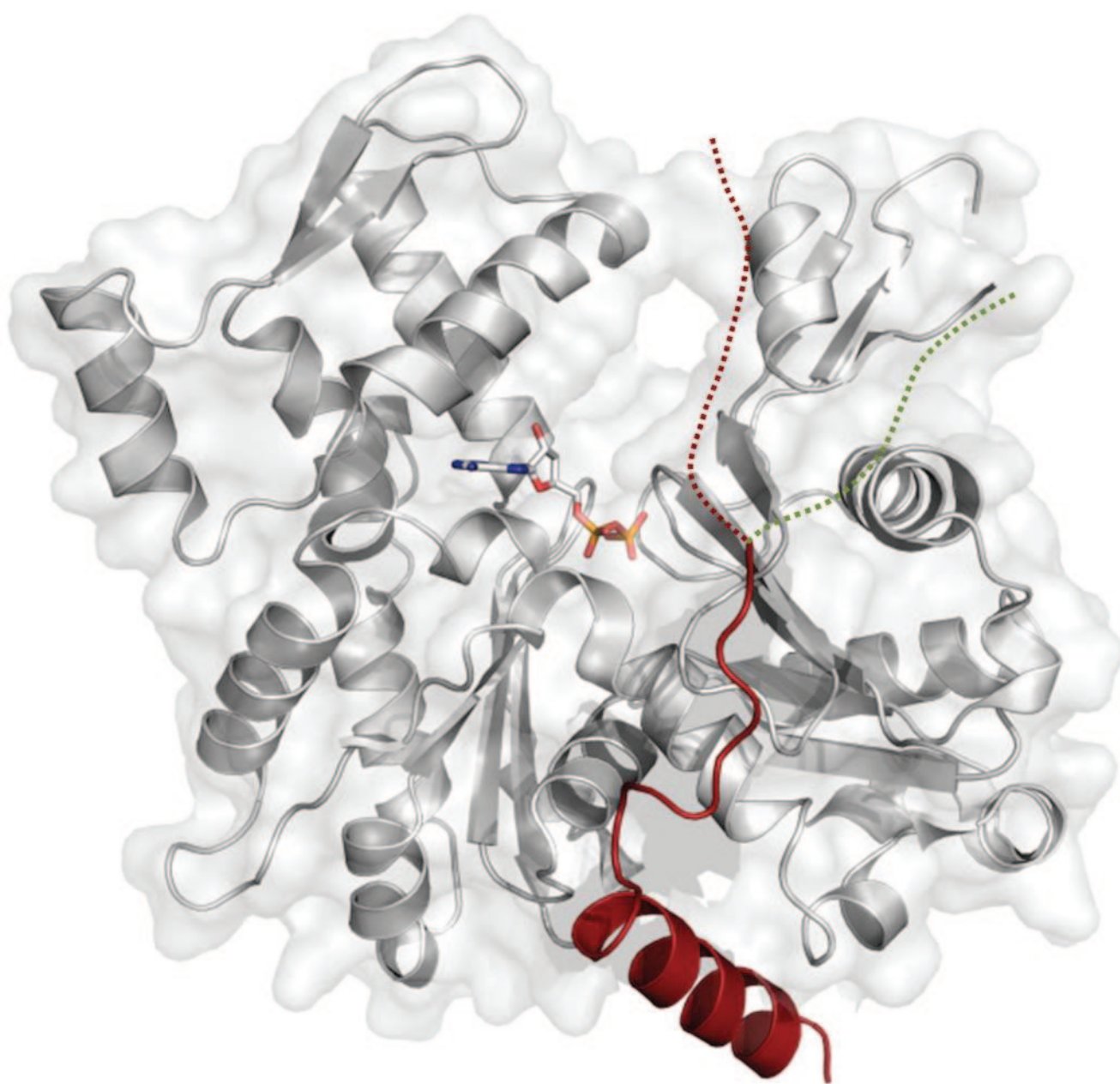


BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XXXIX. évfolyam 2. szám

2015. június



BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

Bősze Szilvia, Erdődi Ferenc, Ifj. Gallyas Ferenc, Geiszt Miklós,
Kiricsi Mónika (titkár), Maksay Gábor, Nyitray László, Sarkadi Balázs,
Székács András, Szondy Zsuzsa

Főszerkesztő:

Szűcs Mária

szucs.maria@brc.mta.hu

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter

berdipeter@gmail.com

XXXIX. ÉVFOLYAM 2. SZÁM

2015. június

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép: A WH2 domén : aktin monomer komplex szerkezete.
(lásd Bugyi Beáta írása 28. oldal)

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak	3.
Závodszy Péter A Magyar Érdemrend Középkeresztje a csillaggal díjat kapta	5.
Széchenyi-díjjal tüntették ki Ligeti Erzsébetet	14.

HAZAI TUDOMÁNYOS MŰHELYEK

Betekintés az SzBK Genetikai Intézet Mutagenézis és Karcinogenezis Csoportjának kutatásaiba	19.
--	-----

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNY

Bugyi Beáta: Wiskott-Alrrich szindróma fehérje honológ 2 domén: a kirakós sokoldalú eleme	25.
Lukács András: Fotoindukált elektron transzfer flavoproteinekben	36.

KONFERENCIA BESZÁMOLÓK

Hungarian Molecular Life Sciences 2015, Eger	46.
45. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg	51.
Peptidkémiai Munkabizottsági Ülés, Balatonszemes	53.

AKTUALITÁSOK

A 80 éves Venetianer Pál köszöntése	55.
---	-----

FELHIVÁS

MBKE Fórum	62.
------------------	-----

TUDOMÁNY ÉS MŰVÉSZET

Karcagi Ildikó és Kovács Károly alkotásai	63.
---	-----

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület
4012 Debrecen, Pf. 6, <http://www.mbkegy.hu>
Felelős kiadó Dr. Fésűs László | Az engedély száma III/SZI/397/1977
HU ISSN 2060 8152 (Online) | HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI 2015. MÁRCIUS 15 ÉS JÚNIUS 15 KÖZÖTT

A Magyar Érdemrend Középkeresztje a csillaggal kitüntetést kapta **Závodszky Péter** Széchenyi-díjas biofizikus, az MTA rendes tagja, az MTA Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézetének kutatóprofesszora, az Eötvös Loránd Tudományegyetem és a Pázmány Péter Katolikus Egyetem professor emeritusa az enzimműködés molekuláris szerkezeti alapon történő megértésének területén a fizika elveinek és módszereinek alkalmazásával új irányt mutató eredményei, valamint jelentős tudományos szervező tevékenysége elismeréseként.

A Magyar Érdemrend Középkeresztjét vehette át **Vígh László** Széchenyi-díjas kutatóvegyész, biokémikus, az MTA rendes tagja, az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézetének kutatóprofesszora, a Szegedi Tudományegyetem címzetes egyetemi tanára, a Straub Örökség Alapítvány elnöke, az MBKE alelnöke a stressz és adaptáció sejt- és molekuláris szintű folyamatainak megismerését célzó kutatási eredményei, valamint a kutatói pálya népszerűsítése érdekében végzett jelentős tudományos szervezői tevékenysége elismeréseként.

Széchenyi-díjjal tüntették ki Ligeti Erzsébetet, az MTA rendes tagját, a Semmelweis Egyetem ÁOK Élettani Intézet igazgató-helyettesét és egyetemi tanárát a sejtélettan területén elért kiemelkedő orvosbiológiai kutatásai eredményeiért, valamint a tudományos utánpótlás nevelése érdekében végzett magas szintű oktatómunkája elismeréseként.

Bolyai János Alkotói Díjat kapott **Pál Csaba**, az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézetének tudományos főmunkatársa, az Akadémia *Lendület* programjának csoportvezetője, aki a genetikai rendszerek és biológiai hálózatok evolúciójával foglalkozik.

Simonné Dr. Sarkadi Livia, az Élelmiszertudományi Kar tanszékvezető egyetemi tanára megkapta az „**IUPAC 2015 Distinguished Women in Chemistry or Chemical Engineering Awards**” díjat, amelyet augusztusban az IUPAC Világkonferenciáján, Koreában vehet át.

Haracska Lajos, a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Genetika Intézetének tudományos tanácsadója, az MBKE főtitkárhelyettes a daganatok kialakulásának genetikai hátterét vizsgáló kutatásaiért **Straub Emlékplakettben** részesült.

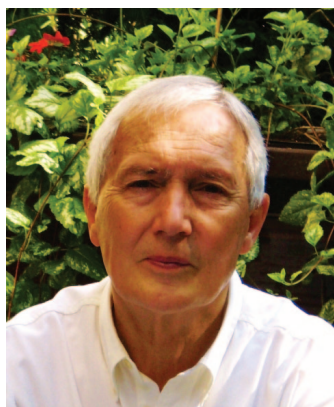
A **Lendület program** keretében 2015-ben 12 új kutatócsoport alakulhat egy-egy kimagasló teljesítményű fiatal kutató vezetésével, öt a matematika és a természettudományok, négy az élettudományok, három pedig a bölcsészet- és társadalomtudományok területén. Az MBKE tagjai közül pályázati támogatást nyert a kromoszómák térbeli szerkezetének kialakulását kutató **Székvölgyi Lóránt** (Debreceni Egyetem Molekuláris Medicina Kutatóközpont).

Gratulálunk a kitüntetetteknek!

ZÁVODSZKY PÉTER

„Aki akar, azt a sors vezeti, aki nem, azt a sors sodorja.”

Seneca



A kitüntetés mindig jelképes és úgy gondolom nem egy embernek, hanem az általa végzett tevékenységnek és annak az értékrendnek szól, amelyet az illető képvisel. Annak mindig örülök, ha megkülönböztetett figyelem irányul a tudományra és az oktatásra. E figyelem egyik jele, hogy a Biokémia újság felkért, írjak röviden a tudományos munkámról és pályafutásomról. Több mint ötven aktív év egy tudomány területen, egy kutatóközösségben, Magyarországon, igencsak változó viszonyok között nincs minden tanulság nélkül. S e díj révén személyemre irányuló figyelmet érdemes most arra felhasználni, hogy elmeséljem, miként alakult egy lelkes és érdeklődő ifjú fizikus sorsa és pályafutása ebben a történelmileg is különleges korszakban. Érdemes visszaemlékezni, mert alig-alig vannak már körülöttem, akik látták és megtapasztalták mindazt, amit megéltem – talán érdekes ez a hazai szerkezeti biofizika kialakulása és fejlődése szempontjából, de alulnézetből is érdekes lehet, hogy miként alakult az én személyes sorsom, e változó és sokszor viharos időszakban. Talán arra vonatkozóan is tanulsággal szolgálhat ez a kis írás, hogy mi az, ami az emberen múlik, szinte függetlenül a külső körülményektől. Azt mondják, az lesz sikeres ember, aki még akkor is folytatja, amit elkezdett, amikor mások már régen abbahagyták. Én, ha értem el sikereket, akkor ennek a kitartásnak és elszántságnak tulajdonítom, mindig hittem abban, hogy amit fontosnak és hasznosnak tartok, azt előbb-utóbb meg tudom valósítani, s ha nem is sok, de valami rajtam is múlik közös sorsunk alakulásában.

Több mint öt évtizedes szakmai múlttal a hátam mögött talán érdemes a dolgot visszatekintéssel kezdeni, hátha akad ebben is tanulság mások számára is. Nálam a tudomány iránti érdeklődés korán, a debreceni Fűvészkert Utcai Református Általános Iskolában kezdődött tanáraim hatására, akkor döntöttem el, hogy fizikus leszek, s ezt a szándékomat a debreceni Fazekas és a győri Révai gimnáziumban töltött évek megerősítették. Szerencsém volt a tanáraimmal és mestereimmel. Tizenéves koromban még atomfizikus szerettem volna lenni, mert akkoriban az a tudományterület érte el a legjelentősebb sikereket. Egyetemi tanulmányaim során azonban részt vettem egy biofizikai vándorgyűlésen, ahol a komplex

rendszerek fizikája - az élő rendszerek fizikája - keltette fel az érdeklődésemet. Úgy gondoltam, hogy a fizika művelésének ez egy olyan új területe, ami érdekes, változatos és sikereket is ígér. A biofizika az én értelmezésemben az élő rendszerek működését, az életfolyamatok mechanizmusát vezeti vissza atomi és molekuláris kölcsönhatásokra. A fizikus mindig, ha biológiával foglalkozik is, a szerkezetből vezeti le a funkciót. Izgalmasnak találtam az élővilágot komplex fizikai rendszerként értelmezve. Pályaválasztásom másik oka volt a személyes találkozás Straub Brunóval, aki széles látókörű tudósként és tudományszervezőként észrevette, hogy elérkezett a fizika ideje a biológiában és fizikust keresett. Amikor végeztem a debreceni egyetemen, több állásinterjún is részt vettem. A Straub Brunóval folytatott beszélgetés döntőnek bizonyult, az Ő környezetében szerettem volna dolgozni. Azóta is itt vagyok az MTA TTK Enzimológiai Intézetében és soha nem bántam meg, hogy annak idején így választottam.

Szerencsés voltam, bár magam is kerestem a szerencsémét. Debrecenben az egyetemen fizikusként Szalay Sándor tanítványa lehettem, kezdő kutatóként Budapesten, a Karolina úton Straub Brunó környezetébe kerültem. Az akkori lehetőségek keretében hosszabb időt töltöttem Leningrádban, a Polimer Kutató Intézetben, ahol Breszler (a hidrofób hatás felismerője), Volkenstein és Frenkel (neves polimer fizikusok) körébe kerültem olyan fiatalok közzé, mint pl. Oleg Ptytsin. Moszkvában, a Molekuláris Biológiai Intézetben Engelhardt és Varshawsky fogadott a környezetébe. Én Straub Brunó éleslátása és kapcsolatai révén a Szovjetunióból is a legjobbat kaptam, s közben megtanultam oroszul, hozzáférve ezáltal az igazi orosz kultúrához, ami a mai napig sok örömet okoz. Azután a „Caltech” következett Pasadenában, ahol a fehérje röntgen kristallográfia egyik úttörője, Richard Dickerson mellett dolgoztam, s volt szerencsém később Oxfordban a Nobel-díjas Rodney Porter intézetében is eltölteni hosszabb időt, itt alakult ki máig tartó kapcsolatom a molekuláris immunológiával. Közben eltelt 15 év, amelynek nagy részét itthon töltöttem, a Karolina úton építettem, első fizikusként a hazai biokémiában, az Intézet műszer állományát, saját kutatócsoportomat és szakmai háttérzágomat. „*A bonis bona discere*” – nekem megadatott, hogy jóktól jót tanuljak. A felsorolásból kitűnik, hogy volt kitől tanulnom és volt módom látni, miként kell művelni a tudományos kutatást. A mesterek módszert, etikát, vezetési technikát taníthatnak az embernek, de nyilván észet, tehetséget nem adhatnak. Így e téren azzal gazdálkodtam, ami megadatott, de azt próbáltam mindig jól kamatoztatni. Adva volt a minta és a követelmény, s ez mindig mozgásban tartott.

Első feladatomban a Karolina úton az volt, hogy kiépítsek az intézeten belül egy, akkor még Magyarországon nyomaiban sem létező, szerkezeti biológiai eszközrendszert. Nagy lendülettel láttam hozzá, Straub tekintélye és befolyása a forrásokat is megnyitotta. Mint fizikustól - a biokémikusok, vegyészek és orvosok körében - elsősorban a fizikai szerkezetvizsgáló módszerek hazai meghonosítását és fejlesztését várták. Ebben nagy segítségemre volt az Intézet kitűnő műhelye és a közelben lévő Magyar Optikai Művek nagyszerű és sokoldalú mérnök gárdája. Ez a munka rendkívül sok energiát és időt igényelt, ebben az időszakban alig publikáltam, hisz tevékenységem jó része műszer- és módszerfejlesztés volt. A befektetés azért megtérült, hiszen így készülhetett el az akkori magyar műszergyártás egyik legsikeresebb exportképes nagyműszere, a MOM analitikai ultracentrifuga, amit a Magyar Optikai Művekben gyártottak, és amely Japánban piacvezető lett KUBOTA név alatt. Később, IEC márkaneven az Egyesült Államokban is sikerült jelentős darabszámban értékesíteni. Intézetünkben működött az első optikai rotációs diszperziós (Bellingham and Stanley), majd cirkuláris dichroizmus fotométer, aminek segítségével optikai úton lehetett szerkezeti információt nyerni fehérjékről és polipeptidekről. Így lett a „Karolina-út” számos biofizikus és peptidkémikus zárandokhelye. Az adiabatikus pásztázó mikrok caloriméter egyik prototípusát sikerült hazahoznom a grúziai Tbiliszből, ahol Petre Privalovval dolgozhattam néhány hónapig. Azóta is Intézetünk számít e technika hazai központjának. Lett az Intézetben kisszögű röntgenszórás, fluoreszcencia depolarizáció, fényszórás, nálunk üzemelt Magyarországon az első elektroforézis berendezés (Thiselius), valamint az első kétsugaras infravörös spektrofotométer, úttörők voltunk a gyors kinetikai módszerek (stopped flow, T-jump) meghonosításában is. Az első tíz évben sikerült kiépítenem egy olyan szerkezeti biokémiai műszeres háttérrel, amire aztán a későbbi kutatásaink épültek. Ebben az időszakban kapcsolódtam be az oktatásba az Eötvös Loránd Tudományegyetemen, ahol az első biofizikai kurzust 1964-ben én indítottam el, Láng Ferenc hívására, a Növényélettani Tanszék keretében. A tanítás rákényszeríti az embert arra, hogy szélesebb kitekintéssel művelje azt a tudományterületet, aminek csupán egy kicsi szeletében van igazán otthon. Fontos a kölcsönhatás a diákokkal, hisz a friss elmék nem sztereotip kérdései eredetiek és stimulálóak. A tanítás egyfajta kötelesség is, a megszerzett tudást kötelesség átadni és én hiszek a személyes információátadás hatékonyságában. Az én tudományos fejlődéseimre is nagy hatással volt egy-egy karizmatikus mesterem személyes kisugárzása.

Pályám első szakaszában, a hatvanas években és a hetvenes évek elején elsősorban az enzimek működésének szerkezeti háttere foglalkoztatott. Ez volt a fehérje röntgen kristallográfia hőskora, ekkor mindenki a merev, elektron sűrűség térképeken nyugvó fehérje modellek újdonságának bűvöletében élt. A fizikusnak nyilvánvaló volt, hogy a mikrovilágban, a molekulák szintjén az energia és szerkezeti fluktuációk léteznek és jelentősek, s nem hagyhatóak figyelmen kívül. Ez időben sokat beszélgettem Straub F. Brunóval, intézetünk akkori igazgatójával, aki fogékonyan mutatkozott e gondolatok iránt, s arra buzdított, hogy keressem a kísérleti megközelítést a konformációs dinamika funkcionális szerepének tisztázására. Ebben az időben a fehérjék – méretük és a technika fejletlensége miatt – nem jöttek számításban az NMR vizsgálatok célpontjaként. A hidrogén-deutérium kicserélődés kinetikájának követésében találtam meg a módszert, s enzimek sorozatán mutattuk meg, hogy a szubsztrátumok lokális kötődése az egész makromolekula konformációs fluktuációinak eloszlását képes megváltoztatni, s ennek a megjelenési formája az indukált szerkezetváltozás és a megváltozott affinitás a további ligandumok irányába. Kísérleteink alátámasztották a Straub által 1964-ben megfogalmazott „fluktuációs fit” koncepciót, ami napjainkban „konformációs szelekció” néven nyert teret a molekuláris szintű információ átadás mechanizmusának értelmezésében.

A fehérjék térszerkezeti fluktuációinak és konformációs dinamikájának leírása megkívánta a termodinamikai megközelítést, a hőmérsékletfüggés vizsgálatát. A fehérjék viszont, éppen gyenge kölcsönhatások által stabilizált, flexibilis térszerkezetük miatt csak behatárolt hőmérséklet tartományban stabilisak. A vizsgálatok tartományának kiterjesztésére való törekvés vezetett a hőstabilis és hidegtűrő fehérjék bevonásához kísérleti objektumaink sorába a hetvenes évek elején. Ebben az időszakban homológ: termofil, mezofil és psichofil enzim sorozatokkal végeztünk komplex szerkezeti, funkcionális és stabilitási kísérleteket, amelyek egyik fontos konklúziója volt, hogy a fehérjék többségének esetében megfigyelt marginális stabilitás a működés optimális feltételei között annak tulajdonítható, hogy a funkcióhoz szükséges optimális konformációs dinamika, a szerkezetet stabilizáló kötések természetéből fakadóan csak szűk hőmérséklet tartományban biztosítható. E munka konklúziója volt a dinamikus egyenértékű állapotok posztulátuma. Ebben az időben rendszerező munkát is publikáltunk arról, hogy milyen változatos stratégiával igazítja a természet az enzimek konformációs flexibilitását a működés hőmérsékletéhez. Ezen munkáink egyik mellék vonulata volt néhány gyakorlati eljárás kidolgozása az enzimek hőstabilitásának megnövelésére.

1972-ben Oxfordban, a Nobel-díjas Rodney Porter laboratóriumában töltöttem egy évet. Azért mentem oda, mert az immunglobulinok mint több doménból felépülő, multifunkcionális fehérjék felkeltették az érdeklődésemet. Arra kerestem a választ, hogy mi a mechanizmusa a domének közötti jelátvitelnek. Itt próbálkoztam először a fehérjék konformációs dinamikájának NMR-el történő vizsgálatával (270 MHz), de a technika akkori lehetőségei nem voltak alkalmasak az általam felvetett kérdések megválaszolására. Így inkább a komplement rendszer aktiválásának mechanizmusával kezdtem foglalkozni, e területen lehetett Oxfordban akkor a legtöbbet tanulni. Azóta – Gál Péter bekapcsolódásával és növekvő dominanciájával – sikerült itthon egy általánosan elismert komplement kutató műhelyt kialakítani.

A komplement rendszer fehérjei folyamatosan jelen vannak a vérben, de csak ott és akkor aktiválódnak, ahol és amikor erre szükség van a patogének elpusztításához. A nem célzott aktiválás nagy bajokhoz vezethet. Egy 30 különböző fehérjét magába foglaló rendszerről van szó, amelynek működése nagyon finom külső és belső – molekuláris szintű szabályozást igényel. A komplement aktiválás három párhuzamos úton mehet végbe – a klasszikus, lektin vagy alternatív útvonalakon. Mi ezek közül az első kettővel foglalkozunk. Az a célunk, hogy a közreműködő fehérjék szerkezetéből levezetve határozzuk meg az aktiválás és szabályozás molekuláris mechanizmusát. Az elmúlt néhány év során klónoztuk, expresszáltuk és jellemeztük a klasszikus és lektin út kezdeti lépéseiben részt vevő multidomén szerinproteázokat (C1r, C1s, MaSP1, MASP2), s ezek természetes és módosított domén kombinációit, valamint a C1-inhibítort. Kristályosítás után, röntgen diffrakcióval, meghatároztuk a térszerkezetüket, zimogén és aktivált formában. A szerkezetek alapján modelleket dolgoztunk ki a kölcsönhatások módjára (ezek a proteázok makromolekuláris komplexekben fejtik ki hatásukat) és az aktiválás mechanizmusára. Feltérképeztük a nem katalitikus modulok szerepét a kölcsönhatásokban és az aktiválásban, az intra- és inter-moduláris flexibilitás jelentőségét az egyes aktiválási lépésekhez szükséges átrendeződésekben. Különös technikai siker volt a C1-inhibitor szerkezetének meghatározása, mivel e gyógyászati szempontból fontos, de erősen glikozilált és flexibilis molekulával már sokan kudarcot vallottak. Némi „protein engineering”, a kitartás és a szerencse (egy új szerkezeti forma felfedezése) elvezetett a sikerhez. Feltártuk a szerkezeti- és töltés-komplementaritás szerepét a komplement proteázok és a C1-inhibitor kölcsönhatásainak szabályozásában, valamint a heparin szerepét a gátló hatás fokozásában. A C1r szerkezetének alapján új, a részleteket jobban megmutató C1 aktiválási modellt dolgoztunk ki. A szerkezet

meghatározó munkában nagyban segített bennünket, hogy időben felismertük a számítógépes grafika jelentőségét és mi birtokoltuk a térség első Silicon Graphics munkaállomását, amelyet OMFB tagságom révén sikerült megszereznünk, Geleji Frigyes személyes támogatásával.

A lektin út a komplementrendszer aktiválásának nemrégén felfedezett útvonala. A két indító szerin proteáz, a MASP-1 és MASP-2 rekombináns formában történő előállításával új lehetőséget nyitottunk meg a működés és szabályozás szerkezeti alapú megértéséhez. Tisztáztuk ezen proteázok szubsztrátspecifitását és a nem katalitikus modulok szerepét az aktív komplexek topológiájának kialakításában. Fontos megállapításunk, hogy a szinte azonos szubsztrátspecifitással rendelkező MASP-2 és C1s különböző kölcsönhatásokat alakít ki ugyanazon szubsztrátummal. Felfedeztük, hogy a MASP-2 zimogén formája jelentős enzimikus aktivitással rendelkezik bizonyos fehérje természetű célpontokon, s megállapítottuk, hogy a szubsztrátum indukálta konformáció változás az aktivitás alapja. Ez a felismerés magyarázatot ad az autoaktiválódás mechanizmusára.

Az utóbbi időben kiterjesztettük vizsgálatainkat a komplementrendszer és más élettani folyamatok kapcsolatára. Kimutattuk a MASP-2 protrombin hasító képességét, kapcsolatot tárva fel a komplement és a véralvadási rendszerek között. Sikerült fényt derítenünk az ellentmondásos MASP-1 proteáz képességére, miszerint PAR-4, sejtfelszíni proteáz aktivált G-fehérje kapcsolt receptort hasít endotél sejtek felszínén, hozzájárulva ezzel a gyulladási folyamatok elindításához, a komplement aktiválással összefüggésben. Mivel a komplement rendszer hibás aktiválódása számos gyulladási és autoimmun betegségben szerepet játszik, ezért gyógyászati szempontból nagy jelentősége lenne az aktiválási útvonalak szelektív gátlásának. Ezért tekinthető áttörésnek az általunk, Pál Gábor kutatócsoportjával együttműködve, fág-bemutató útján előállított szelektív MASP-1 és MASP-2 inhibitorok előállítása, mivel sem kis, sem nagy molekulású szelektív inhibitorok nem voltunk ezt megelőzően birtokában. Ezek az inhibitorok tették lehetővé, hogy feltárjuk a MASP-1 szerin proteáz meghatározó szerepét a komplement aktiválás lektin útjának indításában.

Amikor az ember egy-egy tudományos részproblémával foglalkozik, nem mindig látja, miként illeszkednek majd eredményei a világról alkotott egyetemes képünkbe. Ha valakinek megadatik, hogy néhány évtizeden át nagyjából koherens kutató tevékenységet folytasson, akkor felmérheti, mi ebből az időtálló. Visszapillantva azt gondolom, hogy fehérjekutatói munkámban akadnak

ilyen elemek. A fluktuációs fit hatvanas évekbeli hipotézise, majd kísérleti alátámasztása, mint koncepció a fehérjék kölcsönhatásainak és szabályozásának mechanizmusára, kiállta az idő próbáját. A kísérleti technikák fejlődése hozott finomításokat és kísérleti adalékokat, de a koncepció alapjaiban igazolódott és helytállóan bizonyult. Más természetű a komplement rendszer kutatásával kapcsolatos munkánk. Ez esetben a gondosan tervezett, felépített és kivitelezett adatgyűjtő, szerkezeti és funkcionális irányultságú tevékenység jelentősen hozzájárult ahhoz, hogy ma már a mozaikokból egy többé-kevésbé egységes kép alakult ki a komplement rendszer működéséről, ez a kép a mi munkánk és ötleteink nélkül nem lenne felvázolható.

A kutatómunkának van egy másik vonulata, a kutatási eredmények hasznosítása. Mint a Magyar Innovációs Szövetség egyik alapítója és tisztségviselője, mindig törekedtem nemcsak mások, de saját kutatási eredményeim és tapasztalataim gyakorlati hasznosítására. Ezek mindig az alapkutatás melléktermékeként jelentek meg. Így lehettem részese a MOM által gyártott analitikai ultracentrifuga tervezésének és megvalósításának akkor, amikor a fehérjék alegységeinek kölcsönhatásaival foglalkoztam. Amikor a hatvanas évek elején nekiláttunk Rohonczy Ferenc mérnök barátommal, nem sejtettük, hogy minden idők legsikeresebben exportált magyar nagyműszerét hozzuk létre. Génebézési munkáink „melléktermékeként” jött létre két sikeres biotechnológiai kisvállalkozás. Némi részünk abban is van, hogy a Richter rekombináns fehérje alapú biotechnológiai üzemet épített Debrecenben. Meggyőződésem, hogy nem alkalmazott kutatást kell művelni, hanem segíteni kell az új kutatási eredmények hasznosításában azokat, akik ebben érdekeltek, s ehhez értenek.

Az utóbbi időszakban molekuláris immunológiával foglalkozunk. Első hallásra kicsit furcsának tűnhet, hogy fizikusnak mi köze lehet az immunológiához, de eredményeink azt mutatják, hogy új szemlélettel van itt keresni valónk. Az immunrendszer olyan molekulák összessége az emberi szervezetben, amelyek rendkívül összehangoltan végzik a munkájukat. Ha bakteriális fertőzés ér bennünket, egy idegen anyag hatol be a szervezetünkbe, vagy rákossá fajul egy sejtünk, azt az immunrendszerünk felismeri és elpusztítja. Ennek háttérében komplex molekuláris folyamatok vannak, amelyeket csak a fizika és a kémia elvei és ismeretei alapján lehet teljesen megérteni. Ha ugyanis tudjuk, hogy mi történik a molekulák szintjén, amikor a szervezet védekező rendszere (helyesen vagy károsan) beavatkozik valahol, akkor lehetőségünk nyílik serkenteni vagy gátolni ezeket a folyamatokat. Példaként említeném, hogy amikor valakit

szélütés vagy szívinfarktus ér, akkor a szervezetben valahol vérellátási zavar következtében egy aprócska területen szövetkárosodás történik. A sejtelhalás aktiválja a komplement rendszer alternatív útvonalát azon a területen, miáltal az eredetig csak kis területet érintő szövetkárosodás jelentősen kiterjed. A szívinfarktus vagy szélütés ugyan előidézi szövetelhalást, de csak egy viszonylag kis területen, a másodlagos komplement aktiválás hatásaként ez sokkal nagyobb, sokszor végzetes méretű lesz. Gál Péter és Pál Gábor munkája eredményeként kifejlesztett specifikus gátlórendszerek az immunrendszernek azokat és csakis azokat a komponenseit gátolják, amelyek a káros hatást előidézik. Ennek a felfedezésnek a gyógyszerfejlesztésben lehet majd nagy szerepe, hiszen a közeli jövőben akár egyetlen injekcióval jelentősen mérsékelhető lesz az infarktus vagy szélütés hatása.

A kutató életének – még akkor is, ha mindvégig akadémia intézetben dolgozik – része az oktatás. A hatvanas években Láng Ferenc hívására kezdtem szervezni a biofizika oktatását az Eötvös Loránd Tudományegyetemen, ez ma már a Biológiai-fizika Tanszék keretében folyik. A doktori iskolák megalapítása óta vagyok tagja az ELTE Szerkezeti Biokémiai Doktori programnak. Oktatói működésem fontos terepe az 1998-ban létrejött Pázmány Péter Katolikus Egyetem Információtechnológiai Kara, ahol Roska Tamás hívására a kezdetektől részese lehettem az élettudományok, a műszaki tudományok és az informatika összekapcsolására irányuló ígéretes kísérletnek. 1986 óta fizikai-biokémiát tanítok évente egy quarterben Los Angelesben a UCLA-n (Kaliforniai Egyetem), ami jó arra, hogy egy másféle kultúrában és környezetben csiszoljam magamat.

Ma sokat beszélünk életpálya modellekről, van ilyen a tanárok, a katonák, a rendőrök és a kutatók esetében is. Egy többé-kevésbé szabályos életpálya esetén, mint amilyennek az enyém is mondható, vannak kötelező ellenőrző pontok és ezeken a pontokon az élet bünteti vagy jutalmazza az érintettet. Én itt-ott némi lemaradással, de teljesítettem a formai követelményeket; lettem kandidátus, nagydoktor, majd akadémiai tagjának is megválasztottak. Szolgáltam bizottságokban és alapítványok kuratóriumában, valóban törekedtem arra, hogy ha a társadalom biztosítja, hogy a passziómnak – vagyis a tudomány művelésének – éljek, akkor én is szolgáljam az országot, ott ahol erre módom nyílik. Töltöttem hat évet a Magyar Akkreditációs Bizottságban, nyolc évig elnökként szolgáltam a Magyar Biofizikai Társaságban. Voltam – vagyok a Magyar Ösztöndíj Bizottság elnöke, a Magyar Innovációs Alapítvány kuratóriumának alapító elnöke. Segítem a határon túli magyar felsőoktatást a Sapientia

Hungariae Alapítványban. Dolgoztam a Miniszterelnöki Hivatalban, amikor úgy hozta a helyzet, s az is szolgált érdekes tapasztalatokkal, amikor naiv módon próbáltam a 6000 főt foglalkoztató Magyar Optikai Művek Igazgatóságának elnökeként egy állami nagyvállalat privatizációját korrekt módon levezényelni a nyolcvanas-kilencvenes évek fordulóján. Nem volt mindig könnyű ezeket a közösségi feladatokat az elmélyült tudományos munkával összehangolni, de talán sikerült azt az egyensúlyt megtalálnom, ami megadta a hasznos és sokszínű élet élményét. Kaptam címeket és díjakat itthon és külföldön. Nem mondom, hogy az elismerések nem fontosak, de amit igazán fontosnak tartok, az a környezetemből kikerült pallérozott és elkötelezett „káderek” sora, akik egyrészt hasznos tagjai lettek a társadalomnak, másrészt tovább vitték azt a tudományos iskolát, amit Intézetünkben örökül kaptam mestereimtől, s amelyik öt évtized alatt nem sorvadt el, fennmaradt és új hajtásokat is hozott. Az, hogy kutatócsoportunk rajta van a tudomány nemzetközi térképén, azt elsősorban annak tulajdonítom, hogy mindig sikerült elkötelezett, tehetséges partnereket találnom a munkához. Kezdetben Simon István és Lakatos Zsuzsa, később Vonderviszt Ferenc és Kilár Ferenc voltak a környezetemben, majd utóbb Gál Péter, Kardos József, Szilágyi András, Dobó József, Hajdú István, Cseh Sándor, Lőrincz Zsolt, Svigor Ádám, Magyar Csaba, Németh Attila, Ambrus Géza, Végh Barbara, Beinrohr László, Megyeri Márton, Gyórfy Dániel, Kocsis Andrea voltak azok, akik meghatározó módon hozzájárultak eredményeinkhez. Ők egy kivételével mind itthon lettek hasznos tagjai a társadalomnak, művelik a tudományt, egyetemeken oktatnak, vagy egyéb hasznos értékteremtő tevékenységet folytatnak, nevelik gyermekeiket és jó érzés szinte nap-mint nap összetalálkozni velük. Őket látva azt gondolom, hogy talán mégiscsak lesz újra valamirevaló ország ebből a Magyarországból.

LIGETI ERZSÉBET

A MITOKONDRIÁLIS FOSZFÁT-KARRIERTŐL A GTP-KÖTŐ FEHÉRJÉKEN KERESZTÜL A MIKROVEZIKULUMOKIG

Egy életműdíj alkalmával sok érdekes kérdést kap a díjazott, ami életpályájának áttekintésére, összegzésére sarkallja. Az én pályám tartalmaz néhány nem-szokványos elemet is. Elsőként: nem jártam világhírű középiskolába. Egyetlen iskolába jártam, 12 éven keresztül, 6 éves koromtól érettségig, ahol ráadásul az első 4 évben osztott tanítás volt. Azaz több osztály ült egyetlen teremben – Budán, a Rózsadomb aljában. De elég jól megtanítottak

minket sok mindenre, mert az én évfolyamom két párhuzamos osztályában végzett mintegy 50 ember közül négyen lettünk az orvosi felsőoktatás meghatározó professzorai. Német tagozatos osztályba jártam, napi több német órával, és az érettségit követő első vizsgaperiódusban felsőfokú állami nyelvvizsgát tettem. Sok évvel később nagy hasznát vettem ennek a masszív német nyelvtudásnak; a német nyelvű orvoscépzés megindulása után érdekes szakmai tapasztalatokat és nem elhanyagolható kereset-kiegészítést jelentett. Az elmúlt évtizedben a Semmelweis Egyetem teljes német nyelvű képzését irányító igazgatóként pedig a gimnáziumban megtanult irodalmi idézeteket is jól tudtam kamatoztatni.

A pályaválasztásom sem volt nyílegyenes folyamat. Kedveltem a természettudományi tárgyakat, és úgy gondoltam, hogy majd ha nagy leszek, a biológia és a kémia határán szeretnék lehetőleg kutatómunkát végezni. De nem volt egyértelmű, melyik oldalról közelítsem a kérdést. Kezdetben a kémia tűnt nyerőnek, otthon az üresen álló uborkás üvegekben papír kromatogramokat futtattam, meghatároztam a különböző fellelhető élelmiszerek zsírsavösszetételét. De az országos versenyen egy hellyel lemaradtam a szabad felvételt jelentő helyezésekről. Ezért megharagudtam a „kémikusokra”, és úgy gondoltam, megpróbálom a felvételt az orvosira. Ha felvesznek jó, ha nem, keresek mást. Felvettek. Én nem bántam meg – remélem a felvételiztető tanáraink sem.

Negyedéves koromban kerültem diákkörös hallgatóként Fonyó Attila – akkor docens úr - mellé a Semmelweis Egyetem Kísérleti Kutató Laboratóriumába. A „Tanár Úr” néhány évvel korábban fedezte fel a mitokondriumok foszfát

transzportjáért felelős fehérjét. Ezen dolgozott a labor, és ez nekem annyira tetszett, hogy végzés után szóba se jött más lehetőség, mint tudományos ösztöndíjasként folytatni. Az sem zavart, hogy 6 évig nem volt igazi állásom, 2-4 hónapos szerződésekkel hosszabbítottak (de a „közveszélyes munkakerülő” bejegyzést azért sikerült elkerülnöm). Izolált mitokondriumok foszfát transzportjának tulajdonságait vizsgáltuk egyszerű, de ötletes technikákkal. Később a foszfát-transzportnak a mitokondriumok kation-felvételében játszott szerepét tanulmányoztuk. Ekkoriban kerültem kapcsolatba két kollégával, akiktől sokat tanultam. A sajnos nagyon fiatalon elhunyt Horváth Laci az SzBK Biofizikai Intézetében a biológiai membránok állapotát spin-jelzéses technikával vizsgálta. Két közleményre kiterjedő együttműködésünk során fizikusi szemléletéből nagyon sokat tanultam. A másik együttműködő a Budapesti Műegyetemen Lindner Ernő az ion-szelektív elektródok specialistája volt. A mitokondriumok kálium és kalcium mozgásait, később a membrán-potenciál változásait is ion-specifikus elektródokkal tudtuk időben folyamatosan követni. Érdekes időszak volt, szerettem új technikákat kipróbálni és „barkácsolni” a laborban. Legkomolyabb elismerésem az volt, amikor a fizikus kollégák őszinte meglepetéssel állapították meg: „nem is gondoltuk, hogy orvos vagy”...

Nem szokványos az érzelmi hozzáállásom ahhoz (az általam ismeretlen) minisztériumi tisztségviselőhöz sem, aki 4 évvel a végzésem után nem engedélyezte az első tanulmányutamat. Ugyanis végtelenül hálás vagyok neki. Főnököm, Fonyó Attila elment egy évre Franciaországba, és én egyedül maradtam a laborban. Ezen év folyamán 2 közleményt sikerült egyedül publikálnom, ma is elfogadható színvonalú nemzetközi folyóiratban, ami nagyban hozzájárult önálló kutatói egyéniségként való elfogadtatásomhoz a hazai szakmai közéletben, és lehetővé tette, hogy a kandidátusi fokozatot nagyon fiatalon, összesen 5 évvel az orvosi diploma után megszerezze. Amikor néhány évvel később eljutottam a tervezett tanulmányútra, akkor realizáltam igazán a szerencsém: több publikáció első szerzőjeként önálló kutatóként dolgozhattam a külföldi laboratóriumban, volt kellő tapasztalatom, és a rendelkezésre álló idővel és lehetőséggel optimálisan tudtam élni.

Ez az első tanulmányút Grenoble-ba, a Nukleáris Kutatóközpont Biokémiai Laboratóriumába vitt el, ahol Pierre Vignais professzor irányításával továbbra is a mitokondriális foszfát transzporterrel dolgoztam. Ott végeztem el izotóp nyomjelzéses technikával azokat a kinetikai méréseket, amelyek a mai napig egyedüli adatot szolgáltatnak a transzporter sebességéről. A meglepő, hogy

a foszfát transzport sebessége több nagyságrenddel haladja meg az oxidatív foszforiláció sebességét, aminek a biológiai értelme továbbra is nyitott kérdés. A mi feltételezésünk szerint az ugyancsak gyors kation-felvétel töltés-kompenzációját teszi lehetővé – de lehet, hogy majd egyszer más megoldás születik.

Az 1980-as évek vége fele bezárulni látszott a látókör a mitokondrium-kutatásban, legfőképpen a transzporterek kutatásában. A fehérjéket izolálták/izoláltuk, mesterséges lipid membránba beépítve azonosították/azonosítottuk a funkciókat, de egyértelművé váltak ezen technikák korlátai. A mitokondriumokban *in situ* tapasztalt tulajdonságokat nehezen lehetett reprodukálni, mert a nagyon kis mennyiségben jelenlevő, erősen hidrofób fehérje tisztítása során változó szennyeződések is megjelentek, amelyek alapvetően eltorzították az eredményeket. A terület számos kutatója más problémák után nézett – köztük én is. Nem gondoltuk, hogy egy évtized sem kell, hogy a mitokondrium-kutatás felébredjen csipkerózsika-álmából, teljesen már összefüggésben, az apoptózis kapcsán. *C'est la vie...*

Grenoble-i tanulmányutam során találkoztam közelebbről a neutrofil granulocitákkal. Vignais professzor érdeklődését is felkeltették, mivel a mitokondriumokéhoz sok vonatkozásban hasonló citokrómmal rendelkeztek. Ebben az időben már ismert volt, hogy a granulociták által képzett szuperoxid termelésében egy, a plazma membránban elhelyezkedő, b típusú citokróm szerepet játszik. De nem sok további információ volt ismert erről az enzimről. Második Grenoble-i tanulmányutam feladata lett, hogy ezt az enzimet egy *in vitro* rekonstruált rendszerben vizsgáljam. Hónapokon keresztül napi 10-12 órát álltam a regisztráló spektrofotométer mellett, míg apró lépésekben sikerült jó enzim-aktivitást elérnem. Három hónap alatt minden alapvető tulajdonságot dokumentáltam, és a tanulmányút végén a franciaországi sok hosszú ünnepi hétvége egyikén használható kéziratrá (a szó szoros értelmében, kézzel a szöveg, mm-papíron ceruzával az ábrák) összeállítanom. Megérte a buzgalom, mert egyik legtöbbet idézett közleményem lett. Egy következő Grenoble-i látogatás során alapvetően új megfigyelést tettünk: kimutattuk, hogy a szuperoxid-termelő enzim aktiválásában egy telítési lépés van. Ez a megfigyelés azért volt jelentős, mert akkoriban az enzim-aktivitás változásokat elsősorban kovalens módosítás (tipikusan foszforiláció) útján gondolták, és a mi adataink egyértelműen asszociációt feltételeztek. A sors fintora, hogy ez a merőben új gondolat alig jutott el a témával foglalkozó kutatók tudatához, összesen talán 10 hivatkozást eredményezett...

Franciaországból hazatérve néhány diákkörös hallgatóval mi is elkezdünk granulocitákat preparálni, de a szuperoxid-termelés mellett fokozatosan új funkciók is felkeltették kíváncsiságunkat. Az oxidáz enzim szabályozásában mi a GTP-függésre és az ennek alapján feltételezhető GTP-kötő fehérje jellemzésére, majd a G-fehérjét szabályozó GTPáz aktiváló fehérjékre koncentráltunk. Ennek során új fehérjét (ARHGAP25) klónoztunk és kimutattuk részvételét a fagocitózisban. Egy másik Rac/Rho-GAP kapcsán az enzimológiában ritka jelenséget írtunk le: a szubsztrát specificitás reverzibilis változásait, amit membrán-kötődés, foszforiláció, esetleg fehérje-komplexebe kötődés vált ki. A kezdeti csapat diákjai ma önálló munkacsoportot vezető professzorok és docensek, nagy örömmre, többen idehaza. Geiszt Miklós, majd nyomdokaiban Rada Balázs a granulociták kalcium forgalmát, illetve a szuperoxid-termelés hatását a kalcium-mozgásokra vizsgálta. Innen vezette Miklóst önálló munkája a granulocita enzim homológjai, a NOX fehérjék irányába, Balázst pedig a granulociták funkcióváltozásaihoz a cisztikus fibrózisban szenvedő betegek *Pseudomonas* fertőzéseiben. Mócsai Attila a degranuláció mechanizmusát vizsgálva jutott el az integrinekhez, amelyek saját munkacsoportjának egyik központi témájává váltak. A Kapus András által vezetett al-csapat a szuperoxid termeléshez szükséges töltés-kompenzációt biztosító H⁺-csatorna tulajdonságait vizsgálta. És jöttek az újabb Ph.D. hallgatók, kinyitottak új ablakokat, küzdöttek újabb technikák beállításával, hoztak új eredményeket és váltak az évek során diákból önálló szakemberré. Ez az egyetemi oktató legszebb ajándéka. Eddig összesen 14 hallgató munkáját irányítottam egyedül vagy megosztva, közülük tízen az alap kutatásban, hárman a klinikai kutatásban maradtak, egy kolléga pedig próbálja ötvözni a kettőt.

Röviden szólnom kell az elmúlt 6-7 évben felmerült új, izgalmas kérdésről, a mikrovezikulumokról is. Kiderült, hogy gyakorlatilag minden sejt képez apró (1 µm átmérő alatti) vezikulumokat, amelyek információs csomagként szolgálhatnak. A sejtek közötti jeltovábbítás eddig figyelembe nem vett mechanizmusát képezhetik. Saját munkánkban a granulocitákból keletkező vezikulumokról megállapítottuk, hogy stimulustól függően eltérő összetételű, és ami fontosabb, eltérő biológiai tulajdonságú vezikulumokat „gyártanak” a sejtek. Ezen szelekciós folyamat molekuláris mechanizmusának tanulmányozása, valamint az általunk leírt antibakteriális hatás mechanizmusának tanulmányozása áll most az érdeklődésünk középpontjában.

Mindezen kutatási tevékenység mellett folyamatosan nagy óraszámokban részt vettem orvostanhallgatók élettan oktatásában, a Ph.D. képzésben és az oktatás-szervezésben is.

Mindezt egyetlen munkahelyen, a Semmelweis Egyetemen, ahol meglehetősen fiatalon, 43 éves koromban értem el az egyetemi tanári rangot. Az oktatás szerves része életemnek, a legszebb élmény, ahogyan egy aktív elme kinyílik és a szemekből leolvasható a nagy „aha”-élmény.

Az idei tavaszon a sors szokatlan ajándékkal lepett meg (vagy inkább leptem meg magam?): professzorként, akadémikusként, intézeti igazgató-helyettesként visszavedlettem „postdoc”-nak. Farmerben, hátizsákkal sétáltam be reggelenként egy heidelbergi laborba, és ismét saját kezemmel végeztem a kísérleteket, a tervezéstől a kivitelezés összes részletéig. Fantasztikus érzés volt, hogy ezt még mind tudom, és ugyanúgy élveztem a kísérletezést, mint 20-30 évvel ezelőtt. Őszintén remélem, hogy ősztől a saját itthoni laboromban is lesz rá lehetőségem, bár tudom, hogy katasztrófa, ha a főnök sokat van a laborban, mindent észrevesz, mindenbe beleszól, mindent tudni akar..

Gondolataimmal talán sikerült bemutatnom a tudományos kutatás kanyargós útját, a gondolatok és kérdések fejlődését, és azt, hogy még akár szerencsét is hozhat, ha valami nem úgy alakul, ahogyan elképzeljük magunknak. És zárógondolatként: mindig nagyon élveztem, amit csináltam, egyetemi oktatást, sajátkezü kutatást és a Ph.D. hallgatók munkájának irányítását egyaránt. Ezt kívánom összes olvasómnak is.

AZ EVOLÚCIÓ MOTORJÁNAK VIZSGÁLATA; BETEKINTÉS AZ SZBK GENETIKAI INTÉZET MUTAGENEZIS ÉS KARCINOGENEZIS CSOPORT KUTATÁSAIBA

A Mutagenézis és Karcinogenezis Kutatócsoport 2003-ban alakult Haracska Lajos vezetésével, a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Genetikai Intézetében. Az akkori viszonylag szerény lehetőségek ellenére az intézet, különösen a Genetikai Intézet akkori igazgatója, Raskó István jelentős erőfeszítéseket tett, hogy olyan, külföldön már elismerést szerzett kutatókat vonzzon haza, akik új csoportok alapításával képesek kompetitív, a tudomány élvonalába tartozó területeken kutatást folytatni. Ennek az elképzelésnek a Mutagenézis és Karcinogenezis Kutatócsoport és az érdeklődésének középpontjában álló DNS-hibajavítás tökéletesen megfelelt. Fő tudományos célként a mutációk kialakulásának sebességét és a karcinogenezist befolyásoló új gének és mechanizmusok felfedezése fogalmazódott meg.

A laboratórium megalakulása óta három megközelítéssel dolgozik. Az első megközelítés a hangsúlyt a DNS-hibajavítás komplex rendszerének viszonylag egyszerű modellorganizmusban, az élesztőben (*Saccharomyces cerevisiae*) történő megismerésére helyezi. E modellrendszer összetett genetikai eszköztárat biztosít, mely lehetővé teszi a különböző DNS- hibajavítási utak tanulmányozását. A DNS-hibajavítás nagyfokú hasonlóságot mutat, legyen szó egy- vagy többsejtű élőlényről, hiszen a hibás régiók eltávolítása vagy tolerálása létfontosságú minden élőlény túléléséhez. Az élesztőben feltérképezett útvonalak tehát jó iránymutatást jelentenek az emberben zajló folyamatok tanulmányozásához; az egyes élesztő fehérjék homológjai fellelhetők emberi sejtekben is.

A laboratóriumban alkalmazott második megközelítés célja az élesztőben azonosított DNS hibajavító szereplők emberi megfelelőinek meghatározása, működésük humán sejtekben történő megismerése elsősorban sejtbiológiai módszerekkel vizsgálva. Ennek kapcsán a laboratórium rutinszerűen vizsgálja a DNS károsító ágensek (pl. számos tumorterápiás szer) humán sejtekre kifejtett hatását sejttúlélés, kromoszóma átrendeződés és mikroszkópos fehérje lokalizációs vizsgálatokkal, ugyanis a DNS-hibajavításban szerepet játszó fehérjék gyakran formálnak sejtmagi fókuszokat a DNS-károsító anyagokkal történő kezelés hatására. A kutatócsoport azonban jóval specifikusabb tesztek is végez, mint pl. a „Comet”-esszé, amely a sejtmagból gélelektroforézis hatására kivándorló DNS mérésével képes a DNS száltöréseket nyomon követni. Hasonlóan érdekes, és nagyon kevés laboratóriumban alkalmazott módszer az

ún. „DNS-fiber” technika, amellyel az egyedi replikációs villák haladási sebessége vizsgálható; kimutatható, ha egy adott DNS károsodás blokkolja a villa haladását, és új replikációs origók aktiválódása is pontosan vizsgálható.

A laboratóriumban folyó munka harmadik ágát az előző két megközelítésből származó információk további vizsgálata, az újonnan azonosított fehérjék tisztítása és biokémiai aktivitásuk meghatározása jelenti. A laboratóriumban a technikai eszközök jelentős tárháza áll rendelkezésre, kezdve az egyszerűbb, fehérje-fehérje kölcsönhatásokat vizsgáló *in vitro* interakciós esszéktől a DNS polimerázok aktivitási vizsgálatán és a változatos helikáz aktivitást vizsgáló módszereken keresztül az *in vitro* ubikvitilációs esszéig.

Ezt a háromlábú megközelítést alkalmazva születtek a csoport jelentősebb felfedezései, amelyek során elsőként írt le egy-egy új a DNS hibatoleranciában és karcinogenezisben szerepet játszó résztvevőt. Ezekre az alábbiakban kiragadunk néhány példát.

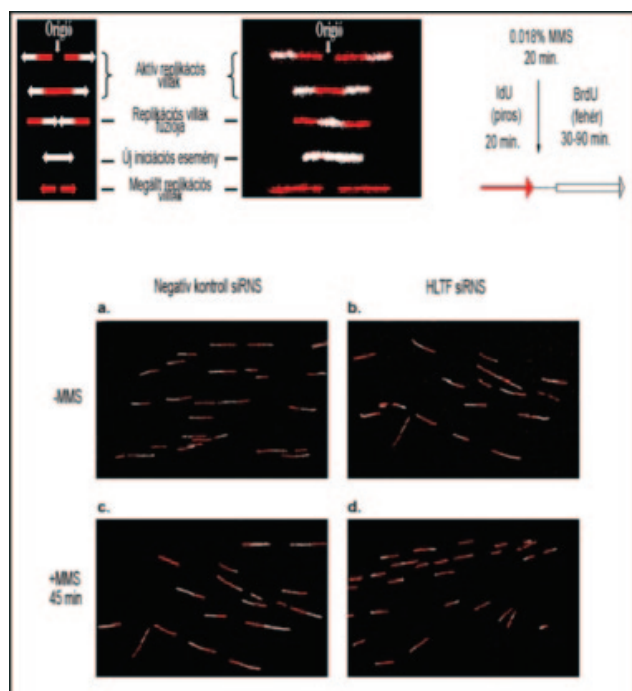
A csoport 2006-ban és 2008-ban elsőként publikálta az élesztő Rad5 fehérje két humán megfelelőjének azonosítását az SHPRH és a HLTF fehérje leírásával. Ezek közül a HLTF fehérje az, amelyik azóta is szüntelen kutatási témát biztosít. A felfedezéshez a kiindulópontot az adta, hogy az élesztőben azonosított DNS-hibatolerancia útvonalak, illetve a bennük szerepet játszó fehérjék eukariótákban nagymértékben konzerváltak. A HLTF (Helicase like transcription factor) fehérje aminosav szekvencia szinten csak kismértékű homológiát mutat az élesztő Rad5 fehérjével. Felfedezéséhez inkább az vezetett, hogy az élesztő Rad5 fehérjéhez hasonlóan, a HLTF is rendelkezik SWI/SNF helikáz doménnel, RING finger doménnel és N-terminálisán található benne egy szekvenciaelem, a HIRAN domén, ráadásul ezek a motívumok egy igen sajátos elrendeződést követnek. Irodalmi adatokból ismert volt, hogy a HLTF gén promotere metilálódik és így a fehérje nem fejeződik ki bizonyos tumorokban, ami arra utalt, hogy a fehérjének szerepe van a rákos elfajulás kialakulásának gátlásában, amely a DNS hibajavító fehérjék általános jellemzője.

A funkcionális homológia bizonyításának egyik módja annak kimutatása volt, hogy a HLTF fehérje képes menekíteni a Rad5 deléciós élesztőtörzs UV érzékenységét, azaz képes ellátni a Rad5 fehérje funkcióját a sejtekben.

Közvetlenebb bizonyítékként szolgált az, hogy a HLTF fehérje kölcsönhatásba tud lépni a Rad5 fehérje interakciós partnereivel, ui. bizonyítottuk, hogy a HLTF fehérje a DNS-hibajavítás és hibatolerancia már régóta ismert szereplőivel, a humán PCNA, Rad18, Mms2 és Ubc13 fehérjékkel működik egy komplexben.

A funkcionális homológia bizonyításához *in vitro* rekonstruáltuk azt a nyolc fehérjéből álló rendszert, melynek keretein belül a HLTF fehérje ubikvitin ligázként működve, az élesztő Rad5 fehérjéhez hasonló módon, képes volt a DNS polimerázok processzivitási faktoraként ismert PCNA fehérje poliubikvitilálására.

Azt, hogy a HLTF hogyan hat a replikációs villa stabilitására, a „DNS-fiber” módszerrel vizsgáltuk. A módszer lényege, hogy az éppen aktív replikációs villákat nukleotid analógok segítségével (IdU, CdU vagy BrdU) vizualizálhatjuk. A nukleotid analógok a szintézis során beépülnek a DNS-be, és megfelelő fluoreszcens ellenanyag segítségével kimutathatók. A módszer segítségével bizonyítottuk, hogy a HLTF fehérje hiánya a replikációs villa elakadásához, annak töréséhez és genomikus átrendeződésekhez vezethet (1. ábra).

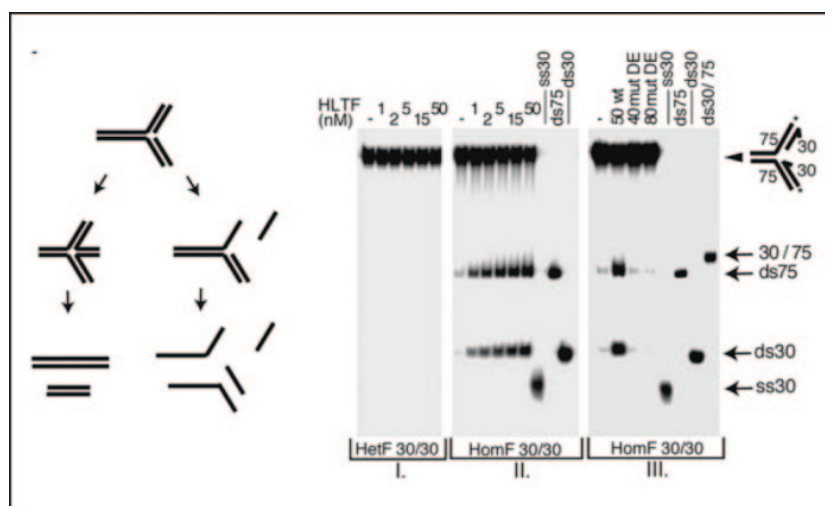


1. ábra. A HLTF fehérje hiánya a replikációs villa elakadásához vezethet. „DNS-fiber” módszer segítségével megjelölhetőek az éppen aktív replikációs villák nukleotid analógok segítségével. Az IdU (jóddeoxiuridin) és a BrdU (brómdeoxiuridin) a megkettőződés során beépül az újonnan szintetizálódó DNS-szálba, amely fluoreszcens ellenanyag segítségével vizualizálható. Ennek a technikának köszönhetően mutattuk ki, hogy HLTF hiányában és MMS (metilmetán szulfonát) DNS-károsító ágenssel történő kezelés után a replikációs villa elakad, mert a replikációs apparátus nem képes túljutni a hibás szakaszon.

A Mutagenesis és Karcinogenesis kutatócsoport másik jelentősebb felfedezése 2007-ben szintén az élesztő Rad5 fehérjéhez kapcsolódott. A Rad5 fehérjében található SWI/SNF2 családra jellemző helikáz motívumok arra utaltak, hogy szerepet játszhat az elakadt replikációs villa egy korábban csak elméleti lehetőségként felvetett, „csirkeláb” jellegű struktúrán keresztüli mentéséhez, így biztosítva a károsodott bázisok hibamentes, mutációt nem okozó átírását.

Ahhoz, hogy ezt az aktivitást ki tudjuk mutatni, szükség volt a replikációs villa modellezésére és *in vitro* rekonstruálására, amelyet oligonukleotidokból álló, illetve egy plazmid méretű villa létrehozásával oldottunk meg.

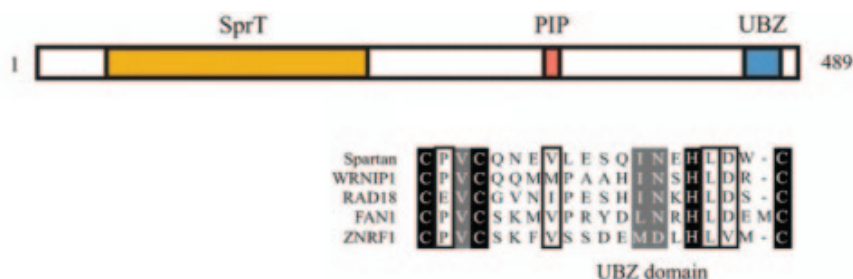
A kísérletek nemcsak azt bizonyították, hogy a Rad5 fehérje képes a replikációs villa visszafordítására, hanem azt is, hogy az általános helikázoktól eltérő módon ezt nem az egyszálú DNS-en közlekedve, a szálak szétválasztásával éri el, hanem a kettős szálú DNS-en haladva, a replikációsvilla vezető- és lemaradó szálának egyidejű szétválasztásával és ezzel szinkronban történő összehibridizálásával teszi, egyszálú köztes termék létrejötte nélkül. Ugyanezt az aktivitást később, a kutatócsoport munkafolyamatának megfelelően, a HLTf fehérjéről is bizonyítottuk (2. ábra).



2. ábra. A Rad5 fehérje replikáció villa-visszafordító aktivitással rendelkezik. Biokémiai módszerekkel kimutatható, hogy a Rad5 fehérje képes visszafordítani a replikációs villát, azaz szerepet játszik a DNS-hibatolerancia útvonalban. A DNS-károsodás következtében megállt replikáció folytatását úgy segíti elő, hogy helikáz aktivitása révén visszafordítja a replikációs villát, elősegíti a templátváltás folyamatát, melynek köszönhetően replikatív polimeráz számára az újonnan szintetizált hibamentes DNS-szál szolgál mintaként a másoláshoz.

Természetesen a fentebb vázolt megközelítéseken kívül gyakran használjuk új szereplők azonosítására az elérhető bioinformatikai módszereket is. Így fedeztük fel, hogy a laboratórium által mélyrehatóbban vizsgált DNS-hibatolerancia útvonalban jelentős számban vesznek részt olyan fehérjék, melyek az ubikvitin-kötő domének egy speciális változatát, a C2HC motívummal rendelkező UBZ domént tartalmazzák. Ebből arra következtettünk, hogy a folyamat szabályozásában jelentős szerepet játszó ubikvitinnek egy olyan felszíne exponált a DNS-hibatolerancia során, amely azonosítására ez a domén kifejezetten alkalmas lehet.

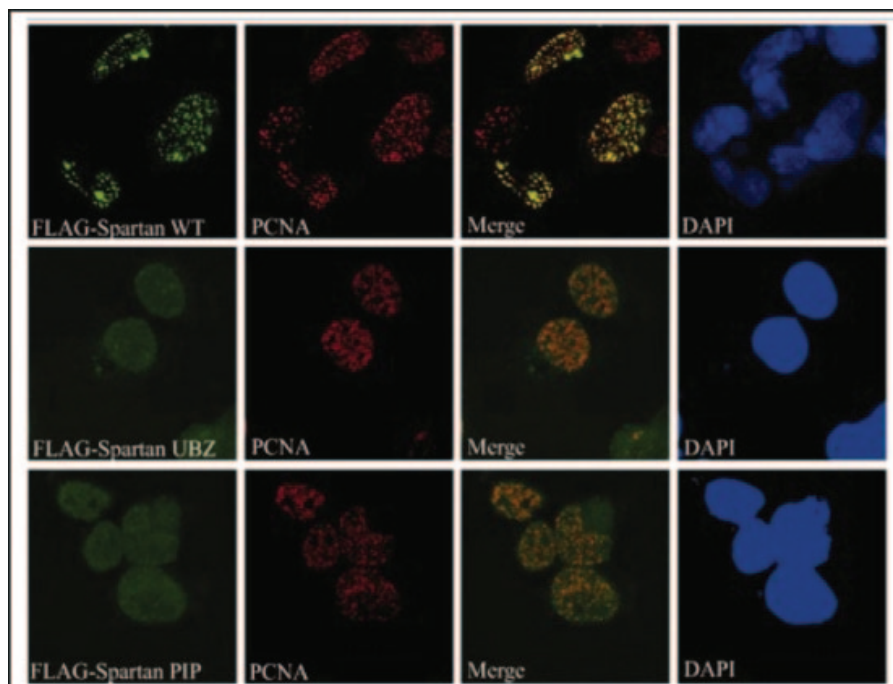
Ennek felismerése után sikerült további C2HC-típusú potenciális ubikvitin-kötőfehérjéket azonosítanunk, amelyekről még nem voltak publikációk. Ezek egyike volt a laboratóriumunk által nemrég leírt és jellemzett Spartan fehérje, amely evolúciósan konzervált PIP- (PCNA Interacting Protein), UBZ- (Ubiquitin Bindig Zinc-finger) és SprT-proteáz-doménnekkel rendelkezik (3. ábra).



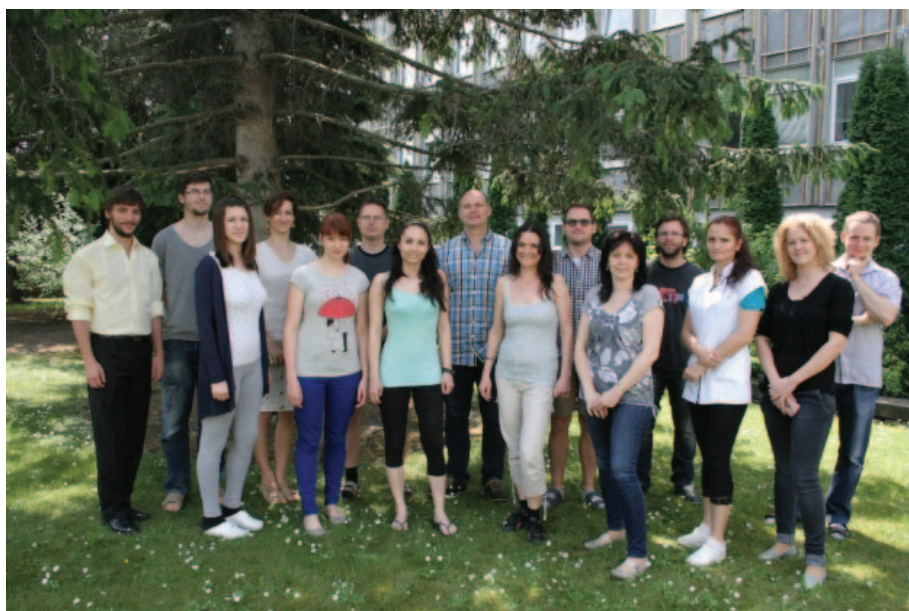
3. ábra. A Spartan fehérje doménszerkezete. A Spartan három funkcionális doménnel rendelkezik: egy SprT metalloproteáz doménnel, melynek funkciója még ismeretlen, egy PIP PCNA interakciós motívummal, illetve egy UBZ ubikvitin-kötő cink ujj-doménnel. Ez utóbbi igen gyakran előfordul a DNS-hibajavításban szerepet játszó fehérjékben.

Kimutattuk, hogy a Spartan DNS károsodás esetén (pl. UV sugárzás) az ubikvitilált PCNA-hoz kötődik (4. ábra) és ezzel a genom stabilitásának a megőrzésében vesz részt, feltételezhetően a replikációs- és transzléziós polimerázok kicserélődését szabályozva. A polimeráz csere megvalósulásakor a replikáció tovább tud folytatódni és nem alakulnak ki száltörések, ui. a transzléziós polimerázok, amelyek flexibilisebb aktív centrummal rendelkeznek, képesek a DNS károsodásokkal szemben is nukleotid beépítésre. Ilyen transzléziós enzim például a polimeráz η , amely az UV-sugárzás hatására keletkező T-T dimerekkel szemben képes a megfelelő nukleotidokat beépíteni. A folyamat fontosságát mutatja, hogy a polimeráz η génjének mutációja egy bőrrákra erősen hajlamosító genetikai betegséget, a Xeroderma pigmentosum variáns formáját okozza és a Spartan-ról nemrégiben derült ki, hogy mutációja májrák kialakulására hajlamosít.

A Mutagenesis és Karcinogenesis Kutatócsoport az MTA SzBK legnagyobb kutatócsoportjai közé tartozik. Az egyetemi- és Ph.D. hallgatók részéről megnyilvánuló állandó érdeklődés, valamint a kompetitív terület folyamatosan biztosítja a megfelelő bázist és az új kísérleti irányokat a csoport működéséhez. A heti rendszerességgel történő munkamegbeszélések és ötletbörzék pedig kifogyhatatlan tárházat jelentik a több évtizedre elegendő új kísérletnek (5. ábra).



4. ábra. A Spartan fehérje lokalizációja a sejtekben. A Spartan UV-sugárzás hatására a károsodás helyére, az elakadt replikációs villához lokalizálódik a sejtmagban sejtmagi fókuszokat formálva. A lokalizációjához nélkülözhetetlen az UBZ és a PIP doménje, mellyekkel az ubikvitilált PCNA fehérjéhez kapcsolódik.



5. ábra. A Mutagenézis és Karcinogenezis Kutatócsoport.

Szerzők:

Döme Lili, Ph.D. hallgató, dome.lili@brc.mta.hu

Pintér Lajos, tudományos ügyintéző, pinter.lajos@brc.mta.hu

Zsigmond Eszter, Ph.D. hallgató, zsigmond.eszter@brc.mta.hu

Haracska Lajos, tudományos tanácsadó, csoportvezető, haracska.lajos@brc.mta.hu

¹WISKOTT-ALDRICH SZINDRÓMA FEHÉRJE HOMOLÓG 2 DOMÉN: A KIRAKÓS SOKOLDALÚ ELEME

Bugyi Beáta

**Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biofizikai Intézet, Aktin Dinamika Kutatócsoport**

Összefoglalás

A WH2 (Wiskott-Aldrich szindróma fehérje (WASP; Wiskott-Aldrich syndrome protein) homológ 2) domén fehérjecsalád az aktin sejtváz szabályozásában tölt be változatos szerepet. A család egy érdekes csoportját alkotják a tandem-WH2 domén fehérjék, amelyek multifunkcionális sajátságokkal bírnak. Az elmúlt évek átfogó vizsgálatai a WH2 domén – aktin kölcsönhatás funkcionális és szerkezeti vonatkozásainak számos új elemét tárták fel. Az eredmények két izgalmas irányvonalat is nyitottak a WH2 domének aktivitásait meghatározó biológiai modulok kapcsán.

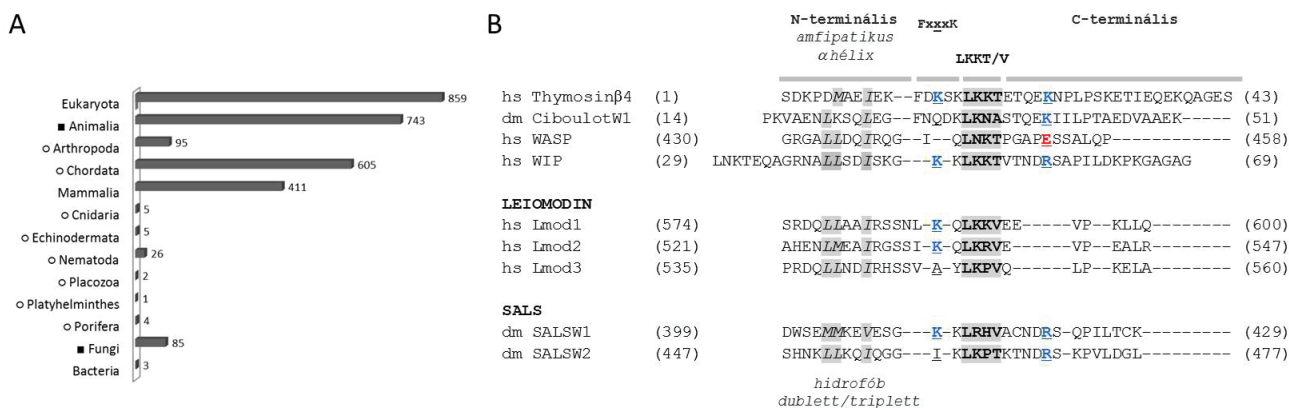
A WH2 domén fehérjecsalád

Az aktin sejtváz biológiai működésében tetten érhető funkcionális polimorfizmusnak egyik fontos eleme az aktin-asszociált fehérjék aktivitásainak sokszínűségében rejlik. Az aktin sejtváz szabályozásában különleges helyet foglalnak el a WH2 domén fehérjék. A WH2 domént elsőként a WASP/Scar (suppressor of cAMP receptor protein)/WAVE (WASP-family verprolin homologous protein) fehérjékben azonosították. A fehérjecsalád azóta számos taggal bővült, amelyek különböző biológiai folyamatokban töltenek be alapvető szerepet [1, 2]. A SMART (Simple Modular Architecture Research Tool) adatbázis több mint 800 WH2 domén fehérjét tartalmaz, amelyeknek közel fele emlősökben fordul elő (1.A ábra).

A WH2 domén egyike a legrövidebb aktin-kötő régióknak, mindössze 20 – 50 aminosav alkotja, amelynek összetétele jellemzően igen változatos a fehérjecsalád egyes tagjaiban. A domén központi konszenzus LKKT/V aminosavait egy konzervált N-terminális (10 – 20 aminosav), egy linker régió (FxxxK), valamint egy variábilis összetételű és hosszúságú C-terminális szakasz (5 – 25 aminosav) fogja közre (1.B ábra).

A fehérjecsalád tagjaiban a WH2 domének előfordulhatnak izoláltan vagy akár tandem módon (2 – 4 domén) más szerkezeti elemekkel modulokba rendeződve [1]. A WH2 domén fehérjék prototípusának tekintett thymosin β 4 (T β 4) fehérjét például egyetlen WH2 domén alkotja. Hasonlóan egy domént találunk több, az Arp2/3 komplex aktivációs kaszkádjában résztvevő fehérjében (WASP, WAVE2, WASH, RickA, ActA) és az izom specifikus Leiomodinban (Lmod). A tandem-WH2 fehérjék közé tartozik a *Drosophila melanogaster* sarcomere length short (SALS, 2¹) és a Ciboulot (3), valamint a Cordon Bleu (3), a Spire (4) és a bakteriális *Vibrio cholerae/parahaemolyticus* VopF/VopL (3) [1, 3].

¹ A zárójelben megadott számok a WH2 domének számát jelentik.



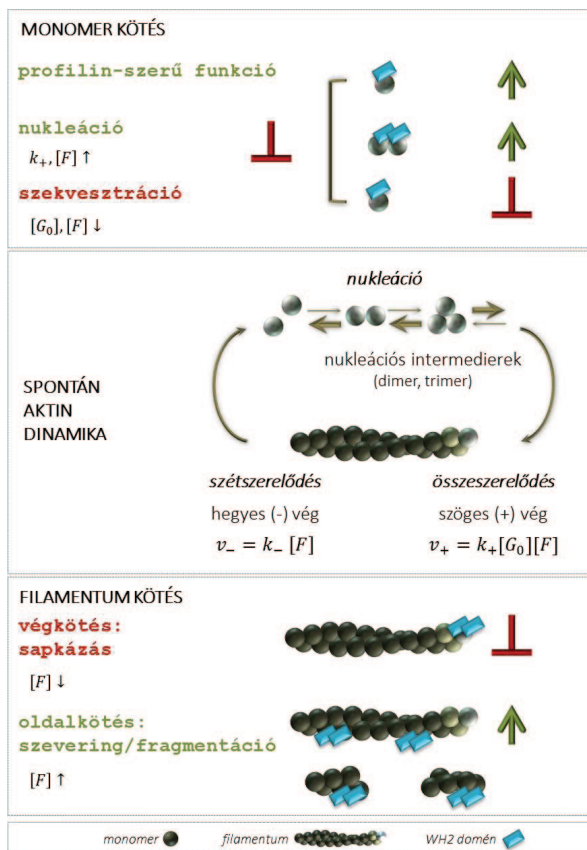
1. ábra. (A) A WH2 domén fehérjék taxonómiai eloszlása (SMART adatbázis azonosító: SM00246). (B) Különböző fehérjék WH2 doménjeinek aminosav összetétele. hs: homo sapiens, dm: Drosophila melanogaster. Szekvencia azonosítók: thymosinβ4 (NP_066932.1), Ciboulot (NP_525065.1), WASP (NP_000368.1), WIP (O43312) Lmod1 (NP_036266), Lmod2 (NP_997046.1), Lmod3 (NP_938012), SALS (NP_001163588.1).

A WH2 domének az aktin dinamikájának szabályozásában

Az elmúlt évek átfogó biokémiai és biofizikai vizsgálatai felderítették, hogy az egyes WH2 domének az aktin dinamikáját különböző aktivitások révén képesek befolyásolni. Ezek összetettségét fokozza, hogy a tandem-WH2 fehérjék, mivel mind az aktin monomerekkel (G-aktin), mind pedig a filamentumokkal (F-aktin) is képesek kölcsön hatni, ezen aktivitások kombinációjával rendelkeznek, így az aktin dinamikájára komplex hatást gyakorolnak (2. ábra). Ennek háttérében álló funkcionális és szerkezeti elemek felderítése kihívást jelentő, ugyanakkor rendkívül inspiráló feladat az aktin kutatás biokémiai és biofizikai műhelyei számára.

A WH2 domének rendelkezhetnek szekvesztráló, profilin-szerű, nukleációs, fragmentációs/szevering és/vagy sapkaféhrje-szerű aktivitásokkal. A monomer kötés révén gátolhatják azok filamentumba szerveződését (szekvesztráció), vagy éppen ellenkezőleg; hozzájárulhatnak a monomereknek a filamentum szöges végén való irányított beépüléséhez (profilin-szerű aktivitás), valamint katalizálhatják a nukleáció fázisát (nukleációs aktivitás). A filamentum-oldalkötés révén elősegítik azok szétszerelődését (fragmentáció/szevering). Míg a filamentum-végkötés funkcionális kimenetele a monomerek asszociációjának és disszociációjának együttes gátlása (sapkaféhrje-szerű funkció).

Összetettsége miatt a WH2 domén : aktin kölcsönhatás funkcionális és szerkezeti elemeinek felderítése sokrétű kísérleti stratégiát kíván. Funkcionális szempontból az egyik nehézséget az okozza, hogy az aktin *in vitro* dinamikájának mind kinetikai, mind pedig steady-state vizsgálati eszköztára a fenti aktivitásokra hasonlóan érzékeny lehet (3. ábra) [4]. A nukleáció és a fragmentáció esetén a szabad filamentum végek számának növekedése miatt a monomerek filamentumba épülésének kinetikája gyorsabb. Míg a szekvesztráció és a vég-kötés, bár eltérő mechanizmusok miatt (a szabad monomerek, illetve a filamentum végek koncentrációjának csökkentése révén) a monomer – filamentum átalakulás sebességét lassítja. Az aktivitások kombinációja esetén a fenti kép még összetettebb, azok azonosítása átfogó mennyiségi elemzés révén lehetséges.



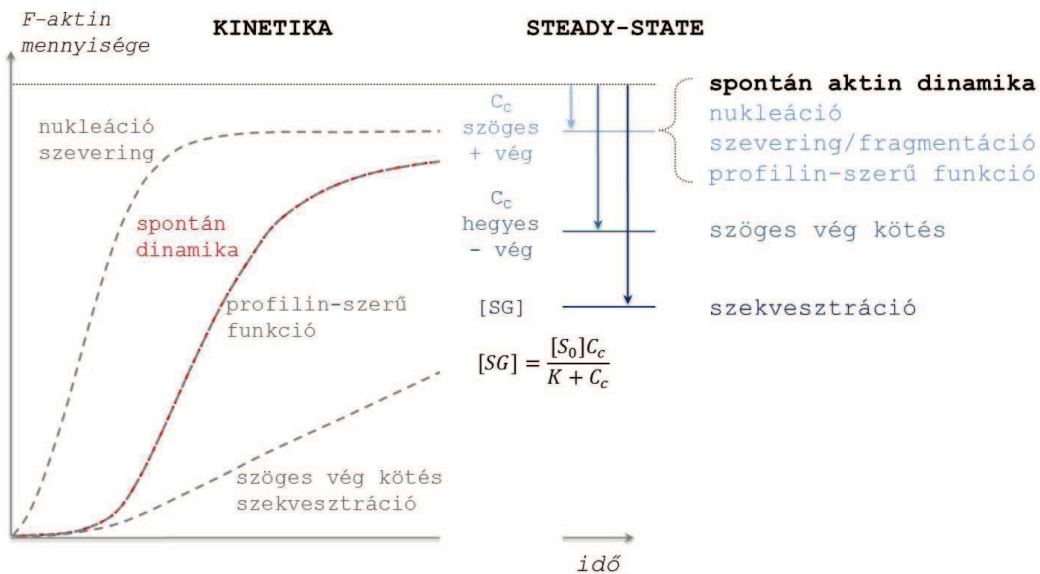
2. ábra. WH2, egy multifunkcionális modul az aktin dinamika szabályozásában. A WH2 domének aktivitásait összefoglaló sematikus ábra. v_+ és v_- jelöli az aktin filamentumok össze-, illetve szétszerelődésének sebességét, k_+ az aktin monomerek filamentumba épülését jellemző asszociációs sebességi állandó, k_- az aktin monomerek filamentumról való leválását jellemző disszociációs sebességi állandó, $[G_0]$ és $[F]$ az aktin monomerek, illetve filamentum végek koncentrációját jelöli.

A WH2 domén : aktin kölcsönhatás szerkezeti és funkcionális sokszínűsége

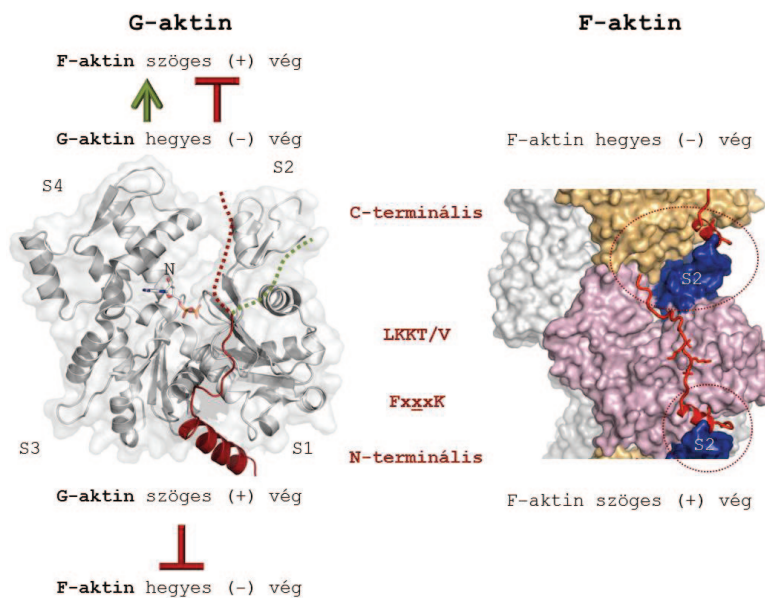
A WH2 domén egyik figyelemreméltó sajátossága, hogy oldatban, a kötőpartner hiányában nem mutat másodlagos szerkezeti elemeket, azaz rendezetlen fehérjerégió (IDR; intrinsically disordered region), azonban az aktinhoz való kötődése bizonyos régiók feltekeredését idézi elő [5].

WH2 : aktin monomer kölcsönhatás

Az izolált egyedi WH2 domének az aktin monomerekkel 1 : 1 sztöchiometriájú komplexet képeznek, a kölcsönhatás tipikusan nM - μ M-os disszociációs egyensúlyi állandóval jellemezhető. Átfogó NMR, SAXS (small-angle X-ray scattering) és röntgenkristallográfián alapuló vizsgálatok a WH2 : G-aktin kölcsönhatás számos szerkezeti aspektusát derítették fel (4. ábra, bal panel) [6, 7]. A WH2 domén N-terminális szakasza az aktin monomerekhez való kötődés révén α -helikális szerkezetet vesz, amely mindig amfipatikus természetű. A komplex stabilitásának egyik záloga az amfipatikus α -hélix hidrofób aminosavai és az aktin monomer 1-es (S1) és 3-as (S3) szubdoménjei (szöges vagy (+) vég) közötti hidrofób zsebbel kialakított kapcsolat. (Az aktin molekula S1 és S3 szubdoménjei által alkotott hidrofób zseb központi kötőhely számos más partnerfehérje számára is [8, 9].) A WH2 N-terminálisának konzervált valin, izoleucin, leucin és/vagy metionin alkotta hidrofób dublettje/triplettje ebben meghatározó szerepet játszik (1.B ábra).



3. ábra. A WH2 domének aktivitásainak hatása a monomer : filamentum egyensúly kinetikai és steady-state aspektusaira. Piros vonal jelöli az aktin filamentumok spontán összeszerelődésének kinetikáját. Szürke szaggatott vonalak jelölik az egyes aktivitásokra jellemző kinetikákat a feliratok szerint. C_c (szöges, + vég) és C_c (hegyes, - vég) az aktin filamentum szöges, illetve hegyes végének kritikus koncentrációját jelöli. $[SG]$ a szevesztráló fehérje : aktin komplex koncentrációját jelöli, $[S_0]$ a szevesztráló fehérje teljes koncentrációja és K a komplex disszociációs egyensúlyi állandója.



4. ábra. (Bal panel) A WH2 domén : aktin monomer komplex szerkezete (PDB kód: 1SQK). Az aktin monomert szürke, a WH2 domén N-terminális szakaszát piros szín jelöli. A szaggatott zöld és piros vonalak a C-terminális flexibilis, illetve korlátozott szerkezeti dinamikáját reprezentálják. Az aktin monomer szubdoménjeit S jelöli. A nukleotid-kötő zsebet N jelöli. **(Jobb panel) a tandem-WH2 domén : F-aktin komplex szerkezeti modellje.** Szaggatott piros rész jelöli a Holmes-féle F-aktin szerkezettel való összeférhetetlenségeket.

A WH2 domének helikális N-terminálisa és a G-aktin szöges vége közötti kölcsönhatás térben megakadályozza az aktin alegységek közötti longitudinális kapcsolat kialakítását, emiatt a WH2 : G-aktin komplex asszociációja a filamentumok hegyes végén gátolt (4. ábra, bal panel). A másik fontos eleme

a kölcsönhatásnak az LKKT/V szakasz, amely az aktin monomer nukleotid-kötő zsebének irányába nyúlik. A domén C-terminálisa, amelynek rendezetlensége általában megmarad a komplexben is, az aktin monomer 2-es (S2) és 4-es (S4) szubdoménjével (hegyes vagy (-) vég) alakít ki kölcsönhatást. A szegmens szekvenciájában és hosszában megfigyelhető variabilitás miatt a G-aktinnal kialakított kölcsönhatását konformációs flexibilitás jellemzi. A C-terminális régió részleges feltekeredését eddig egyetlen esetben figyelték meg. A T β 4 : G-aktin atomi felbontású szerkezetében a C-terminális α -hélix szerkezetet mutat, amely a monomer hegyes végén nyúlik végig [7]. Ez a szerkezeti elem (hasonlóan az N-terminális hélixhez) ugyancsak gátolja a longitudinális aktin-aktin kapcsolatok kialakítását. Így a T β 4 : G-aktin komplex asszociációja a filamentum mindkét végén gátolt, ami szevering aktivitással ruházza fel a fehérjét [10].

A közelmúltban a pontmutációt hordozó, illetve kiméra WH2 domének aktinnal alkotott komplexeinek vizsgálatai felderítették, hogy a fentiekben bemutatott globális elvek mellett több lokális szerkezeti különbség is megfigyelhető [6]. Ezek főként az LKKT/V szakaszt övező régiókra korlátozódnak. Az N-terminális irányban található Fx_{xx}K linker központi aminosava (lizin), illetve a C-terminális irányban levő 5. aminosav (arginin) az aktin 334, illetve 93 pozíciójában található glutaminsavjaival sóhidat alakítanak ki, ami a C-terminális dinamikáját korlátozza. Ezen aminosavak mutációi (K \rightarrow Q, illetve R \rightarrow N/E) révén a komplex stabilitását tekintve kedvezőtlenebb elektrosztatikus kölcsönhatások alakulnak ki, ami a C-terminális rész konformációs flexibilitását növeli [6, 11]. Ezen szerkezeti elemekben megfigyelhető lokális változatosság funkcionális szempontból is jelentőséggel bírhat; a szekvesztráló és profilin-szerű aktivitások finomhangolása közötti kapcsolót jelentheti.

A tandem-WH2 fehérjék több aktin monomerrel a domének számától függő sztöchiometriájú komplexet alkotnak [10]. Bizonyos fehérjék szekvesztráló aktivitást mutatnak, ugyanakkor nukleációs aktivitással is rendelkezhetnek (például Cordon Bleu, Spire, VopF/VopL) [12-14]. Bár a nukleációs aktivitásuk *in vitro* kevésbé hatékony, mint a klasszikus nukleációs faktorokhoz tartozó Arp2/3 komplex és formin fehérjecsalád tagjaié [3]. Az aktin dinamikája szempontjából két teljesen ellentétes aktivitás megléte különösen izgalmas.

Förster rezonancia energia transzfer méréseken alapuló fluoreszcencia spektroszkópiai vizsgálataink arra utalnak, hogy a tandem-WH2 fehérjék által kötött oligomerben az aktin molekulák orientációja eltér az F-aktinra jellemző konformációtól. Összhangban ezzel, a Spire 4 WH2 doménje és a Cordon Bleu 2 WH2 doménje által kötött aktin tetramer, illetve dimer atomi felbontású szerkezete is a protomerek filamentumtól eltérő orientációját derítette fel [15, 16].

Ez arra enged következtetni, hogy a tandem-WH2 fehérjék által kötött aktin oligomerek a filamentum képződés szempontjából inaktív nukleációs intermediereknek tekinthetőek, ami a szekvesztráló aktivitásuk szerkezeti alapjait jelentheti.

A nukleációs aktivitás háttérében álló molekuláris mechanizmusok szerkezeti részletei ismertek talán a legkevésbé. A polimerizáció szempontjából aktív nukleációs intermedier a tandem-WH2 : aktin szekvesztrációs komplex átrendeződését feltételezi. Mi idézheti elő ezt a strukturális változást? Ismeretes, hogy bizonyos WH2 domén fehérjék (pl. T β 4, Ciboulot, Spire) az affinitásbeli különbségek miatt preferenciálisan az ATP-G-aktinhez kötődnek az ADP-G-aktinnal szemben. Ezt alapul véve vonzó elképzelés, hogy az oligomereket alkotó aktin protomerek fokozott enzimatisus aktivitása miatt a viszonylag gyors ATP hidrolízis és foszfát csoport leválása a tandem-WH2 domének teljes vagy részleges disszociációját idézheti elő [15]. Így az aktin ATPáz aktivitása kapcsolót jelenthet a szekvesztráló és nukleációs aktivitás között. Fontos megjegyezni, hogy a Spire, a Cordon Bleu és a VopF/VopL biokémiai aktivitásaiban és felépítésében megfigyelhető eltérések miatt ez nem tekinthető általános mechanizmusnak. A Spire nem befolyásolja jelentősen az aktin ATPáz aktivitását, ami az „ATPáz-kapcsoló” mechanizmussal összeegyeztethető [12]. Ugyanakkor a Cordon Bleu lassítja az enzimatisus ciklust [13]. Mindemellett a Cordon Bleu 3 WH2 doménje önmagában szekvesztráló aktivitást mutat, a hatékony nukleációs aktivitáshoz a doménektől N-terminális irányban található lizin gazdag régió is nélkülözhetetlen [13]. Hasonlóan, a VopF/VopL WH2 doménjei az azoktól C-terminális irányban található dimerizációs domén hiányában csupán szekvesztráló aktivitást mutatnak [14]. Ezek a megfigyelések a WH2 domént övező modulok szerkezeti és funkcionális jelentőségére hívják fel a figyelmet (*lásd Perspektívák*).

WH2 : F-aktin kölcsönhatás

In vitro vizsgálatok szerint a WH2 domének az aktin filamentumokkal is képesek kölcsönhatást kialakítani, ennek szerkezeti aspektusairól azonban lényegesen kevesebbet tudunk, mint a monomerrel való kölcsönhatásukról. Az eddigi vizsgálatok szerint bizonyosnak tűnik, hogy jelentős affinitású kötés kialakításához egy WH2 domén mellett egy másik aktin kötő régió is szükséges. Ezek lehetnek további tandem módon elhelyezkedő WH2 domén(ek) (például a Spire és a SALS esetén) vagy más természetű aktin kötő modulok (például a Leiomodin esetén). A domén WH2 : G-aktin komplexből ismert szerkezetének a Holmes F-aktin modellre való dokkolásával két fő ponton tártunk fel összeférhetetlenséget [10]. A filamentumban a szöges vég hidrofób zsebe a szomszédos aktin protomer hegyes végével a filamentum szerkezetét stabilizáló kölcsönhatások kialakításában vesz részt. Ezek a longitudinális kapcsolatok a WH2 N-terminális α -hélixének kötőhelyét részben elfedik. Másrészt, a tandem-WH2 domének C-terminálisa jellemzően ugyan kitekeredett, azonban rövid aminosav lánc. Ennek rövidsége miatt a fehérjelánc egyszerűen fizikailag nem elég hosszú ahhoz, hogy két szomszédos aktin protomert átfogjon.

A fenti megállapításainkat különböző hosszúságú C-terminális régiót tartalmazó WH2 domének aktinnal alkotott komplexeinek későbbi röntgenkristallográfiás és SAXS vizsgálatai megerősítették [15, 16].

A fenti inkompatibilitások csak az F-aktin helikális szerkezetének jelentős mértékű torzításával oldhatóak fel. Ezek alapján a tandem-WH2 domének oldalkötése a longitudinális kapcsolatok gyengülését, az F-aktin helikális szerkezetének megbomlását eredményezheti, ami a filamentum destabilizációjához és szétszerelődéséhez vezet (szevering/fragmentáció).

WH2 domének moduláris fehérjékben és biológiai kontextusban

A WH2 domén fehérjékkel kapcsolatos megfigyelések két fontos, egymáshoz kapcsolódó kérdéskörre is felhívták a figyelmet. Hogyan jelenik meg a tandem-WH2 domének funkcionális sokszínűsége a biológiai működésükben? Hogyan járulnak hozzá a WH2 doméneket övező modulok azok funkcionális sokszínűségéhez?

A kutatások egyik fontos problémája annak felderítése, hogy biológiai kontextusban is tetten érhető-e a tandem-WH2 domén fehérjék multifunkcionális jellege, illetve hogy a WH2 domének *in vitro* aktivitásai közül melyek relevánsak az *in vivo* környezetben. Ehhez a kérdéshez kapcsolódó érdekes példa a Spire fehérje. *Drosophila* és egér modellben végzett *in vivo* vizsgálatok szerint a fehérje alapvető szerepet játszik a petesejt aktin hálózatának dinamikai szabályozásában [17]. A Spire hiánya az aktin hálózat idő előtti lebomlása révén a citoplazma dinamikus áramlását idézi elő, ami a petesejt polaritásának defektusához vezet. Ugyanez a fenotípus figyelhető meg a profilin és a formin fehérjék hiányában is [17-19]. *In vitro* vizsgálataink szerint a Spire 4 WH2 doménje, nukleációs aktivitása mellett, a profilin-aktin komplex filamentumba épülését gátolja, míg a szabad aktin monomerek asszociációját nem befolyásolja [12]. A formin fehérjecsaldáról ismert, hogy befolyásolva az asszociációs sebességi állandókat hatékonyabban építi a filamentumba a profilin-aktin komplexet, mint a szabad aktin monomereket [20]. Annak érdekében, hogy felderítsük azt, hogy az egyedi fehérjék ismert biokémiai aktivitásai közül melyek dominálnak, illetve azok kombinációja milyen funkcionális kimenetelt eredményez együttes jelenlétükben biomimetikus vizsgálatokat végeztünk. A módszertan lényege abban áll, hogy a rekombináns fehérjék aktivitásait a biológiai folyamatot rekonstruáló, sejtmentes, jól szabályozott biokémiai környezetben, az összes vizsgált fehérje együttes jelenlétében tanulmányozzuk. Eredményeink szerint a Spire-kötött filamentum végek preferenciája a szabad aktin monomerek felé fokozza a profilin-aktin formin által katalizált filamentumba épülését [12, 21]. Így a három fehérje szinergikus kölcsönhatása egy dinamikus aktin hálózatot tart fent, ami egy lehetséges magyarázata lehet a Spire, formin és profilin *in vivo* felderített szerepének a petesejt aktin hálózatának dinamikai szabályozásában. A megfigyelés alapján felállított hipotézisünk szerint a Spire biológiai szempontból releváns funkciója nem a nukleációra, hanem a filamentum végek dinamikájára kifejtett hatása.

A WH2 domének gyakran moduláris fehérjék elemei, az őket övező modulok befolyásolhatják vagy akár megváltoztathatják a WH2 domének funkcionalitását. Klasszikus példaként említhető talán az Arp2/3 komplex aktivátora, a WAVE2 komplex, amelynek egyetlen WH2 régiója *in vitro* mérsékelt szekvesztráló aktivitással rendelkezik. Azonban a WAVE a WH2 C-terminálisának közelségében

található CA (connector, acidic) régiói révén képes az Arp2/3 komplexhez kötődni, így a WH2 által kötött aktin monomer az Arp2/3 komplex actin-related 2 és 3 alegységével egy trimert formálva járul hozzá az Arp2/3 nukleációs aktivitásához [3, 22]. A Cordon-bleu 3 WH2 doménje szekvesztráció révén gátolja az aktin filamentumok összeszerelődését és nem befolyásolja azok szétszerelődését *in vitro*. Érdekes módon a WH2 doménektől N-terminális irányban található lizin-gazdag régió jelenléte a WH2 doméneket nukleációs és szevering aktivitással ruházza fel [13]. Hasonlóan a Leiomodin nukleációs aktivitásához, az egyedüli WH2 doménje nem elégséges, az aktivitás kialakításában fontos szerepet játszik a WH2 domén és a tőle N-terminális irányba található további aktin-kötő helyek közötti szinergia [23]. A *Drosophila* specifikus SALS *in vivo* vizsgálatai arra engednek következtetni, hogy a fehérjének a vázizom szarkomerikus aktin filamentumainak megfelelő rendezettségének és hosszának kialakításában van szerepe [24]. Jelenleg folyó vizsgálatink szerint azonban a SALS WH2 doménjeinek aktivitásai nem rekonstruálják a teljes hosszúságú fehérje biológiai funkcióját, ami a fent említett példákhoz hasonlóan arra utal, hogy további modulok is meghatározó szerepet játszhatnak a WH2 domének aktivitásainak szabályozásában.

Érdekes módon, a WH2 domének közvetlen környezetében található gyakori modul egy prolin-gazdag régió, amely a WH2 doméntől N-terminális irányban helyezkedik el. Ismeretes, hogy a prolin-gazdag régió más aktin-asszociált fehérjékben (pl. forminok) az aktin monomer-kötő profilin fehérjével alakít ki kölcsönhatást [20]. Az eddigi vizsgálatok szerint a profilin nem befolyásolja sem a Leiomodin, sem a SALS WH2 doménjeinek az aktin dinamikára kifejtett hatását. Elképzelhető, hogy flexibilis elemként szerkezeti jelentőséggel bír a WH2 domének funkcionalitásának kialakításában. Ennek tisztázása azonban további vizsgálatokat igényel.

Perspektívák

A klasszikus WH2 domén fehérjék mellett az újonnan azonosított tandem-WH2 fehérjék egy sokszínű elemmel gazdagítják az aktin sejt-váz szabályozó fehérjék repertoárját. Az elmúlt 10 év átfogó vizsgálatai a WH2 domén fehérjecsalád fizikai-kémiai sajátosságainak számos aspektusát azonosították, amely révén a funkcionális sokszínűségük hátterében álló molekuláris kép újabb árnyalatokkal gazdagodott. A WH2 domén multifunkcionális adaptálódásának alapjául szolgáló szerkezeti és funkcionális irányelvek további részleteinek feltárása a jövőbeli kutatások fontos irányvonalait jelenthetik. Ezek közé tartozik a tandem-WH2 domének aktin oligomerekkel/filamentumokkal alkotott komplexeinek részletes szerkezeti, valamint biológiai relevanciájának vizsgálata. Izgalmas kérdéskört jelent, hogy a WH2 domént övező modulok milyen molekuláris mechanizmusok révén hangolják azok aktivitását. Szinte feltáratlan téma, hogy az aktin sejt-váz szabályozó fehérjéi akár az aktinnal, akár a WH2 domén fehérjék más régióival kölcsönhatva hogyan vesznek részt azok aktivitásának szabályozásában. Ezen kérdéskörök vizsgálata minden bizonnyal hozzájárul a WH2 domén fehérjecsalád szerkezeti és funkcionális sokoldalúságának pontosabb megismeréséhez.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Irodalomjegyzék

- [1] Carlier, M. F., Husson, C., Renault, L. & Didry, D. (2011) Control of actin assembly by the WH2 domains and their multifunctional tandem repeats in Spire and Cordon-Bleu. *Intern Rev Cell Mol Biol*, **290**: 55-85.
- [2] Paunola, E., Mattila, P. K. & Lappalainen, P. (2002) WH2 domain: a small, versatile adapter for actin monomers. *FEBS Letters*, **513**: 92-7.
- [3] Bugyi, B. & Carlier, M. F. (2010) Control of actin filament treadmilling in cell motility. *Annu Rev Biophys*, **39**: 449-70.
- [4] Hertzog, M. & Carlier, M. F. (2005) Functional characterization of proteins regulating actin assembly. *Curr Protoc Cell Biol*, Chapter **13**: Unit 13 6.
- [5] Renault, L., Deville, C. & van Heijenoort, C. (2013) Structural features and interfacial properties of WH2, beta-thymosin domains and other intrinsically disordered domains in the regulation of actin cytoskeleton dynamics. *Cytoskeleton (Hoboken)*, **70**: 686-705.
- [6] Didry, D., Cantrelle, F. X., Husson, C., Roblin, P., Moorthy, A. M., Perez, J., Le Clainche, C., Hertzog, M., Guittet, E., Carlier, M. F., van Heijenoort, C. & Renault, L. (2012) How a single residue in individual beta-thymosin/WH2 domains controls their functions in actin assembly. *EMBO*, **31**: 1000-13.
- [7] Hertzog, M., van Heijenoort, C., Didry, D., Gaudier, M., Coutant, J., Gigant, B., Didelot, G., Preat, T., Knossow, M., Guittet, E. & Carlier, M. F. (2004) The beta-thymosin/WH2 domain; structural basis for the switch from inhibition to promotion of actin assembly, *Cell*, **117**: 611-23.
- [8] Hild, G., Bugyi, B. & Nyitrai, M. (2010) Conformational dynamics of actin: effectors and implications for biological function. *Cytoskeleton (Hoboken)*, **67**: 609-29.
- [9] Hild, G., Kalmar, L., Kardos, R., Nyitrai, M. & Bugyi, B. (2014) The other side of the coin: functional and structural versatility of ADF/cofilins. *Europ J Cell Biol.* **93**: 238-51.
- [10] Renault, L., Bugyi, B. & Carlier, M. F. (2008) Spire and Cordon-bleu: multifunctional regulators of actin dynamics. *Trends Cell Biol*, **18**: 494-504.
- [11] Boquet, I., Boujemaa, R., Carlier, M. F. & Preat, T. (2000) Ciboulot regulates actin assembly during Drosophila brain metamorphosis. *Cell*, **102**: 797-808.

- [12] Bosch, M., Le, K. H., Bugyi, B., Correia, J. J., Renault, L. & Carlier, M. F. (2007) Analysis of the function of Spire in actin assembly and its synergy with formin and profilin. *Mol Cell*, **28**: 555-68.
- [13] Husson, C., Renault, L., Didry, D., Pantaloni, D. & Carlier, M. F. (2011) Cordon-Bleu Uses WH2 Domains as Multifunctional Dynamizers of Actin Filament Assembly. *Mol Cell*, **43**: 464-77.
- [14] Pernier, J., Orban, J., Avvaru, B. S., Jegou, A., Romet-Lemonne, G., Guichard, B. & Carlier, M. F. (2013) Dimeric WH2 domains in Vibrio VopF promote actin filament barbed-end uncapping and assisted elongation, *Nature Structur & Mol Biol*, **20**: 1069-76.
- [15] Chen, X., Ni, F., Tian, X., Kondrashkina, E., Wang, Q. & Ma, J. (2013) Structural basis of actin filament nucleation by tandem W domains. *Cell reports*, **3**: 1910-20.
- [16] Sitar, T., Gallinger, J., Ducka, A. M., Ikonen, T. P., Wohlhoefer, M., Schmoller, K. M., Bausch, A. R., Joel, P., Trybus, K. M., Noegel, A. A., Schleicher, M., Huber, R. & Holak, T. A. (2011) Molecular architecture of the Spire-actin nucleus and its implication for actin filament assembly, *Proc Natl Acad Sci(USA)*, **108**: 19575-80.
- [17] Dahlgard, K., Raposo, A. A., Niccoli, T. & St Johnston, D. (2007) Capu and Spire assemble a cytoplasmic actin mesh that maintains microtubule organization in the Drosophila oocyte, *Dev Cell*. **13**, 539-53.
- [18] Manseau, L., Calley, J. & Phan, H. (1996) Profilin is required for posterior patterning of the Drosophila oocyte, *Development*. **122**, 2109-16.
- [19] Manseau, L. J. & Schupbach, T. (1989) cappuccino and spire: two unique maternal-effect loci required for both the anteroposterior and dorsoventral patterns of the Drosophila embryo, *Genes Dev*. **3**, 1437-52.
- [20] Barko, S., Bugyi, B., Carlier, M. F., Gombos, R., Matusek, T., Mihaly, J. & Nyitrai, M. (2010) Characterization of the biochemical properties and biological function of the formin homology domains of Drosophila DAAM, *J Biol Chem*. **285**, 13154-69.
- [21] Romet-Lemonne, G., Helfer, E., Delatour, V., Bugyi, B., Bosch, M., Romero, S., Carlier, M.-F., Schmidt, S. & Fery, A. (2009) Biomimetic Systems Shed Light on Actin-Based Motility Down to the Molecular Scale, *Biophysical Reviews and Letters*. **4**, 5-15.
- [22] Bugyi, B., Le Clainche, C., Romet-Lemonne, G. & Carlier, M. F. (2008) How do in vitro reconstituted actin-based motility assays provide insight into in vivo behavior?, *FEBS Lett*. **582**, 2086-92.
- [23] Chereau, D., Boczkowska, M., Skwarek-Maruszewska, A., Fujiwara, I.,

Hayes, D. B., Rebowski, G., Lappalainen, P., Pollard, T. D. & Dominguez, R. (2008) Leiomodin is an actin filament nucleator in muscle cells, *Science*. **320**, 239-43.

[24] Bai, J., Hartwig, J. H. & Perrimon, N. (2007) SALS, a WH2-domain-containing protein, promotes sarcomeric actin filament elongation from pointed ends during *Drosophila* muscle growth, *Dev Cell*. **13**, 828-42.



Bugyi Beáta a Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Karán szerzett fizika-matematika szakos tanári diplomát 2003-ban. Ph.D. fokozatát 2006-ban szerezte meg a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében. Ezt követően 2006-2010 között posztdoktori időszakot töltött az aktin kutatás egyik világszinten is kiemelkedő biokémiai műhelyében, Marie-France Carlier laboratóriumában (Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS, Gif-sur-Yvette, Franciaország). 2010-től újra a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében tevékenykedik az Aktin Dinamika Kutatócsoport vezetőjeként. Kutatási területe az aktin sejtvezérlés szabályozó fehérjéinek funkcionalitásában meghatározó fizikai-kémiai sajátságok molekuláris elemeinek vizsgálata. Munkáját az elmúlt egy évben

az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával megvalósuló TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program Magyary Zoltán posztdoktori ösztöndíjjal támogatta.

FOTOINDUKÁLT ELEKTRON TRANSZFER FLAVOPROTEINEKBEN

Lukács András
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biofizikai Intézet

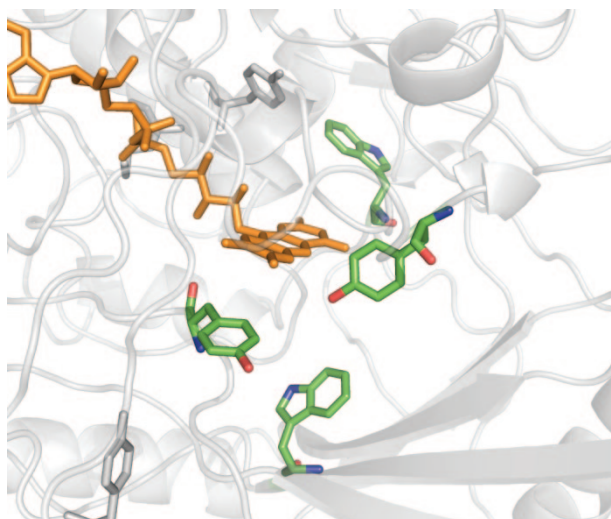
Összefoglalás

A flavoproteinek túlnyomó többségében megfigyelhető a fotoindukált elektron transzfer jelensége, amelynek során az UV/kék fénnel gerjesztett flavin egy elektront von el a környezetétől, aminek következtében a flavin fluoreszcenciája megszűnik. Annak ellenére, hogy ez a jelenség a legtöbb flavoprotein esetében megfigyelhető, csak kivételes esetekben szükséges a fehérje funkciójához. Ezek közé a kivételes esetek közé tartozik több fotoaktív flavoprotein, amelyek a természetben fotoreceptorként működnek. Ebben a munkában a fotoaktív flavoproteinekben lejátszódó elektron transzfer folyamatokat vizsgáltam két fehérjecsaldó esetében.

Fotoindukált elektron transzfer

A fotoindukált elektron transzfer jól ismert folyamat a fotokémiában, amelynek során, ha egy molekulát fénnel gerjesztünk, az a környezetéből egy elektront von el. Ez a folyamat gyakori oka a fluoreszcencia megszűnésének vagy más néven kioltásának, sok esetben ugyanis a gerjesztett állapotban levő fluorofór egy elektront von el a környezetéből, aminek következtében megszűnik a gerjesztett állapot, vagyis a fluoreszcencia gyorsabban eltűnik. Ez a folyamat következik be számos flavoprotein esetében, a flavinokra ugyanis általában igaz, hogyha gerjesztett állapotba kerülnek, akkor elektrorra van „szükségük”. A folyamat azonban nem csak fehérjékben, hanem még oldatban is megfigyelhető: a flavin-adenin-dinukleotid (FAD) esetében a gerjesztést követően a ribitil lánc végén található adenin gyűrűről egy elektron „ugrik” az izoalloxazin gyűrűre. Ez az oka annak, hogy az FAD esetében két fluoreszcencia élettartam figyelhető meg, egy hosszú 3 ns körüli, illetve egy nagyon rövid 9 ps körüli. A hosszabb élettartam az FAD nyitott, a rövidebbik pedig a zárt konformációjának felel meg (ez utóbbi esetben az adenin közel helyezkedik el az izoalloxazin gyűrűhöz)[1].

A flavoproteinekben lejátszódó elektron transzferről az 1999-es év kémiai Nobel-díj nyertese, Ahmed Zewail számolt be először, aki glükóz oxidázban figyelte meg a jelenséget [2]. Zewail a Nobel-díjat a kémiai reakciók femtoszekundumos spektroszkópiával való tanulmányozásáért kapta, így nem csoda, hogy neki sikerült megfigyelnie a fotoindukált elektron transzfer dinamikáját fehérjékben. Fehérjékben ugyanis ez a jelenség nagyon gyorsan, mondhatni ultra gyorsan megy végbe. Ez az oka annak, hogy a glükóz oxidázt sokszor úgy említik, mint egy olyan flavoprotein, amelyik nem képes fluoreszcenciára. Zewail és Zhong mérései szerint azonban van fluoreszcencia, de csak tranziens módon jön létre, nagyon rövid ideig.



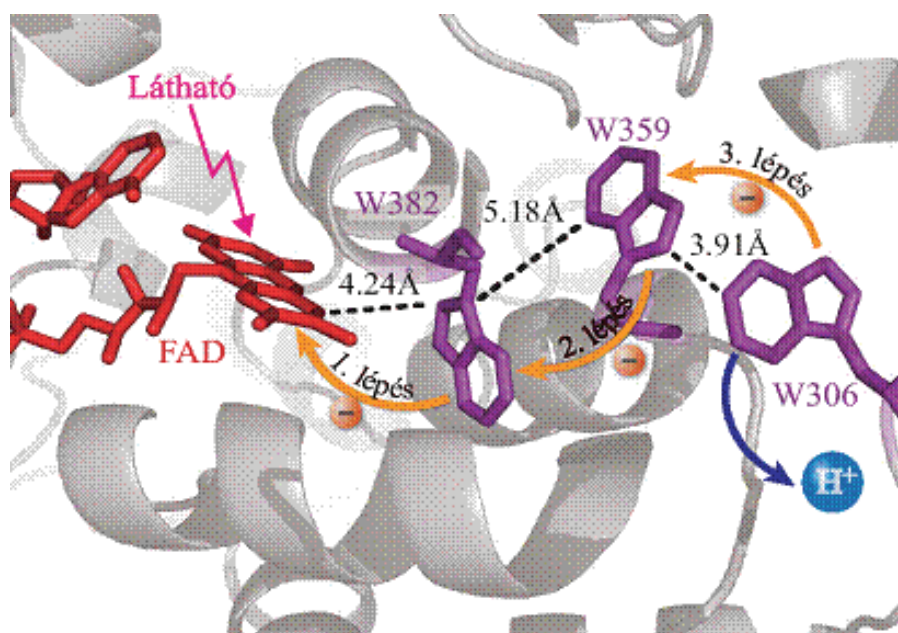
1. ábra. A glükóz oxidáz szerkezete. Az FAD körül (narancs) a potenciális elektron donorok vannak kiemelve. (pdb: 1CF3)

Zewail következtetése szerint a glükóz oxidázban (lásd 1. ábra) valamelyik közeli triptofán az elektron donor, a rövid távolság az oka a hatékony elektron transzfernek és egyben a fluoreszcencia gyors kioltásának is. Nemcsak triptofán lehet azonban elektron donor, hanem például a tirozin is. A flavodoxin esetében egy – ezúttal – az FMN-hez közel elhelyezkedő tirozin az elektron donor. A flavodoxinban ráadásul a fotoindukált elektron transzfer folyamata kevesebb mint 200 fs alatt valósul meg [3, 4], szemben a glükóz oxidázban megfigyelt 30 ps-mal [2, 4].

Érdekes fejlemény, hogy flavoproteinek esetében működik a fordított logika is: ha sikerül „megszabadítani” a flavin környezetét a potenciális elektron donoroktól (elsősorban triptofántól és tirozintól), akkor lehet növelni a fluoreszcencia hatékonyságát. Egy amerikai kutatócsoport a bakteriális MurB enzim módosításával egy flavin alapú (vagyis nem GFP-szerű) fluoreszcens fehérjét hozott létre, amelyet LucY-nak (Lucigen Yellow) neveztek el [5].

Fotoindukált elektron transzfer szerepe a fehérje funkciójában

Ami a fotoindukált elektron transzfer jelenségét még izgalmasabbá teszi az az, hogy bár a glükóz oxidáz vagy a flavodoxin esetében ez nem funkcionális, számos olyan flavoprotein van, amelyek esetében az elektron transzfer kulcsszerepet játszik a funkcióban. Ilyen fehérjék pl. a növények és rovarok cirkadián ritmusának szabályozásában vagy a vándormadarak tájékozódásában kulcsszerepet játszó kriptokrómok, vagy ugyanebbe a fehérjecsaládba tartozó fotoliázok, amelyek a DNS javítást végzik baktériumokban. Mindkét fehérje esetében egy több lépéses elektron transzfer kaszkádra kerül sor, amelyben három közeli triptofán vesz részt. Az külön érdekesség, hogy ez a triptofán motívum jól konzervált a kriptokróm/fotoliáz családban és kiemelt szerepet játszik a fehérjék működésében. Bármelyik triptofán kicserélése megszünteti az elektron transzfert, egyben a fehérje funkcióját is.

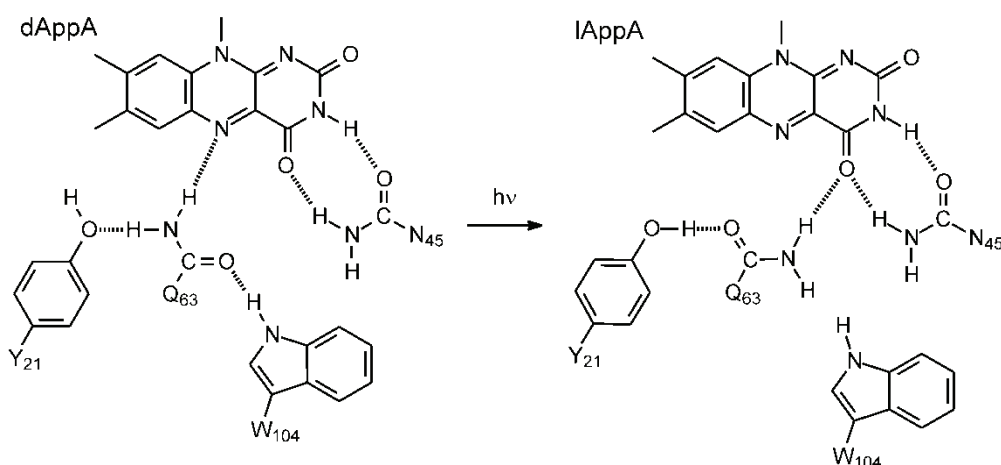


2. ábra. A fotoliázban lejátszódó elektron transzfer kaszkád. (pdb: 1DNP)[6]

A kriptokrómok esetében nagy általánosságban elmondható, hogy a flavin kezdetben oxidált állapotban van. A gerjesztést követően a legközelebb eső triptofánról egy elektron „ugrik” az izoalloxazin gyűrűre, amelynek következtében a flavin redukálódik ($\text{FAD}^{\bullet-}$), a triptofán pedig oxidálódik ($\text{Trp}^{\bullet+}$). (A flavin redox állapotai, de ehhez hasonlóan a triptofán gyökök is, jól megkülönböztethető abszorpciós spektrummal rendelkeznek, amely segít a folyamatok karakterizálásban). A kriptokrómok esetében az elsődleges elektron transzfer lépés nagyon gyors, néhány száz femtoszekundum alatt valósul meg [7]. A fotoliázok esetében a DNS-javítás a flavin teljesen redukált (FADH^-) állapotában valósul meg: a gerjesztést követően egy elektron ugrik a ciklobután pirimidin dimerre, aminek következtében ez a kötés felhasad, ezáltal valósul meg a DNS szál javítása. A fotoliázok esetében érdekes részlet, hogy a tisztítást követően a flavin félig redukált állapotban (FADH^\bullet) van, a DNS szál javítására viszont csak abban az esetben kerül sor, ha teljesen redukálódik. Ez szintén fotoindukált elektron transzfer segítségével valósul meg: a gerjesztést követően a flavin egy elektront von el a legközelebbi triptofánról, aminek következtében redukálódik. A töltéshiány 30 ps alatt „végigfut” a triptofánokon, majd 200 ns-mal később sor kerül a deprotonálódásra [8, 9].

Elektron transzfer BLUF-domén fehérjékben

A fotoaktív flavoproteinek különleges családját alkotják a BLUF (Blue light sensing using FAD) fehérjék, amelyek esetében a fényabszorpciót követően a fehérjében strukturális átrendeződés valósul meg szoros összefüggésben a fehérje funkciójával. A legismertebb és legtöbbet vizsgált BLUF domén fehérje a *Rhodobacter sphaeroides*-ben található AppA, amely a transzkripció regulációjában vesz részt [10].



3. ábra. A flavin körüli hidrogénkötés-hálózat átrendeződése a megvilágítást követően (sematikus modell)[11].

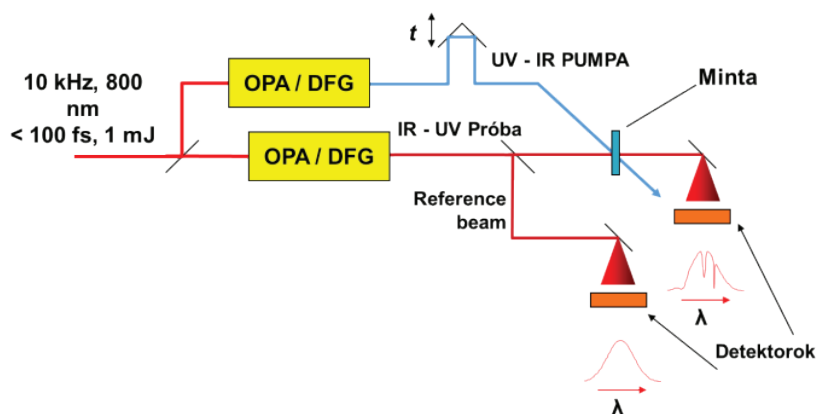
Sötétben az AppA hozzákötődik a PpsR nevű transzkripció antirepresszorhoz, intenzív kék színű fény hatására viszont az AppA-PpsR2 komplex disszociálódik, lehetővé téve a PpsR DNS-hez kötődését és megakadályozva a fotoszintetikus rendszer fehérjéinek bioszintézisét. Az AppA-val kapcsolatos vizsgálatok célja annak megértése, hogy az N-terminálisnál elhelyezkedő BLUF doménben végbemenő fotokémiai folyamatok hogyan vezetnek a C-terminálisnál bekövetkező strukturális változásokhoz, amelyek eredményeképpen a PpsR leválik az AppA-ról.

A kriptokróm/fotoliáz esetében megismert működés nyomán logikus előfeltevés, hogy a fotoindukált elektron transzfernek a BLUF domén fehérjék esetében is funkcionális feladata van. Ebből kiindulva az amszterdami egyetem kutatói arra következtettek, hogy vagy a flavin közeli Y21-es tirozin, vagy a W104-es helyzetű triptofán az elsődleges elektron donor. A holland kutatók az Y21-es tirozint fenilalaninra cserélték (Y21F), aminek következtében azt tapasztalták, hogy a mutánsban nem jön létre az a közel 10 nm-es vörös eltolódás a kék fény megvilágítást követően, mint a vad típusú fehérjében, vagyis a fehérje többé nem fotoaktív. A Kennis-csoport kiterjedt kísérleteket végzett egy másik BLUF domén fehérjén (PixD), amelyek alapján azt a hipotézist állították fel, hogy a BLUF domén fehérjékben az elektron transzfer az az elsődleges lépés, amely a világos állapot megvalósulásához vezet [12].

Ezzel párhuzamosan saját eredményeink azt bizonyították, hogy az FAD körüli hidrogénkötés-rendszer átrendeződése esszenciális a fehérje funkciójának megvalósításában (a mechanizmus egyszerűsített sémája a 3. ábrán látható) [13]. Ha az FAD körüli hidrogénkötés-rendszer átalakul (Q63E és Q63L mutánsok esetében), akkor a fehérje ebben az esetben sem fotoaktív. A glutamin kulcsszerepének leírása mellett, saját (UV/látható) tranzien abszorpciós méréseink ugyanakkor nem igazolták azt, hogy a sötét állapotban levő AppA-ban a megvilágítást követően FAD gyök intermedierek jelennének meg. A fotoindukált elektron transzfer szerepének vizsgálata érdekében kiterjedt spektroszkópai vizsgálatokat végeztünk.

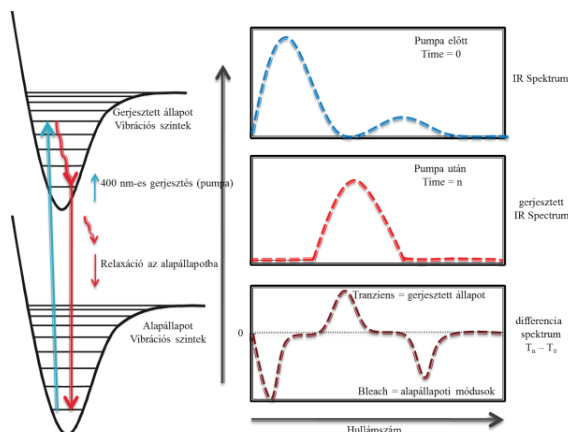
Tranziens infravörös abszorpciós spektroszkópia

Tekintettel arra, hogy a fotoindukált elektron transzfer a fotoaktív flavo-proteinekben nagyon gyorsan megy végbe, a folyamatok karakterizálásához ultragyors spektroszkópiát alkalmaztunk, méghozzá annak is egy speciális (és meglehetősen költségigényes) fajtáját, a tranziens infravörös spektroszkópiát. Az alábbiakban ismertetett méréseket a Ruherford Appleton Laboratory, Central Laser Facility Lasers for Sciences nevű kutatóintézet ULTRA nevű berendezésén végeztük el [14]. Az ULTRA központi eleme egy 10 kHz-es ismétlési frekvenciával működő lézer a francia Amplitude nevű cégtől, amely 100 femtoszekundumos hosszúságú és 1 mJ energiájú impulzusokat bocsát ki. A pumpa és próba impulzusokat a litván Light Conversion nevű cég frekvencia konvertáló berendezése (OPA: Optical Parametric Amplifier) hozza létre. A rendszer „szeme” – és egyben legköltségesebb tartozéka – a két higany-kadmium-tellurium (MCdTe) detektor, amelyek segítségével az abszorpcióváltozást mérjük.



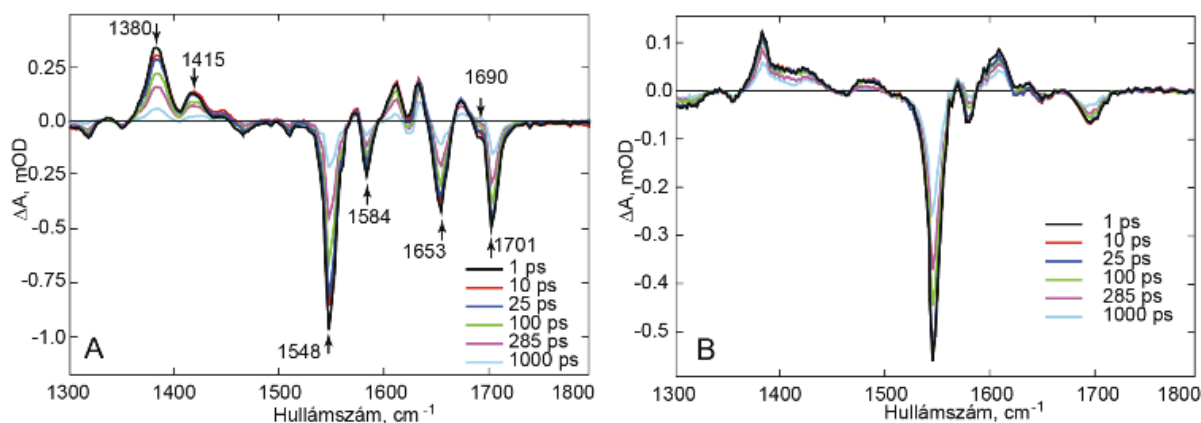
4. ábra. A tranziens infravörös abszorpciós spektroszkópiai rendszer. Egy ún. pumpa-próba módszer, vagyis először gerjesztjük a mintát (ez a pumpa), majd egyre növekvő késleltetéssel világítjuk át a próba nyalábbal. Ez alapján idő függvényében számolható az abszorpcióváltozás.

A spektrum alakját illetően az 5. ábra ad eligazodást: azok a csúcsok, ahol a mintának volt abszorpciója a gerjesztést megelőzően is, negatív előjellel jelennek meg a spektrumban (ezeket a szaknyelv „bleach”-ként nevezi), azok a csúcsok viszont, amelyek a gerjesztést követően jöttek létre pozitívak lesznek (ez utóbbiakat tranzienseknek vagy indukált abszorpciónak hívjuk).



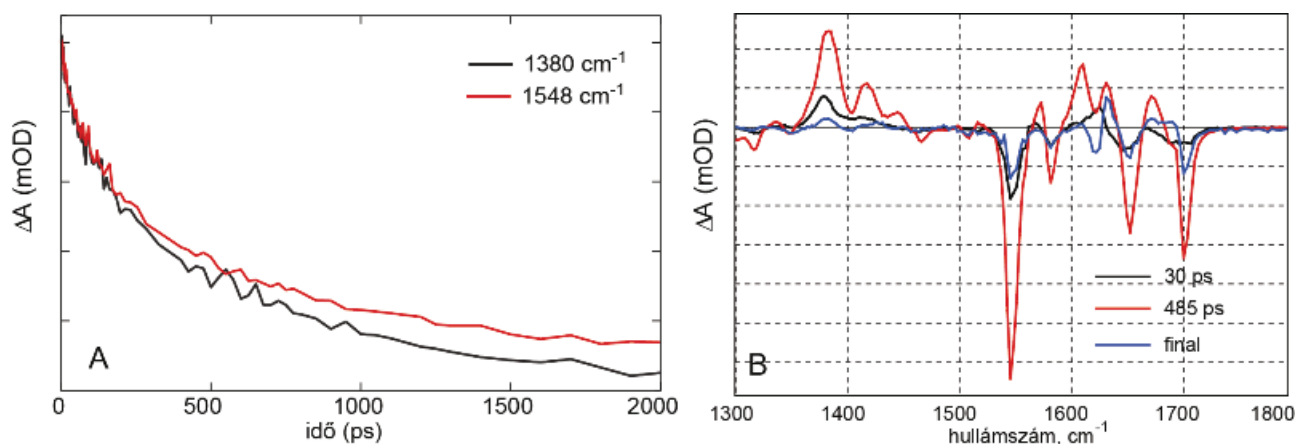
5. ábra. Az abszorpcióváltozás modellje.

Korábbi munkánk során megállapítottuk, hogy melyek azok a frekvenciák, amelyek markerként szolgálnak az FAD semleges és gyök állapotainak azonosításához [4]. Ezek ismeretében méréseket végeztünk a sötét (dAppA) és világos (lAppA) állapotú fehérjén, valamint az Y21 mutánsan. Az alábbi ábrán a vad típusú AppA esetében mért infravörös tranziens abszorpciós spektrumok láthatóak – 1 ps és 1 ns között –, amelyeket túlnyomórészt az FMN karakterisztikus frekvenciái uralnak. Az összehasonlítás kedvéért a jobboldalon az FMN TRIR spektrumai láthatóak azonos késleltetési időknél.



6. ábra. A) AppA és B) FMN tranziens infravörös spektrumai különböző késleltetési időknél.

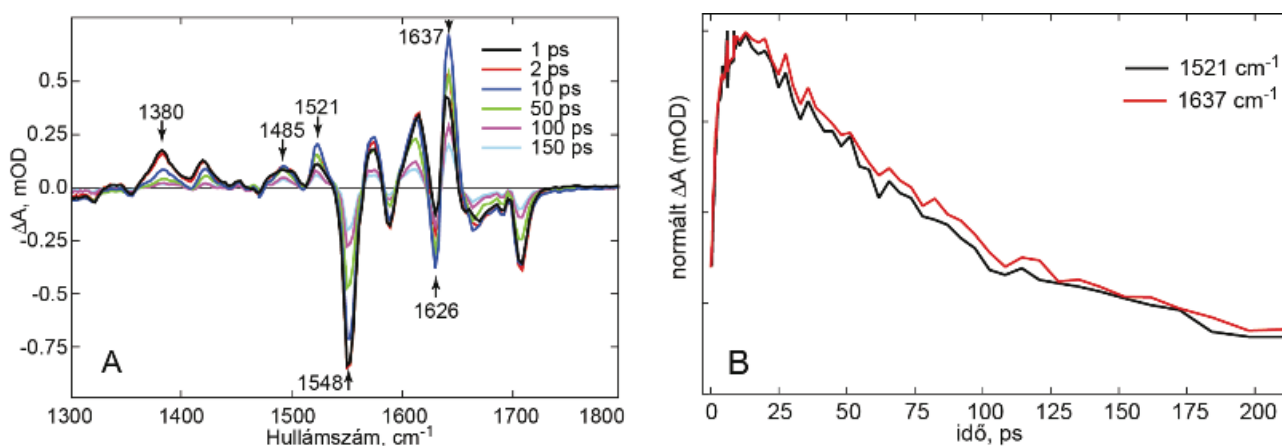
Az ábrán jól látható, hogy az FMN és az AppA TRIR spektruma a legtöbb helyen átfed: a két legnagyobb frekvenciájú csúcs a flavin C2 (1652 cm^{-1}) atomjánál, illetve C4 (1701 cm^{-1}) atomjánál található karbonilcsoport rezgésétől származik. Az 1548 cm^{-1} -nél, illetve 1584 cm^{-1} -nél található módusok pedig a flavin izoalloxazin gyűrűjének rezgései. Az 1380 cm^{-1} és 1415 cm^{-1} -nél található módusok a flavin gerjesztett állapotának rezgései – mivel mindkét spektrumban megtalálható – amelyet a gerjesztett állapot markereként használtunk.



7. ábra. A) A gerjesztett állapot és az alapállapot abszorpciójának relaxációja. B) Különböző időállandókhöz tartozó spektrumok (DAS=Decay Associated Spectra).

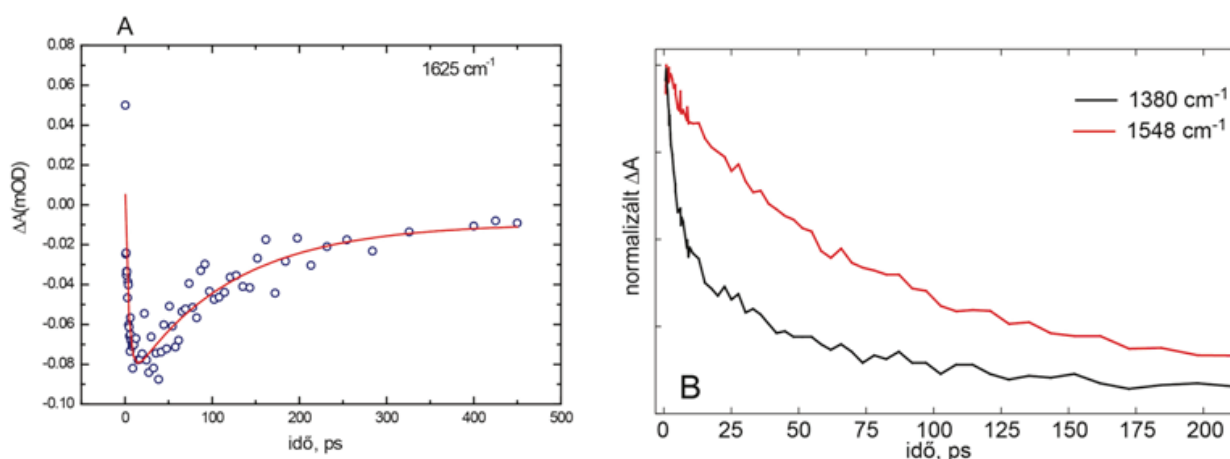
A 7.A ábrán látható a gerjesztett állapot abszorpciójának, illetve az alapállapot abszorpciójának a relaxációja vad típusú (egyben sötét állapotban levő) AppA esetében, amely egészen a hosszú késleltetési időkhöz is jól együtt fut. Ha a gerjesztést követő időknél jelentős különbség mutatkozna, azt jelentené, hogy a gerjesztést követően létrejött egy intermedier állapot. A 7.B ábrán látható a vad típusú sötét állapotú AppA méréseken végzett globális illesztés eredménye, amely egy heterogén mintegy 30 és 500 ps-os relaxációs fázis létezését támasztja alá.

Tekintettel arra, hogy a sötét állapotban végzett mérések során az FAD gyök állapotainak ($\text{FAD}^{\bullet-}$ vagy FADH^{\bullet}) megjelenésére nem utalt semmilyen jel, létrehoztuk az Y21W mutánst, amelynek során az eredeti tirozint triptofánra cseréltük. Előfeltevésünk szerint – mivel a töltésszétválasztás szabad energiája jóval negatívabb a triptofán esetében – ilyen módon felerősíthető ugyanis az elektron transzfer.



8. ábra. A) Y21W TRIR spektrumok különböző késleltetéseknél. B) az 1521 cm^{-1} és 1637 cm^{-1} módusok kinetikája.

A 8.A ábrán jól látható, hogy a sötét állapotú AppA-hoz képest a mutánsban három intenzív csúcs (1521 cm^{-1} , 1626 cm^{-1} , 1637 cm^{-1}) jelent meg, amely 100 ps-on belül változik. Az 1621 cm^{-1} és 1637 cm^{-1} -nél megfigyelt csúcsok kinetikája gyakorlatilag megegyezik. Korábbi munkánk [4] alapján az 1521 cm^{-1} -es csúcs az FADH^{\bullet} és $\text{FAD}^{\bullet-}$ gyök, az 1626 cm^{-1} -es és 1637 cm^{-1} -es csúcs vagy triptofán, vagy tirozin gyök rezgési módusai. A 9.A ábrán látható kinetikából arra lehet következtetni, hogy a gerjesztést követően mintegy 30 ps alatt egy állapot eltűnik, az újonnan létrejött pedig néhány 100 ps alatt relaxálódik. Ez a kinetika nagy valószínűséggel a semleges triptofán „eltűnését” és a triptofán gyök kialakulását mutatja. A 8.B ábrán jól látható eltérés mutatkozik a flavin gerjesztett állapotának (1380 cm^{-1}) valamint a bleach relaxációja között. Tekintettel arra, hogy a gerjesztett állapot gyorsabban relaxálódik, arra tudunk következtetni, hogy – amint ez várható is volt – itt már megfigyelhető egy intermedier állapot kialakulása.



9. ábra. A) Az Y21W kinetikája 1625 cm⁻¹-nél. B) Az Y21W kinetikája 1380 cm⁻¹ és a fő bleach 1548 cm⁻¹ esetében (az összehasonlíthatóság érdekében ez utóbbit pozitív előjellel ábráztuk).

Az Y21W mutáns esetében a triptofán gyök megjelenése közvetlen módon is észlelhető volt látható tranziens abszorpció segítségével. Mivel a TrpH⁺ 560 nm körüli abszorpciós maximummal rendelkezik, ezért ennek a gyöknek a megjelenése könnyedén megfigyelhető volt [15].

Annak érdekében, hogy a flavin rezgéseit elkülönítsük a fehérje módusoktól, ¹³C jelölést hajtottunk végre [15]. Ennek során a fehérje összes szén atomját – kivétel a flavin kromofór – ¹³C izotópra cseréltük, így egyértelművé vált, hogy mely módusok tartoznak a fehérjéhez (leginkább a flavin körüli aminosavakhoz), illetve melyek az FAD-hez. Amint az várható volt, az FAD izoalloxazin gyűrűjének két fő módusa (1548 cm⁻¹) változatlan maradt, az 1700 cm⁻¹-es módus mindössze négy cm⁻¹-es eltolódást mutatott, aminek az oka a C4=O karbonilcsoport és egy közeli aminosav közötti hidrogénkötés megerősödése lehet. Az 1521 cm⁻¹-nél megfigyelt módus nem tolódott el, ami egyértelműen azt mutatja, hogy ez a csúcs az FAD gyök állapotának egyik rezgési módusa. Az 1626 cm⁻¹-es csúcs teljes, az 1637 cm⁻¹-es csúcs részleges eltolódása az alacsonyabb frekvenciák felé arra utal, hogy ezek a módusok a fehérjéhez tartoznak és várhatóan a triptofán gyök állapotának megjelenését mutatják. Az 1637 cm⁻¹-es csúcs csak részlegesen mozdul el a ¹³C jelölés következtében, ami arra utal, hogy ez a csúcs az FAD-hez is köthető.

Következtetések és tervek

Tranziens abszorpciós kísérleteink azt igazolták, hogy az AppA fotoaktivációja sok más fotoaktív fehérjétől eltérően nem fotoindukált elektron transzfer segítségével valósul meg [15]. A szintén BLUF fehérjecsaládba tartozó fehérjéken (PixD) végzett kísérleteink során viszont a fotoindukált elektron transzfer egyértelműen megfigyelhető volt. Jövőbeli kísérleteink annak a megértésére irányulnak, hogy a többi BLUF domén fehérje esetében az elektron transzfer az elsődleges oka-e a fotoaktivációnak vagy csak egy a gerjesztést követő „melléktermék”, és a fotoaktiváció az AppA-hoz hasonlóan a hidrogénkötés-hálózat átrendeződésének következménye.

További kísérleteket végzünk majd annak megértésére, hogy bár W104-es triptofán mutációja nem befolyásolja a fotoaktivitást, a triptofánnak más aminosavra való cserélése jelentősen felgyorsítja a világos állapotból a sötét állapotba való visszatérést, amely a vad típusú AppA esetében mintegy 30 perc.

Irodalomjegyzék

- [1] Chosrowjan, H., Taniguchi, S., Mataga, N., Tanaka, F., Visser, A.W.G. (2003) The stacked flavin adenine dinucleotide conformation in water is fluorescent on picosecond timescale. *Chem Phys Lett*, **378**: 354–358.
- [2] Zhong, D., Zewail, A.H. (2001) Femtosecond dynamics of flavoproteins: charge separation and recombination in riboflavine (vitamin B2)-binding protein and in glucose oxidase enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, **98**: 11867–72.
- [3] Mataga, N., Chosrowjan, H., Shibata, Y., Tanaka, F. (1998) Ultrafast Fluorescence Quenching Dynamics of Flavin Chromophores in Protein Nanospace. *J Phys Chem B*, **102**: 7081–7084.
- [4] Lukacs, A., Zhao, R.-K., Haigney, A., Brust, R., Greetham, G.M., Towrie, M. et al. (2012) Excited state structure and dynamics of the neutral and anionic flavin radical revealed by ultrafast transient mid-IR to visible spectroscopy. *J Phys Chem B*, **116**: 5810–8.
- [5] Auldridge, M.E., Cao, H., Sen, S., Franz, L.P., Bingman, C.A., Yennamalli, R.M. et al. (2015) LucY: A Versatile New Fluorescent Reporter Protein. *PLoS One*, 10 e0124272.
- [6] Lukács András (2007) Funkcionális fehérjedinamikai vizsgálatok fluoreszcencia és femtoszekundumos időfelbontású tranziens abszorpciós spektroszkópiai módszerekkel. *PhD értekezés*.
- [7] Brazard, J., Usman, A., Lacomat, F., Ley, C., Martin, M.M., Plaza, P. et al. (2010) Spectro-temporal characterization of the photoactivation mechanism of two new oxidized cryptochrome/photolyase photoreceptors. *J Am Chem Soc*, **132**: 4935–45.
- [8] Lukacs, A., Eker, A.P.M., Byrdin, M., Villette, S., Pan, J., Brettel, K. et al. (2006) Role of the middle residue in the triple tryptophan electron transfer chain of DNA photolyase: ultrafast spectroscopy of a Trp-->Phe mutant. *J Phys. Chem B*, **110**: 15654–8.
- [9] Lukacs, A., Eker, A.P.M., Byrdin, M., Brettel, K., Vos, M.H. (2008) Electron hopping through the 15 Å triple tryptophan molecular wire in DNA photolyase occurs within 30 ps. *J Am Chem Soc*, **130**: 14394–5.
- [10] Lukács András (2014) Fénnyel hajtott fehérjék. *Biokémia*, **XXXVIII**: 50–56.

- [11] Anderson, S., Dragnea, V., Masuda, S., Ybe, J., Moffat, K., Bauer, C. (2005) Structure of a novel photoreceptor, the BLUF domain of AppA from *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochemistry*, **44**: 7998–8005.
- [12] Bonetti, C., Mathes, T., van Stokkum, I.H.M., Mullen, K.M., Groot, M.-L., van Grondelle, R. et al. (2008) Hydrogen bond switching among flavin and amino acid side chains in the BLUF photoreceptor observed by ultrafast infrared spectroscopy. *Biophys J*, **95**: 4790–802.
- [13] Lukacs, A., Haigney, A., Brust, R., Zhao, R.-K., Stelling, A.L., Clark, I.P. et al. (2011) Photoexcitation of the blue light using FAD photoreceptor AppA results in ultrafast changes to the protein matrix. *J Am Chem Soc*, **133**: 16893–900.
- [14] Greetham, G.M., Burgos, P., Qian, C., Clark, I.P., Codd, P.S., Farrow, R.C. et al. (2010) ULTRA: A unique instrument for time-resolved spectroscopy. *Appl Spectrosc*, **64**: 1311–1319.
- [15] Lukacs, A., Brust, R., Haigney, A., Laptanok, S.P., Addison, K., Gil, A. et al. (2014) BLUF domain function does not require a metastable radical intermediate state. *J Am Chem Soc*, **136**: 4605–15.



Lukács András a Budapesti Műszaki Egyetemen szerzett mérnök-fizikus diplomát 1997-ben. 1999-2002 között a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében volt Ph.D. hallgató, 2003-2005 között az R&D Ultrafast Lasers spin-off cégnél dolgozott, 2005-2006 között Marie Curie Ph.D. hallgató volt a franciaországi Ecole Polytechnique, Laboratoire d'Optique et Biologie kutatóintézetében. 2007-ben szerzett Ph.D. fokozatot a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán. 2007-2009 között az Ecole Polytechnique, Laboratoire d'Optique et Biologie kutatóintézetében volt posztdoktorális kutató, 2009-2011 között a University of East Anglia vegyész karán dolgozott tudományos főmunkatársként. 2011 óta újra a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében dolgozik. Kutatási területe a fotoaktív fehérjék funkcionális dinamikájának vizsgálata ultragyors spektroszkópai módszerekkel. A tavalyi évben Bolyai János ösztöndíjat, valamint OTKA kutatási pályázatot nyert el.

HUNGARIAN MOLECULAR LIFE SCIENCES 2015

Az első alkalommal 2013-ban Siófokon rendezett *Hungarian Molecular Life Sciences* konferencia kiemelkedő sikere nyomán a második rendezvényre 2015. március 27-29 között került sor. A konferencia a molekuláris biológia hazai művelőinek három egyesülete, a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE), a Magyar Genetikusok Egyesülete (MAGE) és a Magyar Biológiai Társaság Sejt- és Fejlődésbiológiai Szakosztálya közös igényét hivatott kielégíteni az átfedő területeken, integrált megközelítéseket igénylő problémákon dolgozó szakemberek közötti eszmecsere révén. A Diamond Congress Kft. által lebonyolított, 396 kutató részvételével angol nyelven megrendezett eseménynek ezúttal a Hotel Eger & Park adott otthont.

Plenáris előadóként Nagy András (Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute, Toronto) a sejt-újraprogramozás legújabban felfedezett lehetőségeiről, illetve – a FEBS National Lecturer program támogatásával – Jason Carroll (Univ. Cambridge) az ösztrogén receptorok kifejeződése és a rákos átalakulás közötti összefüggésekről tartott előadást. A hazai műhelyek képviselőiben Fésüs László (DE), Juhász Gábor (ELTE/SzBK) és Víg László (SzBK) tartottak plenáris előadásokat.

A konferencia nagy részét kitevő párhuzamos szekció-előadások *Molecular Mechanism of Diseases; Protein Structure, Function and Modelling; Regulatory RNAs; Developmental Genetics; Membrane, Transport, Trafficking; Genome Organization and Mobile Genetic Elements; Signaling, Cell-cell Communication; Regulation of Gene Expression, Epigenetics; Systems Biology; Stem Cells; Microbial Genetics*, illetve *DNA Repair and Carcinogenesis* tematikus bontásban hangzottak el. A hazai kutatóhelyeken dolgozó fiatal munkatársak, illetve laborvezetők előadásain kívül tíz külföldi, illetve külföldön dolgozó magyar kutató is szekció-előadásokon mutatta be munkáját.

A **2015. évi Bio-Science díjat** elnyerő **Daraba Andrea** (SzBK), illetve az **MBKE 2015. évi díjával** jutalmazott **Várallyay Éva** (NAIK Gödöllő) plenáris előadásokon mutatta be díjazott eredményeit. A **konferencia poszterdíjait** **Hotzi Bernadette** (ELTE, 1. helyezés), **Hudoba Liza** (SzBK, 2. helyezés) és **Hetey Szabolcs** (DE, 3. helyezés) kapták.

A konferencia négy szponzoráló cég támogatásával jött létre. A programot 27 kiállító részvétele, illetve a Bio-Science Kft. és a Soft Flow Hungary Kft. céges előadásai gazdagították.

A helyben tapasztalt hangulat és aktivitás, illetve a tagság utólagos visszajelzései alapján a 2015-ös *Hungarian Molecular Life Sciences* konferencia is kiemelkedő sikerrel zárult, amiért köszönet illeti a három szervező egyesület vezetőségének tagjait és a szervezésben résztvevő nagyszámú kollégát.

A konferenciához kapcsolódóan került sor az **MBKE 2015. évi tisztújító közgyűlésére**, amelyen Vértessy Beáta (MTA TTK) és Buday László (MTA TTK) elnökjelöltek tartottak programismertető beszédeket. A tagság a 2016-tól kezdődő ötéves periódusra Buday Lászlót választotta meg az MBKE elnöki pozíciójára. Alelnöknek Boros Imrét (SzTE), Nyitray Lászlót (ELTE) és Virág Lászlót (DE) választották. A főtitkári, illetve főtitkárhelyettesi posztot Kovács Mihály (ELTE), illetve Haracska Lajos (SzBK) kapta. A megválasztott területi képviselők Kapuy Orsolya (SE, Budapest), Szatmári István (DE, Debrecen), Gallyas Ferenc (PTE, Pécs), illetve Csont Tamás (SzTE, Szeged) lettek. A Felügyelő Bizottság új tagjává Tőzsér Józsefet (DE) választották. Az Egyesület Etikai Bizottságának elnöke Fésüs László (DE), tagjai Vígh László (SzBK) és Sümegi Balázs (PTE) lettek. A közgyűlésen Arányi Tamás (MTA TTK) és Bálint L. Bálint (DE) ismertette az Epigenetikai Szakosztály megalakításának tervét.

Kovács Mihály
tudományos főmunkatárs
ELTE Biokémiai Tanszék



1. kép. Jason Carroll FEBS National Lecturer (középen), Vértessy Beáta MBKE főtitkár és Fésüs László MBKE elnök társaságában. (Fotó: Thaler Tamás)



2. kép. Daraba Andrea, a 2015. évi Bio-Science díj nyertese (balról második) Vértessy Beáta MBKE főtitkárral, Tátrai Ágnes Bio-Science Kft. ügyvezető igazgatóval és Kovács Mihály MBKE felügyelőbizottsági taggal. (Fotó: Thaler Tamás)



3. kép. Várallyai Éva, a 2015. évi MBKE-díj nyertese (középen) Vértessy Beáta MBKE főtitkárral és Boros Imre MBKE területi képviselővel. (Fotó: Thaler Tamás)

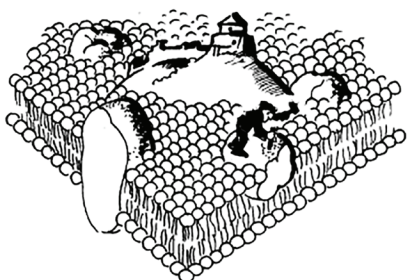


4. kép. Hotzi Bernadette poszterdíjas és Erdélyi Miklós, a MAGE elnöke. (Fotó: Thaler Tamás)



5. kép. Hetey Szabolcs poszterdíjas és Erdélyi Miklós, a MAGE elnöke. (Fotó: Thaler Tamás)

TAVASZI MEMBRÁN NAPOK SÜMEGEN



Idén 45. alkalommal került megrendezésre május 21-24. között a Sümegi Membrán-Transzport Konferencia. A program összeállításánál igyekeztünk követni a konferencia hagyományait, megtartva az esemény interdiszciplináris szakmai jellegét és közvetlen baráti légkörét. Sümeg városa, a Hotel Kapitány, a Sümegi Vár és a Palota Pince hosszú idő óta ideális

helyszínt biztosítanak a biológiai membránokkal régóta foglalkozó tapasztalt kutatók és az azokkal csak most ismerkedő fiatalok kölcsönös tájékoztatására, új tudományos kapcsolatok építésére, meglévő együttműködések ápolására.

A rendezvény megnyitóján a konferencia választmányának elnöke, Fischer Emil, majd Sümeg város polgármestere, Végh László, köszöntötte a résztvevőket. A nyitószekció hagyományos Romhányi-díj átadó ünnepségét megelőzően Németh Péter emlékezett meg a díj névadójáról, Romhányi Györgyről. Az idei díjat az alapítvány kuratóriuma Voszka Istvánnak (Semmelweis Egyetem, Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest) adományozta. A díjazott előadását követően az Alapítvány kiváló fiatal kutatóknak kiírt pályázatán nyertes Patkó Dániel (MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet, Budapest) és Fisi Viktória (PTE KK Laboratóriumi Medicina Intézet, Pécs) tudományos előadásait hallgattuk meg.

A konferencián a membrán szerkezet és dinamika, a citoskeleton, a sejt mechanika és motilitás, valamint a membránokban zajló jelátviteli és transzport folyamatok hazai kutatási eredményeiből hallhatunk egy színes csokorra valót. A megszokott tudományos tartalom mellett idén egy kicsit nagyobb hangsúlyt kaptak a különböző környezeti és patofiziológias stressz állapotok kutatásával foglalkozó témák. Ezzel szerettük volna felhívni a kutató közösség figyelmét arra, hogy a biológiai membránok és az ahhoz köthető biológiai funkciók fiziológias körülmények között megismert tulajdonságai stressz hatására jelentős változáson mennek keresztül. A membránok aktuális fizikai szerkezete, kémiai összetétele központi szereppel bírhat a környezet primer érzékelésében, a stresszelhárító (adaptív) mechanizmusok működtetésében és koordinációjában.

A délelőtti tudományos előadás szekciókat délutáni poszter bemutatók követték, melyen a szakmai zsűri 8 posztert díjazott. Almássy János (DE, ÁOK, Élettani Intézet), Bencsik Norbert (ELTE, Élettani és Neurobiológiai Tanszék), Juhász

Tamás (DE, ÁOK, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet), Liliom Hanna (ELTE, Élettani és Neurobiológiai Tanszék), Nagy Noémi (SE, I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet), Tóth Emese (DE, ÁOK, Orvos Vegytani Intézet), Ughy Bettina (MTA, SzBK, Növénybiológiai Intézet) és Vígh Andrea (PTE, ÁOK, Biofizikai Intézet) a hagyományos zárónapi „Fiatalok Fóruma” keretében mutathatták be kutatási témájukat rövid 10 perces előadások formájában.

A sümegi Membrán-Transzport Konferencia egyik legértékesebb sajátossága a szép környezet és családi légkör, mely a szakmai és kulturális programok optimális egyensúlya mellett lehetőséget biztosít a diszciplínákon átívelő új szakmai kapcsolatok kiépítésére, valamint a meglévő együttműködések ápolására. Idei rendezvényünk hangulata sikeresen követte a konferenciasorozat több évtizedes jó tradícióit.

***A kongresszus szervezői nevében
Török Zsolt
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont***

BESZÁMOLÓ A PEPTIDKÉMIAI MUNKABIZOTTSÁG 2015. ÉVI ÜLÉSÉRŐL

Az MTA Szerves és Biomolekuláris Kémiai Tudományos Bizottság keretében működő Peptidkémiai Munkabizottság a szokásokhoz híven Balatonszemesen, a Richter Gedeon Nyrt. üdülőjében tartotta éves ülését május 20-22. között, amelyen a Munkabizottság tagjain kívül számos előadó és érdeklődő (közel hatvanan) is részt vett.

A tudományos program az elmúlt évekhez hasonlóan igen gazdag volt, 35 előadás hangzott el a következő témakörökben: *Peptidekkel módosított felületű nanorészecskék szintézise és alkalmazása, Peptidszintézisek, Tumorterápia, Amiloidok és foldamerek, Agyi peptidhormonok, Peptid konjugátumok, Fehérje szerkezet, kötődési vizsgálatok, A matematika hozzájárulása, Fehérje módosítás, fehérje azonosítás.*

A Munkabizottság „fehérasztal” és borkóstoló mellett tartott esti nyilvános ülésén Dékány Imre professzor (MTA-Szte Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport, Szte ÁOK Orvosi Vegytani Intézet, Szeged) tartott vitaindító előadást „Kis molekulájú ligandumok és proteinek kölcsönhatása S/L határfelületeken és oldatokban: nanoskálás fizikai kémiai vizsgálati módszerek” címen. Az ABL&E-JASCO Magyarország Kft., Budapest) bemutatta a peptidszintéziseket rugalmassá tevő, sokoldalú Biotage® Initiator+ Alstra™ készüléket.

Az ülésen került sor a Peptidkémiai Munkabizottság új elnökének, Dr. Tóth Gábornak (SzTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet, Szeged) és titkárának, Dr. Szűcs Máriának (SzTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézet, Szeged) megválasztására. A szavazást a Magyar Tudományos Akadémia részéről Dr. Huszthy Péter, a Szerves és Biomolekuláris Kémiai Bizottság elnöke vezette le. Az új vezetőség ezúton is megköszöni a korábbi elnöknek, Dr. Mező Gábornak és titkárnak, Dr. Szabó Ildikónak, továbbá Dr. Magyar Annának, az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest munkatársainak sokéves, áldozatos munkáját és az ez évi ülés megszervezését. Segítségükre a jövőben is számítunk.

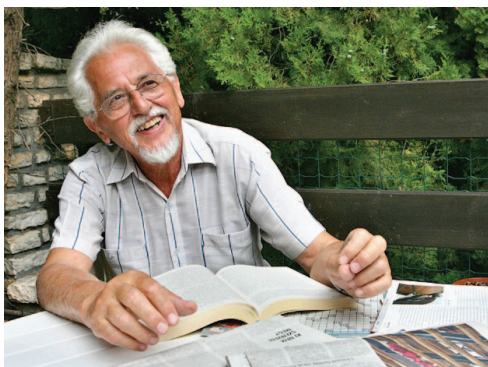
A munkabizottsági ülést az Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért és az ülésen kiállító cégek, a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Nyrt, az ABL&E-JASCO Magyarország Kereskedelmi és Szolgáltató Kft., a Gen-Lab Kft., a Kvalitex Kft. és LAB-EX Kft. támogatta anyagilag, amit ezúton is köszönünk.

Az időjárás a sokévi tapasztalatnak megfelelően inkább a tudományos munkának, nem pedig a nyaralásnak kedvezett. Így azután az érdekes előadások mellett ez is segítette az érdeklődők számának növelését. A tavalyi ülést megtisztelte jelenlétével a European Peptide Society két tisztségviselője. A tavaly tartott szerda délutáni angol nyelvű szekció esetleges jövőbeni folytatását szeretnénk megszervezni.

Tóth Gábor, Elnök



VENETIANER PÁL 80 ÉVES



Az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában április 10-én egy rövid tudományos ülés keretében köszöntöttük a 80 éves Venetianer Pált. Az SzBK nevében Ormos Pál főigazgató, a Szegedi Tudományegyetem képviselőjében pedig Bari Ferenc, az Általános Orvostudományi Kar dékánja méltatta az ünnepeltet. Ezt Venetianer Pál négy egykori tanítványának (Pósfai György, Gaál Tamás, Boros Imre, Zsurka Gábor) tudományos előadása követte. Az ülést két könnyedebb hangvételi előadás zárta. Gimes Júlia, a Magyar Rádió munkatársa egy, az évek során Venetianer Pállal készített interjúkat humorosra szerkesztett egyvelegével köszöntötte a tudománynépszerűsítést mesterfokon művelő tudóst. Végül Duda Ernő elevenítette fel az ünnepelt SzBK-ban töltött évtizedeinek néhány vidám pillanatát.

Venetianer Pál neve összefonódott a molekuláris biológia kutatás hazai térnyerésével. Személyében tudományunk kiváló művelőjét, népszerűsítőjét, elsőszámú hazai szaktekintélyét tiszteljük.

1935-ben született Budapesten. 1957-ben szerzett biológia-kémia szakos tanári oklevelet az Eötvös Loránd Tudományegyetemen. Életének meghatározó eseménye volt az, hogy végzés után Straub F. Brunó felvette a Budapesti Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézetébe. Az ott töltött 14 év – ahogy egy interjúban elmondta – kutatói pályájának talán legboldogabb szakasza volt. Azzá tette Straub professzor tudósi nagysága, személyisége, a lelkes, stimuláló intézeti közösség. Az Orvosi Vegytani Intézetben töltött éveinek legfontosabb eredménye a protein-diszulfid izomeráz enzim felfedezése volt [1]. Ez a felfedezés hozta meg számára a meghívást Christian Anfinsen (Nobel-díj 1972) laboratóriumába (National Institute of Health). Az egyéves tanulmányút témaváltáshoz vezetett, érdeklődése a hagyományos biokémiától a molekuláris biológia felé fordult.

1971-ben alapító tagként került a Szegedi Biológiai Központ Biokémiai Intézetébe, ahol Straub professzor önálló kutatócsoport alakítására kérte fel. Szerencsés pillanatban kapta ezt a lehetőséget. A 70-es évek eleje a II-es típusú restriktív endonukleázok felfedezésének, majd ennek nyomán a rekombináns DNS technika kialakulásának ideje. Venetianer Pál azonnal felismerte az ebben lévő lehetőségeket, csoportjában az elsők között kezdtek restriktív enzimeket használni, a rekombináns DNS technológia módszereit alkalmazni. Az induló szegedi Nukleinsav Csoport a módszertani forradalom két előnyét is élvezhette. Az egyik minden metodikai korszakváltás természetes velejárója: a világon mindenki újonc volt, a legjobb laborok is akkor tanultak restriktív enzimet tisztítani, plazmidot izolálni, Southern-blottolni stb. A másik egy szerencsés körülmény volt: a rekombináns DNS technika alapelemei meglehetősen olcsók,

így akkor – egy rövid ideig - nem kellett sok pénz a nemzetközi mércével mérve is jó színvonalú kutatáshoz. Az új DNS-technikák jelentőségének gyors felismeréséből adódó lépéselőnynek köszönhetően, hogy a Venetianer-csoport másfél évtizeden át egy kis kelet-európai központ lett. A csoport egykori tagjaként büszkén emlékszem arra az időre, amikor a szovjet blokk országaiból rendszeresen érkeztek vendégkutatók megtanulni a restriktív enzimek használatát, a génelőzést, DNS-szekvenálást.

A Nukleinsav Csoport magját kezdetben Duda Ernő, Udvardy Andor, Sümegi János alkották, hozzájuk csatlakozott Sain Béla, Csordás-Tóth Éva, Kiss Ibolya, Kiss Antal, Boros Imre, Pósfai György, Lukacsovich Tamás, Balikó Gabriella, Orosz András, Szabó Gábor, Szilák László. Itt meg kell említenünk laboránsainak, Udvardy Katalinnak, majd az őt felváltó Magyaródi Erzsébetnek a nevét is. Az általában 5-10 főből álló csoportot hosszabb-rövidebb ott tartózkodó vendégek egészítették ki, közülük különösen Fehér Zsigmond és Gaál Tamás hozzájárulása volt jelentős.

Kutatásaik célja kezdetben egy gén tiszta, *in vitro* rendszerben való vizsgálata volt (ekkor még a rekombináns DNS éra előtt vagyunk). Erre a célra az *Escherichia coli* riboszomális RNS (rRNS) géneit választották, melyek érdekessége az, hogy a rajtuk folyó transzkripció különösen intenzív. Az *E. coli* rRNS gének vizsgálata két évtizeden át a csoport fő témája volt kb. 30 tudományos közleményt eredményezve. Munkájuk középpontjában az rRNS transzkripció szabályozása állt [2 - 10]. Az rRNS téma két legnagyobb visszhangot kiváltó eredménye az *E. coli* rRNS gének számának meghatározása [11] és genomális (klónozás előtti) restriktív térképük elkészítése volt [12]. Az erős *rrnB* promotor expressziós plazmidvektorok létrehozását ihlette [13 - 14].

Kezdetben a csoport tagjai maguk tisztították a munkájukhoz szükséges restriktív enzimeket. Mivel akkoriban csak kevés restriktív enzim volt ismert, ezért természetes volt a törekvés, hogy megpróbáljanak új specifikus vagy a meglévőknél könnyebben használható enzimeket találni. A tudatos keresés és a szerencse három új restriktív endonukleáz felfedezéséhez vezetett: BspRI [15], BepI [16] és BceFI [17]. A restriktív endonukleázok azonban nemcsak fontos kísérleti munkaeszközök, hanem a hozzájuk tartozó DNS metiltranszferázokkal együtt önmaguk is rendkívül érdekesek, a szekvenciaspecifikus DNS-fehérje kölcsönhatások különleges példái. Ez egy új kutatási témát indított, melynek legfontosabb eredménye egy szelekciós módszer kidolgozása volt, amely alkalmas DNS metiltranszferázok [18] és teljes restriktív-modifikációs rendszerek géneinek klónozására [19]. Az említett *in vitro* szelekció később világszerte a restriktív-modifikációs gének klónozásának szinte kizárólagosan használt módszere lett. Elsőként határozták meg egy C5-metiltranszferáz gén nukleotidszekvenciáját [20] és ismerték fel C5-metiltranszferázok amimnosavszekvenciáiban fennálló hasonlóságokat [21]. Összesen 2 teljes restriktív-modifikációs rendszer és 5 DNS-metiltranszferáz génjét klónozták (lásd fent, továbbá [22 - 25]). Ez lehetővé tette a gének szerkezetének, a metilált bázisnak meghatározását, a génműködés *in vitro* vizsgálatát, túltermelő klónok előállítását.

A klónozott gének vizsgálata során fedezték fel, hogy a C5-metiltranszferázok csonka, inaktív fragmentumai képesek aktív enzimmé összeállni [26].

A C5-metiltranszferázokkal kapcsolatos munka egy érdekes oldalága volt az, amelyben kimutatták, hogy a megfelelő vektorral bejuttatott BspRI metiltranszferáz kifejeződik élesztőben. Ez az eredmény először utalt arra a lehetőségre, hogy DNS metiltranszferázokat fel lehet használni a kromatin állapotának *in vivo* vizsgálatára, az aktív és inaktív genomrégiók megkülönböztetésére [27].

Csoportjának eredményei arra ösztönözték, hogy a rekombináns DNS módszerben rejlő lehetőségeket közvetlen társadalmi hasznot hozó projektben is felhasználja. Ez a szándék találkozott az Akadémia vezetésének tudománypolitikai törekvéseivel és végül oda vezetett, hogy a Kőbányai Gyógyszerárugyárral kötött szerződés keretein belül vállalta egy, a humán inzulint termelő *E. coli* törzs előállítását. A 4 évig tartó inzulinprojektben a feladat nagysága és az alkalmazott metodikák sokfélesége miatt a Nukleinsav Csoport tagjain kívül más SzBK-s, sőt SzBK-n kívüli kutatók is részt vettek. A projekt vezetése, az alap kutatás szabadságához szokott munkatársak egy célra való mozgósítása embert próbáló vezetői feladat volt. A vállalkozást végül siker koronázta abban az értelemben, hogy elkészítették a humán inzulint termelő baktériumot. Sajnos ezt nem lehetett publikálni, mert időközben megjelent a Genentech nevű cég cikke egy hasonló eredményről. Ugyancsak kár, hogy az eredmény nem jutott el a gyógyszeripari fejlesztésig. Erre az akkori gazdasági körülmények alkalmatlanok voltak.

A 80-as évek elején Venetianer Pálé volt az SzBK legnagyobb csoportja. Ezt a helyzetet azonban - bár igazgatóként módja lett volna rá - nem kívánta hosszabb távon fenntartani. Időközben felnőtt fiatal munkatársai önállósulási törekvéseit támogatta, és a 80-as évek közepétől csak akkora csoportot tartott meg magának, amelynek irányítását sokasodó adminisztratív feladatai mellett el tudta látni. Főigazgatói elfoglaltsága mellett is volt ereje új témát kezdeni, Zsurka Gábor Ph.D. hallgatóval orvoskari együttműködésben mitokondriális mutációk betegségekben játszott szerepét vizsgálták. Ennek a munkának legfontosabb eredménye egy ritka betegség kóroktanának tisztázása volt [28].

Experimentális kutatói pályájának vége felé az enzimek irányított evolúcióval való megváltoztathatóságának lehetőségei foglalkoztatták. Tímár Edit Ph.D. hallgatóval *in vitro*, irányított evolúciós rendszerben sikerült egy DNS metiltranszferáz specifikitását megváltoztatni [29].

Tudományos iskolateremtő teljesítményét jelzi, hogy ma az SzBK Biokémiai Intézetének és a Szegedi Tudományegyetem Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszékének vezetője is az ő tanítványa.

Korábban a European Journal of Biochemistry és a Cellular and Molecular Life Sciences, most a Biomolecular Concepts című folyóirat szerkesztőbizottságának tagja.

Mindig nagyon szívesen oktatott. Bár Szegedre költözésével megszűnt főállású egyetemi oktató lenni, a József Attila Tudományegyetem biológus hallgatóinak éveken át rendszeresen tartott előadásokat. 1975 óta a Szegedi Tudományegyetem címzetes egyetemi tanára.

1984-től 1993-ig az SzBK Biokémiai Intézetének igazgatója, majd 1994-től 3 éven át az SzBK főigazgatója volt. Nagyon nehéz időszakban lett az SzBK elsőszámú vezetője. A rendszerváltás utáni évek gazdasági problémái közepette az SzBK költségvetése drasztikusan csökkent, a pályázati rendszer még csak csíráiban létezett. Az SzBK-nak alkalmazkodnia kellett a megváltozott társadalmi-gazdasági körülményekhez. Ez több népszerűtlen intézkedést kényszerített ki, mint pl. a műszaki fejlesztő részleg jelentős leépítése, a megmaradt kis kapacitás szolgáltatásainak fizetőssé tétele. Aggodalommal töltötte el, hogy az SzBK első két évtizedére jellemző fiatalos lendület alábbhagyott, a tudományos teljesítmény csökkent. Erre egy emlékeztető főigazgatói beszédben hívta fel a figyelmet. Főigazgatósága idejére esett az SzBK 25 éves jubileuma. Az intézmény addigi történetét, legfontosabb eredményeit egy kitűnő ünnepi kiadványban foglalta össze.

Életművének nagyon fontos része a tudományos ismeretterjesztés. Hét ismeretterjesztő könyvet írt. Ezek egy része nem tipikus ismeretterjesztő mű abban az értelemben, hogy nem érdeklődő laikusoknak, hanem inkább alapvető ismeretekkel már rendelkező olvasóknak (egyetemi hallgatóknak, tanároknak) íródtak. Könyvei hatásának titka a fölényes tudás, a tudományos pontosság és a sodró lendületű, olvasmányos stílus. Nekem az 1974-ben megjelent „A molekuláris biológia időszerű kérdései” és a 2002-es „Csillagórák a tudományban” a kedvencem. Számtalan népszerű tudományos folyóiratcikk szerzője, tudományos rádióműsorok gyakori szereplője. Az újságírók szinte reflexszerűen őt keresik, ha DNS-ről, genomról, molekuláris genetikáról akarnak kérdezni. Kiemelkedő tudománynépszerűsítő teljesítményét ismerte el a 2014-ben megkapott „Az Év Ismeretterjesztő Tudósa” cím, amellyel egy kisbolygó névadása is jár (az ő estében 313116 Palvenetianer 2000 YX31).

Tudománynépszerűsítési tevékenységébe sorolhatjuk a GMO-ügyben vállalt szerepét is. Újságcikkekben és interjúkban állt ki a GMO-növényekkel kapcsolatos kutatások mellett, érvelt az alaptalan félelmek ellen. Mivel soha nem dolgozott a növényi biotechnológia területén, és így az ő tudományos tevékenységét nem érintette a GMO-növényekkel kapcsolatos vita, szerepvállalása tisztán tudományos meggyőződésből fakadt.

Munkáját kitüntetések sora ismerte el. 1987-ben lett az MTA levelező, majd 1995-ben rendes tagja. Tagjai sorába választotta a német Leopoldina Akadémia és az Academia Europea is. Első magyarként lett az EMBO tagja. További kitüntetései: a Magyar Biokémiai Egyesület Szörényi Imre Díja (1969), Akadémiai Díj (1981), FEBS Ferdinand Springer-díj (1981), Állami Díj (1985), a Magyar Köztársasági Érdemrend középkeresztje (1997), a Szegedért Alapítvány fődíja (1998), Tankó Béla Életműdíj (2014).

Az SzBK fennállása óta az intézmény munkatársa, ezt csak egy egyéves tanulmányút (1973-74, Philip Leder laboratóriuma, NIH, Bethesda, USA) és egy négyhónapos japán vendégprofesszorság szakította meg.

Jelenleg emeritus professzorként vesz részt az intézet tudományos életében. További munkájához jó egészséget kívánunk!

Kiss Antal
tudományos tanácsadó
MTA SzBK Biokémiai Intézet
kiss.antal@brc.mta.hu

Irodalomjegyzék

- [1] Venetianer, P. and Straub, F.B. (1963) The enzymic reactivation of reduced ribonuclease. *Biochim Biophys Acta*, **67**: 166-168.
- [2] Udvardy, A., Sümegi, J. and Venetianer, P. (1974) Tight binding of RNA polymerase to rDNA genes in *E. coli*. *Nature*, **249**: 548-550.
- [3] Sümegi, J., Udvardy, A. and Venetianer, P. (1977) *In vitro* transcription of the ribosomal RNA genes of *Escherichia coli* DNA. *Mol Gen Genet*, **151**: 305-312.
- [4] Kiss, A., Sain, B., Kiss, I., Boros, I., Udvardy, A. and Venetianer, P. (1978) Cloning of an *E. coli* ribosomal RNA gene and its promoter region from lambda rfd18. *Gene*, **4**: 137-152.
- [5] Kiss, I., Boros, I., Udvardy, A., Venetianer, P. and Delius, H. (1980) RNA-polymerase binding at the promoters of the rRNA genes of *E. coli*. *Biochim Biophys Acta*, **609**: 435-447.
- [6] Boros, I., Csordás-Tóth, É., Kiss, A., Kiss, I., Török, I., Udvardy, A., Udvardy, K. and Venetianer, P. (1983) Identification of two new promoters probably involved in the transcription of a ribosomal RNA gene of *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta*, **739**: 173-180.
- [7] Lukacsovich, T., Boros, I., Venetianer, P. (1987) New regulatory features of the promoters of an *Escherichia coli* rRNA gene. *J Bacteriol*, **169**: 272-277.
- [8] Lukacsovich, T., Gaál, T. and Venetianer, P. (1989) The structural basis of the high *in vivo* strength of the rRNA P2 promoter of *Escherichia coli*. *Gene*, **78**: 189-194.

- [9] Orosz, A., Boros, I. and Venetianer, P. (1991) Analysis of the complex transcription termination region of the *Escherichia coli* *rrnB* gene. *Eur J Biochem*, **201**: 653-659.
- [10] Balikó, G. and Venetianer, P. (1993) An *Escherichia coli* gene in search of a function. Phenotypic effects of the gene identified as *murI*. *J Bacteriol*, **175**: 6571-6577.
- [11] Kiss, A., Sain, B. and Venetianer, P. (1977) The number of rRNA genes in *Escherichia coli*. *FEBS Lett*, **79**: 77-79.
- [12] Boros, I., Kiss, A. and Venetianer, P. (1979) Physical map of the seven ribosomal RNA genes of *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res*, **6**: 1817-1830.
- [13] Boros, I., Lukacsovich, T., Balikó, G. and Venetianer, P. (1986) Expression vectors based on the *rac* fusion promoter. *Gene*, **42**: 97-100.
- [14] Boros, I., Pósfai, G. and Venetianer, P. (1984) High-copy-number derivatives of the plasmid cloning vector pBR322. *Gene*, **30**: 257-260.
- [15] Kiss, A., Sain, B., Csordás-Tóth, É., and Venetianer, P. (1977) A new sequence-specific endonuclease (Bsp) from *Bacillus sphaericus*. *Gene*, **1**: 323-329.
- [16] Venetianer, P., and Orosz, A. (1988a) BepI restriction endonuclease, a new isoschisomer of FnuDII. *Nucleic Acids Res*, **16**: 350.
- [17] Venetianer, P., and Orosz, A. (1988b) BcefI, a new type IIS restriction endonuclease. *Nucleic Acids Res*, **16**: 3053-3060.
- [18] Szomolányi, É., Kiss, A. and Venetianer, P. (1980) Cloning the modification methylase gene of *Bacillus sphaericus* R in *Escherichia coli*. *Gene*, **10**: 219-225.
- [19] Kiss, A., Pósfai, G., Keller, C.C., Venetianer, P. and Roberts, R.J. (1985) Nucleotide sequence of the *Bsu*RI restriction-modification system. *Nucleic Acids Res*, **13**: 6403-6421.
- [20] Pósfai, G., Kiss, A., Erdei, S., Pósfai, J. and Venetianer, P. (1983) Structure of the *Bacillus sphaericus* R modification methylase gene. *J Mol Biol*, **170**: 597-610.
- [21] Pósfai, G., Baldauf, F., Erdei, S., Pósfai, J., Venetianer, P. and Kiss, A. (1984) Structure of the gene coding for the sequence-specific DNA-methyltransferase of the *B. subtilis* phage SPR. *Nucleic Acids Res*, **12**: 9039-9049.

- [22] Kupper, D., Zhou, J.-G., Venetianer, P. and Kiss, A. (1989) Cloning and structure of the *BepI* modification methylase. *Nucleic Acids Res*, **17**: 1077-1088.
- [23] Brenner, V., Venetianer, P. and Kiss, A. (1990) Cloning and nucleotide sequence of the gene encoding the *EcaI* DNA methyltransferase. *Nucleic Acids Res*, **18**: 355-359.
- [24] Szilák, L., Venetianer, P. and Kiss, A. (1990) Cloning and nucleotide sequence of the genes coding for the *Sau96I* restriction and modification enzymes. *Nucleic Acids Res*, **18**: 4659-4664.
- [25] Kiss, A., Finta, C. and Venetianer, P. (1991) M.*KpnI* is an adenine-methyltransferase. *Nucleic Acids Res*, **19**: 3460.
- [26] Pósfai, G., Kim, S.C., Szilák, L., Kovács, A. and Venetianer, P. (1991) Complementation by detached parts of GGCC-specific DNA methyltransferases. *Nucleic Acids Res*, **19**: 4843-4847.
- [27] Fehér, Z., Kiss, A. and Venetianer, P. (1983) Expression of a bacterial modification methylase gene in yeast. *Nature*, **302**: 266-268.
- [28] Zsurka, G., Ormos, J., Iványi B., Endreffy, E., Magyar, M., Sonkodi, S. and Venetianer, P. (1997) Mitochondrial mutation as a probable causative factor in familial progressive tubulointerstitial nephritis. *Human Genetics*, **99**: 484-487.
- [29] Tímár, E., Groma, G. Kiss, A. and Venetianer, P. (2004) Changing the recognition specificity of a DNA-methyltransferase by *in vitro* evolution. *Nucleic Acids Res*, **32**: 3898-3903.



FELHÍVÁS

A *Biokémia* folyóirat szerkesztőbizottsága ismét felhívja olvasóink figyelmét az interaktív **Fórumra**, amely az Egyesület honlapján található. Várjuk vitatémák indítását, valamint különféle információkat, híreket is, amelyek tagtársaink érdeklődésére számíthatnak.

Az írásokat Maksay Gábor SzB-tag címére (maksay.gabor@ttk.mta.hu) kérjük elküldeni.

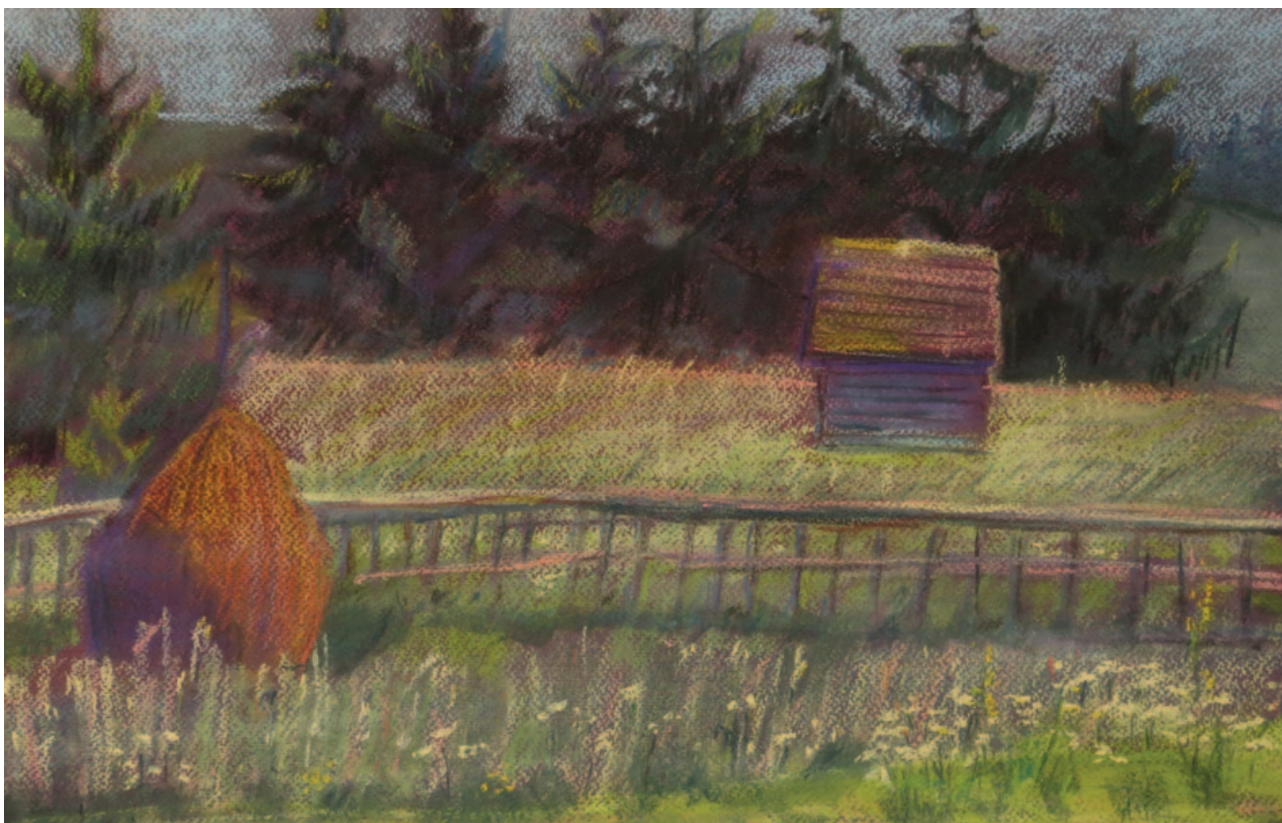
KARCAGI ILDIKÓ ÉS KOVÁCS KÁROLY ALKOTÁSAI



Karcagi Ildikó 1985-ben szerzett kutató biológus diplomát a József Attila Tudományegyetemen, Szegeden. Azóta az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontban dolgozik. 1985-1988 között a Biokémiai Intézet Citokin Kutatócsoportjában kezdett. 1988-1995 között gyermekeivel volt otthon, majd a Biokémiai Intézet Extracelluláris Mátrix Kutatócsoportjába tért vissza. 2004-től a Biokémiai Intézet Genommérnöki Csoportjának munkatársa. Tudományos témája az *Escherichia coli* MG1655 genom redukciója.

Gyerekkora óta szeret rajzolni, festeni. 2004 óta a Nagy Károly vezette Szegedi Szépmíves Céh Varga Mátyás szabadiskolai csoportjának tagja.

Minden évben részt vesz a Szépmíves Céh által az ország több pontján szervezett egyhetes nyári művésztelepeken és az azt követő beszámoló kiállításokon. Idén tavasszal munkahelyén, az SzBK-ban munka- és alkotótársával, Kovács Károllyal közös kiállításon mutatta be képeit.



Napsütés. Porpasztell.



Megbújva. Porpasztell



Fenyők. Porpasztell.

BIOKÉMIA
XXXIX. évfolyam 2. szám 2015. június



Mesefa. Akvarell



Kovács Károly az ELTE-n végzett biológusként, majd az SzTE-n szerzett doktori fokozatot 2013-ban. 2011-ben Akadémiai Ifjúsági Díjat kapott. Jelenleg az MTA Szegedi Biológiai Központ Biokémia Intézetében dolgozik posztdokként a Szintetikus és Rendszerbiológiai Egységben, Papp Balázs csoportjában. Számítógépes kutatást végez, területe az evolúciós rendszerbiológia.

Kikapcsolódásként rajzol, fest, a bemutatott képek a Szegedi Szépművéses Céh Nagy Károly által szervezett szabadiskolai foglalkozásain és táboraiban készültek.



Portrékép. Ceruzarajz.



Tájkép. Vízfesték.

BIOKÉMIA
XXXIX. évfolyam 2. szám 2015. június



Tájkép. Vízfesték.



Fák. Vízfesték.