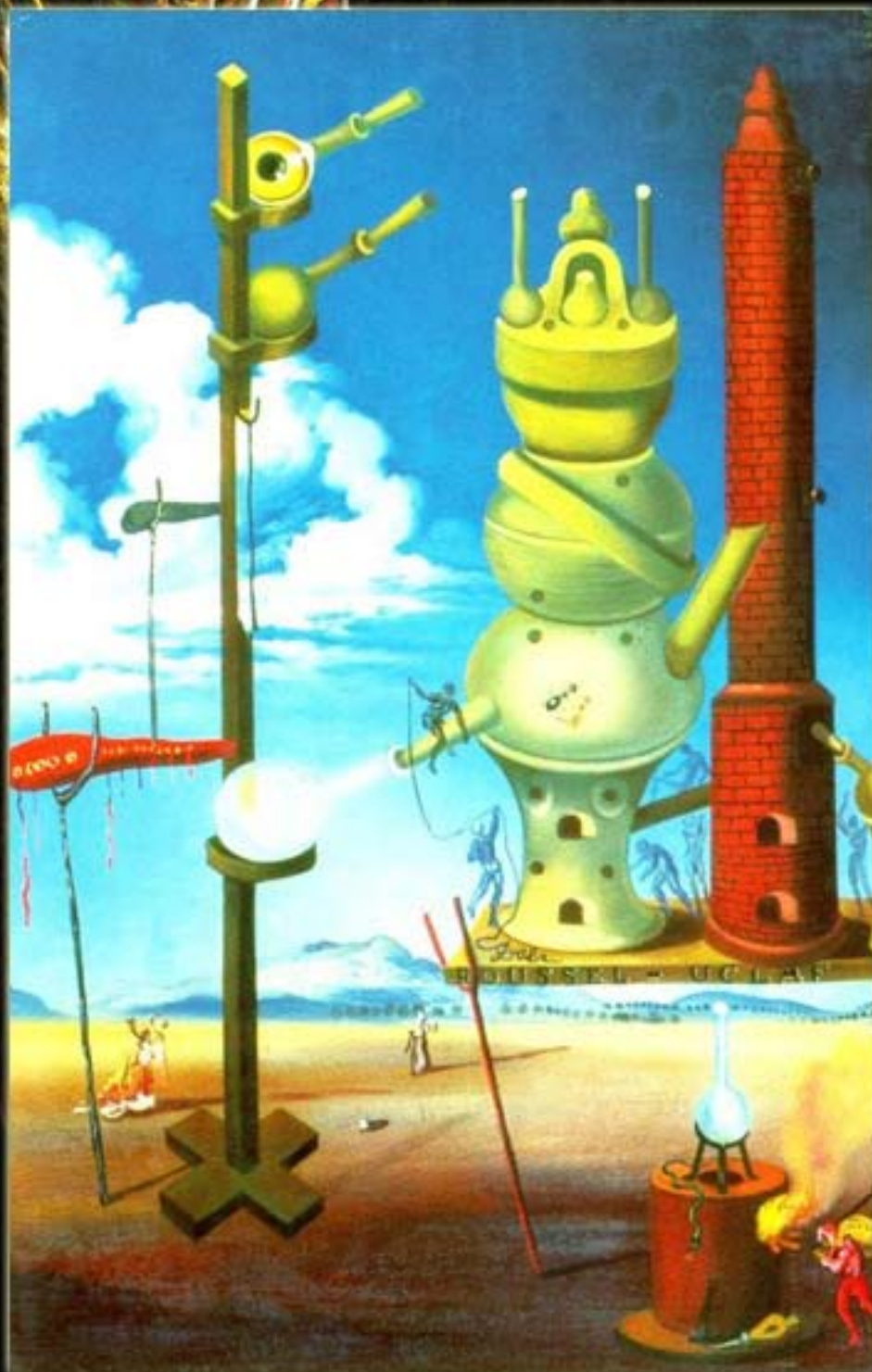


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata  
XXXV. ÉVFOLYAM 1. SZÁM 2011. március



# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

Bősze Szilvia, Erdődi Ferenc, Ifj. Gallyas Ferenc, Keserű György, Kiricsi Mónika (titkár),  
Nyitray László, Sarkadi Balázs, Székács András, Szondy Zsuzsa, Váradi András

Főszerkesztő:  
Szűcs Mária

Technikai szerkesztő:  
Márki Árpád

XXXV. ÉVFOLYAM 1. SZÁM

2011. március

## TARTALOMJEGYZÉK

**Címlapkép:** Salvador Dali: *The Alchemist*, 1962. A Roussel-Uclaf ex-gyógyszergyár székháza (Párizs) számára készült olajfestmény. Lásd Maksay G.: „2011 a kémia éve” című írását.

### AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

- A díjakról ..... 3.
- Gábor Dénes díjat kapott Sperlágh Beáta..... 4.
- Gábor Dénes díjat kapott Kéri György ..... 10.

### HAZAI TUDOMÁNYOS ISKOLÁK

- 90 éves a DE Orvosi Vegytani Intézete ..... 17.

### KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA: 2010 ..... 39.

### AKTUALITÁSOK

- Maksay Gábor: Gondolatok a kémia éve alkalmából ..... 45.

### HIRDETÉSEK

- Konferenciák, rendezvények ..... 49.
- Felhívások, pályázatok ..... 52.

### EGYESÜLETI HÍREK

- Az adó 1%-a..... 55.
- MBKE tagdíj fizetés..... 56.

**Örömteli húsvéti ünnepeket kívánunk minden kedves olvasónknak!**



Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület, 4012 Debrecen, Pf. 6, <http://www.mbkegy.hu/>

Felelős kiadó Dr. Fésűs László

Az engedély száma III/SZI/397/1977, HU ISSN 2060 8152 (Online)

HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)



## AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI

Idén heten vehették át a Parlament Főrendiház termében tartott ünnepségen a **Gábor Dénes-díjat**. Gábor Dénes Nobel-díjas tudósról, és humanista gondolkodóról elnevezett hazai elismerést, valamint a háromévente adományozott nemzetközi díjat a bíráló bizottság javaslatára, az arra méltó szakembereknek a NOVOFER Alapítvány Kuratóriuma ítéli oda. Az elmúlt több mint két évtizedben mind rangosabbá vált kitüntetést eddig 142, a technikai és természettudományok terén kimagasló innovatív teljesítményt nyújtó kutató és műszaki értelmiségi vehette át. A díjazottak olyan kiemelkedő, teljesen új tudást létrehozó szakemberek, akik ismereteiket a gyakorlatban alkalmazzák, kimagasló tudásukat színvonalas oktatói, nevelői tevékenységük révén átadják környezetüknek, jelentős társadalmi aktivitást fejtenek ki, látóköriük pedig messze meghaladja szűken vett szakterületüket. Egyesületünk tagjai közül idén ketten részesültek a díjban:

**Kéri György** vegyész-biokémikus, az MTA biológiai tudományok doktora. Egyetemi tanár, szakterülete a biokémia és jelterápia. Munkahelye az MTA-Semmelweis Egyetem Pathobiokémiai Kutatócsoport. Kutatási területe: jeltovábbítási terápia, kináz gátlás, jeltovábbítási mechanizmusok, programozott sejthalál, racionális hatóanyag tervezés, antitumor peptidok.

**Sperlágh Beáta** általános orvost, klinikai farmakológus szakorvost, az MTA doktorát, az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet tudományos igazgató-helyettesét az idegrendszeri gyógyszerkutatás terén kifejtett, a gyógyszerfejlesztésben közvetlenül hasznosuló, nemzetközi szintű eredményeiért, az intézeti gyógyszer-innovációs tevékenység koordinálásában, a gyógyszeripari K+F-ben résztvevő szakemberek graduális és posztgraduális képzésében nyújtott kiemelkedő szerepéért tüntették ki.

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**



„... a helyesen leszűrt és csoportosított elvek nem szűkmarkúan, hanem bőkezűen szolgálják a gyakorlatot és seregestül özönlenek nyomukban az új meg új gyakorlati eredmények...  
(Francis Bacon)“

## A PURINERG JELÁTVITEL A FELFEDEZŐ KUTATÁSTÓL A GYÓGYSZERINNOVÁCIÓIG: FÓKUSZBAN AZ ATP MOLEKULA



Igen nagy megtiszteltetés számomra, hogy 2010-ben én lehettem az egyik a hét Gábor Dénes díjazott közül. Ez az elismerés egyúttal jó alkalom arra, hogy ráirányítsa a figyelmet szűkebb szakterületemre, a purinerg jelátvitel kutatására - így örömmel mutatom be azt saját szakmai pályafutásomon keresztül a Biokémia olvasóinak.

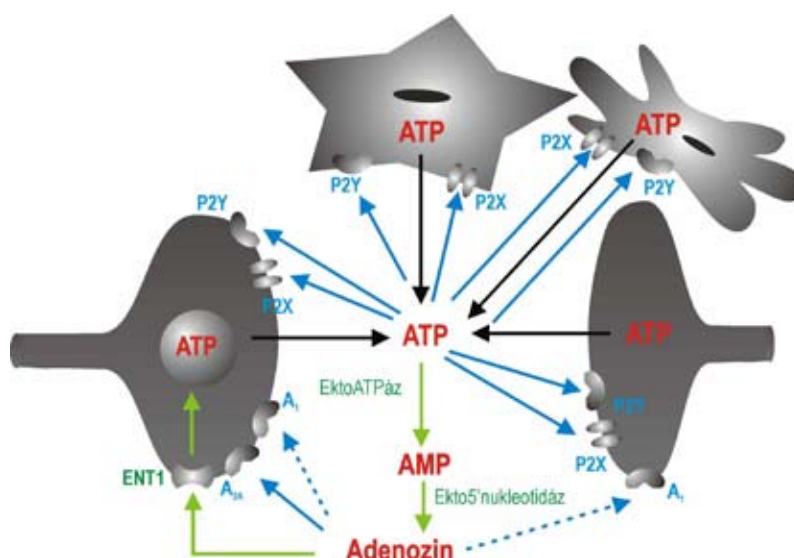
Tudományterületemet, a gyógyszerkutatást még az egyetem évei alatt szerettem meg, hiszen ez egy olyan integratív szemléletű tudományág, amely összeköti az orvostudományok elméleti alapjait a gyakorlati orvoslással. Jó gyógyszerkutatási ötletek persze nemcsak farmakológusok, hanem bármilyen kutató fejéből kipattanhatnak, a farmakológusnak van azonban igazán aktív tudása és rálátása arra, hogy megítélje, hogy az új ötletnek milyen esélye van a gyógyszerre válás rögzös ösvényén. Másképpen fogalmazva a gyógyszerkutató ugyanezt teszi, mint a többi kutató, csak a „szemüvege” más: egy lépéssel tovább megy, lefordítja és alkalmassá teszi az alapkutatási eredményeket az innováció további lépéseire.

Ennek a mesterségbeli tudásnak az elsajátításához segített hozzá, hogy az egyetemet követően a hazai gyógyszerkutatás egyik fellegetvárában, az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézetben Vizi E. Szilveszter munkacsoportjában kezdhettem el pályafutásomat 1988-ban, ahol a kémiai ingerületátvitel új, nem konvencionális formáit feltáró izgalmas kutatásokba kapcsolódhattam be. Ekkor ismerkedtem meg saját kutatási területemmel is: az ATP és adenzin által közvetített purinerg jelátvitel kutatásával, amely abban az időben azonban még gyerekcipőben járt. A tudományos közvélemény ugyanis sokáig erős szkepszissel fogadta azt az elképzelést, hogy az ATP molekulának, mint univerzális energia donor és akzeptornak a sejten kívül is van információátviteli funkciója. Nekem éppen ez tetszett meg benne: a természet az ATP-vel egy kivételesen sokoldalú molekulát alkotott, amely mind az anyagcserében, a genetikai anyag építőköveként és a sejtek közötti kommunikációban is jelentős szerepet játszik.

Érdekes magyar vonatkozása e témának, hogy a purinok extracelluláris jelátviteli szerepére először éppen Szent-Györgyi Albert hívta fel a figyelmet: 1929-ban a Journal of Physiology-ban közölt munkájában az adenzin és egyéb purinoknak a keringésre és légzésre gyakorolt széleskörű hatásairól számolt be. Szent-Györgyi zsenialitását igazolja, hogy ez a megfigyelés majd kb. fél évszázaddal előzte meg

korát: a purinok jelátviteli szerepét feltáró átfogóbb kutatások csak a hetvenes-nyolcvanas években indultak el. Az ATP funkcióját ugyanakkor akkoriban még sokkal egysíkúbban képzelték el: elsősorban klasszikus neurotransmitter szerepet tulajdonítottak neki. Első kísérletsorozatomban azt vizsgáltam meg, hogy van-e az ATP-nek a már ismert, posztzinaptikus hatásain kívül preszinaptikus, transzmitter felszabadulást moduláló hatása. Sikerült kimutatni, hogy az ATP-re érzékeny P2 receptorok stimulációja fokozza az acetilkolin felszabadulást a tengerimalac ileum hosszanti simaizmot beidegző kolinerg végkészülékekből. Ezt az akkori dogmákkal szemembenő megfigyelést ugyan nehéz volt elfogadtatni, de azóta beigazolódott, hogy feltételezésünk helyes volt és a P2 receptorok valóban preszinaptikusan is kifejeződnek és részt vesznek nemcsak az acetikolin, hanem számos más transzmitter felszabadulásának szabályozásában.

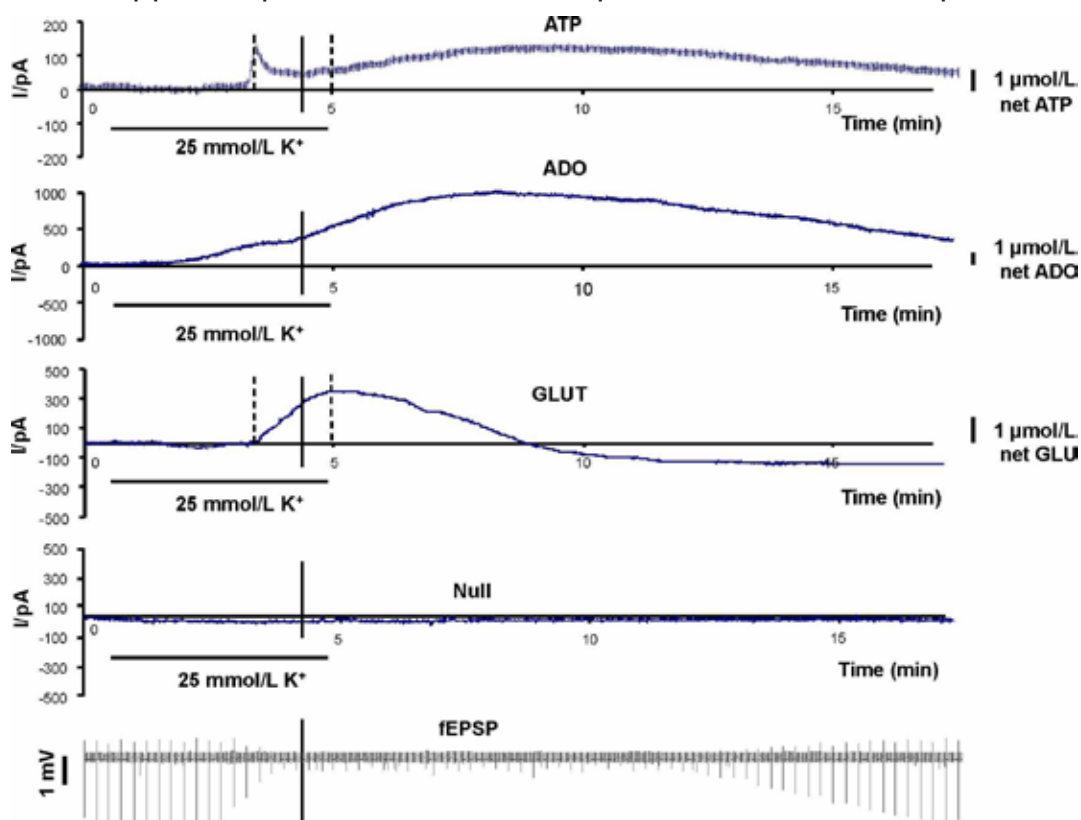
A kutatásaimnak egy következő, a kilencvenes évekre tehető szakasza az ATP felszabadulás mechanizmusainak feltárásával folytatódott – részben idehaza, részben a New York-i Center for Neurochemistry-ben, ahol rövidebb-hosszabb szakaszokban vendégkutatóként dolgoztam. Ebben egy viszonylag egyszerű, de rendkívül érzékeny biokémiai módszert volt a segítségemre: a szentjánosbogár fényreakcióját hasznosító luciferin–luciferáz technika, amely képes detektálni az idegi aktivitás során felszabaduló, viszonylag kis mennyiségű ATP-t. E módszer segítségével a központi és perifériás idegrendszer számos területén térképeztem fel az ATP felszabadulás forrását és mechanizmusát. A purinerg jelátvitelt feltáró kutatásoknak egy sajátos szépsége, de egyúttal nehézsége is ugyanakkor, hogy az ATP ubikviter anyag, amely minden metabolikusan aktív sejt citoplazmájában megtalálható, így jelenléte még nem igazolja az ATP extracelluláris jelátvivő szerepét (1. ábra). S valóban, kutatásaink eredményeképpen egyrészt igazolódott, hogy az ATP felszabadul az idegrendszer számos szinapszisában az idegvégződésekből idegi aktivitás során, de számos egyéb fiziológias és patológias inger is



**1. ábra. A purinerg jelátvitel az idegrendszerben.** Az ATP felszabadulás forrása lehet a pre-és posztzinaptikus idegvégződés, valamint a glia. Az ATP hatásait a ionotróp P2X és a metabotróp P2Y receptor családon keresztül fejti ki. Felszabadulását követően az ATP-t ektoenzimek metabolizálják és új extracelluláris szignál, az adenosin keletkezik, mely saját, metabotróp receptorain hat.

képes ATP-t felszabadítani a sejtekből, kezdve a mechanikus ingertől, a bakteriális endotoxinokon keresztül a hipoxiás-hipoglikémiás állapotokig. Másrészt, az ATP forrása lehet nemcsak az idegvégződés, hanem a posztzinaptikus célsejt és a glia is.

Ma már tudjuk, hogy az ATP a glutamát mellett a központi idegrendszer egyik legfontosabb gliotranszmittere is, vagyis egy olyan, gliából felszabaduló bioaktív anyag, amely képes befolyásolni a szinaptikus ingerületávitelt. Az elmúlt néhány évben az ATP és egyéb transzmitterek detektálására egy, a hagyományos neurokémiai módszereknél sokkal jobb tér- és időbeli felbontással rendelkező, a kontinensen egyedülálló módszert is bevezettünk: a mikroelektród bioszenzor technikát, amely közvetlen kémiai detekcióval, ugyanakkor valós időben tudja követni az extracelluláris térben jelenlevő anyagok koncentrációját. Így e módszer alkalmazásával nemrégiben elsőként tudtunk kimutatni gliotranszmitter felszabadulást a központi idegrendszerben neuronális aktivitás hatására (2. ábra): akut hippokampusz szeletekben depolarizáció hatására parallel ATP és



**2. ábra. Parallel ATP, adenzin (ADO) és glutamát (GLUT) felszabadulás a hippokampuszban  $K^+$  depolarizáció hatására, valós idejű mikroelektród bioszenzor technikával. A „Null” szenzor a referencia jel, a párhuzamosan regisztrált fEPSP az idegi aktivitást mutatja.**

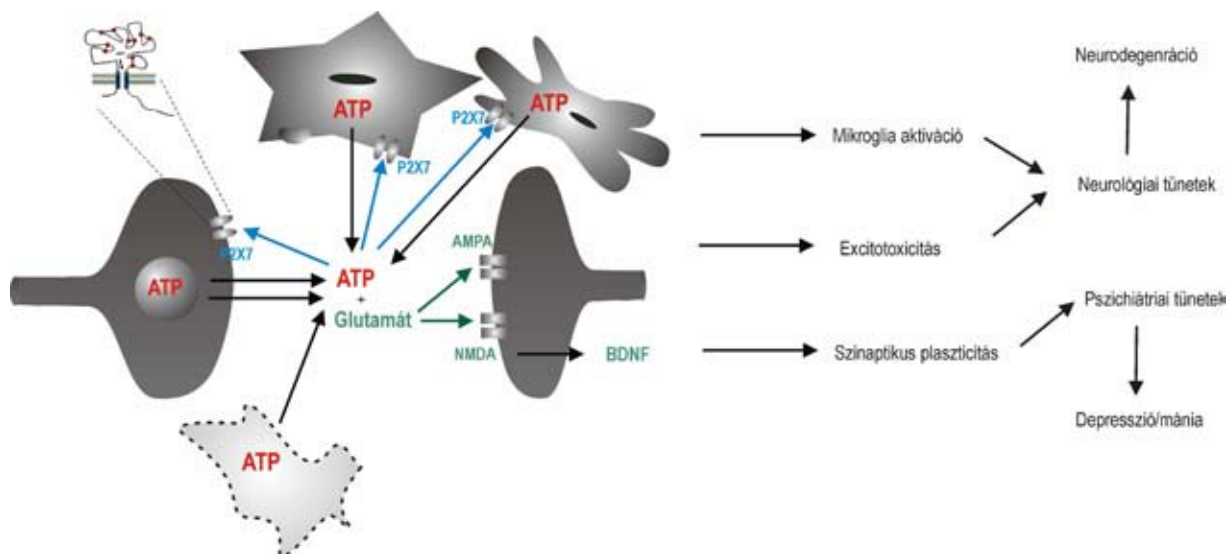
glutamát felszabadulást mértünk, amelynek kiváltója az idegi akciós potenciál, de a gliasejtekből származik.

1994-ben, a kandidátusi fokozat megszerzését követően lehetőséget kaptam, hogy kutatásaimat saját laboratóriumban, majd később saját kutatócsoportomban folytathassam, ugyancsak az MTA KOKI-ban. Ebben az időben a purinerg

jelátvitel kutatása is további ugrásszerű fejlődésnek és virágzásnak indult, mivel ATP hatásait közvetítő P2 receptorok molekuláris azonosítását követően nyilvánvalóvá vált, hogy ez egy népes, ionotróp (P2X1-7) és metabotróp (P2Y1,2,4,6,11,12,13,14) receptorokat is magában foglaló receptor család, melynek tagjai szinte az összes szövetben és szervben kifejeződnek. Így fő célul azt tűztem ki, hogy a fenti receptorok által közvetített hatásokat feltérképezzük a központi idegrendszerben a molekuláris szinttől a viselkedésig és minderre alapozva új gyógyszercélpontokat fedezzünk fel neurológiai és pszichiátriai betegségekben. Kutatócsoportom szakértelmét és technikai repertoárját is ennek megfelelően építettem fel: csoportomban így van anatómus, molekuláris biológus, vegyész, orvos, gyógyszerész, és sokféle módszert alkalmazunk a receptorok expresszióját vizsgáló molekuláris biológiai és immuncitokémiai technikáktól a sejtszintű hatásokat vizsgáló neurokémiai és farmakológiai módszereken át az egész állatban történő vizsgálódást lehetővé tevő *in vivo* magatartásteresztikai és betegségmodellekig.

A fenti technikák segítségével az elmúlt 10-15 évben azonosítottunk számos, a neurotransmitter felszabadulás és egyéb idegi hatásokban résztvevő P2X és P2Y, valamint adenosin receptor altípust. E sokfajta receptor közül egy, a P2X7 receptor különösképpen felkeltette érdeklődésünket (3. ábra): e receptor-ioncsatorna egyik nevezetessége, hogy tartós aktiváció során áteresztőképessé válik nagy molekulásúlyú anionok és kationok számára, vagyis a csatorna pórusa kitágul, ami végső soron sejthalálhoz vezet. Mivel a P2X7 receptorok elsősorban az immunsejteken fejeződnek ki, számunka is meglepő eredmény volt, amikor kimutattuk, hogy e receptor az idegrendszerben a serkentő idegvégződéseken is megtalálható és aktivációja glutamát felszabaduláshoz vezet. A fokozott glutamát felszabadulás és az azt követő excitotoxicitás kórtani szerepe közismert a neurodegenerációhoz vezető események láncolatában. Figyelembe véve emellett, hogy a P2X7 receptor az idegi sejthalált követő védekező, de lényegében véve azt súlyosbító reakciók, így a mikroglia aktiváció folyamatában is aktívan részt vesz, a P2X7 receptorokon keresztül több támadásponton át befolyásolható az idegi sejthalál folyamata. Így az első kézenfekvő lehetőség a P2X7 receptoron ható ligandok terápiás felhasználására a neurodegeneratív betegségekben adódott. További vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a P2X7 receptorok expressziója fokozódik az agyban neurodegenerációt előidéző, így pl. ischemia-szerű körülmények között és a P2X7 receptorok gátlása ilyenkor csökkenti a kóros glutamát felszabadulást. Így feltételezhető, hogy az ATP iránt egyébként igen alacsony affinitást mutató P2X7 receptorok nagyobb mértékben aktiválódnak patológiás körülmények között, amikor akár az elpusztult sejtekből kiszabaduló ATP is ingerelheti a receptort. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy befolyásolásuk a normál idegi működéseket talán kevésbé zavarja meg, ellentétben sok más, állatkísérletben kipróbált, de a klinikai vizsgálatokban már elbukott gyógyszercélpontnál.





**3. ábra. Az ionotróp P2X7 receptorok szerepe a patológiás glutamát felszabadulásban és az követő, neurológiai és/vagy pszichiátriai tünetekhez vezető eseményláncolatban.**

Talán még érdekesebb, hogy legújabb vizsgálataink arra világítottak rá, hogy a P2X7 receptorok az agyban fontos szerepet játszanak a pszichiátriai kórképek, ezen belül a depresszió és a bipoláris betegség patomechanizmusában is. A fenti betegségek állatkísérletes modelljeiben a P2X7 receptor génkiütött ege-  
rek „hangulatstabilizált” fenotípust mutattak: csökkent a depresszióra jellemző magatartás és az anhedonia, de a mánia modelljeként alkalmazott amfetamin által kiváltott hiperaktivitás is, és csökkent hormonválasszal reagáltak az állatok a stresszre – éppen az ellentéte annak, ami a depressziós betegekben tapasztalható és hasonló hatások reprodukálhatóak voltak P2X7 receptor antagonisták alkalmazásával. Eredményeinket alátámasztja, hogy humán vizsgálatokban a P2X7 receptort kódoló gén mutációi szignifikáns asszociációt mutatnak depresszió és a bipoláris betegség előfordulásával. Jelenlegi vizsgálataink arra irányulnak, hogy a fenti, esetlegesen terápiásan is használható effektus agyi támadáspontját azonosítsuk. Így genomikai módszerek segítségével kimutattuk, hogy a P2X7 receptorok aktivitása mélyreható változásokat okoz a limbikus rendszer génátíródásában és többek között a depresszióban is fontos szerepet játszó agyi növekedési faktor, a BDNF agyi szintjeinek szabályozásában is részt vesz.

Minden gyógyszerkutató álma, hogy az általa felfedezett mechanizmus valódi gyógyszerekben testesüljön meg. Így már a kezdetektől fogva tudatosan törekedtem arra, hogy a fenti, illetve az itt helyhiány miatt nem említett egyéb alapkutatói eredményeim a gyógyszer innovációban is hasznosuljanak. Számos gyógyszergyárat kerestem meg kutatási javaslataimmal, az utóbbi időben szerencsére már többnyire sikerrel, így gyógyszerkutatói projektjeim nagyrészt ma már ipari partnerséggel, elsősorban a Richter Gedeon Rt.-vel való együttműködésben valósulnak meg. Emellett az egyetemeken, elsősorban a Semmelweis Egyetemen folyó gyógyszerkémiái és farmakológiai kutatásokkal, valamint külföldi partnerekkel, mint pl. a szingapúri Institute of Chemical Engineering and



Sciences (ICES) is jó kapcsolatokat sikerült kiépíteni. A P2X7 receptor befolyásolásában rejlő lehetőségekre az utóbbi időben számos nagy gyógyszer cég az én munkámtól függetlenül is „ráharapott”, és a legelőrehaladottabb vizsgálatok már klinikai fázisban vannak.

A tudományos munkán kívül pályafutásomban fontos szerepet kapott és kap ma is az oktatás. Akadémiai kutatóként az orvostanhallgatók gyógyszer-tan oktatását másfél évtizede magánszorgalomból vállaltam el, és a jelentős idő és energia befektetés ellenére sohasem bántam meg. A gyógyszer-kutatás elméletét és gyakorlatát emellett posztgraduális szinten is oktatom PhD hallgatók, szakorvosjelöltek, gyógyszer-gyári szakemberek részére. Kutatócsoportomban szerencsére sok tehetséges és tudásra szomjazó fiatallal dolgozok együtt, akiket pedig már „felneveltem” és önálló kutatóként dolgoznak tovább, azokkal is tartom a szakmai kapcsolatot.

A teljes képhez hozzátartozik, hogy eddigi eredményeimben nagy szerepe volt annak a kivételesen jó szellemi környezetnek is, amelyet kutatóintézetünk előző és jelenlegi vezetői megteremtettek. Az intézetben ma egészséges versenyszellem, a teljesítményelvűség következetes érvényesítése uralkodik, de egymás munkáját értékeljük és messzemenően megbecsüljük. Így értelmetlen konfliktusok, pozícióharcok nélkül tudunk arra koncentrálni, ami a feladatunk: a társadalom számára is hasznos alap- és alkalmazott kutatást folytatni. Ma már én is a vezetés tagja vagyok és tudományos igazgatóhelyettesként azért is tevékenykedem, hogy intézetünkben egy 21. századi modern transzlációs kutatóközpont váljék.

Gábor Dénes életútja számomra arra nagyon szép példa, hogy a felfedező és alkalmazott kutatás mesterséges szétválasztása, a területen dolgozók tudománypolitikai eszközökkel történő megosztása éppoly értelmetlen, sőt káros, mint a felsőoktatás és kutatás mesterséges szétválasztása. Az elméletnek és gyakorlatnak előbb-utóbb össze kell fornia még az olyan összetett területeken is, mint az emberi agy működésének megértése és gyógyszeres befolyásolása – csak remélni tudom, hogy az én munkám sem lesz hiábavaló ezen az úton.

***Sperlách Beáta***  
***az MTA doktora***  
***egyetemi tanár***  
***tudományos igazgatóhelyettes***  
***MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet***

## JELÁTVITELI TERÁPIA



2010 decemberében az a megtiszteltetés ért, hogy megkaptam a Gábor Dénes díjat és ebből az alkalomból Szűcs Mária főszerkesztő felkért egy, az életutamat- munkásságomat ismertető cikk megírására. Nehéz az embernek saját magáról cikket írnia, ezért megpróbáltam szakmai életutamat egy alapvető és gondolkodásmódot meghatározó rögeszmeszerű koncepcióm, a jelátviteli (kommunikációs) terápia szemszögéből bemutatni. Ugyanakkor a szakmai szempontból fontos életrajzi tényeket nem kerülhettem meg.

1968-ban érettségiztem az Ady Endre 12 évfolyamos iskolában Budapesten és itteni kémia tanáromnak, Kiss Árpádnak nagy szerepe volt abban, hogy magyartanár édesanyám, Sós Júlia által belém ültetett vers és irodalom szeretet ellenére hivatásomnak a kémiát választottam. 1973-ban az ELTE-TTK vegyész szakán szereztem diplomát és diplomamunkámmal a Fiatal Kémikusok Országos Pályázatán Nívó díjat nyertem. Az ELTE Szerveskémiai Tanszékén eltöltött időnek és Bruckner Győző, Medzihradszky Kálmán és Mészáros Miomir professzoroknak, valamint a rákkutatással foglalkozó családi barátoknak, Szekerke Mária professzor asszonynak meghatározó szerepe volt abban, hogy érdeklődésem már egyetemi éveim alatt a biológiailag aktív anyagok, illetve a gyógyszerkutatás felé fordult. 1973-ban Teplán István meghívott akkor alakult Peptidkémiai kutatócsoportjába a SOTE-ra. Itt kezdtem el a peptidhormonok szerkezet - hatás összefüggéseinek vizsgálatával foglalkozni. 1978-79-es USA tanulmányutam során a UCSF Hormon Research Laboratóriumában, Prof. J. Ramachandran munkacsoportjában a peptidek jeltovábbítási mechanizmusait tanulmányoztam, és érdeklődésem ettől kezdve teljesen a sejtek közötti és sejten belüli kommunikáció, illetve a jelátvitel felé fordult, elsősorban annak a számomra meghatározó élménynek a hatására, hogy a tumoros mellékvesekéreg sejtek osztódását a specializált funkciót stimuláló ACTH hormonnal le lehet állítani. Vagyis a specifikus sejtfunkció stimulálására vonatkozó üzenet antitumor hatású volt a cAMP-hez kapcsolódó jelátvitel közvetítésével. USA tanulmányutam során ismerkedtem össze Axel Ullrichal, aki ekkor ment át a UCSF-ről a Genentechbe, és később a Max Planck Molekuláris Biológia Intézetének igazgatója lett. Ez az ismeretség egy azóta is nagyon szoros szakmai és baráti kapcsolatnak lett az alapja.

Az USA-ból hazatérve a „Gonadotrophin Releasing Hormone” (GnRH) szerkezet-hatás összefüggéseinek és jeltovábbítási mechanizmusának vizsgálatával kezdtem el foglalkozni. Eközben egy NSF grant segítségével több, rövidebb tanulmányútra visszatértem az USA-ba, ahol jelátvitelre, illetve kináz enzimekre ható peptidekkel dolgoztam. Munkatársaimmal együtt kifejlesztettünk két antitumor GnRH származékot (Ovurelin<sup>R</sup> ill. Folligen<sup>R</sup>). Nemzetközi viszonylatban először sikerült előállítanunk és hatástanilag jellemeznünk tumor szelektív hatású, jeltovábbítást gátló peptidhormon származékokat. Ezért a munkáért 1992-ben

az Európai Peptid Szimpóziumon nekem ítelték a rangos Debiopharm Peptide Awardot. Kifejlesztettünk egy TT232 jelű tumor szelektív hatású szomatosztatin peptid analógot, amely jelentős tirozin kináz gátló és programozott sejthalált indukáló, illetve *in vitro* és *in vivo* tumor gátló hatásokkal rendelkezik. Munkatársaimmal felderítettük ennek a peptidnek a teljes jeltovábbítási mechanizmusát és különböző tumor modelleken optimalizáltuk az antitumor hatást, az alkalmazás módját és idejét. Ebben az időszakban sem az MTA, sem az egyetem nem tudta kifizetni a tetemes nemzetközi szabadalmi költségeket és a Folligen<sup>R</sup> szabadalmunk el is veszett. (Közben a Folligent az angliai Tenovus Cancer Research Institute az azóta forgalomba került és nagyon sikeres Zoladex-el együtt tesztelte és hasonlóan aktívnak találta, de hormonális mellékhatások nélkül). Ezért a TT232 fenntartására és hasznosítására 1991-ben Magyarországon az elsők között alapítottam biotechnológiai céget – egy jó barátom pénzén. Ezt a TT232 jelű peptid származékot, mint tumor ellenes gyógyszer hatóanyagot Magyarországon Klinika II. Fázisig fejlesztettük és sikeresen alkalmaztuk melanomás betegeken. 2006-2007-ben a Caprion/Thallion Pharmaceuticals/ kanadai gyógyszer cég megvásárolta a TT232 licencét és öt tumor ellenes indikációban folytatja a klinikai fejlesztést.

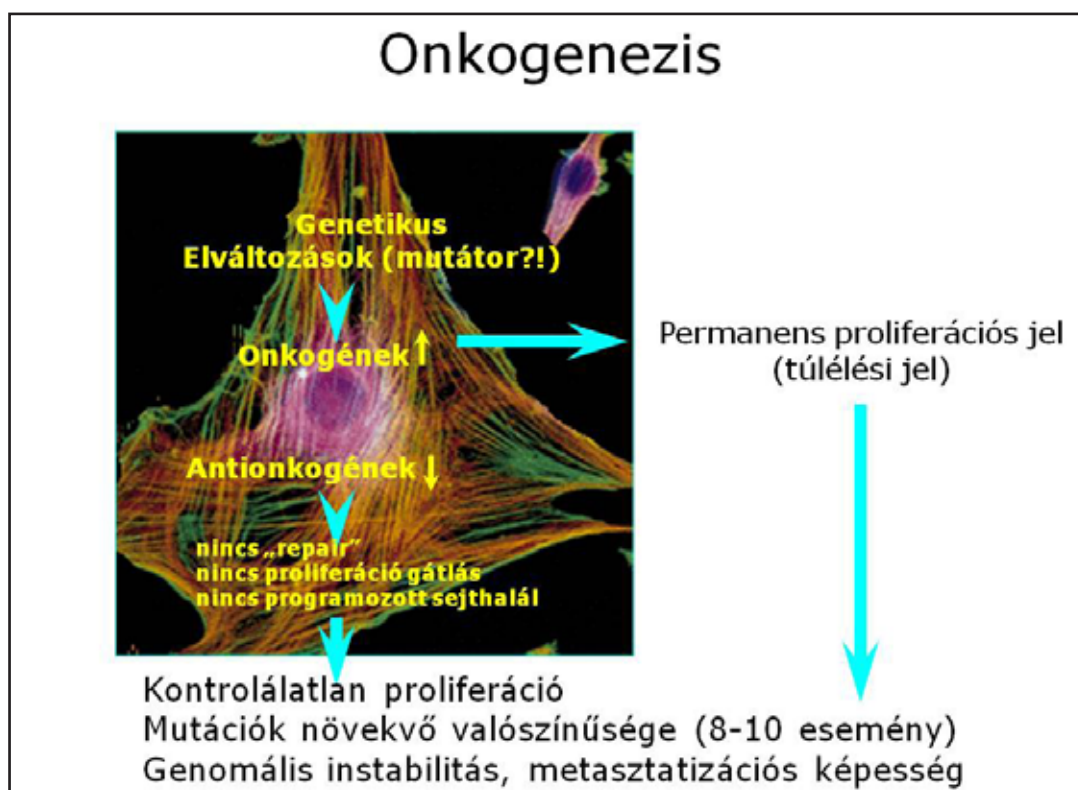
A pécsi egyetemen Szolcsányi profeszorral együttműködve kimutattuk, hogy a TT232-nek jelentős neurogen gyulladás és általános gyulladásgátló hatása van, ami összefügg a TT232 által indukált jeltovábbítási mechanizmussal, és ezzel új lehetőségeket tártunk fel a fájdalomcsillapításra, illetve pl. az arthritis gyógyítására.

A Max Planck Molekuláris Biológiai Intézetével, illetve annak vezetőjével, Prof. Axel Ullrichal együttműködve kimutattuk, hogy a TT232 intracellulárisan kötődik a pyruvát kináz glikolitikus enzim tumorban expresszáldó izoformájához (PKM2), és annak magi transzlokációját és programozott sejthalált idéz elő. Ez a felismerés egy alapvetően új és ígéretes kutatási irányt nyitott a tumor ellenes hatóanyagok kutatása és a kapcsolódó molekuláris diagnosztika terén. A PKM2-re mint terápiás célmolekulára vonatkozó szabadalmunk hasznosítására a Max Planck Intézettel kötöttünk hasznosítási szerződést. Ez a munka azért vált nagyon fontossá számomra és váltott ki jelentős nemzetközi visszhangot is, mert újraélesztette a Warburg hipotézist, illetve az ezzel kapcsolatos spekulációkat, mely szerint a tumor kialakulásában meghatározó szerepe van az aerob glikolízisnek, illetve a tejsavon keresztül történő ATP termelésnek. Az elsősorban csak a tumorokban megjelenő, illetve expresszáldó PKM2 izoforma (amit bizonyos foszforilezett onkoproteinek aktiválnak) ugyanis úgy néz ki, reguláló szerepet tölt be a glikolízis termékeinek energiatermelésre, illetve nukleotid szintézisre történő felhasználásában. Ez ugyanakkor megmagyarázza a tumorok jelentősen megnövekedett glükóz igényét és felhasználását (amely egyrészt a riboz-5-foszfáton keresztüli nukleotid szintézisre, másrészt a pro-apoptotikus jelátvitel, pl. az AMP kináz gátlására fordítódik), és a glükóz depriváció apoptotikus hatását.

Ugyanakkor az a felismerésünk, hogy a PKM2 transzlokálódik a magba és ott

transzkripció faktoroként programozott sejthalált indukál, a glikolitikus enzim komplex regulatív szerepére hívták fel a figyelmet – hasonló jelenséget a gliceraldehid 3-foszfát dehidrogenáz esetében is leírtak. Az a tény, hogy a metabolikus folyamatok és intermedierek fontos szerepet játszanak az inter és intracelluláris kommunikációban, illetve jelátvitelben, régi mániám volt abból a filozófikusnak tűnő gondolatból kiindulva, hogy az élet (ami anyagcsere) alapja a kölcsönhatás, hogy kölcsönhatásainkban létezőnk és a tápanyagfelvétel, az anyagcsere és a metabolizmus is információ tartalommal rendelkezik, része a kommunikációs mechanizmusoknak, vagyis a jelátvitelnek. Ezek az eredmények tovább mélyítették érdeklődésemet és elkötelezettségemet a jelátviteli terápia kutatására.

A jelátviteli terápia koncepciója szerint a betegségmechanizmusok molekuláris hátterében az esetek közel 90 százalékában jeltovábbítási zavarok, sejten belüli és sejtek közötti kommunikációs hibák vannak. Például egy egészséges rendszerben (sejt-társadalomban) a normál sejtek csak akkor osztódnak, ha kívülről üzenetet kapnak, pl. növekedési faktorok révén. A tumorsejt azonban pl. onkogének rendellenes működése nyomán mimikálja ezt az üzenetet, folyamatosan osztódik és újabb mutációk begyűjtésével a tumor egyre életképesebbé válik, növekszik és áttét képződik (1. ábra). De pl. a fertőző betegségeknel a



**1. ábra. Az onkogenezis mechanizmusa.**

vírusok és a baktériumok is átprogramozzák a gazdasejt jeltovábbítási mechanizmusait, hogy a sejt a kórokozót szolgálja. A jeltovábbítási terápia koncepciója tehát a hamis jelek beazonosítását és szelektív gátlását célozza meg.



A jelátvitelre ható peptidek mellett még a 80-as évek elején a másik fontos kutatási területem kismolekulájú kinázgátlók fejlesztése lett, ugyancsak a jelátviteli terápia keretében. Kismolekulájú kinázgátlókkal azért kezdtem el foglalkozni, mert 1984-ben, egy Ramachandran professzorral elnyert NSF grant keretében annak a Mike Bishopnak a laboratóriumában töltöttem 3 hónapot, aki a src onkogént, illetve a pp60src kinázt felfedezte, amiért később Nobel díjjal jutalmazták. Ramachandran professzor közben a Genentech Proteinkémiai igazgatója lett, ahova engem, mint szocialista országból jövő kutatót grant keretében történő kutatásra nem engedtek be, és így Ramachandran megszervezte nekem, hogy Bishop programján dolgozhattam, azzal az elképesztően izgalmas céllal, hogy a rák kialakulásáért – akkoriban mindenki azt hitte, hogy szinte elsődlegesen – felelős src kinázt gátoljuk. A src kinázt én tehát részben szubsztrát kötőhelyen ható peptidekkel, részben gyógyszerzerűbb kismolekulájú peptidomimetikumokkal és tirozin analógokkal próbáltam gátolni, amelyekről később kiderült, hogy ATP kompetitívek és így lassan átsodródtam a heterociklusos kismolekulájú kinázgátlók területére.

A UCSF-en eltöltött tanulmányutak és a Genentechnél Axel Ullrich-al kialakult munkakapcsolatom hatására tehát egyre nagyobb elánnal kezdtem el kis molekulájú tirozin kináz gátlókkal és ezek hatásmechanizmusával, jelaterápiás hatásával foglalkozni. A TT232 hasznosítására 1991-ben létrehozott Biosignal nevű biotech cégben, majd ennek utódcégében, a Vichem Chemie Kutató Kft.-ben kidolgoztunk egy több mint 12000 tagból álló kináz gátló molekula könyvtárat és egy alapvetően új Nested Chemical Library™ vezető molekulakereső technológiát és „pharmacophore” modell generálásán alapuló hatóanyag molekula optimalizációs módszert. A molekulakönyvtár koncepciója során Decartes-ra, a francia filozófusra szoktam hivatkozni, aki azt mondta, hogy: „Gondolkodni csak arról lehet, amit tudunk”. Ennek megfelelően az elmúlt 20 évben a publikált kináz gátló molekulák legnagyobb részét megszintetizáltuk és beépítettük a molekulakönyvtárunkba, és ezek köré a vezetőmolekulák köré fókuszált kis molekulakönyvtárakat építettünk, több lépésben. A kiválasztott, klónozott és molekuláris biológiai módszerekkel validált kináz célmolekulákon több lépésben teszteljük a molekulakönyvtárunkat, biokémiai és celluláris mérésekben. A kémiai, fizikokémiai és biológiai adatok alapján az egyes célmolekulákhoz farmakofor modellt generálunk, és ezen a modellen virtuálisan teszteljük a tervezett, illetve az adatbázisokból kiválasztott és az új szabadalmaztatható molekuláinkat. (Farmakofor modell alatt a biológiai hatásért felelős molekuláris tulajdonságok, illetve molekuláris deskriptorok rendszerezett és modellbe rendezett halmaza értendő.) Amennyiben lehetőségünk van rá, röntgenkristallográfiai vizsgálatokat is végzünk, vagy a protein adatbankból kigyűjtött 3D szerkezetet is felhasználjuk farmakofor modell generálásához, illetve racionális hatóanyag tervezéshez. Az ilyen módon kiválasztott, tervezett molekulák köré újabb fókuszált molekula könyvtárakat szintetizálunk, ezeket újból teszteljük és visszaillesztjük a modellbe. A vezetőmolekula optimalizáció ilyen „iteratív” technikával zajlik. Az új szabadalmaztatható molekulák előállításához további saját fejlesztésű technológiákat is használunk, mint pl. az ún. „master key” (mesterkulcs) és a „scaffold hopping” (alapváz-váltó) technológiáink. A leghatékonyabb molekulákat további *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokhoz nagyobb mennyiségben is

előállítjuk, a molekulákat különböző fiziko-kémiai vizsgálatokkal karakterizáljuk, és ezeket felhasználjuk a farmakofor modell további finomításához és a vezetőmolekula optimalizálásához. A módszer igen eredményesnek bizonyult nemcsak tumor, de különböző fertőző betegségek validált célmolekulái esetében is.

Az optimalizált vezetőmolekulát kináz enzimeken szelektivitási panelen teszteljük, celluláris tesztekben vizsgáljuk apoptotikus hatásmechanizmusukat, és egy speciális, ugyancsak általunk (a Max Planck-al együttműködésben) kidolgozott ún. „Target fishing” proteomikai technológiával beazonosítjuk a hatásmechanizmusért felelős célmolekulákat és az ún. „off-target”-eket, amelyek az esetleges mellékhatásokért lehetnek felelősek.

Prof. Axel Ullrich-al együttműködésben több, igen hatékony növekedési faktor receptor tirozin kináz gátló vegyületet fejlesztettünk ki. Ezek közül egy tumor-angiogenezist (ér-képződését) gátló molekula preklinikai fejlesztésig jutott (ennek továbbfejlesztése lett a ma már klinikai gyakorlatban lévő Sunitinib nevű készítménye a Pfizernek), egy „Platelet Derived Growth Factor” receptor tirozin kináz gátló anyagunkat pedig Klinika III. Fázisban vizsgálják az USA-ban. Az elmúlt 10 évben több mint 20, alacsony nanomolos dózis tartományban hatékony, szabadalmazott vagy szabadalmaztatható vezetőmolekulát fejlesztettünk ki, részben partnereknek, részben saját fejlesztésre. Jelenleg egy Axl kinázgátló molekulánk van preklinikai fejlesztés alatt a Max Planck Intézettel való együttműködés keretében.

Sarkadi Balázs professzorral együttműködve kimutattuk, hogy a gyógyszer-rezisztenciáért részben felelős ABC transzporterek a kinázgátlók bizonyos szerkezeti elemektől függő csoportjára is hatnak. Ez egy fontos, új szemponttá vált kinázgátlók racionális hatóanyagtervezésében. A jelátviteli terápiára irányuló gyógyszerkutatás legújabb eredményeinek megismeréséhez és hasznosításához nagy segítségemre volt, hogy 1992-től 1999-ig a Genentech-ből alakult és a jeltovábbítási terápia vezető cégének számító SUGen Inc. amerikai biotech cég, 1999-től pedig a Max Planck Intézet mellett működő német Axxima Pharmaceuticals tudományos tanácsadója voltam, és az Axxima-val együtt alapított Vichem Chemie Kutató Kft üv. és tudományos igazgatója vagyok jelenleg is.

Jeltovábbítási terápiára vonatkozó kutatási programunkkal 2001-ben elnyertük az OM Kutatási Kooperációs Központ létrehozására vonatkozó pályázatát, és vezetésemmel és a SOTE gesztorságával megalakult a Racionális Hatóanyag Tervező Laboratóriumok Kooperációs Kutatóközpont. Új kináz célmolekulákat azonosítottunk, és az egyénre szabott terápia koncepció szellemében ezen célmolekulákhoz kapcsolódó molekuláris diagnosztikai módszereket fejlesztettünk. Az ún. egyénre szabott terápia a jelátviteli terápia alapvető koncepciójává vált, figyelembe véve azt a tényt, hogy pl. a tumoros megbetegedések esetében az eredményes terápiához be kell tudni azonosítani, hogy milyen onkogenikus jelek működnek túlélési faktorként, mik az ún. „driver mutációk”, amelyek többnyire antiapoptotikus, survival faktorként működő kináz enzimeket kódolnak, és ekkor lehet célzott terápiát alkalmazni.

A jeltovábbítási terápia koncepcióját eredményesen alkalmaztuk fontos fertőző betegségek validált célmolekuláin. A virális betegségek kezelésére Axel Ullrich professzorral együtt kialakított koncepciónk szerint a gazdasejt jeltovábbításának gátlása révén a vírus szaporodását le lehet állítani és ez elől a vírus nem térhet ki mutációval. A humán influenza vírus szaporodásában meghatározó szerepet játszó gazdasejt kinázok gátlására kifejlesztett vegyületünk igen alacsony dózisban gátolja a vírus szaporodását. A témában elnyert EU grant és a berlini „Max Planck Institute for Infectious Diseases”-sel kialakított együttműködés, az influenza ellenes szerek iránt megnövekedett érdeklődéssel együtt, most kedvező helyzetet teremtett a gyógyszerfejlesztésre.

A jelátviteli terápia fertőző betegségekben történő alkalmazása során kiemelt indikációként kezdtünk el a tuberkulózis témával foglalkozni. Ez azért különleges betegség, mivel a baktérium beül az „ellenség szívébe”, az immunsejt makrofágba és átprogramozza annak jeltovábbítási mechanizmusát elsősorban egy PKnG nevű kináz enzim kibocsájtásával, amely így nem tudja őt elpusztítani. A baktérium tizenöt-húsz évig „elücsörög” a makrofágban (ezalatt teljesen tünetmentes lehet a páciens), majd amikor érzékeli az immunrendszer legyengülését, akkor támad. Jelenleg kétmilliárd embernek van tuberkulózisa a világon, leginkább pedig a fejlődő országokban van jelen, de az utóbbi években Európában is megjelent az ún. XDR (Extreme Drug Resistant) Tuberculosis. Erre a PKnG célmolekulára fejlesztettünk mi ki egy kináz gátlót, ami a rezisztens baktériumot is megöli a makrofágban. Amikor négy évvel ezelőtt felajánlottuk ezt a hatóanyagot egy nagy nemzetközi gyógyszergyárnak, nem érdekelte őket, ezért európai uniós támogatásokból fejlesztjük tovább, a Pasteur Intézettel együttműködve. Az egyik ilyen Tb-drug nevű uniós konzorciumnak én vagyok a koordinátora és most egy nagyobb konzorciumban újabb támogatást kaptunk a témára. Közben kiderült, hogy a makrofágon kívül is megélő, illetve a már aktív baktérium elpusztításához mindenképpen több célmolekula egyidejű gátlására van szükség, ami az ún. „multiple target” kinázgátlók kifejlesztését teszi szükségessé.

Ez a többszörös cél („multiple target”) koncepció az elmúlt időszakban a tumorterápiában is nagyon fontossá vált, különösen a tumor őssejt terápia szempontjából. A tumorok kialakulásának, az ún. onkogenezis folyamatának megismerése, illetve megértése számomra alapvető fontosságú a terápiás lehetőségek szempontjából. A tumor őssejt koncepció szerint van egy olyan sejtcsoport a daganaton belül, amelyet lassú sejtciklus, magas repair és több új mutáció megjelenése jellemez, fokozottan terápia rezisztens, önmegújításra, klónképzésre képes és ezáltal egy új genotípusú, terápia rezisztens daganatot tud létrehozni. A tumor őssejtek aszinkronosan osztódnak, azaz egyrészt önmagukat reprodukálják, másrészt olyan leánysejtet hoznak létre, amelyekbe csak bizonyos onkogenikus jelek mennek át, és itt domináns túlélési faktorként működnek. Tehát miközben a kifejlődött tumor (a leánysejtek által dominált tumor tömeg) bizonyos onkogenikus jelektől jelfüggő, azaz ezek gátlása programozott sejthalált indukál, a tumor őssejt a többféle túlélési faktor jele és az aktív transzporterei miatt terápia rezisztens. Ezért a tumorok jelátviteli terápiája az onkogenikus jel és a tumor-őssejt túlélési faktorok egyidejű gátlásával, több célpontú támadás-

sal és molekuláris diagnosztikával együtt képzelhető el. A Vichem Kft., a KPS Kft.-vel és Sarkadi Balázs kutatócsoportjával szorosán együttműködve elindított egy nagyszabású ilyen programot, ahol 18 sejtvonalon és klonalitás assayben is teszteljük a többszörös célpontú kináztatóinkat. Sikerült már olyan hatóanyagokat beazonosítanunk, amelyek bizonyos specifikus onkogéneket expresszáló sejtvonalakat közel 100%-osan elpusztítanak, ugyanakkor más sejtvonalakon nem hatnak, tehát nem toxikusak, és *in vivo* modellben is hatásosnak bizonyultak, bár farmakológiai és hatástani szempontból is további optimalizációt igényelnek.

Befejezésül hangsúlyozni szeretném, hogy azok az eredmények, amelyekről itt beszámoltam, sok kiváló munkatársam jelentős csapatmunkájaként jöttek létre. A munkában meghatározó szerepet vállaló munkatársaim: A Vichemben Dr. Órfi László, Dr. Greff Zoltán, Dr. Pató János, Dr. Szabadkai István, Horváth Zoltán, Dr. Marosfalvi Jenő, Dr. Szilágyi Ildikó, Dr. Wácsek Frigyes, Dr. Szegedi Zsolt, Dr. Erős Dániel, Dr. Szántai Kiss Csaba, Dr. Bánhegyi Péter, Dr. Székelyhidi Zsolt, Breza Nóra, Hegymegi-Barakonyi Bálint, Németh Gábor, Székely Rita, Szokol Bálint, Varga István, Varga Zoltán és a PhD hallgatók, Baska Ferenc, Garamvölgyi Rita, Kékesi László, Péntes Kinga, Sipos Anna. Az egyetemi jelterápiás csoportban: Dr. Mező Imre, Dr. Horváth Anikó, Dr. Seprődi János, Dr. Vántus Tibor, Dr. Bökönyi Gyöngyi, Tanai Henrietta, Tóvári Emőke, Szabó Edit és a PhD hallgatók, Borbély Gábor, Gyulavári Pál, Kurkó Ibolya, Varga András, Varga Attila. Az SE Racionális Hatóanyagtervező Laboratóriumok KKK-ban, illetve a KPS Kft-ben Dr. Schwab Richard, Dr. Peták István, Dr. Szokolóczi Orsi, Dr. Várkonyi Edit, Dr. Pintér Ferenc.

***Kéri György PhD, DSc  
Semmelweis Egyetem kutatóprofesszor  
Vichem Chemie Kutató Kft.  
üv. és tudományos igazgató***



## 90 ÉVES A DEBRECENI EGYETEM ORVOSI VEGYTANI INTÉZETE

A magyar királyi grófról, Tisza Istvánról elnevezett Debreceni Tudományegyetem Orvoskarát 1918-ban alapították. Bár a Kar vezetői mindent megtettek annak érdekében, hogy a képzést minél hamarabb beindítsák, az orvostanhallgatók kémiai tanulmányaira, megfelelő előadó tanár hiányában, először csak az 1921/22. tanévben kerülhetett sor. Ekkor a Kar meghívta Hatos Gézát, a pallagi (debreceni) Gazdasági Akadémia Kémia Intézetének tanárát az orvosi kémia oktatására. A felkérésnek Hatos Géza úgy tett eleget, hogy hetente két alkalommal másfél-másfél óra előadást tartott a Dél-magyarországi Közművelődési Egyesület (DEMKE) termében. A gyakorlatokra a Pallagon lévő laboratóriumban került sor hetente egy alkalommal. A szervezés nehézségeire utal, hogy az előadások csak november 3 után kezdődtek el. A diákság a gyakorlatokat gyéren látogatta, amit azzal indokoltak, hogy az utazás sok idejüket veszi el, és ráadásul a fűtetlen vasúton (a villamos elődjén) még meg is fázhatnak. Verzár Frigyes, az Orvostudományi Kar dékánja átlátta az oktatás nehézségeit, és 1921. december 15-én kelt levelében javaslatot tett egy önálló *Chémiai* Tanszék felállítására a kar keretein belül. Ennek szellemében az Orvostudományi Kar Tanácsa XII. rendes ülésén 1922. március 17-én döntött az Orvosi Vegytani Tanszék visszamenőleges hatállyal történő létrehozásáról. A Tanszék számára, az Orvosi Fizika Tanszékkel megosztva, a DEMKE épület I. emeletén biztosítottak egy szobát.



**A DEMKE debreceni épülete (lebontották).**

Az Intézet rangjára emelt szervezeti egység vezetésére 1922-ben Dobi Géza, a Budapesti Közgazdasági Egyetem magántanárának pályázatát fogadták el, különös tekintettel arra, hogy a jelölt jártas volt a *byochémiai* kutatásokban, ami az orvosképzés szempontjából különösen fontos biológiai szemléletet biztosította. Dobi Géza debreceni karrierje nem tartott sokáig, mert 1923-ban tanszékvezetői

kinevezést nyert a Közgazdasági Egyetemre, így egy év után visszatért Budapestre. A megüresedett intézetvezetői helyre kiírt pályázatot Bodnár János, a Ferenc József Tudományegyetem docense nyerte el, aki korábban a mezőgazdasági kémia iránt érdeklődött, azonban újabb munkáit az *enzymologia* területén végezte. Bár Bodnár János 1923-ban a szegedi és a debreceni Tudományegyetemen is nyilvános rendes tanári kinevezést kapott, ő Debrecent választotta. Egy tanársegéd és három díjtalan gyakornok segítségével az ő vezetésével indult meg az orvostanhallgatók és a bölcsészhallgatók kémia oktatása az 1923/24. tanévben. 1924-ben javaslatára az intézmény nevét Chemiai Intézetre változtatták, azonban 1927-től visszatértek az eredeti Orvosi Vegytani Intézet megnevezésre, amelyet azóta is használunk. Működése során, 1924-ben az intézet a Bem tér 18/B. (régábban Simonyi út 16.) alatti hajdani tanítói árvaház épületébe költözött. 1937-ben Bodnár Jánost az MTA levelező tagjává választotta, három tanévben volt az Orvostudományi Kar dékánja, a vészterhes 1943/44. tanévben pedig a Tudományegyetem rektori teendőit látta el. 1945 őszén helyén maradt, sőt számos elmenekült professzortársa helyettesítését is magára vállalta. A II. világháború során az épületet bombatalálat érte, ezért 1945-47 között a kémia oktatása a klinikatelepen lévő elméleti intézetekben folyt tovább. Bodnár János aktívan részt vett a Bem téri épület helyreállításában, ennek köszönhetően 1948-tól itt folytathatta az oktatást és szerteágazó, az orvosigazságügyi, növényvédelmi, dohány- és ásványkémiai területeket felölelő kutatómunkáját. Nyugdíjba vonulása után, 1950-ben munkatársa Straub János egyetemi docens vette át az intézet vezetését, aki 1953-ban kapott egyetemi tanári kinevezést. Egységesítette a kutatást, és elsősorban az ásványi és gyógyvizek analitikájának fejlesztését helyezte előtérbe. 1956-ban bekövetkezett váratlan halála után Porcsalmi Ilona egyetemi adjunktus kapott ideiglenes vezetői megbízatást. Az 1957/58. tanévben Szarvas Pál professzor, a Természettudományi Kar Szervetlen és Analitikai Tanszékének vezetője másodállásban látta el az intézet irányítását.



**Az Orvosi Vegytani Intézet korábbi épülete (Debrecen, Bem tér 18/B.)**

A vezetőváltás nehézségeit Bot György egyetemi docens 1958-ban történő vezetői megbízása oldotta meg, aki 1961-ben egyetemi tanári kinevezést nyert, és ilyen minőségben 1987-ig állt az intézet élén. 1959/60-ban a Debreceni Orvostudományi Egyetem (DOTE) oktatási rektorhelyettese volt. Irányítása alatt az intézet kutatási profilja fokozatosan újra biokémiai jelleget öltött. A szénhidrátanyagcsere, ezen belül a glikogénlebontás szabályozása vált az intézet fő témájává. Bot professzor munkatársai közé tartozott az intézet jelenlegi igazgatója, Gergely Pál, valamint három kutatócsoport vezetője, Dombrádi Viktor, Erdődi Ferenc és Csontos Csilla. Az ő munkásságukat a történeti bevezetőt követő, a munkacsoportok tevékenységét bemutató ismertető foglalják össze. Gergely Pál egyetemi docens 1987-ben lett az intézet megbízott igazgatója, és egy év múlva, 1988-ban kapta meg egyetemi tanári és intézetigazgatói kinevezését. 1997-1999 között az ÁOK dékánjaként, 1999-ben a DOTE tudományos rektorhelyetteseként, 2000-2010 között pedig a Debreceni Egyetem Orvos és Egészségügyi Centrumának tudományos elnökhelyetteseként vett részt az egyetem irányításában. Vezetésével az intézet tudományos tevékenysége az enzimfehérjék szerkezete és funkciója közötti összefüggés tanulmányozására, ezen belül a fehérje foszforilációt-defoszforilációt katalizáló protein kinázok és foszfatázok vizsgálatára irányult. 2008-ig, Vereb György egyetemi docens visszavonulásáig a tematika kiegészült a foszfolipid metabolizmus egyik enzimének, a foszfatidilinozitol-4-kináz vizsgálatával. 1999-ben csatlakozott az intézethez Virág László, aki a fehérjék ADP-ribozilálásával, egy újabb poszttranszlációs módosítással bővítette a kutatási profilt (lásd a munkacsoport ismertetését). Gergely Pál 2004-től az MTA levelező tagja, 2010-től az MTA rendes tagja. 2006-ban hozta létre az MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoportot, melynek működése szorosan kapcsolódik az Orvosi Vegytani Intézet tevékenységéhez. 2005-től az Intézet az újonnan épített Élettudományi Központban kapott elhelyezést a Debreceni Egyetem központjában, egy modern építészeti stílusban megvalósított épületben. Itt a XXI. század követelményeinek megfelelő körülmények között folytatjuk munkánkat.



**Élettudományi Központ (Debrecen, Egyetem tér 1.)**



Az Orvosi Vegytani Intézet szerteágazó oktatómunkát végez az egyetem több karán (ÁOK, FOK, NEK, ETK, TTK). Magyar és angol nyelven oktatjuk az orvosi kémia és molekuláris biológia tantárgyakat, évente mintegy 1200 hallgatónak. A tanulást az intézet munkatársai által írt és szerkesztett számos tankönyv és egyetemi jegyzet kiadásával segítjük elő. Intézetünk aktívan részt vesz a TDK és a PhD képzésben, szabadon választható kurzusok szervezésében és a hallgatók tudományos munkájának irányításában. Az intézet kutatási és oktatási profilja megismerhető és nyomon követhető az intézet internetes honlapján ([www.medchem.dote.hu](http://www.medchem.dote.hu)). Az Intézet részletes története és professzorainak életrajza Kapusz Nándor, Petrovics Alica, Vásárhelyi Ferencné: Kilencvenéves a debreceni orvosképzés (Harmadik átdolgozott kiadás, Debrecen, 2008) című könyvében olvasható.

**Dombrádi Viktor**

## I. Jelátviteli kutatócsoport



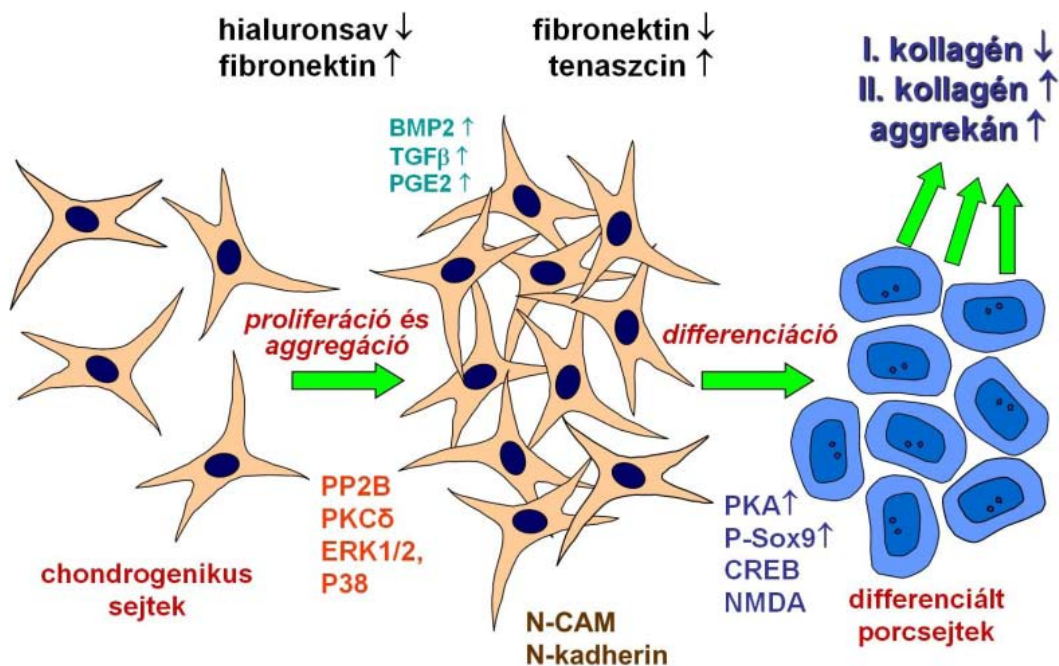
**Dr. Gergely Pál, akadémikus, egyetemi tanár, csoportvezető**

A fehérjék foszforilációs szintjét megszabó protein kinázok és foszfatázok számos sejtfolyamat szabályozásában töltenek be fontos szerepet. Célunk a különböző sejtek szabályozási mechanizmusában szerepet játszó kinázok és foszfatázok típusának, szerkezetének, valamint az aktivitásukat befolyásoló kölcsönhatásoknak a tanulmányozása. A csoportban Dr. Bakó Éva, Dr. Zákány Róza, Dr. Matta Csaba, Dr. Juhász Tamás és Doçsa Tibor mellett 4 PhD hallgató, Kolozsvári Bernadett, Somogyi Csilla, Katona Éva és Takács Roland dolgozik. Bővebben a csoport munkájáról az érdeklődők tájékozódhatnak a <http://medchem.dote.hu> és <http://rcmm.med.unideb.hu> honlapokon. A munkatársak egyik része az MTA által támogatott MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoportnak is tagja, illetve a Debreceni Egyetem Kutatóegyetemi pályázatának is részesei.

### **I/1. Protein kináz C és calcineurin jelátviteli pályák szerepe a kondrogenézisben**

Vizsgálataink középpontjában egyes protein kináz és foszfatáz enzimeknek a porc-képződés szabályozásában betöltött szerepe áll. Kísérleti modellünk csirkeembriók végtagtelepeiből előállított primer, porcosodó high density mesenchymális sejt kultúra (HD kultúra), melyben a porcképződés valamennyi fázisa spontán lezajlik 6 nap alatt, így a folyamat során bekövetkező intracelluláris történések és a porcmátrix változásai jól nyomon követhetők.



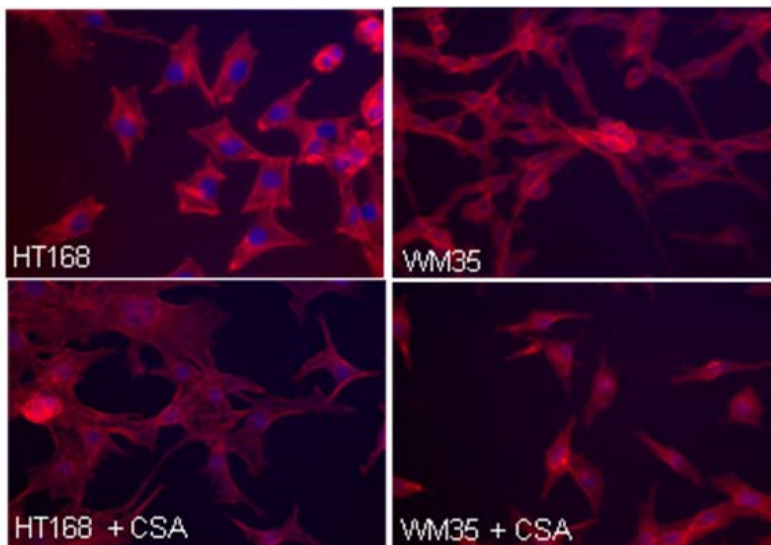


**A HD-kultúrák sejtjei nagyon bonyolult, sok lépésből álló és szigorúan szabályozott egymás utáni folyamatok végén hat nap alatt hialinporccá differenciálódnak.**

Tanulmányozzuk a kalciumion intracelluláris koncentrációváltozásait, kalcium ionoforok alkalmazását követően a kalcineurin és egyes protein kináz C (PKC) izoenzimek (elsősorban a PKC $\delta$ , PKC $\mu$  és PKC $\zeta$ ) expressziójának és aktivitásának változásait, illetve ezek hatását a porcképződés markereire. Kalcineurin, PKC izoenzimek aktív és inaktív variánsainak tranziens transzfekciójával előállított kultúrákban vizsgáljuk a porcdifferenciáció változásait, a porcosodó sejtek különböző életfunkcióit, a CREB, NFAT, Sox9 és NFkappaB transzkripció faktorok expressziójának, foszforilációjának változásait. Tanulmányozzuk a PKC izoenzimek tranziens transzfekciójának és/vagy gátlásának hatását a kalcineurin expressziójára és aktivitására, valamint a többi PKC izoenzim funkcióira.

## **I/2. Protein foszfatázok (PP1, PP2A és PP2B) szerepének vizsgálata humán melanoma sejtvonalak biológiai viselkedésének és jelátvitelének szabályozásában**

Három melanoma sejtvonalban tanulmányozzuk a PP1, PP2A és a kalcineurin (PP2B) mRNS és fehérje expresszióját, meghatározzuk a különböző foszfatázok aktivitását. Sejtpermeabilis inhibitorokkal gátoljuk a fenti foszfatázok működését, vizsgáljuk a sejtekben a foszfatázok expresszióját, aktivitását, a sejtszaporodás mértékét, a sejtek életképességét, az apoptotikus sejtek számát, a sejtvonalak metasztázist képző és invazív képességét. A foszfatázok konstitutív aktív katalitikus részének overexpressziójával tanulmányozzuk a melanomasejtek proliferációs képességének, túlélésének, metasztázist képző és invazív képességének változását.



**Melanomasejtvonalakaktin citoskeletonjának változása ciklosporin A (CSA) jelenlétében (kalcineurin gátlásának hatása).**

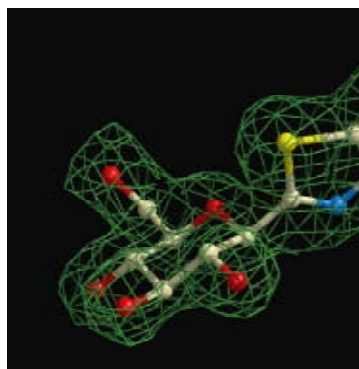
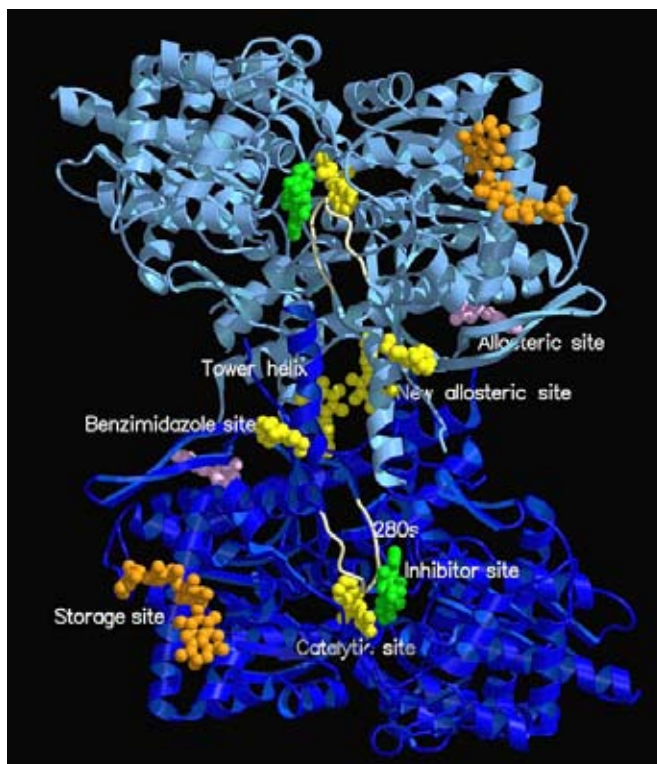
A foszfatázok farmakológiai gátlásának, illetve overexpressziójának hatását vizsgáljuk az ERK1/2 expressziójára és foszforilációjára, kiegészítve az ERK1/2 farmakológiai gátlásával. Az ERK1/2 génkifejeződését gátló shRNS alkalmazásának hatásait vizsgáljuk a melanomasejtek proliferációjára, életképességére, apoptózishajlamára, metasztázisképző és invazív képességére. Vizsgáljuk a foszfatázok és az ERK1/2 gátlások hatását a melanomasejtek CREB

expressziójára és foszforilációjára is. Tanulmányozzuk a hialuronsav szintáz (HAS) enzimek, illetve a hialuronsavköti CD44 fehérje és mRNA szintjeit. A foszfatázok és az ERK1/2 enzimgátlásoknak a HAS, CD44 és hialuronsav szintekre gyakorolt hatását is detektáljuk. A HAS shRNSEk transzfekciójával történő gátlásának a melanoma sejtek invazivitására és metasztázisképző képességére gyakorolt hatását is vizsgáljuk.

### **I/3. Hypoglykaemiászerek tervezése a nem-inzulin-dependens diabetes mellitus kezelésére a glikogén foszforilázra ható inhibitormolekulákkal**

A glikogén foszforiláz (GF) aktivitásának szabályozása kulcsfontosságú a szervezet vércukorszintjének megfelelő szinten tartásában. Az enzim gátlása új lehetőségeket nyit meg a 2-típusú diabetes kezelésében. Számos glükóz-származék, az enzim aktív centrumához kötődve fejti ki gátló hatását. A Debreceni Egyetem TTK Szerves Kémiai Tanszék munkatársai (Prof. Somsák László és csoportja), továbbá külföldi kollaborációs partnerek (Prof. J.P. Praly és munkatársai, Lyoni Egyetem) számos, aktív centrumhoz kapcsolódó ligandumot állítanak elő. Tanulmányozzuk ezen vegyületek hatását a GF aktivitására. Az egyik tiohidantoin származék, a D-glükopiranozilidén-spiro-tiohidantoin, az izom és a máj (GF) enzimek hatékony inhibitora, gátlási állandója néhány mikromol értékű. Újabb hidantoin-származékok szintézise jobb gátlási adatokkal rendelkező vegyülethez, az *N*-(2-naftoil)-*N'*-( $\beta$ -D-glükopiranozil)ureához ( $K_i=0.4 \mu\text{M}$ ) vezetett, ráadásul ez a származék erősen kötődik az enzim katalitikus centrumához és az enzim újonnan felfedezett allosztérikus gátlóhelyéhez is.

Az iminocukrok bár jól kötődnek a GF molekulához, de gátlóképességük különböző kémiai módosításokkal már nem fokozható (pl. izofagomin, azafagomin, noeuromicin, DAB, amelyeknek az  $\text{IC}_{50}$  értéke mikromol/ $\text{dm}^3$ -es tartományba esik). A legjobb gátlóhatású glükózszármazékokkal végzett állatkísérletek



**A glikogén foszforiláz kötőhelyei és egy hatékony inhibitor (glükóz-származék) térszerkezete.**

(sztreptozotocin-indukált diabetes Wistar patkányokban, spontán diabetes *obese Zucker* patkányokban) eredményei arra utalnak, hogy a vércukorszint csökkenthető anélkül, hogy hypoglykaemiára utaló jeleket tapasztalnánk. Adataink megerősítik, hogy a GF célpontja lehet az antidiabetikus gyógyszerjelölt molekulák további kutatásának. Az új allosztérikus kötőhely a GF enzimet inaktív konformációban stabilizálja és az ide illeszkedő molekulák már nanomol koncentrációban gátolhatják az enzim aktivitását, vonzó lehetőséget teremtve a diabetes terápiás kezelésére.

### Válogatott közlemények:

- Zákány, R., Szíjgyártó, Z., Matta, C., Juhász, T., Csontos, C., Szűcs, K., Czifra, G., Bíró, T., Módis, L., Gergely, P.: Hydrogen peroxide inhibits formation of cartilage in chicken micromass cultures and decreases the activity of calcineurin: implication of ERK1/2 and Sox9 pathways. *Exp. Cell. Res.* 305, 190-199 (2005)
- Somsák, L., Nagy, V., Hadady, Zs, Felföldi, N., Docsa, T., Gergely, P.: Recent developments in the synthesis and evaluation of glucose analog inhibitors of glycogen phosphorylases as potential antidiabetic agents. *Front. Med. Chem.* 2, 253-272 (2005)
- Zákány, R., Bakondi, E., Juhász, T., Matta, Cs., Szíjgyártó, Zs., Erdélyi, K., Szabó, É., Módis, L., Virág, L., Gergely, P.: Oxidative stress-induced poly(ADP-ribosyl)ation in chick limb bud-derived chondrocytes. *Int. J. Mol. Med.* 4, 597-605 (2007)
- Matta, Cs., Fodor, J., Szíjgyártó, Zs., Juhász, T., Gergely, P., Csernoch, L., Zákány, R.: Cytosolic free  $\text{Ca}^{2+}$  concentration exhibits a characteristic temporal pattern during in vitro cartilage differentiation: a possible regulatory role of calcineurin in Ca-signalling of chondrogenic cells. *Cell Calcium* 44, 310-323 (2008)



Juhász, T., Matta, Cs., Veress, G., Nagy, G., Szíjgyártó, Zs., Molnár, Zs., Fodor, J., Zákány, R., Gergely, P.: Inhibition of calcineurin by cyclosporine A exerts multiple effects on human melanoma cell lines HT168 and WM35. *Int. J. Oncol.* 34, 995-1003 (2009)

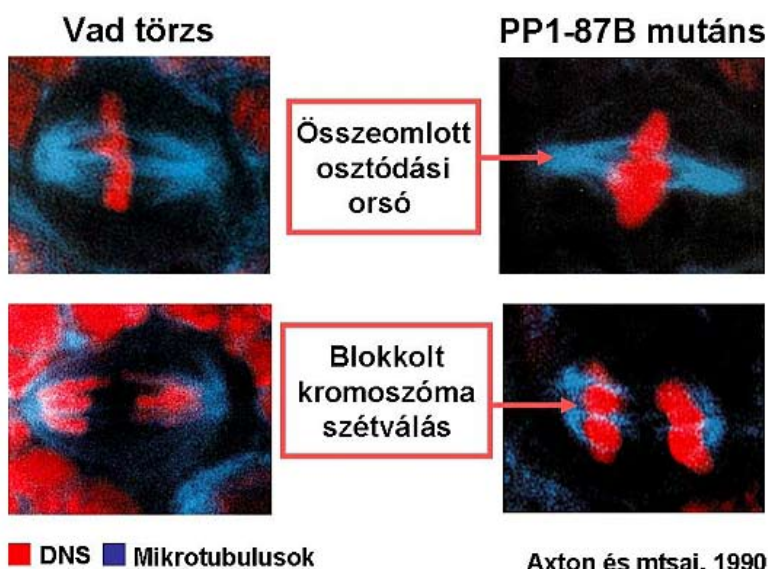
Fodor, J., Matta, Cs., Juhász, T., Oláh, T., Gönczi, M., Szíjgyártó, Zs., Gergely, P., Csernoch, L., Zákány, R.: Ionotropic purinergic receptor P2X<sub>4</sub> is involved in the regulation of chondrogenesis in chicken micromass cell cultures. *Cell Calcium* 45, 421-430 (2009)

## II. Protein defoszforilációs munkacsoport



**Dr. Dombrádi Viktor, egyetemi tanár, csoportvezető**

1976-ban friss okleveles vegyész diplomával a zsebemben jelentkeztem munkára a DOTE Bot György professzor által vezetett Orvosi Vegytani Intézetébe. Nagyon gyorsan rá kellett jönnöm arra, hogy a tanulás nem fejeződik be az egyetem elvégzésével, ugyanis abban az időben a vegyészképzésből kimaradt a biológia és a biokémia oktatása, nekem viszont a glikogén anyagcsere szabályozásával kellett foglalkoznom. Szerencsére kiváló tanító mestereim voltak, Vereb György és Gergely Pál adjunktusok személyében. Később két hosszabb külföldi tanulmányutam eredményei alapján döntöttem a fehérjék defoszforilációját katalizáló protein foszfatázok kutatása mellett. Ernest Y.C. Lee laboratóriumában (Miami



**1. ábra. A protein foszfatáz 1 egyik izoenzime szükséges az anafázis befejezéséhez.**



Egyetem, Biokémiai Intézet, Miami, Florida, USA, 1980/81) a protein foszfatáz katalitikus alegységek tisztítását és jellemzését végeztem. Hazatérésem után Friedrich Péter tanácsára és munkacsoportjával (MTA SZBK Enzimológiai Intézet, Budapest) együttműködve bekapcsolódtam a *Drosophila melanogaster* tanulmányozásába, és több tízezer muslica feláldozásával bebizonyítottam, hogy ebből a kis rovarból is ki lehet nyerni a protein foszfatáz 1 katalitikus alegységét. A modell organizmus előnyeit akkor tudtam kihasználni, amikor Tricia Cohen laboratóriumában (Dundee-i Egyetem, Biokémiai Intézet, Dundee, UK, 1988/89 és 1990/91), molekuláris biológiai módszerekkel igazoltam, hogy az eredetileg egységesnek gondolt preparátumban négy különböző protein foszfatáz 1 izoforma található. A Gausz János (MTA SZBK Genetikai Intézet, Szeged) által előállított mutánsok felhasználásával bizonyítottuk, hogy az egyik izoenzim (PP1-87B) nélkülözhetetlen a sejtciklus lejátszódásához (1. ábra), azaz a foszfatázok a kinázokkal egyenértékű regulációs szerepet töltenek be. Azt is kimutattuk, hogy a biokémiailag már jellemzett foszfatázokon kívül számos „új típusú” foszfatáz is megtalálható a muslicákban.

Ezen eredményekre alapozva 1992-ben egy asszisztenssel és néhány lelkes PhD hallgatóval hoztuk létre a Protein defoszforilációs munkacsoportot az Orvosi Vegytani Intézetben. Azóta 5 hallgatónk szerezte meg a PhD címet. Fő célunk új protein foszfatázok azonosítása és funkciójuk meghatározása volt. A *Drosophila* témát az MTA SZBK Genetikai és Biokémiai Intézet munkatársaival folytattuk, jelenleg Kókai Endre tanársegéd, Ádám Csaba predoktori ösztöndíjas, Kerekes Éva PhD hallgató és Boros Enikő BSc hallgató vesz részt ebben a munkában.

A sejtciklus szabályozásának tanulmányozására együttműködésbe kezdtünk Dudits Dénessel és munkatársaival (MTA SZBK Növénybiológiai Intézet, Szeged). Csoportunkból Farkas Ilona docens, Tankáné Farkas Andrea asszisztens, Tóth Mára MSc és Gajtkó Andrea BSc hallgatók dolgoznak a növényi protein foszfatázok regulációján.

Szabó Gáborral (DOTE Biológiai Intézet) kezdtük el a *N. crassa* protein foszfatázainak vizsgálatát. A tőle örökölt témát kiterjesztve a patogén gombák jelátvitelén dolgozik Kovács László tudományos segédmunkatárs, Kelemenné Szántó Ágota asszisztens, Petrényi Katalin MSc és Boros Enikő BSc hallgató. Fő együttműködő partnereink ezen a téren Pócsi István (DE TTK Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék), valamint Joaquin Arino (Barcelonai Autonóm Egyetem, Biokémia és Molekuláris Biológia Tanszék).

Munkánk során számos új protein foszfatáz katalitikus és regulátor alegységet mutattunk ki és jellemeztünk. Funkciójuk megállapítása már nehezebb feladatnak bizonyult, ugyanis rájöttünk arra, hogy több redundáns protein foszfatázt olyan funkcionális retrogének kódolnak, melyek egyedi szerepe még nem alakult ki az evolúció során. Ezek a here aktív génexpressziós rendszerét meglovagolva specifikusan a hímek nemi szervében fejeződnek ki. Találtunk olyan regulátort, amely csak bizonyos körülmények között, „másodállásban” lép kölcsönhatásba a foszfatázzal, egyébként RNS-kötő fehérjeként működik. Az is kiderült, hogy az egyik organizmusban már jól jellemzett foszfatáz egy másik élőlényben, más

környezetben, másképpen regulálódhat, és ily módon más feladatokat láthat el. A fehérje foszforiláció valamint a molekuláris biológiai módszerek területén szerzett szakértelmünket több, a foszfatázoktól független hazai együttműködés keretében is kamatoztattuk. Munkacsoportunkról részletes információ található a DEOEC Orvosi Vegytani Intézet honlapján: <http://medchem.dote.hu/hu/kutatas/munkacsoport/functional.htm>, illetve az RCMM honlapján: <http://rcmm.med.unideb.hu/research-groups/protein-dephosphorylation>. Közleményeink jegyzéke az MTMT adattárban érhető el: <https://vm.mtmt.hu/search/slist.php?kozid=06350&>.

### Válogatott közlemények:

- Axton, J.M., Dombrádi, V., Cohen, P.T.W., Glover, D.M.: One of the protein phosphatase 1 isoenzymes in *Drosophila* is essential for mitosis. *Cell* 63, 33-46 (1990)
- Dombrádi, V., Kriglstein, J., Klumpp, S.: Regulating the regulators, Conference on protein phosphorylation and protein phosphatase. *EMBO J.* 3, 120-124 (2002)
- Kókai, E., Tantos, Á., Vissi, E., Szőőr, B., Tompa, P., Gausz, J., Alphey, L., Friedrich, P., Dombrádi, V.: CG15031/PPYR1 is an intrinsically unstructured protein that interacts with protein phosphatase Y. *Arch. Biochem. Biophys.* 451, 59-67 (2006)
- Farkas, I., Dombrádi, V., Miskei, M., Szabados, L., Koncz, Cs.: Arabidopsis PPP family of serine/threonine phosphatases. *Trends Plant Sci.* 12, 169-176 (2007)
- Kovács, L., Farkas, I., Majoros, L., Miskei, M., Pócsi, I., Dombrádi, V.: The polymorphism of protein phosphatase Z1 gene in *Candida albicans*. *J. Basic Microb.* 50, S74-S82 (2010)
- Ádám, Cs., Henn, L., Miskei, M., Erdélyi, M., Friedrich, P., Dombrádi, V.: Conservation of male-specific expression of novel phosphoprotein phosphatases in *Drosophila*. *Dev. Genes. Evol.* 220, 123-128 (2010)

### III. Protein foszfatázok és biomolekuláris interakciók a jelátvitelben

#### A munkacsoport tagjai:



Dr. Lontay Beáta, egyetemi adjunktus  
Dr. Kiss Andrea tudományos munkatárs

Doktorjelöltek: Bátori Róbert Károly, Dedinszki Dóra  
PhD hallgatók: Bécsi Bálint, Sipos Adrienn, Kónya Zoltán

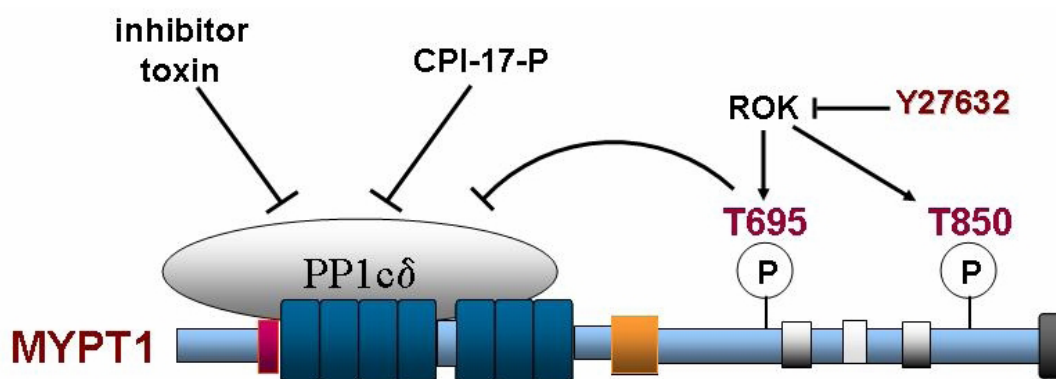
Laboratóriumi technikusok: Dr. Németh Árpádné, Doca Andrea

#### Dr. Erdődi Ferenc, egyetemi tanár, csoportvezető

A fehérjék reverzibilis foszforilációjával szabályozott sejtfolyamatokban fontos szerepet játszanak a defoszforilációt katalizáló foszfoszerin/treonin (Ser/Thr) specifikus protein foszfatázok. Ezek közül a protein foszfatáz 1 (PP1) és 2A

(PP2A) enzimek az emlős sejtek számos jelátviteli útvonalában érintettek. A PP1 és a PP2A katalitikus alegységek (PP1c és PP2Ac) a nagyszámú foszfofehérje specifikus defoszforilációját úgy végzik, hogy olyan fehérjékhez kötődnek, amelyek a szubsztrát és egyéb, pl. szerkezeti fehérjékkel asszociálva, mintegy „célra irányítják” (targeting) az enzimeket. Ma már több mint 50 olyan fehérjét ismerünk (mindkét enzimtípusra), amelyek a katalitikus alegységekhez kötődve szabályozzák azok celluláris funkcióit. Munkacsoportunk fő kutatási célkitűzése e célra irányító szerkezeti tényezők megismerése és ezek celluláris szabályozási jelentőségének feltárása. Célunk PP1 és PP2A specifikus inhibitorok azonosítása és felhasználása ezen enzimek funkciójának feltárására.

Az utóbbi években a PP1 holoenzimek közül a miozin foszfatáznak (MP) a sejt-folyamatokban betöltött szerepét tanulmányozzuk. A miozin-II 20 kDa könnyűláncának (MLC20) defoszforilációjában szerepet játszó foszfatáz fontosságára az a megfigyelés irányította a figyelmet, hogy a simaizom tenzió az intracelluláris  $Ca^{2+}$ -szint jelentős növekedése nélkül is kifejlődik ( $Ca^{2+}$ -szenzitizáció), ha a MP-t pl. membrán-permeábilis foszfatá zgátló toxinokkal (pl. okadánsav (OA), kalikulin-A (CLA)) gátolják. A MP holoenzim a 38 kDa PP1c és a miozinhoz is kötődő 130/133 kDa regulátor alegység (MYPT1) kölcsönhatásával alakul ki, amelynek része lehet még egy 20 kDa (M20) ismeretlen funkciójú fehérje is. A  $Ca^{2+}$ -szenzitizáció a MYPT1-nek és/vagy a foszforiláció-függő 17 kDa inhibitor fehérjének (CPI-17) a foszforilációjával valósulhat meg.



**A miozin foszfatáz (MP) szerkezete és szabályozása a regulátor alegység (MYPT1) és inhibitor fehérje (CPI-17) foszforilációjával és a katalitikus alegységekhez kötődő gátló toxinokkal.**

### III/1. A miozin foszfatáz szerkezete és szabályozása foszforilációval

Korábban felszíni plazmonrezonancián alapuló (SPR) kötődési módszer alkalmazásával kimutattuk, hogy a PP1c-vel való kölcsönhatásban a MYPT1 N-terminális régiói vesznek részt (Dr. Tóth Attila, korábbi PhD hallgató munkája). Az aktivitás szabályozása (a PP1c gátlása) a C-terminális régióban lévő Thr695 és Thr850 oldalláncok Rho-kináz (ROK), vagy pl. integrinekhez kötődő kináz (ILK) általi foszforilációjával valósul meg (Dr. Murányi Andrea és Dr. Kiss Enikő, korábbi PhD hallgatók munkája). Kimutattuk azt is, hogy a MYPT1 Ser694 oldalláncának

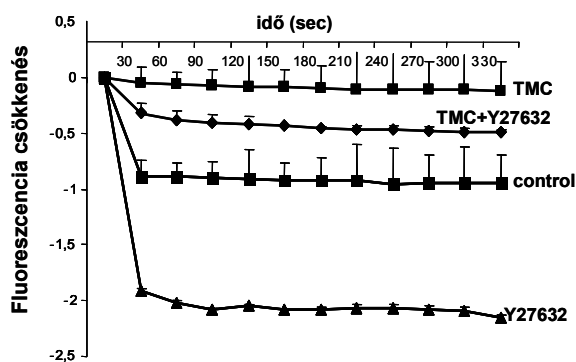
foszforilációja cAMP vagy cGMP-függő kinázzal (PKA és PKG) gátolja a Thr695 foszforilációját. A CPI-17 gátló foszforilációját a ROK és a PKC mellett a PKA, PKG és ILK is katalizálja, ami a miozin foszforiláció szabályozásában a Rho-jelátviteli útvonaltól eltérő alternatív mechanizmusok létezésére utal. Az ILK foszforilálja a CPI-17-hez hasonló KEPI fehérjét is, amelyet először agyban azonosítottak. A foszforilált KEPI gátolja a PP1c és az MP holoenzim aktivitását is.

### III/2. A miozin foszfatáz funkciói nem-izom sejtekben

#### a) MP foszforiláció, lokalizáció és migráció gátlás hepatocarcinoma sejtekben

HepG2 sejtekben a foszfatáz inhibitor okadánsav (OA) (olyan koncentrációban, amely csak a PP2A-t gátolja) növelte a miozin és a MYPT1 foszforilációját. A Thr695 oldalláncon foszforilált MYPT1 populáció a citoszolból a plazmamembránra transzlokálódott. A Thr850 oldalláncon foszforilált MYPT1 a sejtmagban és a perinukleáris régióban dúsult fel, foszforilációja ROK-függő módon valósult meg. Az OA kezelés stresszrostok kialakulását és a sejtek migrációjának gátlását eredményezte. A fenti adatokból arra következtettünk, hogy a MYPT1 gátló foszforilációjában részt vevő oldalláncon defoszforilációjáért feltehetően a PP2A felelős és ez utóbbi gátlása ezért indirekt módon MP aktivitás csökkenést is eredményezhet (*Dr. Lontay Beáta munkája*). E témában további kísérletek történnek a MYPT1 nukleáris lokalizációjának jellemzésére és a MYPT1-el kölcsönható nukleáris fehérjék azonosítására tömegspektrometriás eljárással. Vizsgáljuk a „smoothelin-like-1” fehérje (SMTNL1) szerepét a MYPT1 és más izomplaszticitást meghatározó gének és fehérjék expressziójának szabályozásában (*Dr. Lontay Beáta és Sipos Adrienn munkája*).

#### b) MP lokalizáció és lehetséges funkció neuronokban



**A PP1-gátló tautomycetin (TMC) és a ROK-gátló Y27632 hatása szinaptoszóma preparátum KCl-el kiváltott exocitózisára.**

MP aktivitást kimutattuk számos agyrégióban, és ezekben tanulmányoztuk a MYPT1 lokalizációját különböző immunológiai technikákkal. Egyes neuronokban, a citoplazmatikus lokalizáció mellett, a MYPT1 jelenlétét a sejtmagban és magvacskában is igazoltuk. Primer idegsejttenyészetekben MYPT1 és a preszinaptikus marker szinaptofizin ko-lokalizációját észleltük. Szinaptoszómákban kimutattuk a MP és a ROK kölcsönhatását ko-precipitációs eljárásokkal, valamint elektronmikroszkópos lokalizációval is. A MP gátlása csökkenti, míg a Rho-kináz (ROK) gátlása

növeli a KCl-indukált exocitózist patkány agy szinaptoszóma preparátumban és elektrofiziológiai mérések alapján hasonló hatások figyelhetők meg nucleus

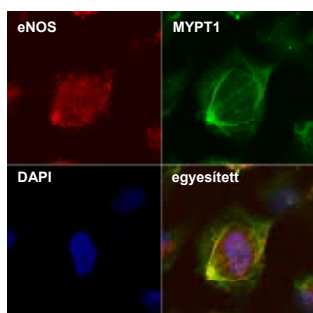


cochlearis ventralis szeleteken a neurotranszmitter felszabadulást illetően. Tömegspektrometriás analízissel, valamint ko-immunprecipitációs kísérletekkel a MP és ROK enzimekkel kölcsönható fehérjeként azonosítottuk a szinapszint és a szintaxint, valamint a MYPT1 alegységéhez kötődő fehérjeként kimutattuk a kalcineurint (PP2B) és a  $\text{Ca}^{2+}$ -kaldmodulin függő protein kináz-II enzimeket is. A ROK/MP enzimpár a szinapszin-Ser9 és a szintaxin-Ser14 oldallánc foszforilációját-defoszforilációját is képes katalizálni, amelyeknek szerepe van a neurotranszmitter felszabadulás szabályozásában (*Lontay Beáta munkája*).

### c) A MP szerepe a retinoblastoma defoszforilációjában daganatos sejtekben

PP1 és PP2A katalitikus alegységekkel, valamint tisztított MP holoenzimmel végzett vizsgálatok alapján kimutattuk a MP, ezen belül pedig a MYPT1 célra irányító szerepét a ciklin D/CDK4 kinázzal foszforilált retinoblastoma (pRb) defoszforilációjában. A foszfatáz inhibitor CLA jelentősen mérsékli a daunorubicin citotoxikus hatását THP-1 sejtekre és ezzel párhuzamosan a pRb foszforiláció fokozódását is eredményezi. A CLA e hatásában szerepe van a MYPT1 Thr695 és Thr850 oldalláncai foszforilációjának, amely a PP1c aktivitás gátlását eredményezi. A MYPT1, PP1c és pRb fehérjék kölcsönhatását SPR kötődési kísérletekkel is jellemeztük. A pRb kötődik a teljes MYPT1 molekulához, valamint a MYPT1 N- és C-terminális szakaszaihoz is, amelyek közül az N-terminális peptidszakaszhoz való kötődésnek lehet jelentős szerepe a célra irányításban. A MYPT1 és pRb sejten belüli ko-lokalizációját és lokalizációjuk CLA hatására bekövetkező változását is kimutattuk THP-1 sejtekben konfokális pásztázó lézer mikroszkóppal végzett immunfluoreszcenciás kísérletekkel (*Dr. Kiss Andrea és Bécsi Bálint munkája*). A PP1 szerepét a pRb defoszforilációjában HeLa sejtekben a PP1c siRNS-el történő csendesítésével, valamint MCF7 sejtekben KEPI gátló fehérje expressziójával és foszforilációjával is bizonyítottuk (*Dr. Kiss Andrea és Dedinszki Dóra munkája*).

### d) A MP és az endotheliális nitrogén-monoxid szintetáz (eNOS) kölcsönhatása



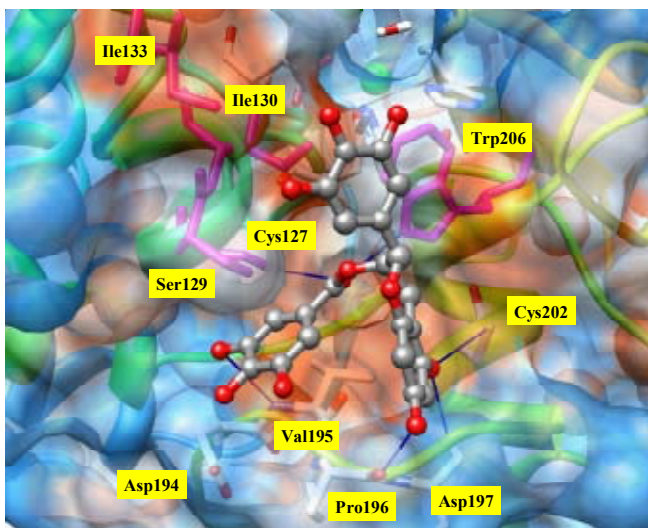
**Az eNOS és a MYPT1 kolokalizációja humán endotél sejtekben.**

A MP MYPT1 alegységével kölcsönható fehérjeként azonosítottuk az eNOS-t és a két fehérje kötődését egymáshoz koexpressziót követő koprecipitációval, konfokális mikroszkóppal történő kolokalizáció kimutatásával, valamint SPR-kötődési módszerek alkalmazásával is bizonyítottuk. A MP részt vesz az eNOS gátló foszforilációs helyének (Thr497) defoszforilációjában és ezzel az eNOS aktiválását segíti elő. Kimutattuk, hogy a protein kináz C aktiválása és a foszfatázok egyidejű gátlása jelentősen növeli az eNOS Thr497 foszforilációját eNOS-al transzfektált HEK293 sejtekben, ami a sejtek NO szintjét jelentősen csökkenti. A MP és az eNOS kölcsönhatásának szerepe lehet a mitózis szabályozásában is, azonban e hipotézis

bizonyítása még további kísérleti munkát igényel (*Bátori Róbert munkája*).

### III/3. Új PP1 katalitikus alegységet gátló molekulák azonosítása

A foszfatázokat gátló membránpermeábilis molekulák citotoxikus hatásúak is,



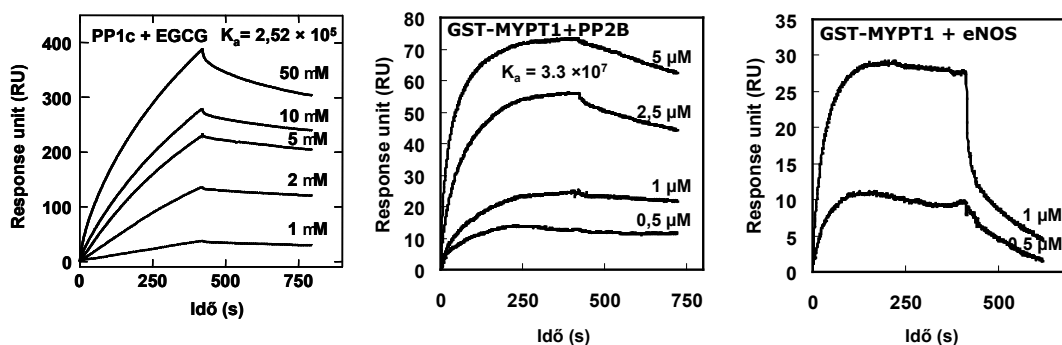
**Az EGCG kötődése a PP1c hidrofób árkában, a kötődésben szerepet játszó aminosavak és a hidrogénkötések (sötétkék vonalak) jelölésével.**

ezért kevésbé toxikus, új specifikus gátlószerek azonosításának farmakológiai jelentősége is van. A zöld teában és a tanninokban található epigallokatechin-3-gallát (EGCG) és a penta-O-galloil-D-glükóz (PGG) a PP1c aktivitását kisebb koncentrációban gátlják, mint a PP2Ac-t, ezért a PP1c szelektív gátlószereinek tekinthetők. A PP1c PGG-vel és EGCG-vel történő kölcsönhatását SPR kötődési vizsgálatokkal és NMR telítés átviteli differencia (Saturation Transfer Difference, STD) mérésekkel igazoltuk. Molekulamodellezésen alapuló szimuláció arra utal, hogy az EGCG a PP1c katalitikus centrumához közeli hidrofób árokhoz kötődik, és ezt a kölcsönhatást több fenolos hidroxilcsoport által kialakított

hidrogénkötés stabilizálja. Az EGCG és a PGG THP-1 leukémiás sejtekben 10-50  $\mu\text{M}$  koncentrációban sejthalált indukált és ez a hatás a molekulák foszfatázgátló sajátágaival is összefüggésben lehet. További munkánkban e szerkezetekre épülő, hatékonyabb PP1 specifikus gátlószert tervezünk.

### III/4. Biomolekuláris interakciók tanulmányozása

A munkacsoport működteti a Debreceni Egyetem Bioinkubátor-pályázatának keretében beszerzett Biacore-3000 készüléket, amely az SPR elvén alapul, és alkalmas különböző biomolekulák kölcsönhatásának (pl. fehérje-fehérje, fehérje-ligand, fehérje-DNS/RNS, antigén-antitest, stb.) kvantitatív jellemzésére.



**Protein foszfatáz-1 katalitikus alegység (PP1c) és a MYPT1 regulátor alegység kölcsönhatása inhibitor molekulával (EGCG) és kötődő fehérjékkel (PP2B/kalcineurin és eNOS).**

Az ábra szemlélteti az előbbieken leírt témákban az SPR módszer hasznosságát a fehérje-fehérje és fehérje-ligand kölcsönhatások igazolásában és a kötődési állandók meghatározásában mind a foszfatáz katalitikus és regulátor alegységeket illetően (*Bécsi Bálint munkája*). Számos más egyetemen belüli és kívüli intézménnyel alakult ki eredményes kutatási együttműködés a biomolekuláris interakciók meghatározása terén.

### Válogatott közlemények:

- Kiss, E., Murányi, A., Csontos, Cs., Gergely, P., Ito, M., Hartshorne, D.J., Erdődi, F.: Integrin-linked kinase phosphorylates the myosin phosphatase target subunit at the inhibitory site in platelet cytoskeleton. *Biochem. J.* 365, 79-87 (2002)
- Lontay, B., Serfőző, Z., Gergely, P., Ito, M., Hartshorne, D.J., Erdődi, F.: Localization of myosin phosphatase target subunit 1 in rat brain and in primary cultures of neuronal cells. *J. Comp. Neurol.* 478, 72-87 (2004)
- Wooldridge, A.A., MacDonald, J.A., Erdődi, F., Ma, C., Borman, M.A., Hartshorne, D.J., Haystead, T.A.J.: Smooth muscle phosphatase is regulated *in vivo* by exclusion of phosphorylation of threonine 696 of MYPT1 by phosphorylation of serine 695 in response to cyclic nucleotides. *J. Biol. Chem.* 279, 34496-34504 (2004)
- Hartshorne, D.J., Ito, M., Erdődi, F.: Role of protein phosphatase type 1 in contractile functions: myosin phosphatase. *J. Biol. Chem.* 279, 37211-37214 (2004)
- Lontay, B., Kiss, A., Gergely, P., Hartshorne, D.J., Erdődi, F.: Okadaic acid induces phosphorylation and translocation of myosin phosphatase target subunit 1 influencing myosin phosphorylation, stress fiber assembly and cell migration in HepG2 cells. *Cell. Signal.* 17, 1265-1275 (2005)
- Kiss, A., Lontay, B., Bécsi, B., Márkász, L., Oláh, É., Gergely, P., Erdődi, F.: Myosin phosphatase interacts with and dephosphorylates the retinoblastoma protein in THP-1 leukemic cells: its inhibition is involved in the attenuation of daunorubicin-induced cell death by calyculin-A. *Cell. Signal.* 20, 2059-2070 (2008).

## IV. Protein foszfatáz 2A munkacsoport – a foszfatázok szerepe az endotéliumban



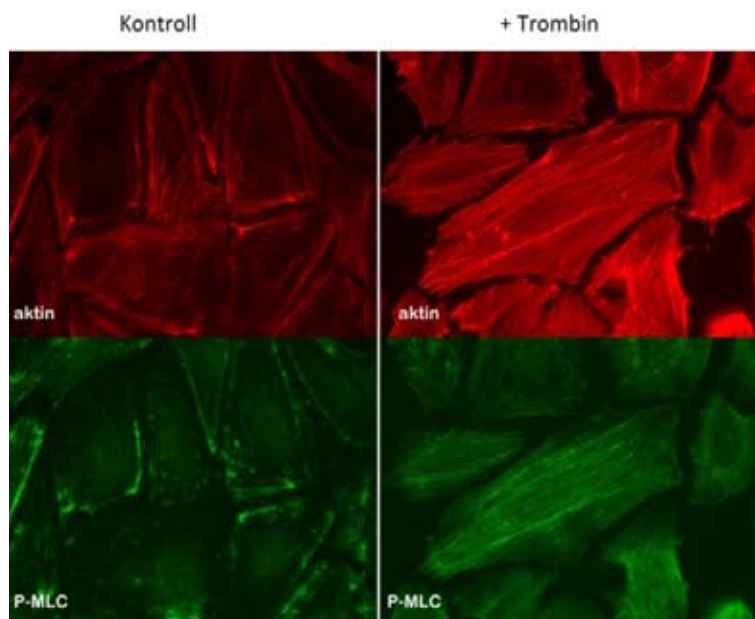
### A munkacsoport tagjai:

Czikora István és Kása Anita, doktorjelöltek,  
Boratkó Anita, PhD hallgató,  
Baksa Ivett és Zsigri Valéria, TDK hallgatók,  
végzett PhD hallgató: Dr. Tar Krisztina (jelenlegi munkahelye  
Albert Einstein College of Medicine, Yeshiva University)

### Dr. Csontos Csilla, egyetemi docens, csoportvezető

A vaszkuláris endotélium jól működő barrier funkciója az endotél sejtekben fellépő kontraktilis és feszítő erők egyensúlyát jelzi. Ha az egyensúly a kontraktilis erők irányába tolódik el, akkor az a sejtek közötti rések kialakulását eredményezi. A citoskeleton elemeinek átszerveződése megváltoztatja az endotél sejtek alakját és a vaszkuláris permeabilitást. A különböző bioaktív ágensek, mint pl. trombin hatására kialakuló barrier diszfunkciót a sejtek közötti rések megjelené-

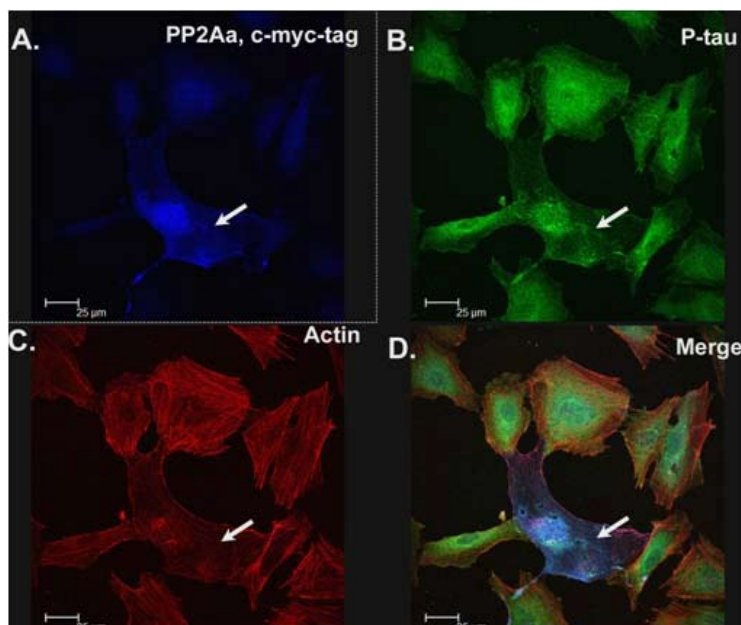




**1. ábra. Trombin hatása humán tüdő artéria endotél sejtekre.** Aktin festés és foszfo-MLC immunfluoreszcensen jelölve.

se és az ezáltal megnövekedett vaszkuláris permeabilitás jellemzi. Ebben a folyamatban bizonyítottan szerepet játszik a citoskeletonban az aktin-miozin kölcsönhatás, amely foszforilációval/defoszforilációval szabályozott folyamat. A miozin könnyűlánc (MLC) Ser19-es oldalláncán történő foszforilációja, például trombin kezelés következtében, a sejtek kontrakcióját és sejtek közötti rések kialakulását okozza (1. ábra). A foszforilációt elsősorban a nagy molekulatömegű (210 kDa)  $Ca^{2+}$ -kalmodulin függő miozin könnyűlánc kináz (MLCK) katalizálja, ami nagymértékben homológ a simaizom MLCK-val (130-150 kDa). Az MLC defoszforilációját az endotél sejtekben a protein foszfatáz 1 katalizálja.

Vizsgálataink modellrendszere a vaszkuláris endotélium; humán és marha tüdő artéria endotél sejt kultúrákban tanulmányozzuk a Ser/Thr specifikus protein foszfatáz (PP) 1 és 2A enzimeket. Mindkét enzim több alegységből álló holoenzim, a PP1 katalitikus alegysége különböző regulátor/célirányító (targeting) alegységekkel alkot dimert. A PP1 dimerek specifikus funkcióját/szubsztrátját a regulátor alegységek határozzák meg. A PP2A egy heterotrimer, amelyben a katalitikus C alegység és az enzim specificitását valamint sejten belüli lokalizációját meghatározó B alegység egy szerkezeti A alegységhez kapcsolódnak. A B-alegység név több, egymástól aminosav szekvenciájában és méretében is nagyon eltérő fehérjét jelöl.



**2. ábra. PP2A overexpresszió mérsékli a tau trombin-indukált foszforilációját.** A nyíllal jelölt sejt a PP2A A regulátor (PP2Aa) és katalitikus alegységét koexpresszálja. Az ábra B részén ugyanezen sejtek foszfo-tau immunfestését mutatjuk be.

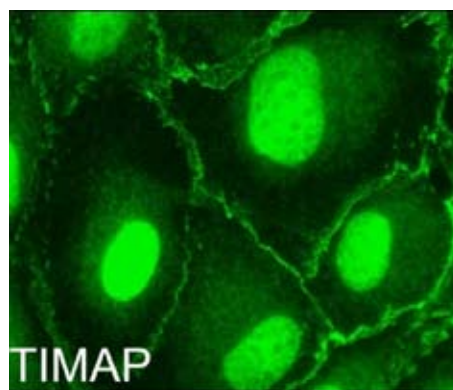
A PP2A alegységeit emlős expressziós vektorok segítségével a tüdő artéria endotél sejtekben túltermeltetve vizsgáltuk a PP2A szerepét endotél sejtek citoskeleton szerkezetének szabályozásában. Kimutattuk, hogy a PP2A A regulátor és C ka-



talitikus alegységek együttes expressziója az endotél sejtekben jelentősen mérsékli/megszünteti a nokodazol vagy trombin mikrotubulust destabilizáló hatását, valamint átrendezi az aktin citoskeleton szerkezetét. Endotél sejtek fertőzése PP2A adenovírus konstrukciókkal szintén jelentősen gyengíti a nokodazol vagy a trombin transzendotél elektromos rezisztenciára kifejtett hatását. Adataink szerint a HSP27 és a tau fehérjék lehetnek a PP2A szubsztrátjai a citoskeletonban (2. ábra). Összességében eredményeink a PP2A közvetlen részvételére utalnak az endotél sejtek citoskeleton szerkezetének és permeabilitásának szabályozásában (*Tar Krisztina munkája*).

A PP2A B regulátor alegységének vizsgálata a sejt-sejt kapcsolatok irányába mozdította munkánkat. Trombin kezelést követően, amely a sejtek kontrakcióját váltja ki, ugyanis az endogén B alegység feldúsulását találtuk marha tüdő artéria endotél sejtek membránjában. Az endotélium integritásának megtartásában - ami védelmet nyújt az erek permeabilitásának megnövekedése és egyes gyulladásos folyamatok kialakulása ellen - fontos szerepet játszik a sejt-sejt kapcsolatok koordinált működése. A sejt-kapcsolatok kulcs-fehérjéi (kadherin, katenin) foszforilálható fehérjék. A PP2A alegységek overexpressziója, illetve regulátor-alegységének géncsökkentése után vizsgáljuk a PP2A aktivitás szerepét az endotél sejt-kapcsolatok szabályozásában (*Kása Anita munkája*).

Munkacsoportunk egy PP1 regulátor fehérje tanulmányozásával is foglalkozik. A TIMAP (TGF- $\beta$ -inhibited membrane associated protein) egy 64 kDa-os fehérje, amelynek expressziós szintje az endotél sejtekben igen magas (3. ábra). A fehérjét a PP1 enzim MYPT regulátor alegység család tagjának tartják, szerkezetében ugyanis megtalálható a PP1 katalitikus alegységet (PP1c) kötő motívum és ankirin-szerű ismétlődések, valamint a membrán lokalizációjáért felelős prenilációs motívum és egy potenciális nukleáris lokalizációs szignál (NLS). Humán és marha tüdő artéria endotél sejtekben a TIMAP csendesítésével és



**3. ábra.** A TIMAP immunfestése humán tüdő artéria endotél sejtekben.

transzendotél elektromos ellenállást mérve különböző bioaktív ágensek jelenlétében kimutattuk a fehérje pozitív szerepét az endotél barrier funkcióban. TIMAP hiányában a barrier funkciót negatívan befolyásoló ágensek (trombin, nokodazol) hatása növekedett, míg a barrier funkciót erősítő ATP vagy szfingozin-1-foszfát hatása mérséklődött. Több kísérleti módszerrel (felületi plazmon rezonancia, immunprecipitáció, pull-down) is bizonyítottuk a TIMAP és a PP1c közötti specifikus kölcsönhatást. Eredményeink szerint a TIMAP az ERM (ezrin-radixin-moesin) fehérjék foszforilációs szintjének szabályozásában vesz részt. Ebben a szabályozásban fontos szerepet játszik magának a TIMAP fehérjének a foszforilációja PKA és GSK3 $\beta$  kinázokkal (*Czikora István munkája*).

Munkacsoportunk immunfluoreszcenciás kísérletekben a TIMAP-ot a sejtmembrán mellett a sejtmagban is detektálta az endotél sejtekben. A sejtmagban lokalizálódó TIMAP fiziológiás szerepét és esetleges kölcsönható fehérje partnereit

tanulmányozzuk endotél sejtekben, illetve overexpresszált rekombináns fehérjékkel natív TIMAP-ot nem tartalmazó HeLa sejtekben (*Boratkó Anita munkája*).

Munkánk során nemzetközi kollaborációban együttműködünk Dr. Joe G.N. Garcia és Dr. Alexander D. Verin munkacsoportjával. (Korábban mindketten University of Chicago, jelenleg University of Illinois, illetve Medical College of Georgia.)

### Válogatott közlemények:

- Verin, A.D., Csontos, Cs., Durbin, S.D., Ayaydin, A., Wang, P., Patterson, C.E., Garcia, J.G.N.: Characterization of the protein phosphatase 1 catalytic subunit in endothelium: involvement in contractile responses. *J. Cell. Biochem.* 79, 113-125 (2000)
- Birukov, K.G., Csontos, C., Marzilli, L., Dudek, S., Ma, S.F., Bresnick, A.R., Verin, A.D., Cotter, R.J., Garcia, J.G.: Differential regulation of alternatively spliced endothelial cell myosin light chain kinase isoforms by p60(Src). *J. Biol. Chem.* 276, 8567-8573 (2001)
- Tar, K., Birukova, A.A., Csontos, Cs., Bakó, É., Garcia, J.G.N, Verin, A.D.: Phosphatase 2A is involved in endothelial cell microtubule remodeling and barrier regulation. *J. Cell. Biochem.* 92, 534-546 (2004)
- Tar, K., Csontos, Cs., Czikora, I., Oláh, G., Ma, S-F., Wadgaonkar, R., Gergely, P., Garcia, J.G.N., Verin, A.D.: Role of protein phosphatase 2A in the regulation of endothelial cell cytoskeleton structure. *J. Cell. Biochem.* 98, 931-953 (2006)
- Csontos, C., Kolosova, I., Verin, A.D.: Regulation of vascular endothelial cell barrier function and cytoskeleton structure by protein phosphatases of the PPP family. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 293, L843-L854 (2007)
- Csontos, Cs., Czikora, I., Bogatheva, N., Adyshev, D.M., Poirier, C., Oláh, C., Verin, A.D.: TIMAP is a positive regulator of pulmonary endothelial barrier function. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 295, L440-450 (2008)

## V. Szabadgyököktől az összejtekig: a PARiláció cikk-cakkjainak nyomában



### Munkacsoport

Bai Péter PhD, egyetemi adjunktus  
Bakondi Edina PhD, egyetemi tanársegéd  
Hegedűs Csaba PhD, tud. munkatárs  
Erdélyi Katalin PhD, tud. munkatárs (jelenleg külföldön)  
Doktorjelöltek és PhD hallgatók: Brunyánszki Attila,  
Dr. Kovács István (jelenleg külföldön), Kovács Katalin,  
Lakatos Petra, Szántó Magdolna

**Dr. Virág László egyetemi tanár, csoportvezető**

### Kutatási téma bemutatása

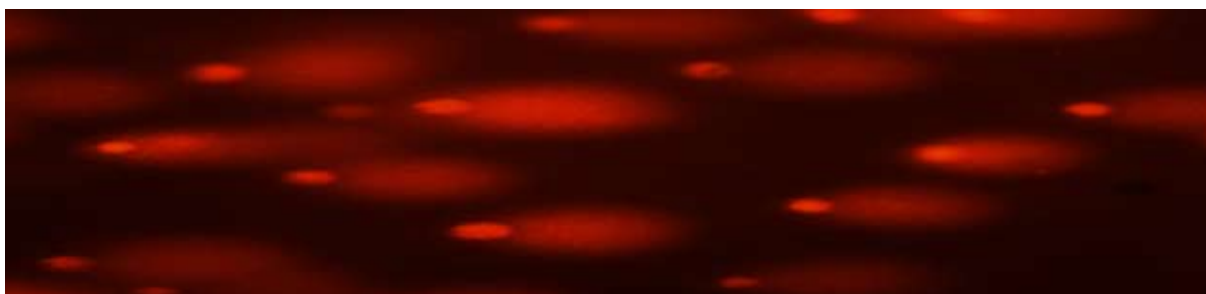
Az ADP-ribozilációs munkacsoport az oxidatív stressz citotoxikus hatásainak tanulmányozásán keresztül jutott el a poli-ADP-riboziláció (PARiláció) vizsgálatához. A PARiláció egy folyamatosan bővülő funkciókat ellátó fehérjemódosítás, melyet poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) enzimek végeznek. A PARP enzimek a NAD<sup>+</sup>-ből nikotinsavamidot lehasítva ADP-ribózt állítanak elő, melyből elágazó polimereket szintetizálnak, azokat megfelelő akceptorfehérjéhez kapcsolva. A negatív töltésű polimer egyrészt megváltoztatja a módosított fehérje működését többnyire gátlást eredményezve, másrészt jelként funkcionál PAR kötő motívumokat hordozó fehérjék számára. A PARiláció jelátviteli folyamatnak is tekinthető, amit a folyamat reverzibilitása is igazol: poli(ADP-ribóz) glikohidroláz (PARG) enzimek bontják le a PAR polimereket. A fehérjék kovalens PARilációja, a PARP-ok más fehérjékkel történő fehérje-fehérje interakciója, illetve a PAR nem kovalens kötődése más fehérjékkel szabályozza a genom szerveződését, a replikációt, a DNS hibajavítást, a transzkripciót, a transzlációt, a fehérjék stabilitását, az anyagcserét és mindezeket keresztül a proliferáció, a differenciáció, a sejthalál komplex folyamatait. A terület farmakológiai szempontból is nagy jelentőségű: preklinikai és részben klinikai vizsgálatok is igazolják, hogy PARP gátlószerek alkalmazásával egyrészt érzékenyíthetők a daganatsejtek a kemo-terápia és az irradiáció iránt, másrészt intenzív oxidatív stresszállapotokban, pl. szívinfarktuszban és agyi érkatasztrófákban – talán meglepő módon – jelentős sejtvédő hatások érhetőek el (csökkentik az elhalt terület nagyságát), és a gyulladáscsökkentő hatásúak. Míg két-három évtizede csupán DNS hibajavító faktorként tekintettünk a ma PARP-1ként jegyzett (akkoriban még egyedüli PARP/PARS/pADPRT enzimként ismert) fehérjére, addig ma a PARP-1 egy 17 tagú enzimes család sokszínű, változatos biológiai funkciókkal bíró „alapító tagja”. A terület ilyen fejlődését némileg tükrözi munkacsoportunk egyre diverzifikálódó tevékenysége is. A terjedelmi korlátok nyilvánvalóan nem teszik lehetővé a terület bemutatását teljes komplexitásában, ezért a továbbiakban a PARiláció általunk vizsgált biológiai funkcióit villantjuk fel. Bővebben a csoport munkájáról az érdeklődők tájékozódhatnak a [www.parp.dote.hu](http://www.parp.dote.hu), [www.rcmm.dote.hu](http://www.rcmm.dote.hu), [www.medchem.dote.hu](http://www.medchem.dote.hu) honlapokon.

## Kutatási projektek:

### V/1. PARiláció a sejthalál szabályozásában

Munkacsoportunk legrégebbi témája a sejthalál PARilációs szabályozása. Ezen a területen az alábbi főbb megfigyeléseket tettük.

1. Ha a sejteket intenzív, direkt oxidatív stressz éri (pl. primer vagy tenyésztett sejt kultúrákat hidrogén peroxiddal vagy peroxinitrittel kezelünk), akkor - az alkalmazott koncentráció függvényében - apoptózis, illetve nekrozis alakul ki. A legtöbb általunk vizsgált sejtben az apoptózis nekrozisba történő átkapcsolásában a PARP1 aktivitásának döntő szerepe van (jórészt a NAD<sup>+</sup> és az ATP depléciója révén). Más irányú megfigyelésekkel összhangban, ezek az eredmények a nekrozisnak, mint passzív és befolyásolhatatlan sejthalálformának az újraértelmezését indították el.



**DNS törés kimutatása „üstökös” módszerrel (sejtes gélelektroforézis).**

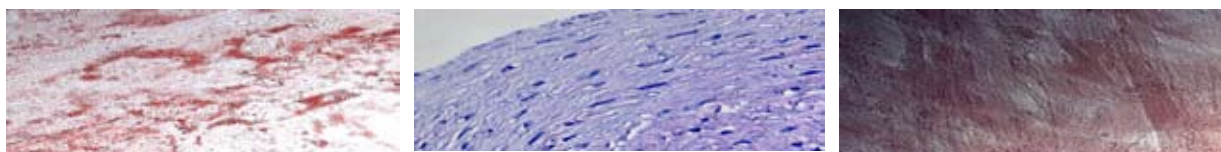
2. Az utóbbi időben elkezdtük enyhe, indirekt oxidatív stresszt kiváltó hatások (pl. UV besugárzás és cigarettafüst) tanulmányozását is. Ezekben a modellekben a PARP1 DNS hibajavításban betöltött funkciói dominálnak, ezért a PARP farmakológiai gátlása fokozott apoptózist eredményez.

3. A PAR polimer lebontásáért felelős PARG enzimek az utóbbi években kerültek az érdeklődés homlokterébe, és a mai napig igen keveset tudunk ezeknek az egyetlen gén által kódolt (alternatív splicinggal keletkező) PARG izoformáknak a szerkezetéről, működéséről és biológia szerepéről. Vizsgálatukat nehezíti a PARG knockout állatok embrionális letalitása és a specifikus, sejtparameabilis gátlószerek hiánya. Ennek megfelelően lentivirális vektorral stabil géncsendesítést végeztünk különböző sejtvonalakban a PARG és a PARP1 depléciója céljából. Érdekes módon a PARP1 és a PARG csendesítése nem ellentétes, hanem hasonló szerepet játszik a sejthalál formák közötti átmenet szabályozásában. Míg a PARG csendesítése még a PARP1 csendesítéséhez hasonlítva is fokozottan érzékenyítette a sejteket az oxidatív stressz apoptózist kiváltó hatásaival szemben, addig az intenzív oxidatív stresszben tapasztalható nekrozisban a PARP1 szerepe dominánsabb, mint a PARG-é. A PARP1/PARG enzimrendszer összehangolt és szinergisztikus, semmint egymás ellen ható működését erősítette meg egy nemrégiben publikált genomszintű transzkriptom analízis is, melyben a PARP1 és a PARG csendesítése többnyire azonos irányú változásokat okozott.



## V/2. PARiláció a mesenchymális őssejtek (MSC) differenciációjának szabályozásában

Egy aktuális OTKA pályázat keretében vizsgáljuk a PARiláció szerepét MSC-k csont, porc és zsír irányú differenciációjában. Ehhez humán placentából és csontvelőből származó MSC-eket izolálunk, illetve sejtvonalakon, pl. csontos differenciációra képes osteosarcoma sejtvonalon tanulmányozzuk a csontosodási folyamatot. Primer MSC-ken farmakológiai gátlószerekkel, a sejtvonalon pedig lentivirális géncsendesítéssel vizsgáljuk a PARilációt, illetve a PARP1/PARG szerepét. A differenciációs folyamatokat biokémiai, cytológiai és génexpressziós markerek segítségével jellemezzük.



**Mesenchymális őssejtek zsír-, porc- és csontirányú differenciálódása.**

## V/3. PARiláció a gyulladásban

A PARiláció segíti a gyulladásos mediátorok expresszióját. A kontakt allergén bőrre juttatásával kiváltott késői típusú hiperszenzitivitási reakció egérmodelljében megfigyeltük, hogy mind a PARP gátlás, mind a PARP-1 (de nem a PARP-2) knockout fenotípus csökkent ödémaképződést, gyulladásos infiltrációt és gyulladásos citokin/kemokin termelődést eredményezett. A folyamat hátterében a PARiláció és a gyulladás központi mesterregulátorainak (NF $\kappa$ B, AP-1, NFAT) interakciója állhat.

## V/4. PARiláció és metabolizmus

Bai Péter vezetésével és 2 PhD hallgató közreműködésével nemrégiben új kutatási irányban is elindultunk a PARiláció és az anyagcsere összefüggéseit vizsgálva. E kutatásaink fő iránya a PARP-1 és PARP-2 enzimek kölcsönhatásainak feltárása és funkcionális jellemzése egy másik NAD<sup>+</sup>-ot használó enzimmal, a SIRT-1-gyel összefüggésben. Eddigi eredményeink alapján mind a PARP-1 mind a PARP-2 szerepet játszik az energiatermelő folyamatok szabályozásában. Kimutattuk, hogy a PARP-1 és -2 knockout egerekben hasonló EE (energy expenditure) fenotípus alakul ki a harántcsíkolt izomrostokban. A harántcsíkolt izomban izotípus váltás következik be, amely a mitokondriális biogenezis és oxidatív kapacitás megnövekedésével jár. A PARP-1<sup>-/-</sup> egerekben a barna zsírszövetben, míg a PARP-2<sup>-/-</sup> egerekben a májban is kimutattuk a mitokondriális biogenezis megemelkedését. Kimutattuk továbbá, hogy a magasabb oxidatív kapacitás védelmet nyújt a diéta indukálta elhízással és a következményes inzulin rezisztenciával szemben.

## **V/5. HTS (High-throughput Screening)**

Munkacsoportunk működteti az egyetemi HTS laboratóriumot. Ennek keretében a Debreceni Egyetem kb. 2000 molekulát tartalmazó molekulabankjának vegyületeit szűrtük citoprotektív vegyületek azonosítása céljából. Jurkat humán T-sejt vonalon végeztük a hidrogén-peroxiddal szemben citoprotektív vegyületek azonosítását. Majd megvizsgáltuk, hogy ezen vegyületek rendelkeznek-e antioxidáns vagy PARP gátló hatással. A hatásmechanizmusok vizsgálata folyamatban van. Egy beszerzés alatt álló, 10 000 vegyületet tartalmazó molekulakönyvtár várhatóan új lendületet ad a HTS szolgáltatásnak.



**Folyadékadagolás a HTS laboratóriumban.**

### **Válogatott közlemények:**

- Szabó, É., Kovács, I., Grune, T., Haczku, A., Virág, L.: PARP-1: a new player in the asthma field? *Allergy* (2011) közlés alatt
- Erdélyi, K., Bai, P., Kovács, I., Szabó, É., Mocsár, G., Kakuk, A., Szabó, Cs., Gergely, P., Virág, L.: Dual role of poly(ADP-ribose) glycohydrolase in the regulation of cell death in oxidatively stressed A549 cells. *FASEB J.* 23, 3553-3563 (2009)
- Bai, P., Hegedűs, C., Szabó, É., Gyüre, L., Bakondi, E., Brunyánszki, A., Gergely, Sz., Szabó, C., Virág, L.: Poly(ADP-ribose) polymerase mediates inflammation in mouse model of contact hypersensitivity. *J. Invest. Dermatol.* 129, 234-238 (2009)
- Hegedűs, Cs., Lakatos, P., Oláh, G., Tóth, B.I., Gergely, Sz., Szabó, É., Bíró, T., Szabó, Cs., Virág, L.: Protein kinase C protects from DNA damage-induced necrotic cell death by inhibiting poly(ADP-ribose) polymerase-1. *FEBS Lett.* 582, 1672-1678 (2008)
- Erdélyi, K., Kiss, A., Bakondi, E., Bai, P., Szabó, C., Gergely, P., Erdődi, F., Virág, L.: Gallotannin inhibits the expression of chemokines and inflammatory cytokines in A549 cells. *Mol. Pharmacol.* 68, 895-904 (2005)
- Erdélyi, K., Bakondi, E., Gergely, P., Szabó, C., Virág, L.: Pathophysiologic role of oxidative stress-induced poly(ADP-ribose) polymerase-1 activation: focus on cell death and transcriptional regulation. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 751-759 (2005)

**2010. ÉVBEN MEGJELENT  
KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA**

Alexa A., Varga J., Reményi A. (2010) Scaffolds are 'active' regulators of signaling modules. *FEBS J.* 277(21):4376-82. IF: 3.042

Baker P.R., Medzihradszky K.F., Chalkley R.J. (2010) Improving software performance for peptide ETD data analysis by implementation of charge-state and sequence-dependent scoring. *Mol. Cell Proteom.* 9:1795-1803. IF: 8.791

Brameshuber M., Weghuber J., Ruprecht V., Gombos I., Horváth I., Vígh L., Eckerstorfer P., Kiss E., Stockinger H., Schütz G.J. (2010) Imaging of mobile long-lived nanoplateforms in the live cell plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 285: 41765-41771. IF: 5.328

Brunyánszki A., Hegedűs Cs., Szántó M., Erdélyi K., Kovács K., Schreiber V., Gergely Sz., Kiss B., Szabó É., Virág L., Bai P. Genetic ablation of PARP-1 protects against oxazolone-induced contact hypersensitivity by modulating oxidative stress. *J. Invest. Dermatol.* 130:2629-2637. IF:5.543

Chalkley R.J., Medzihradszky K.F., Lynn A.J., Baker P.R., Burlingame A.L. (2010) Statistical Analysis of Peptide Electron Transfer Dissociation Fragmentation Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 82:579-584. IF: 5.214

Chater K.F., Biró S., Lee K.J., Palmer T., Schrempf H. (2010) The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiol. Rev.* 34(2):171-98. Review. IF: 9.783

Chinopoulos C., Adam-Vizi V. (2010) The 'ins and outs' of Ca<sup>2+</sup> in mitochondria. *FEBS J.* 277(18):3621. IF: 3.042

Chinopoulos C., Adam-Vizi V. (2010) Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> sequestration and precipitation revisited. *FEBS J.* 277(18):3637-51. Review IF: 3.042

Chinopoulos C., Gerencser A.A., Mandi M., Mathe K., Töröcsik B., Doczi J., Turiak L., Kiss G., Konrød C., Vajda S., Vereczki V., Oh R.J., Adam-Vizi V. (2010) Forward operation of adenine nucleotide translocase during F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase reversal: critical role of matrix substrate-level phosphorylation. *FASEB J.* 24(7):2405-16. IF: 6.401

Costanzo M., Baryshnikova A., Bellay J., Kim Y., Spear E.D., Sevier C.S., Ding H.M., Koh J.L.Y., Toufighi K., Mostafavi S., Prinz J., Onge R.P.S., VanderSluis B., Makhnevych T., Vizeacoumar F.J., Alizadeh S., Bahr S., Brost R.L., Chen Y.Q., Cokol M., Deshpande R., Li Z.J., Lin Z.Y., Liang W.D., Marback M., Paw J., Luis B.J.S., Shuteriqi E., Tong A.H.Y., van Dyk N., Wallace I.M., Whitney J.A., Weirauch M.T., Zhong G.Q., Zhu H.W., Houry W.A., Brudno M., Ragibizadeh S., Papp B., Pal C., Roth F.P., Giaever G., Nislow C., Troyanskaya O.G., Bussey H., Bader G.D.,

Gingras A.C., Morris Q.D., Kim P.M., Kaiser C.A., Myers C.L., Andrews B.J., Boone C. (2010) The Genetic Landscape of a Cell. *Science* 327: 425-431. IF: 29.747

Csala M., Margittai É., Bánhegyi G. (2010) Redox Control of Endoplasmic Reticulum Function. *Comprehens. Invited Review. Antioxid. Redox. Signal.* 13:77-108. IF: 7.581

Csermely P., Palotai R., Nussinov, R. (2010) Induced fit, conformational selection and independent dynamic segments: an extended view of binding events. *Trends Biochem. Sci.* 35:539-546. IF: 11.572

Csillag A., Boldogh I., Pázmándi K., Magyarics Z., Gogolák P., Sur S., Rajnavölgyi É., Bácsi A. (2010) Pollen-induced oxidative stress influences both innate and adaptive immune responses via altering dendritic cell functions. *J. Immunol.* 184:2377-2385. IF: 5.646

Csorba T., Lózsa R., Hutvágner G., Burgyán J. (2010) Polerovirus protein P0 prevents the assembly of small RNA-containing RISC complexes and leads to degradation of ARGONAUTE1. *Plant J.* 62:463-72. IF: 6.946

de Boussac H., Ratajewski M., Sachrajda I., Köblös G., Tordai A., Pulaski L., Buday L., Váradi A., Arányi T. (2010) The ERK1/2-Hepatocyte Nuclear Factor 4 Axis Regulates Human ABCC6 Gene Expression in Hepatocytes. *J. Biol. Chem.* 285:22800-8. IF: 5.328

Gáspári Z., Várnai P., Szappanos B., Perczel A. (2010) Reconciling the lock-and-key and dynamic views of canonical serine protease inhibitor action. *FEBS Lett.* 584: 203-206. IF: 3.541

Giner A., Lakatos L., García-Chapa M., López-Moya J.J., Burgyán J. (2010) Viral protein inhibits RISC activity by argonaute binding through conserved WG/GW motifs. *PLoS Pathog.* 6(7): e1000996. IF: 8.978

Gyimesi M., Sarlós K., Derenyi I., Kovács M. (2010) Streamlined determination of processive run length and mechanochemical coupling of nucleic acid motor activities. *Nucleic Acids Res.* 38(7):102. IF: 7.479

Gyimesi M., Sarlós K., Kovács M. (2010) Processive translocation mechanism of the human Bloom's syndrome helicase along single-stranded DNA. *Nucleic Acids Res.* 38(13):4404-4414. IF: 7.479

Hocsak E., Racz B., Szabo A., Mester L., Rapolti E., Pozsgai E., Javor S., Bellyei S., Gallyas F. Jr., Sumegi B., Szigeti A. (2010) TIP47 protects mitochondrial membrane integrity and inhibits oxidative-stress-induced cell death. *FEBS Lett.* 584(13):2953-60. IF: 3.541

Horváth I., Vígh L. (2010) Stability in times of stress. *Nature* 463:436-438. IF: 34.480



Keller-Pintér A., Bottka S., Timár J., Kulka J., Katona R., Dux L., Deák F., Szilák L. (2010) Syndecan-4 promotes cytokinesis in a phosphorylation-dependent manner. *Cell. Mol. Life Sci.* 67:1881-1894. IF: 6.09

Kereszturi E., Kálmán F.S., Kardon T., Csala M., Bánhegyi G. (2010) Decreased prereceptorial glucocorticoid activating capacity in starvation due to an oxidative shift of pyridine nucleotides in the endoplasmic reticulum. *FEBS Lett.* 584:4703-4708. IF: 3.541

Klement E., Lipinszki Z., Kupihár Z., Udvardy A., Medzihradszky K.F. (2010) Enrichment of O-GlcNAc Modified Proteins by the Periodate Oxidation-Hydrazide Resin Capture Approach. *J. Proteome Res.* 9:2200-2206. IF: 5.132

Kocsis A., Kékesi K.A., Szász R., Végh B.M., Balczer J., Dobó J., Závodszy P., Gál P., Pál G.J (2010) Selective inhibition of the lectin pathway of complement with phage display selected peptides against mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 and -2: significant contribution of MASP-1 to lectin pathway activation. *J. Immunol.* 185(7):4169-78. IF: 5.646

Kovacs E., Harmat V., Tóth J., Vértessy B.G., Módos K., Kardos J., Liliom K. (2010) Structure and mechanism of calmodulin binding to a signaling sphingolipid reveal new aspects of lipid-protein interactions. *FASEB J.* 24(10):3829-39. IF: 6.401

Kovacs E., Tompa P., Liliom K., Kalmar L. (2010) Dual coding in alternative reading frames correlates with intrinsic protein disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107(12):5429-34. IF: 9.432

Kovacs E., Tóth J., Vértessy B.G., Liliom K. (2010) Dissociation of calmodulin-target peptide complexes by the lipid mediator sphingosylphosphorylcholine: implications in calcium signaling. *J. Biol. Chem.* 285(3):1799-808. IF: 5.328

Láng A., Szilágyi K., Major B., Gál P., Závodszy P., Perczel A. (2010) Intermodule cooperativity in the structure and dynamics of consecutive complement control modules in human C1r. *FEBS J.* 277:3986-3998. IF: 3.042

Láng A., Major B., Szilágyi K., Gáspári Z., Gál P., Závodszy P., Perczel A. (2010) Interaction between separated consecutive complement control modules of human C1r: implications for dimerization of the full-length protease. *FEBS Lett.* 584:4565-4569. IF: 3.541

Laporte P., Satiat-Jeunemaître B., Velasco I., Csorba T., Van de Velde W., Campalans, Burgyan J., Arevalo-Rodriguez M., Crespi M. (2010). A novel RNA-binding peptide regulates the establishment of the *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* nitrogen-fixing symbiosis. *Plant J.* 62:24-38. IF: 6.946  
Lontay B., Bodoor K., Weitzel D.H., Loïselle D., Fortner C., Lengyel Sz., Zheng D., Devente J., Hickner R., Haystead T.A.J. (2010) Smoothelin-like 1 protein regulates myosin phosphatase-targeting subunit 1 expression during sexual development

and pregnancy . J. Biol. Chem. 285:29357-29366. IF: 5.328

Major B., Kardos J., Kékesi K.A., Lőrincz Z., Závodszky P., Gál P. (2010) Calcium-dependent conformational flexibility of a CUB domain controls activation of the complement serine protease C1r. J. Biol. Chem. 285:11863-11869. IF: 5.328

Málnási-Csizmadia A., Kovács M. (2010) Emerging complex pathways of the actomyosin powerstroke. Trends Biochem. Sci. 35(12):684-690. IF: 11.572

Margittai É., Bánhegyi G.: Oxidative folding in the endoplasmic reticulum: towards a multiple oxidant hypothesis? FEBS Lett. 584:2995-2998. IF: 3.541

Michaelevski I., Medzihradzsky K.F., Lynn A., Burlingame A.L., Fainzilber M. (2010) Axonal transport proteomics reveals mobilization of translation machinery to the lesion site in injured sciatic nerve. Mol. Cell Proteom. 9:976-987. IF: 8.791

Nagy N.T., Sakamoto T., Takács B., Gyimesi M., Hazai E., Bikádi Z., Sellers J.R., Kovács M. (2010) Functional adaptation of the switch-2 nucleotide sensor enables rapid processive translocation by myosin-5. FASEB J. 24(11):4480-4490. IF: 6.401

Pankotai T., Popescu C., Martín D., Grau B., Zsindely N., Bodai L., Tora L., Ferrús A., Boros I. (2010) Genes of the Ecdysone Biosynthesis Pathway Are Regulated by the dATAC Histone Acetyltransferase Complex in Drosophila. Mol. Cell Biol. 30:4254-4266. IF: 6.057

Pantaleo V., Szittyá G., Moxon S., Miozzi L., Moulton V., Dalmay T., Burgyan J. (2010). Identification of grapevine microRNAs and their targets using high throughput sequencing and degradome analysis. Plant J. 62:960-976. IF: 6.946

Pukáncsik M., Békési A., Klement E., Hunyadi-Gulyás E., Medzihradzsky K.F., Kosinski J., Bujnicki J.M., Alfonso C., Rivas G., Vértessy B.G. (2010) Physiological truncation and domain organization of a novel uracil-DNA-degrading factor. FEBS J. 277(5):1245-59. IF: 3.042

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. IF: 6.081

Radnai L., Rapali P., Hódi Z., Süveges D., Molnár T., Kiss B., Becsi B., Erdódi F., Buday .L, Kardos J., Kovács M., Nyitray L. (2010) Affinity, Avidity, and Kinetics of Target Sequence Binding to LC8 Dynein Light Chain Isoforms. J. Biol. Chem 285(49):38649-38657. IF: 5.328

Raskó T., Dér A., Klement É., Slaska-Kiss K., Pósfai E., Medzihradzsky K. F., Marshak D.R., Roberts R.J., Kiss A. (2010) BspRI restriction endonuclease:

cloning, expression in *Escherichia coli* and sequential cleavage mechanism. *Nucleic Acids Res.* 38: 7155-7166. IF: 7.479

Sarkadi B., Szakacs G. (2010) Understanding transport through pharmacological barriers--are we there yet? *Nat. Rev. Drug Discov.* 9(11):897-898. IF: 29.059  
Sarkadi B., Orbán T.I., Szakács G., Várady G., Schamberger A., Erdei Z., Szabó K., Homolya L., Apáti A. (2010) Evaluation of ABCG2 expression in human embryonic stem cells: crossing the same river twice? *Stem Cells.* 28(1): 174-6. IF: 7.747

Schneider C.K., Salmikangas P., Jilma B., Flamion B., Todorova L.R., Paphitou A., Haunerova I., Maimets T., Trouvin J.H., Flory E., Tsiftoglou A., Sarkadi B., Gudmundsson K., O Donovan M., Migliaccio G., Ancans J., Maciulaitis R., Robert J.L., Samuel A., Ovelgonne J.H., Hystad M., Fal A.M., Lima B.S., Moraru A.S., Turcani P., Zorec R., Ruiz S., Akerblom L., Narayanan G., Kent A., Bignami F., Dickson J.G., Niederwieser D., Figuerola-Santos M.A., Reischl I.G., Beuneu C., Georgiev R., Vassiliou M., Pychova A., Clausen M., Methuen T., Lucas S., Schussler-Lenz M., Kokkas V., Buzas Z., MacAleenan N., Galli M.C., Line A., Gulbinovic J., Berchem G., Fraczek M., Menezes-Ferreira M., Vilceanu N., Hrubisko M., Marinko P., Timon M., Cheng W., Crosbie G.A., Meade N., di Paola M.L., VandenDriessche T., Ljungman P., D Apote L., Oliver-Diaz O., Buttel I., Celis P. (2010) Challenges with advanced therapy medicinal products and how to meet them. *Nat. Rev. Drug Discov.* 9(3):195-201. IF: 29.059

Senesi S., Legeza B., Balázs Z., Csala M., Marcolongo P., Kereszturi É., Szelényi P., Egger C., Fulceri R., Mandl J., Giunti R., Odermatt A., Bánhegyi G., Benedetti A. (2010) Contribution of Fructose-6-Phosphate to Glucocorticoid Activation in the Endoplasmic Reticulum: Possible Implication in the Metabolic Syndrome. *Endocrinology* 151:4830–4839. IF: 4.752

Simándi Z., Bálint B.L., Poliska S., Ruhl R., Nagy L. (2010) Activation of retinoic acid receptor signaling coordinates lineage commitment of spontaneously differentiating mouse embryonic stem cells in embryoid bodies. *FEBS Lett.* 584(14):3123-3130. IF: 3.541

Stier I., Kiss A. (2010) The Type II restriction endonuclease *MvaI* has dual specificity. *Nucleic Acids Res.* 38: 8231-8238. IF: 7.479

Szappanos B., Süveges D., Nyitray L., Perczel A., Gáspári Z. (2010) Folded-unfolded cross-predictions and protein evolution: the case study of coiled-coils. *FEBS Lett.* 584:1623-1627. IF: 3.541

Szigeti A., Hocsak E., Rapolti E., Racz B., Boronkai A., Pozsgai E., Debreceni B., Bognar Z., Bellyei S., Sumegi B., Gallyas F. Jr. (2010) Facilitation of Mitochondrial Outer and Inner Membrane Permeabilization and Cell Death in Oxidative Stress by a Novel Bcl-2 Homology 3 Domain Protein. *J. Biol. Chem.* 285(3):2140-51. IF: 5.328

Szittyá G.M.S., Pantaleo V., Toth G., Rusholme-Pilcher R.L., Moulton V., Burgyan J., Dalmay T. (2010). Structural and Functional Analysis of Viral siRNAs. *PLoS Pathog.* 6(4): e1000838. IF: 8.978

Szláma G., Kondás K., Trexler M., Patthy L. (2010) WFIKKN1 and WFIKKN2 bind growth factors TGF $\beta$ 1, BMP2 and BMP4 but do not inhibit their signalling activity. *FEBS J.* 277:5040-50. IF: 3.042

Szőőr B., Ruberto I., Burchmore R., Matthews K. (2010) A novel phosphatase cascade regulates differentiation in African trypanosomes via a glycosomal signalling pathway. *Genes Dev.* 24(12):1306-16. IF: 14.198

Takács B., Billington N., Gyimesi M., Kintses B., Málnási-Csizmadia A., Knight P.J., Kovács M. (2010) Myosin complexed with ADP and blebbistatin reversibly adopts a conformation resembling the start point of the working stroke. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 107(15):6799-6804. IF: 9.432

Tóth K., Sarang Z., Brázda P., Ghyselinck N., Chambon P., Fésüs L., Szondy Z. (2010) Retinoids enhance glucocorticoid-induced apoptosis of T cells by facilitating glucocorticoid receptor-mediated transcription. *Cell Death Differ.* 2010 Nov 12. IF: 8.240

VanderSluis B., Bellay J., Musso G., Costanzo M., Papp B., Vizeacoumar F.J., Baryshnikova A., Andrews B., Boone C., Myers C.L. (2010) Genetic interactions reveal the evolutionary trajectories of duplicate genes. *Mol. Sys. Biol.* 6:429 IF: 12.125

Várallyay E., Válóczy A., Agyi A., Burgyán J., Havelda Z. (2010). Plant virus-mediated induction of miR168 is associated with repression of ARGONAUTE1 accumulation. *EMBO J.* 29(20):3507-19. IF: 8.993

Veto S., Acs P., Bauer J., Lassmann H., Berente Z., Setalo G. Jr., Borgulya G., Sumegi B., Komoly S., Gallyas F. Jr., Illes Z. (2010) Inhibiting poly(ADP-ribose) polymerase: a potential therapy against oligodendrocyte death. *Brain* 133(Pt 3):822-34. IF: 9.490

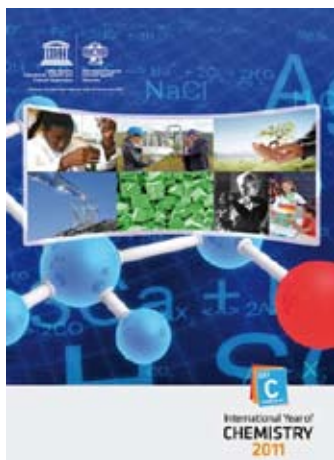
Wahlgren W.Y., Pál G., Kardos J., Porrogi P., Szenthe B., Patthy A., Gráf L., Kátona G. (2010) The catalytic aspartate is protonated in the Michaelis complex formed between trypsin and an in vitro evolved substrate-like inhibitor: a refined mechanism of serine protease action. *J. Biol. Chem.* 286(5):3587-96. IF: 5.328

Wohner N., Keresztes Z., Sótonyi P., Szabó L., Komorowicz E., Machovich R., Kolev K. (2010) Neutrophil granulocyte-dependent proteolysis enhances platelet adhesion to arterial wall under high-shear flow. *J. Thromb. Haemostasis* 8(7):1624-1631. IF: 6.069

Zeke A, Lukács M, Lim WA, Reményi A. (2010) Scaffolds: interaction platforms for cellular signalling circuits. *Trends Cell. Biol.* 19(8):364-74. IF: 12.115



## 2011 A KÉMIA ÉVE



Éppen száz éve, hogy *Marie Skłodowska Curie* megkapta második, azaz Kémiai Nobel Díját, valamint megalakult az IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) elődszervezete. Ezért az UNESCO és IUPAC az idei, 2011-es esztendő t javasolta a *Kémia Nemzetközi Évének*. Az ENSZ Közgyűlése 2008-ban elfogadta a javaslatot és határozata szerint „*it is time to celebrate the achievements of chemistry and its contributions to the well-being of humankind*”. Tehát idén centenáriumi ünnepelünk. Az évfordulós ünnepelés egyfajta számvetésre is alkalmat ad. Ha körülnézünk a kémia tárházában és elgondolkodunk, felemás gondolataink támadhatnak, mint egykor Vörösmarty Mihálynak a könyvtárban.

A világháló lehetővé teszi, hogy különféle dimenziókban virtuális utazást tegyünk a kémia apopójából. Időutazással eljuthatunk az alkímia korszakába. Amikor 1789-ben - forradalmi, korszakváltó időpontban - Lavoisier égésemeléttével megcáfolta a flogiszton elméletet, az alkímiát végleg felváltotta a modern kémia. Mára viszont az égés, az oxidáció az emberiség fő energiaforrása lett és ez a „globális oxidáció” baljós méreteket ölt. A keletkező széndioxid vésszen növeli a légkör meleggházhatását, az energiamohóság következtében pedig a fosszilis energiahordozók mennyisége megfogyatkozott. Az elszabadult (kémiai) folyamatok kordában tartása az emberiség előtt tornyosuló kihívás.

A 20. században kémiai reakciók segítségével számtalan új vegyület született: különleges tulajdonságú műanyagok, gyógyszerek, élelmiszerek, üzemanyagok, fémek, stb. Az ipari melléktermékek és műanyagok egy része azonban környeztetünket szennyezi, az illékony halogén vegyületek pedig az ózonpajzsot károsítják. És időnként gonosz szellem szabadul ki a lombikból: 1976-ban dioxin származék Sevesóban, 1984-ben pedig egy gyomirtó intermedier, metil izocianát Bhopalban okozott súlyos mérgezést. Közelebb is akad példa: Nagybányán 2000-ben cianid és nehézfém-tartalmú szennyvíz, Kolontáron pedig 2010-ben vörösiszap...

Azonban méltánytalan és ünneprontó most a kémia vívmányait, érdemeit haszonelvű, felelőtlen alkalmazásukkal összekeverni, vegyíteni. A zöld kémia révén egyébként az ipari kockázatok kiküszöbölésére alternatív eljárások születnek. Ma még beláthatatlan, hogy korunk slágere, a nanokémia milyen újszerű feladatokat fog megoldani a nanovilágban.

A jövő elkezdődött, háromdimenziós virtuális utazással bejuthatunk a nanovilág belsejébe. Modern nagyműszeres szerkezetvizsgáló módszerek (röntgenkrisztallográfia, NMR) sorra tárják fel a szerkezeti anyagok és biomakromolekulák (pl. enzimek és receptorok) térszerkezetét. Számítógépes megjelenítésük és funkcionális átalakulásaik molekuladinamikai szimulációja a

kémiai szerkezet és funkció összefüggéseire világít rá. Ezek ismeretében a hatóanyagok racionális tervezése napirenden van.

De a jelen kijózanító is. Íme, néhány definíció a tudományágak közérthető megkülönböztetésére a „*Handy Guide of Modern Science*” szerint: 1) ha zöld vagy vonaglik, biológia; 2) ha bűdös, kémia; 3) ha felfoghatatlan, matematika. Ezek a meghatározások nem állnak távol a (természet)tudományok jelenlegi társadalmi megítélésétől. (Ezek szerint mi lenne a biokémia? Ha zöld volt vagy vonaglott, most bűdös?) Egyébként a nyilvánosság számára egyik diszciplína sem könnyen felfogható.

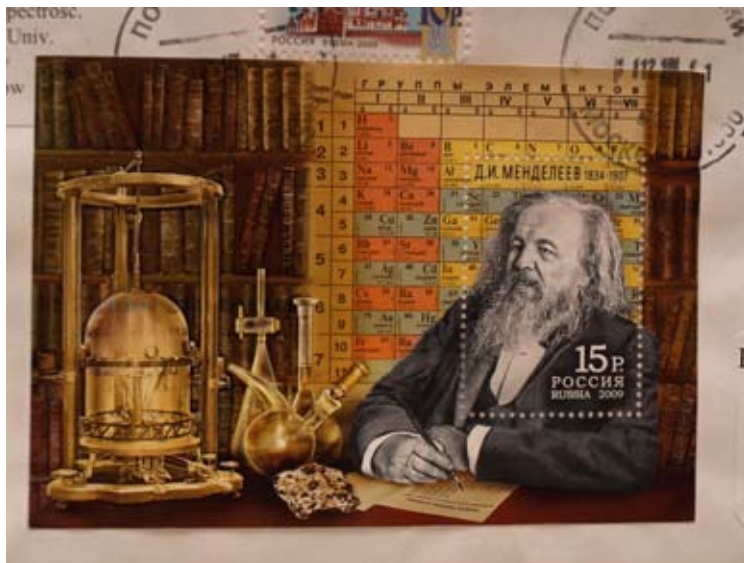
A természettudományos eredmények széles körben felfoghatóvá és befogadhatóvá tétele valójában intellektuális transzfer, kommunikáció, ami elsősorban az oktatás és tudománynépszerűsítés feladata. De sajnos mostanában, hazánkban alig van érdeklődés az egyetemek természettudományos mester fokozatai iránt. A (bio)kémia megszerettetéséhez meg kellene oldani a tanárutánpótlást. Ezzel párhuzamosan sokat segíthet egy másik, egyszerű és hatékony mód: az érzékszervi befogadás. A láttatás a legeredményesebb. Egyik-másik kémiai szerkezet számítógépes megjelenítése, kémiai-biológiai struktúra (elektron)mikroszkópos képe már-már maga is esztétikai élményt nyújt. Másrészt ihletadó forrás a képző és iparművészek; festők, szobrászok és építészek számára.

A *Kémia Nemzetközi Éve* tiszteletére az MTA Kémiai Kutatóközpontjában kiállítást rendeztünk „**Kémiai Galéria. Kémia és Képzőművészet**” címmel. A világhálóról letöltött és kollégák közreműködésével szerzett csaknem száz képet, nyomtatványt két csoportba osztottuk. „**Az (AI)Kémia és festészet**” című gyűjtemény festmények és karikatúrák segítségével mutatta be az alkímisták laboratóriumát, berendezéseit és a kémia történetének kiemelkedő személyiségeit. Az „**Inspiráló (bio)kémia és szerkezet**” című csoportban pedig maguk a kémiai-biokémiai szerkezetek, azaz számítógépes reprezentációjuk, valamint e struktúrák inspirálta képzőművészeti alkotások szerepeltek.

Ünnepeljük tehát a *Janus*-arcú kémia szebbik arcát, de sokat kell tenni azért, hogy a társadalom ne csak a másikat lássa.

**Maksay Gábor**  
**Tudományos tanácsadó**  
**MTA Kémiai Kutatóközpont**

**Válogatás a kiállítás képeiből:**



**Mengyelejev emlékblokk (2009).** Fotó: Dr. Keresztury Gábor (MTA KK).

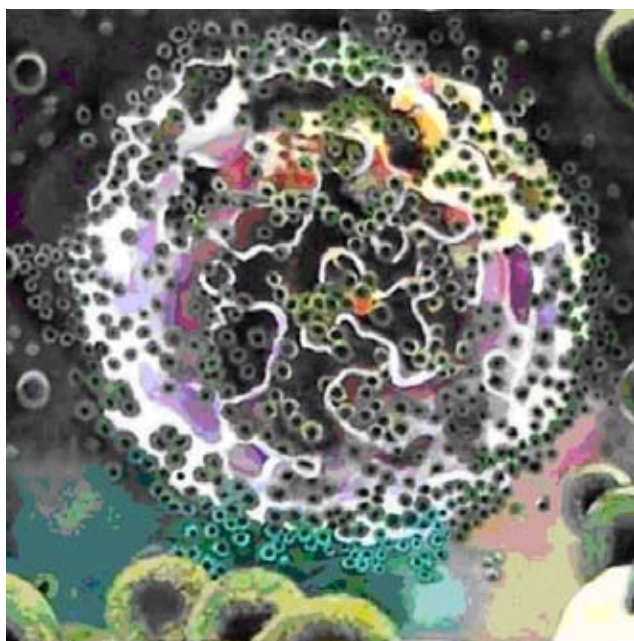


**Craig Nutt: Helical Dance.**

A szobor a Schering-Plough Research Institute, Alabama számára készült.  
credit: Dr. Náray-Szabó Gábor (MTA Könyvtár).



**Józsa Emmi: Falánk gömböc**, selyemfestmény.  
Makrofág falatozik.



**Józsa Emmi: H(ow) I(nviting) V(egetable)**, selyemfestmény.  
Limfocitát támadnak az AIDS vírusai



## A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET 2011. ÉVI VÁNDORGYŰLÉSE PÉCS, 2011. AUGUSZTUS 28-31.

### *Tisztelt Kolléga!*

Örömmel jelezzük, hogy a Magyar Biokémiai Egyesület **Pécsett** rendezi meg **2011.** évi Vándorgyűlését. A konferencia helyszíne a **Hotel Palatinus** (Király utca 5).

A konferencia tervezett témaköreiből:

- 1. Sejtorganellum biokémia (Szondy Zsuzsa és Vellai Tibor)*
- 2. Membrán és citoszkeleton (Vígh László és Nyitrai Miklós)*
- 3. Neurobiokémia (Illés Zsolt és Sperlággh Beáta)*
- 4. Genomika és génműködés szabályozása (Melegh Béla és Boros Imre)*
- 5. Pathobiokémia (Gallyas Ferenc és Virág László)*
- 6. Genom instabilitás és karcinogenezis (Haracska Lajos és Vértessy Beáta)*
- 7. Biokémiai analitika (Miseta Attila és Berente Zoltán)*

A konferencián előadással, illetve poszterrel lehet részt venni. A Vándorgyűlés szervezőbizottsága a beérkezett előadás kivonatok alapján - figyelembe véve a lehetséges előadások korlátozott számát - szerkeszti meg a végleges programot. A poszterek esetében várhatóan minden szakmailag megalapozott jelentkezést el tudunk fogadni.

A Vándorgyűlés felhívása, illetve minden további információ az Egyesület honlapján található (<http://www.mbkegy.hu>), illetve a szervező irodától (e-mail: [incoming@chemoltravel.hu](mailto:incoming@chemoltravel.hu), telefon: 266 7032 kontakt: Morlin Franciska / Sónyi Judit) kérhető el.

A rendezvény végleges programját és az előadások/poszterek összefoglalóit az egyesület lapja, a Biokémia 2011. évi 3. száma fogja részletesen közölni. Ugyanakkor az aktuális információk, esetleges változások az egyesület, illetve a szervező iroda honlapján folyamatosan elérhetők lesznek.

Amennyiben felkeltettük érdeklődését, kérjük, hogy jelentkezését, illetve tervezett prezentációjának összefoglalóját elektronikus úton **2011. június 15-ig** küldje el.

Kérjük továbbá, hogy az érdeklődő kollégák figyelmét szíveskedjen felhívni a konferenciára.

Baráti üdvözlettel a szervezőbizottság elnöke:

**Sümegei Balázs**  
**PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet**

## 41. MEMBRÁN-TRANZSPORT KONFERENCIA, SÜMEG 2011.05.17. - 2011.05.20.

### ***Kedves Kollégák!***

Örömmel értesítünk minden kedves, a Membrán-Transzport Konferenciát eddig is látogató, illetve a jövőben a konferencián részt venni kívánó kollégát, hogy a hagyományoknak megfelelően a következő **Membrán-Transzport Konferenciát** 2011. május 17-20. között rendezzük meg Sümegen.

A 2011. évi konferencia fő témái között szerepelnek a **membránkutatás biofizikai vonatkozásai, lipidek és jelátvitel, transzport biológiai barrieréken keresztül**, valamint a **nanotechnológia alkalmazásai élettudományokban**. Természetesen minden **sejtbiológiai, molekuláris biológiai, biofizikai és biokémiai** kutatás eredményét bemutató posztert szívesen fogadnak a szervezők, amennyiben azok **membránokkal és biológiai transzport folyamatokkal** kapcsolatosak.

A tudományos program szervezése során célunk, hogy a tématerületek vezető hazai kutatóit nyerjük meg eredményeik ismertetésére az egyetemi és akadémiai, valamint gyógyszeripari és más kutatás-fejlesztési intézményekből.

A sümegi Membrán-Transzport Konferencia multidiszciplináris jellege mindig is különleges vonzerőt jelentett a hazai kutatási eredmények bemutatására. A résztvevők érdeklődésének széles spektruma (biokémia, sejtbiológia, biofizika, immunológia, genetika, élettan, farmakológia) kiterjedt lehetőségeket biztosít az alap- klinikai- és alkalmazott kutatásokat végzők hatékony eszmecseréjére. A résztvevők között a kutató generációk széles köre (a konferenciát alapító senior-kutatók, nemzetközi szinten elismert vezető kutatók, PhD hallgatók, diplomamunkát készítő hallgatók) megtalálhatók, ezért a konferencia értékes fóruma a fiatal kutatók továbbképzésének is. Mindez baráti, családi légkörrel is párosul, ami szintén jelentősen hozzájárul a konferencia hosszú évtizedekre visszatekintő sikeréhez. A szervezők mindent megtesznek azért, hogy e pozitív hagyományokat az ez évi összejövetelen is gyarapítsák.

### **A konferencia honlapja:**

<http://www.remedicon.hu/index.php?ANYELV=1&AKONF=76&FOMENU=0>

### **Határidők:**

Absztrakt benyújtás: 2011. március 20.

Regisztráció: 2011. május 2.

Üdvözlettel,

**Dr. Deli Mária és Dr. Krizbai István**  
**A konferencia szakmai szervezői**  
**MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont**  
**Biofizikai Intézet**

## KEDVES KOLLEGÁK!

**Az MBKE Gyógyszerbiokémiai Szakosztály munkaértekezletét  
Balatonőszödön, 2011. május 9-11. között rendezzük.**

### **A szakosztály munkaértekezletén tervezett szekciók:**

- **Transzlációs kutatások**
  - **Genetikai aspektusok**
  - **Farmakológiai aspektusok**
  - **Klinikai aspektusok**
- **FRET/BRET alkalmazások**
- **Új megközelítések a gyógyszerkutatásban**

Az előzetes tudományos program és a jelentkezési lap az alábbi weboldalról letölthető: <http://www.mbkegy.hu/htmls/konferenciak.html>.

A kitöltött jelentkezési lapot **2011. április 22.-ig**

**Dr. Keserű György, Richter Gedeon Rt.**

1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.

(telefon: +36-1/431-4605, fax: +36-1/432-6002) kérjük lehetőleg e-mail útján beküldeni a [gy.keseru@richter.hu](mailto:gy.keseru@richter.hu) címre.

A részvételi díjat „Balatonőszöd” megjelöléssel 2011. április 22.-ig kérjük átutalni a Magyar Biokémiai Egyesület, Gyógyszerbiokémiai Szakosztály, OTP Bank Rt. Debrecen 11738008-20831817 számú számlájára.

**Számlaadás:** Dr. Keresztes Tamásné, titkárságvezető

Postacím: MBKE, Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen, Nagyerdei krt. 98., 4012 Pf. 6.

Telefon: +36-52/416-432, Fax: +36-52/314-989,

e-mail: [mbke@indi.biochem.dote.hu](mailto:mbke@indi.biochem.dote.hu)

**Dr. Keserű György Miklós  
szakosztályelnök**

## FELHÍVÁS CÉGEKNEK

### ***Tisztelt Partnerünk!***

Örömmel jelezzük, hogy a Magyar Biokémiai Egyesület **Pécsett** rendezi meg **2011.** évi Vándorgyűlését augusztus 28-31.között. A konferencia helyszíne a **Hotel Palatinus** (Király utca 5).

A konferencia tervezett témaköreiből (szervezők):

1. *Sejtorganellum biokémia (Szondy Zsuzsa és Vellai Tibor)*
2. *Membrán és citoskeleton (Vígh László és Nyitrai Miklós)*
3. *Neurobiokémia (Illés Zsolt és Sperlággh Beáta)*
4. *Genomika és génműködés szabályozása (Melegh Béla és Boros Imre)*
5. *Pathobiokémia (Gallyas Ferenc és Virág László)*
6. *Genom instabilitás és karcinogenezis (Haracska Lajos és Vértessy Beáta)*
7. *Biokémiai analitika (Miseta Attila és Berente Zoltán)*

A Vándorgyűlés felhívása, illetve minden további információ az Egyesület honlapján található (<http://www.mbkegy.hu>), illetve a szervező irodától (e-mail: [incoming@chemoltravel.hu](mailto:incoming@chemoltravel.hu), telefon: 266 7032 kontakt: Morlin Franciska / Sónyi Judit) kérhető el. Az MBKE tagjai körlevélben értesítést kapnak, amint megnyílik a regisztráció lehetősége.

A rendezvény végleges programját és az előadások/poszterek összefoglalóit az egyesület lapja, a Biokémia 2011. évi 3. száma fogja részletesen közölni. Ugyanakkor az aktuális információk, esetleges változások az egyesület, illetve a szervező iroda honlapján folyamatosan elérhetőek lesznek.

Reméljük, hogy kiállítóként üdvözölhetjük a Vándorgyűlésen.

Baráti üdvözlettel a szervezőbizottság elnöke:

**Sümegei Balázs**  
**PTE ÁOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet**



## PÁLYÁZATI FELHÍVÁS

A Magyar Biokémiai Egyesület 2011. évi Vándorgyűlése kapcsán  
(Pécs, Palatinus Szálloda, 2011. augusztus 28-31)

### a **BIO-SCIENCE Kft. pályázatot hirdet**

2010-2011-ben, nemzetközi folyóiratban megjelent, molekuláris biológiai témájú közlemény szerzője/szerzői részére.

Pályázatot nyújthat be minden résztvevő, korhatár nélkül.

A pályázatokat a Magyar Biokémiai Egyesület elismert szakemberekből álló bizottsága bírálja el.

### **A pályázat díja bruttó 500.000.-Ft**

Az összeg felhasználható a BIO-SCIENCE Kft. által forgalmazott termékekre.

Előnyben részesülnek azok a munkák, amelyek döntően hazai tudományos műhelyekben készültek.

A pályázatokat (1 db különlenyomatot a közleményből) a Magyar Biokémiai Egyesület Titkárságára kérjük beküldeni:

Debreceni Egyetem, OEC, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet  
H-4010 Debrecen, Egyetem tér 1. Life Science Building

**Postacím:** MBKE, Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen, Nagyerdei krt. 98., 4012 Pf. 6.

### **Beküldési határidő:**

**2011. május 31.**

# PRACTICAL COURSE ON GENE EXPRESSION REGULATION AND DATA INTEGRATION 2011

**Research Center for Molecular Medicine, University of Debrecen  
Debrecen, Hungary Aug 27- Sept 4, 2011**



**Course director: Laszlo Nagy, University of Debrecen**

Organizing committee:

Balint L. Balint, University of Debrecen  
Endre Barta, University of Debrecen  
Vladimir Benes, European Molecular Biology Laboratory  
Beata Scholtz, University of Debrecen  
Gabor Zahuczky,  
UD-GenoMed Medical Genomic Technologies Ltd.

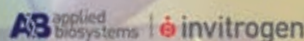
Faculty of the course:

**Cei Abreu-Goodger**, National Laboratory of Genomics  
for Biodiversity (Langebio), Mexico  
**Jonathon Blake**, Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg  
**Vladimir Benes**, Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg  
**Massimiliano Gentile**, CSC - IT Center for Science Ltd, Espoo  
**Xavier Gidrol**, BGE/Biomics, Grenoble  
**György Hutvágner**, Wellcome Trust Centre for Gene Regulation  
and Expression, Dundee  
**Eija Korpelainen**, CSC - IT Center for Science Ltd, Espoo  
**Mikael Kubista**, TATAA Biocenter, Prague  
**Laszlo Nagy**, University of Debrecen,  
Research Centre for Molecular Medicine, Debrecen  
**Peter Tontonoz**, Howard Hughes Medical Institute,  
University of California  
**Zlatko Trajanoski**, Biocenter,  
Division for Bioinformatics,  
Innsbruck Medical University

Course administrator: Judit Gulyas

E-mail: febs2011@med.unideb.hu  
Web site: febs2011.unideb.hu

Deadline of application:  
April 30, 2011



## Tisztelt Kollégák!

A Magyar Biokémiai Egyesület „Az egyesülési jogról szóló 1989. évi II. törvény” szabályai szerint létrejött szervezet és így jogosult arra, hogy magánszemélyek adóbevallásuk során adójuk 1%-át az Egyesületnek ajánlják fel.

Tisztelettel kérnénk a kollégákat, hogy – tekintettel az Egyesület nehezedő anyagi helyzetére – adóbevallásuk során az egyik 1%-ot a Magyar Biokémiai Egyesület számára ajánlják fel a következő adószám megjelölésével:

**19815730-2-09**

Értékes támogatásukat előre is köszönve, üdvözlettel

Fésüs László  
elnök

Vértessy Beáta  
főtitkár

## TAGDÍJBEFIZETÉS

### Tisztelt Kolléga!

Elérkezett az ideje a 2011. évi tagdíjak befizetésének. PhD és egyetemi hallgatók, illetve nyugdíjas kollégák esetében a tagdíj 2000 Ft, míg tudományos minősítéssel rendelkező tagok esetében 4000 Ft.

A tagdíj rendezhető csekken vagy közvetlen átutalással. Az egyesület titkárságától (Dr. Keresztes Tamásné Agi, [mbke@indi.biochem.dote.hu](mailto:mbke@indi.biochem.dote.hu)) lehet kérni csekket vagy a számla elkészítését, utóbbi esetben a számla kézhezvétele után fizethetők be a tagdíjak az alábbi bankszámlaszámra:

**Magyar Biokémiai Egyesület**  
**OTP Bank Rt. Debrecen**  
**11738008-20831800**

Kérjük azokat az intézményeket, akik nagyobb összeget egyben utalnak át számlánkra, hogy a fenti e-mail címre küldött levélben azonosítsák az utalást (sorolják fel a befizetők nevét, tüntessék fel az átutalás dátumát, stb).

Felhívánk arra is tagtársaink figyelmét, hogy az egyesület vezetősége szeretné megszilárdítani a tagdíjfizetési fegyelmet, ami nélkülözhetetlen ahhoz, hogy egyesületünk kiegyensúlyozott anyagi körülmények között működjön. Az egyesület alapszabályzatában foglaltaknak megfelelően „törléssel veszti el tagságát az, aki 1 éves tagsági díj hátralékát felszólításra sem rendezi”. Azon kollégáinkat ezért, akik tagdíjukat felszólításra sem fizetik be, törölni vagyunk kénytelenek nyilvántartásunkból. Kérjük ennek szíves megértését és tudomásulvételét.

Tisztelettel,

A Magyar Biokémiai Egyesület vezetősége