

¹WISKOTT-ALDRICH SZINDRÓMA FEHÉRJE HOMOLÓG 2 DOMÉN: A KIRAKÓS SOKOLDALÚ ELEME

Bugyi Beáta

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biofizikai Intézet, Aktin Dinamika Kutatócsoport**

Összefoglalás

A WH2 (Wiskott-Aldrich szindróma fehérje (WASP; Wiskott-Aldrich syndrome protein) homológ 2) domén fehérjecsalád az aktin sejtvázas szabályozásában tölt be változatos szerepet. A család egy érdekes csoportját alkotják a tandem-WH2 domén fehérjék, amelyek multifunkcionális sajátságokkal bírnak. Az elmúlt évek átfogó vizsgálatai a WH2 domén – aktin kölcsönhatás funkcionális és szerkezeti vonatkozásainak számos új elemét tárták fel. Az eredmények két izgalmas irányvonalat is nyitottak a WH2 domének aktivitásait meghatározó biológiai modulok kapcsán.

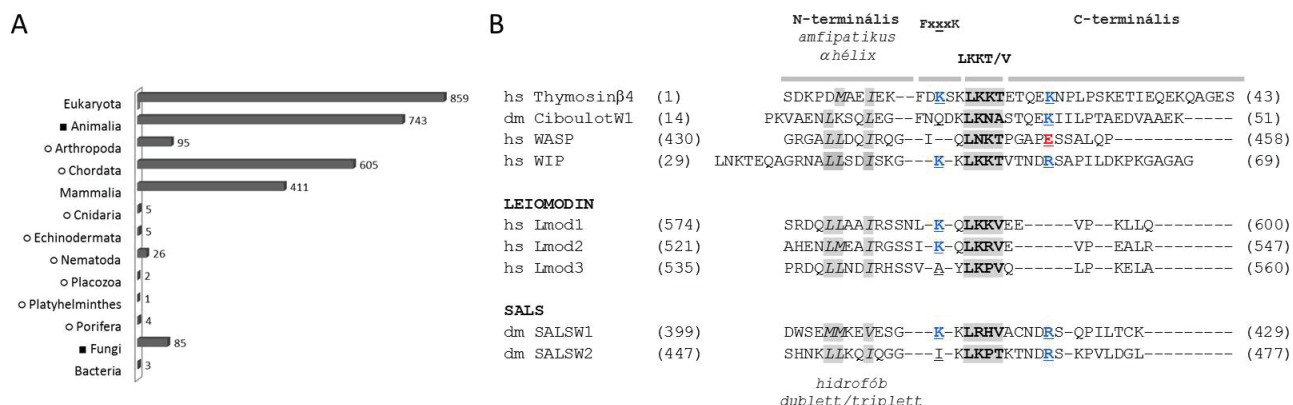
A WH2 domén fehérjecsalád

Az aktin sejtvázas biológiai működésében tetten érhető funkcionális polimorfizmusnak egyik fontos eleme az aktin-asszociált fehérjék aktivitásainak sokszínűségében rejlik. Az aktin sejtvázas szabályozásában különleges helyet foglalnak el a WH2 domén fehérjék. A WH2 domént elsőként a WASP/Scar (suppressor of cAMP receptor protein)/WAVE (WASP-family verprolin homologous protein) fehérjékben azonosították. A fehérjecsalád azóta számos taggal bővült, amelyek különböző biológiai folyamatokban töltenek be alapvető szerepet [1, 2]. A SMART (Simple Modular Architecture Research Tool) adatbázis több mint 800 WH2 domén fehérjét tartalmaz, amelyeknek közel fele emlősökben fordul elő (1.A ábra).

A WH2 domén egyike a legrövidebb aktin-kötő régióknak, mindössze 20 – 50 aminosav alkotja, amelynek összetétele jellemzően igen változatos a fehérjecsalád egyes tagjaiban. A domén központi konszenzus LKKT/V aminosavait egy konzervált N-terminális (10 – 20 aminosav), egy linker régió (FxxxK), valamint egy variábilis összetételű és hosszúságú C-terminális szakasz (5 – 25 aminosav) fogja közre (1.B ábra).

A fehérjecsalád tagjaiban a WH2 domének előfordulhatnak izoláltan vagy akár tandem módon (2 – 4 domén) más szerkezeti elemekkel modulokba rendeződve [1]. A WH2 domén fehérjék prototípusának tekintett thymosin β 4 (T β 4) fehérjét például egyetlen WH2 domén alkotja. Hasonlóan egy domént találunk több, az Arp2/3 komplex aktivációs kaszkádjában résztvevő fehérjében (WASP, WAVE2, WASH, RickA, ActA) és az izom specifikus Leiomodinban (Lmod). A tandem-WH2 fehérjék közé tartozik a *Drosophila melanogaster* sarcomere length short (SALS, 2¹) és a Ciboulot (3), valamint a Cordon Bleu (3), a Spire (4) és a bakteriális *Vibrio cholerae/parahaemolyticus* VopF/VopL (3) [1, 3].

¹ A zárójelben megadott számok a WH2 domének számát jelentik.



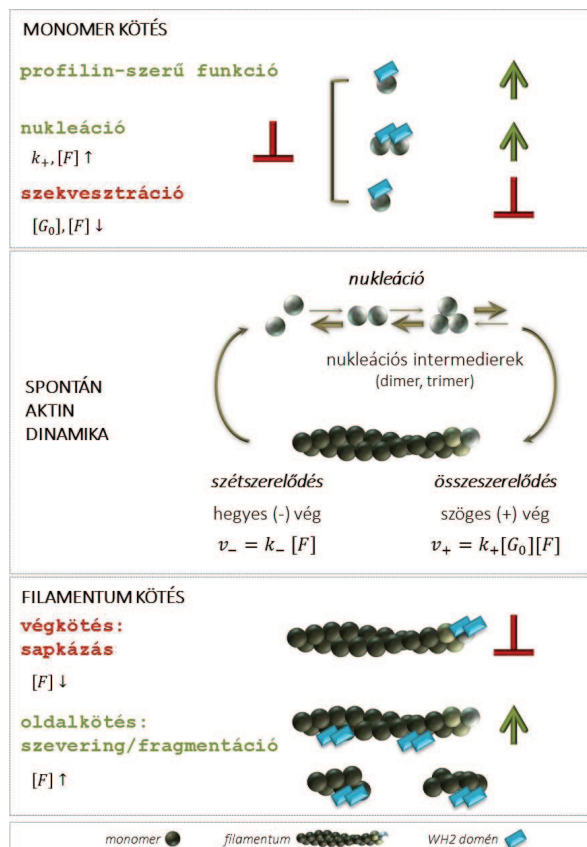
1. ábra. (A) A WH2 domén fehérjék taxonómiai eloszlása (SMART adatbázis azonosító: SM00246). (B) Különböző fehérjék WH2 doménjeinek aminosav összetétele. hs: homo sapiens, dm: *Drosophila melanogaster*. Szekvencia azonosítók: thymosinβ4 (NP_066932.1), Ciboulot (NP_525065.1), WASP (NP_000368.1), WIP (O43312) Lmod1 (NP_036266), Lmod2 (NP_997046.1), Lmod3 (NP_938012), SALS (NP_001163588.1).

A WH2 domének az aktin dinamikájának szabályozásában

Az elmúlt évek átfogó biokémiai és biofizikai vizsgálatai felderítették, hogy az egyes WH2 domének az aktin dinamikáját különböző aktivitások révén képesek befolyásolni. Ezek összetettségét fokozza, hogy a tandem-WH2 fehérjék, mivel mind az aktin monomerekkel (G-aktin), mind pedig a filamentumokkal (F-aktin) is képesek kölcsön hatni, ezen aktivitások kombinációjával rendelkeznek, így az aktin dinamikájára komplex hatást gyakorolnak (2. ábra). Ennek háttérében álló funkcionális és szerkezeti elemek felderítése kihívást jelentő, ugyanakkor rendkívül inspiráló feladat az aktin kutatás biokémiai és biofizikai műhelyei számára.

A WH2 domének rendelkezhetnek szekvesztráló, profilin-szerű, nukleációs, fragmentációs/szevering és/vagy sapkafehérje-szerű aktivitásokkal. A monomer kötés révén gátolhatják azok filamentumba szerveződését (szekvesztráció), vagy éppen ellenkezőleg; hozzájárulhatnak a monomereknek a filamentum szöges végén való irányított beépüléséhez (profilin-szerű aktivitás), valamint katalizálhatják a nukleáció fázisát (nukleációs aktivitás). A filamentum-oldalkötés révén elősegítik azok szétszerelődését (fragmentáció/szevering). Míg a filamentum-végkötés funkcionális kimenetele a monomerek asszociációjának és disszociációjának együttes gátlása (sapkafehérje-szerű funkció).

Összetettsége miatt a WH2 domén : aktin kölcsönhatás funkcionális és szerkezeti elemeinek felderítése sokrétű kísérleti stratégiát kíván. Funkcionális szempontból az egyik nehézséget az okozza, hogy az aktin *in vitro* dinamikájának mind kinetikai, mind pedig steady-state vizsgálati eszköztára a fenti aktivitásokra hasonlóan érzékeny lehet (3. ábra) [4]. A nukleáció és a fragmentáció esetén a szabad filamentum végek számának növekedése miatt a monomerek filamentumba épülésének kinetikája gyorsabb. Míg a szekvesztráció és a vég-kötés, bár eltérő mechanizmusok miatt (a szabad monomerek, illetve a filamentum végek koncentrációjának csökkentése révén) a monomer – filamentum átalakulás sebességét lassítja. Az aktivitások kombinációja esetén a fenti kép még összetettebb, azok azonosítása átfogó mennyiségi elemzés révén lehetséges.



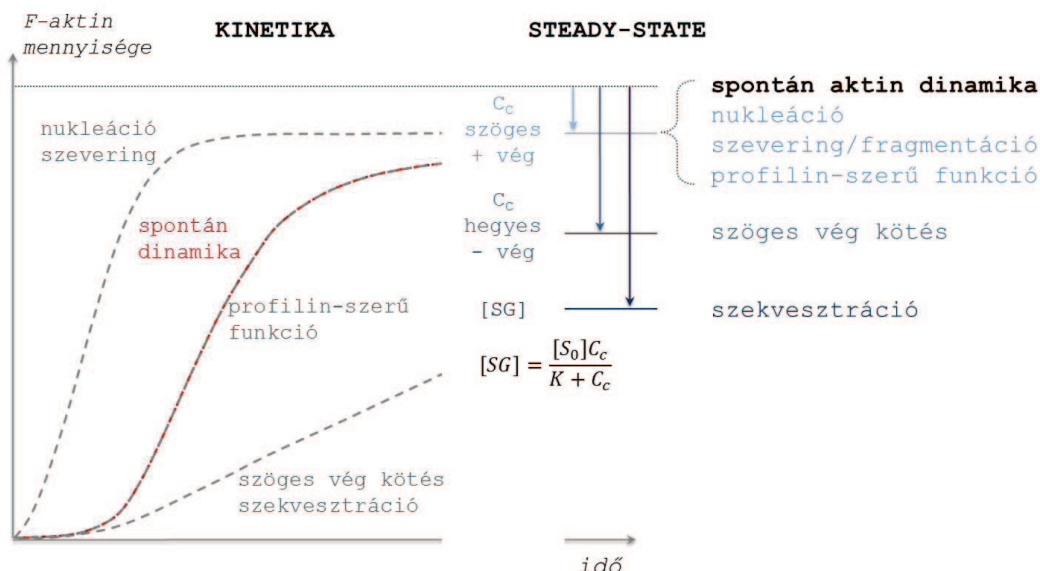
2. ábra. WH2, egy multifunkcionális modul az aktin dinamika szabályozásában. A WH2 domének aktivitásait összefoglaló sematikus ábra. v_+ és v_- jelöli az aktin filamentumok össze-, illetve szétszerelődésének sebességét, k_+ az aktin monomerek filamentumba épülését jellemző asszociációs sebességi állandó, k_- az aktin monomerek filamentumról való leválását jellemző disszociációs sebességi állandó, $[G_0]$ és $[F]$ az aktin monomerek, illetve filamentum végek koncentrációját jelöli.

A WH2 domén : aktin kölcsönhatás szerkezeti és funkcionális sokszínűsége

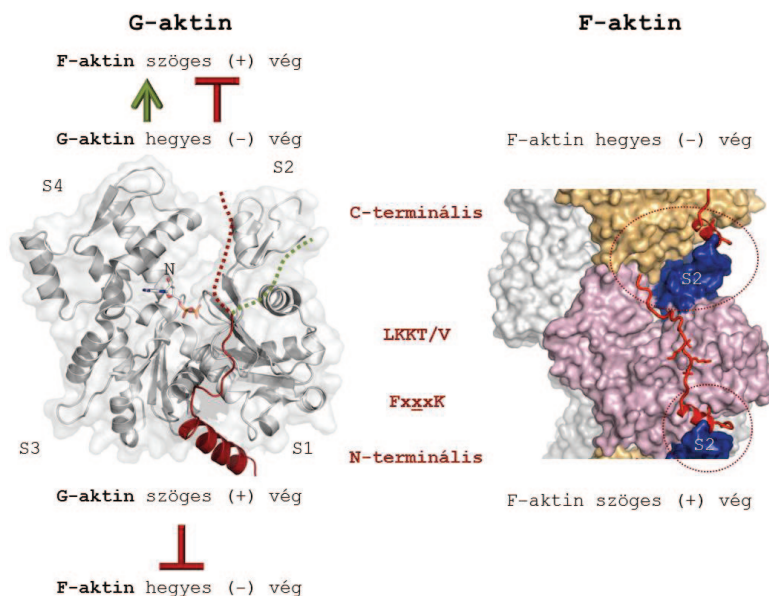
A WH2 domén egyik figyelemreméltó sajátossága, hogy oldatban, a kötőpartner hiányában nem mutat másodlagos szerkezeti elemeket, azaz rendezetlen fehérjerégió (IDR; intrinsically disordered region), azonban az aktinhoz való kötődése bizonyos régiók feltekeredését idézi elő [5].

WH2 : aktin monomer kölcsönhatás

Az izolált egyedi WH2 domének az aktin monomerekkel 1 : 1 sztöchiometriájú komplexet képeznek, a kölcsönhatás tipikusan nM - μ M-os disszociációs egyensúlyi állandóval jellemezhető. Átfogó NMR, SAXS (small-angle X-ray scattering) és röntgenkristallográfián alapuló vizsgálatok a WH2 : G-aktin kölcsönhatás számos szerkezeti aspektusát derítették fel (4. ábra, bal panel) [6, 7]. A WH2 domén N-terminális szakasza az aktin monomerekhez való kötődés révén α -helikális szerkezetet vesz, amely mindig amfipatikus természetű. A komplex stabilitásának egyik záloga az amfipatikus α -hélix hidrofób aminosavai és az aktin monomer 1-es (S1) és 3-as (S3) szubdoménjei (szöges vagy (+) vég) közötti hidrofób zsebbel kialakított kapcsolat. (Az aktin molekula S1 és S3 szubdoménjei által alkotott hidrofób zseb központi kötőhely számos más partnerfehérje számára is [8, 9].) A WH2 N-terminálisának konzervált valin, izoleucin, leucin és/vagy metionin alkotta hidrofób dublettje/triplettje ebben meghatározó szerepet játszik (1.B ábra).



3. ábra. A WH2 domének aktivitásainak hatása a monomer : filamentum egyensúly kinetikai és steady-state aspektusaira. Piros vonal jelöli az aktin filamentumok spontán összeszerelődésének kinetikáját. Szürke szaggatott vonalak jelölik az egyes aktivitásokra jellemző kinetikákat a feliratok szerint. C_c (szögcs, + vég) és C_c (hegyes, - vég) az aktin filamentum szögcs, illetve hegyes végének kritikus koncentrációját jelöli. [SG] a szekvesztráló fehérje : aktin komplex koncentrációját jelöli, $[S_0]$ a szekvesztráló fehérje teljes koncentrációja és K a komplex disszociációs egyensúlyi állandója.



4. ábra. (Bal panel) A WH2 domén : aktin monomer komplex szerkezete (PDB kód: 1SQK). Az aktin monomert szürke, a WH2 domén N-terminális szakaszát piros szín jelöli. A szaggatott zöld és piros vonalak a C-terminális flexibilis, illetve korlátozott szerkezeti dinamikáját reprezentálják. Az aktin monomer szubdoménjeit S jelöli. A nukleotid-kötő zsebet N jelöli. **(Jobb panel) a tandem-WH2 domén : F-aktin komplex szerkezeti modellje.** Szaggatott piros rész jelöli a Holmes-féle F-aktin szerkezettel való összeférhetetlenségeket.

A WH2 domének helikális N-terminálisa és a G-aktin szögcs vége közötti kölcsönhatás térben megakadályozza az aktin alegységek közötti longitudinális kapcsolatok kialakítását, emiatt a WH2 : G-aktin komplex asszociációja a filamentumok hegyes végén gátolt (4. ábra, bal panel). A másik fontos eleme

a kölcsönhatásnak az LKKT/V szakasz, amely az aktin monomer nukleotid-kötő zsebének irányába nyúlik. A domén C-terminálisa, amelynek rendezetlensége általában megmarad a komplexben is, az aktin monomer 2-es (S2) és 4-es (S4) szubdoménjével (hegyes vagy (-) vég) alakít ki kölcsönhatást. A szegmens szekvenciájában és hosszában megfigyelhető variabilitás miatt a G-aktinnal kialakított kölcsönhatását konformációs flexibilitás jellemzi. A C-terminális régió részleges feltekeredését eddig egyetlen esetben figyelték meg. A T β 4 : G-aktin atomi felbontású szerkezetében a C-terminális α -hélix szerkezetet mutat, amely a monomer hegyes végén nyúlik végig [7]. Ez a szerkezeti elem (hasonlóan az N-terminális hélixhez) ugyancsak gátolja a longitudinális aktin-aktin kapcsolatok kialakítását. Így a T β 4 : G-aktin komplex asszociációja a filamentum mindkét végén gátolt, ami szevering aktivitással ruházza fel a fehérjét [10].

A közelmúltban a pontmutációt hordozó, illetve kiméra WH2 domének aktinnal alkotott komplexeinek vizsgálatai felderítették, hogy a fentiekben bemutatott globális elvek mellett több lokális szerkezeti különbség is megfigyelhető [6]. Ezek főként az LKKT/V szakaszt övező régiókra korlátozódnak. Az N-terminális irányban található FxxxK linker központi aminosava (lizin), illetve a C-terminális irányban levő 5. aminosav (arginin) az aktin 334, illetve 93 pozíciójában található glutaminsavjaival sóhidat alakítanak ki, ami a C-terminális dinamikáját korlátozza. Ezen aminosavak mutációi (K $\rightarrow$ Q, illetve R $\rightarrow$ N/E) révén a komplex stabilitását tekintve kedvezőtlenebb elektrosztatikus kölcsönhatások alakulnak ki, ami a C-terminális rész konformációs flexibilitását növeli [6, 11]. Ezen szerkezeti elemekben megfigyelhető lokális változatosság funkcionális szempontból is jelentőséggel bírhat; a szekvesztráló és profilin-szerű aktivitások finomhangolása közötti kapcsolót jelentheti.

A tandem-WH2 fehérjék több aktin monomerrel a domének számától függő sztöchiometriájú komplexet alkotnak [10]. Bizonyos fehérjék szekvesztráló aktivitást mutatnak, ugyanakkor nukleációs aktivitással is rendelkezhetnek (például Cordon Bleu, Spire, VopF/VopL) [12-14]. Bár a nukleációs aktivitásuk *in vitro* kevésbé hatékony, mint a klasszikus nukleációs faktorokhoz tartozó Arp2/3 komplex és formin fehérjecsald tagjaié [3]. Az aktin dinamikája szempontjából két teljesen ellentétes aktivitás megléte különösen izgalmas.

Förster rezonancia energia transzfer méréseken alapuló fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálataink arra utalnak, hogy a tandem-WH2 fehérjék által kötött oligomerben az aktin molekulák orientációja eltér az F-aktinra jellemző konformációtól. Összhangban ezzel, a Spire 4 WH2 doménje és a Cordon Bleu 2 WH2 doménje által kötött aktin tetramer, illetve dimer atomi felbontású szerkezete is a protomerek filamentumtól eltérő orientációját derítette fel [15, 16].

Ez arra enged következtetni, hogy a tandem-WH2 fehérjék által kötött aktin oligomerek a filamentum képződés szempontjából inaktív nukleációs intermediereknek tekinthetők, ami a szekvesztráló aktivitásuk szerkezeti alapjait jelentheti.

A nukleációs aktivitás hátterében álló molekuláris mechanizmusok szerkezeti részletei ismertek talán a legkevésbé. A polimerizáció szempontjából aktív nukleációs intermedier a tandem-WH2 : aktin szekvesztrációs komplex átrendeződését feltételezi. Mi idézheti elő ezt a strukturális változást? Ismeretes, hogy bizonyos WH2 domén fehérjék (pl. T β 4, Ciboulot, Spire) az affinitásbeli különbségek miatt preferenciálisan az ATP-G-aktinhoz kötődnek az ADP-G-aktinnal szemben. Ezt alapul véve vonzó elképzelés, hogy az oligomereket alkotó aktin protomerek fokozott enzimatis aktivitása miatt a viszonylag gyors ATP hidrolízis és foszfát csoport leválása a tandem-WH2 domének teljes vagy részleges disszociációját idézheti elő [15]. Így az aktin ATPáz aktivitása kapcsolót jelenthet a szekvesztráló és nukleációs aktivitás között. Fontos megjegyezni, hogy a Spire, a Cordon Bleu és a VopF/VopL biokémiai aktivitásaiban és felépítésében megfigyelhető eltérések miatt ez nem tekinthető általános mechanizmusnak. A Spire nem befolyásolja jelentősen az aktin ATPáz aktivitását, ami az „ATPáz-kapcsoló” mechanizmussal összeegyeztethető [12]. Ugyanakkor a Cordon Bleu lassítja az enzimatis ciklust [13]. Mindemellett a Cordon Bleu 3 WH2 doménje önmagában szekvesztráló aktivitást mutat, a hatékony nukleációs aktivitáshoz a doménektől N-terminális irányban található lizin gazdag régió is nélkülözhetetlen [13]. Hasonlóan, a VopF/VopL WH2 doménjei az azoktól C-terminális irányban található dimerizációs domén hiányában csupán szekvesztráló aktivitást mutatnak [14]. Ezek a megfigyelések a WH2 domént övező modulok szerkezeti és funkcionális jelentőségére hívják fel a figyelmet (*lásd Perspektívák*).

WH2 : F-aktin kölcsönhatás

In vitro vizsgálatok szerint a WH2 domének az aktin filamentumokkal is képesek kölcsönhatást kialakítani, ennek szerkezeti aspektusairól azonban lényegesen kevesebbet tudunk, mint a monomerrel való kölcsönhatásukról. Az eddigi vizsgálatok szerint bizonyosnak tűnik, hogy jelentős affinitású kötés kialakításához egy WH2 domén mellett egy másik aktin kötő régió is szükséges. Ezek lehetnek további tandem módon elhelyezkedő WH2 domén(ek) (például a Spire és a SALS esetén) vagy más természetű aktin kötő modulok (például a Leiomodin esetén). A domén WH2 : G-aktin komplexből ismert szerkezetének a Holmes F-aktin modellre való dokkolásával két fő ponton tártunk fel összeférhetetlenséget [10]. A filamentumban a szöges vég hidrofób zsebe a szomszédos aktin protomer hegyes végével a filamentum szerkezetét stabilizáló kölcsönhatások kialakításában vesz részt. Ezek a longitudinális kapcsolatok a WH2 N-terminális α -hélixének kötőhelyét részben elfedik. Másrészt, a tandem-WH2 domének C-terminálisa jellemzően ugyan kitekeredett, azonban rövid aminosav lánc. Ennek rövidsége miatt a fehérjelánc egyszerűen fizikailag nem elég hosszú ahhoz, hogy két szomszédos aktin protomert átfogjon.

A fenti megállapításainkat különböző hosszúságú C-terminális régiót tartalmazó WH2 domének aktinnal alkotott komplexeinek későbbi röntgenkristallográfiás és SAXS vizsgálatai megerősítették [15, 16].

A fenti inkompatibilitások csak az F-aktin helikális szerkezetének jelentős mértékű torzításával oldhatóak fel. Ezek alapján a tandem-WH2 domének oldalkötése a longitudinális kapcsolatok gyengülését, az F-aktin helikális szerkezetének megbomlását eredményezheti, ami a filamentum destabilizációjához és szétszerelődéséhez vezet (szevering/fragmentáció).

WH2 domének moduláris fehérjékben és biológiai kontextusban

A WH2 domén fehérjékkel kapcsolatos megfigyelések két fontos, egymáshoz kapcsolódó kérdéskörre is felhívták a figyelmet. Hogyan jelenik meg a tandem-WH2 domének funkcionális sokszínűsége a biológiai működésükben? Hogyan járulnak hozzá a WH2 doméneket övező modulok azok funkcionális sokszínűségéhez?

A kutatások egyik fontos problémája annak felderítése, hogy biológiai kontextusban is tetten érhető-e a tandem-WH2 domén fehérjék multifunkcionális jellege, illetve hogy a WH2 domének *in vitro* aktivitásai közül melyek relevánsak az *in vivo* környezetben. Ehhez a kérdéshez kapcsolódó érdekes példa a Spire fehérje. *Drosophila* és egér modellben végzett *in vivo* vizsgálatok szerint a fehérje alapvető szerepet játszik a petesejt aktin hálózatának dinamikai szabályozásában [17]. A Spire hiánya az aktin hálózat idő előtti lebomlása révén a citoplazma dinamikus áramlását idézi elő, ami a petesejt polaritásának defektusához vezet. Ugyanez a fenotípus figyelhető meg a profilin és a formin fehérjék hiányában is [17-19]. *In vitro* vizsgálataink szerint a Spire 4 WH2 doménje, nukleációs aktivitása mellett, a profilin-aktin komplex filamentumba épülését gátolja, míg a szabad aktin monomerek asszociációját nem befolyásolja [12]. A formin fehérjecsaldáról ismert, hogy befolyásolva az asszociációs sebességi állandókat hatékonyabban építi a filamentumba a profilin-aktin komplexet, mint a szabad aktin monomereket [20]. Annak érdekében, hogy felderítsük azt, hogy az egyedi fehérjék ismert biokémiai aktivitásai közül melyek dominálnak, illetve azok kombinációja milyen funkcionális kimenetelt eredményez együttes jelenlétükben biomimetikus vizsgálatokat végeztünk. A módszertan lényege abban áll, hogy a rekombináns fehérjék aktivitásait a biológiai folyamatot rekonstruáló, sejtmentes, jól szabályozott biokémiai környezetben, az összes vizsgált fehérje együttes jelenlétében tanulmányozzuk. Eredményeink szerint a Spire-kötött filamentum végek preferenciája a szabad aktin monomerek felé fokozza a profilin-aktin formin által katalizált filamentumba épülését [12, 21]. Így a három fehérje szinergikus kölcsönhatása egy dinamikus aktin hálózatot tart fent, ami egy lehetséges magyarázata lehet a Spire, formin és profilin *in vivo* felderített szerepének a petesejt aktin hálózatának dinamikai szabályozásában. A megfigyelés alapján felállított hipotézisünk szerint a Spire biológiai szempontból releváns funkciója nem a nukleációra, hanem a filamentum végek dinamikájára kifejtett hatása.

A WH2 domének gyakran moduláris fehérjék elemei, az őket övező modulok befolyásolhatják vagy akár megváltoztathatják a WH2 domének funkcionalitását. Klasszikus példaként említhető talán az Arp2/3 komplex aktivátora, a WAVE2 komplex, amelynek egyetlen WH2 régiója *in vitro* mérsékelt szekvesztráló aktivitással rendelkezik. Azonban a WAVE a WH2 C-terminálisának közelségében

található CA (connector, acidic) régiói révén képes az Arp2/3 komplexhez kötődni, így a WH2 által kötött aktin monomer az Arp2/3 komplex actin-related 2 és 3 alegységével egy trimert formálva járul hozzá az Arp2/3 nukleációs aktivitásához [3, 22]. A Cordon-bleu 3 WH2 doménje szekvesztráció révén gátolja az aktin filamentumok összeszerelődését és nem befolyásolja azok szétszerelődését *in vitro*. Érdekes módon a WH2 doménektől N-terminális irányban található lizin-gazdag régió jelenléte a WH2 doméneket nukleációs és szevering aktivitással ruházza fel [13]. Hasonlóan a Leiomodin nukleációs aktivitásához, az egyedüli WH2 doménje nem elégséges, az aktivitás kialakításában fontos szerepet játszik a WH2 domén és a tőle N-terminális irányba található további aktin-kötő helyek közötti szinergia [23]. A *Drosophila* specifikus SALS *in vivo* vizsgálatai arra engednek következtetni, hogy a fehérjének a vázizom szarkomerikus aktin filamentumainak megfelelő rendezettségének és hosszának kialakításában van szerepe [24]. Jelenleg folyó vizsgálatink szerint azonban a SALS WH2 doménjeinek aktivitásai nem rekonstruálják a teljes hosszúságú fehérje biológiai funkcióját, ami a fent említett példákhoz hasonlóan arra utal, hogy további modulok is meghatározó szerepet játszhatnak a WH2 domének aktivitásainak szabályozásában.

Érdekes módon, a WH2 domének közvetlen környezetében található gyakori modul egy prolin-gazdag régió, amely a WH2 doméntől N-terminális irányban helyezkedik el. Ismeretes, hogy a prolin-gazdag régió más aktin-asszociált fehérjékben (pl. forminok) az aktin monomer-kötő profilin fehérjével alakít ki kölcsönhatást [20]. Az eddigi vizsgálatok szerint a profilin nem befolyásolja sem a Leiomodin, sem a SALS WH2 doménjeinek az aktin dinamikára kifejtett hatását. Elképzelhető, hogy flexibilis elemként szerkezeti jelentőséggel bír a WH2 domének funkcionálisának kialakításában. Ennek tisztázása azonban további vizsgálatokat igényel.

Perspektívák

A klasszikus WH2 domén fehérjék mellett az újonnan azonosított tandem-WH2 fehérjék egy sokszínű elemmel gazdagítják az aktin sejtvázas szabályozó fehérjék repertoárját. Az elmúlt 10 év átfogó vizsgálatai a WH2 domén fehérjecsalád fizikai-kémiai sajátosságainak számos aspektusát azonosították, amely révén a funkcionális sokszínűségük hátterében álló molekuláris kép újabb árnyalatokkal gazdagodott. A WH2 domén multifunkcionális adaptálódásának alapjául szolgáló szerkezeti és funkcionális irányelvek további részleteinek feltárása a jövőbeli kutatások fontos irányvonalait jelenthetik. Ezek közé tartozik a tandem-WH2 domének aktin oligomerekkel/filamentumokkal alkotott komplexeinek részletes szerkezeti, valamint biológiai relevanciájának vizsgálata. Izgalmas kérdéskört jelent, hogy a WH2 domént övező modulok milyen molekuláris mechanizmusok révén hangolják azok aktivitását. Szinte feltáratlan téma, hogy az aktin sejtvázas szabályozó fehérjéi akár az aktinnal, akár a WH2 domén fehérjék más régióival kölcsönhatva hogyan vesznek részt azok aktivitásának szabályozásában. Ezen kérdéskörök vizsgálata minden bizonnyal hozzájárul a WH2 domén fehérjecsalád szerkezeti és funkcionális sokoldalúságának pontosabb megismeréséhez.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Irodalomjegyzék

- [1] Carlier, M. F., Husson, C., Renault, L. & Didry, D. (2011) Control of actin assembly by the WH2 domains and their multifunctional tandem repeats in Spire and Cordon-Bleu. *Intern Rev Cell Mol Biol*, **290**: 55-85.
- [2] Paunola, E., Mattila, P. K. & Lappalainen, P. (2002) WH2 domain: a small, versatile adapter for actin monomers. *FEBS Letters*, **513**: 92-7.
- [3] Bugyi, B. & Carlier, M. F. (2010) Control of actin filament treadmilling in cell motility. *Annu Rev Biophys*, **39**: 449-70.
- [4] Hertzog, M. & Carlier, M. F. (2005) Functional characterization of proteins regulating actin assembly. *Curr Protoc Cell Biol*, Chapter **13**: Unit 13 6.
- [5] Renault, L., Deville, C. & van Heijenoort, C. (2013) Structural features and interfacial properties of WH2, beta-thymosin domains and other intrinsically disordered domains in the regulation of actin cytoskeleton dynamics. *Cytoskeleton (Hoboken)*, **70**: 686-705.
- [6] Didry, D., Cantrelle, F. X., Husson, C., Roblin, P., Moorthy, A. M., Perez, J., Le Clainche, C., Hertzog, M., Guittet, E., Carlier, M. F., van Heijenoort, C. & Renault, L. (2012) How a single residue in individual beta-thymosin/WH2 domains controls their functions in actin assembly. *EMBO*, **31**: 1000-13.
- [7] Hertzog, M., van Heijenoort, C., Didry, D., Gaudier, M., Coutant, J., Gigant, B., Didelot, G., Preat, T., Knossow, M., Guittet, E. & Carlier, M. F. (2004) The beta-thymosin/WH2 domain; structural basis for the switch from inhibition to promotion of actin assembly, *Cell*, **117**: 611-23.
- [8] Hild, G., Bugyi, B. & Nyitrai, M. (2010) Conformational dynamics of actin: effectors and implications for biological function. *Cytoskeleton (Hoboken)*, **67**: 609-29.
- [9] Hild, G., Kalmar, L., Kardos, R., Nyitrai, M. & Bugyi, B. (2014) The other side of the coin: functional and structural versatility of ADF/cofilins. *Europ J Cell Biol.*, **93**: 238-51.
- [10] Renault, L., Bugyi, B. & Carlier, M. F. (2008) Spire and Cordon-bleu: multifunctional regulators of actin dynamics. *Trends Cell Biol*, **18**: 494-504.
- [11] Boquet, I., Boujemaa, R., Carlier, M. F. & Preat, T. (2000) Ciboulot regulates actin assembly during Drosophila brain metamorphosis. *Cell*, **102**: 797-808.

- [12] Bosch, M., Le, K. H., Bugyi, B., Correia, J. J., Renault, L. & Carlier, M. F. (2007) Analysis of the function of Spire in actin assembly and its synergy with formin and profilin. *Mol Cell*, **28**: 555-68.
- [13] Husson, C., Renault, L., Didry, D., Pantaloni, D. & Carlier, M. F. (2011) Cordon-Bleu Uses WH2 Domains as Multifunctional Dynamizers of Actin Filament Assembly. *Mol Cell*, **43**: 464-77.
- [14] Pernier, J., Orban, J., Avvaru, B. S., Jegou, A., Romet-Lemonne, G., Guichard, B. & Carlier, M. F. (2013) Dimeric WH2 domains in Vibrio VopF promote actin filament barbed-end uncapping and assisted elongation, *Nature Structur & Mol Biol*, **20**: 1069-76.
- [15] Chen, X., Ni, F., Tian, X., Kondrashkina, E., Wang, Q. & Ma, J. (2013) Structural basis of actin filament nucleation by tandem W domains. *Cell reports*, **3**: 1910-20.
- [16] Sitar, T., Gallinger, J., Ducka, A. M., Ikonen, T. P., Wohlhoefer, M., Schmoller, K. M., Bausch, A. R., Joel, P., Trybus, K. M., Noegel, A. A., Schleicher, M., Huber, R. & Holak, T. A. (2011) Molecular architecture of the Spire-actin nucleus and its implication for actin filament assembly, *Proc Natl Acad Sci(USA)*, **108**: 19575-80.
- [17] Dahlgard, K., Raposo, A. A., Niccoli, T. & St Johnston, D. (2007) Capu and Spire assemble a cytoplasmic actin mesh that maintains microtubule organization in the Drosophila oocyte, *Dev Cell*. **13**, 539-53.
- [18] Manseau, L., Calley, J. & Phan, H. (1996) Profilin is required for posterior patterning of the Drosophila oocyte, *Development*. **122**, 2109-16.
- [19] Manseau, L. J. & Schupbach, T. (1989) cappuccino and spire: two unique maternal-effect loci required for both the anteroposterior and dorsoventral patterns of the Drosophila embryo, *Genes Dev*. **3**, 1437-52.
- [20] Barko, S., Bugyi, B., Carlier, M. F., Gombos, R., Matusek, T., Mihaly, J. & Nyitrai, M. (2010) Characterization of the biochemical properties and biological function of the formin homology domains of Drosophila DAAM, *J Biol Chem*. **285**, 13154-69.
- [21] Romet-Lemonne, G., Helfer, E., Delatour, V., Bugyi, B., Bosch, M., Romero, S., Carlier, M.-F., Schmidt, S. & Fery, A. (2009) Biomimetic Systems Shed Light on Actin-Based Motility Down to the Molecular Scale, *Biophysical Reviews and Letters*. **4**, 5-15.
- [22] Bugyi, B., Le Clainche, C., Romet-Lemonne, G. & Carlier, M. F. (2008) How do in vitro reconstituted actin-based motility assays provide insight into in vivo behavior?, *FEBS Lett*. **582**, 2086-92.
- [23] Chereau, D., Boczkowska, M., Skwarek-Maruszewska, A., Fujiwara, I.,

Hayes, D. B., Rebowski, G., Lappalainen, P., Pollard, T. D. & Dominguez, R. (2008) Leiomodin is an actin filament nucleator in muscle cells, *Science*. **320**, 239-43.

[24] Bai, J., Hartwig, J. H. & Perrimon, N. (2007) SALS, a WH2-domain-containing protein, promotes sarcomeric actin filament elongation from pointed ends during *Drosophila* muscle growth, *Dev Cell*. **13**, 828-42.



Bugyi Beáta a Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Karán szerzett fizika-matematika szakos tanári diplomát 2003-ban. Ph.D. fokozatát 2006-ban szerezte meg a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében. Ezt követően 2006-2010 között posztdoktori időszakot töltött az aktin kutatás egyik világszinten is kiemelkedő biokémiai műhelyében, Marie-France Carlier laboratóriumában (Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS, Gif-sur-Yvette, Franciaország). 2010-től újra a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében tevékenykedik az Aktin Dinamika Kutatócsoport vezetőjeként. Kutatási területe az aktin sejtvázs szabályozó fehérjéinek funkcionalitásában meghatározó fizikai-kémiai sajátságok molekuláris elemeinek vizsgálata. Munkáját az elmúlt egy évben az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával megvalósuló TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program Magyary Zoltán posztdoktori ösztöndíjjal támogatta.