

**Vak vezet világtalant: hogyan lesz rendezetlen peptidekből
rendezett komplex?**



Györfly Dániel
A Ph.D. Disszertáció tézisei

Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionikai Kar

Témavezető:
Dr. Závodszy Péter
Dr. Szilágyi András

Budapest, 2014

1. Bevezetés

A fehérjék az élő szervezetekben a funkciójukat leggyakrabban kölcsönhatásaikon keresztül fejtik ki. Mivel a működéshez csak bizonyos kölcsönhatásokra van szükség, és mivel a funkció ellátásához szükségtelen kölcsönhatások gátolhatják a funkciót, ezért az élő szervezetnek törekednie kell arra, hogy a fehérjék minél pontosabban felismerjék a funkcionális kötőpartnereiket. A felismerés alapvetően a felszíni mintázatok komplementaritásán alapul. Azonban a komplementaritás nem egy eleve létező, statikus tulajdonság, ahogyan azt Emil Fischer kulcs-zár hipotézise feltételezi [1]. Mivel a fehérjékről is bebizonyosodott, hogy szerkezetük nem egy merev struktúra, hanem különböző konformációik egymásba dinamikusan átalakulhatnak, egyre inkább teret nyert a molekuláris felismerésnek az a magyarázata, hogy a kötődés során valamilyen konformációs átalakulás is végbemegy a kötőpartnerekben. Az ilyen, kötődéshez kapcsolt konformációváltozás mechanizmusára kétféle modell létezik: az egyik szerint a partnermolekula kötődése az, ami kiváltja a flexibilis partner konformációs átalakulását, ez a Koshland által javasolt indukált illeszkedés („induced fit”) mechanizmus [2]. A másik, az ún. konformációkiválasztás („conformational selection”, „fluctuation fit”) [3, 4] szerint a flexibilis molekula a partner távollétében különböző konformációkat látogat meg, bizonyos valószínűséggel a komplexbeli konformációt is. A partner ezek közül a konformációk közül választja ki a flexibilis molekula komplexbeli konformációját, és a kötődés hatására megnöveli a többi konformációhoz viszonyított valószínűségét („population shift”) [5].

A fehérjéknek egy újabban felfedezett csoportjára, a rendezetlen fehérjékre különösen jellemző a kötődés hatására bekövetkező szerkezetváltozás. A rendezetlen fehérjék oldatban nem rendelkeznek jól meghatározott harmadlagos szerkezettel – sőt gyakran másodlagos szerkezettel sem. Bizonyos partnerhez való kötődés során azonban gyakran rendezett szerkezetűvé válnak; ez a kapcsolt felgombolyodás és kötődés („coupled folding and binding”) jelensége [6].

Rendezetlen fehérjék jelentős szerkezeti flexibilitással nem rendelkező partnerhez való kötődésének leírására alkalmasak a kötődéshez kapcsolt konformációváltozás leírására használt fogalmak. Ha azonban a komplexképzésben részt vevő két lánc mindegyike flexibilis szerkezetű, és a kötődés során valamilyen konformációváltozást szenved el, a hagyományos fogalmi keretek elégtelennek bizonyulnak [7]. További bonyodalmakat okozhat, ha a szóban forgó láncok azonos szekvenciájúak, fölmerül ugyanis a kérdés, hogy a szekvenciák azonosságából adódó belső szimmetria a komplexképződés során is megjelenik-e a két lánc viselkedésében.

Anfinsen termodinamikai hipotézise szerint egy fehérje natív állapota normális fiziológiai körülmények (pH, oldószer, ionerősség stb.) között az az állapot, amelyben az egész rendszerre (fehérje és oldószer) nézve a szabadentalpia minimális [8]. A termodinamikai hipotézisből következik, hogy egy rendszer natív állapotának azonosítása egy optimalizációs probléma, ami még bármely két- vagy háromdimenziós egyszerűsített modell esetén is *NP-nehéz* [9, 10], ami azt eredményezi, hogy a keresési idő nagyon gyorsan növekszik a rendszer méretének növekedésével. A fehérjék sok szabadságfokú rendszerek nagyméretű állapottérrel és az állapotok közötti bonyolult átmenetekkel. A mai számítógépek számítási kapacitásának korlátai szükségszerűvé teszik egyszerűsített modellek alkalmazását, amely egyszerűsítés kiterjedhet az állapotter diszkretizálásától elkezdve [11, 12], a láncrepresentáció felbontásának csökkentésén keresztül [13, 11, 12] egészen az állapotok energiáinak meghatározására szolgáló energiafüggvények egyszerűsítéséig [14, 15, 16].

Az elterjedten használt egyszerűsített modellek közül az egyik leginkább leegyszerűsített modell a Lau és Dill által javasolt HP (hidrofób – poláros) kétdimenziós rácsmódel [12]. A HP négyzetrácsmodellben a fehérjeláncokat egy, a négyzetrácsra végzett önelkerülő bolyongás reprezentálja. A szerzők hidrofób és poláros „aminosavakat” különböztetnek meg, amelyek között olyan energiafüggvényt definiálnak, hogy az a rácson szomszédos hidrofób-hidrofób párokhoz rendel nullától eltérő $e < 0$ energiát. A HP modell nagy előnye, hogy egzakt számítások végezhetőek az állapotter és a szekvenciater teljes feltérképezésével. Teljes enumeráció végezhető $l = 25$

lánc hosszúságig [17]. A HP láncok Monte Carlo-szimulációkban is felhasználhatók, ehhez többféle mozgáskészletet definiáltak korábban [18, 19]. Munkám során a Lesh és munkatársai által definiált „pull moves” mozgáskészletet használtam, amely eredeti változatban irreverzibilis mozgásokat tartalmazott, de egyszerűen reverzibilissé tehető [20].

Komplex, sok szabadságfokú rendszerek termodinamikai és kinetikai leírására hagyományosan az ún. szabadenergia-tájképek vizsgálata terjedt el. A szabadenergia-tájképeket úgy kapjuk, hogy bizonyos kis számú, félig-meddig önkényesen definiált reakciókoordináta függvényében ábrázoljuk a szabadenergiát, és ekkor egy reakciókoordináta esetén szabadenergia-görbét, két reakciókoordináta esetén szabadenergia-felszínt, kettőnél több reakciókoordináta esetén pedig szabadenergia-hiperfelszínt kapunk. A szabadenergia-tájkép módszerének hátránya, hogy a dimenziószám-csökkenés miatt bizonyos, kinetikailag egymástól távol eső állapotok a reakciókoordináta-tér azonos pontjaira esnek, és ennek következtében bizonyos szabadenergiagátak eltűnhetnek [21]. Ezt a problémát hivatott orvosolni az átmeneti hálózatok elemzésének módszere. Az átmeneti hálózat egy Markov-modell, azaz egy irányított, súlyozott gráf, amelynek csúcsai – megszámlálható állapottér esetén – a rendszer mikroállapotai, a csúcsokat összekötő irányított élek pedig a köztük lehetséges átmenetek. Az élek csúcsai az egyes átmenetek valószínűségeit adják meg. (Megszámlálhatatlan állapottér esetén az állapottér valamilyen diszkrétizálásával kapjuk meg a gráf csúcsait [21, 22]). Állandó hőmérsékletű és nyomású rendszerek állapotainak valószínűségeloszlását a

$$P_i = \frac{e^{-E_i/k_B T}}{\sum_j e^{-E_j/k_B T}} \quad (1)$$

Boltzmann- vagy kanonikus eloszlás adja meg, ahol E_i az i állapot energiája, k_B a Boltzmann-állandó és T az abszolút hőmérséklet. Ha az átmeneti hálózat éleinek súlyait úgy választjuk meg, hogy az megfelelően a

$$p_{ij} = \min \left(1, \frac{p_{ji}^{ap}}{p_{ij}^{ap}} \cdot e^{-(E_j - E_i)/k_B T} \right) \quad (2)$$

Metropolis – Hastings-kritériumnak [23], ahol p_{ij}^{ap} , p_{ji}^{ap} , E_i és E_j rendre az $i \rightarrow j$ és a $j \rightarrow i$ átmenet *a priori* valószínűségei (azaz, hogy milyen valószínűséggel kísérli meg a rendszer az adott átmenetet), valamint az i és j állapot energiái, akkor az állapotok egyensúlyi valószínűségi eloszlása az (1) egyenlettel definiált Boltzmann-eloszlás lesz.

Az állapothálózat hálózatelemzési módszerek segítségével vizsgálható. A hálózat átmeneti mátrixának spektrális elemzésével, a Perron-klaszter Klaszterelemzés módszere segítségével a rendszer metastabilis állapotai azonosíthatók [24]. Legyen \mathbf{T} az állapothálózat átmeneti mátrixa. Ha az átmeneti mátrix irreducibilis, azaz a Markov-modell által leírt rendszer ergodikus, akkor $T \lambda_i$ sajátértékei mind valósak, és $\lambda_1 = 1$, valamint $|\lambda_i| < 1$ minden $i > 1$ -re. Minden egyes sajátérték megfelel egy $t_i = -\frac{\tau}{\ln \lambda_i}$ időskálájú mozgásnak [25]. Hogy a megfelelő mozgás milyen állapotok között zajlik, azt a sajátértékhez tartozó jobb oldali sajátvektor komponenseinek előjelemzésével határozhatjuk meg [21]. Ha az első k számú sajátérték nagyságban jól elkülönül a többitől, akkor ezt a k sajátértéket Perron-klaszternek nevezzük, és ez azt jelzi, hogy az állapotok nagy része k számú metastabil állapotba sorolható.

A rendszer kinetikájának vizsgálatára alkalmas eszköz az átmenetiútvonal-elmélet [26]. Egyensúlyi, vagy steady-state körülmények között az átmenetiútvonal-elmélet alkalmas bizonyos előre definiált reaktáns- és termékalmaz közötti átmenet különböző útvonalain átfolyó reaktív fluxus számítására, és ezen keresztül alkalmas a teljes reakció sebességének, ill. sebességi együtthatójának számítására. Az átmenetiútvonal-elmélet alkalmazása során definiáljuk az állapottér két, egymással át nem fedő részalmazát, az R reaktánsalmazt és a P termékalmazt. A rendszer minden $i \in S$, $i \notin R \cup P$ állapotára, ahol S a rendszer

állapottere, meghatározható annak a q_i^+ valószínűsége, hogy a rendszer az i állapotból indulva azelőtt éri el a termékalmazt, hogy közben a reaktánsalmazt meglátogatná. A q^+ az ún. elköteleződési függvény. Az állapotok valószínűségei, az átmeneti mátrix és az elköteleződési függvény segítségével kiszámíthatóak az i állapotból a j állapotba irányuló élen átfolyó

$$f_{ij}^{RP} = p_i T_{ij} (1 - q_i^+) q_j^+ \quad (3)$$

reaktív fluxus, ill. ezeknek az R halmazból kivezető élekre történő összegzésével a

$$v^{RP} = \sum_{(i,j) \in R \times \bar{R}} f_{ij} \quad (4)$$

reakciósebesség.

Bármilyen steady-state állapotban a reakciósebességből kiszámítható a sebességi együttható

$$k^{RP} = \frac{v^{RP}}{\sum_{i \in R} p_i^{ss}} \quad (5)$$

segítségével, ahol p_i^{ss} az i állapot steady-state valószínűsége.

Több láncból álló rendszerek modellezése azért különösen problémás, mert az állapotterük jóval nagyobb méretű a megfelelő egy láncból álló rendszerek állapotterének méretéhez viszonyítva. Ez részben abból ered, hogy a két lánc egymástól függetlenül ugyanazt a konformációs teret járja be, mint a megfelelő monomer, részben pedig abból, hogy a két lánc nagyszámú relatív pozícióban helyezkedhet el. Szükséges lehet tehát az állapothálózat olyan egyszerűsítése, amely lehetővé teszi egzakt számítások végzését az állapothálózaton.

Doktori munkám célja rendezetlen fehérjék homodimerképződésének termodinamikai és kinetikai leírása, a lehetséges dimerképződési mechanizmusok, és a dimerképzésben játszott szerepük tisztázása, a kötődéshez kapcsolt konformációváltzás leírására szolgáló fogalomkészlet kötődéshez kapcsolt kölcsönös felgombolyodás leírására való alkalmasságának vizsgálata.

2. Új tudományos eredmények összefoglalása

2.1. Két rendezetlen lánc kapcsolt felgombolyodás és kötődésének vizsgálata egzakt, nem szerkezet alapú modell segítségével

Fehérje dimerek képződését sokan vizsgálták korábban számítógépes módszerek segítségével, azonban a nagy számítási igény miatt bizonyos egyszerűsítéseket voltak kénytelenek tenni; egzakt számítások végzése föl sem merült. Korábban vizsgálták homodimerek képződését szerkezet alapú (pl. Gö-modell) modellen végzett számítógépes szimulációk segítségével [27, 28], vizsgálták rendezetlen lánc rendeződését egy célfehérjéhez való kötődés során HP modellen [29]. Munkám során tudomásom szerint először végeztem egzakt számításokat két rendezetlen lánc kötődéshez kapcsolt kölcsönös felgombolyodásának vizsgálatára HP modellen, anélkül, hogy az energiafüggvénybe a natív állapotra vonatkozó információt építettem volna be.

2.2. Kétrétegű modell

A két láncból álló rendszer állapottere alapján létrehozott állapothálózat olyan nagy méretű volt, hogy csak maximum $l = 5$ lánc hosszúságig tette lehetővé a teljes hálózat felépítését. Két egyszerű feltételezés segítségével sikerült jelentősen redukálni az állapotter méretét, és olyan kétrétegű állapothálózatot létrehozni, amely $l = 8$ lánc hosszúságig lehetővé tette egzakt számítások végzését. A modellben minden konformációpárhoz, tehát ahol a két lánc meghatározott konformációban van, egy asszociált és egy disszociált állapot tartozik, amelyek a modell két rétegét alkotják.

2.3. Markov-modell steady-state valószínűségeinek kiszámítására alkalmas eljárás kidolgozása

Abból kiindulva, hogy steady-state állapotban egy adott állapot bemenő és kimenő fluxusainak különbsége nulla, felírtam egy lineáris egyenletrendszert, amelynek megoldásával megkaphatók az állapotok steady-state valószínűségei.

2.4. Rendezetlen fehérjék kapcsolt felgombolyodás és kötődésének három mechanizmusa

Aszerint, hogy a két lánc a kötődés pillanatában a felgombolyodott, vagy denaturált állapotban van-e, három mechanizmust különítettünk el. Ha mindkét lánc felgombolyodott állapotban van, akkor merev dokkolásról beszélhetünk, ha az egyik lánc felgombolyodott, a másik denaturált állapotban van, a mechanizmus konformációkiválasztás, ha pedig mindkét lánc denaturált, akkor a dimerképződési mechanizmus az indukált felgombolyodás. Az átmenetiútvonalelmélet felhasználásával kiszámítottam a három mechanizmus szerinti fluxusokat egyensúlyi és steady-state állapotban is, valamint a pillanatnyi fluxusokat vizsgáltam az időben. Az eredmények azt mutatják, hogy egy adott szekvencia esetében általában mind a három lehetséges mechanizmus jelen van (legalább kettő minden esetben), és hogy az, hogy a három mechanizmus közül egy adott szekvencia esetében melyik a domináns, az időben változik, és függ attól, hogy a rendszert milyen állapotban vizsgáljuk.

2.5. A steady-state és az egyensúlyi fluxusok összevetése

Az élő sejtek nem egyensúlyi rendszerek, de bizonyos folyamatokra érvényes lehet a feltételezés, hogy steady-state állapotban vannak. Összehasonlítotam tehát az általam vizsgált rendszer viselkedését egyensúlyi és steady-state állapotban. Habár ez nem általánosítható, az általam vizsgált rendszerben az egyensúlyi és a steady-state viselkedés lényegileg nem különbözött egymástól.

2.6. A homodimer-kialakulás során a két lánc viselkedése nem teljesen szimmetrikus

A homodimerképződés elméleti leírásai egy-két kivételtől eltekintve nem vizsgálták a homodimerképződés szimmetriáját, kivételként említhető pl. [27]. A homodimerképződés hagyományos két- és háromállapotú modelljei is implicite feltételezték a folyamat szimmetriáját, valójában a szimmetria kérdése föl sem merült. Megvizsgáltam, hogy mennyire szimmetrikusan viselkedik a két lánc a dimerképződés során és azt találtam, hogy legalább egy kis mértékben minden szekvencia esetén aszimmetrikusan viselkedtek a láncok. Bizonyos szekvenciák esetében azonban kifejezett aszimmetriát találtam, legalábbis a folyamat elején.

2.7. Az aminosavösszetétel-térben a rendezett és a rendezetlen szekvenciák által elfoglalt régiók közötti átfedés mértéke csökken a lánc-hosszúsággal

Gyakori megfigyelés, hogy azok a rendezetlenségjóló eljárások, amelyek a szekvenciák aminosavösszetételei alapján jósolják a rendezetlenséget, hosszú láncokra pontosabb eredményeket adnak, mint rövid láncokra [30, 31, 32]. Ennek egyik oka lehet, hogy az aminosavösszetétel-térnek azok a részterei, amelyek a rendezett, valamint a rendezetlen szekvenciákat tartalmazzák, elkülönülnek ugyan, de átfednek. Az elkülönülés és az átfedés megfigyelhető akkor is, ha az aminosavösszetételt a szekvenciák átlagos hidrofobicitásával és abszolút nettó átlagos töltésével jellemezzük [33]. Munkánk során megmutattuk, hogy az átfedő, *alkonyzónának* nevezett részek kiterjedése a lánc-hosszúság növekedésével csökken. Az alkonyzóna helyzete az átlagos hidrofobicitás – abszolút átlagos nettó töltés síkon változik ugyan a lánc-hosszúsággal, de a változás irányára egyértelmű trend nem figyelhető meg. HP és HPN négyzetrácsmodellek esetén szintén kimutattuk az alkonyzóna kiterjedésének csökkenését a lánc-hosszúság növekedésével. Lánc-hosszúságtól függő kontaktusenergia használatával azt is sikerült elérni, hogy az alkonyzó-na pozíciója ne változzon egyértelmű trend szerint a lánc-hosszúság függvényében [34].

2.8. A „pull moves” mozgáskészlet irreverzibilis mozgásokat tartalmaz

Lesh és munkatársai egy ergodikus, lokális és állításuk szerint reverzibilis mozgáskészletet definiáltak [19]. Bebizonyítottam, hogy az eredetileg javasolt mozgáskészlet irreverzibilis mozgásokat tartalmaz. Az irreverzibilis mozgások miatt a rendszer nem teljesíti a részletes egyensúlyi elvét, ami pontatlan mintavételezéshez vezethet az irreverzibilis mozgáskészletet használó mintavételi eljárásokban. Javaslatot tettem arra vonatkozóan, hogy a mozgáskészlet hogyan tehető teljesen reverzibilissé. Megmutattam, hogy bizonyos feltételek teljesülése esetén a hibás mozgáskészlet használata sem vezet pontatlan mintavételezéshez. Wang – Landau-mintavételezés [19] segítségével kimutattam, hogy rövid láncokra az irreverzibilitás jelentős eltéréseket okozhat az ezakt értékektől [20].

3. Kitekintés, az eredmények további hasznosíthatósága

A munkám alap kutatás jellegű, mégis kiemelhető egy módszertani eredmény és egy elvi megfontolás további hasznosíthatósága. Az általam HP modell alapján kidolgozott kétrétegű modell kevésbé egyszerűsített modellel is alkalmazható, ugyanis a modell alapjául szolgáló egyszerű feltételezések ugyanúgy érvényesek lehetnek bonyolultabb reprezentációkra. Molekuladinamikai szimulációk eredményeinek elemzésére egyre elterjedtebben használnak Markov-modelleket. Több láncból álló rendszerek esetén a két lánc nagyszámú lehetséges relatív pozíciójából eredő hozzájárulás lényegesen megnöveli az állapottér, és ebből kifolyólag a származtatott Markov-modell méretét. Kétrétegű modell alkalmazásával jelentős méretcsökkenés érhető el, ami lehetővé teszi a konformációs állapotterek részletesebb vizsgálatát.

Komplex kémiai reakciók leírására gyakran alkalmaznak néhány állapotból álló kinetikai sémákat, mivel ezek szemléletesek és egyszerű következtetések levonására alkalmasak. Kísérletes vizsgálatok során gyakori, hogy a kinetikai sémában szereplő egyes állapotok valamilyen mérhető paraméter mérésén alapulnak. Nincs azonban garancia arra, hogy a mérhető paraméterek által definiált állapotok a rendszernek valódi metastabilis állapotai. A kinetikai sémákban feltüntetett sebességi együtthatók csak akkor valódi sebességi együtthatók, tehát értékük csak akkor nem függ a rendszer pillanatnyi állapotától, ha a kinetikai sémában szereplő állapotok valódi metastabilis állapotok. Ha nem azok, sebességi együtthatók csak bizonyos speciális körülmények között, egyensúlyban, vagy valamilyen steady-state állapotban határozhatók meg. Tehát minden olyan vizsgálatban, ahol valamilyen kinetikai sémát írnak fel egy komplex folyamatra, érdemes vizsgálni, hogy az általunk, valamilyen mért paraméter által definiált állapotok a rendszernek valódi metastabilis állapotai-e, ill. ha nem azok, vagy ez nem eldönthető, akkor csak speciális körülmények között határozhatók meg a sebességi együtthatók, de az így kapott értékek csak azok között a speciális körülmények között lesznek érvényesek.

Az értekezés alapjául szolgáló publikációk

1. Szilágyi A, Györfly D és Závodszy P. „The twilight zone between protein order and disorder.” *Biophys J*, **2008**;95:1612–26.
2. Györfly D, Závodszy P és Szilágyi A. „„Pull moves” for rectangular lattice polymer models are not fully reversible.” *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*, **2012**;9:1847–9.

Nemzetközi konferencián bemutatott poszter

Györfly D, Závodszy P és Szilágyi A.: „The blind leading the blind: how disordered peptides form an ordered complex”. 3rd Prague Protein Spring meeting, Prága, 2014

Hivatkozások

- [1] Fischer E. „Einfluss der configuration auf die Wirkung der Enzyme”. *Ber Dtsch Chem Ges*, **1894**;27:2985–93.
- [2] Koshland DE. „Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis.” *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1958**;44:98–104.
- [3] Straub FB. „Formation of the secondary and tertiary structure of enzymes.” *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, **1964**;26:89–114.
- [4] Boehr DD, Nussinov R és Wright PE. „The role of dynamic conformational ensembles in biomolecular recognition.” *Nat Chem Biol*, **2009**;5:789–96.
- [5] Tsai CJ, Ma B és Nussinov R. „Folding and binding cascades: shifts in energy landscapes.” *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1999**;96:9970–2.
- [6] Dyson HJ és Wright PE. „Coupling of folding and binding for unstructured proteins.” *Curr Opin Struct Biol*, **2002**;12:54–60.
- [7] Piana S, Lindorff-Larsen K és Shaw DE. „Atomistic description of the folding of a dimeric protein”. *The Journal of Physical Chemistry B*, **2013**;117(42):12935–12942.
- [8] Anfinsen CB. „Principles that govern the folding of protein chains.” *Science*, **1973**;181:223–30.
- [9] Unger R és Moult J. „Finding the lowest free energy conformation of a protein is an np-hard problem: proof and implications.” *Bull Math Biol*, **1993**;55:1183–98.
- [10] Fraenkel AS. „Complexity of protein folding.” *Bull Math Biol*, **1993**;55:1199–210.
- [11] Skolnick J, Kolinski A és Yaris R. „Monte Carlo simulations of the folding of β -barrel globular proteins.” *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1988**;85:5057–61.
- [12] Lau KF és Dill KA. „A lattice statistical mechanics model of the conformational and sequence spaces of proteins”. *Macromolecules*, **1989**;22:3986–3997.

- [13] Clementi C, Nymeyer H és Onuchic JN. „Topological and energetic factors: what determines the structural details of the transition state ensemble and "en-route" intermediates for protein folding? an investigation for small globular proteins.” *J Mol Biol*, **2000**;298:937–53.
- [14] Krantz AT. „Analysis of an efficient algorithm for the hard-sphere problem”. *ACM Trans Model Comput Simul*, **1996**;6(3):185–209.
- [15] Dokholyan NV, Buldyrev SV, Stanley HE és Shakhnovich EI. „Discrete molecular dynamics studies of the folding of a protein-like model.” *Fold Des*, **1998**;3:577–87.
- [16] Taketomi H, Ueda Y és Gō N. „Studies on protein folding, unfolding and fluctuations by computer simulation. i. the effect of specific amino acid sequence represented by specific inter-unit interactions.” *Int J Pept Protein Res*, **1975**;7:445–59.
- [17] Irbäck A és Troein C. „Enumerating designing sequences in the hp model.” *J Biol Phys*, **2002**;28(1):1–15.
- [18] Chain HS és Dill KA. „Energy landscape and the collapse dynamics of homopolymers”. *J Chem Phys*, **1993**;99:2116–2127.
- [19] Lesh N, Mitzenmacher M és Whitesides S. „A complete and effective move set for simplified protein folding”. In „Proceedings of the seventh annual international conference on Research in computational molecular biology”, RECOMB '03. ACM, New York, NY, USA, 188–195. URL <http://doi.acm.org/10.1145/640075.640099>.
- [20] Györfly D, Závodszy P és Szilágyi A. „"Pull moves" for rectangular lattice polymer models are not fully reversible.” *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*, **2012**;9:1847–9.
- [21] Noé F és Fischer S. „Transition networks for modeling the kinetics of conformational change in macromolecules.” *Curr Opin Struct Biol*, **2008**;18:154–62.
- [22] Chodera JD, Singhal N, Pande VS, Dill KA és Swope WC. „Automatic discovery of metastable states for the construction of markov models of macromolecular conformational dynamics.” *J Chem Phys*, **2007**;126:155101.
- [23] Hastings WK. „Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications”. *Biometrika*, **1970**;57(1):97–109.
- [24] Deuffhard P. „Identification of almost invariant aggregates in reversible nearly uncoupled markov chains”. *Linear Algebra and its Applications*, **2000**;315(1-3):39–59.
- [25] Prinz JH, Wu H, Sarich M, Keller B, Senne M, Held M, Chodera JD, Schütte C és Noé F. „Markov models of molecular kinetics: generation and validation.” *J Chem Phys*, **2011**;134:174105.
- [26] E W és Vanden-Eijnden E. „Transition-path theory and path-finding algorithms for the study of rare events.” *Annu Rev Phys Chem*, **2010**;61:391–420.
- [27] Levy Y, Cho SS, Onuchic JN és Wolynes PG. „A survey of flexible protein binding mechanisms and their transition states using native topology based energy landscapes.” *J Mol Biol*, **2005**;346:1121–45.

- [28] Levy Y, Wolynes PG és Onuchic JN. „Protein topology determines binding mechanism.” *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2004**;101:511–6.
- [29] Gupta N és Irbäck A. „Coupled folding-binding versus docking: a lattice model study.” *J Chem Phys*, **2004**;120:3983–9.
- [30] Li X, Romero P, Rani M, Dunker AK és Obradovic Z. „Predicting protein disorder for n-, c-, and internal regions.” *Genome Inform Ser Workshop Genome Inform*, **1999**;10:30–40.
- [31] Obradovic Z, Peng K, Vucetic S, Radivojac P, Brown CJ és Dunker AK. „Predicting intrinsic disorder from amino acid sequence.” *Proteins*, **2003**;53 Suppl 6:566–72.
- [32] Melamud E és Moulton J. „Evaluation of disorder predictions in casp5.” *Proteins*, **2003**;53 Suppl 6:561–5.
- [33] Uversky VN, Gillespie JR és Fink AL. „Why are "natively unfolded" proteins unstructured under physiologic conditions?” *Proteins*, **2000**;41:415–27.
- [34] Szilágyi A, Györfly D és Závodszy P. „The twilight zone between protein order and disorder.” *Biophys J*, **2008**;95:1612–26.