

**DINEIN KÖNNYŰ LÁNC – EGY EUKARIÓTA
CSOMÓPONTI FEHÉRJE KÖLCSÖNHATÁSAINAK
TERMODINAMIKAI, KINETIKAI ÉS SZERKEZETI
VIZSGÁLATA**

Című doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Radnai László

**Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológia Doktori
Iskola**

Doktori Iskola vezetője: Dr. Erdei Anna

Szerkezeti Biokémia Doktori Program

Programvezető: Dr. Gráf László



Témavezető: Dr. Nyitrai László

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar

Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék

Budapest, 2012

Bevezető

A doktori munkám során vizsgált LC8 dinein könnyűlánc (DYNLL) egy konzervált, eukarióta csomóponti fehérje. Nagyszámú kísérletesen igazolt kölcsönható partnerén keresztül a sejtek működésének legkülönbözőbb folyamataiban vesz részt, mint például az apoptózis, a különböző transzportfolyamatok, vírusfertőzés, a rák kialakulása, vagy a transzkripció szabályozása.

A DYNLL szimmetrikus homodimereket alkot, melyek két oldalán, éppen az alegységek találkozásánál egy-egy árokszerű bemélyedés húzódik végig. Ezekbe az árokba illeszkednek be a partner fehérjék lineáris kötőmotívumai, melyek eredetileg a partner fehérje egy szerkezet nélküli régiójának részei. A kötődés hatására ezek a szakaszok szerkezetet nyernek, β -lánccá rendeződve csatlakoznak a DYNLL kötőárkához.

Korábban feltételezték, hogy a DYNLL képes lehet a dinein és miozin-Va motorfehérje komplexekben kargó-adapter funkció betöltésére úgy, hogy egyik kötőárkával a szállítandó fehérjét, míg másikkal a motort köti. A DYNLL kötőpartnerek jelentős része bizonyítottan homodimer, illetve sokakban találunk dimerizációért felelős (pl. *coiled-coil*) szekvenciákat, így a legtöbb esetben a DYNLL dimer : dimer komplexeket alkot partnereivel, beleértve magát a miozin-Va-t illetve a dinein intermedier láncot (DIC) is, melyhez a dinein-komplexben kötődik. A kargó-adapter hipotézis mindezzel igen nehezen összeegyeztethető, így ma már inkább elfogadott az az alternatív hipotézis, mi szerint a DYNLL a partner fehérjék dimerizációjának elősegítésén, illetve a dimer partnerek szerkezetének stabilizálásán keresztül szabályozza azok működését.

Meglepő módon a DYNLL-hez kötődő partner szekvenciák között az esetek egy részében igen kevés hasonlóság fedezhető fel, ezért korábban három szekvencia-osztályt alakítottak ki: $K_3X_2T_1Q_0T_1X_2$ -típusú szekvenciák, $X_3G_2I/V_1Q_0V_1D_2$ -típusú szekvenciák és az úgynevezett nem-kanonikus szekvenciák, melyek egyik előző osztályba sem sorolhatóak, sőt egymástól is jelentősen eltérnek. Az, hogy a szekvenciák különbségei okoznak-e bármilyen funkcionális különbséget egyelőre nem ismert.

A DYNLL-nek 2 izomorfáját ismerjük emlősökben: DYNLL1 és DYNLL2. Mindössze 6 oldalláncban különböznek, melyek valamennyien a kötőárkától távol helyezkednek el. Több kötőpartner esetén leírtak izoforma specifikus kötődést *in vivo*, ám ugyanezt *in vitro* még nem sikerült megfigyelni. Például a Bmf nevű proapoptotikus fehérje, mely KXTQTX-típusú DYNLL-kötőmotívummal rendelkezik, *in vivo* szelektíven

kötődik a DYNLL2-höz. Az nNOS esetén, mely XGI/VQTD-típusú kötőmotívummal rendelkezik, kizárólag a DYNLL1-gyel történő interakciót írták le.

A DYNLL szerin-88 oldallancán történő foszforilációja gátolja a partnerek kötődését az által, hogy a DYNLL monomer-dimer egyensúlyát (mely fiziológiás körülmények között erősen a dimer képződés irányába van eltolva) a monomer képződés irányába tolja el, ami a kötőárkok megszűnéséhez vezet. Korábban leírták, hogy a Pak1-kináz foszforilálja a DYNLL1-et, ám később a regulációban betöltött szerepét kétségbe vonták. Jelenlegi tudásunk szerint a DYNLL izoformák kötőpartnerei, de nem szubsztrátjai a Pak1-kináznak. A foszforilációért felelős protein-kináz egyelőre nem ismert.

Egy saját, korábbi munkánk során sikerült meghatároznunk, hogy a DYNLL a miozin-Va mely régiójához kötődik. Ez a motorfehérje az aktin filamentumok mentén történő, rövidtávú vezikula-transzportban játszik szerepet. A kötőmotívum az úgynevezett fark doménen belül, két *coiled-coil* domén között helyezkedik el. A kölcsönhatás létrejöttéhez elengedhetetlen a pusztán 3 aminosavas, alternatív módon kifejeződő B-exon megléte. Érdekes módon a miozin-Va estén egy nem kanonikus DYNLL kötőmotívumot fedeztünk fel, melyben a tipikusnak nevezhető, központi „T₁Q₀T₁”, vagy „I₁Q₀V₁” szekvencia-részletek helyett „T₁M₀T₁” szekvenciát találtunk.

Az EML3 (vagy EMAP-3) egy mikrotubulusokhoz kötődő fehérje, melynek a mitózisban játszik szerepet. Az EML3 potenciális DYNLL kötőpartnerként való leírása, majd a kötődés *in vitro* bizonyítása szintén kutatócsoportunkhoz köthető. A kísérletsorozat célja volt a DYNLL kötőmotívum jellemzése *in vitro* evolúciós megközelítés, azaz fágbemutató (phage display) technika alkalmazásával, továbbá az így nyert információk segítségével új kötőpartnerek jóslása. Mivel a szelekció a kötés erősségére történt, így nem meglepő, hogy a szelektált konszenzus szekvenciának (V₅S₄R₃G₂T₁Q₀T₁E₂) éppen megfelelő EML3 kötőmotívum a valaha mért legerősebb DYNLL kötést mutatta; a disszociációs állandó 80 nM volt, szemben az általában jellemző néhány mikromólos értékkel. A szelektált konszenzus-szekvenciát a természetes kötőmotívumokból képezett konszenzussal ([D/S]₄K₃X₂[T/V/I]₁Q₀[T/V]₁[D/E]₂) összehasonlítva a sok hasonlóság mellett a legszembetűnőbb különbség, hogy amíg a természetes szekvenciák esetén a -5-ös pozícióban nem látunk aminosav preferenciát, addig a mesterséges evolúció során itt leginkább apoláros, vagy hosszú alifás szénláncsal rendelkező poláros oldallancok jelentek meg. A leggyakoribb aminosav ebben a pozícióban a valin volt.

Célkitűzések

1. **A DYNLL izoformák partnerkötésének közvetlen, kvantitatív összehasonlítása termodinamikai és kinetikai adatok alapján a KXTQTX és XGI/VQVD családok egy-egy tipikus képviselőjét (Bmf és nNOS) felhasználva.** A két fehérje kiválasztásánál a fő szempont az volt, hogy mindkettő esetén csak az egyik DYNLL izoformával való interakciót figyelték meg korábban *in vivo*. Módszerek: izotermális titráló kalorimetria (ITC), *stopped-flow* spektroszkópia.
2. **A miozin-Va-DYNLL interakció szerkezeti vizsgálata** röntgen-krisztallográfia módszerrel. Célunk volt annak felderítése, hogy a miozin-Va nem-kanonikus kötőmotívuma hogyan lép kölcsönhatásba a DYNLL-lel: a többi partnerhez hasonlóan illeszkedik a kötőárokba, vagy a DYNLL más felszínével alakít ki kölcsönhatást?
3. **A különböző motívumok kötődésének közvetlen, kvantitatív összehasonlítása termodinamikai és kinetikai szempontok alapján két kanonikus (Bmf és nNOS) és két nem-kanonikus partner (myoVa, Pak1) esetén.** A motívum szekvenciája, a kötés erőssége, a kötődés időbelisége közötti összefüggések feltárása. Módszerek: ITC, *stopped-flow* spektroszkópia.
4. **A partner dimerizáció következtében fellépő bivalencia kötődésre gyakorolt hatásának termodinamikai, kinetikai és szerkezeti vizsgálata.** Ehhez modellrendszerként a miozin-Va egy dimer fragmentumát választottuk. Készítettünk hasonló, leucin-cipzárral dimerizált mesterséges modell rendszereket is, a Bmf, illetve az EML3 kötőmotívumát felhasználva. Előbbire a termodinamikai és kinetikai, utóbbira a szerkezeti vizsgálatokhoz volt szükség. Módszerek: ITC, *stopped-flow* spektroszkópia, felszíni plazmon rezonancia (SPR), röntgen-krisztallográfia.
5. **A DYNLL 88. szerin oldallancán történő foszforilációjának a partnerkötődés termodinamikai és kinetikai paramétereire gyakorolt hatásainak felderítése; a foszforilációs szabályozás hatékonyságának vizsgálata.** A foszforiláció hatásának modellezésére a 88. szerin oldallancot glutamátra cseréltük (S88E mutáns). Monomer partnerként a Bmf-et, míg dimer partnerként a miozin-Va-t választottuk. Módszerek: fluoreszcencia anizotrópia (Bmf), felszíni plazmon rezonancia (myoVa).
6. **Az EML3-DYNLL interakció szerkezeti vizsgálata** röntgen-krisztallográfia módszerrel. Annak felderítése, hogy az EML3 fehérje kötőmotívuma, hogyan lehet képes több nagyságrenddel erősebb kötődésre, mint az eddig megismert partnerek?

Módszerek

A DNS konstrukciókat általánosan ismert géntechnológiai módszerekkel állítottuk elő. A **rekombináns fehérvérjék** expressziója *E. coli* heterológ expressziós rendszerben történt. A fehérvérjéket és szintetikus peptideket kromatográfiás eljárásokkal tisztítottuk.

A DYNLL-partner interakciók termodinamikai paramétereinek meghatározása **izotermális titráló kalorimetria (ITC)** módszerrel történt, Microcal VP-ITC kaloriméter segítségével. Az adatok feldolgozását Origin for ITC 5.0 szoftverrel végeztük, egy kötőhelyet feltételező modell („*one site binding*”) segítségével.

Az **SPR (Surface Plasmon Resonance)** kísérletekhez Biacore 3000 készüléket használtunk. A DYNLL partnereket kovalensen immobilizáltuk. A kötődési reakciók követéséhez a DYNLL2-t, illetve a DYNLL2 S88E mutáns különböző koncentrációjú oldatait áramoltattuk a felszín felett. Az adatokat a BIAevaluation 3.1 szoftver segítségével, a legegyszerűbb, 1:1 kötődési modell használatával elemeztük.

Egyes Bmf-fel folytatott titrálásos kísérletek esetén **fluoreszcencia anizotrópia** jel segítségével követtük nyomon a komplexképződést. Ehhez FLS920 spektrofluorimétert (Edinburgh Instruments) használtunk. A fluorescein-jelölt Bmf peptidet titráltunk növekvő koncentrációjú DYNLL2-vel, illetve DYNLL2 S88E mutánssal. A látszólagos disszociációs állandó meghatározását Origin 7.0 szoftver segítségével, 1:1 kötődést feltételezve végeztük.

Megállított áramlásos fluoreszcens spektroszkópia (Stopped-flow) méréseink során a fluoreszcens jelet a DYNLL1-ben és DYNLL2-ben is jelen levő, egyetlen triptofán oldallánc (Trp54) szolgáltatta. A kísérleteket KinTek SF-2004 berendezés segítségével, míg a modellépítést, globális illesztést, és az egyes sebességi állandók meghatározását a KinTek Global Kinetic Explorer 2.2.563 szoftverrel végeztük. Ehhez két minimális (legegyszerűbb) modellt építettünk: az indukált illeszkedés (*Induced Fit*) szerint a partner kötődés során létrejövő komplex konformációváltozást szenved el, míg a konformációs szelekció (*Conformational Selection*) feltételezi a DYNLL két konformációs állapotát, melyek közül a partner csak az egyikhez képes kötődni.

Röntgen-kristallográfiai kísérleteinkhez a DYNLL2 izoformát használtuk. A kristályokat függőcsepp-módszerrel növesztettük. A DYNLL2-komplexek szerkezetét molekuláris helyettesítés módszerrel oldottuk meg. A szerkezeteket a PDB adatbázisban a 2XQQ, 3P8M és 4AEG kódszámokon érhetjük el.

Eredmények és következtetések

Munkánk során *in vitro*, kvantitatív módon összehasonlítottuk a DYNLL1 és DYNLL2 izoformák kötődését két partnerhez, a Bmf-hez illetve az nNOS-hoz, melyek különböző osztályokba sorolható kötőmotívumokkal rendelkeznek (Bmf: KXTQTX, nNOS: XGI/VQVD). Az izoformák a termodinamikai és kinetikai konstansokat tekintve rendkívül hasonló módon kötődtek mindkét partner esetén, holott a szakirodalom *in vivo* specifikus kötődését feltételez. Mivel a két izoforma partner preferenciájának oka nem a motívumok szekvenciájában keresendő, **fel kell tételeznünk valamilyen egyéb „faktor” (pl. egy fehérje) szerepét, mely valamilyen módon, pl. kötődve az egyik DYNLL izoformához, befolyásolja a partner-preferenciát *in vivo*.**

A különböző kötőmotívumok DYNLL2-höz történő kötődésének összehasonlítása során a termodinamikai és kinetikai paramétereket, négy partner (Bmf, nNOS, myoVa, Pak1) kötőmotívumának megfelelő, négy szintetikus peptid segítségével határoztuk meg. A különböző osztályokba tartozó kötőmotívumok, melyek szekvenciái jelentős eltéréseket mutatnak, meglepő módon **hasonló erősséggel ($K_{d,eq}$: 10^{-6} - 10^{-5} M körül) kötődnek** a DYNLL2-höz, bár – ahogy ezt az entalpia, entrópia és a kinetikai adatok mutatják – **a kötődés mechanizmusa, illetve az interakciós mintázat a DYNLL2 és partnere között eltérő** az egyes esetekben. Sajnos az jelenleg nem egyértelmű, hogy ezeknek a különbségeknek van-e bármilyen biológiai jelentősége.

Dimer (myoVa), illetve mesterségesen dimerizált (Bmf, EML3) partnerekkel végzett termodinamikai és kinetikai vizsgálataink során kimutattuk, hogy **a partnerek dimer állapota a látszólagos affinitást nagyságrendekkel növeli** a megfelelő monomer peptidre vonatkozó értékekhez képest. **Mivel a komplexképződés sztöchiometriája ITC mérések szerint 1:1** (dimer – dimer interakció), **továbbá a tapasztalt affinitás-erősödés oka a disszociációs sebességi állandó csökkenésére vezethető vissza**, miközben az asszociációs sebességi állandó alig változik, **arra következtethetünk, hogy a bivalencia a DYNLL vizsgált partnerei esetén aviditást eredményez**. Az aviditás általánosságban a multivalencia következtében fellépő, az egyedi kölcsönhatások összegzett, szinergikus hatását jelenti. **Az általunk meghatározott monomer- és mesterségesen dimerizált EML3-DYNLL2 komplex kristályszerkezetek bizonyítják,**

hogy a leucin-cipzárral végzett mesterséges kötőpartner-dimerizáció megfelelő stratégia a bivalencia, illetve az aviditás előidézésére és modellezésére a DYNLL és kötőpartnerei esetén. Ez valószínűleg igaz a természetes dimer partnerekre is, melyek között sok esetben a DYNLL kötőmotívumhoz közeli coiled-coil szekvenciák felelősek a dimerizációért (pl. myoVa). **A bivalens partnerekre jellemző lassú disszociáció, vagyis a létrejövő dimer partner – DYNLL komplexek hosszú életideje ideális lehet ahhoz, hogy a DYNLL dimerizációs csomóponti fehérjeként szupramolekuláris komplexek felépítésében vegyen részt és szekvesztrációs feladatokat lásson el.** Amennyiben *in vivo* versengés alakulna ki a különböző partnerek között a DYNLL kötéséért, a kötőmotívumok affinitás különbségei önmagukban valószínűleg nem kellően nagyok ahhoz, hogy a kötődés nagyrészt csak bizonyos partnerekre korlátozódjon. Eredményeink egyértelműen arra mutatnak, hogy e tekintetben a partnerek dimer állapota, illetve az ennek kapcsán fellépő aviditás a döntő. **A kötőmotívumok közötti eltéréseket éppen e miatt, legfeljebb a DYNLL interakciós hálózatának finomhangolásaként értelmezhetjük.**

A DYNLL2 foszforilációjának modellezése céljából a Ser88-at glutamátra cseréltük (DYNLL2 S88E mutáns), majd egy monomer (Bmf) és egy dimer (myoVa) partner kötődését is vizsgáltuk a DYNLL2 S88E mutánshoz, illetve a kontrollként használt vad típusú DYNLL2-höz. **A mutáció kb. harmincszor gyengébb kötődést okozott a monomer partner esetén. A dimer partner esetén kb. ötvenszeres gyengülést tapasztaltunk, ami főként a látszólagos kötődési sebességi állandó csökkenéséből adódott,** míg a disszociációs sebességi állandó értéke szinte változatlan maradt. A látszólagos k_{on} csökkenése valószínűleg annak a következménye, hogy a kísérletben alkalmazott koncentráció tartományban a DYNLL2 S88E nagyrészt monomer állapotban van, viszont partnerkötésre csak a dimer állapotú fehérje képes, hiszen a kötőárkok csak itt alakulnak ki. A komplexképződés során az eleve kis mennyiségű dimer S88E mennyisége gyorsan csökken, majd ezt követően az újabb dimerek már monomerekből képződnek, ami lassabb folyamat. **Így a partnerkötés tulajdonképpen a monomer-dimer egyensúlyt tolja el a dimerképződés irányba.** Ez monomer partnerek esetén is igaz, azonban ahhoz, hogy a kialakuló komplex megfelelő stabilitással rendelkezzen valószínűleg a dimer partnerek szükségesek, hiszen itt fellép az aviditás. Összességül elmondhatjuk, hogy **a DYNLL monomer-dimer egyensúlyának befolyásolása a szerin-88 oldallánc foszforilációján keresztül hatékony szabályozás lehet, hiszen a megfelelően nagy**

lokális koncentrációval rendelkező dimer partnerek esetén a látszólagos affinitás csökkenésének ellenére, fiziológiás körülmények között fennmaradhat a kötődés, míg monomer partnereknél ez erősen valószínűtlen.

A komplexképződés részletes kinetikai analízise felfedte, hogy a **DYNLL partner kötése kétlépéses reakciómechanizmus szerint történik: a ligandummal történő másodrendű asszociációs reakción kívül egy elsőrendű reakciólépést tudtunk elkülöníteni. Ez jelentheti például a szabad, vagy a ligand-kötött DYNLL konformációs változását, vagyis egyfajta izomerizációt.** Ennek megfelelően az adatokat két lehetséges minimális modell, az indukált illeszkedés és a konformációs szelekció globális illesztésével is elemeztük. A DYNLL, illetve különböző partnerekkel alkotott komplexeinek röntgen-krisztallográfiával meghatározott szerkezetei bizonyítják, hogy a DYNLL kötőárkai partnerkötött állapotban nyitottabbak, tehát a DYNLL konformációs változása együtt jár a partner kötődésével. A kötődés és a konformációváltozás sorrendjére szakirodalmi adatok alapján következtethetünk: számos NMR kísérlet bizonyítja, hogy az apo-DYNLL-re jellemző a dinamikus átalakulás, az állandó átmenet többféle konformációs állapot között, míg a komplexek esetén ez sokkal kevésbé kifejezett. Ezek alapján **feltételezhetjük, hogy a DYNLL ligandumok (a peptid motívumok) kötése nagyrészt a konformációs szelekció modellnek megfelelően történik.**

Munkánk során **sikeresen kristályosítottuk a miozin-Va kötőmotívumának megfelelő peptid DYNLL2-vel alkotott komplexét, majd röntgendiffrakcióval határoztuk meg a háromdimenziós szerkezetet. A miozin-Va nem-kanonikus kötőmotívuma a DYNLL kötőárkában helyezkedik el. A kötőpeptid által felvett konformáció, bár a konzervált glutamin helyett itt metionint találunk, meglehetősen hasonlít a kanonikus motívumok által felvett konformációhoz.** A metionin oldallánca a glutamin oldalláncához meglepően hasonló pozíciót foglal el a komplexben, így a két esetben szinte azonos interakciókat figyelhetünk meg, ám a metionin hidrogénkötés kialakítására a DYNLL-lel nem képes, ami feltehetően a miozin-Va a kisebb affinitásának oka. **A tény, hogy a miozin-Va peptidok párhuzamos módon, a DYNLL kötőárkába illeszkednek, megerősíti korábbi eredményeinket, miszerint a DYNLL-nek a teljes hosszúságú, dimer miozin-Va molekulák két polipeptidláncát összetartva a farokrégió coiled-coil szekvenciáinak stabilizálásában van szerepe.** Az viszont erősen

valószínűtlennek tűnik, hogy kargó-adapter szerepet tölthetne be úgy, hogy egyik kötőárkával a motorhoz, míg másikkal a szállítandó fehérjéhez kapcsolódna, hiszen ekkor a motor versengene a kargóval a DYNLL kötéséért. A bivalens partnerek esetén tapasztalt aviditás szintén nehezen összeegyeztethető a kargó-adapter hipotézissel. Az általunk meghatározott szerkezeti modell a miozin-Va B-exonjának kötődéshez való hozzájárulásának részleteit is felfedi. Érdekes módon a szigorúan értelmezett kötőmotívumtól N-terminális irányban található aminosavak bizonyos mértékig részt vesznek a kötődésben. Az, hogy valódi másodlagos kötőhelyről, illetve a DYNLL kötés új, eddig még le nem írt módjáról van szó, jelenleg még nem ismert.

Az EML3 fehérje kötőmotívumának megfelelő peptid DYNLL2-vel alkotott komplexét kristályosítottuk, majd röntgendiffrakcióval határoztuk meg az atomi felbontású szerkezetet. Ugyanezt sikeresen végrehajtottuk a kötőmotívum mesterségesen dimerizált változatával is. Az általunk meghatározott modellekben a DYNLL nagyban hasonlít az irodalomból ismert szerkezetekhez, továbbá a peptidek is a szokásos módon, más kötőmotívumokhoz hasonlóan illeszkednek a DYNLL kötőárkaiba. A monomer és a dimerizált kötőmotívumok is nagy konformációs hasonlóságot mutatnak. A dimerizált kötőmotívummal meghatározott szerkezeti modell fontos bizonyíték aviditás-hipotézisünk helyességét illetően. A kötés erőssége szempontjából lényeges Val₅ két, peptidgerincek közötti hidrogénkötés kialakításával, továbbá oldallánca és a DYNLL hisztidin-68 imidazol gyűrűje közötti kölcsönhatással járul hozzá a komplex stabilitásához. A legvalószínűbb magyarázat arra, hogy a -5. pozícióban rejlő potenciált a természet általában miért nem használja ki, talán épp a partnerek körében általános bivalencia és aviditás. A kötőmotívum dimerizáció általi „megduplázása” eleve olyan mértékű növekedést jelent a komplexek stabilitásában, hogy emiatt az egyedi motívumokra ható szelekciós nyomás lecsökken. Ez hosszú távon gyengébben kötődő szekvencia variánsok megjelenéséhez vezethet, melyek viszont bivalens formában még mindig kellően erős kölcsönhatásra képesek. A kristályosítási kísérletek közben a DYNLL2-EML3 komplex esetén tapasztalt, a ligandum kötődésétől függő, részben β -redő kapcsolatok által közvetített dinamikus polimerizáció új megvilágításba helyezheti a kargó-adapter hipotézist. Feltételezésünk szerint nem a DYNLL két kötőárka kapcsolódik egyszerre a motorhoz és a kargóhoz, hanem a DYNLL komplexek felszínén található, szabad β -lemezes élek a felelősek az egyes

DYNLL komplexek közötti kölcsönhatásért. A polimerképződés bizonyítéka jelenleg csak a dimer EML3 peptid által kialakított komplex atomi felbontású szerkezete. A kapcsolat *in vivo* létezésének bizonyítása, továbbá szerepének igazolása újabb kísérleteket igényel.

A tézisek alapján szolgáló közlemények:

1. **Radnai, L.**; Rapali, P.; Hódi, Z.; Süveges, D.; Molnár, T.; Kiss, B.; Bécsi, B.; Erdódi, F.; Buday, L.; Kardos, J.; Kovács, M.; Nyitray, L. (2010). „Affinity, avidity and kinetics of target sequence binding to LC8 dynein light chain isoforms” *J Biol Chem.* 2010 Dec 3;285(49):38649-57. *Epub* 2010 Oct 2.
2. Rapali, P., **Radnai, L.**, Süveges, D., Harmat, V., Tölgyesi, F., Wahlgren, W.Y., Katona, G., Nyitray, L., Pál, G. (2011) „Directed evolution reveals the binding motif preference of the LC8/DYNLL hub protein and predicts large numbers of novel binders in the human proteome.” *PLoS One.* 2011 Apr 18;6(4):e18818.
3. Rapali, P., **Radnai, L.**, Süveges, D., Harmat, V., Wahlgren, Y.W., Katona, G., Nyitray, L. és Pál, G. (2010) „Az LC8 dinein könnyűlánc kötőmotívumának jellemzése és új kölcsönható partnerek jóslása irányított evolúció segítségével.” *Biokémia, (2010) 34(4), 28-34*
4. Bodor, A., **Radnai, L.**, Chazal, R., Tichy-Rács, A., Wahlgren, W.Y., Rapali, P., Süveges, D., Láng, A., Kóvér, E.K., Harmat, V., Katona, G., Perczel, A. Nyitray, L. (2012) Binding of an unstructured myosin Va fragment to the LC8 dynein light chain (DYNLL) *Kézirat előkészítési folyamatban*

A dolgozat témájában megjelent további publikációk:

1. Hodi, Z.; Nemeth, A. L.; **Radnai, L.**; Hetényi, C.; Schlett, K.; Bodor, A.; Perczel, A.; Nyitray, L. (2006). "Alternatively spliced exon B of myosin Va is essential for binding the tail-associated light chain shared by dynein." *Biochemistry.* 2006 Oct 17;45(41):12582-95.
2. Rapali, P., Szenes, A., **Radnai, L.**, Bakos, A., Pál, G., Nyitray, L. (2011). „DYNLL/LC8: a light chain subunit of the dynein motor complex and beyond.” *FEBS J.* 2011 Sep;278(17):2980-96. *Epub* 2011 Aug 8. *Review.*

Nemzetközi konferencián bemutatott eredmények:

1. Hodi, Z.; Rapali, P.; **Radnai, L.**; Molnar, T.; Szenes, A.; Kardos, J.; Buday, L.; Stafford, WF; Nyitray, L. (2007). "The LC8 family of dynein light chains: Multifunctional chaperon-like proteins." *32nd FEBS Congress (Vienna, Austria 7–12 July, 2007); FEBS JOURNAL 274: 106-106.*
2. Bodor, A.; Láng, A.; Rapali, P.; **Radnai, L.**; Nyitray, L.; Perczel, A. (2008) „Structural and dynamical characterization of an unstructured myosin fragment (M) upon binding to the dimeric dynein light chain (DLC)” *4th Central European Conference: Chemistry towards Biology (Dobogókő, Hungary September 8-11, 2008)*
3. Rapali, P.; **Radnai, L.**; Kardos, J.; Süveges, D.; Molnár, T.; Kiss, B.; Hódi, Z.; Nyitray, L. (2008) „Mechanism of DLC binding to multiple protein partners” *4th Central European Conference: Chemistry towards Biology (Dobogókő, Hungary, September 8-11, 2008)*
4. Süveges, D.; Rapali, P.; **Radnai, L.**, Wahlgren, Y.W.; Katona, G.; Nyitray, L. (2010) „Echinoderm microtubule associated protein like 3 (EML3): a novel binding partner of the dynein light chain, DYNLL” *35th FEBS Congress (Göteborg, Sweden, 26 June - 1 July, 2010); FEBS JOURNAL 277 (Suppl. 1) 301–302 (2010)*
5. Rapali, P.; **Radnai, L.**; Harmat, V.; Wahlgren, Y.W.; Katona, G.; Hetényi, C.; Pál, G.; Nyitray, L. (2010) „Affinity enhancement of linear peptide motifs by *in vitro* evolution: the case of dynein light chain (DYNLL) binding peptides” *5th Central European Conference: Chemistry towards Biology (Primošten, Croatia, September 8-11, 2010)*
6. **Radnai, L.**; Rapali, P.; Tichy-Rács, A.; Hetényi, C.; Harmat, V.; Wahlgren, Y.W.; Katona, G.; Nyitray, L. (2010) ”Interaction of the LC8 dynein light chain with myosin Va and EML3: structural studies” *5th Central European Conference: Chemistry towards Biology (Primošten, Croatia, September 8-11, 2010)*
7. Rapali, P.; Szenes, A.; **Radnai, L.**; Bakos, A.; Grolmusz, V.; Pál, G.; Nyitray, L. (2011) „DYNLL/LC8: a hub protein that recognizes linear peptide motifs localized in disordered segments of its interaction partners.” „DYNLL/LC8: a light chain subunit of the dynein motor complex and beyond.” *4th European Conference on Chemistry for Life Sciences (Budapest, Hungary, 3 August – 3 September, 2011)*