

# **Immunológiai fontos fehérjék röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata: fehérje-ligandum kölcsönhatások a működés során**

## *Zárójelentés*

A fehérjék térszerkezetének meghatározása a fehérjeműködés atomi szintű megértését, és ezen keresztül a biológiai folyamatok kémiájának felderítését szolgálja. A szerkezet-hatás, szerkezet-funkció összefüggések megértésében fontos szerepet kap a fehérje/fehérje és fehérje/ligandum kölcsönhatások vizsgálata különböző komplexek szerkezetének segítségével. Vizsgálataink célja ezeknek a sokszínű kölcsönhatásoknak a tanulmányozása fehérjék és komplexeik röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata segítségével. A pályázat keretében a komplementrendszer kezdeti enzimeinek működését elemeztük fehérjék és fehérje/fehérje komplexek vizsgálata segítségével, valamint a kölcsönhatásokat meghatározó másodlagos kötések szerepét vizsgáltuk különböző fehérjék esetén.

### **1. A komplementrendszer fehérjéinek szerkezetvizsgálata**

A veleszületett immunitás fontos részét képező komplementrendszer működésének célja a szervezetbe került kórokozók és károsodott saját sejtek eltávolítása, egy enzim kaskádrendszer működésbe lépésével. A komplementrendszer rendellenes aktiválódása súlyos szövetkárosodáshoz és ezáltal betegségek kialakulásához vezethet. Kóros, kontrollálatlan aktiválódásához nemkivánt gyulladásos vagy autoimmun folyamatok köthetők, emiatt az enzimkaskád működésének és szabályozási lehetőségeinek gyakorlati jelentősége is van. A komplement aktiválódása háromféle úton, a klasszikus, a lektin és az alternatív úton történhet, ami a komplement kezdeti enzimeinek vizsgálatának külön jelentőséget ad a különböző aktiválódási utak szelektív szabályozásának lehetősége miatt. A klasszikus és lektin út esetén a komplement aktiválódás első lépése a kezdeti enzimek (C1r, és MASP-1, MASP-2 – kimotripszin családba tartozó szerin-proteázok) autoaktiválódása. Ezek azonos moduláris felépítésűek és igen szűk specificitással rendelkeznek.

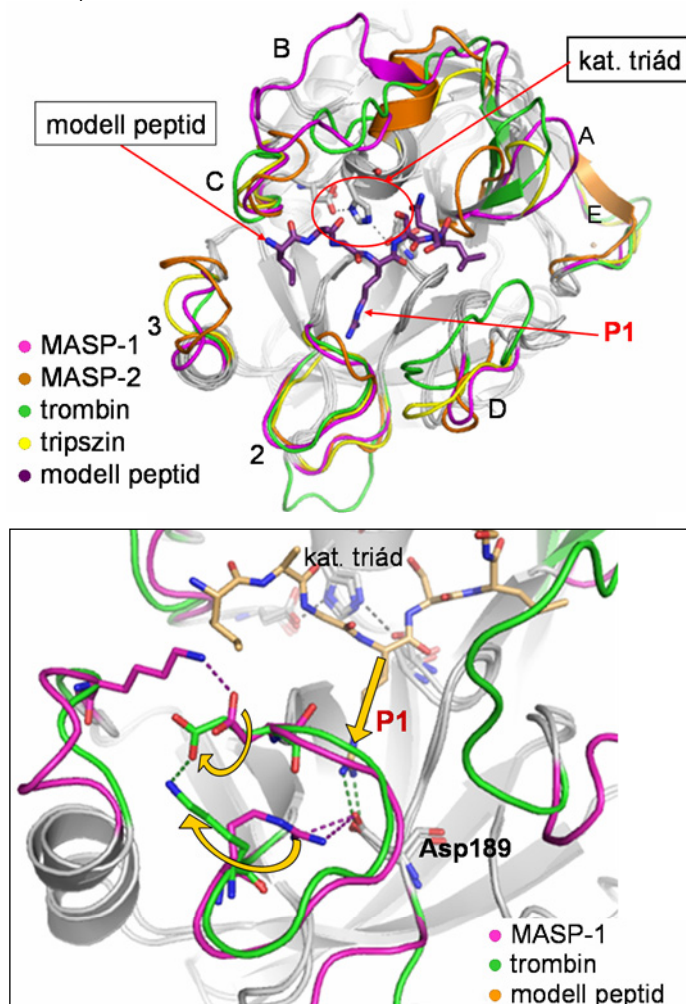
Igen fontos szabályozó szerepet tölt be a kezdeti enzimek természetes gátlószere, a C1-inhibitor. a szerpin doménje szerkezetének konferencián történő bemutatását fedeztük a pályázatból [1]. A szerkezet segítségével magyarázható több természetes mutáció hatása a funkcióra. (Működésének hiánya egy potenciálisan halálos kórképhez, az örökletes angiooedémához köthető.) A szerkezet alapján sikerült megmagyarázni, hogy a heparin és más polianionok hogyan befolyásolják a C1-inhibitor proteázgátló hatását. Az általunk valószínűsített, kinetikai, mutációs, és dokkolási adatokkal alátámasztott új, „szendvics” mechanizmus szerint a heparin semlegesíti az inhibitoron a pozitív töltésű proteázgátló régiót, a C1-inhibitor/heparin/proteáz együttes komplexben, ezáltal a C1-inhibitorra azokra a proteázokra gyakorolt gátló hatását növeli meg, amelyeknek pozitív töltésű a kötőfelszíne. Eredményeink a terápiás C1-inhibitor fejlesztésében is felhasználhatók.

A MASP-1 aktív fragmentum szerkezet-meghatározásával [2,3] közelebb jutottunk a MASP-1 funkciójának megértéséhez. Eredményeink potenciális gyógyászati jelentősége miatt szabadalmi beadvány is született eredményeinkből [4]. Míg a komplement klasszikus útjának elindításához szükséges a C1r autoaktiválódása, majd a C1r aktiválja a vele komplexben lévő C1s-t, és a C1s aktiválja a komplement következő lépcsőjének tagjait (C2, C4), a lektin úton a MASP-2 egyedül képes az autoaktiválódásra és a C2 és C4 aktiválására. A MASP-1 szerepe viszont nem volt tisztázott, mert bár autoaktiválódik, és képes aktiválni a C2-t, de a C4-et nem, ezen kívül trombinnal közös szubsztrátjai is vannak (A cikk megjelenése óta felfedezték, hogy a MASP-1-képes aktiválni a PAR4 receptort, és fiziológiásan a MASP-2 aktiválásában is nagyon fontos a szerepe [11,12]). A szerkezet alapján megállapítottuk, hogy a MASP-1-nek a MASP-2, C1r és C1s enzimeknél szélesebb a szubsztrát kötő árka, ami összefüggésben van a szélesebb szubsztrát-specificitásával. A „B-hurokrégió” (Perona és Craik nomenklatúrája),

amely a trombinnál is fontos szerepet játszik a target-felismerésben, a MASP-1 esetében még kiterjedtebb, és feltételezhetően szerepet játszik a szubsztrát fehérjék megkötésében (1. ábra). Ugyanakkor a klasszikus szerin proteázokhoz mérten alacsony reaktivitása összefüggésben lehet azzal, hogy a komplexátlatlan szerkezetben az S1 zseb alján levő aszparaginsav egy sóhídban vesz részt, aminek fel kell szakadnia, hogy a szubsztrát P1 argininjével kedvező kölcsönhatás alakulhasson ki (1. ábra, keretben).

A MASP-1 proenzim formájának szerkezetvizsgálatát is célul tűztük ki. Segítségével részletesebben elemezhetnénk az autotaktíválódási képesség szerkezeti alapjait. Meghatározásával már két enzim esetén, a MASP-1 és MASP-2 esetén is rendelkezésre állna az aktív és a proenzim forma szerkezete is. A két szerkezetpár összehasonlítása általánosabb érvényű megállapításokhoz is vezethet, mert bár a két enzim funkcionálisan sok hasonlóságot mutat, szerin-proteáz doménjük evolúciósan viszonylag távol áll egymástól. A MASP-1 proenzim formáját 2010-ben kristályosítottuk (1. Táblázat), az adatgyűjtést 2011 tavaszán fogjuk elvégezni szinkrotron sugárforrásnál.

1. ábra A MASP-1 szubsztrátkötő árkot határoló hurokrégiók összehasonlítása más szerin proteázokéval. Keretben: az S1 zseb mélyén az aszparaginsavat sóhíd árnyékolja a komplexátlatlan MASP-1 szerkezetben.



## 2. Fehérjék kölcsönhatásainak jellemzése kiválasztott fehérjerendszerek esetén

A fehérje/fehérje és fehérje/ligandum kölcsönhatásokat különböző fehérje komplexek segítségével több szempontból is vizsgáltuk. Különösen a specifikusság feltételei, a mozgékony, indukált konformációváltozások érdekeltek. Általánosított következtetéseinket a komplement fehérjék kölcsönhatásainak elemzésekor is alkalmaztuk. A protil-oligopeptidáz R-Pro-(dekarboxi-Pro) inhibitoraival alkotott komplexekben az N-terminális csoport és a protil-pirrolidin kölcsönhatásainak kettőssége a jellemző: az enzim S1-S2 helyén kötődő protil-pirrolidint az enzim jól definiált módon stabilizálja hidrogénkötések, és egy triptofán gyűrűvel való átlapolás által. Az N-terminális csoport viszont, amit egy linker köt a prolinhoz, egy kiszélesedő, hidrofób felszínen kötődik, a csoport kiterjedtségétől függ az elhelyezkedése a komplexekben, és az, hogy milyen hosszú linker esetén lesz legnagyobb az inhibitor erősség [5].

A kalmodulin igen sok célfehérjéhez tud kötődni, amit a két doménje közötti hajlékony összekötő régió, valamint az biztosít, hogy a fő kötőzsebek hidrofób tulajdonságúak, és a bennük elhelyezkedő metionin oldalláncok révén sokféle méretű ligandumhoz képesek adaptálódni. A szfingozil-foszfóril-kolinnal alkotott komplexe [6] jó

példa arra, amikor a kismolekulás ligandum is igen hajlékony, és kötődése többféleképpen lehetséges a kalmodulin által alkotott hidrofób csatornában a tengelye mentén való eltolása révén.

Az acilpeptid hidroláz nyitott és csukott szerkezeteinek vizsgálatakor a kinyílás által okozott szerkezeti átrendeződést találtunk [7]. Ezeknek az indukált konformáció változásoknak a következménye, hogy a nyitott enzimen az aktív hely jelentősen eltorzul, ezáltal az, bár fehérjék számára hozzáférhető, de inaktív lesz. A csukott enzim katalitikusan aktív konformációjú, de csak kis méretű peptidnek férnek el benne.

A molekuláris felismerés során megvalósuló komplementaritás különböző aspektusait egy összefoglaló publikációban elemeztük [8].

### **3. Rövid peptidokkal alkotott komplexek szerkezetvizsgálata, nehézségek és tanulságok**

A pályázat megkezdése előtt már próbálkoztunk egy másik immunfehérje, az Fc $\gamma$ IIB receptor szolubilis sejtén kívüli régiója, és olyan, IgG-ből származó peptidok együttkristályosításával, amelyekről együttműködő partnereink igazolták, hogy kötődnek a receptorhoz. A kristályszerkezet egy esetben sem tartalmazta a peptidet, ami azzal volt magyarázható, hogy ezek kis oldhatóságú, sok hidrofób aminosavat tartalmazó peptidok voltak, a kristályosításhoz viszont nagy koncentrációjú Fc $\gamma$ IIB-t alkalmaztunk, és nem lehetett megfelelő feleslegben alkalmazni a peptidokat. A pályázat keretében töltött aminosavakkal oldhatóbbá tett változatait használtuk a peptidoknak, de ezekkel sem sikerült ko-kristályt előállítani.

A MASP-1 és MASP-2 enzimek inaktív változatait, ahol az aktív hely szerinje alaninra volt kicserélve együttkristályosítottam a természetes szubsztrátjaik aktivációs peptidjével. A kristályosítási kísérletek itt is sikertelenek voltak.

A sikertelenség lehetséges okai között, szerepel, hogy a pH és ionerősség körültekintő megválasztása ellenére a kristályosítás körülményei között nem komplexálódott elég nagy arányban a fehérje a peptidokkal.

Tanulással szolgált a MASP-2 kis méretű, kanonikus peptid inhibitorokkal (amelyekről az 5. fejezetben lesz szó) való együttkristályosítási kísérlete. Különböző kristályosítási körülmények között több különböző kristályformát sikerült előállítani, de egyik sem tartalmazta a peptidet, ehelyett egy másik MASP-2 molekula kötődött az aktív helyen, „autoaktivációs komplexet” alkotva (ld. 4. fejezet). Tehát itt a MASP-2 molekulák között a természetben is létrejövő kölcsönhatás jött létre, amely a molekula méretéből adódóan sokkal kiterjedtebb, mint a kisméretű peptid inhibitorral kialakítható kölcsönható régió lett volna.

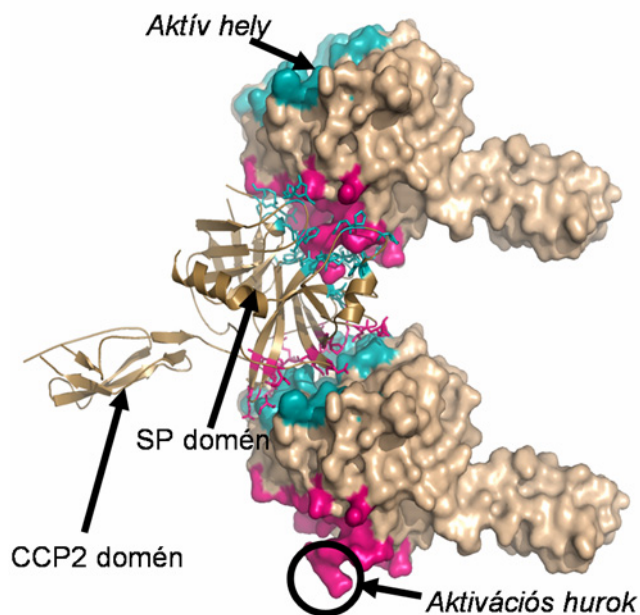
### **4. Fehérje/fehérje kölcsönhatások: autoaktivációs komplexek**

A komplement proteázok szerkezetvizsgálata során két esetben a szomszédos (szimmetria ekvivalens) molekulák kristályon belüli kapcsolódása segített az autoaktivációban fontos kölcsönhatások felderítésében (2. ábra). Mindkét esetben (C1r és MASP-2) az enzim aktív fragmentumát tartalmazta a kristály, és a szomszédos molekulák az autoaktiváció enzim/termék komplexének megfelelő kölcsönhatásokat létesítettek egymással (ez tehát az autoaktiváció folyamata utolsó pillanatának megragadása). Az intermolekuláris kontaktusok mindkét esetben a szubsztrátkötő ároknál kiterjedtebbek, ami igazolja a kiterjedt kötőfelszín szerepét a specifikus kölcsönhatás kialakításában.

A C1r esetén a C-terminális három modul tartalmazó (CCP1-CCP2-SP) fragmentum szerkezetét határoztuk meg [9]. A szerkezetben a már előzőleg ismert „fej-láb” illeszkedésű C1r dimerek is jelen vannak. Másik szomszédos molekulával alkotott pár felel meg a meg a C1r előbb említett autoaktivációs komplexének, amelyben a szerin-proteáz domének közötti kölcsönhatásokon kívül gyenge intermolekuláris kölcsönhatások találhatók a szerin-proteáz és

CCP2 domének között is. Az autoaktivációs komplex alapján módosítottuk, a C1r autoaktivációjának mechanizmusáról alkotott képet. Az eddigi elképzelések szerint az autoaktivációt az immunkomplex felismerésekor a C1r-rel és C1s-sel komplexben lévő C1q karjainak elmozdulása úgy váltja ki, hogy elcsúsztatja egymáson a dimerben lévő két C1r-t, ami további átrendeződéssel jár. Ezzel ellentétben a szerkezet és egyéb geometriai megfontolások alapján valószínűbb, hogy a C1q karjainak elmozdulása a C1r dimert destabilizálja, és a különvált monomerek azután összekapcsolódhatnak másképp is, létrehozva az autoaktivációs komplexet.

A MASP-2 autoaktivációs komplexe tartalmazza a szerin proteázokra jellemző kanonikus kölcsönhatásokat (sóhid az S1 arginin és P1 aszparaginsav között; S3/P3 főlánc hidrogénkötései) [10]. A komplexben a kanonikus kölcsönhatásokban résztvevő régióknál 2,5-ször nagyobb a teljes eltemetett molekulafelszín. A MASP-2 komplexátlatlan szerkezete és az autoaktivációs komplex összehasonlításakor több hurokrégióknál is jelentős konformációs különbségek voltak felfedezhetők (3. ábra, bal oldal). Megjegyzendő, hogy az autoaktiváció során létrejövő enzim/subsztrát kölcsönhatásoknak csak egy részéről kapunk információt, hiszen az ún. aktivációs domén szerkezete a subsztrátban (proenzim forma) és termékben (aktivált forma) jelentősen különbözik.



2. ábra MASP-2 molekulák láncolata a kristályban, amelyek enzim/termék viszonyban vannak egymással

## 5. Fehérje/fehérje kölcsönhatások specifikus kanonikus inhibitorokkal

Kooperáló partnereink in vitro evolúciós technikával (Fág-bemutató) kifejlesztettek a MASP-2 és MASP-1 enzimekre szelektív, szubmikromoláris inhibíciós állandójú inhibitorokat [12]. A felhasznált inhibitor alapváz a napraforgóból származó kanonikus tripszin inhibitor volt (SFTI). Ezeket egyfelől fel tudták használni a MASP-1 és MASP-2 komplementbeli szerepének egymástól független vizsgálatára, és így tisztázni a MASP-1 szerepe körüli kérdéseket. Másfelől megnyílt az út számunkra, hogy specifikus, erősen kötődő peptidekkel alkotott komplexek szerkezetét vizsgálhassuk\*.

A MASP-1/SFTI típusú inhibitor komplex kristályai csak 3,5 Å felbontásig szórtak, ez alapján megállapítható, hogy az inhibitor P1'-P3 régiója a kanonikushoz hasonló konformációban kötődik, de a másodlagos kölcsönhatások és a kölcsönható aminosavak konformációjának részletes vizsgálata ilyen felbontásnál nem lehetséges. Ez év tavasszal tervezzük új kristályok mérését (1. Táblázat).

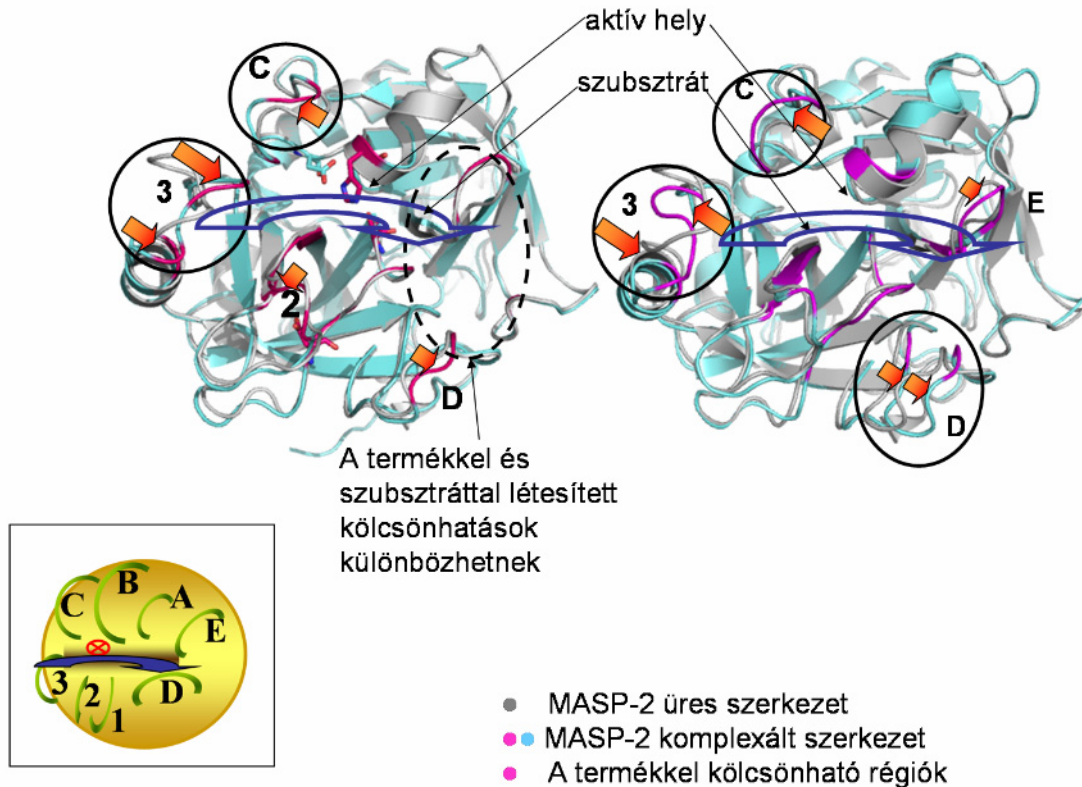
A MASP-2/inhibitor komplex esetén már az itthoni sugárforrásnál is jó felbontású adatkészletet sikerült gyűjteni (1. Táblázat, publikáció előkészületben). A szerkezet és az autoaktivációs komplex összehasonlításakor kiderült, hogy az enzim hurokrégiói itt is konformáció változáson mentek keresztül, de az inhibitor komplex esetén a kölcsönhatások, és a konformáció változások nagyobb régiókat érintettek (3 és 4. ábra). A két molekula

\*Alternatív vázon kifejlesztettek inhibitorokat, amelyek inhibíciós erőssége még nagyobb, azonban mivel ezeket az adatokat még nem közölték, és szabadalmazási érdekléssel is ütközne itteni közlésük, a komplex szerkezetet itt csak az enzim szempontjából jellemzem. (Kérésre még publikálatlan a szerkezeteket rendelkezésre bocsátom.)

„illeszkedése” hézagmentesebb (kevesebb vízzel töltött üreget tartalmaz; 4. ábra). Ezek különbségek arra utalnak, hogy az inhibitorral kialakított komplex stabilabb – ami összhangban van azzal, hogy az autoaktivációs komplex esetén a komplex felbomlás előtti, enzim/termék állapotáról van szó.

MASP-2/MASP-2 autoaktivációs komplex

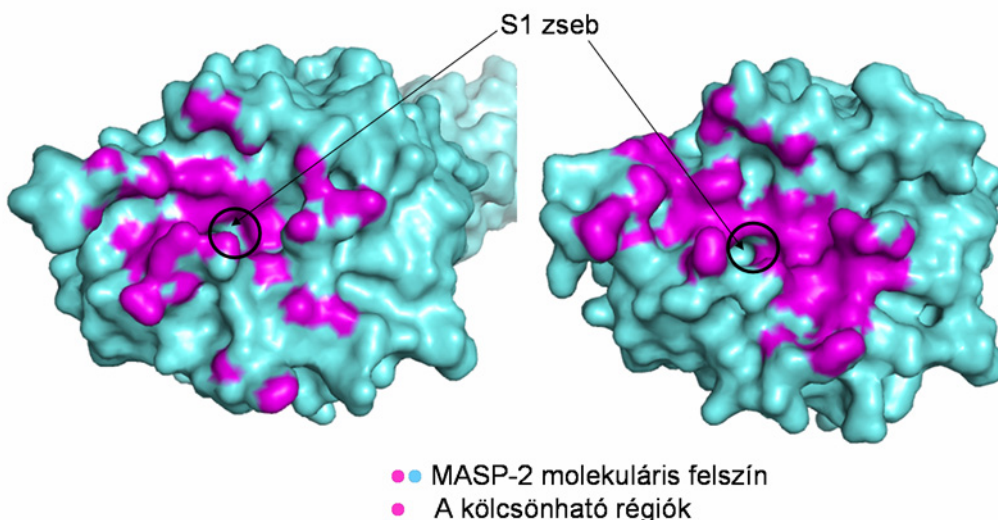
MASP-2/inhibitor komplex



3. ábra. A MASP-2 hurokrégióinak átrendeződése: a komplexálatlan („üres”) szerkezet összehasonlítása az autoaktivációs komplexszel és a MASP-2/inhibitor komplexszel. (A hurokrégiók elnevezését Perona és Craik nomenklatúrája szerint a bekeretezett rész mutatja.)

MASP-2/MASP-2 autoaktivációs komplex

MASP-2/inhibitor komplex



4. ábra. Az enzim kölcsönható régiójának összehasonlítása a MASP-2/MASP-2 autoaktivációs és MASP-2/inhibitor komplexekben. (A kölcsönható fehérjemolekulától 4Å-nél kisebb távolságra levő régiók lilák. A molekulák orientációja hasonló az előző ábrához.)

## 6. A kutatómunka megoszlása, együttműködések és a pályázati támogatás felhasználása

A pályázat elsődleges célja fehérjék és fehérje komplexek kristályosítása és röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálata volt. Az 1.Táblázat foglalja össze a megoldott szerkezetek referenciáit. A fehérjéket a szerkezetvizsgálathoz együttműködő partnereink biztosították: a komplement fehérjéket az Enzimológiai Intézetben Závodszy Péter és Gál Péter csoportja; a Fág-bemutató technikával kifejlesztett peptideket az ELTE Biokémiai Tanszékén Pál Gábor csoportja; az oligopeptidázokat és a kalmodulint az Enzimológiai Intézetben Polgár László és Liliom Károly csoportjai; a prolil-oligopeptidáz inhibitorokat a Chinoin; az Fc $\gamma$ IIb-receptor fragmentumot az ELTE Immunológiai Tanszékén Sármay Gabriella csoportja; és a specifikus peptideket az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport.

### 1. Táblázat: A vizsgált fehérjeszerkezetek

Szerkezet (fragmentum felépítése) <sup>a</sup>	Felbontás (Å)	PDB <sup>b</sup> kód	Adatgyűjtés helye, ideje	Résztéma	Publikáció
C1-inhibitor (szerpin domén)	2,35	2OAY	DESY, 2006 <sup>b</sup>	komplement (csak konferencia részvétel)	[1]
MASP-1 aktív fragmentum (CCP1-CCP2-SP)	2,55	3GOV	DESY, 2007	komplement	[3]
C1r aktív fragmentum (CCP1-CCP2-SP)	2,6	2QY0	ESRF, Spring-8, 2002 <sup>c</sup>	komplement (szerkezetmegoldás, publikáció)	[9]
MASP-1 proenzim forma (CCP1-CCP2-SP)	3,1	-	ELTE SzBKL, 2010 <sup>d</sup>	komplement	előkészületben
MASP-2 autoaktivációs komplex (CCP2-SP)	2,5	-	ESRF, 2008	komplement	előkészületben,[10]
MASP-1/peptid komplex (CCP1-CCP2-SP)	3,5	-	DESY, 2009 <sup>d</sup>	komplement	előkészületben
MASP-2/peptid komplex (CCP2-SP)	1,9	-	ELTE SzBKL, 2010 <sup>d</sup>	komplement	előkészületben
kalmodulin/szfingolipid komplex	1,6	3IF7	ESRF, 2008	molekuláris felismerés	[6]
prolil-oligopeptidáz/peptid inhibitor komplexek	2,9 2,7 2,5	3EQ7 3EQ8 3EQ9	ELTE SzBKL, 1998 <sup>c</sup>	molekuláris felismerés (csak publikáció)	[5]
acilpeptid hidroláz szerkezetek	2,5 1,8 2,7 2,5	3O4G 3O4H 3O4I 3O4J	DESY, 2009, ELETTRA 2008	molekuláris felismerés	[7]

<sup>a</sup>A szerin proteáz domén (SP) a C-terminális domén

<sup>b</sup> Protein Data Bank, [www.pdb.org](http://www.pdb.org)

<sup>c</sup> A kristályosítás és adatgyűjtés már a projekt elindulása előtt megtörtént

<sup>d</sup> 2011. tavaszán tervezzük az ESRF-ben újramérni

A kristályosítást részben az Enzimológiai Intézetben végezték, részben az ELTE Szerkezeti Kémia és Biológia Laboratórium Fehérjekristallográfia Laborjában (a továbbiakban SzBKL) végeztük. Egy hallgatót alkalmaztam fehérjetisztítási módszerek optimalizálására a pályázat keretében. A pályázatból fedeztük a kristályosítás eszköz- és vegyszerköltségeit, a számítógéppark fejlesztését, és a 2009-ben MTA pályázatból beszerzett új diffraktométer egyes cserealkatrészeit. A röntgendiffrakciós adatgyűjtés céljából összesen

négy alkalommal utaztunk ki európai szinkrotron sugárforrásokhoz (DESY, ESRF, ELETTRA), két szerkezet esetén jelenleg még csak az ELTE SzBKL-ben gyűjtött adatok állnak rendelkezésre. A külföldi mérésekre minden alkalommal kivittünk egy vagy több hallgatót vagy doktoranduszt is, mivel igen fontos, hogy a fehérjekristallográfiai képzésük részeként a hallgatók gyakorlatot szerezzenek a szinkrotron sugárforrások használatában. A kiutazások költségeit részben a pályázatból fedeztük. Az adatfeldolgozást és a szerkezetek megoldását, itthon, az SzBKL-ben végeztük. Az acilpeptid hidrolázok szerkezetmegoldásába az MTA Kémiai Kutatóközpont munkatársa is bekapcsolódott. Eredményeinket nemzetközi konferenciákon is bemutattuk. A szerkezetek egy részének publikálása még előkészületben van, a publikációk megjelenése két éven belül várható (1. Táblázat).

## **Összefoglalás**

Munkánk során a komplement rendszer kezdeti proteázainak vizsgáltuk a szerkezetét komplexálatlan formában, autoaktivációs komplexben, specifikus, szubmikromólos inhibíciós állandójú inhibitorokkal komplexben, valamint proenzim formában. Az előzőleg publikált szerkezetekkel együtt lehetővé vált az enzimek konformáció változásának nyomon követése a működés különböző fázisaiban. A fehérje/fehérje kölcsönhatások tanulmányozásából levonható legfontosabb következtetések, hogy a vizsgált enzimek szűk specificitása hátterében a kötőrégió kiterjedtsége, valamint a különböző komplexek képződésekor indukált konformáció változások és az enzim szerkezetének adaptálódása állhat.

## **A pályázathoz tartozó publikációk**

1. C1-inhibitor structure reveals a novel mechanism of heparin potentiation  
V. Harmat, L. Beinrohr, J. Dobó, Z. Lőrincz, P. Gál, G. Náray-Szabó, P. Závodszy  
24th European Crystallographic Meeting, 22 to 27 August 2007, Marrakech, Morocco, pp.129, MS04 P08
2. J. Dobó, V. Harmat, E. Sebestyén, L. Beinrohr, P. Závodszy and P. Gál  
Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of human mannose-binding lectin-associated serine protease-1 (MASP-1) catalytic region  
Acta Cryst F64: 781-784 (2008)
3. Dobó J, Harmat V, Beinrohr L, Sebestyén E, Závodszy P, Gál P  
MASP-1, a Promiscuous Complement Protease: Structure of Its Catalytic Region Reveals the Basis of Its Broad Specificity  
J Immunol 183: 1207-1214 (2009)
4. Gál Péter, Dobó József, Závodszy Péter, Harmat Veronika: 'MASP-1 fehérje katalitikus domén expressziója, tisztítása, kristályosítása, kristályos formája és ennek alkalmazása'  
P0800339
5. Kanai K, Aranyi P, Bocskei Z, Ferenczy G, Harmat V, Simon K, Batori S, Naray-Szabo G, Hermech I  
Prolyl Oligopeptidase Inhibition by N-Acyl-pro-pyrrolidine-type Molecules  
J Med Chem 51: 7514-7522 (2008)
6. Kovacs E, Harmat V, Tóth J, Vértessy BG, Módos K, Kardos J, Liliom K.  
Structure and mechanism of calmodulin binding to a signaling sphingolipid reveal new aspects of lipid-protein interactions.  
FASEB J 24:3829-3839 (2010)

7. Harmat V, Domokos K, Menyhard DK, Pallo A, Szeltner Z, Szamosi I, Beke-Somfai T, Naray-Szabo G, Polgar L.  
Structure and catalysis of acylaminoacyl peptidase: closed and open subunits of a dimer oligopeptidase.  
J Biol Chem 286: 1987-1998 (2011)
8. Harmat V, Náray-Szabó G  
Theoretical Aspects of Molecular Recognition  
Croatica Chemica Acta 82: 277-282 (2009)
9. Kardos J, Harmat V, Palló A, Barabás O, Szilágyi K, Gráf L, Náray-Szabó G, Goto Y, Závodszky P, Gál P  
Revisiting the mechanism of the autoactivation of the complement protease C1r in the C1 complex: Structure of the active catalytic region of C1r  
Mol Immunol 45: 1752-1760 (2008)
10. Autoactivation of MASP-2: Role of exosite interactions  
Harmat V, Kocsis A, Kiss-Szeman A, Závodszky P, Pal G, Gal P,  
FEBS J 277:44-44 Suppl. 1 (2010)

### **Irodalom**

11. Megyeri M, Makó V, Beinrohr L, Doleschall Z, Prohászka Z, Cervenak L, Závodszky P, Gál P  
Complement Protease MASP-1 Activates Human Endothelial Cells: PAR4 Activation Is a Link between Complement and Endothelial Function  
J Immunol 183:3409-3416 (2009)
12. Kocsis A, Kékesi KA, Szász R, Végh BM, Balczer J, Dobó J, Závodszky P, Gál P, Pál G  
Inhibition of the Lectin Pathway of Complement with Phage Display Selected Peptides against Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease (MASP)-1 and -2: Significant Contribution of MASP-1 to Lectin Pathway Activation  
J Immunol 185: 4169-4178 (2010)