

# Az Aktin Filamentumok Hosszát Szabályozó Fehérjék Szerkezeti Dinamikája és Élettani Szerepük

**Szatmári Dávid Zoltán**

Témavezetők: Prof. Dr. Nyitrai Miklós, Prof. Dr. Robert C. Robinson

Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola D93

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Sümegi Balázs

Program (B-130): Funkcionális fehérjedinamika vizsgálata biofizikai módszerekkel

Program vezetője: Prof. Dr. Nyitrai Miklós



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Biofizikai Intézet

**Pécs, 2018**

## Irodalmi áttekintés

Az aktin egy 42 kDa-os globuláris fehérje. Az aktin az eukarióta sejtekben mikrofilamentumokat hoz létre, amik a citoskeletális rendszer fő komponensét képezik. Izomsejtekben, a vékony filamentumok fő tömegét az aktin filamentumok adják és a szarkomer egyfajta vázrendszereként működnek. In vivo az aktin G-aktinként (globuláris) monomerként vagy polimer formában F-aktinként (filamentális) van jelen. Mindkettő elengedhetetlenül fontos funkciót tölt be a sejt mobilitásában, összehúzódásában, osztódásában, intracelluláris transzport folyamatokban, jelátviteli folyamatokban és részt vesz a sejtek közötti kapcsolatok és a sejtalak fenntartásában. Egy lényeges szempont az aktin szerepében, hogy számos intracelluláris folyamatot az aktin és a sejtmembrán közötti kölcsönhatások szabályozzák. A gerincesekben három féle aktin izoforma fordul elő, az alfa, béta és gamma. Alfa aktint főként az izomszövetben találunk, ezek adják a kontraktilis egység fő tömegét. A béta és gamma aktin számos sejttypusban megtalálható mint a citoskeletális rendszert alkotó elemek és a belső sejtmozgások szabályozói. A sejtek kontrolálják a mikrofilamentumaik mennyiségét, azok dinamikus hosszával lehetővé válik a citoskeletális rendszer gyors átrendeződése, így tud a sejt gyorsan reagálni bármilyen külső vagy belső behatásra. Az aktin azon tulajdonsága, hogy hosszú filamentumokba polimerizálódik az alapja annak, hogy fontos szerepet tölt be több sejt folyamatban, mint például a morfogenezis, membrán kicserélődés és sejtosztódás. Erős sejtadhéziók a szövetképződés során, vagy struktúrfehérjék a membránkitüremkedésekben is képesek ehhez a vázhoz kihorgonyozódni így segítve az endocitózis és a citokinézis folyamatát. Az aktin polimerizációja során vagy a motorfehérjékkel közreműködve képes erőt generálni, így játszik fontos szerepet a vezikulák és organellumok intracelluláris transzportjában, izomösszehúzódásban, sejtmozgásban, embriogenezisben és fokozza a daganatos sejtek inváziós képességét. Ahhoz, hogy ennyire sokoldalú legyen, az aktin hálózat térbeli és időbeli elrendeződését számos aktin kötő fehérje szabályozza. Ezek a szabályzó faktorok képesek szétszerelni az óriási aktin struktúrákat és új, egy adott sejt folyamathoz szükséges szerkezetű aktin hálózat felépítését segítik. Ahhoz, hogy megértsük ezt az aktin alapú gépezetet, szükséges, hogy megvizsgáljuk a kötő fehérjék okozta aktin filamentumok konformációs és dinamikai változásait. Az aktin monomerek polimerizációja egy termikus diffúzió szabályozta folyamat. A monomerek spontán összekapcsolódását a magas magnézium és kálium koncentráció fokozza. A polimerizáció a nukleációval, néhány monomer összetapadásával kezdődik. A hajtó erő egy nem-egyensúlyi termodinamikai erő, a dimerek és trimerek entrópiája lecsökken a magas lokális monomer koncentráció miatt. Az aktin magok kialakulása után a filamentum növekedés (elongáció)

azonnal beindul, a filamentum két végén eltérő kinetikával. A gyorsan növekvő véget szakállas vagy plusz végnek, a lassan növekvőt pedig hegyes vagy negatív végnek nevezzük. A növekedés kinetikája függ a rendelkezésre álló szabad aktin monomerek koncentrációjától ( $C_{szabad}$ ) és a monomer-filamentum kötési rátától ( $k_a$ ). Végül, az elongáció egy reverzibilis dinamikus állapotot ér el, amiben a hossz növekedése nem számottevő. Ebben a szakaszban a polimerizáció egy steady-state egyensúlyba kerül, amit a monomer-polimer arány határoz meg és jellemzően, in vitro körülmények között, 0.1  $\mu$ M monomer koncentrációt tart fenn. Azonban az átlagos filamentum hossz nem változik a folyamatos aktin asszociáció és disszociáció következtében, a negatív végen inkább a disszociáció, míg a pozitív végen inkább az asszociáció dominál. Az aktin kötő fehérjék (ABP) képesek aktin monomert vagy polimert illetve mindkettőt kötni. Azonban nem csak az ABP-k de más kis molekulák is képesek aktinhoz kötni, így befolyásolva az aktin citoszkeleton dinamikáját és katalizálva az aktin filamentumok polimerizációját vagy depolimerizációját. Ezek nem feltétlen vannak hatással a tágabb értelemben vett sejtes folyamatokra, mint a sejt migráció vagy mechanoszenzoros érzékelés, de jól használhatók kísérleti célokra. Azon fehérjék, amik aktin filamentumot kötnek hatással lehetnek a filamentum össze- és szétszerelődésére, helyére és időbeli változására. Fiziológias körülmények mellett az aktin monomerek filamentumokba polimerizálódnak, de a spontán depolimerizáció túl lassú folyamat ahhoz, hogy befolyásolja az in vivo megfigyelt aktin filamentumok gyors dinamikáját. Gelsolin, aktin depolimerizációs faktor ADF/cofilin, és számos más aktin szevering/depolimerizáló fehérje gyorsítani tudja a filamentumok szétszerelődését és elősegíti az aktin citoszkeleton újrendeződését. Sok ABP, a G-aktin mennyiséget tudja szabályozni a monomerek szekvesztrálása vagy a nukleotid kicserélődésének gátlása/segítése révén. Az aktin kötő fehérjék szintén befolyásolják az aktin és más sejtkomponensek mint sejtmembrán, mikrotubulusok vagy más szabályzófehérjék kölcsönhatását. Miközben néhány aktin kötő fehérje szabályozza az aktin citoszkeleton, addig mások arra használják a kötött aktin monomereket vagy polimereket, hogy befolyásolják saját aktivitásukat vagy irányítsák saját lokalizációjukat. Strukturális sokszínűség jellemzi az aktin kötő fehérjéket, azonban az aktin kötő konzervatív doméneket (ABD) szerkezetük alapján csoportosítjuk. A következő ABD csoportokat különítjük el: kalponin-homológia domén (CH), leucinban gazdag ismétlődés domén (LRR), formin-homológia2 domén (FH2), WASp-homológia2 domén (WH2), aktin-depolimerizációs faktor/cofilin domén (ADF/cofilin), gelsolin-homológia domén, miozin motor domén. Az F-aktin hosszú szabályzó fehérjék intracelluláris funkciója, azok szerkezeti dinamikájával és fiziológiásan releváns komplexeivel van kapcsolatban, így a teljes citoszkeleton

átrendeződése vagy a vékony filamentumok hosszának optimalizálása a szükséges. A leiomodin izom specifikus, a gelsolin sokkal gyakoribb aktin kötő fehérje. Érdeklődésünk középpontjában ezen fehérjék szerkezeti változásai és az aktin kötésükhöz kapcsolható élettanilag fontos folyamatok állnak. Amíg a gelsolin egy szevering és sapkázó fehérje, addig a leiomodin nukleálja és elongálja az aktin polimerket. A gelsolin, főként a sejtmembrán  $\text{PIP}_2$ -ben gazdag részei közelében tartózkodik és tudjuk, hogy a  $\text{PIP}_2$  gátolja a gelsolin-aktin kölcsönhatást, eltávolítja a gelsolin sapkát a filamentum végéről. Így egyértelműnek tűnik a megállapítás, hogy a membrán  $\text{PIP}_2$  szigetei segítik a filamentum végzáró sapkák eltávolítását, ami egy gyors és irányított filamentum növekedést eredményez, így nyomja el a sejtmembránt. A gelsolin ATP kötésének felfedezése óta gondoljuk azt, hogy a gelsolin számos funkciói közül néhányban fontos szerepet játszhat az ATP. Magas kalcium koncentráció mellett a gelsolin teljes aktivitást mutat, megváltozott szerkezetének hatására veszíti el ATP kötő képességét. Az ATP kötött gelsolin szerkezete nagyobb kalcium érzékenységet mutat. A tropomodulinok és leiomodinok homológ doménekből épülnek fel. Mindkettő tartalmaz tropomiozin-kötő domént (TMBS1 és/vagy 2), egy aktin-kötő domént (ABS1) és egy leucinban gazdag ismétlődés domént (ABS2/LRR) ami szintén aktin monomert köt. Ezen homológiák mellett a leiomodin egy C-terminális nyúlvánnyal (C-term) hosszabb a tropomodulintól, ami tartalmaz egy prolinban gazdag régiót (PR, potenciálisan egy felismerési hely intracelluláris szignalizációs folyamatokban), egy helikális domént és egy Wiskott–Aldrich szindróma fehérje (WASP)–homológia2 (WH2) domént. Szívizom szarkomerekben a leiomodin2 és tropomodulin1 expressziója a miofibrillum érettségi szintjétől függ. Kalcium aktiválta gelsolin a pozitív véghez köt, míg a leiomodin a negatív véghez, de mindkettő képes a filamentum oldalához is kötni. Ez a két különböző F-aktin hossz szabályzó fehérje eltérő szerepet játszik abban, hogy hogyan változtatják meg az aktin filamentum polimerizációjának kinetikáját és dinamikáját. A gelsolin rövid sapkázott aktin polimereket mobilizál, míg a leiomodin az összehúzódáshoz szükséges aktomiozin komplexben stabilizálja a filamentumok optimális hosszát, de együttes szimultán funkciójuk eddig még nem vizsgált. Azonban több különböző adat együtteseként tudjuk jellemezni az izomsejtekben betöltött funkciójukat. Az aktivált gelsolin véletlenszerűen helyezkedik el a vékony filamentum mentén a szarkomerben és csökkenti azok hosszát, a tropomiozinnal versenyzik a kötőhelyekért a filamentumok mentén, így a gelsolin-tropomiozin komplex dinamikája befolyásolhatja a vékony filamentumok hosszát. A gelsolin fokozza az aktomiozin ATPáz aktivitását ami tropomiozin hatására növekszik, így egy kalciumtól független aktomiozin funkciót segítő fehérjekomplex jön létre. A leiomodin a szarkomer M-vonala

közelében illetve a vékony filamentum teljes hosszában megjelölhető. A leiomodin expressziója a miofibrillum érése során fokozódik majd a fehérje lokalizációjával egyre erősebben festődik. A leiomodinok többféle tropomiozin izoformához képesek kötni, így erősítik vagy gyengítik a leiomodin aktin polimerizációt fokozó hatását. Megállapították, hogy a tropomiozin befolyásolja a szívizom leiomodin2 hegyes vég kötő képességét, de nem befolyásolja a de novo nukleációs aktivitását, amit a leiomodin különböző állapotaihoz tartozó szerkezeti különbségei is magyaráznak. Egyelőre még nincs egyértelmű adat arra vonatkozóan, hogy a leiomodin miként kötődik a filamentum teljes hosszában és hatással van-e a miozin ATPáz aktivitására.

### **Célok**

A munkám célja volt, hogy több ismeretet gyűjtsünk az aktin filamentumok hosszát szabályozó fehérjék működéséről, elsősorban két különböző végkötő fehérjével foglalkoztam, a pozitív vég kötő citoplazmatikus gelsolinnal és a negatív véget kötő szívizom leiomodin2-vel. A hiányzó lépések tisztázásával, a gelsolin aktivációs ciklusa egyértelműen leírja a gelsolin szevering funkciójának szabályzását, így segítve a sejtmembrán közeli citoszkeletális rendszer átrendeződésének megértését. A szívizom leiomodin2 aktin filamentum hossz növelő és aktin-tropomiozin-miozin komplex módosító funkciójának mélyebb megértése érdekében további vizsgálatok voltak szükségesek. A főbb célok a következők: ATP és kalcium együttes hatásának vizsgálata a gelsolin PIP<sub>2</sub> kötésére. Azonosítani a gelsolin sejtmembrán és citoplazma közti aktivációs ciklusának hiányzó lépéseit. Karakterizálni a szívizom leiomodin2 belső struktúrális tulajdonságait és a tropomodulin1-től különböző C-terminális régióját. Megismerni a leiomodin2 aktint kötegelő hatékonyságát. Feltérképezni a leiomodin2 vékonyfilamentum oldalkötő képességét és funkcionális jelentőségét.

## **Anyagok és Módszerek**

### *Fehérjék előkészítése és jelölése*

Kalcium kötött G-aktin, nyúl vázizom acetoneforagásból lett izolálva Spudich és Watt által kidolgozott módszer alapján, aminek Mossakowska és munkatársai által módosított protokollját használtam. Vázizom tropomiozint (Tpm1.1/2.2) egy korábbi protokoll alapján preparáltam majd hidroxipatit kromatográfiával tisztítottam. A humán citoplazma gelsolin és mutánsai különböző pSY5 plazmid konstrukciók segítségével lettek expresszálva, mindegyik egy His-taget és az adott human gelsolin vagy mutánsai szekvenciáját tartalmazta, *E. coli* Rosetta2 (DE3) pLyS sejtekben.

A *Rattus norvegicus* szívizom leiomodin2 és C-terminális fragmentuma (373-549 as; Cterm) egy Twin-CN kitin-intein önhasító és tisztító rendszer segítségével lettek expresszálva és tisztítva. A pTyB1 plazmid DNS konstrukciókat Roberto Dominguez laborjából kaptuk.

Az aktin Cys-374 aminosavját Alexa488-maleimiddal vagy Alexa532-maleimiddal a gyártó által meghatározott protokoll alapján jelöltem meg, más mérésekhez IAEDANS-szel (5-(((2-iodoacetyl) amino) ethyl) amino) naphthalene-1-sulfonic acid) vagy IAF-fel (5-iodoacetoamidofluorescein) jelöltem, korábban ismertett protokoll alapján. A pirén (N-1-pyrene-iodoacetamide) jelölés szintén egy korábban kidolgozott standard protokoll alapján történt. Az aktin koncentrációját és a jelölés sikerességét abszorpciós fotometriával határoztam meg.

Alexa488-maleimiddal és Alexa532-maleimiddal jelöltem a gelsolin mutánsok ciszteinjeit (Cys93, Cys188, Cys201, Cys304 és Cys645) a gyártó által meghatározott protokoll alapján.

### *Membrán vezikulák preparálása*

Foszfolipid vezikulákat James H. Morrissey módosított protokollja alapján készítettem (Protocol from James H. Morrissey, Dept. of Biochemistry, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA). Annyiban módosítottam, hogy 1%-os PIP<sub>2</sub> (PtdIns-(4,5)-P<sub>2</sub>(1,2-dipalmitoyl)) 79%-os PC (L- $\alpha$ -phosphatidylcholine) és 20%-os PS (3-sn-phosphatidyl-L-serine) lipid keveréket 20  $\mu$ M rhodamin590 N-szukcinimidil észter tartalmú kloroform oldatban vettem fel.

### *Fluoreszcencia spektroszkópiás módszerek*

A leiomodin2 intrinszik triptofánjait használva, fluoreszcencia emisszió kapcsolt szerkezeti dinamika méréseket végeztem. Steady-state fluoreszcencia kioltási kísérlettel, Alexa488 jelölt mutáns gelsolinok szerkezeti dinamikáját karakterizáltam. Az Alexa488 fluorofór emissziójának kioltathatósága a jelölt gelsolin fehérjelánc hozzáférhetőségét jellemzi, kalcium, ATP vagy PIP<sub>2</sub>-vel alkotott komplexében. Steady-state anizotrópia mérésekkel jellemeztem

különböző, fluorofórral jelölt ATP és PIP<sub>2</sub> molekulák kötési dinamikáját. A leiomodin2 intrinszik triptofánjainak steady-state anizotrópia mérésével jellemeztem a leiomodin intradomén szerkezeti felxibilitását. A leiomodin intrinszik triptofánjain további fluoreszcencia élettartam és anizotrópia lecsengés méréseket végeztem kereszt-korrelációs fázis-modulációs módszerrel (ISS K2 multi-frekvenciás fázis fluoriméter). Tervezett gelsolin mutánsok interdomén FRET méréseivel további információt szereztem a gelsolin flexibilitásáról kálcium, ATP vagy PIP<sub>2</sub> kötés mellett. Inter-monomer FRET mérésekkel vizsgáltam az aktin filamentumok leiomodin2 oldalkötése által megváltozott flexibilitását. A leiomodin2 hatására megváltozó aktin polimerizációs tulajdonságainak vizsgálatára idő függő pirén-aktin emissziós méréseket végeztem. Az aktin polimerizációját jellemző kritikus koncentráció meghatározásához különböző koncentrációjú pirén-aktin oldatok emissziós vizsgálatát végeztem, leiomodin2 jelenlétében és hiányában. A leiomodin2 F-aktin kötődés kinetikáját leiomodin kötés hatására bekövetkező pirén jelölt F-aktin valós idejű emissziójának mérésével vizsgáltam, ún. stopped-flow gyorskinetikai módszerrel.

#### *Röntgen diffrakciós vizsgálatok, krisztallográfia*

Kálcium mentes gelsolin és Alexa488 jelölt mutáns gelsolin fehérjekristályokat hoztunk létre ún. sitting-drop vapor diffúziós módszerrel. Röntgen-diffrakciós mérésekkel meghatároztuk azok szerkezetét.

#### *PIP<sub>2</sub> kritikus micella képződési koncentrációjának meghatározása*

A PIP<sub>2</sub> 1-(1-octadecanoyl-fluorescein-2R-octadecanoylphosphatidyl)inositol-4,5-bisphosphate kritikus koncentrációjának meghatározására fényszórás méréseket végeztünk.

#### *Mikroszkópos képalkotás*

Konfokális fluoreszcencia mikroszkópos képalkotással vizsgáltam, hogy ATP hatására hogyan változik meg a rhodamin590-nel töltött PIP<sub>2</sub> tartalmú membránvezikulák felszínén kötött Alexa488-gelsolin molekulák mennyisége.

#### *Koszedimentációs vizsgálatok*

Magas sebességű koszedimentációs vizsgálatokkal jellemeztem a leiomodin2 F-aktin komplexek só függő kötési tulajdonságait.

#### *“Coupled assay”*

Coupled assay vizsgálatokkal jellemeztem a leiomodin hatását a HMM Mg<sup>2+</sup>-ATPáz aktivitására.

## Eredmények és megvitatásuk

### *A gelsolin aktivációs ciklusa*

Korábban már bizonyították, hogy ATP és PIP<sub>2</sub> versenyeznek a K<sub>ATP</sub> csatornák kötőhelyéért. Itt sikerült bemutatni, hogy az ATP képes leszorítani a PIP<sub>2</sub>-t a gelsolin kötőhelyéről is fiziológias puffer körülmények mellett in vitro. Mindemellett, foszfolipid vezikulák felszínén PIP<sub>2</sub>-kötött gelsolin fehérjét is képes az ATP leszorítani. Ebből következik, hogy a plazmamembrán felszínén kötött gelsolin fehérjék ATP hatására disszociálnak a PIP<sub>2</sub> molekulákról és ez az ATP indukálta disszociáció a hiányzó lépés a gelsolin aktivációs ciklusából, ami során átrendezi a membrán közeli aktin polimerket. Egyéb iránt az ATP vagy PIP<sub>2</sub> nem mindig kötődik gelsolinhoz. Azonban, ha a gelsolin sapkázott filamentumok a plazmamembrán felé mutatnak, akkor a filamentum pozitív végén kötött gelsolin mobilitása erősen korlátozott és a membránban lévő PIP<sub>2</sub> molekulák közelében a membrán átrendeződésével növeli a gelsolin lokális koncentrációját és klaszereket alakíthatnak ki. Ezen faktorok növelik a PIP<sub>2</sub> kötött gelsolin mennyiségét ezzel növelve a szabad végű filamentumok számát. Azt feltételezhetjük, hogy a szabad filamentumok közelében az ATP hatékonyan szorítja le a PIP<sub>2</sub> kötött gelsolint.

Az aktivációs ciklus szakaszai, standard sejtes körülmények között: Aktiváció, a szabad kalcium mennyisége 10 nM fölé emelkedik, ami a gelsolin szerkezeti változását okozza, így a kötött ATP disszociál és lehetővé teszi a gelsolin aktin filamentumhoz kötését. Szevering, a gelsolin-aktin kötés legyengíti az aktin-aktin kölcsönhatás erősségét ez a filamentum szeveringjéhez vezet. Sapkázás, a gelsolin a filamentum pozitív végéhez köt és megakadályozza annak elongációját. Szabad vég létrejötte, amikor a gelsolin sapkázott filamentum a plazmamembrán PIP<sub>2</sub> molekuláival találkozik, akkor a sapkázó fehérje egy ismeretlen folyamat révén leválik a filamentum végéről. A szabad végű aktin polimer elongációja így folytatódhat és erőt gyakorol a sejtmembránra. Leválás, a gelsolin az ATP molekulák révén leválik a plazmamembrán PIP<sub>2</sub> molekuláiról, ami az ATP-gelsolin szabad diffúziójához vezet. A gelsolin visszatér inaktív állapotába ha a kalcium koncentrációja visszaesik. Ezen a módon a gelsolin ATP szint függő módon válik le a sejtmembrán PIP<sub>2</sub> molekuláiról, hogy teret engedjen más PIP<sub>2</sub>-érzékeny aktin szabályozó fehérjéknek, majd újra lehetővé válik a gelsolin aktivációs ciklusa ha a PIP<sub>2</sub> mennyisége újra megnő.



### *A szívizom leiomodin2 szerkezeti dinamikája és funkciója*

Vizsgálataink alapján a patkány szívizom leiomodin2 (Lmod2) hasonló szerkezeti és funkcionális tulajdonságokkal rendelkezik, mint a humán leiomodin2. A patkány szívizom Lmod2 több rendezetlen szerkezetű flexibilis régióval rendelkezik, a homológ tropomodulin és más leiomodin izoformákhoz hasonlóan. Sikerült bizonyítani, hogy a Lmod2 hatással van az aktin dinamikájára és só függő módon növeli az aktin polimerizációját. Ebből arra következtethetünk, hogy a leiomodin2 fontos szerepet játszhat a vékony filamentumok összeszerelésében, ott ahol a tropomiozin és az érett aktin filamentumok már rendelkezésre állnak és nincs szükség újabb aktin polimerekre. Patkány szívizom sejtekben, a végkötéstől függetlenül, a Lmod2 az egész vékony filamentum mentén festődik de a szarkomer M-vonala közelében található a legnagyobb mennyiségben. Ezen megfigyelést alátámasztva sikerült megmutatni, hogy *in vitro* a Lmod2 a filamentumok oldalához is képes kötni. Illetve az oldalkötés hatására az aktin filamentum rugalmassága fokozódik. Mindamelllett a gelsolin ilyen jellegű hatásától eltérően, az F-aktinhoz kötött Lmod2 lecsökkenti a miozin aktin által fokozott  $Mg^{2+}$ -ATPáz aktivitását. Ezen, újonnan leírt leiomodin kölcsönhatások bizonyára funkcionális jelentőséggel is bírnak. Az, hogy a Lmod2 nem csak a vékony filamentum végeihez lokalizált hanem a filamentum oldalához is köt, oda ahol a miozin II kötőhelyek vannak, valószínűsíti, hogy a leiomodin hatással lehet az akto-miozin komplex működésére. Nagy mennyiségű leiomodin2 kötődés hatására a vékony- és vastagfilamentum közötti kölcsönhatás gyengül és a komplex által generált erő lecsökken. A Lmod2 függő miozin II aktivitásával kapcsolatos eredményeink kiegészítik a nem olyan régen leközölt leiomodin2 aktivációs ciklus modellt, ami jól magyarázza az eredményeink *in vivo* jelentőségét. Korábbi adatok alapján a leiomodinnak nagy jelentősége lehet a szív fejlődése során, ugyanis a Lmod2 szabályozhatja az akto-miozin komplex kötési aktivitását, mivel az optimálisnál nagyobb erő generálás a még fejlődésben lévő gyenge struktúrák sérülését okozhatja, szóval a leiomodin2 egyfajta “erő-puffer” rendszerként működik.

### *Az aktin filamentumok plasztikusságát a hossz szabályozó fehérjék szabják meg*

Az aktin filamentumok számos funkcióval rendelkeznek, aminek az alapját az ABP-k okozta filamentum hossz plasztikus dinamikája határozza meg. A negatív vagy pozitív vég sapkázása módosítja az aktin filamentum turnover kinetikáját és dinamikáját, lehetővé téve, hogy a citoplazmatikus gelsolin aktin oligomereket mobilizálva újrendezze a citoskeletális rendszert vagy, hogy a leiomodin2 hosszú erős aktin polimereket tartson fenn a szarkomerben. Gelsolin és leiomodin mindkettő rendelkezik egy aktivációs ciklussal és

mindkettő fontos szerepet játszik a sejtmozgásban és az embrionális izomsejtek fejlődésében. Az aktin filamentum ellentétes végeit sapkázzák, így eltérő módon befolyásolják a filamentumok hosszát, de mindkettő képes a filamentumok oldalához is kötni más-más hatást gyakorolva a miozin II aktivitására. Élettani funkciójuk bonyolult komplexeik összességével értelmezhető, aminek az eredménye az aktin filamentumok hosszának pontos, precíz hangolása.

## **Publikációk**

### *Publikációk a tézishez kapcsolódóan*

**Dávid Szatmári**, Beáta Bugyi, Zoltán Ujfalusi, László Grama, Réka Dudás and Miklós Nyitrai  
Cardiac leiomodulin binds to the sides of actin filaments and regulate the ATPase activity of myosin  
***PLOS ONE* 12:(10)** Paper 186288. 21 p. (2017)

IF: 2.806

**David Szatmari**, Bo Xue, Balakrishnan Kannan, Leslie D. Burtnick, Beáta Bugyi, Miklós Nyitrai, Robert C. Robinson

ATP competes with PIP<sub>2</sub> for binding to gelsolin

*submitted (2017)*

Szilvia Barkó\*, **Dávid Szatmári\***, Emőke Bódis, Katalin Türmer, Zoltán Ujfalusi, David Popp, Robert C Robinson, Miklós Nyitrai

Large-scale purification and in vitro characterization of the assembly of MreB from *Leptospira interrogans*

***BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA-GENERAL SUBJECTS* 1860:(9)** pp. 1942-1952. (2016)

**\*equal contributors**

IF: 4.702

Kollar V, **Szatmari D**, Grama L, Kellermayer MSZ

Dynamic Strength of Titin's Z-Disk End

***JOURNAL OF BIOMEDICINE AND BIOTECHNOLOGY* 2010: Paper 838530.** 8 p. (2010)

IF: 1.230

Kellermayer MSZ, Bianco P, Martonfalvi Z, Nagy A, Kengyel A, **Szatmari D**, Huber T, Linari M, Caremani M, Lombardi V

Muscle thixotropy: More than just cross-bridges? Response to comment by Campbell and Lakie

**BIOPHYSICAL JOURNAL 94:**(1) pp. 329-330. (2008)

IF: 4.683

Bianco P, Nagy A, Kengyel A, **Szatmari D**, Martonfalvi Z, Huber T, Kellermayer MSZ  
Interaction forces between F-Actin and titin PEVK domain measured with optical tweezers

**BIOPHYSICAL JOURNAL 93:**(6) pp. 2102-2109. (2007)

IF: 4.627

**Összesített IF: 18.048**

*Poszterek és konferencia előadások*

**Szatmári Dávid**, Bugyi Beáta, Ujfalusi Zoltán, Grama László, Dudás Réka és Nyitrai Miklós  
A szívizom leiomodin2 képes az aktin filamentumok oldalához kötni és szabályozza a miozin ATPáz aktivitását

Sümege, Hungary, 16-19 May 2017.

47. Membrán-Transzport Konferencia

**David Szatmari**, Wei Lin Lee, Shi Min Jiang, Jonathan Hogley, Miklós Nyitrai, Robert C. Robinson  
STRUCTURAL DYNAMICS OF HUMAN GELSOLIN

Melbourne, Australia, 24-27 November 2013.

The 37th Annual Conference of the Australian Society for Biophysics

**Szatmari D**, Dudas R, Nyitrai M

Expression and biophysical characterization of cardiac leiomodlin 2

Budapest, Hungary, 23-27 August 2011.

8<sup>th</sup> European Biophysics Congress

*Published abstract: EUROPEAN BIOPHYSICS JOURNAL 40:*(Suppl 1) p. 61. (2011)

**Dávid Szatmári**, Péter Sárkány, Béla Kocsis, Tamás Nagy, Attila Miseta, Robert C. Robinson and Miklós Nyitrai

Intracellular ion concentration dependent remodelling of bacterial MreB assemblies

Helsinki, Finland, 4-8 June 2017.

European Cytoskeletal Forum Meeting 2017

**David Szatmari**, Reka Dudas, Attila Nagy, Gabor Hild and Miklos Nyitrai

Expression and biophysical characterization of exportin6

Palermo, Italy, 28 August – 2 September 2009.

13th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules 2009

**Szatmári D**, Huber T, Németh V, Kollár V, Grama L, Kellermayer MSZ

A titin mechanoszenzor vizsgálata.

Sümege, Hungary, 20-23 May 2008.

38. Membrán-Transzport Konferencia

Huber T, **Szatmári D**, Mártonfalvi Zs, Kellermayer MSZ

A titin PEVK domén szekvenciamotívumainak szerkezete és mechanikája

37. Membrán-transzport Konferencia Sümeg Hungary május 22-25 (2007)

Huber T, **Szatmári D**, Mártonfalvi Zs, Kellermayer MSZ

The structure and mechanics of the titin's PEVK domain sequence motifs

IV. International Conference on Molecular Recognition Pécs Hungary 2007 August 15-18 (2007)

Huber T, **Szatmári D**, Mártonfalvi Zs, Murvai Ü, Kiss B, Karsai Á, Grama L, Kellermayer MSZ

Imaging and manipulation of cells and molecules with atomic force microscopy and fluorescence-AFM combinations

25 th Congress for European Society for Microcirculation Budapest, August 26-29 (2008)

Kellermayer MSZ, Bianco P, Nagy A, Karsai Á, Kengyel A, Huber T, Kiss B, Mártonfalvi Zs, **Szatmári D**, Grama L

Nanomechanics of single biomolecules

Joint meeting of Hungarian and German Biophysicists May 17-20 Hünfeld Germany (2007)