőek. Bár felépítésük alapvetően hasonló a retrotranszpozonokéhoz és retrovírusokéhoz, az evolúció során felhalmozott mutációk következtében elvesztették képességüket „fertőzőképes” vírus-részecskék kialakítására, öröklődésük alapvetően vertikális, míg az exogén

retrovírusokra a horizontális terjedés jellemző [4-6]. A szincicin és más ERV fehérjék tárgyalása meghaladja ezen összefoglaló közlemény kereteit.

Genetikai vizsgálatok az emberi genomban 48, míg az egér genomban 102 gag-eredetű gént azonosítottak. Ezek közül 19 esetében egyértelmű ortológ kapcsolat áll fenn az emberi és az egér gének között, míg a többi gén sokkal inkább faj-specifikusként volt jellemezhető. A gének elemzése alapján a legtöbb eddig vizsgált ilyen, gag-szerű fehérjét kódoló gén az LTR-retrotranszpozonok Ty3/Gypsy családjából származtatható [7, 8]. A legfontosabb humán retrovírus-szerű fehérjék közé sorolhatóak az apai allélról expresszáldó gén (*paternally expressed gene*, PEG) fehérjék (pl. PEG3, PEG10 és PEG11), a paraneoplasztikus Ma antigén (PNMA) család tagjai (pl. PNMA1-8), a retrotranszpozon gag-szerű fehérjék (*retrotransposon Gag-like protein*, RTL), az aktivitás-szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (Arc/Arg3.1), valamint a retrovírus-szerű aszpartil proteáz 1 (ASPRV1) (1. ábra).

Az emberi fehérjék egy vagy több retrovírus-szerű domént is tartalmazhatnak. Például az Arc/Arg3.1 fehérje MA- és CA-szerű doméneket tartalmaz, míg a PNMA családba tartozó PNMA3 fehérjében emellett egy nukleinsav kötésére képes NC-szerű domén is jelen van. Egyes fehérjék csak a CA-szerű domént tartalmazzák részben (pl. RTL8) vagy egészben (pl. RTL9). A leghosszabb fehérjék a PEG10 és a PEG11, melyek a CA- és a PR-szerű domén mellett a (szekvencia egy részének elvesztése miatt funkcióképtelen) RT-szerű domént is tartalmaznak, de a PEG10-ben ezen felül még egy NC-szerű domén is található (1. ábra). A DNS károsodás-indukálta fehérjék (*DNA damage-inducible protein*, Ddi1 és Ddi2) ugyan nem tartalmaznak a szerkezeti gag fehérjékkel homológ domén(ek)e)t, de fontos tagjai a retrovírus-szerű fehérjék családjának, mert az ubikvitin kötésére képes ubikvitin-szerű (UBL) doménjük mellett proteolitikusan aktív enzimátikus domént is tartalmaznak [9]. Hasonló PR-szerű domént a Ddi1 és Ddi2 fehérjéken kívül kevés humán fehérje tartalmaz, így az ASPRV1, a PEG10 és a PEG11 (1. ábra). A retrovírus-szerű fehérjék doménfelépítése tehát meglehetősen változatos, aminek köszönhetően az emberi szervezetben általuk betöltött funkciók is igen sokfélék lehetnek. Az alábbiakban a retrovírus-szerű domének közül a proteáz- és kapszid-szerű domének sajátosságait mutatjuk be részletesebben.

Retrovírus-szerű proteázok

A retrovírusok proteáza homodimerként aktív aszpartil proteáz (2.A ábra),

melyhez hasonló endogén aszpartil proteázok az emberi szervezetben is megtalálhatóak. Ezek egy része (pl. pepszin) két-lebenyű szerkezeti felépítéssel rendelkezik, mely az evolúció során génduplikáció eredményeképpen jöhetett létre. Más fehérjék esetében viszont a genom csak egyetlen katalitikus domént kódol, mely a retrovírusokra jellemző módon képes homodimer kialakítására (ASPRV1, PEG10, PEG11, Ddi1 és Ddi2) (2.B ábra).

A Ddi1 és Ddi2 fehérjék voltak az elsők (és a mai napig az egyetlenek), melyek retrovírus-szerű proteáz doménjének szerkezetét röntgen-krisztallográfiával meghatározták (1. táblázat), jelentősen hozzájárulva a retrovírus-szerű fehérjék megismeréséhez. Ezek a szerkezeti információk biztosítottak lehetőséget kutatócsoportunk, a Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium számára arra, hogy homológ modellezéssel becsüljük meg a PEG10 [10], az ASPRV1 [11], valamint a Ty1 retrotranszpozon [12] PR-szerű doménjének negyedleges szerkezetét.

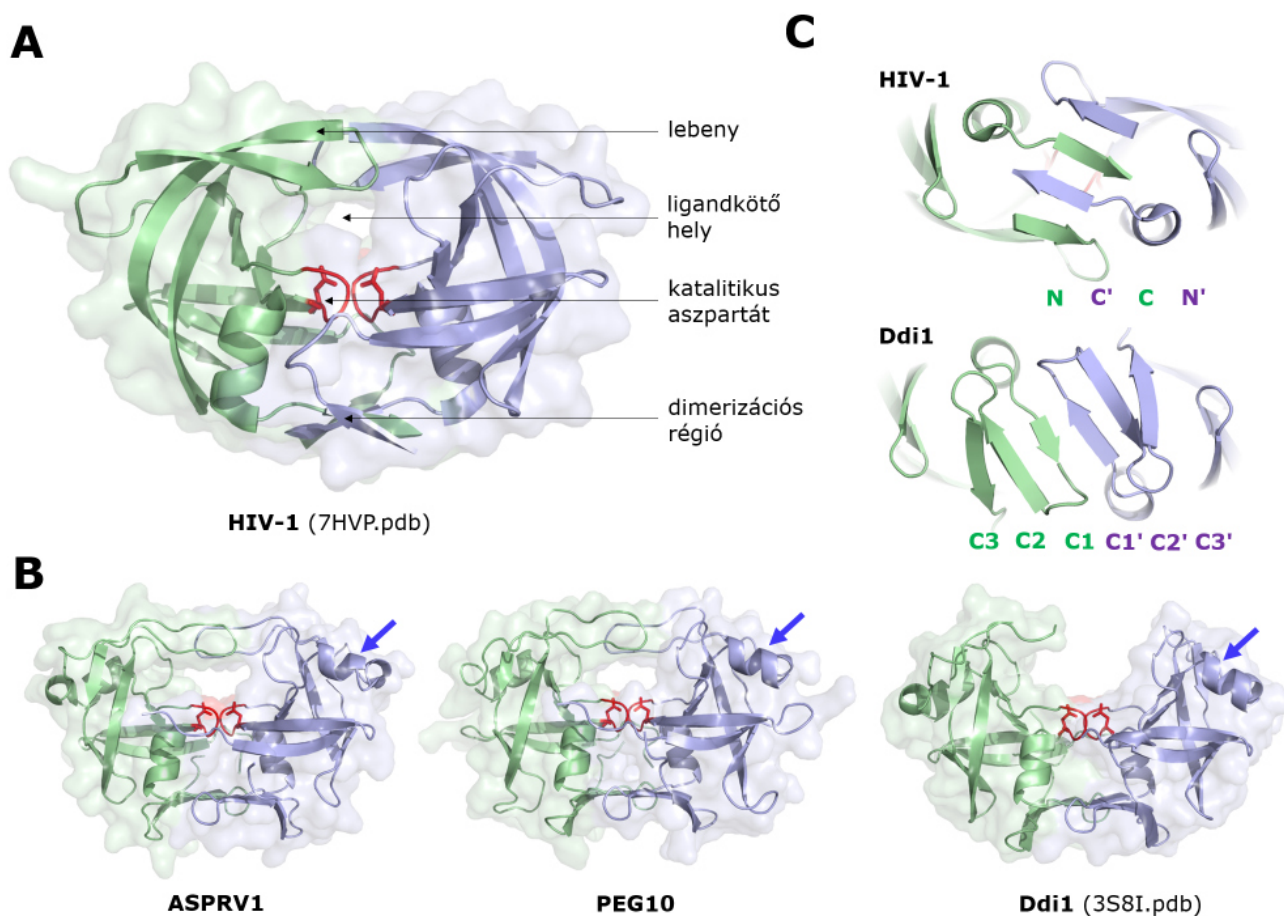
1. táblázat. Humán retrovírus-szerű fehérjék szerkezeti koordinátái az RCSB PDB adatbázisban.

Fehérje	Eredet	Domén	PDB ID	Módszer	Hivatkozás
PEG10	humán	CA-szerű	7LGA	X-ray	[13]
PNMA4 (MOAP1)	humán	CA-szerű	7LGC	X-ray	[13]
Arc/Arg3.1	humán	CA-szerű	6TN7	X-ray	[14]
		CA-szerű	6TNQ	X-ray	[14]
		CA-szerű	6TQ0	X-ray	[14]
		N-terminális coiled-coil	6YTU	X-ray	[15]
		CA-szerű	7R1Z	X-ray	[16]
		CA-szerű	7R23	X-ray	nem elérhető
Ddi1	humán	PR-szerű	3S8I	X-ray	nem elérhető
Ddi2	humán	UBL	2N7D	NMR	[17]
		PR-szerű	4RGH	X-ray	[17]
		HDD	5K57	X-ray	[17]
Ty3	retro-transzpozon	CA-szerű	6R22	EM	[18]
		CA-szerű	6R23	EM	[18]
		ikozahedrális CA	6R24	EM	[18]

A táblázat csak humán fehérjékre vonatkozó adatokat tartalmaz, más ortológ fehérjék adatait nélkülözve és kiegészítve a Ty3 retrotranszpozon fehérje szerkezetekkel. A szerkezetek feloldása különböző kísérletes eljárásokkal történt: röntgenkrisztallográfia (X-ray), elektronmikroszkópia (EM) vagy mágneses magrezonancia (NMR). CA: kapszid, PR: proteáz, UBL: ubikvitin-szerű, HDD: helikális domén.

A retrovirális és a retrovírus-szerű fehérjék proteáz doménjei nagymértékű szerkezeti hasonlóságot mutatnak annak ellenére is, hogy a szekvenciák közti hasonlóság mértéke igen alacsony. Ez megfigyelhető az egymással közeli rokonságot mutató retrovirális proteázok esetében is. Például a HIV-1 és HIV-2

vírus proteázok közti szekvencia-azonosság mértéke is meglehetősen alacsonynak tekinthető (kevesebb mint 50%). A retrovírus és retrovírus-szerű proteázok szekvenciájának és szerkezetének sajátosságai is jó összhangban vannak az evolúciós rokonsági viszonyokkal és jellemző eltérések mutatkoznak pl. a dimerizációs régió felépítésében, valamint a homodimereket stabilizáló kölcsönhatásokban is. A retrovirális és a retrovírus-szerű proteázok általános hasonlóságainak és különbségeinek feltérképezése érdekében kutatócsoportunk átfogó szerkezeti összehasonlító elemzést végzett [19], melynek legfontosabb megfigyeléseit az alábbiakban mutatjuk be.



2. ábra. Retrovírus és retrovírus-szerű proteázok szerkezetének összehasonlítása. A) A HIV-1 PR szerkezete. Az ábrán az egyes monomereket zöld és kék, míg a konszenzus aktív hely motívumot piros színnel jelöltük, a katalitikus aszpartátok pálcika-megjelenítéssel vannak kiemelve. **B)** Az ábra a proteáz domének szerkezetét mutatja az ASPRV1 [11] és PEG10 [10] esetében homológ modell szerkezetek, míg a Ddi1 PR esetében kristályszerkezeti adatok alapján. A kék nyilak a retrovírus-szerű proteázok lebenyéhez közeli α -helikális szakaszt mutatják, mely nincs jelen a HIV-1 PR-ban (és a legtöbb retrovirális PR-ban sem). **C)** A homodimer HIV-1 és Ddi1 PR β -redős szerkezetű dimerizációs régiójának összehasonlítása. Az egyes monomerekhez tartozó N- és C-terminális antiparalell β -szálak (N és N1, valamint C és C') zöld és kék színűek.

A rendelkezésre álló kísérletes információkat is figyelembe véve a dimerizációs régió felépítése hatással van a funkcionális homodimer stabilitására. Míg a legtöbb retrovirális proteáz dimerizációs régióját jellemzően a monomerek

alternáló N- és C-terminális β -redői építik fel, addig a retrovírus-szerű proteázok esetében ez a régió kizárólag C-terminális β -szálakat tartalmaz (2.C ábra). Mivel utóbbiak esetében a β -szálak nem fűződnek egymásba, a monomerek közti kölcsönhatások sűrűsége kisebb, ami alacsonyabb *in vitro* dimer-stabilitást eredményez, pl. a HIV-1 PR-hoz képest.

Jellemző eltérést mutat továbbá a retrovírus proteázok erősen konzervált D-S/T-G-A katalitikus motívuma is. A katalitikus aszpartát mellett elhelyezkedő Ser vagy Thr aminosavnak fontos szerepe van a monomereket összekapcsoló ún. „tűzoltó-fogás” kölcsönhatás kialakításában. A HIV-1 PR esetében végzett kísérletes mutációs vizsgálatok igazolták, hogy a monomerek közti kapcsolat gyengébb, ha a „tűzoltó-fogás” szerint tartalmaz treonin helyett. A retrovirális proteázok túlnyomó többsége Thr-t tartalmaz az aktív hely katalitikus motívumában, míg a retrovírus-szerű proteázok esetében jellemzően Ser van jelen, ami részben magyarázhatja az utóbbiakra jellemző relatíve alacsonyabb dimer-stabilitást.

A Ddi1 és Ddi2 PR esetében figyelték meg először, hogy a homodimer aszpartil proteáz aktív helyét elfedő lebenyeik konformációja alapvetően különbözik a retrovirális proteázokétól [17]. Utóbbiak lebenyei az enzim ligand-kötött állapotában az aktív hely fölé hajolva helyezkednek el, tulajdonképp lefedve azt. Ezzel szemben - az eddig rendelkezésre álló kristályszerkezeti adatok alapján - a retrovírus-szerű proteázok alapvetően eltérő lebeny-konformációt mutatnak, lebenyeik az aktív helyet nem fedik le, így az az enzim felszíne felé nyitottabb állapotban marad (2.A, B ábra). A lebenyek sajátosnak tekinthető konformációja arra utalhat, hogy a szubsztrát-felismerés és -kötés módja némileg különbözhet a retrovirális proteázokétól.

A retrovírus-szerű proteázok esetében megfigyelhető a lebenyek közelében elhelyezkedő α -helikális szakasz jelenléte is (2.B ábra). Ennek a helikális szakasznak a „beékelődése” a lebenyek közeli hurokba nem jellemző a retrovirális proteázokra, a mai napig az egyetlen ismert kivétel a lovak fertőző kevésvérűségét okozó vírus (*equine infectious anemia virus*, EIAV) proteáza [19]. Ennek az α -helikális szakasznak a funkcionális jelentőségét és esetleges szerepét a sajátos lebeny-konformáció kialakításában (és ezáltal közvetve a ligand-felismerésben) napjainkig még nem sikerült felderíteni.

A működési sajátságok esetében is megfigyelhetők általános hasonlóságok és

különbségek. A retrovirális proteázokhoz hasonlóan az eddig részletesen vizsgált retrovírus-szerű enzimek (Ty1 és ASPRV1 PR) sem rendelkeznek konzervált hasítóhely szekvenciával, és nagyfokú preferenciát mutatnak hidrofób P2 aminosavak iránt. pH optimumuk jellemzően magasabb a HIV-1 PR-éhoz képest (semlegeshez közeli), aminek a celluláris működési környezethez való alkalmazkodás lehet az oka.

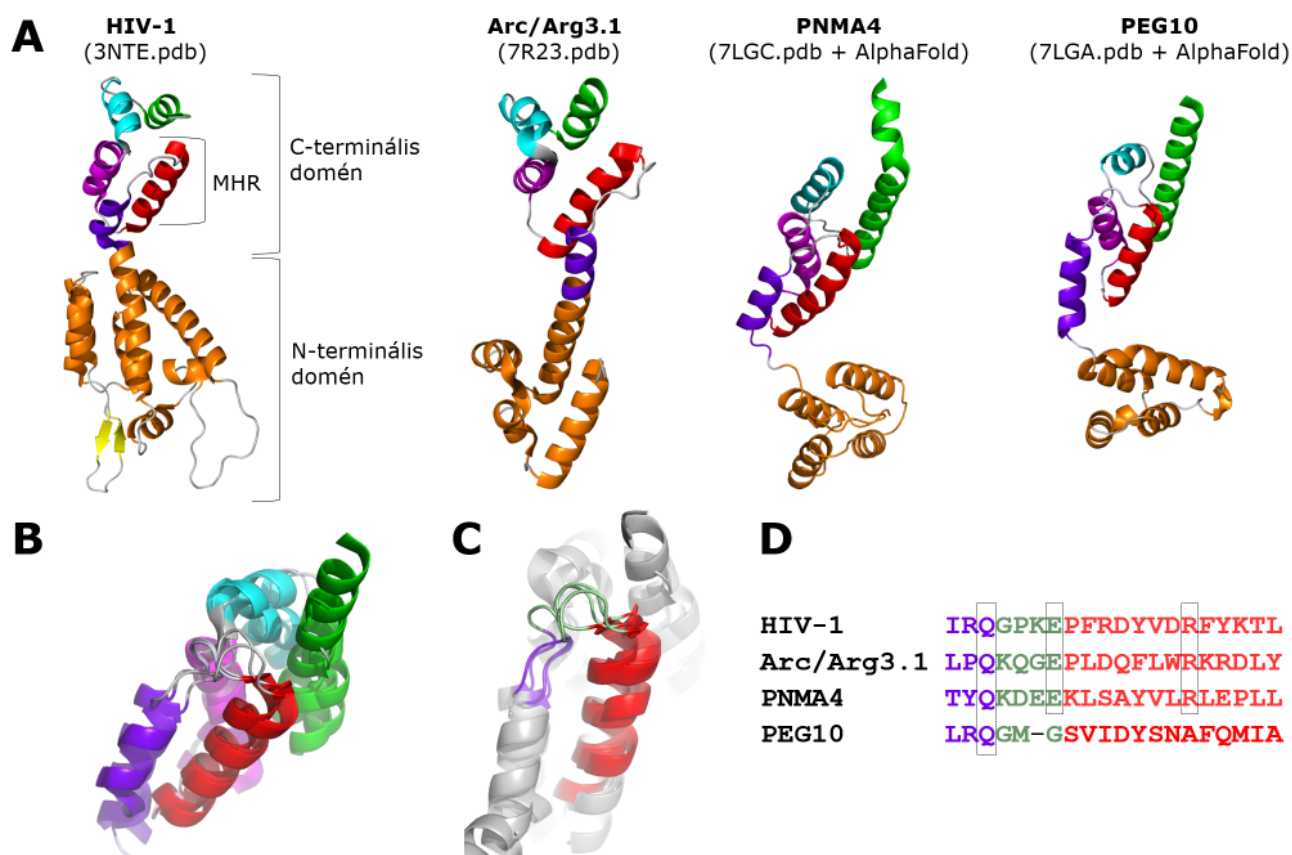
A retrovírus proteázok - mint a HIV-1 PR is - a Gag és Gag-Pro-Pol poliproteineket több helyen is meglehetősen specifikus módon hasítják, ami funkcionális fehérjéket eredményez. A proteolitikus processzálas következtében maga a proteáz is felszabadul a poliproteinből, ami megnöveli az aktivitását (auto-aktiváció). Az eddigi ismereteink alapján az ASPRV1 is azonos módon működik, a 14 kDa méretű proteáz domén a 37 kDa méretű teljes hosszúságú prekursor fehérjéből szabadul fel autoproteolízissel [20]. A HIV PR-hoz hasonlóan a szabad proteáz aktivitása nagyobb, mint a poliprotein részeként működő enzimnek [11]. Érdekes, hogy a Ddi1 [17], a Ddi2 [21] és PEG10 [10] szintén multidomén fehérjék (1. ábra), de az eddigi vizsgálatok eredménye alapján proteáz doménjük a teljes hosszúságú fehérje részeként működik anélkül, hogy az enzim kihasítaná magát a fehérjéből. Érdekes, hogy a PEG10 esetében is történik ugyan autoproteolízis, de ennek a proteolitikus eseménynek a feladata nem a proteáz domén felszabadítása a fehérjéből, így tulajdonképpen nem történik auto-aktiváció [10, 22].

Gag-szerű domének

A 231 aminosavból álló HIV-1 CA fehérje alapvetően helikális szerkezetű, egy N- és egy C-terminális domént tartalmaz, melyeket egy rövid, flexibilis linker szakasz köt össze (3. ábra). A C-terminális domén felelős a dimerizációért, ez tartalmazza a fő homológ régiót is (MHR, *major homology region*) [23]. A MHR egy 20 aminosav hosszúságú régiót foglal magába, mely egy rövid helikális szakaszt is tartalmazó, hidrogén-kötések által stabilizált szerkezeti motívum. Az MHR erősen konzervált a retrovírusok és a Ty3 retrotranszpozon esetében egyaránt, fontos szerepe van a replikációs ciklusban, többek között a gag szerkezetének stabilizálása, valamint a virális és celluláris faktorokkal való kölcsönhatások kialakítása által [24].

A gag-szerű doméneket tartalmazó fehérjék szerkezeti sajátosságait és evolúciós rokonsági kapcsolatait elsősorban a gének vizsgálata alapján kezdték el megismerni [5, 7, 8], de igazán nagy előrelépést az elmúlt évek kísérletes

vizsgálatai jelentettek, melyek először nyújtottak betekintést a CA-szerű domének szerkezetébe (1. táblázat). Az Arc/Arg3.1 volt az első humán fehérje, mely esetében leírták, hogy gag-szerű doménje nagyfokú hasonlóságot mutat a HIV-1 és Ty3 retrotranszpozon CA fehérjékkel [25], majd szerkezeti vizsgálatok további fehérjék, így a PEG10 és PNMA4 (másnéven MOAP1) esetében is igazolták a homológiát [13] (3. ábra). Mára a szerkezet-becslési módszerek fejlődésének köszönhetően (AlphaFold) mindegyik retrovírus-szerű fehérje esetében elérhetőek szerkezeti információk, köztük az RTL család tagjai esetében is (pl. RTL5 és RTL6) [3].



3. ábra. Retrovírus és retrovírus-szerű fehérjék szerkezeti doménjeinek összehasonlítása. **A)** A HIV-1 CA és retrovírus-szerű fehérjék CA-szerű doménjének szerkezete. A C-terminális domének szerkezete kristályszerkezeti adatok, míg a PNMA4 és a PEG10 fehérjék N-terminális doménje modell szerkezetek (AlphaFold) alapján van feltüntetve. A C-terminális domén egymásnak megfelelő α -héliceit azonos színekkel, az N-terminális doméneket egységesen narancssárga színnel jelöltük. **B)** Az ábrán szereplő fehérjék C-terminális doménjeinek illesztése. **C)** Az MHR régiók illeszkedése a C-terminális doménen belül. **D)** Az MHR régiók szekvenciáinak illesztése. Az MHR régió belül a stabilizáló hidrogén-kötések kialakításáért felelős aminosavak be vannak keretezve.

A CA és CA-szerű domének C-terminális lebenye alapvetően öt hélixet tartalmaz, melyek elrendeződése nagymértékben hasonló. A C-terminális hélix hossza egyes gag-szerű doménekben a HIV-1 CA-hoz képest jelentősen hosszabb lehet (3.A ábra, zöld színnel jelölve). Az MHR régió is nagyfokú szerkezeti

hasonlóságot mutat, még a relatíve alacsony ($\leq 30\%$) szekvencia-azonosság ellenére is [13, 18] (3.C, D. ábra). Emlékeztetőül, a szekvenciák közti kismértékű hasonlóság ellenére magas szerkezeti konzerváltság a retrovírus és retrovírus-szerű proteáz doménekre is jellemző [19].

Jelentős retrovírus-szerű fehérjék bemutatása

Az elmúlt két évtizedben jelentősen gyarapodtak ismereteink a retrovírus-szerű fehérjékre vonatkozóan, azonosították a fehérjét kódoló gének eredetét, feltérképezték működési és szerkezeti sajátosságait számos aspektusát, de vizsgálták gyakorlati alkalmazhatóságukat, valamint klinikai és terápiás jelentőségüket is. Az alábbiakban néhány ilyen fehérje kerül bemutatásra, kiemelve az elmúlt évek legfontosabb felfedezéseit, perspektívákat, valamint a jövőben megválaszolandó kérdéseket.

Az aktivitás-szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (Arc/Arg3.1)

Ismert, hogy a gerincesek agyában számos retrotranszpozon- vagy retrovírus-eredetű gén expresszálódik endogén módon, ilyen génről keletkezik az Arc/Arg3.1 fehérje is, mely hasonló a retrovírusok CA-jához [8]. Az Arc fehérjét egy 2006-os bioinformatikai vizsgálat során azonosították, mint annak a 103 humán fehérjének az egyikét, mely homológiát mutat a retrovirális gag fehérjékkel [7]. Az Arc fehérje MA- és CA-szerű doméneket egyaránt tartalmaz. Az N-terminálison elhelyezkedő MA-szerű doménje két hélixből áll (csavart-csavar, azaz *coiled-coil*), így szerkezete alapvetően eltér a globuláris felépítésű HIV-1 MA fehérjétől [26]. Ezzel szemben CA-szerű doménje nagymértékben hasonló a retrovírus CA fehérjéhez, ugyanúgy tartalmazza az N- és C-terminális doméneket (3. ábra). Elsőként az Arc fehérje esetében írták le részletesen, hogy a retrovírusokéhoz hasonló gag-szerű doménje révén képes oligomerizációra és RNS molekulák becsomagolására, valamint a sejteket elhagyni képes vírus-szerű részecskék kialakítására [25]. Ezeket a szakirodalomban vírus-szerű részecskének (*virus-like particle, VLP*), extracelluláris vezikulának (*extracellular vesicle, EV*) vagy kapszid-szerű részecskének (*capsid-like particle, CLP*) egyaránt nevezik. Ebben a közleményben VLP-ként hivatkozunk rájuk.

Az extracelluláris részecskék kialakítására való képesség azonosítása azért is volt érdekes felfedezés a retrotranszpozon-eredetű humán Arc esetében, mert hasonló részecskék kialakítása korábban nem volt ismert az élesztő Ty1 retrotranszpozon esetén [27]. A retrovírusokkal ellentétben a Ty1 nem

rendelkezik a burokfehérjéket kódoló *env* génnel, ezért életciklusa teljes mértékben intracelluláris. Bár a Ty1 genom is kódol MA- és CA-szerű fehérjéket, életciklusa során mégsem hoz létre a sejteket elhagyni képes extracelluláris részecskéket.

Az Arc oligomerizációjában nem kizárólagosan a CA-szerű domén vesz részt, a MA-szerű N-terminális doménnek is kulcsszerepe van az önszerveződésben [26, 28], de szükséges hozzá nukleinsavval való kölcsönhatás kialakítása is. Érdekes, hogy az Arc fehérje annak ellenére képes RNS kötésére, hogy nem tartalmaz DNS-kötő motívumot, azaz hiányzik belőle a cink-ujjat tartalmazó NC-szerű domén. Míg a HIV-1 gag esetében cink-ujj motívum felel a nukleinsavval való kölcsönhatások kialakításáért, addig az Arc esetében az oligomerizációért felelős domén pozitívan töltött régiója látja el ugyanezt a feladatot. A HIV-1 gag fehérjéhez hasonló módon az Arc önszerveződését is elősegíti az RNS kötése, de az elektrosztatikus kölcsönhatások nem biztosítják az mRNS szekvencia-specifikus felismerését [15].

Az Arc fehérjék által kialakított kapszidok a sejtekről lefűződve hoznak létre extracelluláris VLP-eket, amiket recipiens sejtek endocitózis-függő módon képesek felvenni, majd a részecskék által szállított mRNS-ről fehérjét készíteni [25]. Az Arc fehérje a szinaptikus plaszticitás intracelluláris mechanizmusainak dinamikus szabályozójaként ismert. Az extracelluláris VLP-k kialakítására való képessége fontos szerepet tölthet be az idegrendszeri sejtek közötti kommunikációban, melyet intakt emberi agysejtek esetében még nem igazoltak egyértelműen.

A retrovírus-szerű fehérjék közti homológia [7] alapján feltételezhető volt, hogy a rokon fehérjék hasonló szerkezeti és működési sajátosságokat mutathatnak, ezért az Arc fehérje esetében feltárt sajátosságok és mechanizmusok megismerése képezte az alapját további fehérjék vizsgálatának is [3, 8, 13, 22, 29, 30].

Az apai allélról expresszáldó gén 10 (PEG10) fehérje

A PEG10 fehérjének fontos szerepe van a placenta fejlődéséhez szükséges folyamatokban, olyannyira, hogy deléciója embrionálisan letális [3]. Ez a felfedezés az elsők között világított rá arra, hogy evolúciósan konzervált retrotranszpozon-eredetű gének alapvető szerepet tölthetnek be az emlősök fejlődésében. A PEG10 „retro-eredetét” támasztja alá többek között egy, a

celluláris gének esetében ritkaságnak számító transzlációs mechanizmus megléte is, mely a retrotranszpozonokra és retrovírusokra egyaránt jellemző. A programozott -1 irányú riboszómális kereteletolódás révén a PEG10 génről két fehérje is átíródhat. Ha csak az első olvasási keretről történik fehérje szintézis, a transzláció megáll és egy rövidebb fehérje keletkezik („*reading frame 1*”, RF1). Amennyiben kereteltolódás történik, az átírás folytatódik és egy hosszabb, az ún. RF2 részt is tartalmazó fehérje keletkezik, melyet RF1/RF2-nek hívunk. Az RF1 a gag-szerű, míg az RF2 a PR-szerű domént tartalmazza [31]. A PEG10 az egyik legnagyobb méretű retrovírus-szerű fehérje az emberi szervezetben, mely CA-, NC-, PR- és RT-szerű doméneket egyaránt tartalmaz. Ezek közül a RT domén az evolúció során elvesztette funkcióját. Hasonlóan nagyméretű a PEG11 is, azonban a PEG10-zel ellentétben nincs szükség a kereteltolódási mechanizmusra a teljes hosszúságú fehérje keletkezéséhez. Az alapvetően hasonló domén-felépítés ellenére a két fehérje közti szekvencia homológia igen alacsony mértékű (~20-30%), ami eltérő funkcionális sajátságokra utal [2].

A PEG10 CA-szerű doménjének szerkezeti és működési sajátságait csupán az elmúlt néhány év kutatásai tárták fel. Bár a fehérje retrotranszpozon-eredete - mely alapján feltételezhető volt a retrovírus fehérjékkel való homológia - ismert volt korábban is, kísérletes szerkezetvizsgálatok csak 2022-ben szolgáltatottak egyértelmű bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy a PEG10 CA-szerű domén szerkezete nagymértékben konzervált és hasonló a HIV-1 CA fehérjéjéhez [13] (3. ábra). A kísérletes vizsgálatok igazolták a hasonlóságokat a működési sajátságok esetében is; kimutatták, hogy a HIV-1 retrovírus CA-hoz és az Arc fehérjéhez hasonlóan a PEG10 is képes önszerveződésre és VLP-k kialakítására [8].

A proteáz domén működését már a PEG10 fehérjét célzó első kutatások is vizsgálták [31], mely azóta további kutatásoknak is célpontját képezte [10, 22, 32]. A CA-szerű doménhez hasonlóan a PR-szerű domén is nagymértékű szerkezeti hasonlóságot mutat a retrovírus proteázokkal [10], de bizonyos tulajdonságai inkább a retrovírus-szerű proteázokéhoz hasonlítanak (pl. Ddi1 és Ddi2) [19].

A PEG10 proteáz doménje a jelenlegi ismereteink alapján a fehérje autoprocesszálását végzi, az RF1/RF2 fehérje részeként termelődő aktív enzim képes az RF1/RF2 hasítására, azonban a retrovírus proteázokkal ellentétben az enzim nem hasítja ki magát a teljes fehérjéből. A retrovírusok esetében a

poliprotein processzálása nélkülözhetetlen a fertőzőképes virionok kialakításához. Bár az eddigi eredmények alapján a proteáz aktivitás a PEG10 működésében is kulcsszerepet játszik, autoproteolízise érdekes módon nem előfeltétele a VLP-k kialakításának [22]. Annak ellenére, hogy az extracelluláris VLP-k képzésére az inaktivált proteáz domént tartalmazó PEG10 fehérje is képes, a proteolitikus aktivitás szükséges a fehérje működéséhez, mert az önhasítás elmaradása nem csak a hasítatlan PEG10 felhalmozódásához vezet, de megakadályozza a cink-ujj-tartalmú fehérjerész felszabadulását, ami nélkül a PEG10 nem képes bizonyos gének transzkripcióját beindítani [22]. A PEG10-nek fontos szerepe van a placenta kapilláris-hálózatának kialakításában és fenntartásában, mely súlyos, akár letális következményekkel jár a proteáz aktivitás hiányában [33]. Érdekes, hogy a PEG10 szoros együttműködésben van egy másik retrovírus-szerű fehérjével, a PEG11-el (másnéven RTL1), mindkettőnek fontos szerepe van az emlősök egyedfejlődése során, többek között a placenta fejlődésében [2, 3, 34].

A PEG10 cisz és transz proteolitikus aktivitásának jelentőségét több kutatás is alátámasztotta már [10, 22, 31], azonban a mai napig sem ismert a proteáz egyetlen természetes hasítóhelye sem. Eddig kizárólag számítógépes vizsgálatokkal próbálták megbecsülni a lehetséges hasítási pozíciókat, a kísérletesen azonosított autoproteolitikus fragmentek mérete alapján. Black és munkatársai a Ty3 retrotranszpozon esetében kísérletesen igazolt hasítási szekvenciák hidrofobicitási profilját alapul véve végeztek becslést [22]. Kutatócsoportunk a hasítóhely becsléshez a PEG10 proteáz homológ modelljét vette alapul, a lehetséges hasítóhelyekre a szubsztrátkötő zsebek és az egyes helyekre bekötődő oldalláncok mérete alapján következtettünk [10]. Mindkét vizsgálat alapján a PEG10 autoproteolitikus helye a cink-ujj motívumot tartalmazó NC-szerű domén közelében található, ami összhangban van azon kísérletek eredményével, melyek a DNS-kötő fehérjerész kihasadásának fontosságára utalnak.

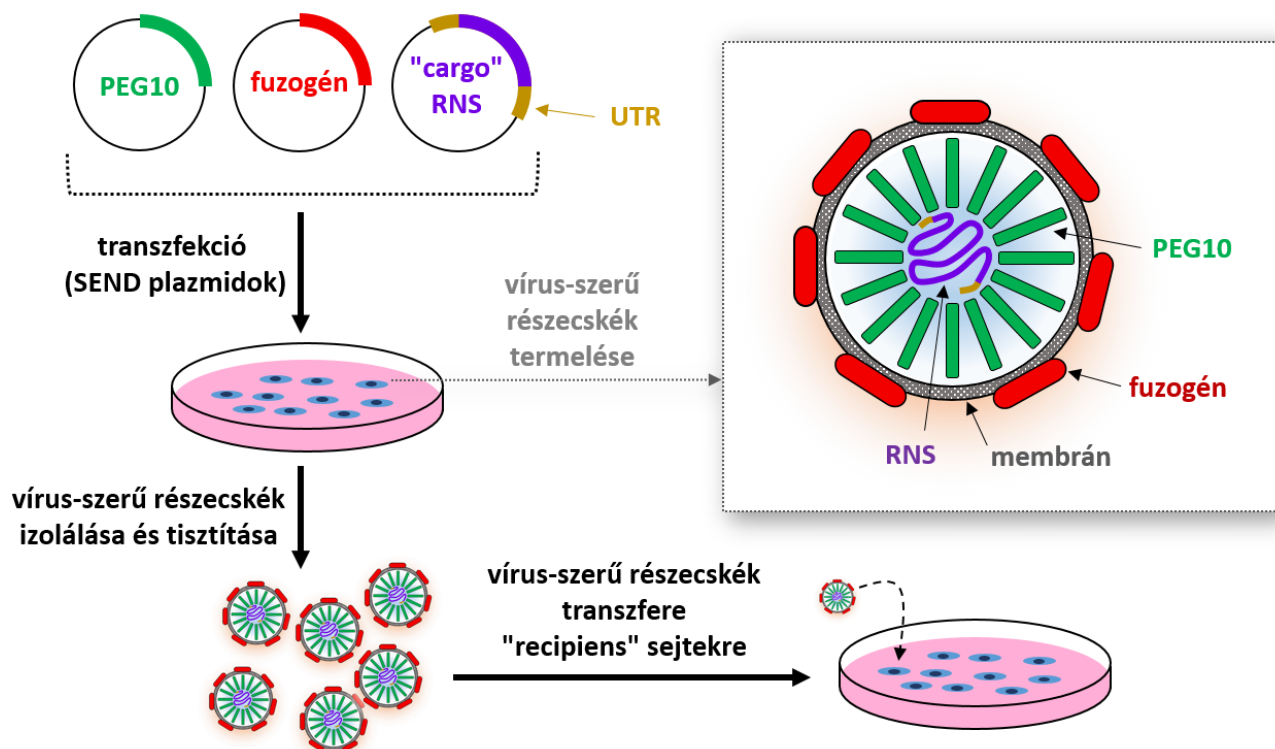
A PEG10 számos szövetben termelődik endogén módon, azonban fokozott expresszióját számos rákos megbetegedés, többek között hepatocelluláris karcinóma és emlőrák esetében is leírták már [35]. A legújabb kutatások a PEG10-et egy neurodegeneratív betegségben, az amiotróf laterális szklerózisban (ALS-ben) is a leginkább megváltozott expressziót mutató fehérjeként azonosították [22], de patofiziológiás jelentőségét igazolták egy idegrendszeri fejlődési rendellenesség, az Angelman szindróma esetében is

[36]. Számos kutatás beszámolt arról, hogy a PEG10 túltermelése elősegíti a rákos sejtek proliferációját, a sejtosztódási képesség fokozása és az apoptózis gátlása révén egyaránt, valamint hozzájárul a metasztázis-képzéshez is, ami miatt potenciális prognosztikai biomarkerként tekintenek rá [35]. A PEG10 túltermelésének sejtekre gyakorolt hatását kutatócsoportunk is vizsgálta, melynek során megállapítottuk, hogy a PEG10 túltermelése csökkenti HEK293T sejtek életképességét és fokozza azok proliferációját. Érdekes módon ez a hatás nem volt megfigyelhető akkor, ha a sejtek a katalitikusan inaktív proteáz domént tartalmazó fehérjét termelték [10]. Ez arra utalt, hogy a fehérje hatásának közvetítésében fontos szerepe lehet a PEG10 proteáznak, azonban az enzimaktivitás fiziológiás jelentősége a mai napig sem tisztázott. A PEG10 működésének jobb megértéséhez jelentősen hozzájárulhat a (cisz vagy transz) hasítóhelyek és celluláris szubsztrátok azonosítása is, de ezidáig még nem sikerült a proteáz egyetlen természetes vagy nem-specifikus szubsztrátját sem azonosítani kísérletes módon.

A PEG10 alkalmazása gén-transzfer rendszerben

A PEG10-et terápiás jelentősége mellett gyakorlati alkalmazhatósága szempontjából is vizsgálják. A CRISPR (rövid, fordított ismétlődésekkel elhatárolt szekvenciák genomi régiója/CRISPR-kapcsolt nukleáz 9; *clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated nuclease 9*) genomszerkesztési rendszer úttörőjének számító Feng Zhang kutatócsoportja végzett olyan kutatásokat, melyek célja a PEG10 által kialakított VLP-k gén-transzfer rendszerben történő alkalmazása volt [8]. Kutatásaik alapjául az Arc fehérje szerkezetének és működésének megismerése szolgált, mely feltárta a retrovírus gag fehérjékkel való hasonlóságát, valamint az RNS kötésére és azok kapszid-szerű részecskék általi szállítására való képességét [25]. Segel és munkatársai feltételezték, hogy az Arc fehérjéhez hasonlóan más fehérjék is rendelkezhetnek ezekkel a tulajdonságokkal, majd egér és humán fehérjék átfogó vizsgálata alapján a PEG10-et választották kutatásaikhoz, ugyanis a vizsgált fehérjék közül ez volt képes a leghatékonyabban RNS-t kötni és VLP-ket kialakítani. Kimutatták, hogy NC-szerű doménje a saját mRNS-ében található nem-transzlálódó régiókat (UTR, *untranslated region*) ismeri fel és köti meg. Feltételezték továbbá, hogy ha a becsomagolandó mRNS-ek felismerésére használt PEG10-specifikus UTR szekvenciákat más RNS-ekhez kapcsolják, akkor az RNS-kötés irányítható lehet. A Feng Zhang kutatócsoportja által kidolgozott SEND (*Selective Endogenous eNcapsidation for cellular Delivery*) rendszer [8] alapja, hogy a PEG10 képes bizonyos RNS-ek szelektív felismerésére és

csomagolására, majd az extracelluláris VLP-k általi szállítására. A szállítórendszer a PEG10 fehérje mellett egy ún. „fuzogén” fehérjét is tartalmaz, mely a VLP felszínén helyezkedik el és segíti a sejtekbe történő felvételt (4. ábra).



4. ábra. A SEND rendszer működésének vázlata és a vírus-szerű részecske felépítése. Készült Riecken és mtsai [37], valamint Gutkin és mtsai [38] alapján.

A VLP-k előállítására szolgáló rendszer alkalmazásához három plazmid DNS-re van szükség, melyek transzfekcióval juttathatók azokba a sejtekbe, melyek majd előállítják az RNS molekulákat szállító VLP-ket. Az egyik plazmidról íródik át a szállítandó gén mRNS-e (ún. „cargo RNS”), mely tartalmazza a PEG10 által specifikusan felismert UTR szekvenciákat is. A másik plazmidról expresszálódik a PEG10 fehérje, ami a VLP kialakításához és a „cargo mRNS” megkötéséhez szükséges. A harmadik plazmid kódolja a burokkfehérjének (*envelope*) megfelelő felszíni fehérjét (fuzogén), mely lehet a *vesicular stomatitis* vírus burokkfehérjéje (VSVg), de egy teljesen endogén SEND rendszer létrehozása érdekében ez a virális fehérje akár pl. a retrovírus burokkfehérje-eredetű endogén szincitin (*syncytin*) fehérjével is helyettesíthető lehet. A megfelelő fuzogén kiválasztása révén nem csak az immunogenitás csökkenthető, de lehetővé teheti a vezikulák sejt- vagy szövetspecifikus módon történő célba juttatását is. Az mRNS szállítására alkalmas részecskéket a transzfectált sejtek kibocsájtják, melyek a tápfolyadékból történő tisztítást követően felhasználhatóak lehetnek gén-

transzfer eljárásokban [8].

Az mRNS-ek célba juttatására lipid- vagy nanorészecske-alapú, továbbá *in vitro* elektroporációs eljárásokat is alkalmazhatnak, melyek limitáló tényezője lehet az alacsony hatékonyság vagy a sejtekre gyakorolt károsító hatás is. A SEND rendszer alkalmazása segíthet kiküszöbölni ezeket a hatásokat, többek között endogén fehérjék alkalmazása révén. A SEND a jelenleg alkalmazott géntranszfer rendszerek alternatívájaként is szolgálhat, azonban kihívást jelenthet a módszer jelenleg ismert korlátainak kiküszöbölése, beleértve magának a géntranszfernek vagy a csomagolás hatékonyságának a növelését, vagy a részecskék megfelelő mennyiségben történő hatékony előállítását [37, 38]. Fontos figyelembe venni továbbá, hogy a PEG10 túlzott expressziója önmagában is káros hatásokat válthat ki, ahogyan azt az ALS esetében is megfigyelték [22], ezért a jelenleg is folyó kutatások feladata lesz a SEND rendszer optimalizálása.

A paraneoplasztikus antigén Ma2 (PNMA2)

A paraneoplasztikus neurológiai szindrómák ritka neuroimmun kórképek, melyekre jellemző az olyan autoantitestek megjelenése, melyek a betegség biomarkereként is használhatók. A PNMA génnek, köztük a PNMA2, rák által kiváltott paraneoplasztikus szindrómákkal állnak kapcsolatban [39].

A Ty3 retrotranszpozon-eredetű PNMA2 is CA-szerű domént tartalmazó fehérje (1. ábra). A PNMA család más tagjaihoz - így a PNMA3, 5 és 6A fehérjékhez hasonlóan [8] - a PNMA2-ről is kimutatták, hogy képes extracelluláris VLP-k kialakítására, azonban a PNMA2 esetében egy korábban a retrovírus-szerű fehérjék esetében nem leírt jelenséget tártak fel a vizsgálatok. Az izolált PNMA2 részecske-frakció proteináz K enzimmel való kezelése esetén a fehérje degradációját figyelték meg, ezzel szemben az Arc fehérje által kialakított VLP-k a proteináz K kezeléssel szemben ellenállónak bizonyultak. Ez a megfigyelés arra utalt, hogy a sejtek által kibocsájtott vírus-szerű PNMA2 kapszidok nem membrán-határolt formában jutnak ki a sejtekből, amit elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményei is alátámasztottak [29]. Kimutatták továbbá, hogy a paraneoplasztikus szindrómában nagy mennyiségben termelődnek olyan PNMA2 elleni antitestek, melyek a részecskék felszínén lévő felszíni „tüske”-szerű kapszidot ismerik fel. Érdekes, hogy a módosított, oligomerizációra és vírus-szerű kapszid-struktúra kialakítására nem képes fehérjeformák nem voltak képesek hasonló módon heves autoimmun reakciót kiváltani, igazolva a szerkezetileg intakt gag-szerű fehérje immunogenitását [29].

A PEG10 esetében végzett kutatások igazolták a fehérje lehetséges felhasználását SEND-alapú génterápiás eljárásokban, melynek egyik előnyös tulajdonsága az endogén CA-szerű fehérjék potenciálisan alacsonyabb immunogenitása [8, 37]. Azonban a PNMA2 által kiváltott autoimmunreakció felhívta a figyelmet arra, hogy egyes retrovírus-szerű fehérjék ilyen jellegű alkalmazása korlátokba ütközhet. Jelenleg nem áll rendelkezésre információ arra vonatkozóan, hogy a PNMA fehérje család más tagjai által kialakított kapszidok membránnal határoltak-e. Összehasonlító vizsgálatok sem tárták fel eddig azokat a különbségeket, melyek meghatározzák, hogy mely retrovírus-szerű fehérjék és miért lehetnek képesek membrán-burkolt (pl. Arc) vagy membránnal nem körülhatárolt (pl. PNMA2) részecskék kialakítására. Ezeknek a kérdéseknek a megválaszolásában az összehasonlító elemzések révén feltárt szerkezeti információk is segítségünkre lehetnek, és hozzájárulhatnak kevésbé immunogén kapszidok tervezéséhez.

A retrovírus-szerű aszpartil proteáz 1 (ASPRV1)

Az ASPRV1 fehérjét bőr-specifikus (retrovírus-szerű) aszpartil proteáznak is nevezik (SASPáz), mivel elsőként a bőrben azonosították [20]. Az ASPRV1 a *stratum corneum*-ban és *granulosum*-ban expresszálódik nagy mennyiségben, fontos része a bőrben működő proteolitikus kaszkádnak, aktivitása révén hozzájárul a bőr nedvesség-tartalmát szabályozó folyamatokhoz [40].

Az ASPRV1 egy 37 kDa méretű prekursor fehérjeként expresszálódik (SASP37), mely tartalmazza a 14 kDa molekulatömegű proteáz domént is (SASP14). A SASP14 a teljes hosszúságú SASP37 fehérje autoproteolízise révén szabadul fel a prekursorból, az önhasítás révén először egy rövidebb, 28 kDa méretű fehérjeforma keletkezik (SASP28), ebből hasítja ki magát a PR. Ez a mechanizmus azonos azzal, ahogyan a retrovírusok PR-a kihasítja magát a virális poliproteinből. Ugyan az ASPRV1 nevet használják elterjedten a fehérje azonosítására, ennek ellenére mégis a SASPáz név alapján történik a teljes hosszúságú prekursor (SASP37) és a belőle kihasadó fehérjék (SASP28 és SASP14) megkülönböztetése. Az ASPRV1 név esetében nem terjedt el a molekulatömeg-alapú nevezéktan alkalmazása, pedig ezt az is indokolná, hogy számos vizsgálat igazolta, hogy a funkcionális ASPRV1 fehérje nem kizárólagosan a bőrben expresszálódik [41].

Az ASPRV1 is tartalmaz a retrovirális CA fehérje N-terminális doménjével

homológ, ún. kapszid-szerű régiót, azonban a C-terminális doménnek megfelelő szakasz hiányzik belőle (1. ábra). Ez lehet az egyik oka annak, hogy - a PEG10, a PEG11, az Arc/Arg3.1 és egyes PNMA fehérjékkel ellentétben - nem képes extracelluláris VLP-k kialakítására [8]. A CA-szerű domén funkcionális jelentőségére vonatkozóan ezidáig egyetlen kutatás szolgáltatott információkat, melyek alapján ez a domén fontos szerepet tölt be az ASPRV1 működését szabályozó fehérje-fehérje kölcsönhatás kialakításában [42]. Jelenlegi ismereteink alapján a proteáz domén tölt be meghatározó szerepet az ASPRV1 működésében, számos vizsgálat igazolta ezen domén szerkezeti és funkcionális jelentőségét [11, 20, 41, 42].

Az ASPRV1 azonosítása óta eltelt közel 20 év alatt is mindösszesen egyetlen természetes szubsztrátját azonosították. Ez a fehérje a bőrben található filaggrin, melynek előalakját, a profilaggrint az ASPRV1 proteolitikusan hasítja, ez a hasítás az előfeltétele a hidratációért felelős faktor előállításának [20]. A bőr barrier emlős-specifikus jellegére utal, hogy az ASPRV1 és a profilaggrin is kizárólag az emlősök többrétegű epitéliumában termelődik, ezért hozzájárulásuk az emlősök többrétegű hámrétegének kialakításához evolúciós szempontból igen jelentősnek tekinthető [2, 43]. Az elmúlt években a fehérje működésének jelentőségét további sejttípusokban is igazolták, ami indokolhatja az ASPRV1 név használatát a „bőr-specifikus” elnevezés (SASPáz) helyett. Neutrofilek esetében mutatták ki, hogy ezek a sejtek specifikusan expresszálják az ASPRV1-et, mely expresszió fokozódik a *sclerosis multiplex* gyulladásos demielinizációs betegség modelljeként használt kísérletes autoimmun *encephalomyelitis* (EAE) esetén, a neutrofilek központi idegrendszerbe történő beszűrődése során [41]. Emiatt az ASPRV1-et jelenleg mint bizonyos gyulladásos betegségek neutrofil-specifikus biomarkerét és terápiás célpontját tartják számon. Pontos szerepe még nem ismert, de feltételezhető, hogy az ASPRV1 enzimatis aktivitásának fontos szerepe lehet ebben a sejttípusban is, eddig ismeretlen szubsztrátok proteolitikus processzálása révén. Újabb szubsztrátok azonosítása segíthet majd jobban megérteni a proteáz specificitását és a fehérje fiziológiás jelentőségét is. Az azonosítást megnehezítheti, hogy a HIV PR-hoz hasonlóan az ASPRV1 PR esetében sem definiálható könnyen a hasítási specificitás, mert az nem kötött konszenzus szekvenciákhoz.

Annak ellenére, hogy ezidáig számos, az ASPRV1 PR doménjét érintő mutációt azonosítottak, az enzimaktivitás megváltozásának patobiokémiai jelentőségét

eddig csak az örökletes halbőr-betegség (*ichthyosis*) esetében igazolták. Olyan mutációkat azonosítottak a PR-ban, melyek az enzimatis domén inaktiválódását okozva a természetes szubsztrát (filaggrin) felhalmozódásához vezetnek, ami a bőr elszarusodásának zavarát okozza [44]. Számos vizsgálat igazolta eddig, hogy az ASPRV1 expressziója jelentősen megváltozik (jellemzően fokozódik) bizonyos körülmények hatására (pl. betegségek, kezelések), azonban nem ismert, hogy az ASPRV1 fehérje mennyiségének megváltozása milyen hatással lehet a sejtek működésére és ehhez a hatáshoz milyen formában járul hozzá a potenciálisan megváltozó proteolitikus aktivitás.

Retrovírus-szerű fehérjék lehetséges gátlószerei

Több retrovírus-szerű fehérjére (pl. ASPRV1, PEG10) már napjainkban is potenciális gyógyszer-célpontként tekintenek, amit bizonyos betegségekben betöltött szerepük indokol. Az eddigi kutatások ezidáig jellemzően a retrovírus-szerű PR-t potenciálisan gátolni képes, túlnyomó többségében terápiás használatra már engedélyezett molekulák vizsgálatát célozták. A HIV-1 PR elleni inhibitorok vizsgálatának alapját az a feltételezés képezte, hogy a HIV-1 PR-t gátolni képes molekulák hatékonyan gátolhatják a szerkezetileg homológ retrovírus-szerű enzimeket is, így a Ty1 retrotranszpozon [12], az ASPRV1 [11], a PEG10 [10] és a Ddi proteázokat egyaránt [45].

Kutatócsoportunk eredményei alapján a humán ASPRV1 proteázt csak az indinavir képes gátolni [11], míg a humán PEG10 proteáz aktivitására egyik vizsgált HIV-1 proteáz-gátló sem volt hatással [10]. A humán Ddi2 proteázt a nelfinavir képes hatékonyan gátolni [45]. Az általános aszpartil proteáz inhibitor acetil-pepszatin képes a Ty1 retrotranszpozon proteáz és az ASPRV1 gátlására is, aminek azonban nem a terápiás alkalmazás, hanem elsősorban *in vitro* aktivitásvizsgálatok szempontjából lehet jelentősége.

Bár egyes inhibitorok esetében a PR-t gátló hatást *in vitro* vizsgálatok igazolták, további mérések szükségesek annak megállapítására, hogy ezen anyagok alkalmasak lehetnek-e terápiásan releváns koncentrációban a megfelelő hatást kifejteni a celluláris enzimekkel szemben. Az ezirányú kutatásokat segítheti, hogy a HIV-1 PR inhibitorok többségét hosszú évek óta alkalmazzák a terápiás gyakorlatban, így lehetséges hatásaik és mellékhatásaik jelentős része már ismert.

A hatékony gátlási stratégiák kidolgozását segítheti a retrovírus és retrovírus-szerű proteázok összehasonlító vizsgálata is [46], mely révén meghatározható annak a molekuláris háttere, hogy az eukarióta szervezetek retrovírus-szerű proteázai miért rendelkeznek természetes rezisztenciával a legtöbb antiretrovirális terápiában alkalmazott HIV-1 PR inhibitorral szemben és miért érzékenyek más-más inhibitorral szemben. Ez irányú vizsgálatokat kutatócsoportunk is végzett. A HIV-1 és ASPRV1 PR szekvenciájának összehasonlításával megállapítottuk, hogy az ASPRV1 több olyan aminosavat is tartalmaz, melyek szerkezetileg ekvivalens pozícióban a HIV-1 PR esetében rezisztencia kialakulásához járulhatnak hozzá [11]. Ugyan a HIV-1 PR inhibitorokkal szembeni rezisztencia részben magyarázható lehet a szekvencia ilyen jellegű sajátásaival, azonban fontos figyelembe venni az elsődleges szerkezet sajátosságai mellett a negyedleges szerkezet egyedi jellemzőit is. Például a retrovírus-szerű proteázok a felszín felé jóval nyitottabb aktív hellyel rendelkeznek [17], mely alapvetően eltérő enzim-inhibitor kölcsönhatások kialakítását teheti lehetővé, mint a retrovírus proteázok esetében.

A retrovírus-szerű proteázok gátlhatóságának vizsgálatára irányuló kutatások középpontjában eddig jellemzően a klinikai felhasználásra már engedélyezett HIV-1 PR inhibitorok álltak, azonban a célzott és hatékony gátlás elérésében az új, specifikus gátlószerek fejlesztése hozhat áttörést. Ismereteink alapján a PEG10 PR az egyetlen retrovírus-szerű proteáz, mely esetében aktív kutatások zajlanak potenciális gátlószerek azonosítására, melyek szabadalmaztatási eljárása jelenleg folyamatban van [22]. A retrovírus-szerű proteázok nagyfokú szerkezeti hasonlóságot mutatnak, így lehetséges, hogy ezen inhibitorok többüket is potenciálisan gátlani lehetnek képesek (pl. PEG10, ASPRV1 és Ddi proteázok). A PEG10 inhibitorok elérhetővé válása után szükséges lehet gátlási profiljuk meghatározása és annak feltérképezése, hogy mely homológ enzimek lehetnek még érzékenyek a gátlásra.

Napjainkig nem ismertek olyan molekulák, melyek a gag-szerű doméneket célozva lennének képesek a retrovírus-szerű fehérjék működését befolyásolni. Napjainkban egyetlen olyan gátlószert elérhető, melynek molekuláris célpontja egy szerkezeti gag fehérje. A közelmúltban engedélyezték a lenacapavirt mint az első HIV-1 CA inhibitor, mely a HIV-1 életciklusának több lépésére is hatva képes a vírus replikáció gátlására [47]. Az egyik ilyen lépés a kapszid oligomerizációja. A lenacapavir képes fokozni a kapszid oligomer struktúra kialakulását, a kapszid monomerek közti kölcsönhatások erősítése révén pedig

egyúttal csökkenteni az oligomer szétesésének sebességét is. A kapszid domének közti szerkezeti homológia alapján [13] feltételezhető, hogy a HIV-1 kapszid inhibitor hatással lehet a humán retrovírus-szerű fehérjék működésére is.

HIV proteáz inhibitorok és a SARS-CoV-2

A HIV PR inhibitorok molekuláris célpontjai lehetnek más, a HIV-1 PR-hoz hasonló aszpartil proteázok is, beleértve más retrovírusok vagy emlősök retrovírus-szerű proteázait is. Érdeemes megemlíteni azonban, hogy ezeknek a gátlószereknek fontos szerep jutott a súlyos akut légzőszervi szindróma-koronavírus 2 (SARS-CoV-2) esetében is.

A SARS-CoV-2 által okozott világméretű járvány kirobbanását követő időszakban nem álltak rendelkezésre olyan koronavírus-specifikus gyógyszerek, melyeket a koronavírus fertőzöttek kezelésében lehetett volna hatékonyan alkalmazni. A lehetséges terápiás szerek azonosításának az egyik stratégiája a már engedélyezett gyógyszerek „újrahasznosítása” volt (*drug repurposing*), hiszen az ilyen típusú gyógyszerek „bevetése” esetén nem lett volna szükség az új gyógyszermolekulák kifejlesztése, vizsgálata és engedélyeztetése által jelentett, meglehetősen sokáig tartó folyamatokra [48]. A HIV fertőzöttek kezelésére már engedélyezett proteáz inhibitorokra is olyan molekulákként tekintettek, melyek képesek lehetnek a koronavírus fő proteázának (Mpro) gátlására annak ellenére, hogy ezek alapvetően eltérő szerkezetű és katalitikus mechanizmusú enzimek. Míg a HIV-1 PR az aszpartil, addig a SARS-CoV-2 Mpro a cisztein proteázok családjába tartozik és bár mindkét enzim homodimerként működik, aktív helyük felépítése és specificitásuk jelentős mértékben különbözik. Érdekes módon több számítógépes szerkezeti elemzés eredménye is arra utalt, hogy a HIV-1 PR inhibitorok hatékonyan lehetnek képesek kötődni a koronavírus kimotripszin-szerű fő proteázához, azonban az eredmények ellentmondásosak voltak és az egyes vizsgálatok más-más inhibitort azonosítottak potenciálisan hatékony gátlószerként. Kísérletes vizsgálatok, köztük kutatócsoportunk kutatásai is igazolták, hogy valójában egyik HIV-1 PR inhibitor sem képes terápiásan releváns koncentrációban a SARS-CoV-2 Mpro gátlására [49]. Ennek ellenére azonban a HIV-1 PR inhibitorok közül a ritonavir mégis alkalmazhatónak bizonyult a koronavírus fertőzöttek terápiájában. A 2022. év elején engedélyezték COVID-19 (koronavírus betegség-19) betegek kezelésére a Paxlovid nevű gyógyszert, melynek fő hatóanyaga a nirmatrelvir, ami a SARS-CoV-2 Mpro reverzibilis kovalens inhibitora. A Paxlovid a

nirmatrelvir mellett ritonavirt is tartalmaz, mely ugyan nem képes hatékonyan gátolni a SARS-CoV-2 Mpro-t, azonban a citokróm-rendszer gátlása révén képes növelni a nirmatrelvir stabilitását, ezáltal fokozva annak hatékonyságát.

A HIV PR inhibitorokat már régóta alkalmazzák HIV fertőzöttek kezelésében, azonban alkalmazásuk szempontjából az egyik legjelentősebb kihívást az ellenük kialakuló rezisztencia jelenti. Ennek oka az RNS vírusokra jellemző nagymértékű mutációs képesség. A celluláris retrovírus-szerű proteázok nagyobb mértékben konzerváltak, így esetükben az inhibitorokkal szembeni rezisztencia kialakulásának valószínűsége kismértékű. Ezzel szemben (és a HIV-1 PR-hoz hasonlóan) a SARS-CoV-2 RNS vírus is igen jelentős változékonyságot mutat, ezért az Mpro aktív helyét érintő mutációk potenciálisan a proteáz inhibitorokkal szembeni rezisztencia kialakulásához vezethetnek. A SARS-CoV-2 Mpro és a nirmatrelvir közti atomi kölcsönhatásokat, valamint az inhibitorral szembeni rezisztencia lehetséges kialakulásának hátterét kutatócsoportunk is vizsgálta. Eredményeinket egy összefoglaló közleményben mutattuk be [46], azok részletesebb tárgyalása azonban nem tárgya ezen publikációnak.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet a Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium munkatársainak, akikkel az elmúlt években együtt dolgoztunk vagy jelenleg is dolgozunk, sok más fehérje mellett a retrovírus-szerű fehérjék vizsgálatán, külön köszönet illeti Dr. Golda Máriát és Nagyné Veres Ágotát. Köszönet Dr. Golda Máriának és Dr. Kristóf Endre Károlynak (Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet) a kéziratot érintő kritikai észrevételeikért. A TKP2021-EGA-20 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg. A kutatómunka a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (BO/00110/23/5) támogatásával jött létre. A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-5-DE-486 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült. A projekt részben az MTA post-COVID jelenségek kutatására irányuló nagy kockázatú pályázatok támogatásával valósult meg (POST-COVID₂₀₂₁₋₁₆).

Irodalomjegyzék

- [1] Coffin, J.M., Hughes, S.H., Varmus, H.E. (Eds.). (1997) Retroviruses. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*.

- [2] Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2012) The role of genes domesticated from LTR retrotransposons and retroviruses in mammals. *Frontiers in microbiology*, **3**: 262.
- [3] Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2023) Retrovirus-Derived RTL/SIRH: Their Diverse Roles in the Current Eutherian Developmental System and Contribution to Eutherian Evolution. *Biomolecules*, **13(10)**: 1436.
- [4] Mi, S., Lee, X., Li, X., Veldman, G.M., Finnerty, H., Racie, L., LaVallie, E., Tang, X.Y., Edouard, P., Howes, S., Keith, J.C.Jr., McCoy, J.M. (2000) Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, **403(6771)**: 785-9.
- [5] Naville, M., Warren, I.A., Haftek-Terreau, Z., Chalopin, D., Brunet, F., Levin, P., Galiana, D., Volff, J.N. (2016) Not so bad after all: retroviruses and long terminal repeat retrotransposons as a source of new genes in vertebrates. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **22(4)**: 312–323.
- [6] Feschotte, C., Gilbert, C. (2021) Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology. *Nature Reviews Genetics*, **13**: 283–296.
- [7] Campillos, M., Doerks, T., Shah, P.K., Bork, P. (2006). Computational characterization of multiple Gag-like human proteins. *Trends in genetics*, **22(11)**: 585–589.
- [8] Segel, M., Lash, B., Song, J., Ladha, A., Liu, C.C., Jin, X., Mekhedov, S.L., Macrae, R.K., Koonin, E.V., Zhang, F. (2021) Mammalian retrovirus-like protein PEG10 packages its own mRNA and can be pseudotyped for mRNA delivery. *Science*, **373(6557)**: 882–889.
- [9] Yip, M.C.J., Bodnar, N.O., Rapoport, T.A. (2020) Ddi1 is a ubiquitin-dependent protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, **117(14)**: 7776–7781.
- [10] Golda, M., Mótyán, J.A., Mahdi, M., Tőzsér, J. (2020) Functional Study of the Retrotransposon-Derived Human PEG10 Protease. *International journal of molecular sciences*, **21(7)**: 2424.
- [11] Golda, M., Mótyán, J.A., Nagy, K., Matúz, K., Nagy, T., Tőzsér, J. (2020) Biochemical Characterization of Human Retroviral-Like Aspartic Protease 1 (ASPRV1). *Biomolecules*, **10(7)**: 1004.
- [12] Gazda, L.D., Joóné Matúz, K., Nagy, T., Mótyán, J.A., Tőzsér, J. (2020). Biochemical characterization of Ty1 retrotransposon protease. *PloS one*, **15(1)**: e0227062.
- [13] Zurowska, K., Alam, A., Ganser-Pornillos, B.K., Pornillos, O. (2022)

- Structural evidence that MOAP1 and PEG10 are derived from retrovirus/retrotransposon Gag proteins. *Proteins*, **90(1)**: 309–313.
- [14] Hallin, E.I., Bramham, C.R., Kursula, P. (2021) Structural properties and peptide ligand binding of the capsid homology domains of human Arc. *Biochemistry and biophysics reports*, **26**: 100975.
- [15] Eriksen, M.S., Nikolaienko, O., Hallin, E.I., Grødem, S., Bustad, H.J., Flydal, M.I., Merski, I., Hosokawa, T., Lascu, D., Akerkar, S., Cuéllar, J., Chambers, J.J., O'Connell, R., Muruganandam, G., Loris, R., Touma, C., Kanhema, T., Hayashi, Y., Stratton, M.M., Valpuesta, J. M., ... Bramham, C.R. (2021) Arc self-association and formation of virus-like capsids are mediated by an N-terminal helical coil motif. *The FEBS journal*, **288(9)**: 2930–2955.
- [16] Markússon, S., Hallin, E.I., Bustad, H.J., Raasakka, A., Xu, J., Muruganandam, G., Loris, R., Martinez, A., Bramham, C.R., Kursula, P. (2022) High-affinity anti-Arc nanobodies provide tools for structural and functional studies. *PloS one*, **17(6)**: e0269281.
- [17] Sivá, M., Svoboda, M., Veverka, V., Trempe, J.F., Hofmann, K., Kožíšek, M., Hexnerová, R., Sedlák, F., Belza, J., Brynda, J., Šácha, P., Hubálek, M., Starková, J., Flaisigová, I., Konvalinka, J., Šašková, K. G. (2016) Human DNA-Damage-Inducible 2 Protein Is Structurally and Functionally Distinct from Its Yeast Ortholog. *Scientific reports*, **6**: 30443.
- [18] Dodonova, S.O., Prinz, S., Bilanchone, V., Sandmeyer, S., Briggs, J. A.G. (2019) Structure of the Ty3/Gypsy retrotransposon capsid and the evolution of retroviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. **116(20)**: 10048–10057.
- [19] Mótyán, J.A., Miczi, M., Tózsér, J. (2020) Dimer Interface Organization is a Main Determinant of Intermonomeric Interactions and Correlates with Evolutionary Relationships of Retroviral and Retroviral-Like Ddi1 and Ddi2 Proteases. *International journal of molecular sciences*, **21(4)**: 1352.
- [20] Bernard, D., Méhul, B., Thomas-Collignon, A., Delattre, C., Donovan, M., Schmidt, R. (2005) Identification and characterization of a novel retroviral-like aspartic protease specifically expressed in human epidermis. *The Journal of investigative dermatology*, **125(2)**: 278–287.
- [21] Trempe, J.F., Šašková, K.G., Sivá, M., Ratcliffe, C.D., Veverka, V., Hoegl, A., Ménade, M., Feng, X., Shenker, S., Svoboda, M., Kožíšek, M., Konvalinka, J., Gehring, K. (2016) Structural studies of the yeast DNA damage-inducible protein Ddi1 reveal domain architecture of this eukaryotic protein family. *Scientific reports*, **6**: 33671.
- [22] Black, H.H., Hanson, J.L., Roberts, J.E., Leslie, S.N., Campodonico, W.,

- Ebmeier, C.C., Holling, G.A., Tay, J.W., Matthews, A.M., Ung, E., Lau, C.I., Whiteley, A.M. (2023) UBQLN2 restrains the domesticated retrotransposon PEG10 to maintain neuronal health in ALS. *eLife*, **12**: e79452.
- [23] Bell, N.M., Lever, A.M. (2013) HIV Gag polyprotein: processing and early viral particle assembly. *Trends in microbiology*, **21(3)**: 136–144.
- [24] Gamble, T.R., Yoo, S., Vajdos, F.F., von Schwedler, U.K., Worthylake, D.K., Wang, H., McCutcheon, J.P., Sundquist, W.I., Hill, C.P. (1997). Structure of the carboxyl-terminal dimerization domain of the HIV-1 capsid protein. *Science*, **278(5339)**: 849–853.
- [25] Pastuzyn, E.D., Day, C.E., Kearns, R.B., Kyrke-Smith, M., Taibi, A.V., McCormick, J., Yoder, N., Belnap, D.M., Erlendsson, S., Morado, D.R., Briggs, J.A.G., Feschotte, C., Shepherd, J. D. (2018) The Neuronal Gene Arc Encodes a Repurposed Retrotransposon Gag Protein that Mediates Intercellular RNA Transfer. *Cell*, **172(1-2)**: 275–288.e18.
- [26] Eriksen, M.S., Bramham, C.R. (2022). Molecular physiology of Arc/Arg3.1: The oligomeric state hypothesis of synaptic plasticity. *Acta physiologica (Oxford, England)*, **236(3)**: e13886.
- [27] Curcio, M.J., Lutz, S., Lesage, P. (2015) The Ty1 LTR-retrotransposon of budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology spectrum*, **3(2)**: 1–35.
- [28] Myrum, C., Baumann, A., Bustad, H.J., Flydal, M.I., Mariaule, V., Alvira, S., Cuéllar, J., Haavik, J., Soulé, J., Valpuesta, J.M., Márquez, J.A., Martinez, A., Bramham, C.R. (2015) Arc is a flexible modular protein capable of reversible self-oligomerization. *The Biochemical journal*, **468(1)**: 145–158.
- [29] Xu, J., Erlendsson, S., Singh, M., Regier, M., Ibiricu, I., Day, G.S., Piquet, A.L., Clardy, S.L., Feschotte, C., Briggs, J.A.G., Shepherd, J.D. (2023) PNMA2 forms non-enveloped virus-like capsids that trigger paraneoplastic neurological syndrome. *bioRxiv: the preprint server for biology*, **2023 Feb 9**:2023.02.09.527862.
- [30] Ishino, F., Itoh, J., Irie, M., Matsuzawa, A., Naruse, M., Suzuki, T., Hiraoka, Y., Kaneko-Ishino, T. (2023) Retrovirus-Derived RTL9 Plays an Important Role in Innate Antifungal Immunity in the Eutherian Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, **24(19)**: 14884.
- [31] Clark, M.B., Jänicke, M., Gottesbühren, U., Kleffmann, T., Legge, M., Poole, E.S., Tate, W.P. (2007) Mammalian gene PEG10 expresses two reading frames by high efficiency -1 frameshifting in embryonic-associated tissues. *Journal of biological chemistry*, **282(52)**: 37359–69.

- [32] Katuwal, N.B., Kang, M.S., Ghosh, M., Hong, S.D., Jeong, Y.G., Park, S.M., Kim, S.G., Sohn, J., Kim, T.H., Moon, Y.W. (2023) Targeting PEG10 as a novel therapeutic approach to overcome CDK4/6 inhibitor resistance in breast cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, **42(1)**: 325.
- [33] Shiura, H., Ono, R., Tachibana, S., Kohda, T., Kaneko-Ishino, T., Ishino, F. (2021) PEG10 viral aspartic protease domain is essential for the maintenance of fetal capillary structure in the mouse placenta. *Development*, **148(19)**: dev199564.
- [34] Shiura, H., Kitazawa, M., Ishino, F., Kaneko-Ishino, T. (2023) Roles of retrovirus-derived *PEG10* and *PEG11/RTL1* in mammalian development and evolution and their involvement in human disease. *Frontiers in cell and developmental biology*, **11**: 1273638.
- [35] Xie, T., Pan, S., Zheng, H., Luo, Z., Tembo, K.M., Jamal, M., Yu, Z., Yu, Y., Xia, J., Yin, Q., Wang, M., Yuan, W., Zhang, Q., Xiong, J. (2018) PEG10 as an oncogene: expression regulatory mechanisms and role in tumor progression. *Cancer cell international*, **18**: 112.
- [36] Pandya, N.J., Wang, C., Costa, V., Lopatta, P., Meier, S., Zampeta, F. I., Punt, A.M., Mientjes, E., Grossen, P., Distler, T., Tzouros, M., Martí, Y., Banfai, B., Patsch, C., Rasmussen, S., Hoener, M., Berrera, M., Kremer, T., Dunkley, T., Ebeling, M., Jagasia, R. (2021) Secreted retrovirus-like GAG-domain-containing protein PEG10 is regulated by UBE3A and is involved in Angelman syndrome pathophysiology. *Cell reports. Medicine*, **2(8)**: 100360.
- [37] Riecken, K., Głów, D., Fehse, B. (2021) How to package and SEND mRNA: a novel "humanized" vector system based on endogenous retroviruses. *Signal transduction and targeted therapy*, **6(1)**: 384.
- [38] Gutkin, A., Rosenblum, D., Peer, D. (2021) RNA delivery with a human virus-like particle. *Nature biotechnology*, **39**: 1514–1515.
- [39] Pang, S.W., Lahiri, C., Poh, C.L., Tan, K.O. (2018) PNMA family: Protein interaction network and cell signalling pathways implicated in cancer and apoptosis. *Cellular signalling*, **45**: 54–62.
- [40] Peled, A., Sprecher, E. (2023) Proteolytic and Antiproteolytic Activity in the Skin: Gluing the Pieces Together. *Journal of Investigative Dermatology*, **2023 Oct 20**: S0022-202X(23)02564-2.
- [41] Whittaker Hawkins, R.F., Patenaude, A., Dumas, A., Jain, R., Tesfagiorgis, Y., Kerfoot, S., Matsui, T., Gunzer, M., Poubelle, P.E., Larochelle, C., Pelletier, M., Vallières, L. (2017) ICAM1+ neutrophils promote chronic inflammation

- via ASPRV1 in B cell-dependent autoimmune encephalomyelitis. *JCI insight*, **2(23)**: e96882.
- [42] Donovan, M., Salamito, M., Thomas-Collignon, A., Simonetti, L., Desbouis, S., Rain, J. C., Formstecher, E., Bernard, D. (2020) Filaggrin and filaggrin 2 processing are linked together through skin aspartic acid protease activation. *PloS one*, **15(5)**: e0232679.
- [43] Matsui T. (2023) Epidermal Barrier Development via Corneoptosis: A Unique Form of Cell Death in Stratum Granulosum Cells. *Journal of developmental biology*, **11(4)**: 43.
- [44] Boyden, L.M., Zhou, J., Hu, R., Zaki, T., Loring, E., Scott, J., Traupe, H., Paller, A.S., Lifton, R.P., Choate, K. A. (2020) Mutations in ASPRV1 Cause Dominantly Inherited Ichthyosis. *American journal of human genetics*, **107(1)**: 158–163.
- [45] Gu, Y., Wang, X., Wang, Y., Wang, Y., Li, J., Yu, F.X. (2020) Nelfinavir inhibits human DDI2 and potentiates cytotoxicity of proteasome inhibitors. *Cellular signalling*, **75**: 109775.
- [46] Mótyán, J.A., Mahdi, M., Hoffka, G., Tózsér, J. (2022) Potential Resistance of SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) against Protease Inhibitors: Lessons Learned from HIV-1 Protease. *International journal of molecular sciences*, **23(7)**: 3507.
- [47] Dvory-Sobol, H., Shaik, N., Callebaut, C., Rhee, M.S. (2022) Lenacapavir: a first-in-class HIV-1 capsid inhibitor. *Current opinion in HIV and AIDS*, **17(1)**: 15–21.
- [48] Raghav, P.K., Mann, Z., Ahluwalia, S.K., Rajalingam, R. (2023) Potential treatments of COVID-19: Drug repurposing and therapeutic interventions. *Journal of pharmacological sciences*, **152(1)**: 1–21.
- [49] Mahdi, M., Mótyán, J.A., Szojka, Z.I., Golda, M., Miczi, M., Tózsér, J. (2020). Analysis of the efficacy of HIV protease inhibitors against SARS-CoV-2's main protease. *Virology journal*, **17(1)**: 190.



Mótyán János András Balassagyarmaton született 1981-ben. A Debreceni Egyetem szerzett molekuláris biológus (biokémikus) diplomát 2006-ban, majd ezt követően 2011-ben PhD és 2022-ben habilitált doktori fokozatot elméleti orvostudományok szakterületen. Oktató munkáját az AOK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében végzi egyetemi adjunktusként. Kutatásait a Tózsér József intézetvezető professzor által vezetett Retrovirális Biokémiai Kutató laboratóriumában folytatja. Fő érdeklődési területét a retrovirális és retrovírus-szerű fehérjék vizsgálata képezi, különös tekintettel a szerkezet-funkció összefüggések in vitro és in silico módszerekkel történő tanulmányozására. 2023-ban elnyerte a Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíját, a támogatott kutatások célja az összefoglaló közleményben is bemutatott retrovírus-szerű fehérjék vizsgálata.



Tózsér József 1983-ban szerzett okleveles vegyész diplomát a Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetemen, majd 1988-ban egyetemi doktori fokozatot a Debreceni Orvostudományi Egyetemen. 1989-1991 között ösztöndíjjal az Egyesült Államokban, az NCI-Frederick Cancer Research and Development Center Molekuláris Virologiai és Karcinogenezis Laboratóriumában dolgozott Dr. Stephen Oroszlan irányításával. 1994-ben a biológiai tudományok kandidátusa, 2002-ben az MTA doktora címet szerezte meg, 2002-ben habilitált a Debreceni Egyetemen. 2013-tól a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet intézetigazgató egyetemi tanára. 1992 óta vezeti az általa alapított Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium kutatócsoportot, fő kutatási területe a retrovírusok életciklusának

biokémiai és enzimológiai tanulmányozása (különös tekintettel a virális proteázok funkciójának és tulajdonságainak vizsgálatára) és retrovírus alapú génterápiás vektorok fejlesztése. A kutatócsoportról bővebben olvashatnak a kutatócsoport honlapján (<https://lrb.med.unideb.hu>) vagy a Biokémia folyóirat 2018. évi összevont szeptember+december lapszámában (https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2018/2018_12.pdf).