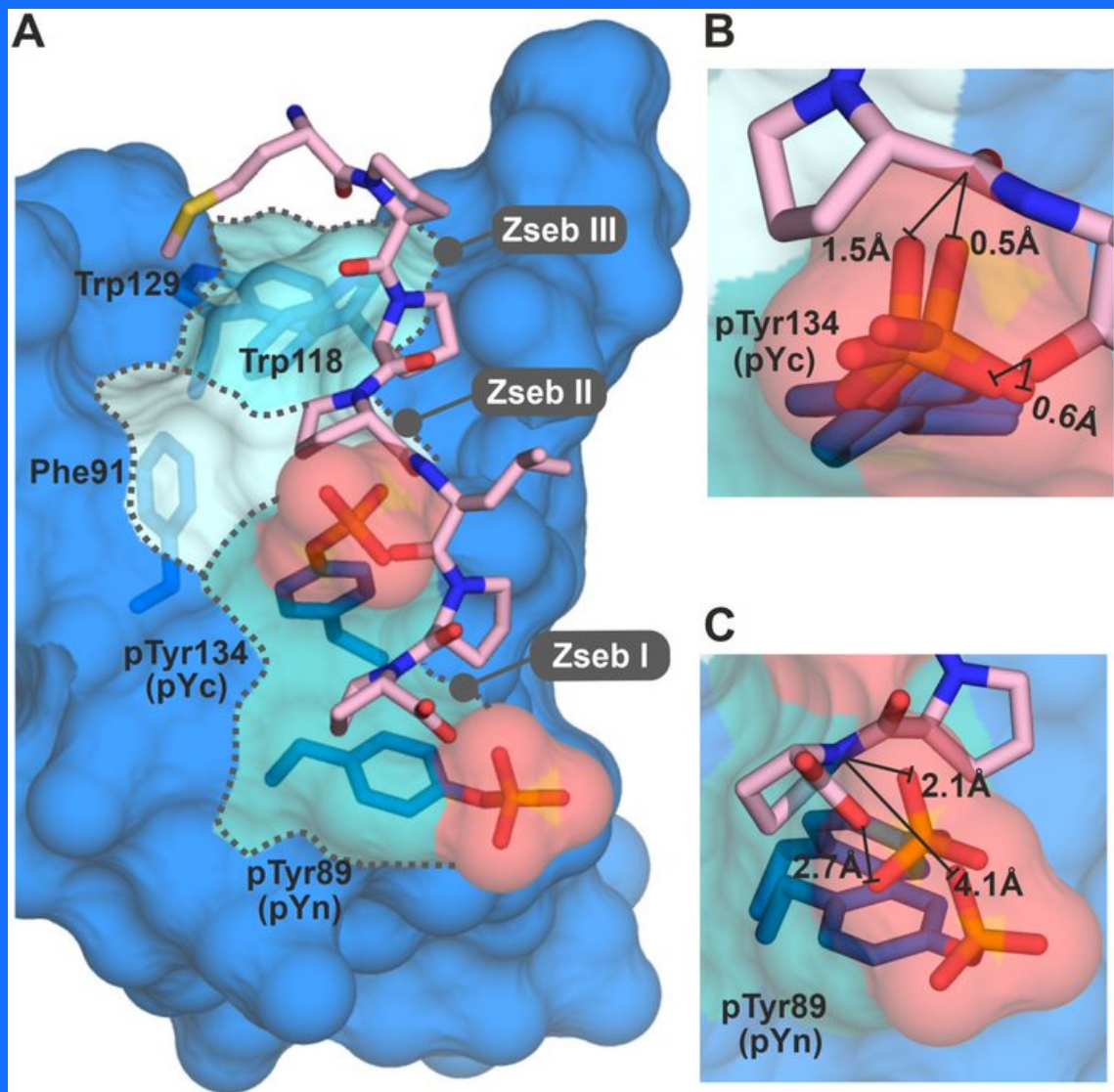


BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLVI. évfolyam 3. szám

2022. szeptember



BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

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

Főszerkesztő:

Szűcs Mária
szucs.maria@brc.hu

Rovatvezetők:

Nyitray László (PhD disszertációk bemutatása) és
Sarkadi Balázs (Áttekintő közlemények)

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter
berdipeter@gmail.com

XLVI. ÉVFOLYAM 3. SZÁM

2022. szeptember

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép: A foszforiláció gátló hatásának mechanizmusa. A) A foszforilált Abl1 SH3-peptid kötődésének modellezése. B) A TyrC foszforilcsoportja (pTyr134 az Abl1 esetében) két kötőzseb találkozásánál elfoglalja a kötőárkot, így teljesen gátolja a ligandum kötődését. C) TyrN foszforilációjakor a ligandummal szterikus ütközések jósolhatók, annak ellenére is, hogy ez a foszforilcsoport (pTyr89 az Abl1 esetében) a kötőárok szélén helyezkedik el és viszonylag flexibilis. A távolságadatok a ligandum egyes atomjai és a közelben lévő, azzal várhatóan ütköző foszforilcsoportok közti távolságot jelölik. (lásd Merő 47. oldal)

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak	4.
Interjú Fésüs László professzor úrral	6.
Gallyas Ferenc: Egy szerencsés kutatói pályafutás	16.

REVIEW

Tárnoki-Zach Júlia, Bősze Szilvia, Czirók András: Transzepiteliális elektromos ellenállás (transepithelial electrical resistance - TEER) mérése és a mérési módszerhez kapcsolódó főbb fizikai jelenségek	24.
---	-----

PHD DISSZERTÁCIÓK BEMUTATÁSA

Bulyáki Éva: A patogén Asp76Asn mutáció szerepe a β 2-mikroglobulin Amiloidképzésében	42.
Merő Balázs László: Az SH3-domének foszforiláció általi általános szabályozásának vizsgálata és szerepük a Tks4 fehérje intramolekuláris Kölcsönhatásaiban	47.

KONFERENCIA BESZÁMOLÓK

Beszámoló a Magyar Biokémiai Egyesület 2022 évi vándorgyűléséről	54.
IUBMB-FEBS-PABMB Congress: „The Biochemistry Global Summit”	60.
2nd International Transmembrane Transporter Society Meeting: „Catching Transport In Motion”	65.

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.
<http://www.mbkegy.hu>
Felelős kiadó Dr. Buday László
Az engedély száma III/SZI/397/1977
HU ISSN 2060 8152 (Online) | HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI 2022. JÚNIUS 15. ÉS 2022. SZEPTEMBER 15. KÖZÖTT

Fésüs László professor emeritus (Debreceni Egyetem, ÁOK, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet) az MTA rendes tagja, az MBKE volt elnöke, a FEBS Publikációs Bizottságának elnöke, a FEBS Network platform elindítója és munkacsoportjának elnöke, a FEBS-ben nyújtott kiemelkedő munkájáért **FEBS Diplôme d'Honneur** kitüntetésben részesült, amely a FEBS-IUBMB-PABMB kongresszuson került átadásra.

Az **Eötvös-gyűrű** az ELTE címerével ékesített arany gyűrű, amelyet az Egyetem Szenátusa 2022-ben **Gráf László** professor emeritusnak (ELTE, TTK, Biokémiai Tanszék) adományozott kiemelkedő szakmai, tudományos életútja elismeréseként.

A Magyar Tudományos Akadémia elnöksége az MTA rangos kitüntetését, az Akadémiai Díjat tudományos tevékenységet végző kutatóknak vagy kutatócsoportoknak adományozza az elmúlt években elért kiemelkedő kutatási munkájuk és eredményeik elismeréseként. **Megosztott Akadémia Díjban** részesült:

Gál Péter, az MTA doktora, a Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet tudományos tanácsadója, a Szerkezeti Biofizika Kutatócsoport vezetője és

Pál Gábor, PhD, az ELTE, TTK, Biokémiai Tanszék egyetemi docense, az Irányított Fehérjeevolúció Kutatócsoport vezetője a patogén mikroorganizmusok elleni védekezés molekuláris hátterének jobb megértését, valamint olyan betegségek gyógyítását szolgáló, nagy horderejű tudományos felfedezéseikért és kutatásaikért, amelyekben a komplexrendszer kóros működése meghatározó szerepet játszik – ilyen például a szívinfarktus, a stroke és a Covid.

MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj nyertesei:

- **Csörgő Bálint** ELKH-SZBK, Biokémiai Intézet
- **Panca Rita** ELKH-TTK, Enzimológiai Intézet
- **Szabó Ildikó** ELKH-ELTE, Peptidkémiai Kutatócsoport
- **Szebeni Gábor** ELKH-SZBK, Genetika Intézet
- **Tóth Erzsébet Melinda** ELKH-SZBK, Biokémiai Intézet

- **Turiák Lilla** ELKH-TTK, Szerves Kémiai Intézet

Gratulálunk a kitüntetetteknek!

INTERJÚ FÉSÜS LÁSZLÓ PROFESSZOR ÚRRAL



Prof. Dr. Fésüs László 1972-ben a Debreceni Orvostudományi Egyetemen (DOTE) általános orvos diplomát, majd 1975-ben laboratóriumi szakorvosi képesítést szerzett. Kezdetben a hemosztázis zavarok anafilaxiás shock-ban betöltött szerepét vizsgálta (Orvostudomány kandidátusa, 1978), majd a Laki Kálmánnál töltött tanulmányút (NIH, Bethesda, USA, 1976-77) hatására évtizedekre a transzglutaminázok sejtbiokémiai és patológiás szerepe került érdeklődésének középpontjába. 1988-tól az MTA biológiai tudományok doktora, 1998 óta az MTA levelező, 2004 óta rendes tagja. Diákkörös kora óta oktat az egyetemen, 1988 óta egyetemi tanár. Kezdeményezésére indult el a molekuláris biológus képzés Debrecenben. Emellett a Tudományos Diákkör mestertanára, a Molekuláris Sejt- és

Immunbiológia Doktori Iskola alapítója és korábbi vezetője. 22 tanítványa szerzett tudományos fokozatot. A DOTE Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetének igazgatója (1993-2003), a DOTE tudományos rektorhelyettese (1995-1999) és utolsó rektora (1999), majd a megalakuló Debreceni Egyetem (DE) első rektora (2000-2001), ezt követően a DE Orvos- és Egészségtudományi Centrum elnöke (2001-2007), majd újból a DE rektora (2007-2010) volt. Az MTA Sejt- és Fejlődésbiológiai (1997-2003), illetve Tudományetikai Bizottságának elnöke (2008-2014), majd az MTA Biológiai Tudományok Osztályának elnöke (2014-2020) volt. 2004 és 2006 közötti időszakra a Magyar Akkreditációs Bizottság elnökévé választották. A European Cell Death Organization (ECDO) alapító tagja (1993), majd elnöke (1997-1999), a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE) elnöke (2006-2016), az Európai Biokémiai Egyesületek Szövetsége (FEBS) végrehajtó testületének tagja, a FEBS Publikációs Bizottságának elnöke (2011-2020), illetve a FEBS Network platform elindítója és munkacsoportjának elnöke (2017-2021) volt. Kitüntetései többek között: Szent-Györgyi Albert Díj (1996), MBKE Tankó Béla Díj (1997), Debrecen Város Pro Urbe Díja (2001), Széchenyi Díj (2005), Pázmány Péter Felsőoktatási Díj (2006), Gábor Dénes Díj (2007), Semmelweis Díj (2009), Debreceni Akadémiai Bizottság Pro-Scientia Díj (2012), Debrecen város Díszpolgára (2012). 2022-ben a FEBS Diplôme d'Honneur elismerésben részesült a FEBS-ben nyújtott kiemelkedő szolgálataért.



Vaclav Paces, a FEBS főtitkára (balról) az IUBMB-FEBS-PABMB Kongresszus megnyitó ünnepségén 2022. július 9-én Lisszabonban adta át Fésüs Lászlónak (jobbról) a FEBS által adományozott Diplôme d'Honneur elismerést. A képet a Biokémia folyóirat a Kongresszus szervezőitől kapta meg közlésre.

Professzor Úr, először is tisztelettel gratulálunk a FEBS-IUBMB-PABMB kongresszuson átvett, FEBS Diplôme d'Honneur nemzetközi kitüntetéséhez. Sokszor mondják, hogy egy kitüntetés értékét azok a személyek jelzik, akik előzőleg megkapták. E tekintetben a névsor a legkiválóbb európai biokémikusokat tartalmazza, amelyek között Ön a második magyar kutató (Friedrich Péter után), aki ezt a kitüntető címet kapta. Tudjuk, hogy életpályája során számos díjat kapott már. Milyen helyet kap ez a kitüntetés az elismeréseinek sorában? Meglehet, sokak számára nem ismert milyen szerepet töltött be a FEBS Végrehajtó Bizottságában, ezért kérjük, röviden ismertesse főbb tisztségeit és tevékenységét.

Friedrich Péter életpályája némileg hasonlított az enyémmre. Ő is orvosi egyetemet végzett, a Magyar Biokémiai Egyesület elnöke volt, osztályelnök volt az Akadémián, valamint a FEBS Diplôme d'Honneur kitüntetést is elnyerte. 2005-ben Friedrich Péter ajánlott a Magyar Biokémiai Egyesület elnökének; megválasztásom után először 2006-ban képviseltem az Egyesületet az isztambuli FEBS Konferenciához kapcsolódó FEBS Council ülésen, ahol két váratlan dolog történt.

Az egyik, hogy nagy vita alakult ki a FEBS Alapszabály egyes részeiről, és mivel az és a működési szabályzat (Bylaws) a FEBS alapítása (1964) óta változatlan volt, új alapító okirat és működési szabályzat elkészítéséről született döntés. Ennek elkészítésére 4 tagú *ad hoc* bizottságot hoztak létre, melybe személyemben olyan tagot is választottak, aki akkor vett részt először a FEBS Council munkájában. A széleskörű egyeztetések után elkészült két dokumentumot végül 2007-ben én ismertettem a Council ülésén, ahol azok elfogadásra kerültek.

A másik, hogy beválasztottak a FEBS Publications Committee-be. Négy évig tagja voltam ennek a bizottságnak, majd többen arra biztattak, hogy pályázzam meg a bizottság elnöki tisztéért. 2011-ben választottak meg a tisztségre, melyet a FEBS szabályai szerint háromszor 3 éves ciklusban tölthettem be. Így alakult, hogy még kétszeri megválasztás után kilenc évig vezettem a bizottságot. Mint committee chair, tagja lettem a FEBS Executive Committee-nek, amelynek hagyományosan három meghatározó tagja van: a Secretary General, a Treasurer és a Publications Committee elnöke. Az utóbbi magyarázata, hogy a FEBS folyóiratainak nagy szerepe van a FEBS arculatának alakításában és a bevételei biztosítják FEBS programjai, ösztöndíjai, kurzusai, kongresszusai és

működése költségeinek fedezetét.

Itt megemlítem röviden, hogy mik is történtek a bizottsági elnökségem kilenc éve alatt. A FEBS-nek négy folyóirata van: az előfizetéses FEBS Journal, a FEBS Letters, valamint a szabadon hozzáférhető Molecular Oncology és a FEBS Open Bio. Éppen az utóbbi elindítása volt az első feladat, de ezzel párhuzamosan a másik három folyóiratot is sikerült megerősíteni. Kilenc év alatt mind a négy folyóiratnak új főszerkesztője lett, több mint 120 új szerkesztőbizottsági tagot neveztünk ki, melyből negyvenen nők. Amikor átvettem a bizottság elnöki tisztjét, a FEBS folyóiratokat két kiadóval - a FEBS Journal-t a Wiley-val, a másik hármat az Elsevier-rel - közösen adtuk ki. 2015-ben úgy alakult, hogy mindkét kiadóval kötött korábbi megállapodásaink egy időben jártak le. Ekkor a négy folyóiratot magába foglaló új kiadói megállapodásra verseny pályázatot hirdettünk meg, amelyet végül a Wiley nyert meg. Elértük, hogy a hosszú távú (ez esetben 8 éves) megállapodás miatt a FEBS igen nagy összegű „alírási bónuszt” kapott. Ezen túlmenően sikerült olyan egyezséget kötni, hogy a FEBS évente - függetlenül az előfizetések és az open access APC-k bevételeitől - garantáltan igen tekintélyes forráshoz jutott, illetve a bevétel több mint $\frac{3}{4}$ része is a FEBS-é legyen.

A folyóiratok tulajdonosa a FEBS, mely meghatározza az Editorial Board-ok összetételét és a folyóiratok irányvonalát, míg a technikai háttérért és a marketing feladatokért a kiadó felel. Amikor a négy folyóirat egy kiadóhoz került, létrehoztuk a FEBS Press platformot, ami azokat szorosán összekapcsolta. Ekkor született meg a közös új szlogen: „*science publishing by scientists*”, mely megtalálható mind a négy folyóirat logójában, egyértelművé téve, hogy nem a kiadói nyereség a publikálás mozgatórugója.

A folyóiratok szerkesztőségei több városban működtek, így a FEBS Letters Heidelbergben, a Molecular Oncology Koppenhágában, a FEBS Journal és a FEBS Open Bio Cambridge-ben. A szerkesztőségi munkatársak napi összehangolt irányítására 2019-ben létrehoztuk a FEBS Publisher pozíciót, így a FEBS Press menedzsment, a szakmai képzések és előmenetek koordinálása, továbbá a közös minőségbiztosítás egy kézbe kerültek.

A Wiley-val kötött szerződés kezdeményezésemre támogatta a FEBS Network platform létrehozását, ami sokkal több, mint egy klasszikus értelemben működő honlap. Nyitott, interaktív funkciói vannak, számos FEBS tevékenységhez

kapcsolódik - például a fiatal kutatói aktivitásokhoz, a biokémia oktatás kérdéseihez, a tudomány és társadalom kapcsolatának témaköreihez, a tudományos intézmények világához, és minden nemzeti biokémiai társaságnak lehet önálló „digitális szobája” a Network-ön belül. FEBS Network munkabizottságot indítottam el, amely mostanra a FEBS hivatalos Working Group-jai egyike lett.

A Diplôme d'Honneur az önkéntes nemzetközi tudománypolitikai tevékenység egyedi tudományos társasági elismerése, így különleges helyet foglal el a kitüntetések között. Megtisztelő lehetőség volt a FEBS-ért 15 évig dolgozni és megvalósítani a kitűzött célokat.

Jelen interjú apropója, hogy e nagy presztízsű kitüntetését tegyük ismertté a biokémikus közösség előtt és a fellelhető ismereteken túl ismertessük kivételesen nagyívű kutatási és oktatási pályájának, valamint tudomány- és oktatásszervezési tevékenységének hátterét a kezdetektől napjainkig. Megtudhatjuk, hogy mi motiválta az orvosi pálya választását? Milyen szerepet játszott ebben a család, a középiskola, esetleg személyes példamutatás a környezetében?

Édesapám körzeti orvos volt Hernádnémetiben (Miskolc közelében), ahol születtem. Az Ő példája, szolgálata meghatározó volt a pályaválasztásban. Ehhez a sárospataki középiskolai évek erős szakmai felkészülést adtak - ott sok tanáromnak volt egyetemi doktori címe a Debreceni Egyetemről.

Úgy tudjuk, az orvosi diploma megszerzése után rövid ideig praktizált is. Mi készítette mégis arra, hogy kutatói pályára lépjen?

A múlt század hatvanas éveiben az orvosi tanulmányok során még nagyon sok olyan kórképpel találkoztunk, ahol a pathomechanizmusok, a molekuláris hátterek ismeretlenek, a gyógyítás lehetőségei korlátozottak voltak, miközben kezdtek új kutatási megközelítések, lehetőségek és módszerek megjelenni, melyek rám tudományos diákkörösként nagy hatást és vonzerőt gyakoroltak. Fenntartottam egy ideig annak a lehetőségét, hogy gyakorló orvosként dolgozzak. A szülőfalum is kért, hogy később vegyem át édesapám praxisát. Nyaranta egy ideig még helyettesítettem Őt egy-egy hónapra, amikor a Kóréletani Intézetben elkezdtem az egyetemi oktatói-kutatói pályát. Rendszeresen vállaltam hétvégi ügyeket is Hajdúböszörményben. Később a

laboratóriumi szakorvosság kapcsán maradtam közvetlen kapcsolatban a medicinával; 1978-ban Muszbek László vezetésével megalapítottuk a Debreceni Orvostudományi Egyetemen a Központi Klinikai Laboratóriumot (ebből lett később a mai Laboratóriumi Medicina Intézet). Ez előtt nem volt központosított laboratóriumi szolgáltatás, minden klinikának, amelynek szüksége volt erre, saját laboratóriuma volt. Később hat évig a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum vezetője is voltam, mely folyamatos rálátást igényelt a diagnosztikai és a klinikai szakmákra. Így egészen a centrumelnöki feladatom lejártáig, 2007-ig aktív kapcsolatban maradtam a betegellátással miközben haladtam a kutatói pályán.

Kik voltak hatással Önre a kutató- és oktatómunkát illetően hazai tanárai, kollegái közül, valamint külföldi tanulmányútjai során?

A Tudományos Diákköri időszak meghatározta a pályámat, a harmadév után a Kesztyűs Loránd akadémikus vezette Kórélettan Intézetben Muszbek László csoportjában kezdtem el dolgozni; én voltam az első szakköröse egyike. Nála ismertem meg a felfedező kutatás izgalmas világát és tanultam meg a laboratóriumi kutatás alapjait; amellet, hogy állatkísérleteket végeztünk, nagyon erős volt a molekuláris kísérletes háttér is.

A következő meghatározó mentorom Laki Kálmán – korábbi Szent-Györgyi tanítvány – volt. 1976-ban az USA National institutes of Health-ben dolgoztam vele, ahol a „nagy dolgokban” való gondolkodás példája – ami a Szent-Györgyi iskola tradíciója – volt nagy hatással rám. Később két évre, 1983-85-ben visszamentem az NIH-be, Jack Folk laborjába, aki „klasszikus kémikusként” még jobban elmélyítette bennem, hogy minden problémát meg kell tudni „fogni” molekuláris szinten is, és ehhez erős analitikai háttér és tudás szükséges. A szorosan vett molekuláris biológia alapmódszereit pedig Houstonban. a kilencvenes évek eleji vendégprofesszori időszak során, Peter Davies laboratóriumában sajátíthattam el; vele több évtizedes szakmai barátság köt össze.

Melyek azon tudományos eredményei, amelyekre legbüszkébb, illetve amelyeket a legeredetibbnnek tart? Ezzel kapcsolatban merül fel az a kérdés is, hogy kit/kiket tart legkiválóbb tanítványainak?

Az első ilyen eredmény a foszforil-kolin származék, Platelet-activating Factor

(PAF) vékonyréteg kromatográfiával történő preparálása és *in vivo* alkalmazása volt. Ez akkoriban nem volt triviális vállalkozás, de sikerült olyan mennyiségben PAF-ot előállítanunk, amellyel állatkísérleteket végezhattünk. A PAF *in vivo* az anafilaxiás shock hemosztázis tüneteit reprodukálta, anélkül, hogy bármilyen antigén-antitest reakció zajlott volna.

A második fontos eredménynek a fehérjéket keresztkötő transzglutamináz reakció apoptózishoz való kapcsolódásának felismerését tartom. A transzglutamináznak, elsősorban a transzglutamináz 2-nek, több szerepe van apoptotikus sejtekben, egyrészt megakadályozza a makromolekulák kiáramlását, másrészt a fagocitózist segíti elő. Az ide kapcsolódó, évek során elért eredményekben jelentős szerepe volt a kollaborációs munkáknak római kollégákkal, Mauro Piacentinivel és Szondy Zsuzsával az intézetünk keretei között. Transzglutamináz hatást kapcsoltunk cöliákia, neurodegeneráció és gyulladásos kórképekhez. Emellett több érdekes felfedezést tettünk a transzglutamináz 2 szerkezetével kapcsolatban, többek között a kalcium kötő helyei azonosításával. Leírtuk, hogy a transzglutaminázok által keresztkötött fehérjék lebontása után a proteáz rezisztens $\epsilon(\gamma\text{-glutamil})\text{lizin}$ keresztkötés izodipeptidként megjelenik a keringésben, mely trombolízishez, apoptotikus sejthullámhoz kapcsolható. Több más sejthalál formával is foglalkoztunk, felismertük az autofágiás sejthalál inflammaszóma aktiváláson alapuló immunogén hatását. Az utóbbi években fontos molekuláris részleteket tártunk fel a barna zsírsejtek hőtermelésének szabályozásáról.

A tanítványokkal kapcsolatos kérdésre válaszolva én mindegyikükre büszke vagyok. Nagy öröm volt velük dolgozni. Talán ha egy másik irányból közelítjük meg a kérdést, nevezetesen hogy ki jutott eddig pályájuk során a legmesszebbre, megemlíthetem név szerint néhányukat. Az első közvetlen tanítványom Tarcsa Edit volt, aki kémikus-vegyészként került hozzám, jelenleg amerikai gyógyszergyár kutatási igazgatója. Nagy László akadémikus lett, EMBO tag, az egyetemünk és a Johns Hopkins Egyetem egyetemi tanára. Csősz Évát most nevezték ki egyetemi tanárnak. Közel áll ehhez Ambrus Attila is a Semmelweis Egyetem Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében. Goran Petrovski az Oslo Egyetem Szemészeti Klinikájának professzora és a Norwegian Centre for Eye Research vezetője. A fiatalabbak pályájuk korábbi szakaszában járnak; közöttük Kristóf Endre is, aki önálló munkacsoport létrehozása küszöbén áll. Török, indiai és indonéz végzett hallgatóim is jól haladnak szakmai karrierjükben.

Már több mint tíz éve, hogy egyszer az egyik nagy példányszámú napilap keresztretjvényében „magyar biokémikus”-ként a neve szerepelt megoldásként. Amikor elmondtam az intézetemben ezt, egyik kollegám úgy kommentálta, hogy a szakmai elismerésen túl ez jelent igazán országos elismerést. Sokoldalú tevékenysége ismert az egyetemen kutató és oktató kollégák, de még a hallgatók által is. Felmerül a kérdés, minek tartja mégis magát? Biokémikus? Orvos? Kutató? Oktató? Mentor? Pedagógus? Tudománypolitikai szakember?

Az orvos-biokémikus meghatározást tartanám a legegyszerűbbnek és a leginformatívabbnak, tekintve a pályám alakulását és a kutatói szemléletemet – mindig olyan kutatási témák és problémák foglalkoztattak, amelyek a medicinához kapcsolódtak. A biokémikus létnek természetes velejárója a mentorálás és az oktatás. A vezetői, tudománypolitikai tevékenységet mindig az adott feladathoz kapcsolódóan lehet megítélni, nem évtizedekre szólnak.

A Magyar Tudományos Akadémia Biológia Tudományok Osztályának elnöke, a Magyar Biokémiai Egyesület elnöke, a Debreceni Egyetem rektora, az Európai Biokémiai Egyesületek Szövetsége (FEBS) Végrehajtó Testületének tagja, a Publikációs Bizottság, majd a Network Munkacsoport elnöke is volt. Emellett számos szakmai bizottság aktív elnökeként is tevékenykedett. És akkor még meg sem említettük, hogy mindezek mellett családapa és ma már nagyapa is. Hogyan tudta összeegyeztetni munkáját a szakmai és családi elvárásokkal? Mit tart tevékenységeiben legnagyobb eredményének?

A kérdés első részére könnyebb válaszolnom. A stabil családi háttérnek – akármit is csinál az ember – alapvető meghatározó szerepe van. Feleségemmel közeledünk az 50. házassági évfordulóhoz; az Ő általa biztosított háttér nélkül az oktató-kutató munka mellett nem lehetett volna ilyen súlyú feladatokat párhuzamosan vállalnom. És mindig meg kell határozni a prioritásokat. A családom mindig az első volt, a három gyermekem felnevelése, révbe juttatása; mára mindannyian sikeres emberek a pályájukon, és született öt unokám. Második prioritásként korán elhatároztam, hogy a vezetői funkciók vállalása mellett sem hagyom abba a tudományos munkát és az oktatást; témavezetésemmel 22 PhD értekezés született az évtizedek során.

Amikor vállaltam vezetői feladatokat, soha nem maga a tisztség, hanem az motivált, hogy tudok-e az adott pozícióban, helyzetben valami újat és előre vivőt tenni. A Debreceni Egyetem megalakulásakor, 2000-ben a független

intézmények zökkenőmentes integrációja nagy kihívás volt rektorként számomra. Később, 2007-ben azért vállaltam újra rektori megbízást, mert abban az időben jelentős beruházásokat lehetett végig vinni, a minőségi tudományos munka kereteit tudtuk jelentősen bővíteni. Az Orvos és Egészségtudományi Centrum új szerveződési forma volt, amelyet amerikai mintára hoztunk létre, amelyben egyesíteni és együtt jelentősen fejleszteni tudtuk az orvos-, fogorvos, gyógyszerész, népegészségügyi és egészségügyi képzéseket és a jól menedzselt klinikai betegellátást, az igényes kutatómunkát. Sok olyan dolgot tudtunk megvalósítani, melyekben abban az időben úttörők voltunk Magyarországon. Amikor a Magyar Akkreditációs Bizottság (MAB) elnöke voltam, a MAB non-profit szervezeti és működési modellváltást hajtott végre, jelentős programokat indított el.

A Magyar Biokémiai Egyesületben 2005-ben igény jelentkezett a nagy hagyományú társaság dinamizálására. Újra elkezdtük a Vándorgyűléseket megszervezni, majd a Molekuláris Élettudományi Konferenciákat a genetikusokkal és a sejtbiológusokkal együtt. Ekkor indítottuk el a FEBS3+ Konferenciákat a horvát és a szlovén társegyesületekkel közösen. Fontos változás volt, hogy a konferenciákon átálltunk angol nyelvre; egyértelművé vált, hogy a magyar tudományos élet nemzetközivé vált. A Magyar Tudományos Akadémián, amikor a Tudományetikai Bizottság elnöke lettem, még nem volt Etikai Kódex; ezt ebben az időszakban szerkesztésemmel elkészítettük. Bekerültem az All European Academies (ALLEA) keretei között kiadott „The European Code of Conduct for Research Integrity” szerzői csapatába.

A FEBS esetében is látszott – ahogy korábban elmondtam – hogy 2010-2020 között olyan időszakban voltunk, amikor bőven volt lehetőség progresszív változások elérésére, új elképzelések megvalósítására a Publikációs Bizottság keretei között. Itt jegyzem meg, hogy ezekben az években sorra kerültek be magyar biokémikusok a FEBS bizottságaiba. Ekkor zajlott le a FEBS-ben is sokszor emlegetett „László” hullám; Vértessy Beátán kívül – aki az Advanced Courses Committee tagja, majd elnöke lett - Nagy László az Advanced Courses, Patthy László a Publications, Buday László és Nyitray László a Fellowships, Dux László az Education Committee aktív tagja volt.

A Debreceni Egyetem rektoraként és a Biokémia és Molekuláris Biológia Intézet igazgatójaként kiemelt szerepe volt új típusú képzések, így pl. a molekuláris biológus képzés hazai elindításában. Hogyan látja a jövőt? Hogyan tudunk

alkalmazkodni a jelen és a jövő elvárásaihoz és kihívásaihoz? Hogyan tudunk tehetséges fiatalokat vonzani e tudományterületre?

Annak idején, a 90-es évek elején, a molekuláris biológus képzés elindítását Világbanki pályázat tette lehetővé. Sikerült több karon átívelő programot összeállítanunk Debrecenben. Fontos szempont volt a molekuláris élettudományokban a kutatói utánpótlás biztosítása. Az első évfolyamokban végzettek közül többen már vezető pozíciót töltenek be az egyetemen. Akkor a molekuláris biológia tudományágnak komoly vonzereje volt és át tudtunk állni a *bachelor-master* rendszerre is, így lépéselőnybe kerültünk a többi intézménnyel és képzési területtel összehasonlítva, ahol erre bő tíz évvel később került sor. Debrecenben egyébként hagyománya van az „új” iránt fogékony fiatalok számára speciális képzési programokat összeállítani. A másik jó példa erre az orvosi-diagnosztikai analitikus képzés, ahonnan szintén jönnek tehetséges fiatalok a kutatói pályára.

A fiatalok vonzásának receptje egyértelmű; nagyon korán meg kell találni azokat a tehetséges hallgatókat, akiknek megvan a tudomány iránti affinitásuk és érdeklődésük. A szakkollégiumok, az igényes és jó hírű Tudományos Diákkörök nagyon korán be tudják hozni a legjobbakat a kutató laboratóriumokba. Ezeket fenn kell tudni tartani és igényesen művelni, ahogy az napjainkban is történik a környezetemben. Ez azonban nem lesz elegendő a jövőben. A kutatás-támogatások elnyerésére irányuló mostani nagy verseny időszakában a tehetséges és eredményes fiatal kutatókra való hangsúlyos figyelemnek, külön támogatásuknak, megtartásuknak óriási jelentősége van. Ha ez nem történik meg, negatívan vissza fog hatni az egész rendszerre.

Tudjuk, hogy ma is aktív. Professor emeritusként részt vesz az oktatásban és a kutatócsoport munkájában is. A Doktori Iskolában még ma is vezeti a doktoranduszok felvételi eljárását és még témavezetőként is aktív. Milyen tervei és céljai vannak még az oktatás és kutatás területén, esetleg az egyetemi és akadémiai közélet formálásában?

Realistának kell lenni életünk utolsó szakaszában. Szeptemberben veszem át aranydiplomámat, 50 éve végeztünk az egyetemen. Augusztus végén volt a védése az utolsó két PhD hallgatónak. Az általam elindított Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskolában továbbra is szívesen tevékenykedem, mint tisztségviselő; széles spektrumú, aktív Doktori Iskola, melyet igyekszek továbbra is

támogatni. Továbbra is segítem a sejtbiokémiai kutatócsoportot. Folytatódik a tevékenységem a FEBS Financial Commitee-ben, illetve az ALLEA Tudományetikai Bizottságában.

Sokat foglalkozom mostanában egyetemtörténettel. 2010-ben alapítottam a Gerundium egyetemtörténeti folyóiratot, mely egyre inkább nemzetközivé is válik; hiánypótló Magyarországon és a közép-kelet-európai régióban. Annak idején alapító főszerkesztő voltam, később kevesebb időm volt rá, most újra több energiát fordítok a folyóiraatra. Visszatértem Sárospatakra, középiskolám városába is. A Comenius Társaságnak vagyok a tiszteletbeli elnöke (Comeniust a Rákócziak vitték Sárospatakra, nevéhez fűződik az oktatás korszerűsítése). Tavaly megalapítottuk sárospataki székhellyel a Teleki József Akadémiai Klubot; Zemplén tudományos értékeit gondozzuk, különböző rendezvényekkel és kiadványokkal. Teleki József az MTA első elnöke volt, miközben a Sárospataki Református Kollégium főgondnoki feladatait is ellátta.

Gondolkozom azon, hogy a velem történekről - beleértve a családot, az egyetemet és az akadémiai világot – valamiféle reflexiót adjak; akár könyv formájában is.

Az interjút készítette:

*Erdődi Ferenc DE, Orvosi Vegytani Intézet
Lontay Beáta DE, Orvosi Vegytani Intézet
Kristóf Endre DE, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet*

EGY SZERENCSES KUTATÓI PÁLYAFUTÁS

Gallyas Ferenc
Pécsi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet



Meglehetősen szerencsés embernek tartom magam. Ugyan szerencsejátékokban ez egyáltalán nem nyilvánul meg, de fontos dolgokban többnyire pozitívan alakulnak alakultak a dolgaim. Az idei Biokémiai Vándorgyűlésen például az a hatalmas megtiszteltetés ért, hogy én vehettem át az Egyesület legrangosabb tudományos kitüntetését, a Tankó Béla díjat, amelyet ezúton is nagyon köszönök a Magyar Biokémiai Egyesület Intéző Bizottságának. A szerencsének jelentős szerepe volt abban, hogy egyáltalán szóba kerülhessek, mint díjazott.

Gimnáziumi tanulmányaim során orvosnak készültem. Bár akkor ezt csapásként fogtam fel, biológia tanárom szerencsére elégedetlen volt az órai aktivitásommal, és noha a jegyeim alapján ötösre álltam, négyesre zárt le harmadikban. Akkoriban (1979) egy jó egyetemre csak maximális vitt pontszámmal lehetett bejutni. A kémia jól ment, így végül az Eötvös Lóránd Tudományegyetem vegyész szakára kerültem 11 hónapos, akkoriban kötelező katonai szolgálat után. A vegyészképzést (utólag) nagyon jónak találtam. Rengeteg gyakorlatunk volt, amelyek során meglehetősen ósdi műszereket használtunk. Így viszont megtanultuk a műszerek és a mérések elvét, a problémamegoldás alapjait. Menet közben az is kialakult, hogy mi az, ami érdekel. Biokémia irányba szakosodtam, választott tárgyként élettant és bioorganikus kémiát hallgattam. Diplomamunkámat Friedrich Péternél, az MTA SZBK Enzimológiai Intézetben végeztem tanulás és memória témakörben [1]. Tudományos pályafutásom meghatározó élménye volt az a másfél év. Tudományt és életfilozófiát tanultam Pétertől; együtt dolgoztam többek közt Dombrádi Viktorral, Tompa Péterrel, Dévay Piroskával; heti rendszerességgel fociztam Patthy Lacival és Vonderviszt Ferivel (akivel utána Japánban, Tsukubában is összefutottam).

Sajnos az Enzimológián nem volt állás, így végzés után (1985-ben) a Richter Gedeon Nyrt., akkori nevén Kőbányai Gyógyszergyár Farmakológiai Kutató Központjában helyezkedtem el Dr. Kiss Béla laborjában. A témám a neurotranszmitter-felszabadulást befolyásoló vegyületek tanulmányozása volt. Ismét

rengeteget tanultam, többek közt elsajátítottam monoamin neurotranszmitterek biológiai mintákból nagynyomású folyadék-kromatográfia elektrokémiai detektálással (HPLC-ED) történő meghatározásának technikáját és a patkány agy regionális anatómiáját. Tapasztalt gyógyszerfejlesztő kutatókkal, mint Kiss Béla, Laszlovszky István, Erdő Sándor dolgoztam egy laborban, szorosan együttműködtünk Szombathelyi Zsolttal és Farkas Sándorral, akikkel később szintén Japánban töltöttünk együtt hosszabb-rövidebb időt (ha nem is egy intézményben), és megismerkedtem olyan vezetőkkel, mint Kárpáti Egon, Szpornyi László, Arányi Péter. Nagyon jó volt a Richterben, a fizetés is sokkal magasabb volt, mint az akadémiai szférában, csak akkoriban vidékiként nem lehetett lakáshoz jutni Budapesten, és mivel közben megnősültem, három év gyógyszergyári tapasztalat után célszerűnek látszott hazaköltözni Pécsre.

Az egyetlen szóba jöhető intézményben, az akkori Pécsi Orvostudományi Egyetemen egyik korábbi témámat sem tudtam folytatni. A frissen alakult Biotechnológia Fejlesztő Laboratóriumban helyezkedtem el, ahol antitestek fluoreszcens jelölése lett a feladatom. A történet megértése érdekében itt közbe kell vetnem, hogy a Biotechnológiai Fejlesztő Laboratórium akkoriban még gyakorlatilag egy spin-off cég volt, amely pályázati pénzekből (elsősorban Országos Műszaki Fejlesztési Bizottság pályázatokból) tartotta fenn magát, beleértve a kollégák fizetését is. Így aztán nem sok kárt tettem a témámban, mert először utolért a hadsereg a kötelező katonai szolgálat hátralévő hat hónapjának letöltésére, utána pedig a labor vezetője, Németh Péter az USA-ba ment kétéves tanulmányútra. Ez engem annyiban érintett, hogy a fizetésem megspórolása érdekében áttessékeltek a Biokémiai Intézetbe Sümegi Balázs helyettesítő állására. Balázs ugyanis éppen szintén az USA-ba ment kétéves tanulmányútra. Kissé kacskaringós úton, többnyire a körülmények nyomására, ámde hatalmas szerencsémre így kerültem abba az intézetbe, ahol azóta is dolgozom.

Mint Balázs helyettese, elkezdtem beletanulni a biokémia oktatásába és ismerkedtem az ott használt technikákkal. Szerencsémre Kispál Gyula felkarolt, tanítgatott rekombináns géntechnológiai metodikákat. Az Ő nyomására írtam meg egyetemi doktori dolgozatomat az Enzimológián és a Richterben elért eredményeimből. Én ugyan ágáltam, hogy a két téma merőben más, és önmagában egyik sem elég egy doktori dolgozathoz, de Gyula felhívta a figyelmemet az „és” kötőszó jelentőségére, így profitálhattam korábbi tudományos tevékenységeimből, amennyiben 1990-ben megszereztem az

egyetemi doktori címet. Az időzítés rendkívül szerencsésnek bizonyult, mert ezáltal (egy kis csúsztatással) megfeleltem a Japán Science and Technology Agency (STA) posztdoktori ösztöndíj feltételeinek.

Első japán ösztöndíjamat Baló Józsefnek (a Baló betegség névadójának), Pálffy Györgynek (a POTE Neurológiai Klinika akkori igazgatójának) és édesapámnak köszönhetem. A japán National Institute of Neuroscience (NIN) egyik igazgatójának, Takeshi Tabira professzornak ugyanis éppen volt egy STA ösztöndíj lehetősége, és szüksége volt valakire, aki neurotranszmittereket tud mérni HPLC-ED technikával. Barátja, Pálffy György, aki édesapámon keresztül tudta, hogy evvel foglalkoztam három évig a Richterben, engem ajánlott. Baló József úgy jön a képbe, hogy egyetlen beteg alapján a világon elsőként írta le a koncentrikus szklerózis betegségét, amely Európában nem, kizárólag a Távol-Keleten fordul elő. Az említett egyetlen beteg egy első világháborús magyar hadifogoly volt, aki a szibériai fogság alatt megkapta a betegséget, megszökött és hazatért Magyarországra. Tabira professzor mindebből azt szűrte le, hogy minden magyar zseni, ezért engem választott egy svéd jelölttel szemben. A feladatom immortalizált neuronális sejt vonalak neurokémiai jellemzése volt, ami teljes mértékben sikerült is. Japánban nagyon fejlett a műszerezettség, sok pénzt fordítanak a tudományra, a kutatók rengeteget dolgoznak; az egyik ok, amiért nem érnek el olyan átütő sikereket a tudományban mint a világgazdaságban, az információ feudálisan hierarchikus áramlása. A főnök nem attól főnök, mert ő a legokosabb, hanem attól, hogy a kutatók egymással nem, kizárólag vele beszélnek. Ugyanabban a laborban azonos téma más-más aspektusán dolgozó két kutató akkor tudja meg, hogy a másik milyen eredményre jutott, ha a másik közöl, vagy a főnök megmondja neki. Szerencsére hamar átláttam, hogy külföldiként elnézik nekem, ha nem követem a szabályokat, és elkezdtem laterális együttműködések kialakítani. Ebben közrejátszott, hogy Tabira professzor öt évet töltött az USA-ban, így toleránsabb volt az átlag japán főnöknél (Farkas Sanyi tudna az ellenkezőjéről mesélni). Lényeg a lényeg, a hivatalos témám átlagos eredménnyel zárult (két év alatt 7 cikk, 14,9 impakt, 89 hivatkozás). Ezzel szemben az eddigi legtöbbet idézett cikk, amelyben szerzőként szerepeltem (J.Biol.Chem. 1993, 403 hivatkozás) [2], egy ilyen laterális együttműködés eredménye volt.

Hazatérésem után rutamycin rezisztens sejt vonal klónozásába kezdtem nem sok sikerrel, és közben igyekeztem visszakerülni Japánba. Ez végül egy OTKA Fiatal Kutatói Ösztöndíj segítségével három évvel később (1995) sikerült. Közben,

mivel a szükséges publikációs és egyéb feltételeknek megfelelttem, az egyetemi doktori fokozatomat sikerült PhD-re átminősíteni. Sajnos a japán árszínvonal miatt a másfél éves ösztöndíj csak fél évre biztosította a megélhetést, de szerencsére sikerült egy Center of Excellence, majd egy Japan Health Science ösztöndíj segítségével kitölteni a tervezett időt. Második tanulmányutam a posta „jóvoltából” majdnem teljes kudarcba fulladt, ugyanis a hazaküldött mintáimat, amelyek immunhisztokémiáját itthon kellett volna befejeznem, sikerült fejjel lefelé szállítani a számos, jól olvasható „fejreállítani tilos” felirat ellenére, így azok használhatatlanná szaradtak.

Sümegei Balázst még a második japán tanulmányutam előtt, 1994-ben nevezték ki igazgatónak a Biokémiai Intézetbe, amely hazatérésemkor is kislétszámú, gyenge felszereltségű volt. Balázs rendkívül dinamikus állt neki az intézet fejlesztésének. A korábban művelt, mitokondriális enzimek működésével kapcsolatos témák mellé bekerült a poly(ADP-ribóz) polimeráz gátlószereinek (PARPi) kifejlesztése és hatásainak kutatása különböző betegségmodelleken. Sikerült szorgalmas, tehetséges PhD hallgatókat bevonni az Intézetbe, így az eredmények is elkezdtek akkumulálódni. Mostanáig több mint száz zsűrizett közleményem jelent meg, amelyekre több mint háromezer hivatkozás érkezett. Két új, a mitokondriális sejthalált befolyásoló gént azonosítottunk és jellemeztünk [3, 4], elsőként írtuk le a PARP aktiváció extranukleáris hatásait [5-8], jellemeztük az új antidiabetikum-jelölt BGP-15 cito- és kardioprotektivitását [9, 10], növényi polifenolok mitokondriális- és sejtvédő hatását [11-14], valamint kifejlesztettünk és karakterizáltunk több, elsősorban rákterápiás potenciált mutató kismolekulát [15-18]. Mindezekben a projekteknél Balázssal nagyon hatékony párt alkottunk. Balázs hihetetlenül kreatív volt, naponta több ötlettel állt elő, míg én igyekeztem a földön tartani, és praktikus szempontokat is figyelembe venni egy-egy kísérlet megtervezésekor. Továbbá, amennyiben Balázs hipotézisét sikerült egy „quick and dirty” kísérlettel valószínűsíteni, többnyire az én feladatomból volt a szisztematikus utómunkákat levezényelni, amihez Balázsnak nem volt türelme. Korábbi kapcsolataimnak hála én is hozzá tudtam járulni az Intézet által művelt témák köréhez; például a mitokondriális permeabilitás vizsgálatokat egy Kiss Bélával folytatott együttműködés kapcsán állítottuk be. A Richter anyag vizsgálatából ugyan nem jött ki semmi, de a mitokondriális permeabilitás tranzíciós cikkeink többszáz hivatkozást hoztak [19]. A megnövekedett tudományos aktivitásnak köszönhetően tudtam habilitálni, és 2000-ben kineveztek egyetemi docensnek.

A PARP téma kapcsán együttműködést alakítottunk ki Szabó Csabával, aki az Inotek Pharmaceuticals gyógyszerfejlesztő cégben humán terápiában használható PARPi kifejlesztésével foglalkozott. 2001-ben egy hónapot el is töltöttem Beverly-ben (MA, USA), a cég kutatóintézetében többek közt azzal a nem-titkolt céllal, hogy következő tervezett tanulmányutamhoz fogadó intézetet keressek magamnak. A szakmai elképzelések mellett szempont volt az is, hogy a gyermekeim (Bence és Luca, akkor 12 ill. 9 éves) megtanuljanak angolul. Ennek a rövid látogatásnak a legfontosabb hozadéka az volt, hogy baráti kapcsolatba kerültem Virág Lacival, aki szintén Beverlyben volt Csabánál egy hosszabb tanulmányúton. Ugyan sikerült négy fogadó-hajlandóságot mutató intézetet is találnom, a családom nem akart az USA-ba menni mondván, hogy túl messze van; így végül az Egyesült Királyságba mentünk (2002-ben) két évre egy Wellcome Trust ösztöndíjjal. A Bristol Egyetem Anatómiai Intézet Neuronális Plaszticitás Kutatóközpontjába kerültem. Főnököm, Molnár Elek, Freund Tamáshoz hasonlóan Somogyi Péternél tanult Oxfordban, és kainát receptorokkal foglalkozott. Itt konfokális fluoreszcens mikroszkópiás, valamint primer neuronális sejt kultúrás gyakorlatot szereztem, és sikerült kimutatnom, hogy a nagy affinitású kainát receptor alegységek csak kis affinitású alegységgel alkotott heterodimer komplex formájában kerülnek ki a sejtfelületre [19]. A Kutatóközpont leghíresebb, többek között Agy-díjjal (Brain Prize) kitüntetett kutatójával, Graham Collingridge-zsel ugyan nem dolgoztam együtt, de többször fociztam vele (amikor éppen nem síelt, akarom mondani, kutatott Kanadában).

Egy tragikus autóbaleset következtében, hazatérésem után én lettem az Intézet második embere. Ugyanis Kispál Gyulát - aki akkora tudós volt, hogy 2003-ban bekövetkezett halála után három évvel is Ő volt a PTE második legtöbbet idézett kutatója, és aki társszerzőként szerepel német együttműködő partnere, Ronald Lill két 2017-es J. Biol. Chem. közleményben - sajnos elvesztettük. Elkezdtem felfelé lépkedni az egyetemi ranglétrán. Tantárgyfelelős és intézetvezető helyettes lettem, néhány évig másodállásban elláttam a Természettudományi Kar Sporttudományi Intézetében a Sportbiológiai Tanszék vezetését (ahol biokémiát is oktattam). A graduális oktatás mellett a kezdetektől részt vettem a posztgraduális képzésben is. Nyolc hallgatóm szerzett PhD fokozatot, jelenleg 3 hallgató munkáját irányítom és vezetője vagyok az Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskolának. 2006-tól a PTE ÁOK Angol Programbizottság titkára, 2014-től az elnöki teendőit is elláttam, ellátom. 2008-ban szereztem meg az MTA doktori címet és 2010-ben neveztek ki professzornak. Az említett okokból kifolyólag én voltam a legalkalmasabb, hogy 2017-ben

átvegyem Balázstól (aki 65 éves lett) a Biokémiai Intézet vezetését, amely közben nagy intézetté terebélyesedett többek közt azért, mert 2002-ben összevonták az Orvosi Kémiai Intézettel.

A tudományos közéletben is egyre több feladatot kaptam. A Magyar Biokémiai Társaságnak 1992-től tagja vagyok, 2006-2020 között területi képviselőként tagja voltam a vezetőségnek. 2013-óta vezetőségi tagja vagyok a European Section of the International Academy of Cardiovascular Sciences társaságnak. 2010-2013 OTKA Molekuláris Biológia és Molekuláris Interakciók Zsúri, 2014-től a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj Kuratóriuma, 2017-től az MTA Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Tudományos Bizottság tagja voltam, vagyok. Tagja vagyok a Biokémia (2009-től), a PLoS One (2010-től, 2014-től Section Editor), Cancers (2020-tól) és a PeerJ (2020-tól) folyóiratok szerkesztőbizottságának. Számos tudományos folyóiratnak, hazai és külföldi tudományos szervezetnek alapítványoknak végzek bírálói tevékenységet, 2006-óta vagyok pályázati Uniós szakértő. Témavezetőként öt nagy (több száz milliós) és hét kis (1-20 milliós) pályázatot, valamint hét kutatói ösztöndíjat nyertem. A Tankó Béla díjon kívül két jelentősebb díjat kaptam, mindkettőt a International Academy of Cardiovascular Sciences kanadai társaságtól (2013-ban és 2017-ben).

Meggyőződésem, hogy számos környezeti feltétel pozitívan hatott tudományos életutamra. Karrierem kezdetén nem voltak még komoly számítógépek, se internet, ezért rengeteget olvastam, nem csak a közvetlen témámba vágó dolgokat. Ennek eredményeként elég széles tudományos alapkultúrára tettem szert. Gyenge volt a műszerezettség, és a beszerzés nagyon körülményes volt, ezért kreativitásra volt szükségem, ha valamit meg akartam csinálni. A tudományos pálya vonzerejéhez akkoriban az is hozzájárult, hogy az átlagemberhez képest lényegesen nagyobb szabadságot biztosított, beleértve a külföldi tanulmányutak lehetőségét. Friedrich Péter azt mondta, hogy a tudós a legszerencsésebb ember, mert fizetést kap azért, hogy a hobbiját csinálja. Mindenkinek azt kívánom, hogy így tudjon a hivatására tekinteni.

Irodalomjegyzék

- [1] Friedrich, P., Gallyas, F.Jr. (1989) Cyclic AMP influences protein synthesis in larval brains of *Drosophila melanogaster*. *Acta Biochim Biophys Hung*, **24**: 61-68.
- [2] Masuda, S., Nagao, M., Takahata, K., Konishi, Y., Gallyas, F.Jr., Tabira, T., Sasaki R. (1993): Functional Erythropoietin receptor of the cells with neural

- characteristics. *J Biol Chem*, **268(15)**: 11208-11216.
- [3] Szigeti, A, Bellyei, S, Gasz, B., Boronkai, A., Hocsak, E., Minik, O., Bogнар, Z., Varbiro, G., Sumegi, B., Gallyas, F.Jr. (2006) Induction of necrotic cell death and mitochondrial permeabilization by heme binding protein 2/SOUL. *FEBS Lett*, **580(27)**: 6447-54.
- [4] Bellyei, S., Szigeti, A., Boronkai, A., Pozsgai, E., Gomori, E., Melegh, B., Janaky, T., Bogнар, Z., Hocsak, E., Sumegi, B., Gallyas, F.Jr. (2007) Inhibition of cell death by a novel 16.2 kD heat shock protein predominantly via Hsp90 mediated lipid rafts stabilization and Akt activation pathway. *Apoptosis*, **12(1)**: 97-112.
- [5] Tapodi, A., Debreceni, B., Hanto, K., Bogнар, Z., Wittmann, I., Gallyas, F.Jr, Varbiro, G., Sumegi, B. (2005) Pivotal role of Akt activation in mitochondrial protection and cell survival by poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibition in oxidative stress. *J Biol Chem*, **280(42)**: 35767-75.
- [6] Racz, B., Hanto, K., Tapodi, A., Solti, I., Kalman, N., Jakus, P., Kovacs, K., Debreceni, B., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B. (2010) Regulation of MKP-1 expression and MAPK activation by PARP-1 in oxidative stress: A new mechanism for the cytoplasmic effect of PARP-1 activation. *Free Radic Biol Med*, **49(12)**: 1978-88.
- [7] Hocsak, E., Szabo, V., Kalman, N., Antus, C., Cseh, A., Sumegi, K., Eros, K., Hegedus, Z., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B., Racz, B. (2017) PARP inhibition protects mitochondria and reduces ROS production via PARP-1-ATF4-MKP-1-MAPK retrograde pathway. *Free Radic Biol Med*, **108**: 770-784.
- [8] Tapodi, A., Bogнар, Z., Szabo, C., Gallyas, F., Sumegi, B., Hocsak, E. (2019) PARP inhibition induces Akt-mediated cytoprotective effects through the formation of a mitochondria-targeted phospho-ATM-NEMO-Akt-mTOR signalosome. *Biochem Pharmacol*, **162**: 98-108.
- [9] Horvath, O., Ordog, K., Bruszt, K., Deres, L., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B., Toth, K., Halmosi, R. (2021) BGP-15 Protects against heart failure by enhanced mitochondrial biogenesis and decreased fibrotic remodelling in spontaneously hypertensive rats. *Oxid Med Cell Longev*, 2021: 6643871.
- [10] Horvath, O., Ordog, K., Bruszt, K., Kalman, N., Kovacs, D., Radnai, B., Gallyas, F., Toth, K., Halmosi, R., Deres, L. (2021) Modulation of mitochondrial quality control processes by BGP-15 in oxidative stress scenarios: From cell culture to heart failure. *Oxid Med Cell Longev*, **2021**: 1250858.
- [11] Palfi, A., Bartha, E., Copf, L., Mark, L., Gallyas, F.Jr, Veres, B., Kalman, E., Pajor, L., Toth, K., Ohmacht, R., Sumegi, B. (2009) Alcohol-free red wine

- inhibits isoproterenol-induced cardiac remodeling in rats by the regulation of Akt1 and protein kinase C alpha/beta II. *J Nutr Biochem*, **20(6)**: 418-25.
- [12] Radnai, B., Tucsek, Z., Bogнар, Z., Antus, C., Mark, L., Berente, Z., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B., Veres, B. (2009) Ferulaldehyde, a water-soluble degradation product of polyphenols, inhibits the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in mice. *J Nutr*, **139(2)**: 291-7.
- [13] Tucsek, Z., Radnai, B., Racz, B., Debreceni, B., Priber, J.K., Dolowschiak, T., Palkovics, T., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B., Veres, B. (2011) Suppressing LPS-induced early signal transduction in macrophages by a polyphenol degradation product: A critical role of MKP-1. *J Leukoc Biol*, **89(1)**: 105-11.
- [14] Bogнар, E., Sarszegi, Z., Szabo, A., Debreceni, B., Kalman, N., Tucsek, Z., Sumegi, B., Gallyas, F.Jr. (2013) Antioxidant and anti-inflammatory effects in RAW264.7 macrophages of malvidin, a major red wine polyphenol. *PLoS One*, **8(6)**: e65355.
- [15] Szabo, A., Balog, M., Mark, L., Montsko, G., Turi, Z., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B., Kalai, T., Hideg, K., Kovacs K. (2011) Induction of mitochondrial destabilization and necrotic cell death by apolar mitochondria-directed SOD mimetics. *Mitochondrion*, **11(3)**: 476-87.
- [16] Isbera, M., Bogнар, B., Gallyas, F., Bényei, A., Jekő, J., Kálai, T. (2021) Syntheses and Study of a Pyrroline Nitroxide Condensed Phospholene Oxide and a Pyrroline Nitroxide Attached Diphenylphosphine. *Molecules*, **26(14)**: 4366.
- [17] Andreidesz, K., Szabo, A., Kovacs, D., Koszegi, B., Bagone, Vantus, V., Vamos, E., Isbera, M., Kalai, T., Bogнар, Z., Kovacs, K., Gallyas, F.Jr. Cytostatic Effect of a Novel Mitochondria-Targeted Pyrroline Nitroxide in Human Breast Cancer Lines. *Int J Mol Sci*, **22(16)**: 9016.
- [18] Gallyas, F.Jr, Ramadan, F.H.J., Andreidesz, K., Hocsak, E., Szabo, A., Tapodi, A., Kiss, G.N., Fekete, K., Bogнар, R., Szanto, A., Bogнар, Z. (2022) Involvement of Mitochondrial Mechanisms and Cyclooxygenase-2 Activation in the Effect of Desethylamidarone on 4T1 Triple-Negative Breast Cancer Line. *Int J Mol Sci*, **23(3)**: 1544.
- [19] Varbiro, G., Veres, B., Gallyas, F.Jr, Sumegi, B. (2001) Direct effect of taxol on free radical formation and mitochondrial permeability transition. *Free Rad Biol Med*, **31(4)**: 548-558.
- [20] Gallyas, F.Jr., Ball, S.M., Molnar, E. (2003) Assembly and cell surface expression of KA-2 subunit-containing kainate receptors. *J Neurochem*, **86(6)**: 1414-1427.

TRANSZEPITHELIÁLIS ELEKTROMOS ELLENÁLLÁS (TRANSEPIHELIAL ELECTRICAL RESISTANCE - TER) MÉRÉSE ÉS A MÉRÉSI MÓDSZERHEZ KAPCSOLÓDÓ FŐBB FIZIKAI JELENSÉGEK

*Tárnoki-Zach Júlia¹, Bősze Szilvia², Czirók András¹
¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar,
Fizikai Intézet, Biológia Fizika Tanszék
²Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, ELKH-ELTE Peptidkémiai
Kutatócsoport, Eötvös Loránd Tudományegyetem,
Természettudományi Kar, Kémiai Intézet*

A szöveti barrierék kísérletes vizsgálata

A szervezetet a külvilágtól, illetve a szervezet belső tereit egymástól biológiai barrierék választják el, melyeket epitél vagy endotél sejtek hoznak létre. Ilyen barrier többek között a légutakat, az emésztőrendszert vagy a szem szaruhártyáját borító hám, a testet borító bőr, az erek falát belülről borító endotél sejtréteg, illetve ennek speciális változata a vér-agy gát. A biológiai barrierék egyrészt fizikai védelmet nyújtanak a külvilág kórokozói ellen, másrészt megakadályozzák a különböző molekulák szabad áramlását a külvilág és a szervezet, illetve a szervezet belső terei között. A barrierék épsége és záródása elengedhetetlen a szervezet egészségének és homeosztázisának fenntartásához [1].

A barrieréket alkotó sejtréteg záródása a sejtek laterális felszínén gyűrűszerűen körbefutó szoros sejtkapcsolatoknak (zonula occludens (ZO), tight junction) köszönhető. Ezeket a sejtkapcsoló struktúrákat claudin, occludin, tricellulin fehérjék, az immunoglobulinokhoz hasonló junkcionális adhéziós molekulák (JAM), valamint ezeket a sejt aktinvázához kötő adaptor fehérjék (ZO-1,-2,-3, szimplekin, cingulin) különböző szövetspecifikus formái alkotják.

A szoros sejtkapcsolatok egyrészt mechanikai kapcsolatokat létesítenek a hámréteg sejtjei között, másrészt megakadályozzák a membránfehérjék mozgását a sejtmembrán apikális és bazális része között. Ez utóbbi lehetővé teszi a sejtpolarizációt: a biokémiai folyamatok térbeli szétválasztását, és ezen belül a transzcelluláris anyagáramlás irányítottságát.

A barrier szövetek szoros sejtkapcsolatai diffúziós gátként az epitélium típusától függő mértékben korlátozzák a nagyobb vízoldékony molekulák és az ionok paracelluláris útját, ezzel elektromos barrieret – szigetelő réteget – is képezve [2].

A barrierék a rajtuk keresztül végbemenő transzportfolyamatok szabályozásával nélkülözhetetlen szerepet játszanak a szervezet védelmében és homeosztázisának fenntartásában, ugyanakkor legyőzendő akadályt jelentenek az általuk védett szervek célzott gyógyszeres terápiájában. Ezért a gyógyszerfejlesztések preklinikai szakaszában egy hatóanyag célszövetre gyakorolt hatásának vizsgálata mellett olyan modellek felállítása és használata is szükséges, amelyek segítségével tanulmányozható a hatóanyag átjutása a célszövetet védő biológiai barrieren keresztül.

Az *in vitro* organ-on-chip modellek olyan mikrofluidikai csatornákból, kamrákból és membránokból álló eszközök, melyek sejt mono- illetve kokultúrákkal benépesítve, esetleg extracelluláris mátrix komponensekkel kiegészítve a hagyományos kétdimenziós sejttenyészeteknél a valós fiziológiás viszonyok jobb közelítését adják [3]. Ideális esetben az *in vitro* rendszer paraméterei pontosan és könnyen, egymástól függetlenül változtathatók és reprodukálhatók. Gyógyszerek fejlesztése során ezért megbízható, olcsó, high-throughput megoldást nyújthatnak a hatóanyagok szűrésére a preklinikai kísérletek korai fázisában, és így csökkenthetik a bonyolultabb és költségesebb állatkísérletek számát. A biológiai barrierék jól és könnyen modellezhetőek organ-on-chip rendszerrel [4-7]. Ehhez leggyakrabban transwell kamrákat alkalmaznak, melyek mikrométeres pórusokat tartalmazó membránjára epitél, illetve endotél sejteket ültetnek. A sejtréteg záródása és polarizálódása után egy biológiai barrieret alkot: a teljes folyadékteret a transwell kamrán belüli apikális és az azon kívüli bazolaterális folyadéktérre különíti el.

Mivel a transwell kamrás kísérleti rendszer minősége a barrier réteg épségén múlik, kulcsfontosságú olyan módszereket találni, amelyekkel ez a változékony tulajdonság megfelelően nyomonkövethető. A szoros sejtkapcsolatokat alkotó fehérjék immunjelölésével kvalitatív módon jellemezhető a monolayer sejttenyészet. A kvantitatív jellemzés egy módja, ha radioaktív (pl. C14 izotóp), fluoreszcens (pl. FITC), illetve enzimatis (pl. HRP) markerekkel jelölt molekulák (pl. szacharóz, inulin, mannitol, albumin, dextrán) barrieren való átjutását mérik, és meghatározzák az endoteliális permeabilitási koefficiens [1]. Ezen valamennyire invazív módszerek mellett lehetséges a transepiteliális elektromos ellenállás (transepithelial electrical resistance - TEER) mérése is, amely a sejtrétegen keresztül történő ionáramlás mérésével nagy érzékenységgel, a modellrendszer károsítása nélkül jellemzi a barrier réteg minőségének időbeli alakulását [8, 9].

Ebben az összefoglalóban áttekintjük a TEER mérési módszerhez kapcsolódó főbb fizikai jelenségeket, az ezeket modellező ekvivalens áramköröket, valamint a módszer sejtbiológiai alkalmazását, illetve ennek korlátait.

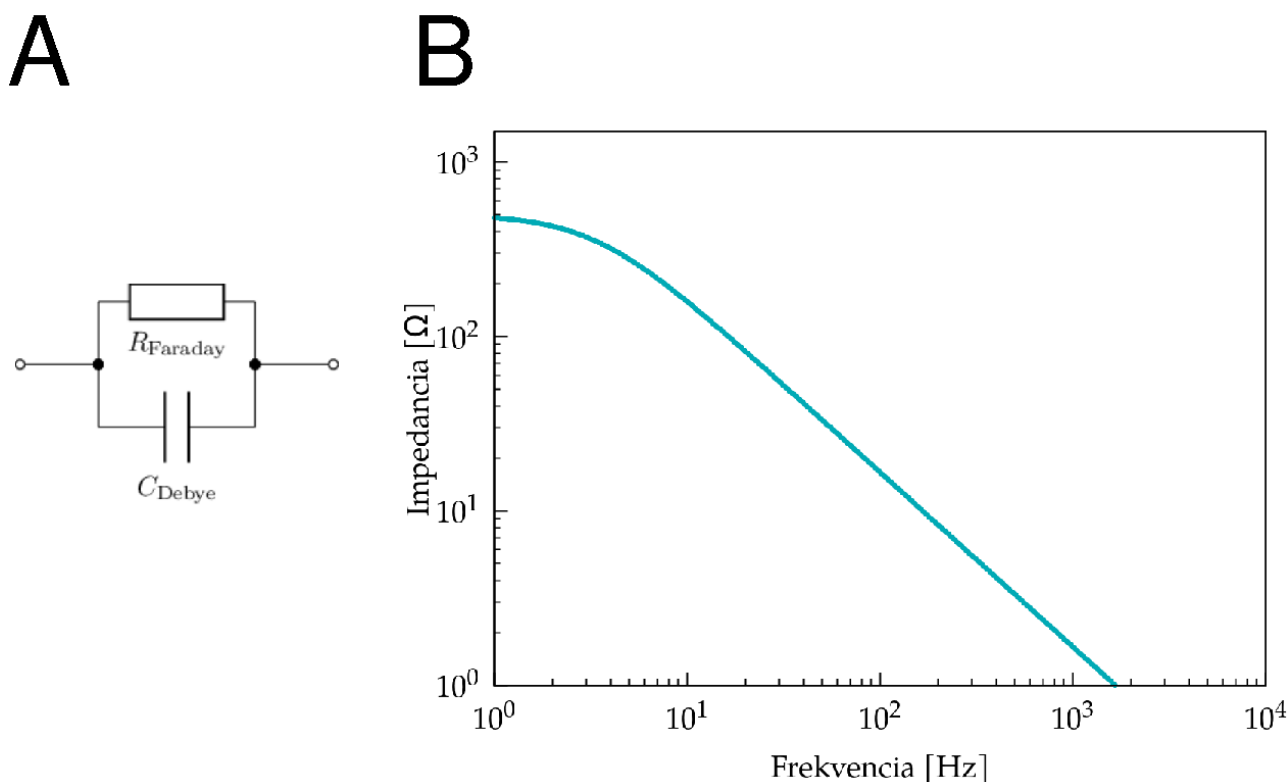
Impedancia spektroszkópia

A sejtrétegek elektromos tulajdonságainak vizsgálatánál figyelembe kell vennünk a mérőrendszer elektrokémiai tulajdonságait, hiszen a biológiai rendszerben folyó ionáram elektromos árammá alakítása az elektródák felszínén történik. A sejttenyésztő médium alapvetően NaCl, NaHCO₃ és KCl szervesetlen sók 169 mM ionerősségű elektrolitja. Ha az elektródák között elektromos potenciálkülönbséget hozunk létre, akkor az elektrolitban megjelenő elektromos tér úgy mozgatja az ionokat, hogy az elektróda felületén, illetve annak közvetlen környezetében kialakul egy árnyékoló ionfelhő. Az ionok töltését megváltoztató redoxi reakciók hiányában a Helmholtz, Gouy, Chapman, Debye és Stern által felállított elmélet az elektródák statikus elektromos potenciáljának teljes árnyékolását jósolja, az ionerősségtől függő Debye mérettartományon kívül [10]. A Debye hossz fiziológiás sóoldatra vagy szövettenyésztő médiumra 0,8 nm, vagyis a sejtek mikrométeres méretéhez képest elhanyagolható.

Az elektrolit-elektroda rendszer tehát hasonlóan viselkedik mint egy kondenzátor: feszültségváltozás hatására az elektrolitban meginduló ionáramok egyre kisebbek lesznek, majd stacionárius állapotban eltűnnek. Az elektronikában használt dielektrikum kondenzátorban az elektromos teret a dielektrikum polarizációja (a pozitív és negatív töltések molekuláris mérettartományban történő elmozdulása) árnyékolja le, az elektrolit-elektroda rendszerben az ionok elmozdulása jelentősebb, az elektródák elektromos töltéseit az elektróda felszínén és annak közvetlen közelében összegyűlt ionok kompenzálják. Adott kémiai összetételű elektróda és elektrolit esetén a kettősréteg kapacitását az elektróda felszínének területe határozza meg, szokásos értéke 10-100 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ [11]. Bár a kondenzátorok egyenáramot nem vezetnek, váltófeszültség hatására az elektródák töltése és így az elektrolit ionfelhői is periodikusan változnak - így a rendszer váltóáramú vezetőképessége pozitív és frekvenciafüggő. Ennek jellemzésére a váltóáramú ellenállás frekvenciafüggését, az impedancia spektrumot használjuk.

Az elektróda felszínéhez kapcsolódó ionok, töltésüktől függően, elektronokat vehetnek fel vagy adnak le az elektródán. Az elektróda felszínén végbemenő elektron átadás egy kémiai reakció, aminek Erdey-Grúz, Butler és Volmer által

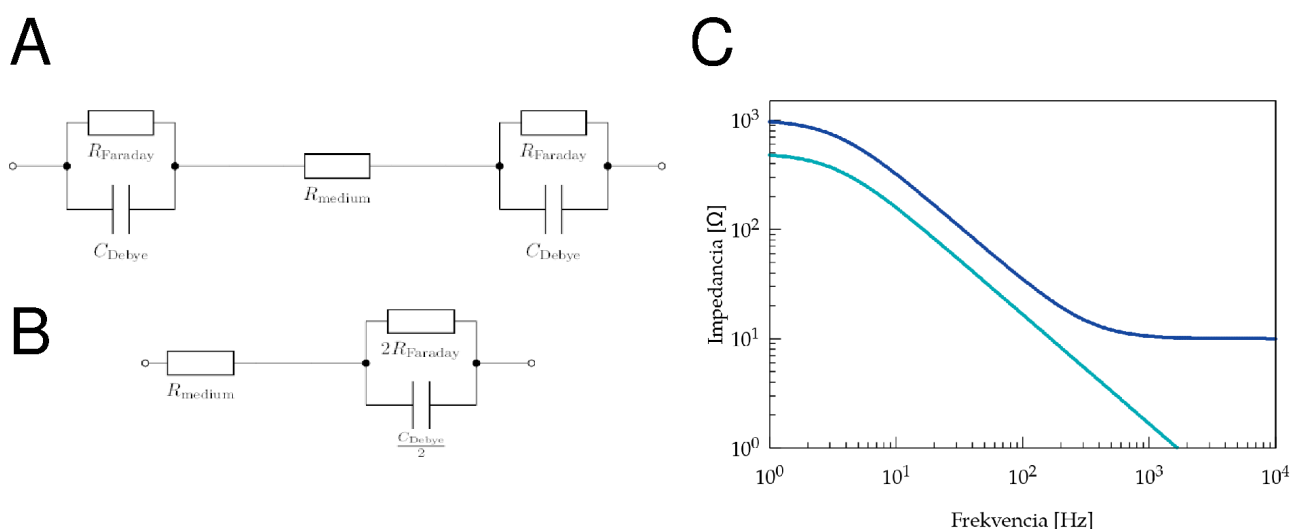
felállított kinetikája határozza meg az áram erősségét [11].



1. ábra. Az elektrolitba helyezett elektródák körül kialakuló kettősréteg és az elektródák felszínén zajló redoxi reakciók megjelenése az elektróda - elektrolit rendszer váltóáramú ellenállásában. **A)** Elektromos potenciálkülönbség hatására az elektrolit ionjaiból az elektródákat árnyékoló kettősréteg épül fel, ez a folyamat egy kondenzátor viselkedésével modellezhető (C_{Debye}), míg az elektródák felszínén zajló redoxi reakciók egy, a kondenzátorral párhuzamosan kötött ellenállással ($R_{Faraday}$) vehetők figyelembe. **B)** Ezeket a jelenségeket leíró ekvivalens áramkör impedancia spektrumát magas frekvenciákon a kondenzátor rövidzárként való viselkedése szabja meg, míg alacsonyabb frekvenciákon az eredő impedancia egyre inkább megközelíti $R_{Faraday}$ értékét. Az ábrán látható esetben $R_{Faraday} = 500 \Omega$, $C_{Debye} = 600 \mu F$.

Egy ideális, ún. *polarizálódó* elektróda felületén végtelenül lassan zajlanak a redoxi reakciók, ezért az egyenfeszültség hatására létrejött elektromos kettősréteg stabil, az elektróda-elektrolit rendszer egy kondenzátornak tekinthető. Egy ideális, ún. *nem polarizálódó* elektródán az elektrokémiai reakciók végtelenül gyorsan lezajlanak, így nem marad fenn a kettősréteg - az ilyen elektróda felszín rövidzárnak tekinthető az áramkör és az elektrolit között. A valódi elektródák a két véglet között helyezkednek el: a polarizáció létrehozása után az áram nem tűnik el teljesen, stacionárius értékét az elektróda felszínén végbemenő redoxi reakciók határozzák meg. Ennek a rendszernek az elektromos modelljében a kettősréteg (Debye) kondenzátorral párhuzamosan van kötve az elektróda redoxi folyamatait modellező (Faraday)

ellenállás (1. ábra). Az áramkör impedanciáját alacsony, egyenáramhoz hasonló frekvenciákon a Faraday ellenállás értéke határozza meg, mert a kondenzátor szakadásként viselkedik. A frekvenciát növelve a kettősréteg kondenzátor impedanciája egyre jobban csökken, és az áramkör eredő impedanciáját ez határozza meg, ami jóval kisebb lehet, mint a Faraday ellenállás értéke. Azt a frekvenciát, ahol az ellenállás-szerű viselkedés átvált kondenzátorra jellemző viselkedésbe, az ellenállás és a kapacitás szorzatának reciproka, $1/R_{\text{Faraday}} C_{\text{Debye}}$, határozza meg: bármelyiket növelve az átcsapási pont a kisebb frekvenciák felé tolódik.



2. ábra. Az elektróda - elektrolit rendszer Randles modellje. A) A Randles modell ekvivalens áramkörében a két sorosan kapcsolt elektróda viselkedését leíró (párhuzamosan kapcsolt) kettősréteg kapacitás és Farady ellenállás mellett megjelenik az előbbiekkal sorosan kapcsolt elektrolit ellenállás is. **B)** A két elektróda gyakran helyettesíthető egyetlen ekvivalens impedanciájú modell elektródával. **C)** Az elektródán végbemenő folyamatokat jellemző impedancia spektrumon (világoskék görbe) az elektrolit ellenállásának járuléka a magasabb frekvenciatartományban jelenik meg (sötétkék görbe). Az ábrán látható esetben $R_{\text{Faraday}} = 500 \Omega$, $R_{\text{medium}} = 10 \Omega$, $C_{\text{Debye}} = 600 \mu\text{F}$.

A nemesfém elektródák (ezüst, arany, platina, irídium) nem vesznek részt redoxi reakciókban az elektrolitban lévő sókkal, így egyenáramú vezetőképességük kicsi. Ugyanakkor a felületi redoxi reakciók hiánya előnyössé teszi őket biológiai minták vizsgálatára, hiszen nem változtatják meg a tápoldat ionösszetételét. Ha az alkalmazás szükségessé teszi, az elektródák felszíni kezelésével a Faraday ellenállás értéke csökkenthető [12]. A felszíni kezeléseket egy csoportját a fém és só ionokat tartalmazó bevonatok alkotják, mint például az ezüst elektródák esetén az ezüst-klorid bevonat. Az AgCl elektródákon végbemenő reakció megváltoztatja az elektródák környezetében az ionösszetételt: $\text{AgCl} + e = \text{Ag} +$

Cl(-), ami több napos méréseknél a sejtekre toxikus hatású [13], valamint időben növekvő elektróda impedanciát eredményez az elektróda felszínének változása miatt [12]. Az elektródák vezető polimer, pl. poli(3,4-etiléndioxitifén) (PEDOT) vagy nanorészecskéket tartalmazó polisziloxán bevonata is csökkenti a Faraday ellenállás értékét, ami a bevonat reaktív felületnövelő hatásával magyarázható [14].

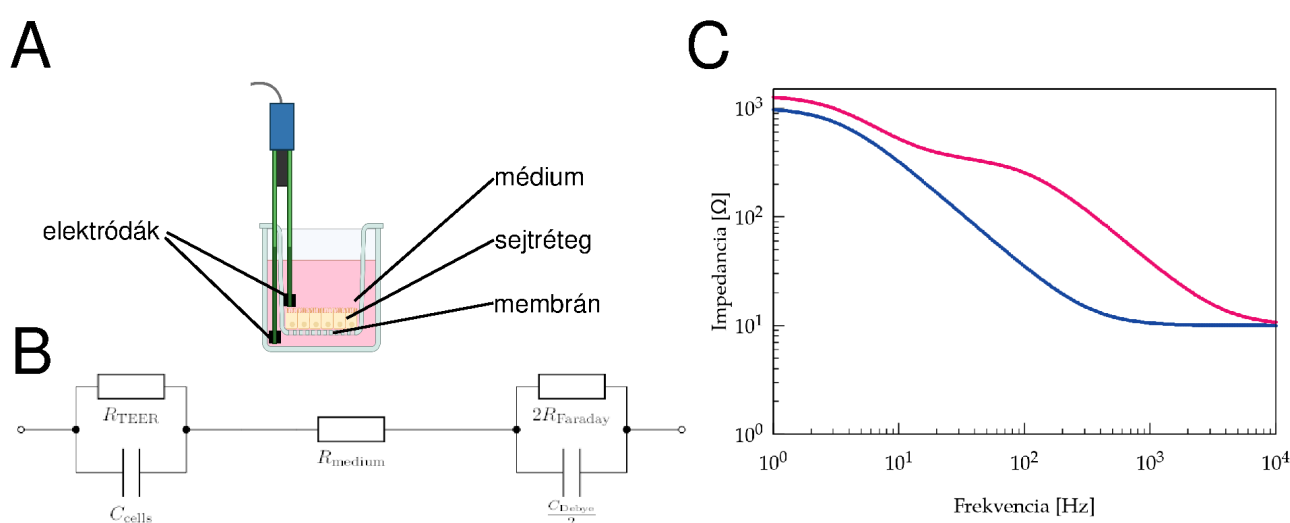
Egy mérőcellánál figyelembe kell még vennünk az elektrolit vezetőképességéből adódó ellenállást és az elektródapár, valamint a víz mint dielektrikum által alkotott kondenzátor kapacitását is [11]. A mérőcella ellenállását, illetve kapacitását az határozza meg, hogy az elektrolitban egy adott potenciálkülönbség mekkora áramot hoz létre, illetve az elektrolit vízmolekuláinak mekkora polarizációját eredményezi. A fent elemzett hatásokkal ellentétben ezek nem az elektróda felszínéhez köthető folyamatok, hanem magát az elektrolitot, illetve az elektródák térbeli elhelyezkedését jellemzik. A több mm távolságra lévő, néhány mm² területű elektródák által alkotott kondenzátor kapacitása pF nagyságrendű (a Millipore MERSSTX01 elektródák kapacitása fiziológias sóoldatban 1,8 pF), ezért az gyakran elhanyagolható a kettősréteg kapacitásához képest. Mivel az elektrolit vezető, tartósan fenntartott potenciálkülönbség egyenáramot hoz létre, ezért az elektrolit ellenállását és az elektródák 1A. ábrán szereplő modelljét a rendszer Randles által javasolt elektromos modelljében sorba kapcsoljuk (2A. ábra). A Randles modell a két sorba kapcsolt elektródát gyakran egyetlen ekvivalens elektródával helyettesíti (2B. ábra), aminek az ellenállás és kapacitás értékeit a kételektródás áramkör eredő impedanciájából határozza meg. Mivel az elektrolit ellenállása sokszor kisebb, mint az elektródák Faraday ellenállása, az elektrolit ellenállása csak nagy frekvenciáknál jelenik meg, ahol az elektróda kettősréteg impedanciája „rövidre zárja” a Faraday ellenállást. Azt a küszöbfrekvenciát, ami felett az elektrolit ellenállása érzékelhető, a Randles áramkör eredő impedanciájában az $1/R_{medium} C_{Faraday}$ kifejezés határozza meg.

Sajnos az elektrolitokról és az elektróda felszínén lezajló folyamatokról az ekvivalens áramkörök csak közelítő képet adnak, részletes vizsgálatokhoz gyakran szükséges további, a hagyományos elektronikai áramkörökre nem jellemző elemek bevezetése is [10].

A kétkamrás TEER mérési elrendezés

Az elektrolit szabad ionáramainak korlátozása megnöveli az elektródákon

mérhető eredő impedanciát. A TEER mérés klasszikus, kétkamrás elrendezésében egy porózus membránt hámsejt réteg borít [15]. A membrán egy, a tenyésztőcsészébe függesztett kamra (transwell insert) alja, ami így a folyadékteret két részre osztja. A kamrán belüli (apikális), illetve a kamrán kívül eső (bazolaterális) folyadéktérben lévő elektródák közti ionáram áthalad a membránon és a membránt borító sejtrétegen. Szövetminták (pl. bél biopsziák) vizsgálatához kialakított Ussing kamrákban nincs porózus membrán, hanem a kamrába megfelelően behelyezett és fenntartott szövetminta két oldalán helyezik el az elektródákat. A berendezés az ellenállás mérésén kívül gyakran a megfelelő hőmérséklet, pH és nyomásviszonyokat is fenntartja [16].



3. ábra. Sejtréteg tulajdonságainak beépítése az ekvivalens áramköri modellben. A) A TEER mérés egy széleskörűen használt elrendezésében a sejtréteg egy tenyésztőedénybe helyezett transwell kamra porózus membránján nő. A transwell kamrán belül és a rajta kívül elhelyezkedő folyadékterek közti ellenállást „chopstick” elektródák mérik, ezek precíz elhelyezése kritikus a mérések reprodukálhatóságához. **B)** Az elektróda - elektrolit rendszer Randles ekvivalens áramköre a sejtréteg járulékaival egészül ki, ami egy a lipidmembránnal határolt sejteket modellező kondenzátor és a sejtek illeszkedésének szorosságát leíró ellenállás párhuzamos kapcsolásaként épül a modellbe. **C)** A sejtréteget modellező áramköri elemek a Randles modellből adódó impedancia görbéhez (sötétkék görbe) képest megemelik az impedancia értékeket az impedancia spektrum középső frekvencia tartományában (piros görbe). Az ábrán látható esetben $R_{Faraday} = 500 \Omega$, $R_{medium} = 10 \Omega$, $R_{TEER} = 300 \Omega$, $C_{Debye} = 600 \mu F$, $C_{cells} = 30 \mu F$.

A sejtréteg elektromos tulajdonságainak leírására az elektródapolarizációt és az elektrolitot modellező Randles áramkört további áramköri elemekkel bővítjük [1, 3, 15, 17]. A sejtek lipidmembránján az ionáramlás erősen korlátozott, ezért időben állandó elektromos térbe helyezve a sejtek alapvetően nagy ellenállásként viselkednek. Az ionok sejten belüli töltéseloszlását azonban az

elektromos tér befolyásolhatja, így az ellenállással párhuzamosan egy kapacitív elem is megjelenik. A sejtek érintkezésénél ezek az elektromos tulajdonságok megváltoznak: az ellenállás általában lecsökken, sőt sérült sejtréteg esetén a médium egy jól vezető hidat is biztosíthat a cella két folyadéktérfogata között. A klasszikus kétkamrás kísérleti összeállítás jellemzésére javasolt számos ekvivalens áramkör [1, 3, 15, 17] közül egy széleskörűen elfogadottat a 4. ábrán mutatunk be. Az áramkör elemzése azt mutatja, hogy a kis és nagy frekvenciákon a sejtek nem adnak számottevő járulékot a mérési elrendezés impedanciájához: alacsony frekvenciákon az áramot alapvetően az elektródapolarizáció korlátozza, míg magas frekvenciákon az összes kondenzátor rövidzárként viselkedik. Egy alkalmasan megválasztott köztes frekvenciatartományban azonban az impedanciaspektrumon a zárt sejtréteg jelenléte kimutatható.

A 3. ábrán látható impedanciaspektrum azonban elég komplex, sokszor nehéz elkülöníteni a sejtek és az elektródák járulékát, különösen akkor, ha az impedanciát csak egyetlen frekvenciánál mérjük. Az elektródapolarizáció azonban nagy mértékben csökkenthető, ha az elektródán nem folyik áram: nyitott áramkör esetén az elektróda és az elektrolit potenciálkülönbsége konstans. Ezért a mérőrendszert két elektródával bővíthetjük. Az áramot az elektrolitba egy polarizálódó elektródán keresztül vezetjük, de az elektrolitban kiépülő feszültségkülönbséget egy nem polarizálódó elektródapárral mérjük [18]. Ez utóbbi elektródák egy nagyon nagy bemeneti ellenállású feszültségmérőhöz vannak kötve, így a rajtuk átfolyó áram elhanyagolható. Az így elhelyezett elektródapárok mért áramerősség, illetve feszültség értékek hányadosaként az elektrolit és a benne elhelyezkedő sejtréteg impedanciája számítható.

Transwell kamrák porózus membránján tenyésztett sejtrétegek TEER méréséhez olyan villa-alakú (chopstick) elektródák terjedtek el, amelyek a két elektróda távolságának rögzítésével állandó értéken tartják a mérőcella R_{medium} ellenállását. Ezek két áramkört tartalmaznak: az elektrolitban folyó áramot egy kis Faraday ellenállású Ag/AgCl elektródapár biztosítja, míg a feszültséget egy redoxi reakcióktól mentes tiszta Ag elektródával mérjük. Az EVOM2 (Texas Instruments) és Millicell ERS-2 (Millipore) rendszerekben az elektródákra 12,5 Hz frekvenciájú négyszögjelet kapcsolnak, aminek hatására az Ag/AgCl elektródákon kb. 10 μA áram folyik.

Sejtek elektróda felszínén

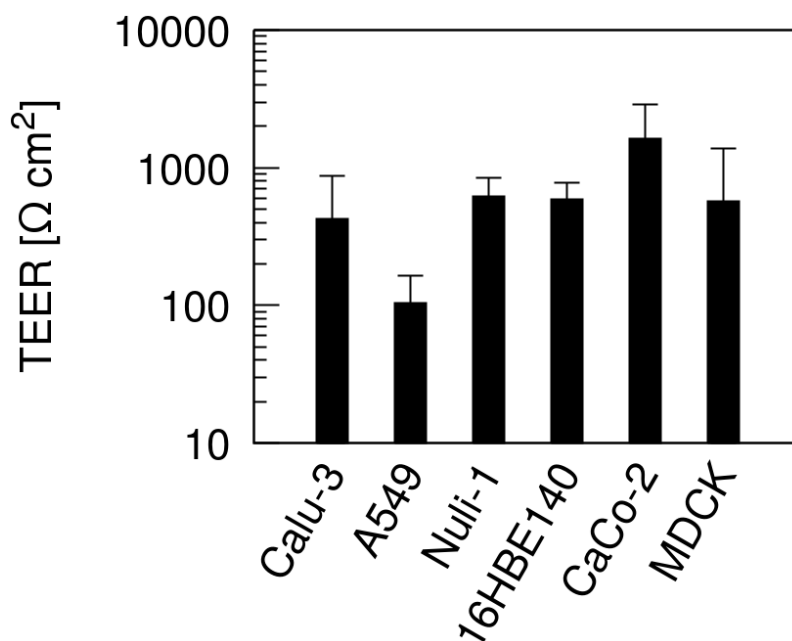
A TEER mérésnek egy, a kétkamrás elrendezéstől különböző változata is lehetséges úgy, hogy a sejtek a tenyésztőfelszínre integrált vagy párologtatott elektródákra helyezkednek el [3, 17]. Ilyen esetekben a sejtek leárnyékolják az elektródák hasznos felszínét, megnövelve ezzel az R_{Faraday} ellenállást, illetve lecsökkentve a C_{Debye} kettősréteg kapacitást. Ezeknek a hatásoknak a figyelembe vételével az elektródák átlagos borítottsága számítható, és időfüggése rögzíthető. Ezt a real-time cell electronic sensing (RT-CES; valós idejű elektronikus sejtérzékelés) módszert gyakran használják sejtproliferáció, toxikus hatások és indukált apoptózis jellemzésére [19]. Finomabb elemzések figyelembe veszik, hogy az elektróda által leadott áram egy része a sejtek és az elektróda közötti vékony elektrolit térfogóban terjed, aminek az eredő vezetőképessége lényegesen függ az elektrolit tér vastagságától. A sejtek „mikromozgása”, azaz a sejtalkak néhány nm-es megváltozása így mérhető sztochasztikus jellegű impedanciaváltozást okoz [20].

Sejtbiológiai alkalmazások

Érdekes módon a kétkamrás TEER méréseknél a konfluens sejttenyészetek impedanciája tág határok között vehet fel értékeket. Ennek hátterében valószínűleg a pozitív töltésű ionok számára átjárható claudinok által képzett szelektív pórusok [28] jelenléte vagy a sejtréteg hibás záródása áll. A sejttenyésztő médium fajlagos vezetőképessége 1,4 S/m, ezért egy egy mikron élhosszúságú folyadékkocka ellenállása a szemközti oldalai között 70 k Ω . Ha feltételezzük, hogy néhány sejt között egy négyzetmikron területű záródási hiba van, és a kiterült sejtek laterális felszíne nagyjából egy mikrométer magas, akkor ezt a 70 k Ω ellenállást kell párhuzamosan kapcsolnunk minden záródási hiba esetén. Ha a porózus membránra ültetett több tízezer sejt közül csak minden tizedik záródási hiba hibás, akkor a párhuzamosan kötött több ezer 70 k Ω -os ellenállások eredője már kevesebb lesz, mint 70 Ω . Összehasonlításképpen, csak a porózus membrán közelítőleg 100 Ω impedanciát jelent a 10 Hz-el hajtott ionáramoknak. Egy jelentős mértékben megemelkedett TEER ellenállás tehát garantálja a sejtréteg záródásának hibamentességét, beleértve a sejtosztódások hiányát és a sejtréteg és a tenyésztőkamra falának szoros illeszkedését is.

Néhány, gyakran használt hámszövet sejtvonal szakirodalomban szereplő, tenyésztési felszínre normált TEER értékeit a 4. ábrán mutatjuk. Egy adott sejtvonalra közölt TEER adatok gyakran eltérnek egymástól, amit a használt mérőműszerek különböző működési elve (pl. használt mérőfrekvencia),

minősége, valamint a TEER értéket befolyásoló számos biológiai tényező magyaráz [1]. Sejtrétegek átvezetésmentes záródásához általában a konfluencián túlmenően hámszövet-specifikus sejtkapcsoló struktúrák szükségesek. Ezek jelenléte és funkciója a legtöbb sejtvonalnál csak alacsony passzázsszámnál és a tenyésztési időszak egy korlátozott részében figyelhető meg, a hosszú távú tenyésztés olyan szelekciós nyomást jelent a sejtvonalakra, ami számos szöveti funkció elvesztéséhez vezet.



4. ábra. Néhány, a barrierréteg modellezésben gyakran alkalmazott sejtvonal TEER értékének átlaga és szórása a szakirodalomban közölt adatokból számítva [1, 7, 21-27].

Egy jellemző példa a vastagbél karcinómából származó Caco-2 sejtvonal, amelynek szakirodalomban szereplő TEER értékei 100 és 4000 Ωcm^2 közé esnek [1]. Egy kísérletsorozatban az alacsony (35-47) passzázsszámú tenyészetekben 450-700 Ωcm^2 TEER értéket mértek, míg a magas passzázsszámú tenyészetekben ez az érték 1100-1500 Ωcm^2 volt, ráadásul az utóbbi csoport tenyészetei rövidebb idő alatt érték el az ellenállásértékük csúcsát [29]. A növekedést azzal hozták összefüggésbe, hogy a kezdetben monolayert alkotó epitél sejtek a többszöri passzáláson (és szelekción) átesve több rétegű tenyészetet hoznak létre, miközben az osztódási rátájuk is megnő. A tenyészetek ilyen mikroevolúciós változása azonban esetleges: más vizsgálatok úgy találták, hogy a TEER érték a 20. és 36. passzálás közt növekszik, a 90. passzálásig stagnál, majd csökken [30, 31].

A hőmérsékletváltozás is képes a TEER értékeket jelentősen befolyásolni. Egyrészt az elektrolit ionjainak mobilitása hőmérsékletfüggő [32], de valószínűleg még jelentősebbek a hőmérsékletváltozás sejtbiológiai hatásai. Hőstressz hatására jelentősen változnak a Caco-2 és MDCK hámrétegek TEER értékei, és az eredeti érték visszaállításához akár 24 óra is szükséges [33]. A változás molekuláris hátterében az áll, hogy egyes sejtkapcsoló fehérjék, így az occludin és ZO-1 expressziója hő sok hatására megnő, illetve lecsökken, valamint sejten belüli eloszlásuk is megváltozik [33].

A TEER érték kísérlet-specifikus megváltozása lehetőséget ad a hámrétegek áteresztőképességének vizsgálatára. A paracelluláris permeabilitás kontrollált megváltoztatására számos lehetőség ismert [2], ezek közül néhány példát említünk. A hisztamin az E-cadherin-függő sejtadhézió csökkentésével növeli a légúti hámréteg permeabilitását [34]. *In vitro* Caco-2 sejtenyészetben az OC90-103 lipopeptid, az occludin egy szintetikus előállított és egy 14 szénatomos lipoaminosavval kiegészített szakasza csökkenti a mért TEER értéket [35]. A *Clostridium perfringens* baktérium enterotoxinjából származó polipeptid (C-CPE) szintén csökkenti a Caco-2 sejtenyészetek TEER értékét, ami a Claudin 4-hez való kötődésével magyarázható [36]. Hasonlóan TEER csökkentő hatásúnak találták az olajsavat [37] és a nátrium dodecil szulfátot (SDS) [38] Caco-2 tenyészeteken. EGTA (etilén-glikol-bisz (β-amino-etil-éter)) hatására primer humán és nyúl légúti epitél sejtenyészetek TEER értéke reverzibilis módon csökkent [39]. Dimetil-béta-ciklodextrin a szoros sejtkapcsolatok nyitásával csökkenti a 16HBE140 sejtenyészet TEER értékét [40].

Hazai tudományos műhelyek

Magyarországon több kutatócsoport is sikerrel használja a barrier rétegek elektromos ellenálláson alapuló jellemzését. Deli Mária és csoportja (Szegedi Biológiai Központ, Biofizikai Intézet, Molekuláris Neurobiológiai Csoport) a vér-agy-gát modellezésére és farmakológiai vizsgálatára dolgozott ki innovatív TEER technikákat [2, 7, 32, 41-46]). Cervenák László (Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika Kutatólaboratóriuma) az endotél réteg áteresztőképességét jellemzi pl. RT-CES alkalmazásával [45-47]. Vecsernyés Miklós (Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar) [44, 48-51], illetve Bősze Szilvia (ELKH-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) és együttműködő partnereik hatóanyagok, hatóanyag- és gyógyszerhordozó-jelöltek transzport folyamatait tanulmányozzák *in vitro* barrier modelleken [52-54].

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az ELTE Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program (NKFIH-1157-8/2019-DT; Emberi Erőforrások Minisztériuma), az ELTE Tematikus Kiválósági Program (Szint+, 2018-1.2.1-NKP-2018-00005, Innovációs és Technológiai Minisztérium), Nemzeti Kiválósági Program- Fehérjetudomány és alkalmazásai nemzeti program 2018-1.2.1-NKP-2018-00005 – HUNPROTEX, a VEKOP-2.3.3-15-2017-00020 (Széchenyi Program), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) OTKA-ANN 132225, valamint az EFOP-1.8.0-VEKOP-17-2017-00001 támogatta. A szerzők köszönettel tartoznak Méhes Előd (ELTE, TTK, Biológiai Fizika Tanszék), Boldizsár Imre (ELTE, TTK, Növény-szervezetan Tanszék), Horváth Lilla Borbála (ELKH-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) kollégáknak.

Irodalomjegyzék

- [1] Srinivasan, B., Kolli, A.R., Esch, M.B., Abaci, H.E., Shuler, M.L., Hickman, J.J. (2015) TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. *J Lab Autom*, **20**: (2) 107-26.
- [2] Deli, M.A. (2009) Potential use of tight junction modulators to reversibly open membranous barriers and improve drug delivery. *Biochim Biophys Acta*, **1788**: (4) 892-910.
- [3] Hassan, Q., Ahmadi, S., Kerman, K. (2020) Recent Advances in Monitoring Cell Behavior Using Cell-Based Impedance Spectroscopy. *Micromachines (Basel)*, **11**: (6).
- [4] Huh, D., Kim, H.J., Fraser, J.P., Shea, D.E., Khan, M., Bahinski, A., Hamilton, G.A., Ingber, D.E. (2013) Microfabrication of human organs-on-chips. *Nat Protoc*, **8**: (11) 2135-57.
- [5] Tárnoki-Zách, J., Mehes, E., Varga-Medveczky, Z., Isai, D.G., Barany, N., Bugyik, E., Revesz, Z., Paku, S., Erdo, F., Czirok, A. (2021) Development and Evaluation of a Human Skin Equivalent in a Semiautomatic Microfluidic Diffusion Chamber. *Pharmaceutics*, **13**: (6).
- [6] Varga-Medveczky, Z., Kocsis, D., Naszlady, M.B., Fónagy, K., Erdő, F. (2021) Skin-on-a-Chip Technology for Testing Transdermal Drug Delivery-Starting Points and Recent Developments. *Pharmaceutics*, **13**: (11).
- [7] Walter, F.R., Valkai, S., Kincses, A., Petneházi, A., Czeller, T., Veszélka, S., Ormos, P., Deli, M.A., Dér, A. (2016) A versatile lab-on-a-chip tool for modeling biological barriers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **222**: 1209-1219.
- [8] Bernas, M.J., Cardoso, F.L., Daley, S.K., Weinand, M.E., Campos, A.R.,

- Ferreira, A.J., Hoying, J.B., Witte, M.H., Brites, D., Persidsky, Y., Ramirez, S.H., Brito, M.A. (2010) Establishment of primary cultures of human brain microvascular endothelial cells to provide an in vitro cellular model of the blood-brain barrier. *Nat Protoc*, **5: (7)** 1265-72.
- [9] Maherally, Z., Fillmore, H.L., Tan, S.L., Tan, S.F., Jassam, S.A., Quack, F.I., Hatherell, K.E., Pilkington, G.J. (2018) Real-time acquisition of transendothelial electrical resistance in an all-human, in vitro, 3-dimensional, blood-brain barrier model exemplifies tight-junction integrity. *Faseb j*, **32: (1)** 168-182.
- [10] Ishai, P.B., Talary, M.S., Caduff, A., Levy, E., Feldman, Y. (2013) Electrode polarization in dielectric measurements: a review. *Measurement Science and Technology*, **24: (10)** 102001.
- [11] Franks, W., Schenker, I., Schmutz, P., Hierlemann, A. (2005) Impedance characterization and modeling of electrodes for biomedical applications. *IEEE Trans Biomed Eng*, **52: (7)** 1295-302.
- [12] Hoffmann, K.P., Ruff, R., Poppendieck, W. (2006) Long-term characterization of electrode materials for surface electrodes in biopotential recording. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, **2006:** 2239-42.
- [13] Jackson, W.F., Duling, B.R. (1983) Toxic effects of silver-silver chloride electrodes on vascular smooth muscle. *Circulation Research*, **53: (1)** 105-108.
- [14] Rossetti, N., Luthra, P., Hagler, J., Jae Lee, A.H., Bodart, C., Li, X., Ducharme, G., Soavi, F., Amilhon, B., Cicoira, F. (2019) Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) Coatings for High-Quality Electromyography Recording. *ACS Appl Bio Mater*, **2: (11)** 5154-5163.
- [15] Gerasimenko, T., Nikulin, S., Zakharova, G., Poloznikov, A., Petrov, V., Baranova, A., Tonevitsky, A. (2019) Impedance Spectroscopy as a Tool for Monitoring Performance in 3D Models of Epithelial Tissues. *Front Bioeng Biotechnol*, **7:** 474.
- [16] Thomson, A., Smart, K., Somerville, M.S., Lauder, S.N., Appanna, G., Horwood, J., Sunder Raj, L., Srivastava, B., Durai, D., Scurr, M.J., Keita Å, V., Gallimore, A.M., Godkin, A. (2019) The Ussing chamber system for measuring intestinal permeability in health and disease. *BMC Gastroenterol*, **19: (1)** 98.
- [17] Arndt, S., Seebach, J., Psathaki, K., Galla, H.J., Wegener, J. (2004) Bioelectrical impedance assay to monitor changes in cell shape during apoptosis. *Biosens Bioelectron*, **19: (6)** 583-94.
- [18] Mazzeo, B.A., Flewitt, A.J. (2007) Two- and four-electrode, wide-

- bandwidth, dielectric spectrometer for conductive liquids: Theory, limitations, and experiment. *Journal of Applied Physics*, **102**: (10) 104106.
- [19] Solly, K., Wang, X., Xu, X., Strulovici, B., Zheng, W. (2004) Application of real-time cell electronic sensing (RT-CES) technology to cell-based assays. *Assay Drug Dev Technol*, **2**: (4) 363-72.
- [20] Giaever, I., Keese, C.R. (1991) Micromotion of mammalian cells measured electrically. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **88**: (17) 7896-900.
- [21] das Neves, J., Notario-Pérez, F., Sarmiento, B. (2021) Women-specific routes of administration for drugs: A critical overview. *Adv Drug Deliv Rev*, **176**: 113865.
- [22] Ehrhardt, C., Kneuer, C., Fiegel, J., Hanes, J., Schaefer, U.F., Kim, K.J., Lehr, C.M. (2002) Influence of apical fluid volume on the development of functional intercellular junctions in the human epithelial cell line 16HBE14o-: implications for the use of this cell line as an in vitro model for bronchial drug absorption studies. *Cell Tissue Res*, **308**: (3) 391-400.
- [23] Forbes, B., Shah, A., Martin, G.P., Lansley, A.B. (2003) The human bronchial epithelial cell line 16HBE14o- as a model system of the airways for studying drug transport. *Int J Pharm*, **257**: (1-2) 161-7.
- [24] Mejía-Pitta, A., Broset, E., de la Fuente-Nunez, C. (2021) Probiotic engineering strategies for the heterologous production of antimicrobial peptides. *Adv Drug Deliv Rev*, **176**: 113863.
- [25] Selo, M.A., Sake, J.A., Kim, K.J., Ehrhardt, C. (2021) In vitro and ex vivo models in inhalation biopharmaceutical research - advances, challenges and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev*, **177**: 113862.
- [26] Shi, Y., Li, R., Yang, J., Li, X. (2020) No tight junctions in tight junction protein-1 expressing HeLa and fibroblast cells. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, **12**: (2) 70-78.
- [27] Yan, W., Banerjee, P., Xu, M., Mukhopadhyay, S., Ip, M., Carrigy, N.B., Lechuga-Ballesteros, D., To, K.K.W., Leung, S.S.Y. (2021) Formulation strategies for bacteriophages to target intracellular bacterial pathogens. *Adv Drug Deliv Rev*, **176**: 113864.
- [28] Günzel, D., Yu, A.S. (2013) Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol Rev*, **93**: (2) 525-69.
- [29] Lu, S., Gough, A.W., Bobrowski, W.F., Stewart, B.H. (1996) Transport properties are not altered across Caco-2 cells with heightened TEER despite underlying physiological and ultrastructural changes. *J Pharm Sci*, **85**: (3) 270-3.

- [30] Briske-Anderson, M.J., Finley, J.W., Newman, S.M. (1997) The influence of culture time and passage number on the morphological and physiological development of Caco-2 cells. *Proc Soc Exp Biol Med*, **214**: (3) 248-57.
- [31] Hughes, P., Marshall, D., Reid, Y., Parkes, H., Gelber, C. (2007) The costs of using unauthenticated, over-passaged cell lines: how much more data do we need? *Biotechniques*, **43**: (5) 575, 577-8, 581-2 passim.
- [32] Vigh, J.P., Kincses, A., Ozgür, B., Walter, F.R., Santa-Maria, A.R., Valkai, S., Vastag, M., Neuhaus, W., Brodin, B., Dér, A., Deli, M.A. (2021) Transendothelial Electrical Resistance Measurement across the Blood-Brain Barrier: A Critical Review of Methods. *Micromachines (Basel)*, **12**: (6).
- [33] Dokladny, K., Zuhl, M.N., Moseley, P.L. (2016) Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise. *J Appl Physiol (1985)*, **120**: (6) 692-701.
- [34] Zabner, J., Winter, M., Excoffon, K.J., Stoltz, D., Ries, D., Shasby, S., Shasby, M. (2003) Histamine alters E-cadherin cell adhesion to increase human airway epithelial permeability. *J Appl Physiol (1985)*, **95**: (1) 394-401.
- [35] Tavelin, S., Hashimoto, K., Malkinson, J., Lazorova, L., Toth, I., Artursson, P. (2003) A new principle for tight junction modulation based on occludin peptides. *Mol Pharmacol*, **64**: (6) 1530-40.
- [36] Masuyama, A., Kondoh, M., Seguchi, H., Takahashi, A., Harada, M., Fujii, M., Mizuguchi, H., Horiguchi, Y., Watanabe, Y. (2005) Role of N-terminal amino acids in the absorption-enhancing effects of the c-terminal fragment of Clostridium perfringens enterotoxin. *J Pharmacol Exp Ther*, **314**: (2) 789-95.
- [37] Sawai, T., Drongowski, R.A., Lampman, R.W., Coran, A.G., Harmon, C.M. (2001) The effect of phospholipids and fatty acids on tight-junction permeability and bacterial translocation. *Pediatr Surg Int*, **17**: (4) 269-74.
- [38] Anderberg, E.K., Nyström, C., Artursson, P. (1992) Epithelial transport of drugs in cell culture. VII: Effects of pharmaceutical surfactant excipients and bile acids on transepithelial permeability in monolayers of human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *J Pharm Sci*, **81**: (9) 879-87.
- [39] Wang, G., Zabner, J., Deering, C., Launspach, J., Shao, J., Bodner, M., Jolly, D.J., Davidson, B.L., McCray, P.B., Jr. (2000) Increasing epithelial junction permeability enhances gene transfer to airway epithelia In vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol*, **22**: (2) 129-38.
- [40] Yang, T., Hussain, A., Paulson, J., Abbruscato, T.J., Ahsan, F. (2004) Cyclodextrins in nasal delivery of low-molecular-weight heparins: in vivo

- and in vitro studies. *Pharm Res*, **21: (7)** 1127-36.
- [41] Santa-Maria, A.R., Heymans, M., Walter, F.R., Culot, M., Gosselet, F., Deli, M.A., Neuhaus, W. (2022) Transport Studies Using Blood-Brain Barrier In Vitro Models: A Critical Review and Guidelines. *Handb Exp Pharmacol*, **273:** 187-204.
- [42] Sato, K., Nakagawa, S., Morofuji, Y., Matsunaga, Y., Fujimoto, T., Watanabe, D., Izumo, T., Niwa, M., Walter, F.R., Vigh, J.P., Santa-Maria, A.R., Deli, M.A., Matsuo, T. (2022) Effects of fasudil on blood-brain barrier integrity. *Fluids Barriers CNS*, **19: (1)** 43.
- [43] Takeshita, T., Nakagawa, S., Tatsumi, R., So, G., Hayashi, K., Tanaka, K., Deli, M.A., Nagata, I., Niwa, M. (2014) Cilostazol attenuates ischemia-reperfusion-induced blood-brain barrier dysfunction enhanced by advanced glycation endproducts via transforming growth factor- β 1 signaling. *Mol Cell Neurosci*, **60:** 1-9.
- [44] Váradi, J., Harazin, A., Fenyvesi, F., Réti-Nagy, K., Gogolák, P., Vámosi, G., Bácskay, I., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Vasvári, G., Róka, E., Haines, D., Deli, M.A., Vecsernyés, M. (2017) Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone Protects against Cytokine-Induced Barrier Damage in Caco-2 Intestinal Epithelial Monolayers. *PLoS One*, **12: (1)** e0170537.
- [45] Walter, F.R., Harazin, A., Tóth, A.E., Veszélka, S., Santa-Maria, A.R., Barna, L., Kincses, A., Biczó, G., Balla, Z., Kui, B., Maléth, J., Cervenak, L., Tubak, V., Kittel, Á., Rakonczay, Z., Jr., Deli, M.A. (2022) Blood-brain barrier dysfunction in L-ornithine induced acute pancreatitis in rats and the direct effect of L-ornithine on cultured brain endothelial cells. *Fluids Barriers CNS*, **19: (1)** 16.
- [46] Walter, F.R., Veszélka, S., Pásztói, M., Péterfi, Z.A., Tóth, A., Rákhely, G., Cervenak, L., Ábrahám, C.S., Deli, M.A. (2015) Tescmilifene modifies brain endothelial functions and opens the blood-brain/blood-glioma barrier. *J Neurochem*, **134: (6)** 1040-54.
- [47] Debreczeni, M.L., Németh, Z., Kajdácsi, E., Schwaner, E., Makó, V., Masszi, A., Doleschall, Z., Rigó, J., Walter, F.R., Deli, M.A., Pál, G., Dobó, J., Gál, P., Cervenak, L. (2019) MASP-1 Increases Endothelial Permeability. *Front Immunol*, **10:** 991.
- [48] Kósa, D., Pető, Á., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Gonda, S., Vasas, G., Fehér, P., Bácskay, I., Ujhelyi, Z. (2021) Formulation of Novel Liquid Crystal (LC) Formulations with Skin-Permeation-Enhancing Abilities of *Plantago lanceolata* (PL) Extract and Their Assessment on HaCaT Cells. *Molecules*, **26: (4)**.

- [49] Sinka, D., Doma, E., Szendi, N., Páll, J., Kósa, D., Pető, Á., Fehér, P., Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Vecsernyés, M., Szűcs, Z., Gonda, S., Cziáky, Z., Kiss-Szikszai, A., Vasas, G., Bácskay, I. (2022) Formulation, Characterization and Permeability Studies of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) Containing Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS). *Molecules*, **27**: (9).
- [50] Ujhelyi, Z., Fenyvesi, F., Váradi, J., Fehér, P., Kiss, T., Veszelka, S., Deli, M., Vecsernyés, M., Bácskay, I. (2012) Evaluation of cytotoxicity of surfactants used in self-micro emulsifying drug delivery systems and their effects on paracellular transport in Caco-2 cell monolayer. *Eur J Pharm Sci*, **47**: (3) 564-73.
- [51] Ujhelyi, Z., Vecsernyés, M., Bácskay, I. (2013) [Study of the effect of surface-active agents on living cells, used as component parts in microemulsions, based on their chemical structures and critical micelle-formative concentration (CMC)]. *Acta Pharm Hung*, **83**: (1) 3-11.
- [52] Baranyai, Z., Biri-Kovács, B., Krátký, M., Szeder, B., Debreczeni, M.L., Budai, J., Kovács, B., Horváth, L., Pári, E., Németh, Z., Cervenak, L., Zsila, F., Méhes, E., Kiss, É., Vinšová, J., Bősze, S. (2021) Cellular Internalization and Inhibition Capacity of New Anti-Glioma Peptide Conjugates: Physicochemical Characterization and Evaluation on Various Monolayer- and 3D-Spheroid-Based in Vitro Platforms. *J Med Chem*, **64**: (6) 2982-3005.
- [53] Borbála Horváth, L., Krátký, M., Pflégr, V., Méhes, E., Gyulai, G., Kohut, G., Babiczky, Á., Biri-Kovács, B., Baranyai, Z., Vinšová, J., Bősze, S. (2022) Host cell targeting of novel antimycobacterial 4-aminosalicylic acid derivatives with tuftsin carrier peptides. *Eur J Pharm Biopharm*, **174**: 111-130.
- [54] Horváti, K., Fodor, K., Pályi, B., Henczkó, J., Balka, G., Gyulai, G., Kiss, É., Biri-Kovács, B., Senoner, Z., Bősze, S. (2021) Novel Assay Platform to Evaluate Intracellular Killing of *Mycobacterium tuberculosis*: In Vitro and In Vivo Validation. *Front Immunol*, **12**: 750496.



Tárnoki-Zách Júlia, PhD hallgató tanulmányait az Eötvös Loránd Tudományegyetemen végezte, ahol 2003-ban szerzett fizikus diplomát, majd orvosi sejtbőlógia szakosító oklevelet kapott a Leuveni Katolikus Egyetemen (UCL) 2005-ben. 2002-ben a Koppenhágai Egyetemen (KU) Erasmus ösztöndíjjal tanult, majd a Kansasi Orvosi Egyetemen (KUMC) szakmai gyakorlaton vett részt. A 2003-as Országos Tudományos Diákköri Konferencián második helyezést ért el. 2013-tól az ELTE Biológiai Fizika tanszékén dolgozik, 2015-től

az ELTE TTK Fizika Doktori Iskola hallgatója. 2021-től részt vesz a Nemzeti Népegészségügyi Központ EFOP-1.8.0-VEKOP-17-2017-00001 E3 munkacsoportjának munkájában. Jelenleg sejttechnológia automatizálását célzó kutatásokat végez.



Bősze Szilvia, PhD, tudományos főmunkatárs kutatómunkáját az ELKH-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportban végzi. 2001 óta a Mikroanalitika laboratórium, 2012-től a Sejtenyésztő és Immunkémiai laboratórium vezetője. Antibakteriális, antivirális és antitumor hatású vegyületek szerkezet – hatás összefüggéseinek vizsgálatával és peptidalapú diagnosztikai reagensek fejlesztésével foglalkozik. Munkája része a hatóanyagjelöltek szelektivitásának és biohasznosíthatóságának növelése, hatóanyag-peptid konjugátumok, nanopartikulumok jellemzése különböző szöveti miliók modellezésére alkalmas *in vitro* és *in vivo* rendszerekben. Részt vesz peptidanalitikai módszerek és *in vitro* modellek kidolgozásában és fejlesztésében



Czirók András, PhD, egyetemi docens az Eötvös Loránd Tudományegyetemen 1996-ban szerzett fizikus diplomát, majd 2000-ben PhD fokozatot. 2014 óta egyetemi docens az Eötvös Loránd Tudományegyetem Biológiai Fizika tanszékén, illetve részállású associate professor a University of Kansas Medical Center Anatómia és Sejtbiológia tanszékén. Kutatómunkájának fókuszában a szövetalkotás biofizikai és szövetmechanikai vonatkozásai vannak, különös tekintettel a sejtkontrakció, sejtmozgás és a sejtközötti állomány kölcsönhatásaira. Szövettenyészeteket automatizált mikroszkópiával, kvantitatív képanalízissel, mechanikai és elektromos mérésekkel vizsgál, matematikai modelleket alkot.

A PATOGÉN ASP76ASN MUTÁCIÓ SZERÉPE A β 2-MIKROGLOBULIN AMILOIDKÉPZÉSÉBEN

Bulyáki Éva
ELTE, TTK, Biokémiai Tanszék
ELTE, Biológia Doktori Iskola, Szerkezeti Biokémia Program
e-mail: evi.bulyaki@gmail.com

Témavezető: Dr. Kardos József

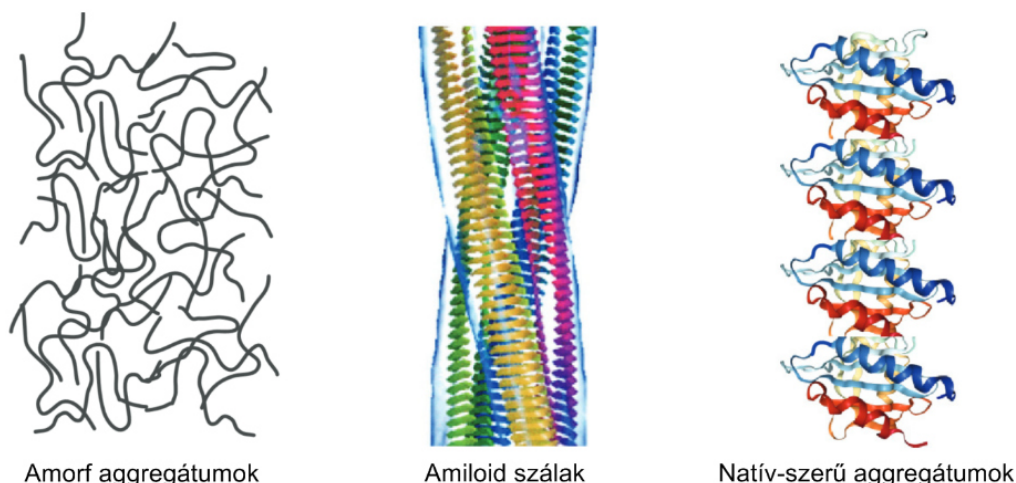
Az amiloid-típusú betegségek jellemzője, hogy a kórosan felhalmozódó, gyakran hibás térszerkezettel rendelkező fehérjék kereszt- β -lemezes szerkezetű fibrillumokat, vagyis amiloid szálakat alakítanak ki, melyek a különböző szervekben (pl. az agyban) lerakódásokat és szöveti léziót okozhatnak. Mára legalább 40 amiloidogén fehérjét és ennél is több amiloid-típusú betegséget ismerünk (pl. Parkinson- és Huntington-kór, 2-es típusú cukorbetegség, familiáris demenciák). Ugyanakkor a tudósok szerint bármely fehérje képes amiloid szálak kialakítására, csak meg kell találni az ehhez szükséges körülményeket [1]. Fontos megjegyezni, hogy nem csak betegséget okozó fehérjeaggregátumok léteznek, hanem ún. funkcionális amiloidok is, melyek előnyösek a sejt számára, pl. Pmel fehérje vagy egyes peptidhormonok [2].

A kutatásunk tárgyát képező β 2-mikroglobulin (β 2m) egy immunglobulin-domént tartozó, 99 aminosavas fehérje, mely az egyes típusú fő hisztokompatibilitási komplex (MHCI) könnyű láncát alkotja [3]. Vad típusú formája hosszú távú hemodialízis esetén képes plakkokat képezni, és lerakódni az oszteoartikuláris (csont ízületi) rendszerben, kialakítva a dialízishez kötődő amiloidózist (DRA) [4]. 2012-ben fedezték fel a fehérje egy másik betegségét, az örökletes szisztémás amiloidózist, amely a β 2m D76N mutációjához kötődik [5]. A két fehérje eltérő amiloidképző tulajdonságokkal bír, és a két betegség is jellegzetes különbségeket mutat (pl. a fehérje szérumbeli koncentrációja, a lerakódások lokalizációja).

A β 2m felszínén számos töltéssel rendelkező oldallánc helyezkedik el, amelyek fontos szerepet töltenek be az MHCI α -láncához történő kötésében, valamint a fehérje natív szerkezetének kialakításában (2A. ábra). Az intramolekulárisan létrejövő töltésklaszterek egyike a D76-K41 ionpár, amely megszűnik a D76N természetes mutánsban.

Munkám során különböző mutánsokat hoztam létre annak vizsgálatára, hogy e

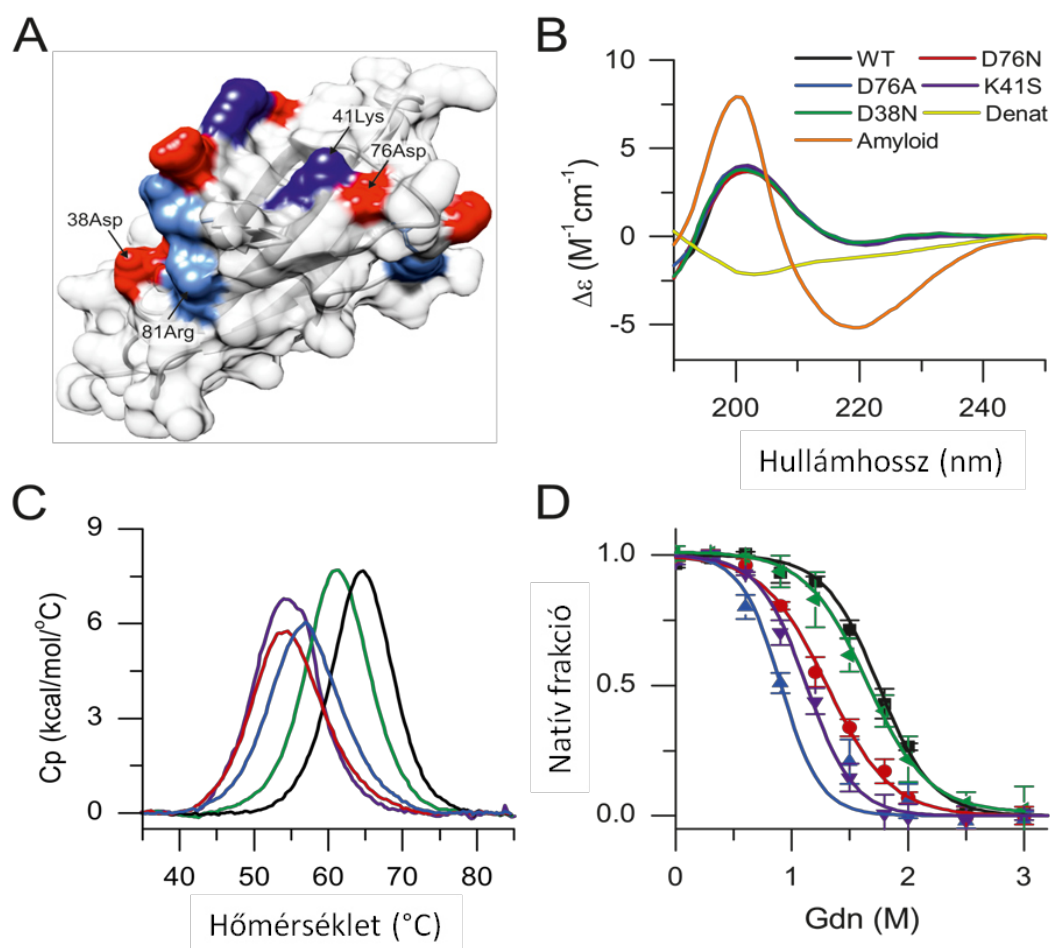
sóhid (D76-K41) hiánya, valamint a kompenzálatlanul maradt felszíni töltések milyen hatással vannak a fehérje stabilitására és amiloidképzésére. A D76N, D76A, K41S és D38N mutánsokat, valamint a vad típusú fehérjét sikeresen előállítottuk *E. coli* expressziós rendszerben, majd tisztítottuk és meggyőződünk a fehérjék natív szerkezetének kialakulásáról (2B. ábra). Vizsgáltuk a fehérjék hő- és kémiai stabilitását, amelynek eredményeként azt kaptuk, hogy az ionpár bármely tagjának hiánya jelentősen destabilizálja a molekulát (2C. és D. ábra). ELISA mérés segítségével sikerült kimutatnunk, hogy a D76N fehérje fokozott affinitást mutat különböző extracelluláris mátrix komponensek felé, mint pl. a kollagén, fibromodulin, oszteoadherin. Ugyanakkor valamennyi $\beta 2m$ molekula fokozottabban kötődik ECM fehérjék és glikózaminoglikánok, proteoglikánok keverékéhez (Maxgel), mely jelenség az irodalomban a vad típusú $\beta 2m$ fehérje esetén részben ismert volt [6, 7].



1. ábra. Az aggregátumok legjellemzőbb típusai. Az amiloid szálak, az amorf és a natív-szerű aggregátumok különböző eredetű (proteolitikus hasítási termék, részlegesen vagy teljesen feltekeredett fehérje) monomerekből, oligomerek kialakulásán keresztül jönnek létre. Az ábra Chiti és Dobson, 2017-es munkája [1] alapján készült.

Kutatócsoportunkban régóta foglalkozunk a DRA esetén emelkedett vérbeli koncentrációt mutató lizofoszfatisav (LPA) jelátvivő molekula $\beta 2m$ monomer és amiloid formára gyakorolt hatásával [4, 8, 9]. Mostani eredményeink alapján elmondható, hogy a mutánsok érzékenyen reagálnak az LPA és alacsony koncentrációjú SDS molekulákra, amelyek feltehetően negatív fejcsoportjukon keresztül lépnek kölcsönhatásba a fehérjékkel. A D76N, D76A és K41S mutánsok szerkezete rövid időskálán, részlegesen felbomlik, ami kedvez az amiloidképződésnek. Előbbi jelenséget a BestSel CD-spektroszkópiai szerkezet-bebecslő algoritmus segítségével is jellemeztük [10], és azt kaptuk, hogy a

molekula jellemzően magas antiparallel-lemez tartalma jelentősen csökken és rendezetlenné válik. Vizsgáltam a mutánsok polimerizációját magokkal indukált és spontán reakciókban, amelyek eredményeként azt találtuk, hogy a mutánsok sokkal amiloidogénebbek, mint a vad típus (WT). Ugyanakkor a D76N, D76A és D38N mutánsok által kialakított szálak stabilabbnak bizonyultak, mint a WT és K41S szálai. D76 mutánsok esetében ezt a stabilitást az alacsonyabb koncentrációjú adalékanyag mellett növesztett szálak is képesek voltak megőrizni. A fiziológias pH-n növesztett szálak „core” régiójának vizsgálata során, melyet limitált proteolízissel és MS analízissel végeztünk, úgy találtuk, hogy ezek az amiloid szálak kiterjedtebb β -szerkezettel rendelkeznek, mint a savas pH-n növesztett fibrillumok [11].



2. ábra. A) Töltésklaszterek a $\beta 2m$ felszínén (piros- negatív, kék-pozitív oldalláncok). **B)** natív WT (wild type) és mutáns $\beta 2m$ monomerek és WT amiloid szál CD spektruma, **C)** monomer $\beta 2m$ hő- és **D)** konformációs stabilitásának vizsgálata. Az ábra Bulyáki és mtársai, *Biology (Basel)* 10(11): 1197 alapján készült.

Feltehetően a D76N $\beta 2m$ által kialakított öröklött szisztémás amiloidózis több tényező együttes eredményeként okoz ilyen patológiás kórképet. Ezen tényezők a D76N monomerek kisebb stabilitása, a fehérje magasabb fokú érzékenysége

a negatív fejcsoporttal rendelkező molekulák, pl. lipidek és extracelluláris mátrix komponensek felé, valamint a hatékonyabb nukleáció és magasabb szálstabilitás.

A doktori dolgozat alapjául szolgáló közlemények

Bulyáki, É., Kun, J., Molnár, T., Papp, A., Micsonai, A., Vadászi, H., Márialigeti, B., Kovács, A., Gellén, G., Yamaguchi, K., Lin, Y., So, M., Józsi, M., Schlosser, G., Lee, Y.-H., Liliom, K., Goto, Y., Kardos, J. (2021). Pathogenic D76N variant of β 2-microglobulin: synergy of diverse effects both in the native and amyloid states. *Biology (Basel)*, **10(11)**: 1197.

Micsonai, A., Wien, F., Bulyáki, É., Kun, J., Moussong, É., Lee, Y.H., Goto, Y., Réfrégiers, M., Kardos, J. (2018). BeStSel: a web server for accurate protein secondary structure prediction and fold recognition from the circular dichroism spectra. *Nucleic Acids Res*, **46(W1)**: W315-W322.

Micsonai, A., Bulyáki, É., & Kardos, J. (2021). BeStSel: From Secondary Structure Analysis to Protein Fold Prediction by Circular Dichroism Spectroscopy. From Secondary Structure Analysis to Protein Fold Prediction by Circular Dichroism Spectroscopy. *Methods In Molecular Biology*, **2199**: 175–189.

Irodalomjegyzék

- [1] Chiti, F. and Dobson, C.M. (2017) Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem*, **86**: 27-68.
- [2] Dobson, C.M. (1999) Protein misfolding, evolution and disease. *Trends Biochem Sci*, **24**: 329-32.
- [3] Li, L., Dong, M., and Wang, X.G. (2016) The Implication and Significance of Beta 2 Microglobulin: A Conservative Multifunctional Regulator. *Chin Med J (Engl)*, **129**: 448-55.
- [4] Pal-Gabor, H., Gombos, L., Micsonai, A., Kovacs, E., Petrik, E., Kovacs, J. et al. (2009) Mechanism of lysophosphatidic acid-induced amyloid fibril formation of beta(2)-microglobulin in vitro under physiological conditions. *Biochemistry*, **48**: 5689-99.
- [5] Valleix, S., Gillmore, J. D., Bridoux, F., Mangione, P. P., Dogan, A., Nedelec, B. et al. (2012) Hereditary systemic amyloidosis due to Asp76Asn variant beta2-microglobulin. *N Engl J Med*, **366**: 2276-83.
- [6] Giorgetti, S., Rossi, A., Mangione, P., Raimondi, S., Marini, S., Stoppini M.,

- (2005) Beta2-microglobulin isoforms display an heterogeneous affinity for type I collagen. *Protein Sci*, **14**: 696-702.
- [7] Sheynis, T., Friediger, A., Xue, W. F., Hellewell, A. L., Tipping, K. W., Hewitt E. W., *et al.* (2013) Aggregation modulators interfere with membrane interactions of beta2-microglobulin fibrils. *Biophys J*, **105**: 745-55.
- [8] Ookoshi, T., Hasegawa, K., Ohhashi, Y., Kimura, H., Takahashi, N., Yoshida, H. *et al.* (2008) Lysophospholipids induce the nucleation and extension of beta2-microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral Ph. *Nephrol Dial Transplant*, **23**: 3247-55.
- [9] Kardos, J., Micsonai, A., Pal-Gabor, H., Petrik, E., Graf, L., Kovacs, J., *et al.* (2011) Reversible heat-induced dissociation of beta2-microglobulin amyloid fibrils. *Biochemistry*, **50**: 3211-20.
- [10] Micsonai, A., Wien, F., Bulyaki, E., Kun, J., Moussong, E., Lee, Y. H., *et al.* (2018) BeStSel: a web server for accurate protein secondary structure prediction and fold recognition from the circular dichroism spectra. *Nucleic Acids Res*, **46**: W315-W322.
- [11] Hoshino, M., Katou, H., Hagihara, Y., Hasegawa, K., Naiki, H., and Goto, Y. (2002) Mapping the core of the beta(2)-microglobulin amyloid fibril by H/D exchange. *Nat Struct Biol*, **9**: 332-6.

AZ SH3-DOMÉNEK FOSZFORILÁCIÓ ÁLTALI ÁLTALÁNOS SZABÁLYOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA ÉS SZEREPÜK A TKS4 FEHERJE INTRAMOLEKULÁRIS KÖLCSÖNHATÁSAIBAN

Merő Balázs László
Természettudományi Kutatóközpont, Enzimológiai Intézet
ELTE Biológia Doktori Iskola, Szerkezeti Biokémia Program
e-mail: mero.balazs@outlook.com

Témavezető: Dr. Buday László

A fehérjehálózatok összehangolt működéséhez szükségesek azok a domének, melyek képesek reverzibilis módon és szabályozottan kötődni meghatározott fehérje szerkezeti elemekhez. Az *Src homology 3* (SH3) domének az egyik leggyakoribb ilyen fehérje alkotóegységek, melyeket a humán proteom több száz fehérjében azonosították már. Ezek a kisméretű globuláris domének gyakorta prolin-gazdag motívumokat ismernek fel és ezáltal szerepük van mind a fehérje-fehérje kapcsolatok, mind pedig az intramolekulás kölcsönhatások kialakításában [1].

A kutatásaink során az SH3-doménekekkel kapcsolatban két főbb kérdést vizsgáltunk:

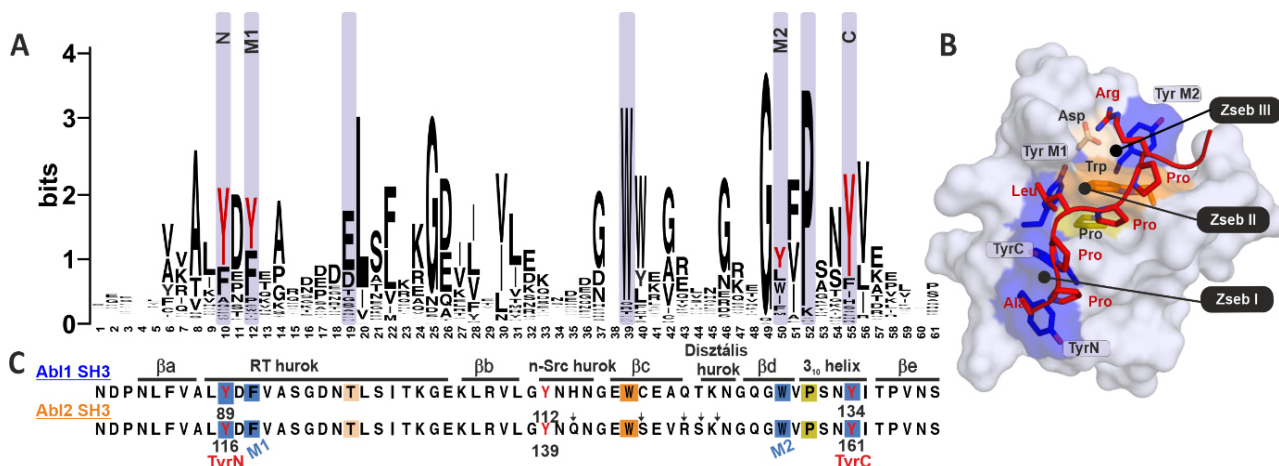
- (1) Mi a funkcionális oka és hatásmechanizmusa az SH3-domének esetében leírt tirozin- (Tyr) foszforilációnak?
- (2) A Tks4 (Tyrosine kinase substrate with four SH3 domains) fehérje SH3-doménjei intramolekuláris kölcsönhatásokon keresztül befolyásolják-e a fehérje konformációját, ezáltal annak lokalizációját?

Az SH3-domének tirozin-foszforilációja

A jelátviteli útvonalakban számos SH3-domén tirozinon foszforilálódik, melynek hatására a domén ligandkötő képessége gátlódik [2]. Ez egy általános jelátviteli szabályozási mechanizmus lehet ezekben az útvonalakban, ugyanakkor átfogó biokémiai és biofizikai módszerekkel kiegészített, részletes szerkezeti vizsgálatokkal korábban nem elemezték ennek a jelentőségét. Ezáltal pedig nem volt ismert, hogy a foszforiláció milyen mértékben és hogyan gátolja a ligandum kötődését, illetve ebben mely tirozin (Tyr) aminosavak vesznek részt.

Az SH3-domének esetében a ligandum megkötése egy aromás aminosavak által szegélyezett hidrofób kötőárokkaal történik (1. ábra). A Phosphosite adatbázisa alapján közel száz különböző humán SH3-domén foszforilációs adatait vizsgálva

úgy találtuk, hogy leggyakrabban a kötőárok felépítésében résztvevő Tyr-ok foszforilálódnak. Ezek közül felettebb sokszor foszforilálódnak a domének szekvenciájának N-terminális (TyrN) és C-terminális (TyrC) végein lévő Tyr-ok (1. ábra).



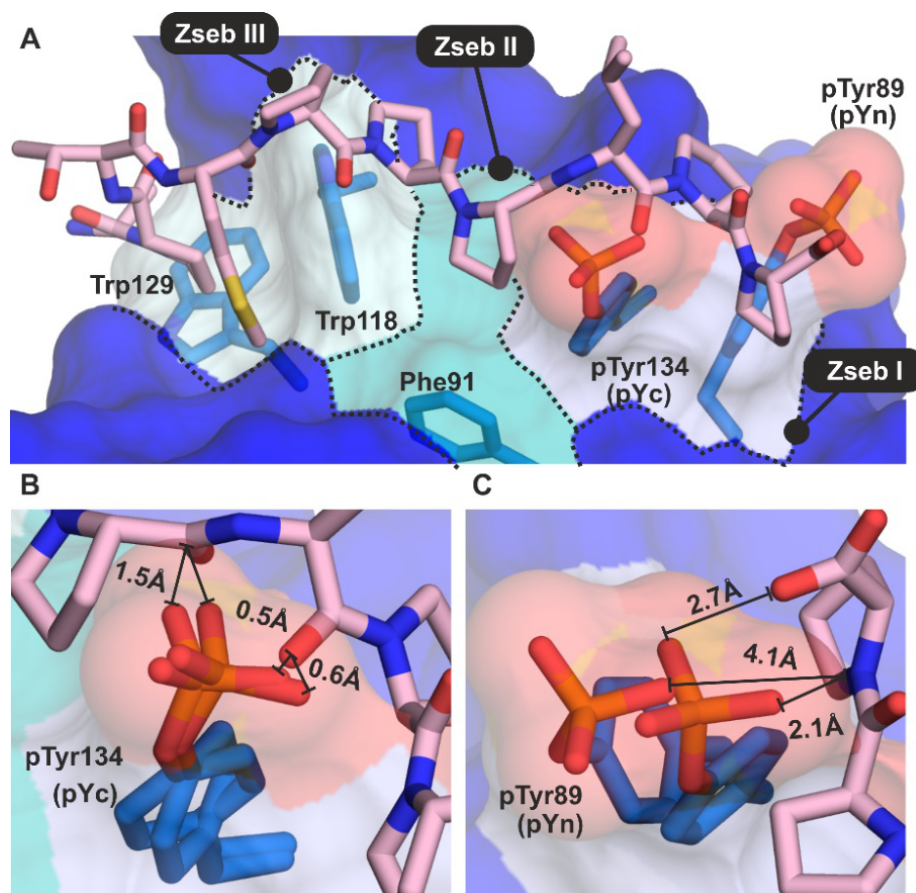
1. ábra. Az SH3 domének foszforilációs helyei a kötőárokban. A) A tirozinon foszforilált humán SH3-domén szekvenciák LOGO ábrája. A ligandumkötő árok konzervált aminosavai szürke háttérrel vannak kiemelve. A négy leggyakoribb Tyr foszforilációs hely (piros Y) az N, M1, M2 és C jelzéssel vannak kiemelve. **B)** Az N, M1, M2 és C pozíciókban lévő Tyr helyzeteinek bemutatása a kötőárokban. **C)** Az Abl1 és az Abl2 fehérje SH3-doménjeinek homológ pozíciói. Forrás: [S1].

A két gyakori foszforiláció tanulmányozására felállítottunk egy *in vitro* foszforilációs módszerrel kombinált expressziós rendszert, mellyel sikerült előállítanunk a fehérje modellként szolgáló Abl1 és Abl2 SH3-domének foszforilált változatait (1. ábra).

A foszforilációnak az Abl SH3-domének ligandummal való megkötésére gyakorolt hatását ismert peptidligandum kötődése alapján tanulmányozva minden esetben ugyanaz a jelenség volt megfigyelhető: a domének kettős foszforilálása, valamint a TyrC foszforilálása teljes mértékben gátolta az Abl1 és Abl2 SH3-domének ligandumkötő képességét. Ugyanakkor annak ellenére, hogy a TyrN a TyrC egymás közelében helyezkedik el a kötőárokban, a TyrN foszforilációja esetében egy nagyon gyenge ligandum-interakció mégis megfigyelhető maradt.

A jelenség magyarázatára végzett szerkezeti kísérletek (NMR- és CD-spektroszkópia, röntgenkristallográfia) alapján a foszforiláció nem okoz a doméneken belül jelentős szerkezeti változást. Viszont a kristallográfia modellek (2. ábra) rávilágítottak arra, hogy a TyrC foszforilcsoportja és a bekötődő ligandum peptidváza között jelentős sztérikus ütközés alakul ki,

melynek hatására lehetetlenné válik a ligandum bekötődése. A TyrN foszforilcsoportja viszont a kötőárok szélén található és abból kifelé mutat, emiatt a peptid kötődéséhez szükséges helyet kevésbé foglalja el, ezáltal maradhat hely a ligandum kötődéséhez. Ugyanakkor a tapasztalt nagyon gyenge kötés alapján az látható, hogy ez közel sem ideális állapot.



2. ábra. A foszforiláció gátló hatásának mechanizmusa. A) A foszforilált Abl1 SH3-peptid kötődésének modellezése. **B)** A TyrC foszforilcsoportja (pTyr134 az Abl1 esetében) két kötőzseb találkozásánál elfoglalja a kötőárkot, így teljesen gátolja a ligandum kötődését. **C)** TyrN foszforilációjakor a ligandummal szterikus ütközések jósolhatók, annak ellenére is, hogy ez a foszforilcsoport (pTyr89 az Abl1 esetében) a kötőárok szélén helyezkedik el és viszonylag flexibilis. A távolságadatok a ligandum egyes atomjai és a közelben lévő, azzal várhatóan ütköző foszforilcsoportok közti távolságot jelölik. Forrás: [S2].

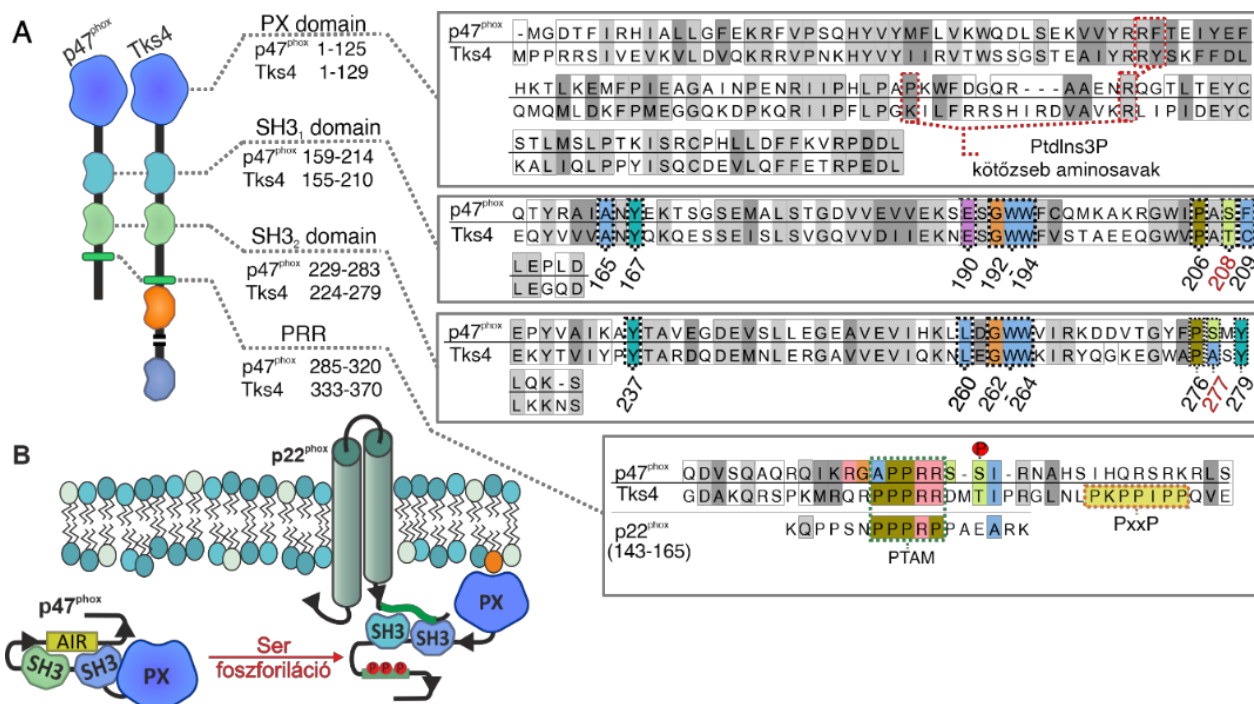
Figyelembe véve, hogy ennek a két Tyr-nak a foszforilációja gyakori az egyes SH3-doménekben, továbbá mind a két aminosav helyzete az SH3-domének nagy részében megegyezik, ezek a megfigyelések általános érvényűek lehetnek, ezáltal pedig számos jelátviteli útvonal szabályozásában szerepük lehet.

Az SH3-domének szerepe a Tks4 SH3-doménjei intramolekuláris kölcsönhatásaiban

Az állványfehérjék találkozási platformot biztosítanak a fehérjék számára, így

kulcsfontosságú szerepük van a jelátviteli útvonalakban. Az EGF jelátviteli útvonalban résztvevő Tks4 állványfehérjét egy foszfoinozid-kötő PX-domén és négy SH3-domén építi fel és szerepet játszik a zsír- és csontszövet differenciációjában, a podoszómák és invadopódiumok képződésében. Továbbá mutációja kapcsolatba hozható a Frank-Ter Harr szindróma kialakulásával [3].

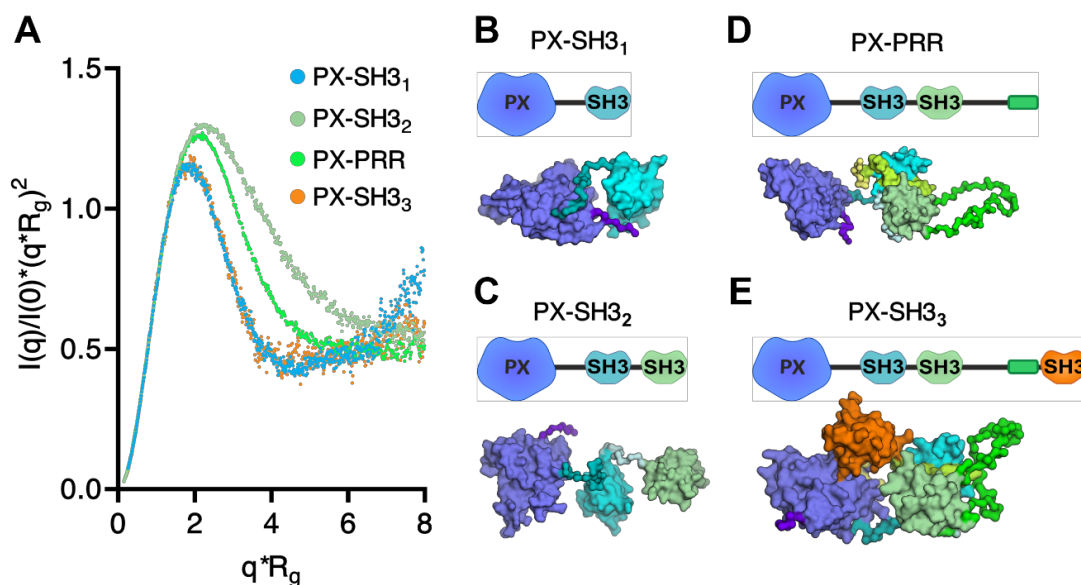
A Tks4-gyel rokon $p47^{phox}$ fehérje esetében ismert egy zárt konformáció, melyben a lipidekkel és a partner fehérjékhez való asszociációja gátlódik. Ebben a formában a PX-domén és az első SH3-domén egymáshoz kötődik, illetve a két „tandem” SH3-domén együttesen megkötnék egy PPR- motívumot a molekulán belüli prolinban gazdag régióban (PRR: *prolin rich region*). Ez egy egyedi „tandem” SH3-kötőmotívum, melyet korábban csak a $p47^{phox}$ intramolekuláris, illetve a $p47^{phox}$ - $p22^{phox}$ közti interakcióban írtak le (3B. ábra) [4]. Összevetve a Tks4-et a $p47^{phox}$ -szal megfigyelhető, hogy a tandem SH3 ligandumkötő felületének kialakításában résztvevő aminosavak többsége konzerváltan megtalálható a Tks4-ben. Továbbá a Tks4-ben is megfigyelhető egy PPR-motívum, melyről így feltételezhető, hogy egy potenciális tandem SH3-asszociált motívum (PTAM) (3A. ábra).



3. ábra. Tks4 és a $p47^{phox}$ fehérjék összehasonlítása. A) A Tks4 és a $p47^{phox}$ N-terminális része hasonlóságot mutat mind a domén-architektúrájában, mind szekvenciális szinten. A hasonló aminosavak szürke színnel vannak kiemelve. A tandem SH3-domének kötőzsebének aminosavai sorszámozással kiemelve. A PTAM megtalálható a $p47^{phox}$ -ban, a $p22^{phox}$ -ban és a Tks4-ben is. A Tks4-ben található lehetséges SH3-ligandum (sárga) azonban hiányzik a $p47^{phox}$ -ból. A Tks4-ben pedig a $p47^{phox}$ PTAM motívuma körüli több foszforilációs helyből csak a Thr353 található meg a Tks4-ben (piros kör alapon, P-betűvel kiemelve). **B)** A $p47^{phox}$ és a $p22^{phox}$ kölcsönhatásának szabályozása foszforilációval. Forrás: [S1].

A két fehérje N-terminális része közötti szerkezeti hasonlóság ellenére korábban nem vizsgálták, hogy a Tks4 esetében is kialakul-e egy zárt konformációs állapot. Pedig ennek tanulmányozása szükséges a fehérje szerepének megértéséhez, illetve esetlegesen további fehérje partnereinek azonosításához. Ezért vizsgáltuk a Tks4 N-terminális régiójának egyes részei között feltehetően kialakuló kötődéseket MST, ITC és triptofán- fluoreszcencia alapú módszerekkel. Az eredményeink alapján megállapítható volt, hogy a PX-doméntől a második SH3-doménig tartó régió és a PRR- és a harmadik SH3-domén között egy erős (nanomólos) kötődés alakul ki. Ebből a két részből származó, továbbá kisebb méretű fragmentumokkal végzett vizsgálatok alapján ezt a kölcsönhatást a „tandem” SH3-domének és a PTAM közötti, valamint a PX-domén és a harmadik SH3-domén közötti két gyengébb interakció alakítja ki. Viszont ezekben a PTAM közelében lévő szabályos SH3-kötőmotívum nem vesz részt.

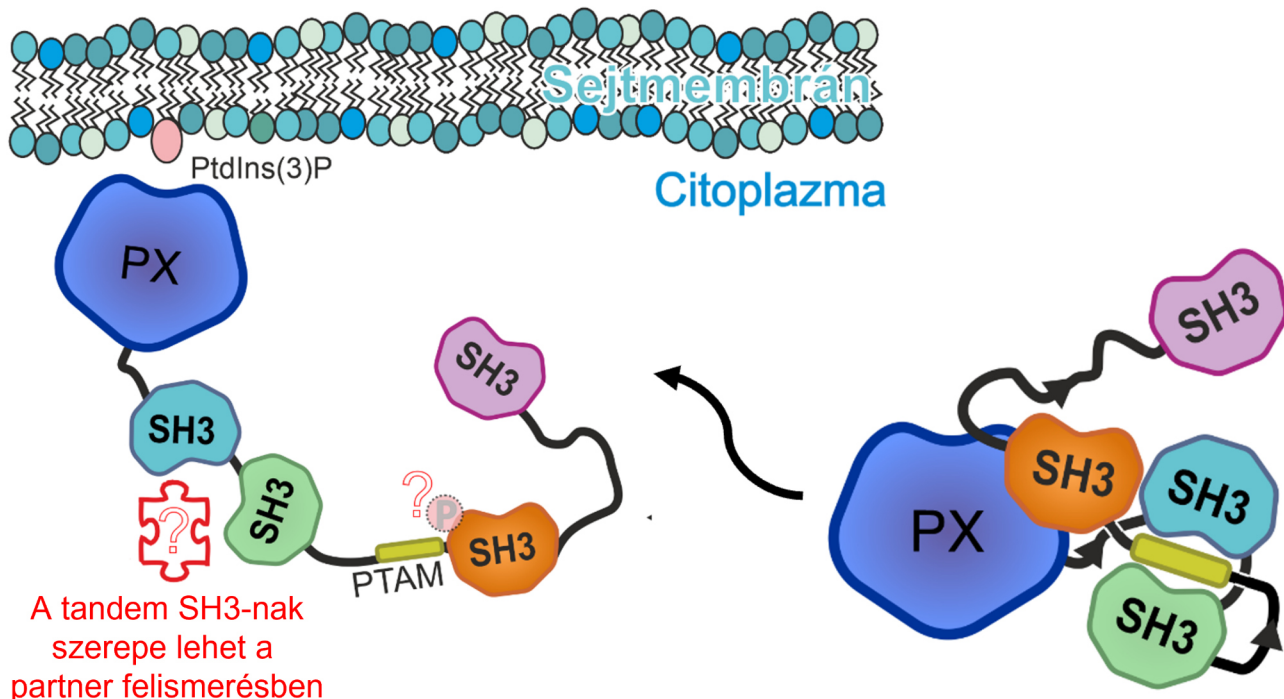
Kisszögű röntgenszórás (SAXS) módszerrel vizsgálva a Tks4 N-terminális régió egyre hosszabb fragmenseinek konformációs állapotát az volt megfigyelhető, hogy a nagyobb hosszúságú konstrukciók egy feltekertebb, globuláris állapotot alakítanak ki. Ez alapján a fentebb leírt kötődések intramolekulárisan alakulnak ki és a Tks4-nek egy zárt szerkezeti formáját okozzák (4. ábra).



4. ábra. A Tks4 szerkezetének modellezése SAXS mérésekkel. Tks4 fragmetumok a határoló doménjeik alapján vannak elnevezve. A domének és a linkerrégiók a 3. ábrán alkalmazott színekkel vannak jelölve. **A)** A Tks4 N-terminális régió fragmensei Kratky diagramja: A PX-SH3₁ és PX-SH3₃ harang alakú profilja kompakt, gömbszerű állapotot jelez. A PX-SH3₂ és a PX-PRR görbe profilja a rugalmasabb és kiterjedtebb állapotra utal. **B)** PX-SH3₁, **C)** PX-SH3₂, **D)** PX-PRR és **E)** PX-SH3₃ fragmensek „rigid body” modellezése. Megfigyelhető, hogy a PRR régió és a SH3₃ rész megjelenése egy zártabb formát okozott. Forrás: [S1].

A Tks4 és p47^{phox} hasonló zárt konformációja alapján feltételezhető volt a Tks4 zárt formája esetében kialakuló lipidkötődés gátlása. A Tks4 különböző hosszúságú PX-domén tartalmú fragmentumokkal végzett lipid- affinitásának „PIP strip” és liposzóma koszedimentációs vizsgálatai egyaránt azt mutatták, hogy ugyan a PX-domén specifikusan kötődik a foszfatidilinozitol-3-foszfáthoz (PtdIns(3)P), de ha a zárt forma kontaktfelületi jelen voltak az egyes fragmentumokban, akkor a PX/foszolipid-kötődés gátlódott.

A p47^{phox} esetében a konformáció felnyílását többszörös Ser foszforiláció okozza [4]. Ugyanakkor a Tks4-ben csupán egy treonin van (Thr373) hasonló pozícióban, viszont az aminosav foszfomimikáló mutációja nem volt hatással a fehérje konformációjára (3A. ábra). Így feltehetőleg ennek a foszforilációja önmagában nem elégséges a fehérje nyitott-zárt átmenetének szabályozásához. Korábban kimutatták, hogy a Tks4 harmadik SH3-doménjén belül a Tyr373 oldallánc egy Src-szubsztrát, valamint a fenilalaninra való cseréje gátlólag hat a podoszómák kialakulására [5]. Ennek a szabályozásnak molekuláris háttere még felderítetlen, de a kezdeti kísérleteink alapján a Tyr373 foszforilációja gyengíti a Tks4 egyes doménjei közötti kölcsönhatást, amely erősen utal arra, hogy befolyással lehet a Tks4 zárt konformációjára.



5. ábra. A Tks4-szabályozás sematikus összefoglalása. A Tks4 állványfehérje a citoplazmában zárt konformációban van jelen, melyet intramolekuláris kölcsönhatások stabilizálnak, és ebben a formában a fehérje membránlokalizációja gátlott. Ennek feltételezhető nyitási mechanizmus lehet a harmadik SH3-domén foszforilációja.

A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

- [S1] Mero, B., Koprivanacz, K., Cserkaszky, A., Radnai, L., Vas, V., Kudlik, G., Gogl, G., Sok, P., Poti, A.L., Szeder, B., Nyitray, L., Remenyi, A., Geiszt, M., Buday, L. (2021) Characterization of the Intramolecular Interactions and Regulatory Mechanisms of the Scaffold Protein Tks4. *Int J Mol Sci*, **22: (15)** 8103.
- [S2] Mero, B., Radnai, L., Gogl, G., Toke, O., Leveles, I., Koprivanacz, K., Szeder, B., Dulak, M., Kudlik, G., Vas, V., Cserkaszky, A., Sipeki, S., Nyitray, L., Vertessy, B.G., Buday, L. (2019) Structural insights into the tyrosine phosphorylation-mediated inhibition of SH3 domain-ligand interactions. *J Biol Chem*, **294: (12)** 4608-4620.

Irodalomjegyzék

- [1] Musacchio, A., Wilmanns, M., Saraste, M. (1994) Structure and function of the SH3 domain. *Prog Biophys Mol Biol*, **61: (3)** 283-97.
- [2] Tatarova, Z., Brabek, J., Rosel, D., Novotny, M. (2012) SH3 domain tyrosine phosphorylation--sites, role and evolution. *PLoS One*, **7: (5)** e36310.
- [3] Kudlik, G., Takacs, T., Radnai, L., Kurilla, A., Szeder, B., Koprivanacz, K., Mero, B.L., Buday, L., Vas, V. (2020) Advances in Understanding TKS4 and TKS5: Molecular Scaffolds Regulating Cellular Processes from Podosome and Invadopodium Formation to Differentiation and Tissue Homeostasis. *Int J Mol Sci*, **21: (21)**.
- [4] Sumimoto, H. (2008) Structure, regulation and evolution of Nox-family NADPH oxidases that produce reactive oxygen species. *FEBS J*, **275: (13)** 3249-77.
- [5] Buschman, M.D., Bromann, P.A., Cejudo-Martin, P., Wen, F., Pass, I., Courtneidge, S.A. (2009) The novel adaptor protein Tks4 (SH3PXD2B) is required for functional podosome formation. *Mol Biol Cell*, **20: (5)** 1302-11.

BESZÁMOLÓ A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET VÁNDORGYŰLÉSÉRŐL PÉCS, 2022. AUGUSZTUS 25-27.

A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kara adott otthont a 2022. augusztus 25-27. között megrendezésre került Magyar Biokémiai Egyesület Vándorgyűlésének. A konferencia eredeti időpontja 2020. nyár végén volt, de a COVID-19 okozta pandémia miatt újratervezésre volt szükség. Az új időpontnak viszont számos előnye is származott, mert közben elkészült az ultramodern, minden résztvevő és szervező számára nagyon magas színvonalú konferencia lebonyolítását lehetővé tevő új elméleti tömb. A csaknem egy éve átadott új épület és a park csodás helyszínt biztosított. A konferencia hivatalos nyelve angol volt, részben a külföldi résztvevőkkel szembeni udvariasság jegyében.

A csütörtök délutáni megnyitón Buday László professzor, a Magyar Biokémiai Társaság elnöke köszöntötte a vándorgyűlés 139 fő résztvevőjét, akik 3 plenáris előadással, 2 támogatói előadással, 27 szekció előadással és 55 poszter prezentációval készültek. A gazdasági kihívások ellenére 12 kiállító cég lakta be a patinás Romhányi György Aulát. Arany fokozatú támogató és kiállító a Biocenter Kft. és a Bio-Science Kft., ezüst fokozatú támogató a Kvalitex Kft. További kiállítók a Biomedica Hungária Kft., Experta Kereskedelmi Kft., Genomix Explorea Kft., Greiner Bio-One Hungary Kft., Izinta Kft., Kromat Kft., Merck Life Science Kft., TS Labor Kft., Unicam Magyarország Kft.

A Magyar Biokémiai Egyesület közgyűlése **Nyitray László** professzor (ELTE, TTK, Biokémiai Tanszék, a Biológia Doktori Iskola vezetője) részére **Tankó Béla életműdíjat** adományozott. A professzort Kovács Mihály professzor mutatta be (ELTE, TTK, Biokémiai Intézet vezetője), Nyitray László professzor előadásának címe: „Forty year adventure in the world of proteins”. Az egyesület **Tankó Béla díjat** szavazott meg **Gallyas Ferenc** professzor részére (PTE, ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet vezetője), akit Rauch Tibor (PTE, ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet) mutatott be. Gallyas Ferenc professzor „Mitochondrial and PARP-mediated mechanism in the cell death process” címmel tartott előadást. Az előadásokat követően az egyesület elnöke, Buday László és főtíkára, Lontay Beáta adták át a díjakat.

A konferencián átadásra került a **Bio-Science díj** a nemzetközi folyóiratban megjelent, molekuláris biológiai témájú közlemény szerzői részére meghirdetett

pályázat nyertesének, **Tálas Andrásnak**. Az Eötvös Loránd Kutatási Hálózat, Enzimológiai Intézet, Génreguláció Kutatócsoport professzora külföldi távolléte miatt Simon Dorottya Anna mutatta be a nyertes „BEAR reveals that increased fidelity variants can successfully reduce the mismatch tolerance of adenine but not cytosine base editors” című publikáció eredményeit.

A péntek délelőtt Nagy András kanadai professzor (Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute, Sinai Health System, Toronto) „A way to generate safe and global source for off-the-shelf therapeutic cell products” című plenáris előadását követték a szekció előadások az alábbi témakörökben:

- Jelátvitel, sejt-sejt kommunikáció, sejthalál és differenciáció c. szekció elnöke Buday László
- Génkifejeződés szabályozása, szabályozó RNS-ek, epigenetika c. szekció elnöke Arányi Tamás
- Fehérjeszerkezet, funkció és modellezés c. szekció elnöke Nyitray László
- Proteomika c. szekció elnöke Csősz Éva
- Betegségek és terápiájuk molekuláris alapjai, őssejtek, immunitás és inflammáció c. szekció elnöke Homolya László
- Transzlációs medicina, A Lipidek és membránok c. szekció elnöke Bay Péter

A legújabb tudományos eredmények bemutatása mellett lehetőség nyílt további diskussziók lefolytatására a kávé szünetek, ebédek és vacsorák közben. A Teleky Catering gondoskodott a jó fogásokról. Emellett a gála vacsora a Palatinus Hotel báltermében került megrendezésre, ahol a „Madarak” házibuli zenekar biztosította a jó hangulatot.

A konferencia zárásaként átadásra kerültek a Magyar Biokémiai Társaság poszter díjai is:

1. *helyezett lett Bagóné Vántus Viola (Pécsi Tudományegyetem). Poszter címe: „Investigation the effects on the PARP inhibitor Talazoparib in a TNBS-induced Inflammatory Bowel Disease Mice Model”,*
2. *helyezést ért el Hóf Henrietta (Utrecht University). Poszter címe: „Stabilization of LOTUS, a possible stimulant of nervous system regeneration”,*
3. *helyezett Mózner Orsolya (Semmelweis Egyetem). Poszter címe: „Generation of cell lines that produce fluorescent vesicles containing a coronavirus antigen protein on their surface”.*

A vándorgyűlés szervezésben a Diamond Congress Kft. (<http://www.diamond-congress.hu/>) volt a segítségünkre. További részletek olvashatóak a konferencia honlapján: <https://www.hbs-conference.hu/>.

A konferencia szervező bizottsága nevében (Bognár Zita, Gallyas Ferenc, Lontay Beáta, Bognár Rita) ezúton köszönjük a PTE ÁOK vezetésének, a Dékáni Hivatal munkatársainak, az Oktatástechnikai Csoport technikusainak és a PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet munkatársainak a vándorgyűlés magas színvonalon történő megszervezéséhez nyújtott támogatásukat.

Bognár Rita
 PTE, ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet
 E-mail: rita.bognar@aok.pte.hu



1. kép. Tankó Béla életműdíj átadása. Balról jobbra a képen: Buday László, Nyitrai László, Lontay Beáta. Fotó: Verébi Dávid (PTE).



2. kép. Tankó Béla díj átadása. Balról jobbra a képen: Buday László, Gallyas Ferenc, Lontay Beáta. Fotó: Verébi Dávid (PTE).



3. kép. Bio-Science díj átadása. Balról jobbra a képen: Simon Dorottya Anna, Nagy Nándor. Fotó: Verébi Dávid (PTE).



4. kép. Poszter díj 1. helyezett. Balról jobbra a képen: Buday László, Bagóné Vántus Viola, Lontay Beáta. Fotó: Verébi Dávid (PTE).



5. kép. Poszter díj 2. helyezett. Balról jobbra a képen: Buday László, Hóf Henrietta, Lontay Beáta. Fotó: Verébi Dávid (PTE).



6. kép. Poszter díj 3. helyezett. Balról jobbra a képen: Buday László, Mózner Orsolya, Lontay Beáta. Fotó: Verébi Dávid (PTE).

IUBMB-FEBS-PABMB CONGRESS, THE BIOCHEMISTRY GLOBAL SUMMIT

A „The Biochemistry Global Summit” a 25. International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB), a 46. Federation of European Biochemical Societies (FEBS) és a 15. Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB) konferenciák közös rendezvénye. A Biochemistry Global Summit a 2022. év legjelentősebb, a biokémia és molekuláris biológia szakterületén kutatók nemzetközi találkozója volt, amely július 9-14-ig került megrendezésre Lisszabonban, Portugáliában. A konferencia témakörei rámutattak az élettudományok fontosságára, az emberiség által ezekben a viharos időkben megválaszolendő kulcsfontosságú kérdésekre.

A nyitórendezvényen a helyi szervezők nevében Graca Soveral and Miguel Castanho (University of Lisbon) köszöntötte a résztvevőket. Itt vehette át a FEBS legrangosabb díját, a FEBS Diplôme d'Honneur-t, Fésüs László (Debreceni Egyetem), a MBKE egykori elnöke, a FEBS Publication Committee leköszönő elnöke, a Network Working Group elnöke, a FEBS-ben végzett több évtizedes meghatározó tevékenysége elismeréseként (*lásd Interjú Fésüs Lászlóval, 6. oldal, a szerkesztőség*).

A nyitóelőadást, az IUBMB Claudina Rodrigues-Pousada Lecture-t, Sarah Teichmann (United Kingdom), a sejtgenetika egyik legjelentősebb képviselője tartotta a humán egysejtes szekvenálás eredményeiről. A záróelőadást a FEBS Theodor Bücher Lecture keretében a Nobel-díjas Stephan Hell tartotta, aki a MINFLUX és MINSTED által nyújtott szuperrezolúciós fluoreszcenciás mikroszkópia vívmányait ismertette. További plenáris előadásokat tartottak még olyan világviszonylatban is elismert kutatók, mint John Cryan (Írország, FEBS Datta Lecture), aki a bél mikroobiom jelentőségéről beszélt; Munoz Canoves (Spanyolország, EMBO Lecture), aki az öregedő vázizomzat regenerációs folyamatainak elősegítésének lehetőségeit vázolta; Cecilia Rodrigues (Portugália, FEBS Sir Hans Krebs Lecture) a metabolikus szindróma molekuláris mechanizmusáról és kezelési lehetőségeiről; Erin Schuman (Németország, FEBS/EMBO Women in Science Award Lecture) az idegsejtek fehérjeszintézisének sajátosságairól beszélt; Costantino Iadecola (Egyesült Államok, IUBMB E.C. Slater Lecture) a vaszkuláris kognitív zavarok pathomechanizmusait tárta fel; Masayuki Yamamoto (Japán, IUBMB Kunio Yagi Lecture) a KEAP1-NRF2 jelátviteli útvonal oxidatív stresszben betöltött szerepét

ismertette; végül Jerson Silva (Brazília, PABMB Lecture) a mutáns p53 fázisszeparációjának és aggregációjának daganatterápiás lehetőségeit mutatta be.

A kongresszuson több száz kiváló tudós mutatta be a biokémia és a molekuláris biológia, valamint más kapcsolódó tudományágak legfontosabb kutatási eredményeit a Molekuláris medicina, Öregedés, Sejt-sejt felismerés, Anyagcsere és anyagcsere-szabályozás, Humán mikrobiom, Molekuláris mikrobiológia és mikrobiom, Sejtbiokémia és szabályozás, Szintetikus biológia, Biogazdálkodás és fenntarthatóság, Rendszerbiológia, DNS és RNS, Kardiovaszkuláris betegségek, Jelátvitel, Proteomika, Genomika, Táplálkozás biokémia, Atomi és molekuláris szintű képzőképzés címen futó szekciókban. A programban számos, a tudományhoz kapcsolódó oktatási és társadalmi téma, valamint kiállítás és a biotechnológia friss vívmányairól szóló bemutató is szerepelt. Így Boris Jokić (Horvátország) a FEBS Educational lecture keretében szemléltette, hogy az oktatás hogyan lehet ismét releváns és kiemelt jelentőségű napjainkban.

A rangos plenáris és meghívott szimpóziumi előadások mellett poszterszekciók adtak lehetőséget a résztvevőknek arra, hogy bemutassák munkájukat. A rendezvény során a fiatal kutatók a 21. Young Scientist's Forum során egy szatellit keretein belül további prezentációs lehetőséget kaptak, és kicsoportos diszkussziós foglalkozásokon vehettek részt. Kiemelt fontosságú az általuk indított mozgalom, amelyben a FEBS tagszervezetein belül országonként Junior Section létrehozását kezdeményezték.

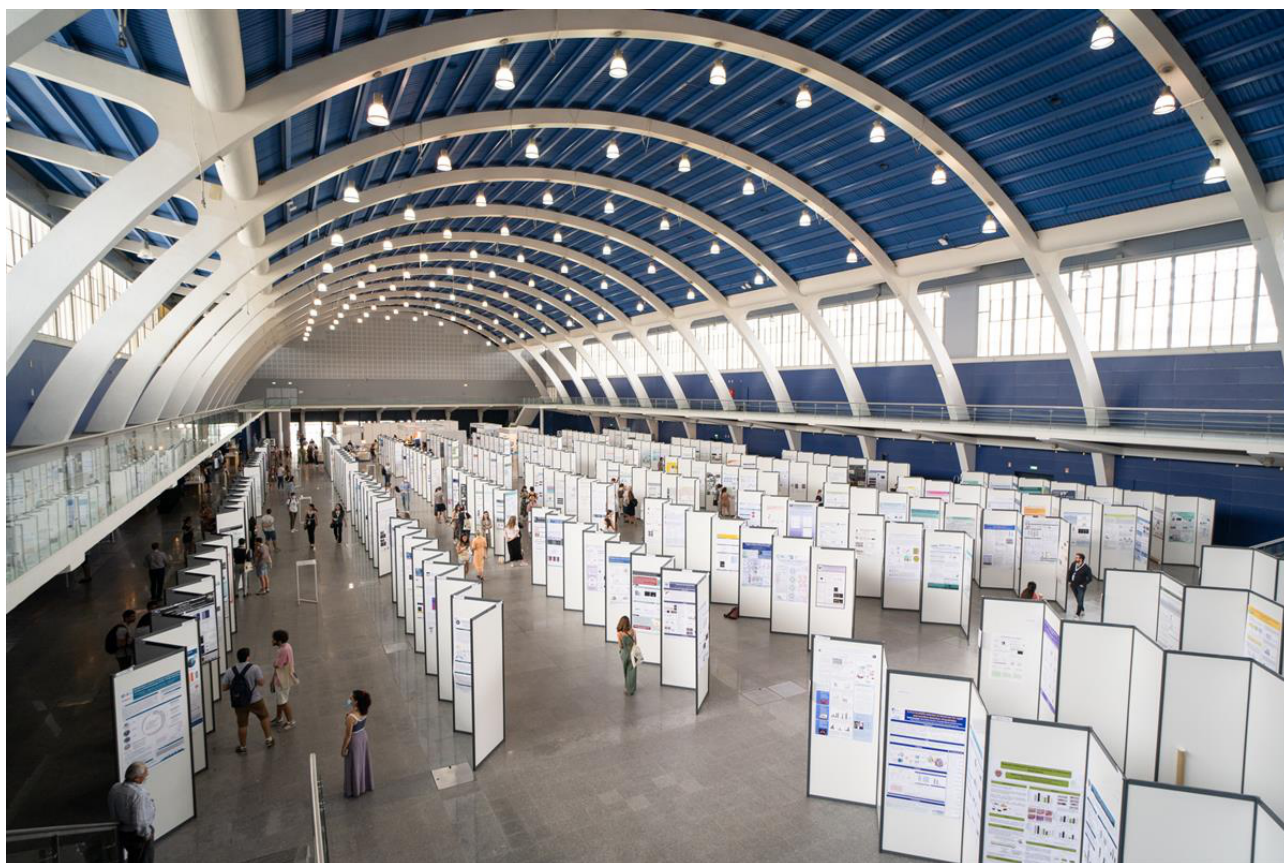
A Magyar Biokémiai Egyesületet Vértessy Beáta, a FEBS Advanced Course Committee elnöke és Nyitray László, a FEBS Fellowships Committee leköszönő és a FEBS Network Group jelenlegi tagja képviselte a FEBS Council megbeszéléseken. A hazai munkahelyek közül hét egyetem és kutatóintézet képviseltette magát. Előadással Réthi-Nagy Zsuzsanna, Hasan Amar (ELKH Szegedi Biológiai Kutatóközpont), Nyíri Kinga (Budapesti Műszaki Egyetem), Percze Krisztina (Semmelweis Egyetem), Csikász-Nagy Attila (Pázmány Péter Katolikus Egyetem) és Lontay Beáta (Debrecen Egyetem) képviselte Magyarországot, és összesen 28 poszterrel 34 regisztrált kutató vett részt.

A 47. FEBS Congress 2023. július 8-12. között kerül majd megrendezésre „Together in bioscience for a better future” mottóval Tours-ban, Franciaországban. A kongresszus előzetes programja és részletei már elérhetők:

<https://2023.febscongress.org/>

A IUBMB-FEBS-PABMB 2022. rendezvény fényképei és programja megtekinthetők a FEBS Open Bio konferencia kiadványában: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com>.

*Lontay Beáta
MBKE főtitkár
Debreceni Egyetem
Orvosi Vegytani Intézet*







BESZÁMOLÓ AZ ITTS KONFERENCIÁRÓL

**2nd International Transmembrane Transporter Society Meeting:
„Catching Transport in Motion,”
June 7-10, 2022, University of Copenhagen, Denmark**

Az International Transmembrane Transporter Society (ITTS, <http://www.ittsociety.org/>) viszonylag fiatal, csak mintegy tíz éves szervezet, amelynek a 2022 júniusában, Koppenhágában megtartott konferenciája csak a második ilyen önálló és nagyobb méretű rendezvénye volt. Ez a társaság, amely 2013-ban egy mexikói neurobiológiai konferencia alapján alakult, a világ valamennyi részéről érkező membrántranszporter kutatóból szerveződik, speciális kisebb konferenciáit váltakozva tartja különböző kontinenseken, egy-egy nagyobb élettudományi rendezvényhez kapcsolódva. A társaság fontos célja a terület iránt érdeklődő amerikai, ausztrál, ázsiai és európai kutatók összehozása, önkéntes alapon, alacsony tagdíjjal szerveződve segíti a kapcsolatok kialakítását, az információáramlást és a fiatal kutatók tájékozódását (lásd <https://static1.squarespace.com/static/54091269e4b0a69dedcc411f/t/627e54e3702ac06ea6c370ce/1652446452011/May+2022+Newsletter.pdf>).

A koppenhágai egyetemen megtartott önálló, több mint 200 résztvevős ITTS konferencia újabb impulzust adott a társaság tagjainak, mutatva, hogy valóban egyre szélesebb körű érdeklődés övezi a biológiai membránok transzportereit. A COVID járvány csendesülése – sok zökkenő és halasztás után – már lehetővé tette a zavartalan megrendezést, ugyanakkor az orosz agresszió nyomán kitört ukrajnai háború már egy hosszabb válság jeleit vetítette előre. A konferenciát a kiváló, de „dán típusú” laza szervezés, a kiemelkedő előadók és Koppenhága varázslatos városa mégis emlékezetes eseménnyé tette.

A konferencia alcíme, „Catching Transport in Motion”, azt jelezte, hogy mára a módszerek fejlődésével, a transzporterek szerkezetének és funkcióinak egyre jobb megismerésével lehetővé vált az egyedi molekuláris mechanizmusok részletes feltérképezése. A társaság hagyományainak megfelelően, az idegrendszeri transzporterek kiemelkedő szerepet kaptak, ezt jelezte a két „keynote” előadás (Rob Edwards, UC San Francisco „Endocytic recycling mechanism dictates the mode of neurotransmitter release” és Randy Blakely, Florida Atlantic Univ. „Fundamental and pathophysiological regulation of serotonin transporters”), de a szimpóziумok közül is több ebben az irányban szerveződött („New kids on the monoamine transporter block - Implications for

treatment of psychiatric and substance use disorders”, „Structure and function of the GABA transporter subfamily”, „SLC38 transporters in neurotransmission and their regulation”, „Molecular mechanisms of Na-coupled neurotransmitter transport”, „Emerging roles for transporters in dopamine dysfunction in CNS disorders”). Ugyanakkor az ITTS céljainak megfelelően, ki is szélesedett a transzporterek kutatására vonatkozó szimpóziumok tárháza, így önálló szimpózium tárgyalt több újszerű, izgalmas területet („Structural and functional dynamics of transporters”, „Cancer metabolism – shaping metabolic flux through membrane transport”, „Lipid gymnastics - Highlights on lipids translocation mechanisms”).

A konferenciát a folyamatosan működő poszter szekció és a fiatal kutatók előadását támogató speciális szimpózium tette teljessé. Aki részt vett ennek a fiatal társaságnak a 2022-es konferenciáján, jól érezkelhette a tématerület jelentőségének a növekedését, a nemzetközi kapcsolatok erősödését, és a jól szervezett konferenciák kiemelkedő szerepét a tudományos kommunikációban.

*Sarkadi Balázs
ITTS president
Természettudományi Kutatóközpont,
Enzimológiai Intézet*