

## A PP4 fehérje foszfatáz szubsztrátum-felismerő mechanizmusának molekuláris vizsgálata

Szerző: DÁN Kinga, II évfolyam (dankinguci@yahoo.com)

Témavezető: Dr. LIPINSZKI Zoltán, tudományos főmunkatárs

Intézmény: Szegedi Tudományegyetem TTIK, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémia Intézet

A PP4 fehérje foszfatáz számos biológiai folyamat szabályozásában vesz részt a fehérjék defoszforilációja által. A három alegységből felépülő holoenzim PP4R3 szabályozó alegység (emlősökben SMEK1, ecetmuslicában Falafel/Flfl) EVH1 doménje játszik szerepet a szubsztrátum felismerésében és megkötésében. Feltételezésünk szerint a SMEK1/Flfl EVH1 domén 69. (humán esetében), illetve 70. pozíciójában (muslica esetében) található konzervált leucin (L) aminosav fontos az R3 alegységek ligandum kötésében. Mindezt arra alapozzuk, hogy a kanonikus EVH1 fehérjékben, ebben a pozícióban mindig fenil-alanin található. *In vitro* DNS rekombinációs, fehérjebiokémiai és molekuláris biológiai technikákat alkalmazva kísérletesen bizonyítottuk, hogy a 69/70. leucin (L) alaninra (A) történő cseréje megszünteti az R3 EVH1 doménje és a szubsztrátumok közti kölcsönhatást. Eredményeink alapján állítjuk, hogy ez a konzervált leucin (L) szükséges a szubsztrátum-R3 kölcsönhatás kialakításához és feltételezzük, hogy a PP4 fehérje EVH1 doménje egy új variánst képez az EVH1 domének családjában.

Kulcsszavak: foszfatáz, PP4, EVH1, leucin

The PP4 protein phosphatase regulates several biological processes by protein dephosphorylation. The PP4R3 subunit (SMEK1 in humans, Falafel/Flfl in fruit flies) of the holoenzyme plays a fundamental role in substrate recognition, which is mediated by its N-terminal EVH1 domain. Our assumption was that the conserved leucine (in position 69 in humans or 70 in fruit flies, respectively) of the SMEK1/Flfl EVH1 domain is essential for target-binding. We hypothesised this, because in the canonical EVH1 domains it is always a phenylalanine that is present in this location. Using *in vitro* DNA recombination, protein biochemical and molecular biological techniques we have replaced this leucine (L) to alanine (A) and proved that is absolutely essential for the binding. Based on these results we propose that conserved leucine (L) is essential

to form a substrate-R3 interaction and we suppose that the EVH1 domain of PP4 represents a new class of the EVH1 family.

Keywords: phosphatase, PP4, EVH1, leucine