

Ph.D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Pilbák Sarolta

Fehérje-ligandum kölcsönhatások vizsgálata, modellezése

Témavezető: Dr. Poppe László



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Budapest

2008

1. BEVEZETÉS

A fehérjék, mint szervezetünk építőkövei, a szív, az izmok és egyéb testszövetek felépítésében vesznek részt, de fontos alkotórészei az enzimeknek, a hormonoknak és a szervezet védekezését biztosító immunanyagoknak is. Az állatokban és növényekben egyaránt fontos szerepet játszanak. A fehérjék fontos biológiai szerepét jellemzi, hogy minden sejtben lejátszódó folyamatban részt vesznek.

Az utóbbi évek egyre korszerűbb aminosav sorrend meghatározási módszerei által folyamatosan nő az adatbázisokban elraktározott fehérje szekvenciák száma. Míg az ismert szekvenciák száma exponenciálisan nő, kevés azonosított fehérjéről lehet funkcionális információt megállapítani. Így tehát a fehérje térszerkezet meghatározás egyik fontos kritériuma a szerkezet alapú funkció hozzárendelés.

A fehérje szerkezetek meghatározására több kísérleti eljárás is létezik. Ezek közül a legkiemelkedőbb a röntgenkrisztallográfia, melyhez azonban a fehérjét kristályosítani kell. Az enzimek általában vízben oldható fehérjék, elég jól kristályosíthatók. A membránba ágyazott fehérjéknél azonban körülményes lépés a kristálynövesztés, hiszen a fehérjéről leoldódik a természetes közeg, a sejtmembrán, így a fehérje nehezen veszi fel újra eredeti szerkezetét. Kísérletileg meghatározott szerkezetek hiányában a fehérjéket modellezéssel lehet megközelíteni.

A szervezet génjei kb. 20%-ban membrán-fehérjéket kódolnak, melyeknek kiemelkedő szerepük van a sejt-kommunikációban. A G-protein kapcsolt receptorok a legfontosabb transzmembrán fehérjék, mivel ezek számos fiziológiai folyamat regulációjában vesznek részt. Ezek közül a szenzoros receptorokat emelném ki, melyeknek a fényenergia továbbításában van szerepük. Az opszinok például fotoizomerizációs reakció során alakítják át sejt szintű válaszokká a fényt. A melanopszin a napi világos/sötét periódusokhoz való

igazodást követő sugárzás érzékeny sejtek fotopigmense, míg a rodopszin az éjszakai látásért felelős pálcikasejteké.¹ Célom a hörcsög melanopszin fehérje három-dimenziós szerkezet felderítése volt. E szerkezetpredikcióval a ligandum kötődését vizsgálva lehetőség lenne a melanopszin és rodopszin funkcionális élettani oldalról való összehasonlítására.

Az enzimek az élő sejtekben keletkeznek (fehérjék) és meghatározott kémiai reakciókat katalizálnak (biokatalizátorok). Az L-fenilalanin ammónia-liáz (PAL) a növényekben és gombákban lejátszódó metabolizmusok kezdeti lépése során L-fenilalaninból ammónia eliminációt katalizál. Hasonló reakciót katalizál az emberben és baktériumokban egyaránt előforduló hisztidin ammónia-liáz (HAL) és a PAL-al rokon bakteriális tirozin ammónia-liáz (TAL) is.² A reakció egy poszt-transzlációsán kialakuló MIO prosztetikus csoport segítségével megy végbe.³ Lényegében eddig két versengő mechanizmus létezett.² Az első elképzelés szerint a szubsztrát amin csoportja és a MIO metilén között kovalens (*N*-MIO) intermedier alakul ki. Innen három lehetséges út van: E₁cB, E₁ vagy E₂. Mivel az E₁ és E₂ reakció utakat kizárták és az E₁cB esetében a megfelelő β-proton lehasítása kérdéses maradt, Rétey professzor egy alternatív mechanizmust javasolt. A szubsztrát aromás gyűrűje Fridel Crafts-típusú reakcióban vesz részt a MIO metilénjével (FC intermedier), mely kölcsönhatás kellőképpen megsavanyíthatja a β-pozíciót. Pontmutációs kísérletek szerint egyetlen aminosav (His89Phe) cseréje a TAL aktivitást PAL aktivitásra váltja fel.⁴ Ez a PAL és TAL enzimek egyforma mechanizmusára enged következtetni. Doktori munkám második célkitűzése az ammónia-liázok szerkezeteinek és reakció mechanizmusuk modellezéssel és enzimen belüli számításokkal való vizsgálata volt.

¹ Erren, T. C., Erren, M., Lerchl, A., Meyer-Rochow, V. B., *Naturwissenschaften*, **2008**, *95*, 273-279.

² Poppe, L., Rétey, J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 3668-3688.

³ Schwede, T. F., Rétey, J., Schulz, G. E., *Biochemistry* **1999**, *38*, 5355-5361.

⁴ Louie, G. V., Bowman, M. E., Moffitt, M. C., Baiga, T. J., Moore, B. S., Noel, J. P., *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1327-1338.

Az enzimkatalizált folyamatok széles körben alkalmazhatók szintetikus célokra, többek között enantiomertiszta vegyületek szintézisére. A *Candida antarctica* B Lipáz (CaLB) szekunder alkoholok sztereoselektív észterezési reakciójában közkedvelt biokatalizátor.⁵ Az igazi kihívást a sztereoselektivitás enzimem belüli számításokkal való előrejelzése jelenti, mely dolgozatomban harmadik célkitűzésként szerepel. Azonban a feladatot megnehezíti, hogy egy racém alkohol esetében nem csak két enantiomerrel kell számolnunk, hanem figyelembe kell venni, hogy a lipázok működés mechanizmusa szerint az acilenzim és az alkohol között egy tetrahedrális intermediert (THI) jön létre, mely egy új aszimmetria centrum képződését vonja maga után.⁶

Fehérje molekulák egészének számolására azonban a kvantumkémiai módszerek nem alkalmasak, hiszen ezeknek igen nagy számítás kapacitásuk van. A kombinált kvantummechanika/molekulamechanika, QM/MM módszer lehetővé tenné az enzim-katalizált reakciók számítógépes modellezését, mivel lehetőség van az egyes fontosabb részek, pl. az aktív centrum kvantummechanikai szinten való kezelésére, úgy, hogy a környező rész molekulamechanikai erőterben marad.⁷

⁵ (a) Paizs, C., Tosa, M., Bódai, V., Szakács, G., Kmeicz, I., Simándi, B., Majdik, C., Novák, L., Irimie, F.-D., Poppe, L., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 1943-1949. (b) Szatzker, G., Móczár, I., Kolonits, P., Novák, L., Huszthy, P., Poppe, L., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 2483-2490.

⁶ Haeffner, F., Norin, T., Hult, K., *Biophys. J.*, **1998**, *74*, 1251-1262.

⁷ Vreven, T., Morokuma, K., *Theor. Chem. Acc.* **2003**, *109*, 125-132.

2. SZÁMÍTÁSI MÓDSZEREK

2.1. Homológia modellezés

A homológia modelleket automatizált homológia modellező szerverek (Swiss-Model, Robetta) segítségével állítottam elő.

2.2. Molekulamechanika és molekuladinamika

A felépített modellek relaxációja molekulamechanikai (Hyperchem, fehérje rész: amber99, nem fehérje rész: MM+) erőterben történt, ahol molekuladinamikai (MD) szimulációkat is végeztem. A melanopszin fehérje esetében a transzmembrán régió kívüli (hurok) részen, míg PAL enzimek esetében a katalízis szempontjából lényeges tirozint tartalmazó hurok részen végeztem MD szimulációkat.

2.3. Merev enzimen belüli konformáció analízis

Az enzimhez kötött ligandum lehetséges elrendeződéseit merev enzimen belüli konformáció analízissel vizsgáltam. Ehhez a reakció során enzimhez kovalensen kötődő (ammónia-liázok: MIO-ligandum, CaLB: tetrahedrális) intermedier kialakulása szükséges.

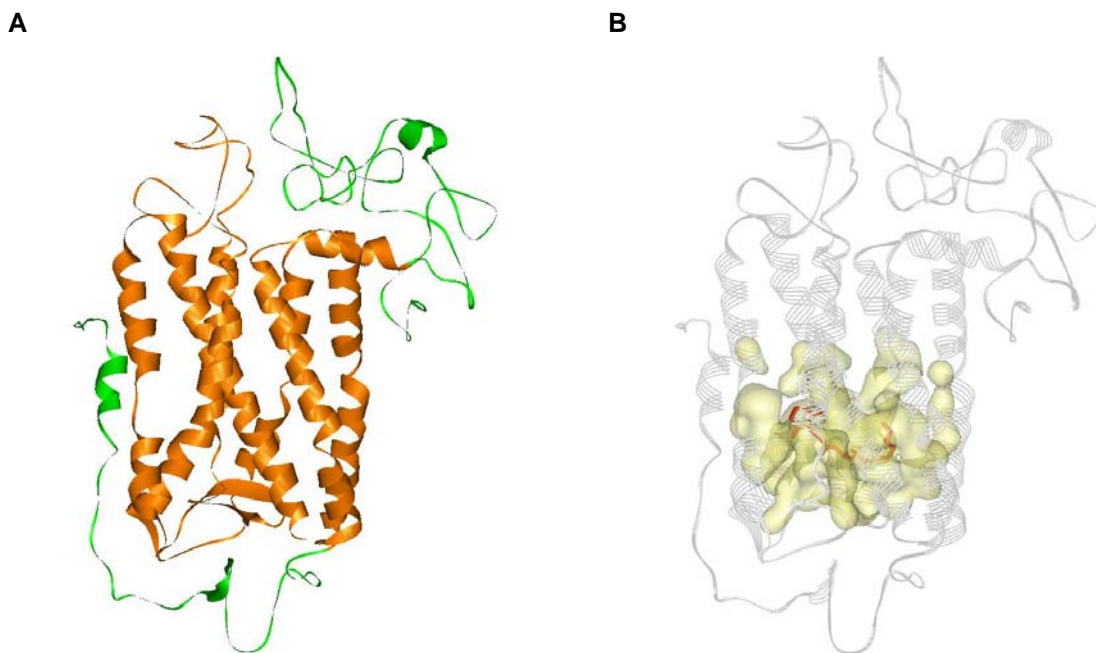
2.4. QM/MM számítások

A QM/MM (kombinált kvantummechanika/molekulamechanika) számításokat egy ~ 10 Å nagyságú enzimből kivágott szerkezeti részleten végeztem. A kvantumkémiai (QM) réteg a ligandumot és a katalízis szempontjából fontos aminosavakat tartalmazta, míg a többi aminosav a rögzített molekulamechanika (MM) részbe került (ammónia-liázok, CaLB számolása).

3. EREDMÉNYEK

3.1. A melanopszin fehérje első 3D-szerkezete

Tekintettel a hörcsög melanopszin és a szarvasmarha rodopszin szekvenciák közötti nagyon jó hasonlóságra, a melanopszin szerkezetet homológia modellezéssel közelítettem meg (1A. ábra). A melanopszin modellben (a rodopszin kristályszerkezetéhez hasonlítva) vizsgáltam a 11-*cis*-retinál fehérjében való kötődését (1B. ábra). Megállapítottam, hogy a kromofór fehérjéhez való kapcsolódása során kialakult Schiff-bázis stabilizálása gyengébb a melanopszinban. Ez arra utal, hogy a hörcsög melanopszinban lezajló fotoizomerizációs folyamat (ami a napi világos/sötét periódusokhoz való igazodáshoz köthető) lassabb lehet, mint az éjszakai látásért felelős rodopszinban. [1]

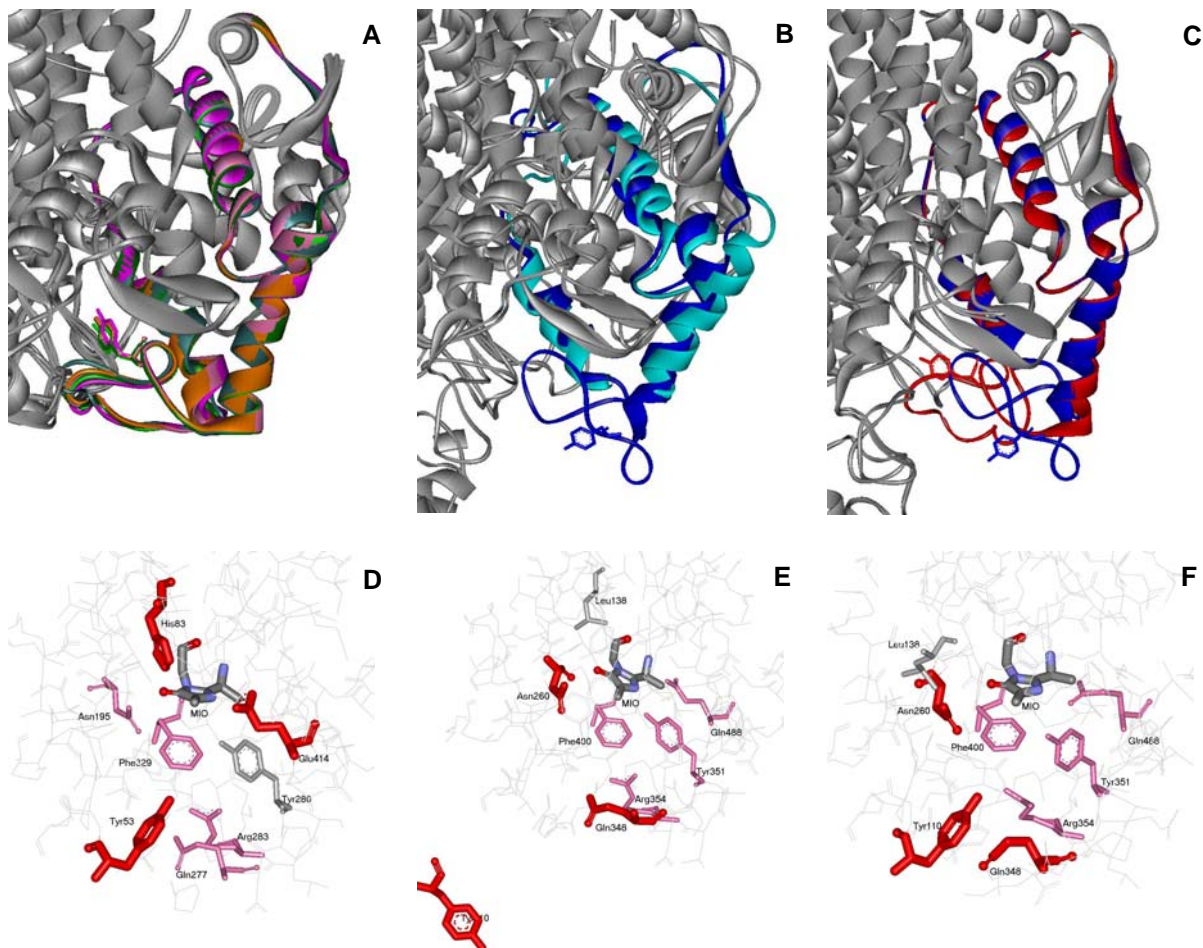


1. ábra. (A) A melanopszin fehérje összetett homológia modellje: a transzmembrán részét (narancssárga) a Swiss-Model, míg a hurok részeket (zöld) a Robetta szerverekről kaptuk. (B) A kromofór (piros pálcika) 8 Å környezete (sárga) a fehérjében.

3.2. Az ammónia-liázok tanulmányozása

3.2.1. Aktív fenilalanin ammónia-liáz (PAL) szerkezet létrehozása

A katalízis szempontjából lényeges Tyr110 (a petrezselyem PAL számozás szerint) hiányzik a bakteriális PAL (PDB kód: 1T6P) szerkezetből (2B. ábra: cián), a petrezselyem PAL szerkezetben (PDB kód: 1W27) pedig az aktív centrumtól távol helyezkedik el (2B. ábra: kék, 2E. ábra). Módosítva a rendelkezésünkre álló petrezselyem PAL kristályszerkezetet (1W27), létrehoztam egy olyan PAL modellt, amelyben a Tyr110 a hisztidin ammónia-liáz (HAL) szerkezetekhez (2A, 2D. ábrák) hasonlóan, az aktív centrumban helyezkedik el (2C, 2F. ábrák). [2]



2. ábra. (A) bakteriális HAL szerkezetek. (B) bakteriális (cián) és petrezselyem (kék) PAL kristályszerkezetek. (C) kísérleti és módosított petrezselyem PAL szerkezetek. (D) az 1B8F HAL, (E) az 1T6P PAL és (F) a PAL modell aktív centrumai.

A módosított PAL szerkezetet összehasonlítottam a kísérleti szerkezettel. A PAL modell energetikailag (~640 kJ/mol-al alacsonyabb) és fehérje szerkezet jóságát jellemző Ramachandran diagramm szempontjából is kedvezőbb a röntgen szerkezethez képest [2]. A létrehozott PAL modell stabilitását molekuladinamikai szimulációkkal vizsgáltam [2]. A 300 és 370 K-n végzett szimulációk igazolták a befelé álló Tyr110 (aktív) szerkezet stabilitását (1-1,5 Å mozgással). Ez a mozgás elegendő a szubsztrát bejutásához és a termék távozásához anélkül, hogy az enzim felvegye az eredeti PAL kristályszerkezetbeli, kihajló Tyr110-hurok konformációt. [2]

3.2.2. A tirozin ammónia-liáz (TAL) mechanizmus vizsgálata QM/MM számításokkal

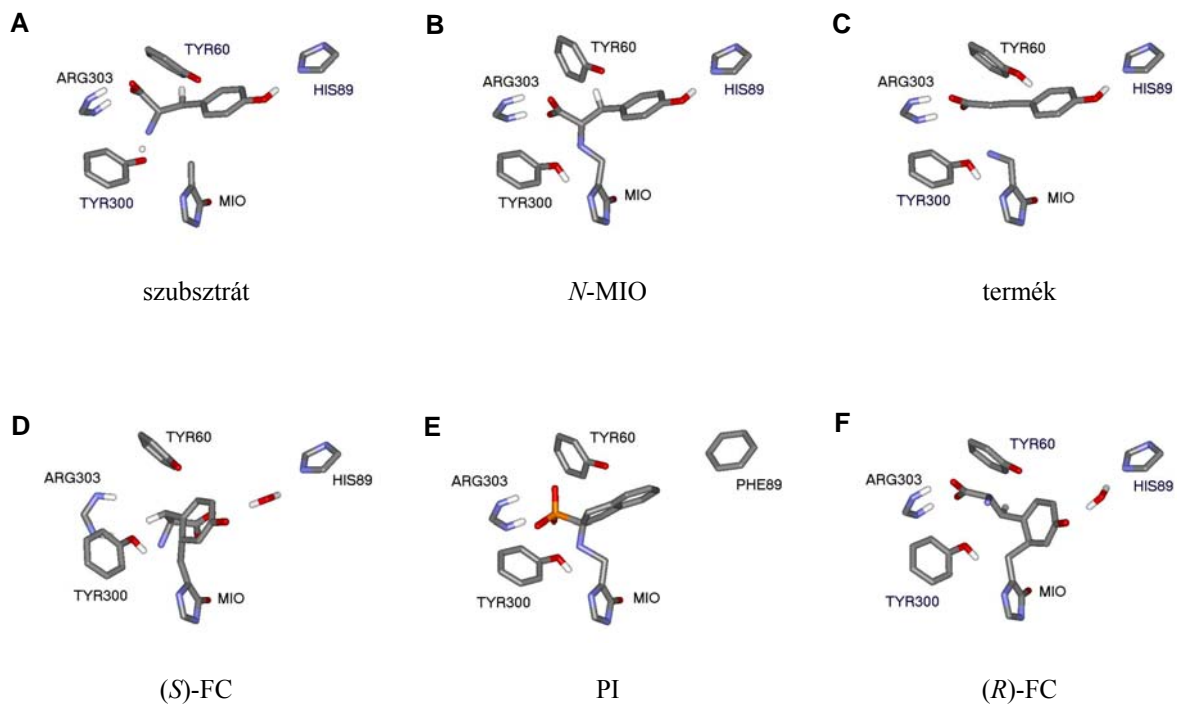
A nemrégiben megjelent *Rhodobacter sphaeroides* tirozin ammónia-liáz (*RsTAL*) szerkezet a lényeges Tyr60 (a petrezselyem PAL Tyr110-nek megfelelő) aminosavat és a MIO prosztetikus csoportot mélyen, a zárt aktív centrumon belül tartalmazza.

QM/MM módszerrel enzimen belül kiszámoltam a lehetséges kovalens intermedierek, valamint a szubsztrát és termék elrendeződését is. Az *N*-MIO intermedier több, mint 120 kcal/mol-al alacsonyabb energiájú, mint a kedvezőbb FC diasztereomer [(*R*)-FC]. Következésképpen, a TAL reakció csak az *N*-MIO intermedieren keresztül valósulhat meg. Az energiaértékek igazolják a kísérleti eredményt, mely szerint a TAL (akárcsak a PAL és a HAL) reakció normál körülmények között gyakorlatilag irreverzibilis (1. Táblázat). [5]

1. Táblázat. Az öt különböző *RsTAL* aktív centrum modellre számolt QM/MM potenciális energia (kcal/mol) különbség

Modell	PM3/UFF ^a	HF(3-21+G**)/UFF ^b	HF(6-31+G**)/UFF ^c
szubsztrát + MIO	47,3	57,8	49,3
(<i>S</i>)-FC	> 10000	> 10000	> 10000
(<i>R</i>)-FC	136,0	145,0	139,8
<i>N</i> -MIO	7,5	0,0	0,0
termék + H ₂ N-MIO	0,0	4,9	4,9

A szerkezeteket PM3/UFF szinten^a és HF(3-21+G**)/UFF szinten^b relaxáltuk. A szerkezeteket HF(3-21+G**)/UFF szinten relaxáltuk, majd HF(6-31+G**)/UFF szinten egy-pontos (single-point) számításnak vetettük alá^c.



3. ábra. Az öt HF(3-21+G**)/UFF módszerrel relaxált szerkezet [(A) szubsztrát; (B) *N*-MIO intermedier; (C) termék; (D) (*S*)-FC-intermedier és (F) (*R*)-FC-intermedier] összehasonlítása az *R_s*TAL aktív centrumon belül az (E) kísérletileg meghatározott *N*-MIO kötött 2-aminoindán foszfonát inhibitor (PI) szerkezettel.

A számolt szerkezeteket összehasonlítottam a foszfonát inhibitor (PI) tartalmazó TAL kristályszerkezettel (3. ábra). Az *N*-MIO intermedier elrendeződése teljes összhangban van a PI szerkezettel (az aromás gyűrű a His89 irányába mutat és a karboxilát az Arg303 közvetlen környezetében helyezkedik el). Az *N*-MIO szerkezeten keresztül a szubsztrátból könnyen kialakulhat a termék állapot, míg az FC állapotok esetében ehhez jelentős mozgásra lenne szükség. [5]

3.3. Termék abszolút konfiguráció előrejelzés a *Candida antarctica* B Lipáz (CaLB) enzimben

A CaLB (PDB kód: 1LBT) kristályszerkezetet szekunder alkoholok észterezési reakciói során keletkező termékek sztereoselektivitásának értelmezésére alkalmaztam. [3,4]

A CaLB enzimen belül négy alkohol (1-benzotiazol-2-il-etanol, BTZ2; 1-benztiofén-2-il-etanol, BTF2; 1-benzofurán-3-il-etanol, BZF3; 1-benztiofén-3-il-etanol, BTF3) sztereoselektív acilezési reakciójának termék abszolút konfigurációját vizsgáltam QM/MM számításokkal. A szerin hidrolázok mechanizmusa szerint az acil-enzim és alkohol között tetrahedrális intermedier (THI) jön létre, mely egy új aszimmetria centrum kialakulását eredményezi. Minden racém alkohol esetében négy THI állást vizsgáltam (5. ábra). A kovalensen kötött reakció intermedier merev enzimen belüli szisztematikus konformáció analízist tett lehetővé, mely a QM/MM számítások alapját képezte. Mivel a BTZ2 termék abszolút konfigurációja kérdéses volt, ezért elsősorban a 2-es helyzetben szubsztituált eseteket (BTF2, BTZ2) vizsgáltam részletesebb számolásokkal, a többi eset (BTF3, BZF3) csak referenciaként szolgált (2,3. Táblázat). [4]

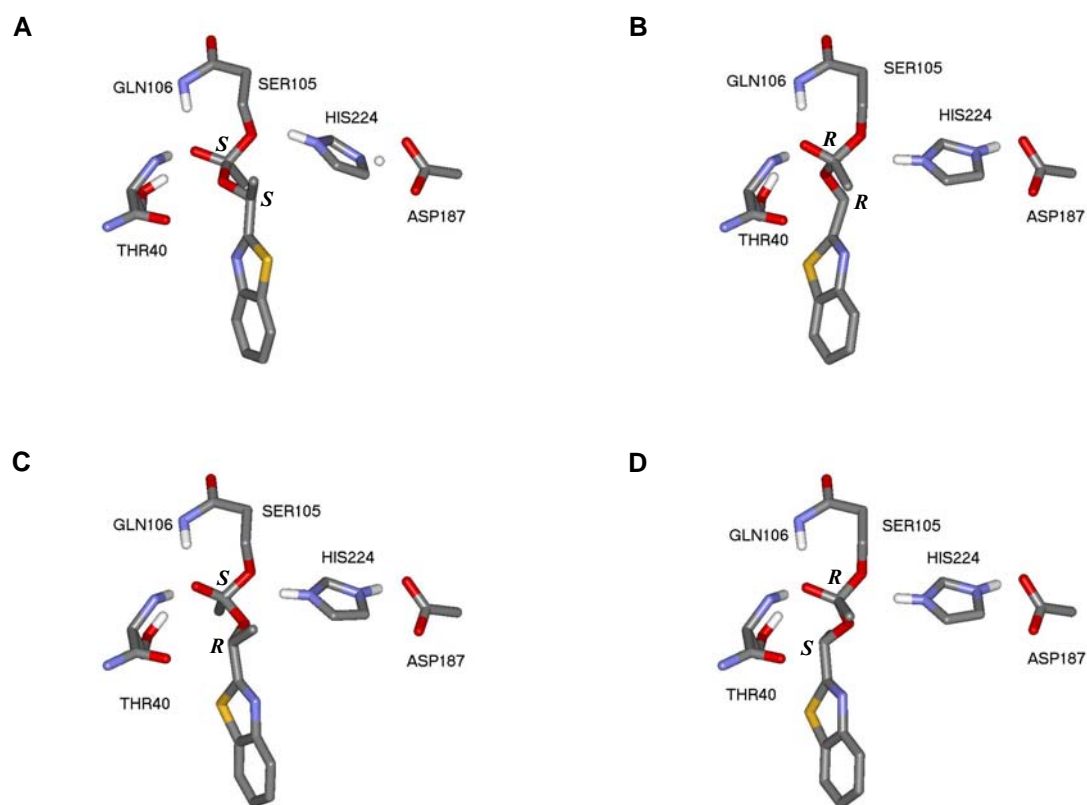
2. Táblázat. A PM3/UFF szinten optimált THI-ek relatív energiái

szubsztrát	<i>R</i> -alk- <i>R</i> -THI E (kcal/mol)	<i>R</i> -alk- <i>S</i> -THI E (kcal/mol)	<i>S</i> -alk- <i>R</i> -THI E (kcal/mol)	<i>S</i> -alk- <i>S</i> -THI E (kcal/mol)
BTZ2	20,1	0,0	8,4	21,2
BTF2	37,5	0,0	14,8	35,3
BZF3	16,1	0,0	10,8	10,0
BTF3	21,4	0,0	10,7	16,8

3. Táblázat. A HF(3-21+G**)/UFF szinten optimált THI-ek relatív energiái

szubsztrát	<i>R</i> -alk- <i>S</i> -THI E (kcal/mol)	<i>S</i> -alk- <i>R</i> -THI E (kcal/mol)
BTZ2	0,0	8,3
BTF2	0,0	6,8

A QM/MM számítások szerint minden esetben az (*R*)-alkohol-(*S*)-THI a legalacsonyabb energiájú intermedier, mely szerint az ebből képződő (*R*)-acetát a legvalószínűbb reakciótermék. Eredményeink teljes mértékben összhangban vannak a kísérleti eredményekkel. [4]



4. ábra. A négy PM3/UFF szinten optimált BTZ2 tetrahedrális intermedier a CaLB enzimen belül

4. TÉZISEK

4.1. A melanopszin fehérje első 3D-szerkezete

Létrehoztam a melanopszin fehérje első 3D szerkezetét, melyben a rodopszinhoz hasonlítva értelmeztem a kromofór kötődését. A melanopszinban gyengébb kölcsönhatások stabilizálják a kromofórt, mint a rodopszinban. [1]

4.2. Az aktív ammónia-liáz szerkezetek

A PAL és TAL enzimek működési mechanizmusának tanulmányozásához először egy PAL kristályszerkezetben módosítottam a katalízis szempontjából lényeges Tyr110 tartalmú hurok elrendeződését (stabilitását molekuladinamikai szimulációkkal vizsgáltam), [2] majd a nemrégiben megjelent TAL szerkezetben kiszámoltam a reakció során létrejövő lehetséges kovalens intermediereket. [5]

4.3. Termék abszolút konfiguráció előrejelzés QM/MM módszerrel a CaLB enzimben

A *Candida antarctica* B lipáz (CaLB) enzimben belül QM/MM módszerrel több heterociklust tartalmazó szekunder alkohol acilezése esetén kiszámoltam a négy lehetséges tetrahedrális intermedierek (acilenzim-alkohol komplex) megfelelő szerkezetek energiáit. Minden esetben az (*R*)-alkohol-(*S*)-THI a legstabilabb, mely az (*R*)-acetát képződését favorizálja. [3,4]

5. ALKALMAZÁSOK

A homológia modellezés, mint módszer fehérje szerkezetek megközelítésére alkalmazható. A hörcsög melanopszin modell a benne lezajló fotoizomerizációs folyamat értelmezésére ad lehetőséget. Sejten kívüli ligandumok megkötésére szolgáló fehérjék csoportjaként a G-protein kapcsolt receptorok jó célpontok lehetnek a gyógyszertervezésben.

Mivel a fenilalanin ammónia-liáz fontos szerepet játszik a növények metabolizmusában, érthető, hogy a PAL enzim herbicidek gyakori célpontja és egyike a legtanulmányozottabb növényi enzimeknek. Az ammónia-liázok mechanizmusának tisztázása működésük megértéséhez vezet. Munkánkra hivatkozva, kísérleti tényekkel igazolták a rövidebb láncú PAL enzimek hőstabilitását és Tyr-hurok behajló állását az aktív PAL enzimben.⁸

A *Candida antarctica* B lipáz (CaLB) közkedvelt biokatalizátor szekunder alkoholok észterezési reakcióiban. A sztereoszelektív folyamat során keletkezett termékek abszolút konfigurációja enzimen belüli számításokkal előrejelezhető.

Az általam kidolgozott enzimen belüli számítási stratégia kiindulópontját kovalens ligandum-enzim intermedierek szisztematikus konformáció analízise képezi. Továbbá, kombinált QM/MM módszerrel számolható volt az egyes intermedierek, szubsztrátok, termékek enzimen belüli elhelyezkedése. Kristályszerkezet birtokában a QM/MM módszer más enzimreakciók mechanizmusának tisztázására, valamint enzimen belüli folyamatok, termék abszolút konfiguráció előrejelzésére egyaránt alkalmazható.

⁸ Wang, L., Gamez, A., Archer, H., Abola, E. E., Sarkissian, C. N., Fitzpatrick, P., Wendt, D., Zhang, Y., Vellard, M., Bliesath, J., Bell, S. M., Lemontt, J. F., Scriver, C. R., Stevens, R. C., *J. Mol. Biol.*, **2008**, *380*, 623-635.

6. KÖZLEMÉNYEK

6.1. A doktori értekezés témájához kapcsolódó közlemények:

Megjelent publikációk:

1. Hermann, R., Poppe, L., **Pilbák, S.**, Boden, C., Maurer, J., Weber, S., Lerchl, A., Predicted 3-D structure of melanopsin, the non-rod non-cone photopigment of the mammalian circadian clock, from Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*), *Neurosci. Lett.*, **2005**, 376, 2, 76-80. [IF: 2,09; I: 1]
2. **Pilbák, S.**, Tomin, A., Rétey, J., Poppe, L., The essential Tyr-containing loop conformation and the role of the C-terminal multihelix region in eukaryotic phenylalanine ammonia-lyase, *FEBS J.*, **2006**, 273, 5, 1004-1019. [IF: 3,29; I: 6]
3. Sztzker, G., **Pilbák, S.**, Tőke, E. R., Bódai, V., Poppe, L., Stereoselectivity of *Candida antarctica* Lipase B reaction: transition states calculated by QM/MM methods, *FEBS J.*, **2005**, Suppl. 1, 272, 114-114. [IF: 3,29; I: 1]
4. Toşa, M., **Pilbák, S.**, Moldovan, P., Paizs, C., Sztzker, G., Szakács, G., Novák, L., Irimie, F.-D., Poppe, L., Lipase catalyzed kinetic resolution of racemic 1-hetero-arylethanol - Experimental and QM/MM study, *Tetrahedron: Asymm.*, **2008**, 19, 1844-1852. [IF: 2,47]

Előkészítés alatti publikációk:

5. **Pilbák, S.**, Rétey, J., Poppe, L., Mechanism of the tyrosine ammonia-lyase reaction, *FEBS J.*, **2008**, előkészítés alatt.

További előadások és poszterek:

6. **Pilbák, S.**, Poppe, L., A melanopszin fehérje homológia modellezése, *MKE QSAR, Kemometria és Molekulamodellzési Szakcsoportok Előadóülése*, **2004** március 25-26, Szeged, Magyarország, *ELŐADÁS*.

7. **Pilbák, S.**, Tomin, A., Poppe, L., Rétey, J., Lerchl, A., Homológia modellezés enzimek mechanizmusok vizsgálatára, *MTA Terpenoidkémiai és Elemorganikus Munkabizottság előadói ülése*, **2004** április 2, Budapest, Magyarország, *ELŐADÁS*.
8. **Pilbák, S.**, Poppe, L., Lerchl, A., Protein modeling as a tool for enzyme mechanistic studies, *Minisymposium on Cobalamins and Mimics*, **2004** május 22-23, Antwerpen, Belgium, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
9. **Pilbák, S.**, Rétey, J., Poppe, L., Enzimatiikus folyamatok működésének tanulmányozása QM/MM módszerekkel, MKE Vegyészkonferencia, **2008** június 19-21, Hajdúszoboszló, Magyarország, *ELŐADÁS*.
10. **Pilbák, S.**, Rétey, J., Poppe, L., A tirozin ammónia-liáz reakció mechanizmusa, *MKE QSAR, Kemometria és Molekulamodellzési Szakcsoportok Előadói ülése*, **2008** május 8-9, Szeged, Magyarország, *ELŐADÁS*.
11. **Pilbák, S.**, Noel, J. P., Poppe, L., A tirozin ammónia-liáz reaktív köztitermékének szerkezet-meghatározása QM/MM módszerekkel, *13th International Conference of Chemistry*, ISSN: 1843-6293, **2007**, november 8-10, Kolozsvár, Románia, *ELŐADÁS*.
12. **Pilbák, S.**, Tomin, A., Rétey, J., Poppe, L., Role of the essential Tyr-containing loop in MIO-containing phenylalanine ammonia-lyase, *European Chemical Societies, 13th FEChem Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry*, **2006** május 28-31, Sopron, Magyarország, *POSZTER*.
13. **Pilbák, S.**, A fenilalanin ammónia-liáz vizsgálata számítógépes módszerekkel, *Doktoráns Konferencia, BME Vegyész Kar*, **2006** február 7, Budapest, Magyarország, *ELŐADÁS*.
14. Poppe, L., **Pilbák, S.**, Tomin, A., Conformation of the Y100 loop in phenylalanine ammonia-lyase. Loop correction of the x-ray structures by modeling and molecular dynamics, *Molecular Modeling in Chemistry and Biochemistry, Workshop*, **2005** április 21-23, Kolozsvár, Románia, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
15. **Pilbák, S.**, Forró, E., Fülöp, F., Poppe, L., A CaLB sztereoselektivitásának számítása, *MKE QSAR, Kemometria és Molekulamodellzési Szakcsoportok Előadói ülése*, **2006** április 27-28, Szeged, Magyarország, *ELŐADÁS*.
16. **Pilbák, S.**, Sztzker, G., Tőke, E. R., Bócai, V., Poppe, L., Stereoselectivity of *Candida antarctica* lipase B: QM/MM calculations for trans-cyclohexane-1,2-diol derivatives, *Biotrans Conference*, **2005** július 3-8, Delft, Hollandia, *POSZTER*.

6.2. A doktori értekezés témájához közvetlenül nem kapcsolódó

közlemények és előadások:

17. **Pilbák, S.**, Croft, A., Poppe L., QM/MM calculations on the rearrangement reaction of isobutyryl-CoA mutase, *FEBS J.*, **2005**, Suppl. 1, 272, 113-113.
18. **Pilbák, S.**, Croft, A., Poppe, L., Influence of the model truncation for the isobutyryl-CoA mutase reaction - Partial or full protonation?, *Minisymposium on Cobalamins and Mimics*, **2005** május 25-29, Obergurgl, Ausztria, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
19. **Pilbák, S.**, Croft, A., Poppe, L., Degree of model-truncation – Influence on the results of DFT calculations for the isobutyryl-CoA mutase reaction, *Molecular Modeling in Chemistry and Biochemistry, Workshop*, **2005** április 21-23, Kolozsvár, Románia, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
20. **Pilbák, S.**, Poppe, L., Rétey, J., Croft, A., Az izobutiril-CoA mutáz reakció tanulmányozása homológia modellezés és QM/MM számítások segítségével, *10th International Conference of Chemistry*, ISBN 973-7840-00-3, 291-293, **2004** november 12-14, Kolozsvár, Románia, *ELŐADÁS*.
21. **Pilbák, S.**, Croft, A., Poppe, L., The isobutyryl-CoA mutase reaction - a study by homology modelling and QM/MM calculations, *Minisymposium on Cobalamins and Mimics*, **2004** november 4-5, Marburg, Németország, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
22. **Pilbák, S.**, Poppe, L., Croft, A., The isobutyryl-CoA mutase reaction - a study by homology modelling and QM/MM calculations, Part I, *2nd Central European Conference "Chemistry towards Biology"*, **2004** szeptember 26-29, Seggau, Ausztria, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.
23. **Pilbák, S.**, Poppe, L., Synthetic efforts towards glutamate mutase reaction mimics, *Minisymposium on Cobalamins and Mimics*, **2003** december 29-30, Stockholm, Svédország, *ANGOL NYELVŰ ELŐADÁS*.