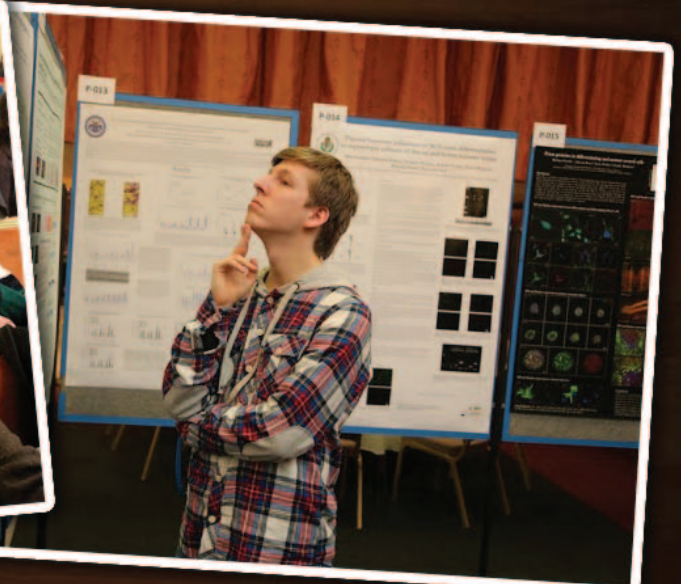


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XXXVII. évfolyam 2. szám

2013. június



# 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**

szucs.maria@brc.mta.hu

Technikai szerkesztő:

**Bérdi Péter**

berdipeter@gmail.com

**XXXVII. ÉVFOLYAM 2. SZÁM**

**2013. június**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: A „Hungarian Molecular Life Sciences 2013 (Molekuláris Élettudományi Konferencia 2013)”, Siófok képei (fotó: Thaler Tamás)*

### **AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK**

Kitüntetések, díjak .....	3.
Csermely Péter az MTA új levelező tagja és az In Memoriam Gábor Dénes díj kitüntetettje .....	4.
Vértessy G. Beáta a L'Oréal-UNESCO Magyar Ösztöndíj a Nőkért és a Tudományért pályázat nyertese .....	9.

### **TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNY**

Gyimesi Gergely, Sarankó Hajnalka, Tordai Hedvig, Tóth Attila, Borsodi Dávid, Sarkadi Balázs és Hegedűs Tamás: ABC fehérjék szövegbányászaton alapuló mutációs adatbázisa .....	15.
---	-----

### **HAZAI Tudományos Iskolák**

Bemutatkozik a Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet	25.
--	-----

### **NEKROLÓG**

Elhunyt Hadlaczky Gyula .....	59.
-------------------------------	-----

### **KONFERENCIA BESZÁMOLÓK**

A 43. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg .....	63.
A Peptidkémiai Munkabizottság 2013. évi ülése, Balatonszemes .....	65.
„Hungarian Molecular Life Sciences 2013 (Molekuláris Élettudományi Konferencia 2013)”, Siófok .....	67.

### **AKTUALITÁSOK**

A BIO-SCIENCE Kft. 2013 évi pályázatának eredményhirdetése .....	71.
--	-----

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 2013. MÁRCIUS 15 ÓTA

Az MTA rendes tagjává választották **Ligeti Erzsébetet**, a Semmelweis Egyetem Élettani Intézetének egyetemi tanárát, **Nagy Lászlót**, a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetének egyetemi tanárát és **Oláh Editet**, az Országos Onkológiai Intézet Molekuláris Genetikai Osztályának vezetőjét. Levelező tag lett **Buday László** (életútjáról szóló írását lásd Biokémia XXXVII. ÉVFOLYAM 1. SZÁM 2013. március), az MTA Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet igazgatója és **Csermely Péter**, a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézetének egyetemi tanára, mindketten az MBKE alelnökei.

Az MTA 2013 évi Lendület pályázatán 105 pályázó indult, közülük 14 fiatal tudós alakíthat önálló csoportot az első évre biztosított 619,3 millió forintos akadémiai támogatásból. Így 2013 nyarától a korábban megalapítottakkal együtt már 79 Lendület-kutatócsoport folytathat nemzetközileg is számottevő eredményeket ígérő kutatásokat az összesen mintegy 3 milliárd forintos pályázati forrásból. Egyesületünk tagjai közül **Reményi Attila** szerkezeti biokémikus alakíthat önálló kutatócsoportot az MTA Természettudományi Kutatóközpont Molekuláris Farmakológiai Intézetében. Célja a rákos és gyulladásos folyamatok kialakulásában fontos szerepet játszó, úgynevezett molekuláris kötőfelszínek feltárása. (Eredményeiről a Biokémia XXXVI. ÉVFOLYAM 2. SZÁM 2012. júniusi számában olvashattunk.)

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**

## CSERMELY PÉTER

**Amit Csermely Péter szeret:** tudományos alaposágú, elmélyült gondolkodás; a végtelen szeretet; integráns, kreatív egyéniségek; mély beszélgetések; előadások tartása; komolyzene; úszás; teknősfurák; távlatok a térben, lélekben, mindenben; mosogatás; két kristálypohár összecsendülése; a napsugár aransárga színe...

**Amit Csermely Péter nem szeret:** (szerinte nagy) kézügyességet igénylő dolgok, pl. fúrás-faragás, szerelés; labdajátékok; (szerinte) monoton, agynélküli munkák: pl. adatbevitel, bürokrácia, valakinek harmadszor is elmagyarázni ugyanazt; bármilyen, játszmákat és nem valós állításokat igénylő cselekvés: pl. piaci alku, póker, politika; bármi, ami ragad; a fog alatt roccogó homok; a túlzottan hangos hangok és a koszos, kevert színek...



Gyermekkoromban nagyon sok foglalkozás megragadott: voltak évek, amikor szobrász, régész, történettudós, avagy éppen színész szerettem volna lenni. A biokémiával 16 éves koromban jegyeztük el egymást. Ekkor történt az ugyanis, hogy szeretve tisztelt kémia-tanárom az Apáczai Csere János Gimnáziumban, Varga Ernő (szerencsére!) nem árulta el, hogy a kémia Országos Középiskolai Tanulmányi Verseny beugró dolgozatát csak ő fogja

elolvasni, és senki más. Így fél évig bújtam a könyvtárakat a választott témám: a fehérjék és a fémionok kölcsönhatásairól. 1974-ben még nem volt Internet, és a modern biokémia nagyon sok eszköze sem volt ismeretes. Morzsánként, a turkálástól könyékig porosan kellett tehát összeszedni a tudást. Matatásom közben rájöttem, hogy a morzsák egyberakásával valami új is születik. Ez óriási lelkesedéssel töltött el.

Az első fontosabb eredményem egy kontrollkísérletből született [1]. 25 évvel ezelőtt a SOTE I. számú Biokémiai Intézete a Puskin utcában, egy meglehetősen régi épületben volt. Amerikából ide visszatérve semmilyen sejten belüli kalcium mérésemet nem tudtam reprodukálni. Az egyik kontrollkísérletben plazma-emissziós módszerrel ellenőriztük, hogy mennyi összes kalcium is van a rendszerben. Óriási meglepetésemre a készülék nagy mennyiségű cinket is kimutatott. Kiderült, hogy a mennyezetről szép lassan szállingózott a cinkoxidos fehér festék, bele a kémcsövekbe, és teljesen átalakított egy sor jelátviteli folyamatot. Számos méréssel tisztáztuk, hogy a cink in vivo koncentrációban is részt vesz a jelátvitelben. Az eredményeinket mostanában újra idézni kezdték, amely a cink jelátviteli szerepének későbbi, széleskörű bizonyítására vezethető vissza.

A második fontos tudományos eredményem is egy kontrollkísérletből született [2]. A Hsp90 a jelátviteli folyamatokat is szabályozó stresszfehérje. A Hsp90 az emberi sejtekben az egyik legnagyobb mennyiségben előforduló molekuláris chaperon. A Hsp90 ATP kötő tulajdonságát egy inzulin-foszforilációs kísérlet kontrolljaként fedeztem fel a Harvard Egyetemen. A már idehaza elvégzett részletes vizsgálatok megmutatták, hogy a Hsp90 N-terminális ATP kötőhelye nagyon más, mint az összes többi ATP kötőhely. Sóti Csaba munkatársam több új módszer alkalmazásával bizonyította, hogy van egy másik ATP kötőhelye is a Hsp90-nek [3]. A Hsp90 C-terminális ATP kötőhelye még sokkalta különlegesebb, mint az N-terminális ATP kötőhely. Ez az oka annak, hogy a két kötőhely felfedezése nagyon specifikus rák-ellenes jelátviteli gyógyszerjelöltek kidolgozását indította el, amelyekkel jelenleg igen biztató klinikai vizsgálatok folynak.

Tíz éve derült ki a számomra, hogy a fehérjeszerkezetek, a fehérjekapcsolatok, és a jelátvitel adaptációjának a vizsgálatára a hálózatos módszerek igen alkalmasak [4]. Tíz éve úgy vélték, hogy a sok szomszédal rendelkező csomópontok játszanak ebben igazán fontos szerepet. Az elmúlt években három olyan (eddig sok száz más csoport által használt) vizsgálati módszert alkottunk meg, amelyek funkcionális alapon azonosítanak hálózatokat döntően befolyásoló elemeket [5-7]. Ezek az elemek a csoportok középpontjában helyezkednek el, hidakat képeznek a csoportok között, a hálózatban zajló jelátvitelt irányítják, vagy a hálózat együttműködését határozzák meg.

Az egyik legfontosabb hálózatos eredményünknek tartom annak a felfedezését, hogy a hálózatok az új helyzethez a csoportjaik átalakulásával adaptálódnak [8]. Ez az eredmény is kontrollkísérletből született abban az értelemben, hogy sok más eredmény közül ez volt az egyetlen, amely kiállta minden kontroll próbáját. Mihalik Ágoston diákkörös hallgatóm 4 éves munkája eredményeként tudtuk bizonyítani azt, hogy az élesztősejt fehérje-fehérje kölcsönhatási hálózata a stresszre a csoportjainak sűrűbbé rendezésével válaszol. A csoportok összetartásának növekedése minden komplex rendszerre, így az ökoszisztémákra és a társadalomra is egyaránt jellemző. Állatok éhezése, ökoszisztémák kiszáradása, vagy egy tömegkatasztrófa nagyon hasonló csoportválaszokat generál. Az élesztő azonban tud valamit, amit mi sokszor elfelejtünk. Ha a csoportok sűrűbbek lesznek, a csoportközi kapcsolatokra különösképpen vigyázni kell, mert ennek hiányában az egész rendszer szétesik, és meghal. Ezt „felismerve” a válságban az élesztő nemcsak őrzi a csoportjait összekötő legfontosabb kapcsolatokat, hanem egy sor új hidat is kifejleszt.

Jelenleg a hálózatokat jellemző módszereinknek a gyógyszerfejlesztésben való alkalmazásán dolgozunk [9]. Tíz évvel ezelőtt a genetikailag igazolt célpontokat telibe találó gyógyszereket tartották hatékonynak. A genetikailag igazolt célpontok azonban sokszor a sejt hálózataiban túl központi szerepet töltenek be. Az ilyen gyógyszereknek ezért sok a mellékhatása. Ágoston Vilmossal és Pongor Sándorral együtt először mutattuk meg azt, hogy a több támadáspontra egyszerre ható gyógyszerek képesek azonos, sőt még jobb hálózatos hatást elérni, mint az egyetlen célpontot telibe találó társaik [10]. A legrégebb óta használt gyógyszerek, mint az aszpirin, ilyen, több támadáspontra ható gyógyszerek.

Ruth Nussinovval és Chung-Jung Tsai-val elsőként írtuk le, hogy az az igazán hatékony támadás, amikor a gyógyszerek nem a célponthoz, hanem a célpont melletti szomszédfehérjéhez kötnek [11]. Az ilyen szomszédfehérjék kívül esnek a sejt legforgalmasabb útvonalain, ezért az őket támadó gyógyszereknek kevés mellékhatása van. Ugyanakkor e szomszédfehérjék szelektíven befolyásolják a mellettük lévő valódi célpontot. A legsikeresebb gyógyszerek túlnyomó többsége ilyen, indirekt hatást kifejtő gyógyszer. Jelenleg olyan módszereket fejlesztünk, amelyek képesek a többszörös, illetve az igazi célpont melletti támadáspontok megjólására.

A nemzetközi elfogadottság egyik mércéjét a tudományos közlemények jelentik. Közleményeimet 650-es impakt faktor, 41-es Hirsch-index és több mint 6500 független idézet jellemzi. A munka 90%-a itthon végzett, önálló tevékenység eredménye, az idézetek több mint fele az elmúlt 5 évben keletkezett. A tudományos eredmények nemzetközi elfogadottsága többek között 95 nemzetközi konferencia meghívásban, Fogarty, Howard Hughes és Rockefeller ösztöndíjban mutatkozik meg. Az elmúlt évben 6 nemzetközi tudományos újság (köztük a Nature Scientific Reports és a PLoS ONE) hálózatos szerkesztőjének hívtak meg. A tudományos eredmények nemzetközi elfogadottsága egy idő után a tanítványok elfogadottságában is mérhető. Húsz év alatt összesen több mint 3000 PhD hallgatónak tartottam PhD kurzust, amelyet 3 könyv megírásával is segítettem – az elsőt Gergely Pállal közösen. A tanítványaim Kanadában, Svájcban és Indiában vezetnek tudományos csoportot. Ketten az Abbott és a Novartis igazgatói lettek. 3 tanítványom, Korcsmáros Tamás, Nardai Gábor és Sóti Csaba az MTA volt, vagy jelenlegi Bolyai ösztöndíjasai.

A terveink középpontjában a hálózatok adaptációjának vizsgálata áll. A jól adaptálódó rendszerek általában igen plasztikusak. Ugyanakkor a plasztikus rendszerek nem tudják megőrizni a tanultakat. Nincs nekik „memóriájuk”. Ezzel szemben a merev rendszereknek van „memóriájuk”. A merev rendszerek azonban változni nem tudnak. A biológiai rendszerek, így a sejtek hálózatai, az igényeknek megfelelően szabályozzák azt, hogy mennyire legyenek adaptációképesebbek, azaz plasztikusabbak, illetve valamilyen működésre optimalizáltak, azaz merevebbek. A plasztikus és merev rendszereket nagyon más hálózatos támadáspontokon lehet megváltoztatni. A plasztikus rendszerek hálózatait a közepükön (centrális nódusaikon) kell eltalálni. Ilyenek a gyorsan osztódó sejteket (fertőző baktériumokat, rákot, stb.) megcélzó gyógyszerek. A differenciált sejtek merevebbek. Ezért a többi betegségre ható gyógyszerek döntő többsége a centrális nódusok szomszédjaira hat, ugyanis a centrális nódusokat telibe találva a sejtes hálózat „túlgerjedne”, és mellékhatások, valamint toxicitás lépne fel [9]. Jelenleg ezeknek az elképzeléseknek a hálózatos, valamint biokémiai és molekuláris biológiai kísérletes igazolásán dolgozunk. A természet persze majd eldönti, hogy igazat ad-e nekünk, avagy megcáfol minket, és valami teljesen új, érdekes utat mutat.

A hálózatokat nemcsak kutatom, hanem szinte élethivatásként szervezem is. 1995-ben indítottam el a kutató diák mozgalmat ([www.kutdiak.hu](http://www.kutdiak.hu)), amely több mint tízezer hazai és határon túli magyar tehetséges középiskolás diáknak

nyújtott lehetőséget a Magyarországon folyó legmagasabb szintű kutatásokba történő bekapcsolódásra. A mozgalom csaknem ezer mentora között a Magyar Biokémiai Egyesület számos tagja is megtalálható. A diákoknak a kutatás mellett a Kutdiák életre szóló barátságokat is ad. A kezdeményezést csaknem tíz éve teljesen a volt és jelenlegi Kutdiások vezetik. Sok volt Kutdiák ma már mentor, vagy diákokat bátorító középiskolai tanár. Az elmúlt években sok Kutdiák házaspár és Kutdiák gyermek is született. A mozgalom önfenntartóvá vált.

2006-ban alakult meg a Nemzeti Tehetségsegítő Tanács, amelynek azóta elnöke vagyok. Az egész Kárpát-medencére kiterjedő civil összefogás csaknem ezer Tehetségpontot hozott létre, és az elmúlt két évben 26 ezer tehetséges fiatalot fedezett fel és segített. A tehetséggondozás idehaza ma már kb. 200 ezer magyar embert érintő népmozgalom. Ennek is köszönhető, hogy 2012-ben az Európai Tehetségsegítő Tanács elnökének választottak. Az elmúlt évben igen komoly előrehaladást sikerült elérni egy Európai Tehetséggondozó Hálózat kialakításában. Ebben mi magyarok világszinten is trendet és példát adunk.

A magyar tudományos életet számos más tisztségemben is próbáltam segíteni. A Magyar Biokémiai Egyesületnek tíz éven át főtitkára voltam, 2005-től pedig egyik alelnöke vagyok. 2008 és 2010 között a Sólyom László köztársasági elnök által életre hívott Bölcsék Tanácsa tagjaként az oktatás jobbítására dolgoztam ki javaslatokat. Munkámat számos kitüntetéssel, így az EU Descartes-díjával és a Magyar Örökség díjjal ismerték el. 2012-től az Academia Europaea tagja vagyok, 2013-ban az MTA Biológiai Osztálya az MTA levelező tagjának választott.

#### Hivatkozások:

- [1] Csermely, P., Szamel, M., Resch, K. és Somogyi, J. (1988) Zinc can increase the activity of protein kinase C and contributes to its binding to plasma membranes in T lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 263, 6487-6490
- [2] Csermely, P. és Kahn, C.R. (1991) The 90-kDa heat shock protein (hsp-90) possesses an ATP binding site and autophosphorylating activity. *J. Biol. Chem.* 266, 4943-4950
- [3] Sőti, Cs., Rácz, A. és Csermely, P. (2002) A nucleotide-dependent molecular switch controls ATP binding at the C-terminal domain of Hsp90: N-terminal nucleotide binding unmask a C-terminal binding pocket. *J. Biol. Chem.* 277, 7066-7075
- [4] Csermely, P. (2006, utánnymás és web-változat: 2007, papírfedelű második kiadás: 2009) *Weak links: Stabilizers of Complex Systems from Proteins to Social Networks*, Springer Verlag, 392 oldal
- [5] Kovács, I.A., Palotai, R., Szalay, M.S. és Csermely, P. (2010) Community landscapes: a novel, integrative approach for the determination of overlapping network modules. *PLoS ONE* 7, e12528
- [6] Farkas, I.J., Korcsmáros, T., Kovács, I.A., Mihalik, Á., Palotai, R., Simkó, G.I., Szalay, K.Z., Szalay-Bekő, M., Vellai, T., Wang, S. és Csermely, P. (2011) Network-based tools in the identification of novel drug-targets. *Science Signaling* 4, pt3



- [7] Szalay-Bekő, M., Palotai, R., Szappanos, B., Kovács, I.A., Papp, B. és Csermely, P. (2012) ModuLand plug-in for Cytoscape: determination of hierarchical layers of overlapping network modules and community centrality. *Bioinformatics*, 28, 2202-2204
- [8] Mihalik, Á. és Csermely, P. (2011) Heat shock partially dissociates the overlapping modules of the yeast protein-protein interaction network: a systems level model of adaptation. *PLoS Comput. Biol.* 7, e1002187
- [9] Csermely, P., Korcsmáros, T., Kiss, H.J.M., London, G. és Nussinov, R. (2013) Structure and dynamics of biological networks: a novel paradigm of drug discovery. A comprehensive review. *Pharmacol. Therap.* nyomtatás alatt, <http://arxiv.org/abs/1210.0330>
- [10] Csermely, P., Ágoston, V. és Pongor, S. (2005) The efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 178-182
- [11] Nussinov, R., Tsai, C.-J. és Csermely, P. (2011) Allo-network drugs: harnessing allostery in cellular networks. *Trends in Pharmacol. Sci.* 32, 686-693



## INDÍTTATÁS ÉS CÉLOK

Budapesten születtem 1961-ben. Édesanyám, Herepey-Csákányi Csilla közgazdász és édesapám Vértessy Kornél gépészmérnök mély szeretetben és okos odafigyeléssel neveltek, mindig arra buzdítva, hogy erkölcsben, tanultságban törekedjek a legmagasabb szintek elérésére, és soha ne adjam fel a jóra való küzdelmet. A XX. század embert próbáló évtizedei nem törték meg őket, nem hagyták el a szülőföldet, bár itt-hon nagyon nehéz sorsuk volt. Mindenkori kiállásuk és hazaszeretetük jelenti nekem a követendő példát.



Első kedvenc tudományágam a matematika volt: matematika tagozaton végeztem az ELTE Apáczai Csere János Gyakorló Gimnáziumban, ahol azonban a biológia és a francia nyelv és kultúra került fő érdeklődési területeim közé. Kiváló franciatanáromnak hála, 1979-ben első helyezett lettem az OKTV francia nyelvi versenyén. Elnyertem a legjobb diáknak járó Apáczai emlékérmét is. A bölcsészeti- és reáلتudományok közül azonban mégiscsak a reál ágazat érdekelt jobban, így a BME Vegyészmérnöki Karán kezdtem meg tanulmányaimat. Itt szereztem kitüntetéses biológusmérnök diplomát 1984-ben (1982-től (Nép)köz-társasági ösztöndíjas voltam). 1983-ban kezdtem TDK munkát folytatni az MTA Enzimológiai Intézetében, Dr Vas Mária irányításával, és itt is lettem 1984-től kezdve TMB ösztöndíjas, Keleti Tamás professzor irányítása alatt. 1984-ben házasságot kötöttem Grolmusz Vince matematikussal. 1986-87-ben a University of Chicago Graduate School képzésén vettem részt, ahol 1987-ben MSc fokozatot szereztem. A Chicago-ban töltött év alatt Prof Theodore Steck laboratóriumában a vörösvértest membránszkeleton biofizikai tulajdonságaival foglalkoztam, ezen eredményekről 1989-ben a Biophysical Journalban megjelent cikkünket azóta is sokan idézik. 1988-ban született első gyermekünk, Vince Kornél.

A kandidátusi fokozatot 1989-ben benyújtott dolgozatomra 1991-ben szereztem meg, védésem 100%-os volt. Kandidátusi munkám egyes metabolikus enzimek közötti kölcsönhatások megismerésére és ezen kölcsönhatások enzimkinetikai következményeinek leírására irányult. Közben 1990-ben született meg második gyermekünk, Viola Csilla.

1991-93 között Németországban éltünk, férjem a Max Planck intézetben számítógéptudománnyal foglalkozott, én pedig 1992-ben elnyertem az Alexander von Humboldt Alapítvány posztdoktori ösztöndíját az Universität des Saarlandes egyetemen. A németországi évek alatt kezdtem el a genomi integritásban fontos dUTPáz enzimcsaláddal foglalkozni, Prof Michael Zeppezauer laboratóriumában (Vértessy et al, 1994).

1994. januárjában tértünk haza, ahol az elkövetkező 5 évben az MTA Enzimológiai Intézetében Prof Ovádi Judit csoportjában folytattam munkámat, tudományos főmunkatársként. Az Ovádi csoport kalmodulinnal és sejtarchitektúrával

foglalkozó kutatásaiban számos cikket publikáltunk (Vertessy et al, 1998a; Vertessy et al, 1996a; Vertessy et al, 1997), emellett lényegi megállapításokat tudtam közölni a dUTPáz enzimek működésének mechanizmusáról is (Vertessy, 1997). 1998-ban elnyertem az akkor alapított Bolyai János Kutatói Ösztöndíjat, ami nagy ösztönzést jelentett további munkámban. 1994-ben és 1995-ben több hónapot töltöttem a Lund és a Stockholm egyetemeken, Prof Per Olof Nyman és Eila Cedergren csoportjaiban, dUTPázok kutatásával foglalkozva. Ezen munkákat több cikkben publikáltuk, amik jelentős figyelmet keltettek (pl (Vertessy et al, 1998b; Vertessy et al, 1996b).

1999-ben hat hónapot töltöttünk férjemmel és két gyerekünkkel a University of Chicago egyetemen, férjem meghívott professzorként a Computer Science tanszéken dolgozott, én pedig Prof Phoebe Rice laboratóriumában Senior Researcher pozícióban bekapcsolódtam a Mu transzpozázok kutatásába. Itt sajátítottam el a fehérjekristályosítás és krisztallográfia alapjait.

Hazatérésünk után egyrészt belefogtam az MTA Doktori disszertációm elkészítésébe, másrészt megkezdtem önálló kutatócsoportom kialakítását az Enzimológiai Intézetben. Ebbéli törekvésemhez elnyertem Prof Friedrich Péter igazgató eszmei támogatását. Számos hazai és nemzetközi kutatási pályázatot nyújtottam be, és sikerrel elnyertem mind az OTKA, mind a Howard Hughes Medical Institutes (HHMI) támogatását. A HHMI International Scholar kitüntetése először 2001-2005 között tette lehetővé önálló laboratóriumom fejlesztését. Továbbá, kitüntető támogatást nyertem el az Institut de France és az Aventis Scientia Europea díjával, és az Alexander von Humboldt Alapítvány műszer- és kutatói pályázatával. 2001-ben védtem meg MTA Doktori disszertációm, 100%-os eredménnyel.

2001 óta tudományos tanácsadó beosztásban vezetem a Genom Metabolizmus csoportot az Enzimológiai Intézetben, amit minden előzmény nélkül, saját pályázataim révén hoztam létre. Az eltelt évek során több további kiemelt hazai és nemzetközi pályázatot nyertem el (pl. OTKA NK, EU Structural Proteomics in Europe). Pályázati tevékenységemben leginkább a HHMI International Scholar támogatás másodszori ismételt elnyerésére vagyok büszke, amit 2005-ben kaptam meg, a 2006-2010 közötti öt évre újra biztosítva ezzel laboratóriumom kiemelt lehetőségeit. Magyarországról egyedüli nőként részesültem a HHMI kitüntető díjában 2001-2010 között, két ötéves cikluson át (rajtam kívül négy magyar kutató részesült ismételten elnyert HHMI támogatásban).

Kutatócsoportom első kiemelt célkitűzése a genomi integritásban fontos dUTPáz enzimes család tanulmányozása volt (v.ö. pl. Barabas et al, 2004; Barabas et al, 2003; Bekesi et al, 2004; Mustafi et al, 2003). Törekvésem az volt, hogy egy biológiai problémát a sejtek – szervezetek szintjétől elindulva a molekuláris hatásmechanizmus felderítéséig meg tudjunk oldani. A kiválasztott biológiai probléma a mi esetünkben az uracil DNS-ben való megjelenése, szerepe és az uracilt eltávolító DNS-javító mechanizmusok vizsgálata. Mára el tudunk jutni oda, hogy vizsgálatainkat a szerkezeti biológia, biofizika, biokémia, és egyben a molekuláris és sejtbiológia, valamint Drosophila modellszervezetben

a fejlődésbiológia módszereinek széles körű repertoárjával végezzük (v.ö. pl. Bekesi et al, 2007; Dubrovay et al, 2004; Muha et al, 2012; Pecsí et al, 2012; Pecsí et al, 2011; Toth et al, 2007; Vértessy & Toth, 2009). Mindezt úgy tudtuk megoldani, hogy munkatársaim kiemelten tehetséges egyetemisták, PhD diákok és a fiatal posztdoktorok, és számos együttműködést folytatunk hazai és külföldi kutatócsoportokkal. Csoportunk nyitott az érdeklődő, elhivatottságot érző diákok kutatómunkába való bevezetésére, több diákunk középiskolai tanulmányai során nyert el díjakat a nálunk végzett kutatással. 2011-ben elfogadtam a BME kitüntető meghívását és egyetemi tanárként veszek részt az Alkalmazott Biotechnológia Tanszék munkájában.

Az elmúlt 11 évben 10 diákom védte meg PhD értekezését, továbbá diákjaim számos kitüntető elismerést, díjat nyertek el, bizonyítva ezzel rátermettségüket és a csoport munkáját. Csak felsorolásszerűen: 1 Talentum (Tóth Judit Tóth), 2 Junior Prima (Tóth Judit, 2011 és Barabás Orsolya, 2011), 2 Pro Scientia (Lopata Anna, 2011 and Róna Gergely, 2010), számos Qualitas Biologica és MTA Fiatal Kutatói Díj, számos TDK és OTDK helyezés. Csoportom neveltjei PhD fokozatuk megszerzését követően sikerrel pályáztak kutatói pozíciókra kiváló nemzetközi kutatóhelyeken (NIH, University of Dundee, Vrije Universiteit Brussels). Első PhD diákom, Barabás Orsolya 2009-től csoportvezető a heidelberg-i EMBL kutatóközpontban.

### **Jelenlegi kutatási területek:**

A DNS károsodások (elsősorban a DNS-beli uracil) és azok javításának kutatása továbbra kiemelt célkitűzésem. Ezen belül az elmúlt években több olyan összefüggésre derítettünk fényt, amik révén kutatásaink egyre szélesebb és általánosabb körben folynak.

Az ún. megelőző DNS-javításban fontos nukleotid metabolizmus útvonalak, ezek között a dUTPáz enzim sejtmagi és mitokondriális lokalizációja eukariótákban szinte mindenhol megfigyelhető. Kérdéses viszont ennek a lokalizációnak és szabályozásának mechanizmusa, amire igyekszünk fényt deríteni. Ennek kapcsán a sejtciklushoz kötött (cdk1 kináz általi) foszforiláció érdekes dinamikus szabályozó szerepére bukkantunk, ami a humán proteóm számos fehérjéjére is érvényes lehet.

Egy másik alapkutatási célunk a dUTPáz hiányában fellépő ún. timinmentes sejthalál jelátviteli útvonalának tisztázása. Ezen sejthalál útvonal orvosi biológiai jelentőségét az adja, hogy a klinikumban napjainkban használatos tumorellenes kemoterápiák hozzávetőlegesen egyharmadában a timidilát bioszintézist perturbáló gyógyszereket alkalmaznak (fluoro-nukleozidok, methothrexát és analógjai). A mellékhatások egy része a terápia személyre szabásával csökkenthető lenne – ehhez szeretnénk kutatásainkkal hozzájárulni az adott útvonalak jellemzésével és aztán erre alapozva személyre szabott diagnosztikával.

A timidilát bioszintézis befolyásolása számos fertőző betegség ellen is gyakran használt kemoterápiás stratégia, így a dUTPáz enzim fajspecifikus módon való gátlása *Mycobacterium tuberculosis*-ban és *Plasmodium falciparum*-ban egyértelműen

ígéretes kutatás. Mycobacteriumban végzett kísérleteink az elmúlt évek során most hozzák első gyümölcseiket (génkiütés tanulmányunk most jelent meg, bizonyítva a mikobakteriális fajspecifikus dUTPáz szegmens eszenciális voltát, továbbá két cikkben is újszerű M. tuberculosis gátló molekulákat fejlesztettünk (Horvati et al, 2012; Scheich et al, 2011). Ezt az irányt tovább folytatjuk, és a létrehozott génhiányos és géncsendesített M. smegmatis és D. melanogaster organizmusokban in vivo enzimológiát kívánunk megvalósítani a kiütött funkciót specifikusan választott dUTPáz mutánsokkal komplementálva (Muha et al, 2012; Pecsí et al, 2012). A mutáns enzimeket in vitro részletesen jellemezzük (a tranziens enzimkinetikától a 3D kristályszerkezetig), majd a mutánsok komplementálásával nyert fenotípus jellemzőit fogjuk ennek fényében magyarázni.

Nemrég közöltünk egy cikket egy különösen izgalmas dUTPáz fehérjéről, amely Staphylococcus aureusban az ún patogenicitási szigetek génkifejeződését szabályozza (Leveles et al, 2011). Ez a folyamat egy StI nevű represszor fehérjével való kölcsönhatáson alapul. Azt találtuk, hogy az StI fehérje nem csak a Staphylococcus dUTPázt, de a humán és mikobakteriális dUTPázokat is 10-20 nM értékű disszociációs állandóval jellemezhető módon komplexálja, és a komplexben az enzimaktivitás nagymértékben gátolt. Ez a felfedezés elvezethet a génkifejeződés szabályozásán túl egyben egy fehérje-természetű dUTPáz inhibitor kifejlesztéséhez, melynek jelentőségét a genomi integritás tanulmányozásában nehéz lenne túlbecsülni.

Kutatásaim jelenleg két laboratóriumban folynak, egyrészt az Enzimológiai Intézetben (<http://vertessy.enzim.hu>), másrészt a BME-n. A Műegyetemen tavaly sikerült egy kiemelt infrastrukturális pályázatot (Baross, 100 Mft) elnyerve egy hazánkban és a régióban is egyedülállóan modern röntgendiffrakciós és fehérjekristályosítási laboratóriumot kialakítani (<http://www.biostruct.org>). Az infrastruktúra további fejlesztése az MTA infrastruktúra pályázatával vált lehetségessé, így mára a kristályosítási folyamatok időben automatizált módon követhetők. Itt folytatjuk szerkezeti biológiai kutatásainkat, nem csupán saját témáinkon, de felajánlva az együttműködést minden érdeklődő kutatócsoportnak is (v.ö kutatási programok felsorolása a <http://www.biostruct.org> oldalon).

#### Hivatkozások

Barabas O, Pongracz V, Kovari J, Wilmanns M, Vertessy BG (2004) Structural insights into the catalytic mechanism of phosphate ester hydrolysis by dUTPase. J Biol Chem 279(41): 42907-42915

Barabas O, Rumlova M, Erdei A, Pongracz V, Pichova I, Vertessy BG (2003) d-UTPase and nucleocapsid polypeptides of the Mason-Pfizer monkey virus form a fusion protein in the virion with homotrimeric organization and low catalytic efficiency. J Biol Chem 278(40): 38803-38812

Bekesi A, Pukancsik M, Muha V, Zagyva I, Leveles I, Hunyadi-Gulyas E, Klement E, Medzihradszky KF, Kele Z, Erdei A, Felfoldi F, Konya E, Vertessy BG (2007) A novel fruitfly protein under developmental control degrades uracil-DNA. Biochem Biophys Res Commun 355(3): 643-648



Bekesi A, Zagyva I, Hunyadi-Gulyas E, Pongracz V, Kovari J, Nagy AO, Erdei A, Medzihradzsky KF, Vertessy BG (2004) Developmental Regulation of dUTPase in *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem* 279(21): 22362-22370

Dubrovay Z, Gaspari Z, Hunyadi-Gulyas E, Medzihradzsky KF, Perczel A, Vertessy BG (2004) Multidimensional NMR identifies the conformational shift essential for catalytic competence in the 60-kDa *Drosophila melanogaster* dUTPase trimer. *J Biol Chem* 279(17): 17945-17950

Horvati K, Bacsa B, Szabo N, David S, Mezo G, Grolmusz V, Vertessy B, Hudecz F, Bosze S (2012) Enhanced Cellular Uptake of a New, in Silico Identified Antitubercular Candidate by Peptide Conjugation. *Bioconjug Chem* in press

Leveles I, Rona G, Zagyva I, Bendes A, Harmat V, Vertessy BG (2011) Crystallization and preliminary crystallographic analysis of dUTPase from the phi11 helper phage of *Staphylococcus aureus*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 67(Pt 11): 1411-1413

Muha V, Horvath A, Bekesi A, Pukancsik M, Hodoscsek B, Merenyi G, Rona G, Batki J, Kiss I, Jankovics F, Vilmos P, Erdelyi M, Vertessy BG (2012) Uracil-containing DNA in *Drosophila*: stability, stage-specific accumulation, and developmental involvement. *PLoS Genet* 8(6): e1002738

Mustafi D, Bekesi A, Vertessy BG, Makinen MW (2003) Catalytic and structural role of the metal ion in dUTP pyrophosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100(10): 5670-5675

Pecsi I, Hirmondo R, Brown AC, Lopata A, Parish T, Vertessy BG, Toth J (2012) The dUTPase enzyme is essential in *Mycobacterium smegmatis*. *PLoS One* 7(5): e37461

Pecsi I, Szabo JE, Adams SD, Simon I, Sellers JR, Vertessy BG, Toth J (2011) Nucleotide pyrophosphatase employs a P-loop-like motif to enhance catalytic power and NDP/NTP discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(35): 14437-14442

Scheich C, Szabadka Z, Vertessy B, Putter V, Grolmusz V, Schade M (2011) Discovery of novel MDR-*Mycobacterium tuberculosis* inhibitor by new FRIGATE computational screen. *PLoS One* 6(12): e28428

Toth J, Varga B, Kovacs M, Malnasi-Csizmadia A, Vertessy BG (2007) Kinetic mechanism of human dUTPase, an essential nucleotide pyrophosphatase enzyme. *J Biol Chem* 282(46): 33572-33582

Vertessy BG (1997) Flexible glycine rich motif of *Escherichia coli* deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolase is important for functional but not for structural integrity of the enzyme. *Proteins* 28(4): 568-579

Vertessy BG, Harmat V, Z B, G N-S, Orosz F, Ovádi J (1998a) Simultaneous Binding of Drugs with Different Chemical Structures to Ca<sup>2+</sup>-Calmodulin: Crystallographic and Spectroscopic Studies. *Biochemistry* 37(44): 15300-15310

Vertessy BG, Kovács J, Ovádi J (1996a) Specific characteristics of phosphofructokinase-microtubule interaction. *FEBS Lett* 379(2): 191-195

Vertessy BG, Larsson G, Persson T, Bergman AC, Persson R, Nyman PO (1998b) The complete triphosphate moiety of non-hydrolyzable substrate analogues is required for a conformational shift of the flexible C-terminus in *E. coli* dUTP pyrophosphatase. *FEBS Lett* 421(1): 83-88

Vertessy BG, Orosz F, Kovács J, Ovádi J (1997) Alternative binding of two sequential glycolytic enzymes to microtubules. Molecular studies in the phosphofructokinase/aldolase/microtubule system. *J Biol Chem* 272(41): 25542-25546

Vertessy BG, Persson R, Rosengren AM, Zeppezauer M, Nyman PO (1996b) Specific derivatization of the active site tyrosine in dUTPase perturbs ligand binding to the active site. *Biochem Biophys Res Commun* 219(2): 294-300

Vertessy BG, Toth J (2009) Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases. *Acc Chem Res* 42(1): 97-106

Vertessy BG, Zalud P, Nyman PO, Zeppezauer M (1994) Identification of tyrosine as a functional residue in the active site of *Escherichia coli* dUTPase. *Biochim Biophys Acta* 1205(1): 146-150

## ABC FEHÉRJÉK SZÖVEGBÁNYÁSZATON ALAPULÓ MUTÁCIÓS ADATBÁZISA

**Gyimesi Gergely<sup>1,2,3</sup>, Sarankó Hajnalka<sup>1,2</sup>, Tordai Hedvig<sup>1,2</sup>, Tóth Attila<sup>4</sup>,  
Borsodi Dávid<sup>1</sup>, Sarkadi Balázs<sup>2,4,5</sup> és Hegedűs Tamás<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>*MTA-SE Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport, Budapest,*

<sup>2</sup>*SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet, Budapest,*

<sup>3</sup>*Institute of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bern,  
Bern, Svájc,*

<sup>4</sup>*MTA TTK Molekuláris Farmakológiai Intézet, Budapest,*

<sup>5</sup>*Országos Vérellátó Szolgálat, Budapest*

### Bevezetés

Az ABC fehérjék szupercsaládja az egyik legnagyobb fehérjecsalád, tagjai megtalálhatóak a baktériumokban, a növényekben és az emberben. Többségük transzporter membránfehérjeként működve a lipid kettősrétegeken juttat át különböző anyagokat, kulcsfontosságú szerepet vállalva ezzel a sejt életfolyamataiban [1]. A transzportált anyagok sokfélesége az egyértékű ionoktól (ABCC7, CFTR) a lipideken át (pl. ABCA1 és ABCG alcsalád) a xenobiotikumokig (ABCB1, P-glikoprotein, P-gp) igen széles skálán mozog.

Mutáció hatására megváltozott működésük számos betegség kialakulásában játszik közre, amelyekből a teljesség igénye nélkül a patológiailag fontosabbakat emeljük ki. A klorid csatornaként működő CFTR (ABCC7) mirigyek kivezetőcsövének hámszövetében expresszálódik, és a mucinózus folyadékréteg kialakításában vesz részt. Hibás működése a légutak nyálkahártyáját borító folyadékréteg besűrűsödését és a kórokozók elszaporodását okozza, cisztás fibrózist alakítva ki [2]. Az ABCG2 - melynek egyik fiziológias szubsztrátja az urát - csökkent működése a húgysav felhalmozódását okozza a vérben, mely kikristályosodva köszvényes gyulladáshoz vezet [3]. Az ABCG5 és G8 alkotta heterodimer transzporter többek között a növényi szterolok eltávolításáért felelős, hibás működése szitoszterolémia kialakulását okozza [4]. A család több tagja, így a multidrog transzporterként működő P-gp (ABCB1), MRP1 (ABCC1), és ABCG2 a szervezetre káros anyagokat távolítanak el a sejtől, fontos és hatékony tagjai a sejt méregtelenítő hálózatának, az ún. kemoimmunitási hálózatnak [5].

A fehérjék és a betegséget okozó polimorfizmusok tanulmányozása, valamint az in vitro létrehozott mutánsok karakterizálása révén nagy mennyiségű információ halmozódott fel a szakirodalomban. Ezek tárolására, rendszerezésére és az adatokban történő keresésre sokféle biológiai adatbázist hoztak létre az elmúlt években. A Cystic Fibrosis Mutation Database (<http://www.genet.sick-kids.on.ca>) specifikusan a CFTR gén mutációit tartalmazza, míg a PXE Mutation Database (<http://www.pxe.org/mutation-database>) szintén egy génre fókuszál-

va az ABCC6 mutációit dolgozza fel. Átfogóbb adatbázisok, így a Human Genetic Mutation Database (HGMD, <http://www.hgmd.org> [6]) vagy a Swiss-Prot [7], az összes fehérjét számba véve tartalmazzák azok mutációinak egy részét. A fenti, egy-egy fehérjére specializálódott adatbázisok elsősorban a betegséget okozó polimorf változatokat összesítik, így az *in vitro* létrehozott mutánsokról származó adatok gyakran hiányoznak. A HGMD és a Swiss-Prot ezzel szemben mind a polimorf, mind mutagenézis útján létrehozott változatokat tartalmazza. Ezekbe az adatbázisokba az adatok bevitele többnyire manuálisan történik, amely igen magas minőséget garantál, azonban a publikációk számának exponenciális növekedésével és az *in vitro* létrehozott mutációk folyamatosan gyarapodó számával a kézi bevétel hatékonysága csökkenhet. A ráfordított idő rövidítésére az utóbbi időben több automatikus adatbányászó alkalmazást fejlesztettek ki, amelyek elsősorban fehérje-fehérje kapcsolatokat [8], fehérje mutációkat [9,10,11,12], fehérje és gén annotációkat [13] felderítő keresőalkalmazások.

Csoportunk célul tűzte ki, hogy az ABC fehérjék publikált mutációit automatikus módszerekkel összegyűjtse, biológiailag fontos adatokkal összekösse, s olyan eszközöket állítson elő, amelyek segítik a terület elméleti és kísérleti kutatóit. Kifejlesztettük és sikeresen alkalmaztuk a MutMiner adatbányászó alkalmazást (<http://mutminer.hegelab.org>), mely igen magas pontossággal (kevés hibás találat) és érzékenységgel (sok helyes találat) azonosítja a fehérjéket érintő polimorfizmusokat és mutációkat. Az összegyűjtött adatokat egy webalkalmazáson keresztül tettük elérhetővé (ABCMdb, <http://abcmutations.hegelab.org>), ami lehetővé teszi a megjelenített mutációk vizsgálatát és értelmezését a fehérjék evolúciójának és 3D szerkezetének összefüggésében is.

## A mutációs adatbázis

### **Az adatbázis létrehozása, az adatok kinyerése és ennek hatékonysága**

Első lépésben kiválasztottunk tíz, a gyógyászatban is fontos szerepet játszó ABC fehérjét, különös hangsúllyal a csoportunk számára fontos ABCG fehérjecsalád tagjaira, és letöltöttük a hozzájuk kapcsolódó elérhető cikkeket (PDF fájl) a PubMed adatbázison keresztül (teszthalmaz). A fehérjékhez tartozó cikkek 70%-át sikerült elérnünk, 30% esetén nem volt hozzáférésünk a publikációkhoz. A MutMiner keretrendszerünk a feldolgozás első felében a PDF fájlokat szöveggé alakítja és mondatokra bontja. Ezekben a mondatokban a MutationFinder [9] reguláris kifejezések segítségével azonosítja mutációk említését. A feldolgozás második felében a fehérjék és a mutációk egymáshoz rendelése történik. A mutációk helyének ellenőrzéséhez a fehérjék vad típusú aminosav szekvenciáját használtuk fel az UniProt adatbázisból.

Miután a letöltött cikkeken futtattuk az ABC fehérjékhez tartozó mutációk keresését, a kinyert adatok jóságát és az adatbányászat eredményességét két módon teszteltük. Első lépésben kézzel kigyűjtöttük az ABCC6, ABCG1, ABCG2, ABCG5 és ABCG8 fehérjékhez letöltött cikkekből az ezekhez a fehérjékhez tartozó mutációkat. Ezeket összehasonlítottuk az ugyanezekből a cikkekből automatikusan bányászott mutációkkal. A valós pozitív találatok aránya 90% feletti volt, kivéve az ABCG1 fehérje esetében, amelyhez csak 5 mutációt találtunk. Emellett a



hamis pozitív találatok aránya nem emelkedett 5% fölé (kivéve az ABCG1 fehérjénél). Második lépésben megvizsgáltuk, hány darab mutációt talált meg a MutMiner már létező adatbázisok (PXE, CFTR1, Swiss-Prot, HGMD) tartalmához képest. A bányászó program az adatbázisokban is fellelhető adatok 80%-át találta meg, és emellett jelentős számú új adatot szolgáltatott (1. táblázat).

**1. táblázat: Az automatikusan kinyert mutációk összehasonlítása adatbázisokban található mutációkkal.**

Adatbázis		Visszanyert mutációk		Új mutációk
PXE (ABCC6)		159	(87%)	48
CFTR1 (ABCC7)		562	(62%)	791
Swiss-Prot	ABCB1	24	(96%)	617
	ABCB11	33	(94%)	123
	ABCC1	35	(97%)	368
	ABCC6	37	(93%)	170
	ABCC7	172	(96%)	1,181
	ABCG1	0	(0%)	5
	ABCG2	21	(95%)	165
	ABCG4	0	(0%)	0
	ABCG5	11	(92%)	14
	ABCG8	16	(80%)	27
	összesen	349	(94%)	2,688
HGMD	ABCB1	5	(71%)	636
	ABCB11	62	(85%)	94
	ABCC1	3	(100%)	400
	ABCC6	144	(92%)	63
	ABCC7	582	(71%)	771
	ABCG1	0		5
	ABCG2	13	(100%)	173
	ABCG4	0		0
	ABCG5	10	(83%)	15
	ABCG8	22	(88%)	21
	összesen	841	(76%)	2,178

A cikkekből bányászott adatok aránya (pl. 186 mutáció szemben a Swiss-Prot adatbázisban található 22 mutációval) hangsúlyozza az automatikus módszerek jelentőségét. Azokat az eseteket, amikor a MutMiner nem találta meg a mutációkat, szintén megvizsgáltuk részletesen: a leggyakrabban felmerülő problémák egyike a PDF fájl sikertelen szöveggé alakítása volt. Ezen kívül sok esetben a mutáció publikálatlan klinikai tanulmányból származott, vagy a mutációt a cikk kiegészítő anyaga tartalmazta. Az adatbányászat érdekes eredménye, hogy a fehérjék többségéhez számos olyan mutációt tudtunk így azonosítani, amelyek nem találhatóak meg az adott specifikus adatbázisokban.

## A mutációs adatbázishoz tartozó webalkalmazás

A kinyert mutációknak egy webalkalmazás, az ABCMdb ad felhasználóbarát és mindenki számára elérhető felületet (<http://abcmutations.hegelab.org>). Az adatbázisban jelenleg az ABC fehérjecsalád A, B, C, D és G alcsaládjainak 39 tagját és a hozzájuk tartozó mutációkat találjuk. A mutációkhoz kapcsolva megjeleníthető mind a hivatkozás, mind az a szöveggörnyezet, amelyben a mutáció előfordul (1. ábra). Ez sok esetben betekintést ad a mutáció fehérjén kiváltott hatásába.

**ABCMdb: Database for Mutations in ABC proteins**

Home Browse Search Statistics About Usage Contact Login

**ABCG2 p.Gln141Lys**

[switch to compact view]

Comments [show]

**Publications**

[hide] Imai Y, Nakane M, Kage K, Tsukahara S, Ishikawa E, Tsuruo T, Miki Y, Sugimoto Y  
**C421A polymorphism in the human breast cancer resistance protein gene is associated with low expression of Q141K protein and low-level drug resistance.**  
 Mol Cancer Ther. 2002 Jun;1(8):611-6., [PMID:12479221] [PubMed]

Abstract [show]  
 Comments [show]  
 Sentences [show]

[hide] Zamber CP, Lamba JK, Yasuda K, Farnum J, Thummel K, Schuetz JD, Schuetz EG  
**Natural allelic variants of breast cancer resistance protein (BCRP) and their relationship to BCRP expression in human intestine.**  
 Pharmacogenetics. 2003 Jan;13(1):19-28., [PMID:12544509] [PubMed]

Abstract [show]  
 Comments [show]  
 Sentences [show]

[vágott]

[hide] Mizuarai S, Aozasa N, Kotani H  
**Single nucleotide polymorphisms result in impaired membrane localization and reduced atpase activity in multidrug transporter ABCG2.**  
 Int J Cancer. 2004 Mar 20;109(2):238-46., 2004-03-20 [PMID:14750175] [PubMed]

Abstract [show]  
 Comments [show]  
 Sentences [hide]

No.	Sentence	Comment
2	In this study, we analyzed the effects of polymorphisms in ABCG2, V12M and <b>Q141K</b> on transporter function.	<a href="#">Login to comment</a>
3	When polarized LLC-PK1 cells were transfected with variant ABCG2, drug-resistance to topoisomerase I inhibitor of cells expressing V12M or <b>Q141K</b> was less than 1/10 that of wild-type ABCG2 transfected cells, and was accompanied by increased drug accumulation and decreased drug efflux in the variant ABCG2-expressing cells.	<a href="#">Login to comment</a>
6	Also, ATPase activities measured in the membrane of SF9 cells infected with variant ABCG2 showed that <b>Q141K</b> decreased activity by 1.3 below that of wild-type	<a href="#">Login to comment</a>

[vágott]

### 1. ábra. Egy adott mutációhoz tartozó hivatkozások és mondatok részletes listája.

A mutációk tanulmányozására és értelmezésére az ABCMdb két módszert kínál. Egyrészt beépített vagy a felhasználó által feltöltött szekvenciaillesztések segítségével megjeleníti a mutációt szenvedett aminosav szekvenciális környezetét. Ezáltal összehasonlíthatóvá teszi a kérdéses aminosavat más ABC fehérjék homológ pozícióban található aminosavaival, kiemelve az ott található mutációkat (2. ábra).

**ABCmdb: Database for Mutations in ABC proteins**

Home Browse Search Statistics About Usage Contact Login

**Mutations at homologous positions to ABCG2 p.Gln141**

Alignment: ABC\_all\_NBDs, Alignment of NBDs from proteins in the ABCA, ABCB, ABCC, ABCD and ABCG subfamilies, 2012-10-21 21:21:42

**Mutations exactly at the same position:**

ABCG2	p.Gln141Lys	details
ABCB11	p.Arg517His	details
ABCB3	p.Ala565Thr	details
ABCC6	p.Asp1361Asn	details
ABCC7	p.Ile507Val	details
	p.Ile507Leu	details
	p.Ile507Thr	details
	p.Asp1305Glu	details
ABCD1	p.Ile558Thr	details

**Mutations +/- 5 a.a. around the position:**

ABCA1	p.Arg2004Lys	details
	p.Phe2009Ser	details
	p.Phe2009Tyr	details
ABCA3	p.Arg1474Trp	details
	p.Arg1482Trp	details
ABCA4	p.Gln1022Lys	details
	p.Phe1026Leu	details
	p.Ala1028Val	details
	p.Gln1029*	details
	p.Arg2030*	details
	p.Arg2030Gln	details
	p.Leu2033Arg	details
	p.Leu2035Pro	details
	p.Arg2038Trp	details

[vágott]

**The alignment around the queried position:**

```

ABCG2 113 -----RPFANFKCNSGYYVQDDVVHGTLVRENLFQFSAAALRLATT---MTHNEKNERINRVIQELGLDKVADSK 180
ABCA1 966 -----SEWSTIRQNLGVCPCQHNVLFDMLTVEEHWFYARLKG-----LSEKHVKAEMEQLALDVGLP----SS 1024
ABCA1 1978 -----LSNIEVHQNMGVCPCQFDATITELLTGREHVEFFALRGLG-----VPEKEVGVGVEWVIRKLGGL----VK 2036
ABCA2 1057 -----TENDEIRKNLGMCPCQHNVLFDRLTVEEHLWFYSRLKS-----MAQEEIRREMDKMIEDLEL----SN 1114
ABCA2 2119 -----LKELLVQVQSLGVCPCQCDALFDELTAAREHLQLYTRLRG-----ISWKEARVVKWALEKLEL----TK 2177
ABCA3 599 -----QDHVQIRKSLGLCPCQHDILFDNLTVAEHLYFYAQLKG-----LSRQKCPPEEVKQMLHIIGL----ED 656
ABCA3 1448 -----SSDVGVQRIRIGVCPQFDALLDHHTGREHLYVHYARLRG-----IPERHIGACVENTLRLGLL----EP 1506
ABCA4 996 -----TSLDAVRRQSLGMCPCQHNILFPHLLTVAEHMLFYAQLKG-----KSEQEEAQLEMEAMLEDTGL----HH 1053
ABCA4 2004 -----LTNISEVHQNMGVCPCQDAIDEALLTGREHLYLYARLRG-----VPAEEIEKVANWWSIKSLGL----TV 2062
ABCA5 548 -----IDENFEARKMIGICPCQLDIFDVLTVENELSLILASIKG-----IPANNIIQEVQKVLDDLDH----QT 606
ABCA5 1366 -----TSED-DDSLKCHGVCPCQINPLWPDITLQEHFEIYGAVKG-----HSASDMKEVISRITHALDL----KE 1424
ABCA6 548 -----MQDLEEIRKITGVCPQFNVPDFILTVKENLSLFAKIKG-----IHLKEVEQVQRILLELDH----QN 606
ABCA6 1352 -----VLGHLGVCPCQENLVWPMILTLREHLEVYAAVKG-----LRKADARLAIARLVSAFKL----HE 1404
ABCA7 874 -----SSMAAIRPHLGVCPQYNVDFDMLTVDEHVWVYGRKLG-----LSAAVVGPEQDRLLQDVGL----VS 931
ABCA7 1859 -----AREPSAAHLSHGVCPCQSDAIFELLTGREHLELLARLRG-----VPEAQVAQTAGSGLARLGL----SW 1917
ABCA8 550 -----MADLENLSKLTGVCPQSNVQDFDLTVRENLRVFAKIKG-----ILPQEVQKEI----- 598
ABCA8 1315 -----GDALFELGVCPCQENALWPNLTVRQHLEVYAAVKG-----LRKGDAAEVAITRLVDAKLL----QD 1369
ABCA9 551 -----MADIENISKFTGFCPCQSNVQDFGLTVKENLRVFAKIKG-----ILPHEVEKEVQRVVQLEH----EN 609
ABCA9 1358 -----GEPGLGLGVCPCQENALWPNLTVRQHLEVYAAVKG-----LRKGDAMIATITRLVDAKLL----QD 1412
ABCA10 461 -----ITDHEEIRKNIGFCPCQFNQDFDLTVRENLRVFAKIKG-----IQPKVEVEQVKRIIHELDH----QS 519
ABCA10 1272 -----VRQQHDNSLKFLGVCPCQENSLWPKLTKHEHLELYAAVKG-----LGKEDAAALSISRLEVAKLL----QE 1331
ABCA12 1411 -----TDLHTVRKNMGVCHQHDVLFVSLTKHEHLLLYGSIKVPH-----WTKKQLHEEVKRTLKDTGL----YS 1470
ABCA12 2322 -----SLGHVDSHSLVGVCPQEDALDLDLTVVEEHLVYFARVHG-----IPEKDIKETVHKLLRRLHL----MP 2381
    
```

[vágott]

2. ábra. Mutációk azonosítása ABC fehérjékben egy adott pozícióval homolog helyen és annak közelében.

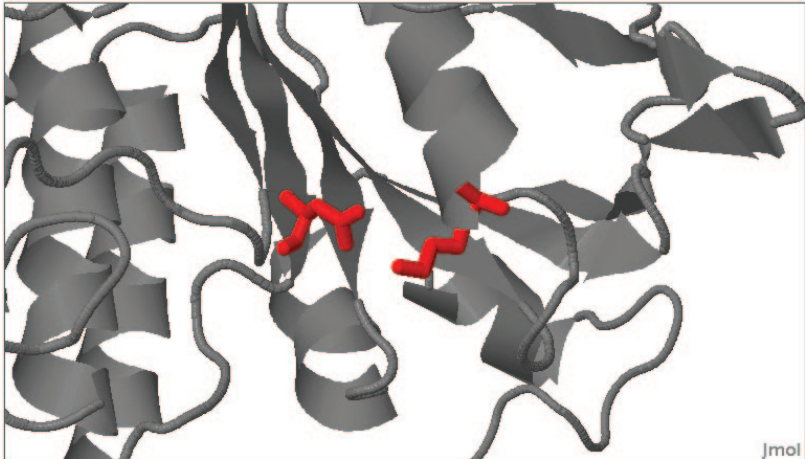
Másrészt a mutációk térbeli helyzete megjeleníthető a fehérje vagy fehérjedomén 3D szerkezetének segítségével (a rendszerbe beépített homológmodell vagy a PDB adatbázisból származó kristálybeli szerkezet alapján, illetve a felhasználó is feltölthet szerkezeti modellt). Kattintással kiemelhetők a felhasználó számára fontos aminosavak a fehérje szerkezeti képén, ami segíti az adott pozíció térbeli helyzetének és a lehetséges kölcsönható aminosavaknak a tanulmányozását (3. ábra).



**ABCmdb: Database for Mutations in ABC proteins**

Home Browse Search Statistics About Usage Contact Login

Alignment: ABC\_NBDs Alignment of NBDs from proteins in the ABCA, ABCB, ABCC and ABCG subfamilies 2011-11-21 18:46:49  
 Structure: ABCG2\_NBD ABCG2 NBD model 2011-10-17 17:34:37



1. Click on a residue in the top sequence row to highlight it in the structure.  
 2. Click on a residue in the other sequence rows for details of the corresponding mutations.

ABCG2	37	-----LS*HN-ICYRVKLS@FLPCRPVEK-----EILSNINGIMKPG-LNAILP* <b>TGGC</b> SSLDDVLAARKDF@G	80
ABCG2	37	-----LS*HN-ICYRVKLS@FLPCRPVEK-----EILSNINGIMKPG-LNAILP* <b>TGGC</b> SSLDDVLAARKDF@G	101
ABCA1	899	-----VSIQNLVKVYR <b>DGM</b> ---K--VAVDGLALNFYEGQIT <b>SP</b> PLGHNGAGKTTTMSILTG---LFP	951
ABCA1	1912	-----LEIKELTKIYRRK---K <b>PA</b> VDRLCVGIPPE <b>CP</b> GLLGVNGAGK <b>SS</b> TFKMLTG---DTF	1964
ABCA2	990	-----VCVDKLTQVYKDDK---K--LALNKLNLNLYENQVVSPLGHNGAGKTTTMSILTG---LFP	1042
ABCA2	2050	-----VKIENLTKVYKSRKI---GRILAVDRCLGVPRGEC <b>PG</b> LGLGVNGAGK <b>ST</b> PFKMLTG---DES	2105
ABCA3	530	-----IKIKHLSKVPRVGN---K <b>DR</b> AAVDRDLNHLNLYEGQIT <b>V</b> LLGH <b>NG</b> AGK <b>TT</b> L <b>S</b> MLTG---LFP	584
ABCA3	1381	-----LIIKELSKVYEQR---VELLAVDRLSLAVQK <b>GE</b> CP <b>GL</b> L <b>GF</b> NGAGK <b>TT</b> PFKMLTG---EES	1434

[vágott]

### 3. ábra. Mutációk szerkezeti szerepének feltárását 3D modellek segítik.

Az oldalon lehetőség van regisztrációra, amely lehetővé teszi, hogy a felhasználók a mutációkhoz, illetve a mutációkat tartalmazó cikkekhez és mondatokhoz megjegyzéseket írjanak, továbbá saját szekvenciaillesztések és szerkezeti modellek feltöltését. A regisztrált felhasználó jelezheti, hogy a mutáció helyes-e vagy sem, amivel hozzájárul az adatbázis minőségének növeléséhez.

## Összefoglalás

Kifejlesztettünk egy mindenki számára elérhető és felhasználóbarát webalkalmazást, amely tartalmazza az emberi ABC fehérjék nagyszámú természetes és in vitro előállított mutáns formáját, és a hozzájuk kapcsolódó publikációk hivatkozásait. Alkalmazásunk különböző szekvenciaillesztések és szerkezeti modellek felhasználásával újszerű lehetőséget biztosít kísérletek értelmezésére és tervezésére. Ennek jelentőségét felismerve hivatkozásokat helyeztek el adatbázisunkra „web resource”-ként a Swiss-Prot adatbázisban megtalálható emberi ABC fehérjék bejegyzéseihez, továbbá adatbázisunkat a Human Variome Project tagjává választották. A mutációk kibányászására fejlesztett MutMiner keretrendszer ABC fehérjékre nem specifikus, bármely fehérje esetén használható és szabadon elérhető (<http://mutminer.hegelab.org>). Az ABCmdb webal-



kalmazáshoz hasonló, az SLC transzporter fehérjéket tartalmazó adatbázis is készül (<http://www.bioparadigms.org/slc/intro.htm>). További terveink közé tartozik a természetes és mesterséges variánsok automatikus klasszifikálása, továbbá a mutációk ismert fiziológiai, funkcionális, strukturális hatásának automatikus „annotálása” (pl. betegséget okoz, funkcióvesztéssel jár, megváltoztatja a szubsztráffinitást/-specifitást vagy hibás feltekeredést eredményez). Az ilyen típusú adatok automatikus annotálására szintén található már létező megoldások, ám ezek pontosságban egyelőre elmaradnak a mutációkeresés mögött, továbbfejlesztésük viszont nagy kihívást jelent a komplexebb nyelvi mintázatok felismerése miatt.

### **Kitekintés: rendszerbiológia, adatmennyiség, szakemberhiány**

Az elmúlt évtizedekben hatalmas ütemben növekedett a biológiai adatok halmaza és a vizsgálatok célpontját képző objektumok száma. Bár a rendszerbiológia kifejezést régóta használjuk, gyakorlati tapasztalatok és a növekvő adatok miatt egyre inkább érezhető a rendszerközpontú vizsgálatok jelentősége. Például a rákos sejtek multidrog rezisztenciájában szerepet játszó ABC fehérjék működésének gátlására számos gyógyszert fejlesztettek az elmúlt húsz évben, azonban ez a megközelítés az esetek többségében eredménytelennek bizonyult a klinikai kipróbálás során. Ennek az oka nagy valószínűséggel az, hogy a sejt kémiai védekező rendszerében (kemoimmunitási hálózatában) a mérgező vegyületeket kipumpáló fehérjék csak egy konkrét feladatot látnak el a méregtelenítés folyamatában, gátlásuk azonban nem akadályozza meg a többi méregtelenítő fehérje (metabolikus enzimek, pl. oxidázok, hidrolázok, konjugázok) semlegesítő hatását [14]. Célunk, hogy megértsük a kémiai védekező rendszer működését, s az abban található funkcionális kapcsolatok alapján meg tudjuk tervezni hatékonyságának csökkentését a hálózat több tagjának részleges, szimultán gátlásával (ún. multi-target gyógyszerfejlesztés). Ennek egy kezdeti lépése, hogy a rendszert alkotó fehérjéket és azok mutációit evolúciós és szerkezeti összefüggésben vizsgáljuk. Igen fontos minél jobban megérteni e rendszer működését, mivel az nem pusztán a kemoterápia, hanem minden más gyógyszeres kezelés hatékonyságát befolyásolja. A kemoimmunitási hálózat jellemzését reakciókinetikai modell létrehozásával és szimulációkkal végezzük, mely a gyógyszer-kölcsönhatások jóslása révén csökkentheti a gyógyszerfejlesztési kiadásokat, és megadhatja a személyre szabott terápia tervezésének *in silico* háttérét is. Mivel a rákos daganatok létrejöttének hátterében rendszerint a sejtciklus szabályozásának rendellenességei húzódnak meg, és mivel számos kemoterápiás szer ezen folyamatokba avatkozik be, metabolikus kinetikai modellünk sejtciklus modellekkel történő összekapcsolása egy további, rendkívül érdekes lehetőséget rejt.

Egy ilyen komplex hálózat leírásához sok és sokféle adat feldolgozására van szükség. Bár a biológiai módszerekkel párhuzamosan az informatikai eszközök is rohamos fejlődést mutatnak, a biológiai adatok tárolása és elemzése jelentős kihívás maradt. Míg a nagy mennyiségű adat tárolása relatíve könnyen elérhető, a több terabájt méretű adathalmazok mozgatása, elérése és elemzése limitáló

tényező. Továbbra is komoly nehézséget okoz az adatbázisok formátumainak és elérhetőségének heterogenitása. Ennek azért van jelentősége, mert az egyre komplexebb kísérleti eredményeket (pl. nagy áteresztőképességű kísérletek, Next-Generation Sequencing eredményeit) más adatok (pl. expressziós mintázatok és metabolikus útvonal adatbázisok) tükrében lehet teljességében értelmezni. Az adatbázisok heterogenitásán túl igen fontos kérdés az adatbázisokban található adatok jósága. Mivel ezek az adatok mennyiségük miatt ember számára áttekinthetetlenek és ellenőrizhetetlenek, felértékelődnek azok az eszközök, amelyek automatikus módon, az adott terület szabályrendszerét felhasználva képesek adatokat annotálni, illetve logikai összefüggéseket és ellenmondásokat felismerni. Az ilyen programok fejlesztéséhez és használatához olyan különleges szakemberekre van igény, akiknek mély a matematikai, informatikai és biológiai tudása, és mindezen területeken gyakorlati problémamegoldó tapasztalattal is rendelkeznek. Ilyen szakemberekből nem csak Magyarországon, de mindenhol komoly hiány van, amit valószínűleg a bioinformatika tudatosabb oktatásával sikerül majd enyhíteni a következő generáció „felnevelésével”.

### **Köszönetnyilvánítás**

Köszönjük a Membránbiológiai Kutatócsoport (<http://www.biomembrane.hu>) és az SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet munkatársainak az építő beszélgetéseket és kritikákat. A kutatás a NKTH-OTKA-FP7 Mobilitás (MB08C 80039) és az FP7-IRG (239270) pályázatok keretében valósult meg.

### **Laborismertetés**

A kutatócsoport 2010-ben Dr. Hegedűs Tamás vezetésével alakult meg és az SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében (tanszékvezető: Dr. Kellermayer Miklós) működik. A csoport fő témája az ABC fehérjék szerkezeti és működésbeli molekuláris hátterének vizsgálata kísérleti (sejtbiológiai, biokémiai) és elméleti (bioinformatika, kemoinformatika, molekuláris dinamika) módszerek ötvözésével. E területen szorosan együttműködnek a Membránbiológiai Kutatócsoporttal (vezető: Dr. Sarkadi Balázs).



A munkacsoport tagjai balról jobbra: Dr. Tordai Hedvig (tudományos főmunkatárs), Erdős Gábor (TDK hallgató, BME), Harmat Zita (szakdolgozó, PPKE), Dr. Hegedűs Tamás (csoportvezető), Sarankó Hajnalka (doktorandusz, ELTE), Tóth Attila (tudományos munkatárs), Erdei Áron (TDK hallgató, PPKE). Dr. Gyimesi Gergely márciustól posztdoktor a Berni Egyetemen Svájcban.

#### Irodalomjegyzék

- [1] Dean, M., Annilo, T. (2005) Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 6: 123-142.
- [2] Riordan, J.R., Rommens, J.M., Kerem, B., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., Zielenski, J., Lok, S., Plavsic, N., Chou, J.L., et al. (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 245: 1066-1073.
- [3] Dehghan, A., Kottgen, A., Yang, Q., Hwang, S.J., Kao, W.L., Rivadeneira, F., Boerwinkle, E., Levy, D., Hofman, A., Astor, B.C., Benjamin, E.J., van Duijn, C.M., Witteman, J.C., Coresh, J., Fox, C.S. (2008) Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet*, 372: 1953-1961.
- [4] Merkens, L.S., Myrie, S.B., Steiner, R.D., Mymin, D., Sitosterolemia, in: R.A. Pagon, T.D. Bird, C.R. Dolan, K. Stephens, M.P. Adam (Eds.), *GeneReviews*, Seattle (WA), 1993.
- [5] Sarkadi, B., Homolya, L., Szakacs, G., Varadi, A. (2006) Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoinnity defense system. *Physiol Rev*, 86: 1179-1236.
- [6] Cooper, D.N., Krawczak, M. (1996) Human Gene Mutation Database. *Hum Genet*, 98: 629.
- [7] Bairoch, A., Apweiler, R. (1996) The SWISS-PROT protein sequence data bank and its new supplement TREMBL. *Nucleic Acids Res*, 24: 21-25.
- [8] Krallinger, M., Vazquez, M., Leitner, F., Salgado, D., Chatr-Aryamontri, A., Winter, A., Perfetto, L., Briganti, L., Licata, L., Iannuccelli, M., Castagnoli, L., Cesareni, G., Tyers, M., Schneider, G., Rinaldi, F., Leaman, R., Gonzalez, G., Matos, S., Kim, S., Wilbur, W.J., Rocha, L., Shatkay, H., Tendulkar, A.V., Agarwal, S., Liu,

- F., Wang, X., Rak, R., Noto, K., Elkan, C., Lu, Z., Dogan, R.I., Fontaine, J.F., Andrade-Navarro, M.A., Valencia, A. (2011) The Protein-Protein Interaction tasks of BioCreative III: classification/ranking of articles and linking bio-ontology concepts to full text. *BMC Bioinformatics*, 12 Suppl 8: S3.
- [9] Caporaso, J.G., Baumgartner, W.A., Jr., Randolph, D.A., Cohen, K.B., Hunter, L. (2007) MutationFinder: a high-performance system for extracting point mutation mentions from text. *Bioinformatics*, 23: 1862-1865.
- [10] Doughty, E., Kertesz-Farkas, A., Bodenreider, O., Thompson, G., Adadey, A., Peterson, T., Kann, M.G. (2011) Toward an automatic method for extracting cancer- and other disease-related point mutations from the biomedical literature. *Bioinformatics*, 27: 408-415.
- [11] Lee, L.C., Horn, F., Cohen, F.E. (2007) Automatic extraction of protein point mutations using a graph bigram association. *PLoS Comput Biol*, 3: e16.
- [12] Rebholz-Schuhmann, D., Marcel, S., Albert, S., Tolle, R., Casari, G., Kirsch, H. (2004) Automatic extraction of mutations from Medline and cross-validation with OMIM. *Nucleic Acids Res*, 32: 135-142.
- [13] Camon, E.B., Barrell, D.G., Dimmer, E.C., Lee, V., Magrane, M., Maslen, J., Binns, D., Apweiler, R. (2005) An evaluation of GO annotation retrieval for BioCreAtIvE and GOA. *BMC Bioinformatics*, 6 Suppl 1: S17.
- [14] Lin, S.T., Chou, H.C., Chang, S.J., Chen, Y.W., Lyu, P.C., Wang, W.C., Chang, M.D., Chan, H.L. (2012) Proteomic analysis of proteins responsible for the development of doxorubicin resistance in human uterine cancer cells. *J Proteomics*, 75: 5822-5847.



## ÉLELMISZER-TUDOMÁNYI ÉS KÖRNYEZETBIZTONSÁGI KUTATÁSOK A KÖZPONTI KÖRNYEZET- ÉS ÉLELMISZER- TUDOMÁNYI KUTATÓINTÉZETBEN (KÉKI)

**Főigazgató: Dr. Székács András, c. egyetemi tanár**

### **Szerzők:**

**Halász Anna, Gelencsér Éva, Adányiné Kisbocskói Nóra, Batáné Vidács Ildikó, Cserhalmi Zsuzsanna, Tömösköziné Farkas Rita, Hegóczki József, Kukolya József, Székács András**

Az 1959-ben alapított Központi Élelmiszeripari Kutatóintézet (KÉKI) célkitűzése eredetileg elsősorban a hazai élelmiszeripari technológiák és termékek fejlesztése volt, a kutatási terület azonban hamar kiszélesedett – jórészt a vonatkozó biokémiai és táplálkozástudományi kérdések nyomán – az élelmiszer-tudomány, majd az élelmiszer-biztonság felé, mely területek a molekuláris biológiai módszerek bevonásával, illetve később az ökotoxikológiai szempontok előtérbe kerülése nyomán a környezettudomány területével is kibővültek. A biokémia és biometria élelmiszer-tudományi alkalmazásai, illetve a minőségbiztosítás az intézet létesítését követően azonnal előtérbe kerültek. Ezen belül a kezdetektől fogva jelentős enzimológiai kutatások folytak Vámosné Vigyázó Lilly vezetésével, melyek enzimanalitikai módszerek kidolgozására, valamint mikrobiológiai eredetű enzimek előállítására és alkalmazására egyaránt kiterjedtek. A növényi eredetű nyersanyagok fajtakiválasztásában is komoly jelentőségűek a gyümölcsök enzimes barnulásához kapcsolódó eredmények, de hasonlóan fontos terület a peroxidázok izoenzimeinek és hőinaktiválhatóságuknak megismerése.

Élesztők, illetve baktériumok metabolizmusának vizsgálata a szénhidrogén bázisú egysejt fehérje (SCP) előállításával indult el a 60-as években. Ide sorolható az n-parafinok sejtfehérjévé konvertálása egyes lépéseinek igazolása. Bár a metán szénforrásként hasznosulása nem jutott el az üzemi léptékű kísérletekig, de számos fontos tudományos felismeréshez vezetett, ezek közül legérdekesebb, hogy a C1-C2-C3 lánchosszabbodás már az alkohol, aldehid, illetve karbonsav fázisban megjelenik, és igazolhatóan formaldehidgátlás lép fel a fermentáció során. A biológiailag teljes értékű fehérjék iránti igény vezetett a metioninban dús élesztők előállításához különböző szaporítástechnikák (breeding) segítségével. Megállapítottuk, hogy a kénmetabolizmusban sebességmeghatározó enzim a szulfát reduktáz, amelynek a liponsav a prosztetikus csoportja [1, 2].

Úttörő munka folyt Hajós Gyöngyi és csoportja munkásságában az enzimes peptidmódosítás terén, részint esszenciális aminosavakban gazdag peptidek, részint csökkent allergénaktivitású fehérjék kialakítása céljából [3]. A különböző stresszfehérjék képződésére és biokémiai szerepére irányuló kutatások is fontos súllyal jelentek meg az intézet kutatási profiljában. Ezen belül vizsgáltuk stresszproteinek természetes és technológiai hatásokra bekövetkező kialakulását, enzimaktivitását és potenciális allergén jellegét. A stresszfehérjék két-dimenziós elektroforézis (2DE) vizsgálata az intézeten belül több kutatócso-

port együttműködésében folyt. A hazai élelmiszer-tudomány terén elsőként a KÉKI-ben kezdődtek meg az immunbiológiai kutatások, melyek több analitikai módszer kidolgozását tették lehetővé. E munkák során számos immunanalitikai módszer, így enzimjelzéses immunoassay (ELISA) rendszerek és immunszenzorok kerültek kifejlesztésre. A kutatási eredmények nyomán az intézet tevékenysége a technológiafejlesztés felől mindinkább az alap kutatások felé fordult, s az intézet neve 2001-ben Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetre változott, ezzel is jelezve az élelmiszer-tudomány szerepének erősödését.

A környezettudományhoz és -védelemhez kapcsolódó kutatási munkák első eredményei a biológiai szennyvíztisztításhoz kapcsolódtak. Ide sorolható továbbá a csomagolóanyagok mikrobiológiai lebontása és a mikrobiológiai korrózió kérdésköre is. Emellett 2011-ben az intézet profilja jelentősen bővült, s az Európai Unió „a termőföldtől az asztalig” szemlélete jegyében az élelmiszer-tudományi kutatások környezetbiztonsági tudományos vizsgálati tevékenységre is kiterjednek. Ezt tükrözi az intézet új Agrárkörnyezet-biztonsági Főosztályának megalapítása, melynek kutatási tevékenysége környezetanalitikai, ökotoxikológiai és mikrobiológiai szakirányokat foglal magában. A tudományterületi bővülés az intézet megnevezésében is tükröződik: az intézmény 2012. évi Alapító Okiratában rögzített neve Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet.

Az intézet jelenlegi engedélyezett létszáma 97 fő, a kutatómunka két szakmai főosztályon és ezeken belül hat osztályon történik: az Élelmiszer-tudományi Főosztály az Élelmiszer-analitikai, a Biológiai és a Technológiai és Élelmiszerlánc-vizsgálati Osztályokra, az Agrárkörnyezet-biztonsági Főosztály a Környezetanalitikai, a Mikrobiológiai és az Ökotoxikológiai Osztályokra tagolódik. Az intézet 2012. évi publikációs tevékenysége 4 angol nyelvű tudományos könyvrészletet vagy -fejezetet (CRC, InTech, Nova Science, Springer), 30 angol nyelvű tudományos szócikket és 11 magyar nyelvű tudományos szócikket eredményezett, melyeknek kumulatív hatáskörfaktora (IF) 48,73 volt. Az alábbiakban témakörönként foglaljuk össze az intézet biokémiai tárgyú kutatási szakterületeit.

## **Élelmiszer-alapanyagok és -termékek minősítéséhez szolgáló biokémiai kutatások**

### *Starter kultúrák minősítése*

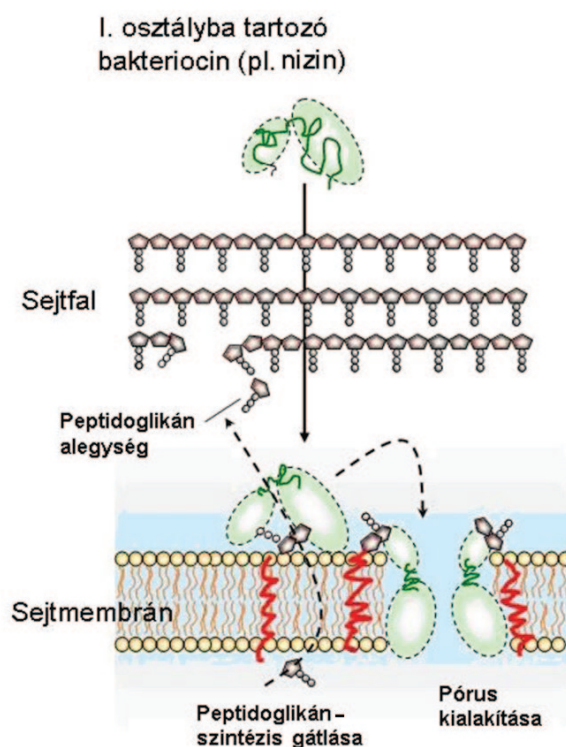
A tejsavbaktériumok, közülük is a *Lactobacillus* nemzetségbe tartozó fajok fontos szerepet játszanak egyes élelmiszereink tartósításában, kialakításában, pl. különböző tejtermékek (joghurt, kefir, sajt), savanyított káposzta, kovászos kenyér, a hústermékek közül a fermentált szalámi esetén. Napjainkban az igen népszerű probiotikumok területén is jelentős a szerepük. Ezen termékek készítésének szempontjából a legfontosabb tulajdonságuk a jó savtermelő és egyéb antimikrobiális anyagcseretermékek (pl. hidrogén-peroxid, diacetil, fehérje jellegű antibakteriális anyagok, ún. bakteriocinek) képzésének képessége. A megfelelő starter kultúra kiválasztásával és alkalmazásával a fermentáció és a végtermék minősége biztosítható, kontrollálható, fontos kritérium azonban, hogy a biogén aminok képződése csekély mértékű legyen. A biogén aminok általában az aminosavak dekarboxilálódásával képződnek, de aldehidek és ketonok aminációjával

vagy transzaminációjával is kialakulhatnak. A fermentált élelmiszerekben a biogén aminok a nyersanyagban természetes módon előforduló aminosavakból és a dekarboxiláz-pozitív mikroorganizmusok tevékenysége során képződnek. Halász és munkatársai kimutatták, hogy a starterkultúraként alkalmazott baktériumok dekarboxiláz enzimaktivitása nagy változatosságot mutat [4, 5]. A termelődött biogén aminok között – a leggyakoribb és legközismertebb biogén amin okozta élelmiszer-mérgezésekkel összefüggésbe hozható – putreszcint, kadaverint, spermint, spermidint, tiramint is mutattak ki, némely törzs hisztamint is termelt. Baráth és munkatársai megállapították, hogy a spontán fermentációval képzett termékben az összbiogénamin-mennyiség egy nagyságrenddel nagyobb, mint a szelektált starter kultúra alkalmazása esetén, s körültekintő szelekcióval kiválasztható olyan starter kultúra, amely alacsony biogénamin-termelő jellegű, és hisztamint egyáltalán nem termel [6, 7].

A tejsavbaktériumok a szaporodásukhoz, életfolyamataikhoz szükséges energiát a tejsavas fermentáción keresztül, a szénhidrátok tejsavvá alakítása során nyerik. Ehhez alapvetően két fő útvonalat használnak: a glikolízist (Embden–Meyerhof-út) vagy a 6-foszfoglükonát/foszfoketoláz útvonalat. Az előbbit a homofermentatív, utóbbit a heterofermentatív törzsek használják. A homofermentatív törzsek azonos mennyiségű glükózból kétszer akkora mennyiségben termelnek tejsavat, mint a heterofermentatív törzsek, míg az utóbbiak a tejsav mellett ecetsavat és szén-dioxidot is képeznek. E két savat termelik legnagyobb mennyiségben, ezek játsszák a fő szerepet a termékek savanyításában és tartósításában. Mind az ízhatás, mind az antimikrobiális hatás vonatkozásában előnyösebbek a heterofermentatív metabolizmussal rendelkező tejsavbaktériumok, mivel a tejsav mellett ecetsavat is termelő baktériumok karakteresebb ízvilágú terméket képeznek, valamint a szinergista hatás miatt együttesen erősebb az antimikrobiális hatásuk. A csekély aminosav dekarboxiláz enzimaktivitásuk alapján kiválasztott törzsek savképzését többféle szénforrás (glükóz, fruktóz, laktóz) esetén vizsgálva megállapították, hogy azok a termelt savak aránya (tejsav:ecetsav = 8:1), vagyis homo- illetve heterofermentatív jellegük alapján csoportosíthatók [8]. Az ecetsav a termékben a fermentáció során más biokémiai úton is képződhet, egyrészt a tejsav lebomlásával, másrészt a citrátmetabolizmus eredményeként. Ez utóbbit kísérleteink során is megfigyeltük, amikor csicsókatáplevesben szaporítottunk *Lactobacillus*-törzseket, melyek közül azok, amelyek felhasználták a tápközegben található citrátot, nagyobb mennyiségben képeztek ecetsavat, borostyánkősav-termelés mellett [9]. Kísérleteink is bizonyították, hogy a képződött szerves savak mennyisége nagymértékben függ a tápközegtől és maguktól a termelő törzsektől is. Válogatott *Lactobacillus*-törzseket vizsgálva három, összetételében és jellegében is különböző táptalajon (deMan-Rogosa-Sharpe agar, tej, csicsóka), nagy különbségeket találtunk egy adott törzs savtermelésében az egyes tápközegeken, valamint egy adott fajhoz tartozó törzsek esetén is, ugyanazon tápközegben [8].

A szerves savak mellett fontos és különleges szerepe lehet az antimikrobiális aktivitásukban a *Lactobacillus*-ok által termelt fehérje jellegű, antibakteriális anyagoknak, az ún. bakteriocineknek. A tejsavbaktériumok által termelt bakteriocinek olyan riboszómálisan szintetizált és extracellulárisan kiválasztott,

elsődleges vagy módosított, fehérje jellegű, általában 30-60 aminosavból álló peptidek vagy peptidkomplexek, amelyeknek baktericid vagy bakteriosztatikus hatása van rokon fajokkal szemben. Aktivitásuk viszonylag szűk spektrumú, többnyire csak a saját vagy a közeli rokon fajokra fejtik ki hatásukat. Hatásmechanizmusukat tekintve főként a célorganizmus sejtmembránjában képzett pórusok által fejtik ki gátló aktivitásuk (1. ábra).



**1. ábra. A bakteriocinek hatásmechanizmusa.**

E bioaktív fehérjejellegű anyagok genetikailag kódoltak, mely gének kromoszómán, plazmidon vagy transzpozonon helyezkedhetnek el, ahol a bakteriocin termeléséért és a termelő sejt immunitásáért felelős gének egy operonban csoportosulnak. Egy ilyen operon kódolja általában a bakteriocin szerkezeti peptideit, a bakteriocin membránon keresztüli transzportját- és a termelő törzs számára immunitást biztosító fehérjéket, a szabályozó fehérjéket, valamint a módosuló bakteriocinek esetén az aktívvá válás folyamatának enzimeit, illetve a segítő fehérjéket.

A *Lactobacillus*-fajok termel(het)nek antifungális fehérjejellegű anyagokat is, de ezen anyagok tulajdonságaikban igen különböznek egymástól, s gyakran nem lehet kategórikusan elkülöníteni őket a bakteriocinektől. Kísérleteinkben számos *Lactobacillus*-törzsről megállapítottuk, hogy termelnek fehérje jellegű antimikrobiális anyagot, s a *Lactobacillus plantarum* 2142 törzs antifungális fehérje jellegű komponenst is termelt. Ezen törzs fehérje jellegű gátló anyagait megtisztítva 3-11 kDa molekulatömeg közötti peptideket kaptunk [10]. Egyes bakteriocinekben előfordulhatnak D-aminosavak is (pl. gassericin A, reutericin 6),



amelyek növelhetik a gátló aktivitást. D-aminosavak (főként D-aszparaginsav, D-glutaminsav és D-alanin) a baktériumok sejtfalában, a peptidoglikánokhoz kapcsolódva található nagyobb mennyiségben, ami az élelmiszerek bakteriális fertőzöttségének jó mutatószáma lehet.

A mikroorganizmusokkal történő kutatómunka során elengedhetetlen azok sejtszámának és életképességének meghatározása. A mikrobák, alkalmazott starter kultúrák ezen tulajdonságainak ismerete fontos az élelmiszeripar és minden fermentációs terület számára. A mikroorganizmusok sejtszámának meghatározására még ma is leggyakrabban a hagyományos tenyésztésen alapuló eljárásokat alkalmazzák, amelyek rendkívül munka- és időigényesek. Az újabb gyorsmódszerek fejlesztésével lehetővé vált, hogy akár pár óra alatt megfelelő információt kapjunk a mintában lévő mikroorganizmusok sejtszámáról. A módszerek hátránya, hogy drága és bonyolult berendezéseket, detektorokat igényelnek, valamint csak megfelelően képzett felhasználó kezei között működtetve kaphatunk megfelelő eredményt. Ugyanakkor a legtöbb eljárással nem lehet az élő és holt sejteket egymástól megkülönböztetni, így gyakran hibás pozitív jelet kaphatunk (I. táblázat).

**I. táblázat Laboratóriumi módszerek a mikroorganizmusok sejtszámának meghatározására**

Módszer	Vizsgálat időtartama
Tenyésztéses módszerek	24-72 óra
Biolumineszcencia	0,5 óra
Áramlásos citometria	0,5 óra
Direkt epifluoreszcens szűrés	0,5 óra
Impedimetria	6-24 óra
Immunológiai módszerek	1-2 óra
Nukleinsav alapú módszerek	6-12 óra

A mikroorganizmusok életképességének és sejtszámának gyors meghatározási módszerei közé tartozik egy viszonylag új eljárás, amelyet eredetileg emlőssejtek életképességének vizsgálatára fejlesztettek ki. Ez az ún. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólium-bromid) alkalmazásán alapuló kolorimetriás módszer, amely az életképes sejtek (emlőstől a mikroorganizmusig) azon tulajdonságát állítja a detektálás szolgálatba, hogy élettevékenységeik következtében a dehidrogenáz enzimeik segítségével a sárga színű tetrazólium-bromidot intenzív lila színű formazánná redukálják, amelynek mennyisége egyenesen arányos a mintában lévő sejtek számával. Egyszerűsége és gyorsasága mellett az eljárás hátránya, hogy minden egyes vizsgálandó mikroorganizmus-törzsre külön kell kalibrálni és meghatározni az optimális paramétereket (MTT-koncentráció, inkubációs idő, sejtszám).

Kutatócsoportunk sikeresen adaptálta a módszert tejsavbaktériumok enzimaktivitásának és sejtszámának méréséhez, illetve számos *Lactobacillus*-törzsre (pl.

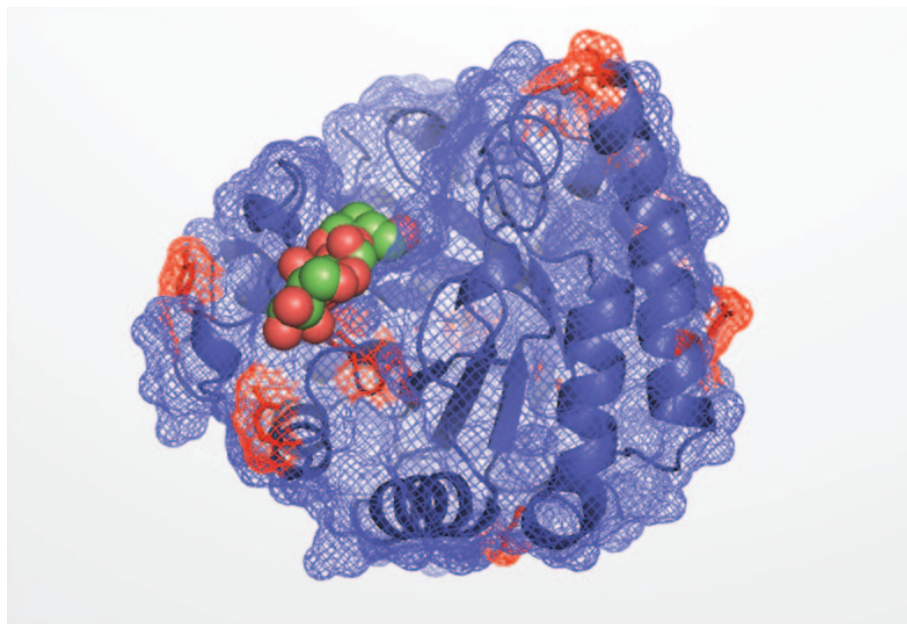
*Lb. plantarum* 2142, *Lb. rhamnosus* VT1, *Lb. casei* sakei) külön elkészítettük a kalibrációs egyeneseket, melyeknek segítségével akár 4 óra alatt meghatározhatjuk az életképes sejtek számát [11].

### *Prebiotikum-előállításra alkalmas különleges hidrolázok biokémiai jellemzése*

A prebiotikumok a gerinces szervezetek számára emészthetetlen, nagyrészt oligoszacharid-tartalmú táplálék- és takarmánykiegészítők, melyek elősegítik az egészséges bélflóra kialakulását, fenntartását, s emellett jelentős immunmoduláns hatással is bírnak. Napjainkban különösen kutatott terület a xilo- és manno-oligoszacharidok prebiotikus hatása. Elvileg két úton lehet oligoszacharidokat előállítani: polimerekből hidrolízis vagy cukromonomerekből szintézis útján. A mannóz, xilóz szubsztrátokból transzferáz enzimekkel lehet irányított oligoszacharid-szintézist elérni, ami jelenleg igen költséges eljárás. A rentábilisabb megoldás nagy mannán- vagy xilántartalmú élelmiszer-adalékokból (szentjánoskenyérliszt, guárgumi, kukoricatörköly) terminális hidrolízissel oligomannán- és oligoxilán-frakciókat nyerni.

A KÉKI Mikrobiológiai Osztályán komposztlakó, termofil aktinomicéták nagy enzimaktivitású és tűrőképességű hidroláz enzimeit választottuk a prebiotikumok előállítására. Az általunk izolált és leírt *Thermobifida cellulosilytica* [12] és a termotoleráns aerob cellulózbontó modellszervezet *T. fusca* [13] voltak hidrolázaink forrásszervezetei. Ezek a mikrobák genomjukban tucatnyi, eddig csak részlegesen jellemzett, rendkívül hőstabil és széles pH-tartományban aktív xilanáz és mannanáz enzimet kódolnak [14].

A hidrolízis alapú oligoszacharid-előállításra endomannánáz enzimek fúziós proteinkénti heterológ expresszióját dolgoztuk ki *Escherichia coli* szervezetben. A *T. fusca* és *T. cellulosilytica* endomannánáz génjeit az általunk megoldott genomprojektek alapján klónoztuk [15]. Az enzimek a glikozil hidroláz 5 családba tartoznak, N-terminális katalitikus és C-terminális mannáncötő domént (CBD2) tartalmaznak. Biokémiai paramétereik: pH-optimum 8, hőmérsékleti optimum 65°C. Bár aminosavszinten 90%-os a homológia a két enzim között (2. ábra), rendkívül nagy termostabilitási különbséget tapasztaltunk: a TfMan5A felezési ideje 70°C-on 330 perc, míg aTcMan5A esetében tízperces felezési időt mértünk. Dr. Barna Terézia (Debreceni Egyetem, Genetikai és Alkalmazott Mikrobiológiai Tanszék) közreműködésével, az enzimekkel sikeresen hidrolizáltunk szentjánoskenyérliszt szubsztrátot, melynek főkomponense az NMR-vizsgálatok szerint egy tetraszacharid (a mannotrióz alfa 1-6 galaktozid származéka) volt.

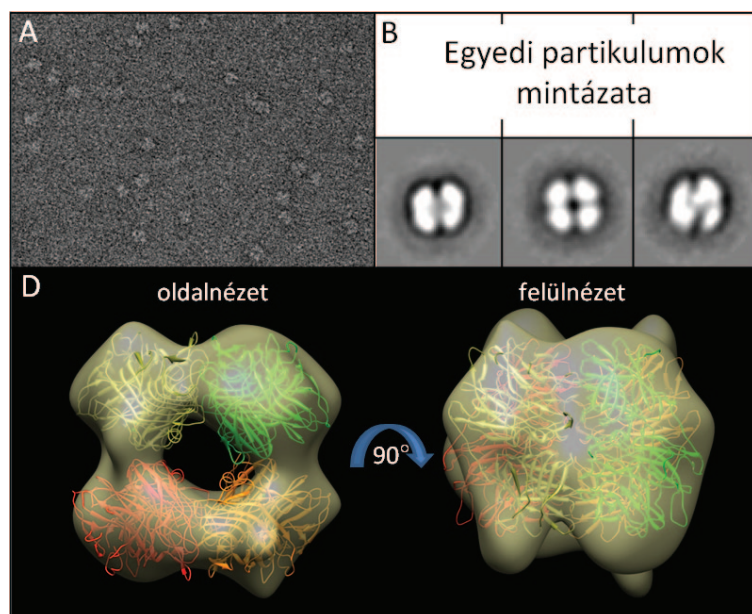


**2. ábra.** A *Thermobifida cellulosilytica* endomannanáz enzimének (Man5A) 3D szerkezete a térkitöltéses modellel ábrázolt mannotrióz szubsztráttal [Kukolya és m társa, publikálatlan]. A *T. fusca* Man5A enzimének katalitikus doménje ( $\alpha/\beta$ )<sub>8</sub> hordó szerkezetű, a glikozid hidrolázok 5-ös családjába (GH5) tartozik. A *T. fusca* – *T. cellulosilytica* endomannanáz enzimeinek katalitikus-doménjei 90%-ban homológok, a döntően a felszínen található aminosav-eltérések helyeit a Man5A modellen pirossal jelöltük. A két enzim hőstabilitásában megfigyelhető extrém eltérés magyarázata lehet, hogy az ionpárt képző aminosavak a homológ enzimekben semleges vagy ellentétes töltésű oldalláncúra cserélődtek (114E -> Q; 130D -> N; 171N -> H; 175N -> T; 178D -> A).

A transzferáz alapú prebiotikum-előállításához egy béta-xilozidáz enzimet kódoló gént (*xyn43A*) klónoztunk a *T. fusca* TM51-törzsből. Az enzimet jelenleg élénk érdeklődés övezi, mivel annak ellenére, hogy invertáló enzim, jelentős transzferázaktivitással bír [16, 17]. A béta-xilozidáz enzimet (Xyn43A) eredetileg expressziós könyvtárból klónoztuk, majd His-fúziós proteinként *E. coli* szervezetben expresszáltuk. Az affinitáskromatográfiás tisztítás után meghatároztuk az enzim biokémiai paramétereit: mérete 61,681 kDa; pH-optimum 7; hőmérsékleti optimum 50°C; szubsztrátspektruma szűk, xilobiózt és xilotriózt hidrolizál. Az enzim transzferázaktivitásának következtében D-xilóz és 4-amino-fenol-1-tio- $\beta$ -xilopiranozid közötti reakcióban 4-b-D-xilozil-amino-fenil-1-tio-b-xilopiranozid termék képződését tapasztaltuk.

Annak érdekében, hogy feltárjuk a különleges transzferáz mechanizmust, az enzim struktúra-funkció vizsgálatát kezdtük el külföldi partnerünknel, a müncheni Max Planck Intézet Struktúrbiológiai Osztályán. A diffrakciós adatok gyűjtése a svájci alacsony energiájú szinkrotronban (SLS), Villigenben folyt. A 3D-szerkezet elemzése alapján az enzim a glikozid hidroláz 43 családba tartozik, egy N-terminális katalitikus és egy C-terminális cukorkötő domént tartalmaz. Az enzim krio-elektronmikroszkópos vizsgálata alapján Xyn43A xilozidáz aktív komplexe tetramer, melynek kialakulásában a C-terminális domén fontos szerepet tölt be (3. ábra). Jelenleg az enzim aktív centrumának feltérképezése zajlik, melynek során helyspecifikus mutagenézissel készítettük el a katalitikus aminosavak cseréjét

[18]. A hidroláz és transzferáz alapú prebiotikumok biológiai tesztelése jelenleg folyik a Mikrobiológia Osztályon probiotikus *Lactobacillus*-törzsek segítségével.



**3. ábra.** A krio-elektronmikroszkópos vizsgálat eredményei alapján a Xyn43A  $\beta$ -xilozidáz tetramer komplexet formál. A) A 2D képalkotásra homogén, globuláris Xyn43B-partikulumokat választottunk. B) Partikulumok, különböző oldaluk szerinti leképezésben. C) A  $\beta$ -xilozidáz tetramer beleillik az EM projekciókból modellezett 3D alakzatba.

### *Élelmiszer-alapanyagokban előforduló biológiailag aktív fehérjék és peptidek vizsgálata*

A növényi élelmiszer-alapanyagokban számos olyan biológiailag aktív fehérje fordul elő, melyek a növény biotikus és abiotikus stressz elleni természetes védekezésében vagy az érésmenetben fontos szerepet töltenek be, de élelmiszerbiztonsági szempontból antinutritív, toxikus vagy allergén fehérjéknek minősültek. Ugyanakkor számos növényi és állati eredetű élelmiszer-alapanyag tartalmaz olyan biológiailag aktív fehérjét vagy peptideket, melyek mind táplálkozási, mind élelmiszer-biztonsági szempontból külön figyelmet érdemelnek. A KÉKI Biológia Osztályán és jogelődjein (Biológia és Táplálkozástudományi Osztályok) dolgozó kutatócsoportok nemzetközi és hazai együttműködésben végzett kutatásai hozzájárultak e terület új eredményeihez. Az alábbiakban néhány fontosabb állomásról kívánunk áttekintést adni.

*Hüvelyes növényekben található lektinek és enziminhibitorok.* Kezdetben az antinutritív komponensek hővel és enzimikus kezelésekkel szemben mutatott stabilitását és viselkedésüket vizsgáltuk bioanalitikai módszerekkel. A szerkezetváltozásokat szója és más hüvelyes növényi lektinek és szója eredetű tripszininhibitorok esetében antigénspecifikus ellenanyagokra alapozott immunanalitikai (ELISA, immunblot) módszerekkel követtük nyomon. Az enziminhibitorok maradék aktivitását natív-PAGE módszerrel szeparált fehérjéknél enzimgátláson alapuló módszerekkel mutattuk ki. A lektinek specifikus szénhidrátkötő képességének változását a hemagglutinációs aktivitás mérésével vizsgáltuk. A szója szerinproteáz-gátlói (Bowman-Birk és Kunitz tripszininhibitorok) esetében igazoltuk, hogy az ellenanyagkötő helyek nem azonosak az enzimkötő helyekkel, ezért a hőkezeléssel inaktivált mintákban is van lehetőség az inhibitor jelenlétének



kimutatása. Megállapítottuk, hogy az enzim-inhibitor-komplex immunanalitikai kimutatására lehetőség van a tápcsatornából származó, funkcionálisan inaktív biológiai mintákban is. Szója eredetű lektin esetében igazoltuk, hogy az ellenanyagkötő helyek eltérnek a specifikus szénhidrátkötő helyektől, ezért a funkcionálisan inaktivált hőkezeléses mintákban mód van a lektin jelenlétének kimutatására. Amennyiben a specifikus szénhidrátkötő helyek degradációja a tápcsatornában is bekövetkezett, az immunreaktív peptidek mérésére még így is volt mód. A módszereket nyers vagy különböző eljárásokkal kezelt és feldolgozott élelmiszerekre és takarmányokra, illetve biológiai mintákra (vér, bél, bélfolyadék, széklet) is alkalmaztuk.

Megállapítottuk, hogy lencse csíráztatása során az aktiválódott endogén eredetű proteázok a szerinproteáz-gátlók lebomlását eredményezik. Lencse savas denaturálásával és részleges proteolízisével kísért természetes fermentáció során viszont mind a lektinek, mind a proteázinhibitorok elbomlanak [19, 20]. Szójából származó albumin tápcsatorna eredetű enzimekkel végzett hidrolízise és aminosav-beépítéssel kísért enzimes peptidmódosítása [21] szintén kedvezően befolyásolta a hüvelyes növényi fehérjék hasznosulását. Eredményeink hozzájárultak a funkcionális élelmiszerek fejlesztésének megalapozásához.

Az utóbbi évtizedben jelentős szemléletváltozás következett be az antinutritív anyagok táplálkozásban betöltött szerepének megítélésében. A tudományos érdeklődés egyre inkább e komponensek potenciálisan hasznos és előnyös alkalmazásának irányába fordult. Kiemelt figyelmet kapott tápcsatornában bekövetkező metabolizmus, a hormon- és immunreguláció, melyekkel kapcsolatban még ma is sok kérdés vár válaszra. Ugyanakkor felmerültek élelmiszerbiztonsági aggályok, amikor e bioaktív komponensek a tápcsatornában nem vagy csak részben bomlanak le, és lokális antigénként, potenciális immunogénként, esetleg allergénként viselkedhetnek az arra érzékeny szervezetben. Ezért kutatásainkat a továbbiakban a bioaktív komponensek tápcsatornában mutatott viselkedésének tanulmányozására fókuszáltuk.

Babnövényből származó tisztított lektinek és proteázinhibitorok állatmodellben (patkány, sertés) végzett tápcsatornai rezisztenciavizsgálat során lokalizáltuk a funkcionálisan és immunológiailag aktív formában túlélő antigéneket. Megállapítottuk, hogy a szója- és más babnövényekből származó lektinek immunológiailag aktív formában, jelentős részarányban élnek túl a tápcsatornában zajló lebontási folyamatokat [22]. Eközben megtartják specifikus szénhidrátkötő képességüket, és a gyomor- illetve bélfalról a specifikus haptécukoroldattal a kötésből kiszoríthatók. Ezek a mitogén lektinek vékonybél-proliferációt indítottak, és jelentősen rontották a fehérjehasznosulást. A tripszininhibitorok a gyomorban funkcionálisan aktív, szabad formában voltak megtalálhatók. A vékonybélbe jutva inhibitor-enzim-komplexeket képeztek, és megfigyeltük ezek részleges lebomlását is. Mivel a túlélő antigének transzlokációja már 15 perc múlva bekövetkezett, szisztémás hatással is számolni kellett.

Szabad és enzimesen komplexbe kötött szója szerinproteáz-inhibitorokkal duodeniálisan stimulált, pankreászkanülált patkányokban vizsgáltuk a pankreáz

enzim kiválasztását [23]. Megfigyeltük, hogy mind a szabad, mind pedig az enzimmel komplexbe kötött inhibitorok kolecisztokinin-fel szabadítással járó folyamatban hozzájárultak az  $\alpha$ -amiláz-, tripszinogén- és kimotripszinogén-kiválasztás növeléséhez. Patkányokat szója eredetű enziminhibitorokat tartalmazó táppal etetve hasonló tapasztalataink voltak. A reakciót követően a duodenális amiláz-koncentráció szignifikánsan nőtt, míg a tripszinszint lecsökkent. A kimotripszin luminális szintje Bowman-Birk típusú inhibitor esetében csökkent, míg Kunitz típusú stimulációnál növekedett. Meglepő volt, hogy a komplexbe kötött proteáz-inhibitorok is hatékonyan stimulálták a pankreatinkiválasztást. Ezért felmerült bennünk a kétely, hogy a kolecisztokinin-szekrécióért nem csupán a duodenális proteázok szintjének csökkenése a felelős. Fenti tapasztalatainkat a szójababalbumin takarmányhasznosulási mutatóinak javításában kamatoztattuk [24].

Mivel a lektinek poliklonális stimulátorok, ezért vizsgáltuk, mi történik a fiziológiailag együtt adott oldható antigénekkal, ha a bablektineket orális adjuvánsként alkalmazzuk. Egyrészt specifikus ellenanyagok (specifikus IgA) kiválasztását figyeltük meg a bélben, másrészt aktív szisztémás választ az oldható antigénekkal szemben [25]. Így lehetőség nyílt a tápcsatorna immunvédelmének erősítését szolgáló fejlesztésre és az immunválasz irányított megváltoztatásának *in vivo* modellezésére. Tapasztalatainkat kiterjesztettük sejtfalantigénre alapozott, szelektált tejsavbaktérium-törzsekkel történő immunmodulációs patkány/egérmodellek kifejlesztésére is [26].

*Élelmiszer allergének.* Az élelmiszer-allergia az immunrendszer kóros működése, mely IgE típusú ellenanyagok közvetítésével jön létre, egy vagy több allergén fehérjével/peptiddel szemben. A cöliákia azonban nem IgE típusú ellenanyagok közvetítésével jön létre, az immunrendszer részvételével kialakuló autoimmun folyamat, melynek kiváltói és fenntartói a glutén és más gabonában előforduló prolaminek.

Különböző búzafajtákban gabona eredetű allergéneket vizsgáltunk humán szérumokkal szemben mutatott IgE-reaktivitás alapján [27]. Kétdimenziós elektroforézis (2DE) segítségével elválasztott fehérjefrakciókban a leggyakrabban felismert polipeptideket LC-MS/MS technikával azonosítottuk allergén-adatbázisok (*NCBI nr Plant database*) segítségével. A növényi rezisztencianemesítésben fontos szerepet betöltő, ún. patogenezissel összefüggésbe hozható (PR) fehérjék, mint az  $\alpha$ -amilázinhibitorok, szerpinek gyakran mutattak IgE-reaktivitást, és pepszines emésztéssel szemben rezisztensek voltak. Mivel a szerpinek élelmiszer-mátrixban is hőstabilnak mutatkoztak, az élelmiszer-allergén szennyezés markerei lehetnek. A növényi rezisztencia fokozása céljából előállított transzgenikus búzavonalakban is azonosítottunk  $\alpha$ -amiláz-inhibitorokat, búzacsíra-agglutininokat, endogén és exogén glükánázokat és kitinázokat [28]. Szárazságstressz hatására alacsony molekulatömegű (<28 kDa) fehérjék, feltételezhetően stresszfehérjék expresszióját figyeltük meg transzgenikus búzavonalakban. Immunblot technikával kapcsolt proteomikai eljárás segítségével a 0,19  $\alpha$ -amiláz inhibitor esetén IgE-reaktivitást igazoltunk. Gabonaallergiás és cöliakiás betegekben származó szérumokkal összehasonlító vizsgálatokat végeztünk és megállapítottuk, hogy a két reakciótípusban azonosítható polipeptidek ujjlenyomata eltérő [29].

Az ún. patogenezishez kapcsolódó fehérjékhez (PR proteins) tartozó Mal d1 és Mal d3 allergén fehérjét izoláltunk almából [30]. Az allergén fehérjékkel szemben termelt specifikus ellenanyagokra alapozott ELISA módszer segítségével rezisztens és fogékony almafajtákban vizsgáltuk az érésmenet és a tárolás során az allergének szintjének alakulását. Megállapítottuk, hogy a Mal d1 fehérjék az érésmenet kezdeti szakaszában indukálódtak, míg a hőstabil Mal d3 fehérjék a második szakaszban termelődtek. Az érés befejező szakaszában és a tárolás során a fehérjék szintje jelentősen lecsökkent.

Klinikai vizsgálatokban hüvelyes növényekből származó fehérjékre igazoltan allergiás és légúti allergiás betegekből származó szérumokkal IgE-reaktív polipeptidek ujjenyomatát vizsgáltuk SDS-PAGE módszerrel elválasztott, hüvelyes növények terméséből származó (bab, borsó, lencse, szója, mogyoró, csicseriborsó) 2DE-szeparált fehérjékben. IgE-reaktivitást mutató polipeptideket azonosítottunk bab eredetű  $\alpha$ -amilázinhibitor-1 esetén. Igazoltuk, hogy a reakció nem a szénhidrátkötő helyeken ment végbe. A rovarrezisztencia fokozása céljából a borsóba transzformált inhibitort ugyanezek a szérumok felismerték, annak ellenére, hogy a transzgenikus fehérje glükozilációs foka megváltozott.

Tejtermelő állatok tej- és húsfehérjéit vizsgálva IgE-keresztreaktivitást észleltünk. Hasonló tapasztalataink voltak a tojástermelő állatok hús- és tojásfehérjéivel. Megállapítottuk, hogy a tehéntej-allergiás betegekből származó szérumok keresztreakálnak más tejtermelő állatok tejjével is [31]. Probiotikus tejsavbaktérium-törzsek proteolitikus enzimaktivitását sikerrel használtuk fel a tejfehérjék IgE-reaktivitásának csökkentésére. E baktériumtörzseket, illetve hődenaturációval nyert holt sejteket sikerrel alkalmaztuk orális adjuvánsként az immunválasz modulálására [32, 33].

*Biológiailag aktív peptidek.* Az élelmiszer-alapanyagokban számos bioaktív komponens található, melyek napjainkban a tudományos érdeklődés középpontjába kerültek. Vannak olyan bioaktív peptidek, amelyek vagy már eleve jelen vannak a nyersanyagban, vagy az élelmiszer előállítása során felhasznált mikroorganizmusok proteolitikus aktivitásának eredményeképpen, illetve az elfogyasztást követően az emésztőenzimek hatására keletkeznek. Különböző hús alapú élelmiszerekben jelentős mennyiségű karnozint, illetve anszerint mutattunk ki, melyek antioxidáns tulajdonságot és ezzel összefüggésben számos pozitív élet-tani és terápiás hatást mutatnak. Mesterséges gyomor- és bélfolyadékban vizsgálva megfigyeltük, hogy a kiindulási karnozinttartalomnak több mint a fele megmaradt, mely ígéretes lehet a funkcionális étrendi kiegészítők fejlesztésében.

#### *Bioaktív nem fehérje típusú élelmiszer-összetevők analitikai vizsgálatai*

Az Élelmiszer-analitikai Osztály és jogelődjei (Enzimológia, Táplálkozástudományi, Analitikai Osztályok) nem kizárólag szűken értelmezett analitikai munkát végeztek az elmúlt évtizedekben, hanem a növényekben keletkező bioaktív komponensek mennyiségén keresztül a növénytermesztés, -feldolgozás, valamint -nemesítés hatására lejátszódó vagy módosult biokémiai folyamatok nyomon követését is. Kutatásaink több jól definiálható terület köré csoporto-

síthatók, amelyek során zöldségek, gyümölcsök, gabonafélék és feldolgozott termékek metabolitjait, vitamin-összetételét, antioxidáns-tartalmát és más biológiailag aktív vegyületeinek koncentrációját, arányát vizsgáltuk különböző szempontok alapján. Az egyik nagy témakör a nemesítés során módosult génkészlet szerepének ellenőrzése az új fajták, fajtajelöltek összetevőire nézve; a második csoport a termesztési körülmények hatásainak vizsgálata; a harmadik témakör pedig a nyersanyagok feldolgozása során alkalmazott technológiai paraméterek következményeinek nyomon követésével kapcsolatos vizsgálatok.

*A növénynemesítés hatásai.* A nemesítés során a cél általában a növény genetikai állományának minél jobb feltárásával, az abban megtalálható és más, esetleg vad fajtákból azonosítható rezisztenciaforrások tudatos felhasználásával új, ellenálló, kiváló terméshozammal, beltartalmi és technológiai tulajdonságokkal rendelkező fajta létrehozása. Ezen tulajdonságok közül néhány jól köthető egy-egy komponens vagy vegyületcsoport jelenlétéhez, mennyiségéhez, illetve bizonyos nem kívánatos hatások szintén magyarázhatók egy-egy összetevő megjelenésével vagy koncentrációjának változásával. Sokéves kísérletsorozattal vizsgáltuk a keszthelyi burgonya rezisztencianemesítési program fajtajelöltjeit, fajtaikat, ahol több vad burgonyafajt alkalmaztak a jellemző vírus- és bakteriális fertőzésekkel szemben tanúsított rezisztencia eléréséhez [34]. A vad fajokban a határértéket is meghaladó mennyiségű toxikus szteránvázas alkaloidok mennyiségének a nemesítés során történő nyomon követésével megállapítottuk, hogy bár az új fajtákban megemelkedhet ezeknek a vegyületeknek a koncentrációja, a toxikus értéket nem éri el, annak ellenére, hogy rezisztenssé váltak számos kórokozóval szemben. Az eredményeink alapján azonban nyilvánvalóvá vált, hogy bizonyos környezeti paraméterek, technológiai körülmények során ez az érték megközelítheti a maximálisan megengedett értéket, így ezt az ellenőrzési lépést a jövőben sem lehet kihagyni a nemesítés során.

A fűszerpaprika rezisztencianemesítések során a kísérletbe bevont 210 genetikai vonalból kapott termést a színanyag- és kapszaicin-koncentráció alapján értékeltük. A paprika minőségét is meghatározó színanyagok jelentős különbséget mutattak az új fajták esetén, a rezisztencia megjelenése mellett találtunk olyan fajtaikat, amelyeknek karotinoid-összetétele is kedvezőbb volt a nem rezisztens szülőknél. A csípős vonalak vizsgálatok során szintén nagyságrendi különbségek adódtak a kapszaicintartalomban.

*A termesztési körülmények hatásai.* Számos eredményünk bizonyítja, hogy a termesztési technológiának szintén jelentős hatása lehet a növények bizonyos bioaktív komponenseinek keletkezésére és metabolizmusára. Érdemes kiemelni ezen növénytermesztési módokat közül a napjainkban igen divatos ökológiai termesztést (biotermesztést), amelyet több növény és számos komponens tekintetében hasonlítottunk össze a konvencionális és az integrált termesztési módokkal. Búzában a fenolos vegyületek és a tokoferolszármazékok több éves nyomon követése során bebizonyosodott, hogy az évjáratnak és a genotípusnak nagyobb szerepe van az antioxidáns hatású komponensekre, mint a termesztési módnak. Burgonya esetén szintén elmondható, hogy a fajta és az évjárat befolyásolhatja a gumóban található antinutritív komponensek (alkaloidok, nitrát,



redukáló cukrok stb.) és vitaminok mennyiségét, míg a termesztési mód nincs szignifikáns hatással ezen komponensekre.

Meggy- és cseresznyevizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az ökológiai termesztési technológia kedvezően hatott a gyümölcsfajták antocianintartalmára. A biotermesztésű mintákban az antocianin koncentrációja kismértékben növekedett az integrált technológiával termesztett gyümölcsökhöz viszonyítva [35, 36]. Kajsziarack esetén az ökológiai körülmények között végzett termesztési technológia előnyösen hatott az összes karotinoidtartalom alakulására, míg az őszibarack vonatkozásában ezt a kedvező tendenciát nem tudtuk kimutatni. Az integrált termesztés alatt termelt őszibarack összes karotintartalma kis mértékben nagyobb, míg az összes tokoferoltartalma kevesebb volt az ökológiai módszerrel termesztett mintákénál mind a két gyümölcsfaj esetében. Almafajták vizsgálata során az ökológiai módon termesztett gyümölcsök több savat tartalmaztak, de a fenolos vegyületek mennyiségében és az antioxidáns-kapacitásában nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni a termesztési módok között [37].

*A feldolgozás körülményeinek hatásai.* A nemesítés során előidézett változásokon és a termesztési módozatokon kívül a terményfeldolgozás körülményeinek szintén jelentős hatása lehet a különféle biokémiai folyamatokra, így pl. a fűszerpaprika szárítási technológiája a bioaktív komponensek szintjeinek alakulásán keresztül alapvetően befolyásolja a késztermék minőségét és tárolhatóságát [38, 39]. A szárítás hőmérséklete, időtartama szignifikáns hatással van nem csupán a színanyagok mennyiségére, hanem egyéb antioxidáns komponensek összetételére is, amelyek befolyásolják a paprikában a tárolás során lejátszódó bomlási folyamatokat, ezáltal a paprika színét és aromáját. Szintén a technológia jelentőségét vizsgáltuk brokkoli, vöröshagyma, étkezési paprika, padlizsán, paradicsom és sárgarépa felhasználásával készült különböző feldolgozott termékek bioaktív komponensei mennyiségének és minőségének ellenőrzésével [40]. Egyes antioxidáns összetevők nyomon követése, érzékenysége az alkalmazott technológia paramétereire fontos adatokat szolgáltatott a termékfejlesztéshez.

*Állati és növényi eredet DNS alapú kimutatása élelmiszeripari alapanyagokban és késztermékekben*

A különböző típusú polimeráz-láncreakciós (PCR) eljárásokat élelmiszeranalitikai területen vírus, parazita vagy baktérium okozta megbetegedések azonosítására; géntechnológiai úton módosított szervezetek (GMO-k) és allergének kimutatására, valamint növényi és állati eredetű összetevők mennyiségi és minőségi kimutatására alkalmazzuk. A KÉKI Biológia Osztályán 1995-ben elsőként sertéshús, illetőleg a búzaliszt, mint szennyező kimutatására alkalmas egyszerű PCR technikák adaptációjára került sor és DNS-izolálási eljárások fejlesztése folyt [41]. Ezt követte a GMO-k élelmiszerekből történő kimutatása [42, 43], a bevitt idegen DNS tápcsatornában mutatott rezisztenciájának vizsgálata [44], további haszonállatok és nagyvadfajok [45, 46] húsának és termékeinek faj- és fajtaspecifikus eredetmeghatározása, valamint almafajtákban található különböző

allergének meghatározása [47]. Emellett kutatócsoportunkhoz rendszeresen érkeznek új kihívásokat jelentő feladatok, pl. kaviár fajspecifikus vizsgálata, amelyet a Halászati és Öntözési Kutatóintézetrel közösen végeztünk. Ez esetben találoztunk olyan extrém mintával is, mely egyáltalán nem tartalmazott halikrát.

*Állatfajok és -fajták DNS alapú kimutatása.* Hazánkban nagy jelentősége van a Hungarikum kategóriába tartozó fajták azonosítására alkalmas eljárások kidolgozásának. A mangalicatermékeknél jelenleg a dokumentáció alapú nyomkövetés valósult meg, a terméknek rendelkeznie kell a Mangalicatenyésztők Országos Egyesületének igazolásával. A jelölést tekintve, a terméknek eleget kell tennie a Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/13-1 fejezetében lévő követelményeknek, azaz a termék hústartalmában a mangalicahányadnak el kell érnie a 70%-ot. Utólagos termékellenőrzésre eddig nem volt lehetőség, ugyanakkor a termék ára és presztízse miatt vélhetően sok a hamisítás.

Munkánk során olyan diagnosztikai rendszert dolgoztunk ki, amely egyaránt alkalmas a termékösszetétel specifikus és mennyiségi vizsgálatára. A genom-szekvenálásból származó DNS-szekvenciaadatokból bioinformatikai eljárásokkal meghatározásra kerültek azok a primer szekvenciák, melyre az új eljárás épülhetett. A célszekvencia kiválasztásánál figyelembe kellett venni, hogy annak az adott mangalicafajta specifikusnak és méret szerint is megfelelőnek kellett lennie (200 bp alatti méret alatt kellett maradnia). A mangalicaspecifikus biztosításánál problémát jelentett, hogy a mangalicafajta három fenntartott színvariánsa (szőke, vörös, fecskehasú) egymástól genetikailag eltérő [48]. Minthogy a kidolgozandó eljárás célja élelmiszerek mennyiségi vizsgálata volt, az eljárást – a GMO-vizsálati eljárások mintájára – referenciaszekvencia mellett kellett végezni, és az alkalmazott sertés-referenciaszettnek a mangalicaspecifikus szettel azonos hőprofilban kellett működnie. Az új mérőszettet ismert összetételű hústerméken vizsgáltuk be, majd körvizsgálatban teszteltük.

*Növényi (alma) eredetű allergének molekuláris biológiai vizsgálata.* Az almaallergia napjainkban gyakori megbetegedésnek számít Európában; a lakosság közel 2%-át érinti. Az általa okozott leggyakoribb tünet az ún. orális allergia szindróma (OAS). Az almában különböző vizsgálati módszerekkel négy különböző allergéncsaládot (Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Mal d 4) sikerült azonosítani. A Mal d 1 és nagy valószínűséggel a Mal d 2 alapú allergiás megbetegedések előfordulása elsősorban Közép- és Észak-Európára, míg a Mal d 3 és Mal d 4 által kiváltott allergiás tünetek elsősorban Dél-Európa mediterrán területeire jellemzőek.

Kutatásunk célja az volt, hogy egyes hazai almafajták esetében a Mal d allergénekre jellemző négy géncsalád egy-egy tagjának, valamint a Mal d 1 géncsalád egyes tagjainak jelenlétét kimutassuk, illetve alacsony allergéntartalmú almafajtákat válasszunk ki. A DNS izolálása után meghatároztuk az adott almaallergént kódoló, egyszálú templát DNS sokszorozásához szükséges PCR-reakció optimális paramétereit. Az almaallergén fehérjét kódoló gének azonosítására irodalmi adatok alapján két-két primerpárt választottunk [49].

A Mal d 1 allergéncsalád vizsgálata során a Mal d 1.06 ssr-primerrel polimorf mintázatot kaptunk, amely alkalmas lehet az alacsony Mal d 1 allergéntartalmú fajták azonosítására. Mal d 2.01, Mal d 3.01 és Mal d 3.02 primerpár alkalmazásával sikeresen elkülönítettük az adott gént tartalmazó és nem tartalmazó almafajtákat. A Mal d 4.02 kimutatásakor érdekes eredményeket kaptunk, az általunk választott rövidebb primerpár alkalmazása polimorf mintázatot eredményezett. Ez azzal magyarázható, hogy Mal d 4 esetében – ahogyan a többi almaallergén esetében is – számos haplotípus létezik, melyeknek szekvenciái kisebb-nagyobb mértékben átfedéseket mutatnak. Így az alkalmazott primerek kapcsolódhatnak, és a haplotípusok amplifikációját is eredményezik.

### *Biokémiai kutatások az élelmiszer-technológia területén*

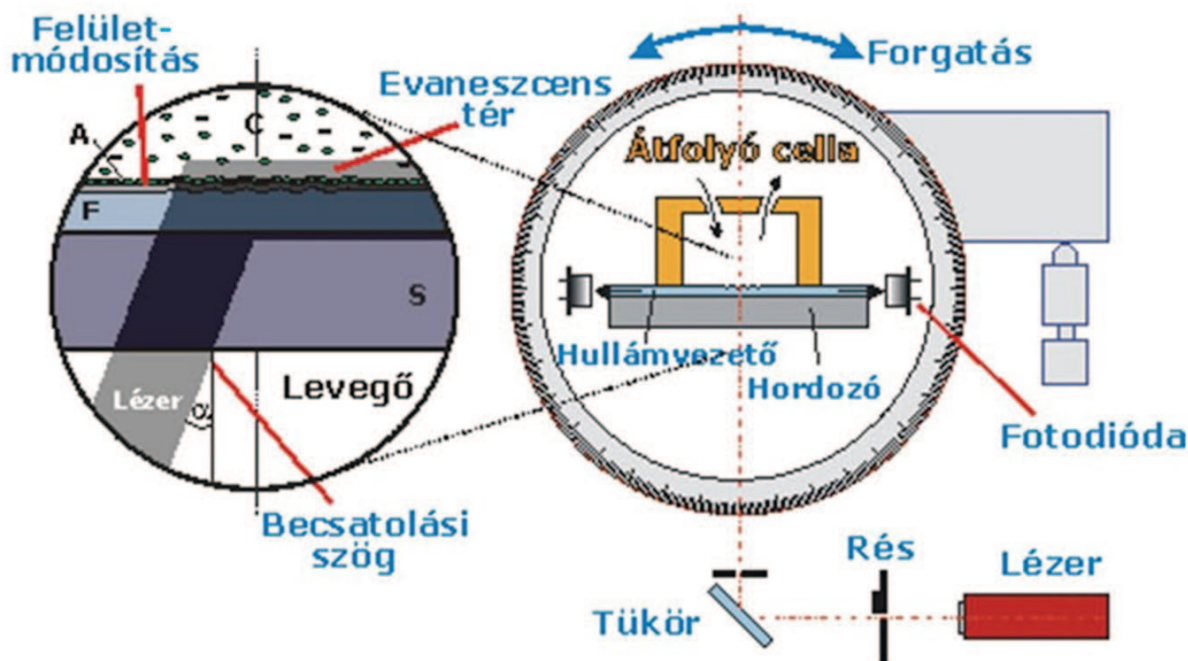
A kíméletes élelmiszeripari technológiák kutatása és fejlesztése területén elért eredmények nagy változást hoztak a növényi alapanyagok feldolgozása és a belőlük előállított élelmiszerek tartósítása területén. A KÉKI-ben folyó K+F tevékenység során két új élelmiszergyártási technológia (rádiófrekvenciás hőkezelés, extrudálás) alkalmazásával dolgoztunk ki eljárást természetes antinutritív összetevők (proteázinhibitor, lektin, ureáz), illetve az eltarthatóságot, ízhatást befolyásoló enzimösszetevők (lipáz, lipoxigenáz, mirozináz) inaktiválására. Igazoltuk, hogy a szója rádiófrekvenciás (RF) hőkezelése során a kezelési véghőmérséklete befolyásolja a tripszininhibitor-aktivitását. A 105°C véghőmérsékleten kezelt minta tripszininhibitor-aktivitása az eredeti aktivitásra vonatkoztatva 21,2%, 125°C-on 7,99% volt. Az RF kezelés hatására a lektin eredeti aktivitásra vonatkoztatva 125°C véghőmérsékleten kezelt szójában a lektinaktivitás 1,3%-ra csökkent. Az RF eredményeként a szója ureázaktivitása pedig 125°C véghőmérsékleten 1,7% volt. Különböző gabonamagvakkal (búza, árpa, zab, köles, rizs), álgabonafajtával (hajdina) és búzacsírával végzett RF hőkezelés eredményeként a megfelelően megválasztott kezelési körülmények mellett az avasodásért felelős enzimek (lipáz, lipoxigenáz) teljes mértékben inaktiválódtak [50]. RF hőkezeléssel sárga mustár csípősségét okozó mirozináz enzim inaktiválását értük el a mag kémiai összetételének, aminosav- és zsírsav-, glükozinolát- és összes polifenoltartalmának, valamint technofunkciós tulajdonságainak jelentősebb változása nélkül [51, 52].

A ma már gyakorlatban is alkalmazott extrúziós technológia fejlesztése során a kezelési hőmérsékletének és a kezelendő mag extrudálás előtti nedvességtartalmának megfelelő beállításával sikerült a szója antinutritív anyagait jelentős mértékben inaktiválni. A szójabab tripszininhibitor-aktivitása 86%-kal, a lektinaktivitása 94%-kal csökkent. A szójabab ureázaktivitása gyorsan csökkent, ha az extruder fejhőmérséklete magasabb volt, mint 150°C, míg a mag extrudálás előtti nedvességtartalma alacsony volt.

A mustár mirozináz enzimtartalma extrudálással is inaktiválható volt, 100-140°C közötti extrúziós hőmérséklet biztosította az enzim eliminálását a mag kémiai összetételének és technofunkciós tulajdonságainak romlása nélkül.

### Bioszenzorok fejlesztése élelmiszer- és környezetanalitikai célokra

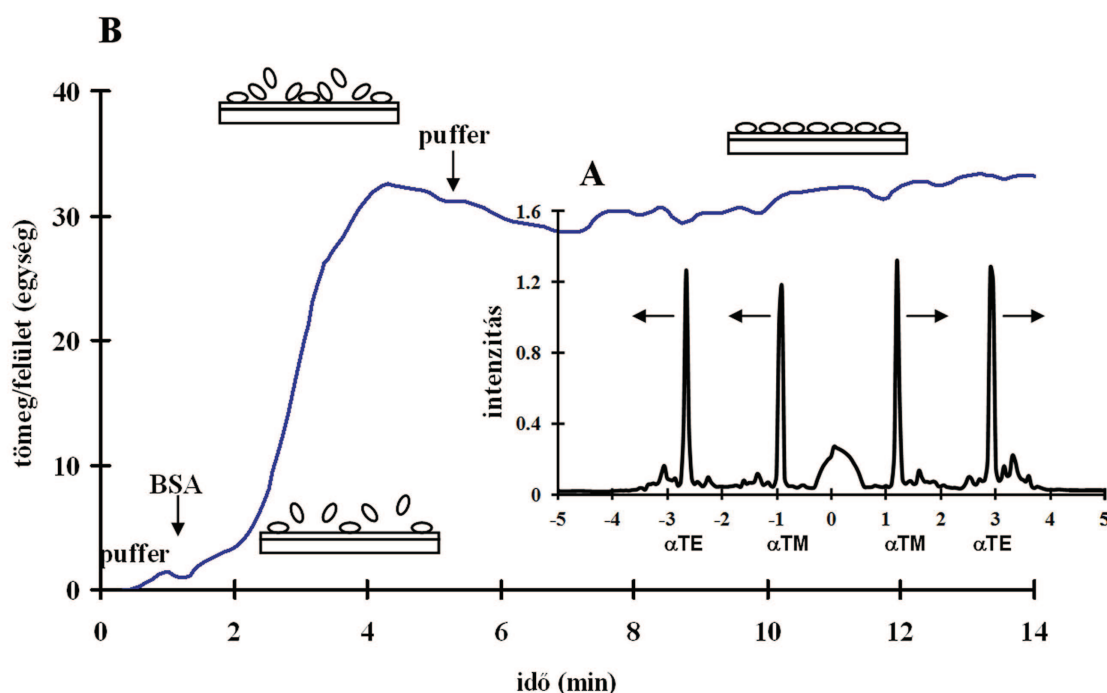
Az elmúlt három évtizedben a hagyományos mikrobiológiai és kémiai analitikai eljárások mellett előtérbe került a sorozatvizsgálatokra alkalmas, gyors, nagy érzékenységű automatizálható módszerek fejlesztése, ezek közül is kiemelkedik a bioszenzorok dinamikus fejlődése. A KÉKI-ben a '90-es években kezdődtek meg a bioszenzor-kutatások, amit hazai és nemzetközi együttműködések, pályázatok keretében két fő irányban folytattunk. Az első lépésként enzim alapú amperometriás szenzorokat fejlesztettünk, amelyek vizes közegben működtek különböző célvegyületek (glükóz, maltóz, galaktóz, laktóz, L- és D-aminosavak stb.) meghatározására [53, 54]. Később az enzim alapú bioszenzorok alkalmazási lehetőségét vizsgáltuk szerves fázisban (glükózoxidáz, kataláz és koleszterinoxidáz alkalmazásával [55-57]). E munka folytatásaként az ezredfordulón megindítottuk a bioszenzor-kutatásaink másik irányát: az optikai hullámvezető fénymódus-spektroszkópia (OWLS) alkalmazásának lehetőségeit kívántuk kibővíteni, immunszenzorok kifejlesztését kezdtük meg.



**4. ábra. Az OWLS berendezés működési elve. Az OWLS technika alapja az integrált optikai hullámvezető szenzor, amely felületén a molekulák közötti erős affinitáson alapuló kötődési reakció révén a mérni kívánt anyag koncentrációja a vizsgált oldatból meghatározható.** A szenzorfelület két rétegből áll: az alsó üveghordozó felületén vékony, nagy törésmutatójú  $\text{SiO}_2\text{-TiO}_2$ -réteget (STO) alakítanak ki, ebben a rétegben található az aktív becsatoló rács. A mérésnél a rácsot alulról polarizált He-Ne-lézerfényvel (632,8 nm, s és p síkban polarizált transzverz elektromos (TE) és mágneses (TM) módus) világítjuk meg. A szenzort tengelye mentén kis szögtartományban ( $\pm 10^\circ$ ) forgatva a lézernyaláb felett, a fény a rácson megtörik és szóródik, és meghatározott szögértékeknél – az ún. becsatolási szögnél – belép a hullámvezetőbe, ahol teljes visszaverődések sorozatával, azaz hullámvezetéssel terjed. A becsatolt fény intenzitását a szenzor két végén elhelyezett fotodiódákkal detektáljuk. A hullámvezetőben terjedő fény, minden visszaverődésre hatással van a hullámvezető feletti közeg, kb. 100-150 nm behatolási mélységben. A fény hullámvezetőbe történő becsatolása erősen függ a szenzor felett elhelyezkedő anyag törésmutatójától, s a szenzor a jellemző becsatolási szög megváltozásával érzékenyen reagál a határfelületen történő változásokra [58].



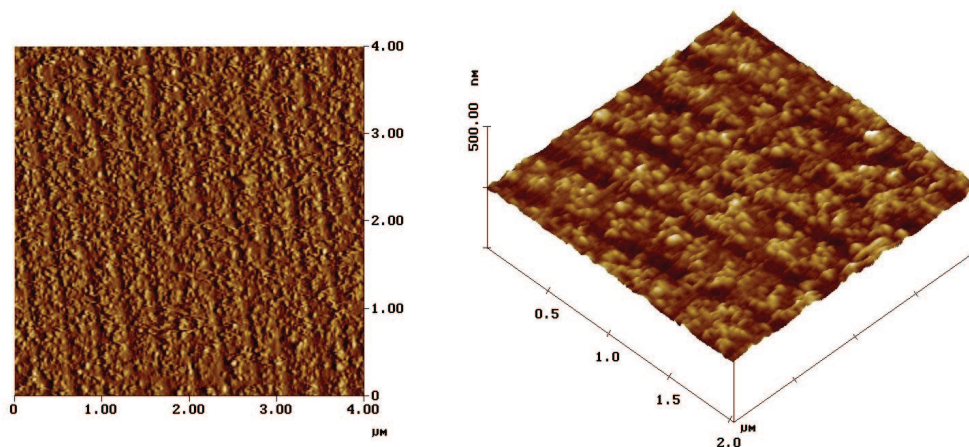
A becsatolási szögeket mechanikus goniométerrel lehet meghatározni, kb.  $10^{-4}$  fok szögfelbontással mérhetők, így a szenzoron megkötődött molekulák rétegvastagsága, tömege, a felület borítottsága (ng fehérje/cm<sup>2</sup>) már igen kis változás esetén is detektálható. A pillanatnyi becsatolási szögek helyét (szögét) az intenzitás spektrum mutatja (5. ábra, A). A fény mindkét síkban számított poláros módusának effektív törésmutatójából megkapjuk a hullámvezető felszínén a folyamatosan áramló mintaoldatból megkötődött réteg vastagságát, illetve a felületi borítottságot (5. ábra, B).



**5. ábra** A hullámvezető felszínén a megkötődött réteg vastagságának, felületi borítottságának ábrázolása a lézerny beesési szögének függvényében. A) adott szenzorra jellemző pillanatnyi intenzitás spektrum, αTE – a transzverz elektromos fény módus becsatolási szöge, αTM – a transzverz mágneses fény módus becsatolási szöge, B) a hullámvezető felszínén a megkötődött réteg vastagságának időbeli alakulása.

Az OWLS technika fejlesztése és alkalmazási területének kibővítése érdekében a szenzor felületét kémiai módon módosítottuk, s a szenzorfelületen immunreagenst immobilizálva immunszenzorokat fejlesztettünk. Mivel a hullámvezető szenzor felületén a hidroxilcsoportok nem alkalmasak biomolekulák közvetlen rögzítésére, ezért szilanizálással különböző funkciós csoportokkal módosítottuk a szenzor felületét. Aminocsoportokat hordozó szenzorfelületet alakítottunk ki γ-amino-propil-trietoxi-szilán (APTS) reagens alkalmazásával laboratóriumi körülmények között, és vizsgáltuk a különböző rögzítési eljárások lehetőségét. Az aminocsoportokat hordozó hullámvezetőn glutaraldehyddel közvetlenül rögzítettük a biomolekulákat, illetve karboxilcsoporttá alakítva az 1-etil-3-(3-dimetil-amino-propil)-karbodiimid (EDC) / N-hidroxi-szukcinimid (NHS) reagenst összetételét optimalizálva immobilizáltuk a vizsgálatokhoz szükséges antitesteket, antigéneket, illetve antigénkonjugátumokat. A γ-glicidoxipropil-trietoxi szilán (GOPS) epoxicsoportokat hordozó szenzoron közvetlenül lúgos közegben rögzítettük a biomolekulákat [59-61].

Kutatásaink során elsősorban az élelmiszerekben és környezeti mintákban előforduló kis koncentrációban jelen lévő szennyezőanyagok kimutatására dolgoztunk ki nagyérzékenységű, valós időben alkalmazható immunszenzorokat (II. táblázat). Kémiai és toxikológiai tulajdonságaikat tekintve ezek a szennyezőanyagok igen sokfélék lehetnek, számos rendkívül veszélyes, perzisztens, a táplálékláncon át feldúsuló anyag van közöttük. A meghatározandó célvegyület szerkezetétől függően azok fehérjekonjugátumait állítottunk elő, majd nyulak immunizálásával poliklonális antitesteket készítettük. A biomolekulákat alkalmazva, a mérési paramétereket optimalizálva alakítottuk ki az immunszenzorokat. Vizsgálataink során a dinitro-anilin szerkezetű trifluralin gyomirtószer-hatóanyag (6. ábra) [60-64], valamint különböző gombák által termelt mikotoxinok detektálására fejlesztettünk ki OWLS immunszenzorokat, melyeknek endokrin zavaró (ED) és más egészségkárosító hatásai miatt különös gondot kell fordítani gyors kimutatásukra. A célvegyület mikotoxinok közül a legfontosabbak a zearalenon (ZON, F-2 toxin) [64], az aflatoxin [65], az ochratoxin [65] és a deoxinivalenol [66], melyeknek meghatározására kompetitív eljárást dolgoztunk ki. További fontos célvegyületek voltak az élő szervezetekben jelen levő biogén aminok, melyek nagy koncentrációban ételmérgezésekért felelősek, míg kisebb mennyiségben élelmiszer-intoleranciát válthatnak ki. Ebben elsősorban a hisztaminlebontás genetikai zavara játszik szerepet, így a hisztamin kimutatására alakítottunk ki jelölésmentes immunszenzoros eljárást [67].



**6. ábra.** OWLS szenzor aminoszilanizált STO felületén trifluralin-BSA konjugátum rögzítése után nyert atomerő-mikroszkópos képe [62]. A szenzorfelületen a kétdimenziós (balra,  $4 \times 4 \mu\text{m}$ ) és a háromdimenziós (jobbra,  $2 \times 2 \times 0,5 \mu\text{m}$ ) megjelenítésen is jól látszanak mind a felületen megkötődött fehérjeaggregátumok, mind az optikai rács vonalai.

A mezőgazdaságban alkalmazott számtalan kémiai vegyület közül igen sokról bebizonyosodott, hogy ED hatású vegyületek: nem célzott szervezetekben a hormonális rendszer egyensúlyát károsítják, gátolják a hormon-bioszintézis bizonyos enzimeinek működését, az ivarszervek normális fejlődését, ezáltal szaporodási zavarokat okoznak. Ennek kimutatására a korszerű, ún. hatás alapú bioanalitikai eljárások alapelve, hogy – a hagyományos kémiai analitikával ellentétben – nem egyes, ismert az adott hatást kifejtő célvegyületeket vizsgál, hanem az adott hatás bioindikátorát (s hatásért felelős egyes ágenseket csak

akkor törekszik azonosítani, ha előbb a bioindikátor mérése révén meggyőződött arról, hogy ténylegesen fellép a kérdéses hatás). Biotesztekkel igazolható, hogy a vitellogenin (Vtg) fehérje – és előalakja a lipovitellin – az ED hatás megfelelő bioindikátora: a halak és kételtűek szervezetében termelődő Vtg vérbeli koncentrációja az ED hatású szennyezők hatására a hímek vérszérumában abnormális szintre emelkedhet, ezért a Vtg koncentrációjának meghatározására alkalmas immunszenzorral gyors tájékoztatást nyerhetünk ED anyagok jelenlétéről a környezetben [64, 68].

A környezeti stresszhatások, pl. az UV-B sugárzás, valamint a környezeti szennyezők hatásának vizsgálatára Hsp-70 hősokkfehérje kimutatására alkalmas immunszenzort fejlesztettünk ki. A Hsp-70 stresszfehérje, mint bioindikátor mennyisége az UV-B sugárzás és a kémiai szennyezők együttes hatását jelzi a tengeri gerinctelen élőlényekben. Laboratóriumi kísérletekben és helyszíni mérésekkel egyaránt vizsgáltuk mind a gazdaságilag fontos (fésűkagyló, osztriga), mind pedig az ökológiailag fontos (szivacs és tengeri sün) tengeri állatokat [60].

## II. táblázat. OWLS alapú immunszenzorok méréstartománya szerves mikroszennyezők meghatározásában

Célvegyület / minta	Méréstartomány (pg/ml)	Hivatkozás
gyomirtószer-hatóanyag		
trifluralin / talajvíz, gyümölcslevek	0,0001-0,1	[60, 63, 64]
mikotoxinok		
zearalenon / kukorica	0,01-100	[64]
aflatoxin B1 / búza, árpa, fűszerpaprika	10-10000	[65]
ochratoxin A / búza, árpa, vörösbor	500-10000	[65]
deoxinivalenol / búza	5-50000	[66]
biogén amin		
hisztamin / fermentált zöldséglevek	0,001-1	[67]
bioindikátor fehérjék		
Hsp-70	10-1000	[60]
vitellogenin / ponty ( <i>Cyprinus carpio</i> ), vöröshasú unka ( <i>Bombina bombina</i> )	600-12000	[64, 68]

## Környezettudományi kutatások

### Szennyvízkezelés

A veszélyes hulladéknak számító nehézfém tartalmú ipari szennyvizek ártalmatlanítására, valamint az ipari tevékenységgel szennyezett talajvizek tisztítására elterjedt eljárások (pl. redukció, csapadékképzéses elválasztás, ioncsere, aktív

szénnel való megkötés) általában energiaigényes, költséges műveletek, emellett a fémmentesítés hatékonysága gyakran nem kielégítő. A fenti okok miatt fokozott igény mutatkozott az olcsó, környezetkímélő alternatív eljárások kutatására. Így merült fel a mikrobiális biomassza adszorbensként (bioszorbens) történő használata, mint gazdaságos és öko-barát lehetőség.

A mikroorganizmusok közül a gombák, különösen a fonalas gombák és az élesztők emelkednek ki kiváló fémkötő tulajdonsággal rendelkező sejtfalanyaguk miatt [69]. Számos törzs sejtfala nagy mennyiségben tartalmaz hatékony bioszorbens kitint (N-acetil-glükózamin-polimer), kitozánokat, glükánokat és mannánokat. Az Intézetünk részvételével, konzorciumi együttműködésben (Tiara Rt., Biopetrol Kft., E+E Kft., KÉKI és Vireco Kft.) létrejött RETOXMET projekt (EU LIFE program) technológiafejlesztésének alapvető felvetése az volt, hogy különböző ipari szennyvizekből (pl. galvanizálás, bőrfeldolgozás szennyvizei) a veszélyes hulladéknak tekinthető toxikus nehézfémek bioszorpcióval hatékonyan eltávolíthatók, és az ehhez szükséges bioszorbenst a környezetet egyébként szintén terhelő, nagy szénhidráttartalmú élelmiszeripari (pl. kukorica- és burgonyafeldolgozás, tejipar) szennyvizek és hulladékok élesztő-biomasszává átalakításával (biokonverzió) nyerjük újonnan szelektált élesztőtörzsek segítségével. A projektnek megfelelően két – félüzemi méretű – berendezés (biomassza-előállítás és fémmegkötés) valósult meg a Biopetrol Kft. tatabányai telephelyén.

#### *Mezőgazdasági eredetű szerves mikroszennyezők vizsgálata felszíni vizekben*

A mezőgazdasági termelés során alkalmazott vegyszerek és azok bomlástermékei az élelmiszerekben és a környezetben egyaránt megjelenhetnek, így egyszerre eredményezhetnek élelmiszer- és környezet-biztonsági problémát. A hazai ipari, mezőgazdasági (intenzív vagy ökológiai művelésű), mezőgazdasági termeléssel felhagyott, illetve rekreációs vagy természetvédelmi területekre kiterjedő, szisztematikus felszínvíz- és talajvizsgálataink – amelyek nagyrészt a korábbi MTA Növényvédelmi Kutatóintézete és az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet által közösen működtetett Ökotoxikológiai Kutatócsoport munkáin alapultak, majd a Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetben folytatódtak – az elmúlt bő évtizedben (1999-2012) egyöntetűen aggasztó képet mutatnak, mivel a vizsgált környezeti minták 40-73%-ában találtunk egy vagy több növényvédőszer-hatóanyagot, illetve azok származékát. A találati arány értelemszerűen magasabb volt a célzott vizsgálatok esetében (ilyenkor 80% fölötti találati arányt is tapasztaltunk), mint általános környezetiállapot-felvételezés során [72, 73].

A vízszennyező növényvédőszer-maradékok talált szintjei szezonális ingadozást mutattak, megjelenésük jól tükrözte az időszakban esedékes növényvédőszerhasználatot. Az eredmények azt jelezték, hogy a mezőgazdasági tevékenységen belül a kukorica gyomirtása okozza a legjelentősebb növényvédőszeres környezetszennyezést. Ennek megfelelően az *atrazine* hatóanyag 2004. évi visszavonását megelőzően a leggyakoribb vízszennyező az *atrazine* volt, ezután az acetochlor vette át a vezető szerepet, a korábbi szennyezők mellett 2,4-D és glyphosate hatóanyagok maradékát is kimutattuk. A jelenleg forgal-



mazott növényvédőszer-hatóanyagok közül különösen aggályos a terbutilazin, mint egyetlen triazin típusú gyomirtó, amelynek bomlása az *atrazine*-éhoz hasonló ösztrogénagonista vegyületet eredményez, valamint a glyphosate, amelynek alkalmazásával kapcsolatban az ökotoxikológiai vizsgálatok során számos terhelő eredmény született [74-76]. A szűnyogállomány-gyérítésben alkalmazott korszerű, *Bacillus thuringiensis* Cry4 toxinféhrje kimutatására saját fejlesztésű ELISA eljárást alkalmaztunk [77].

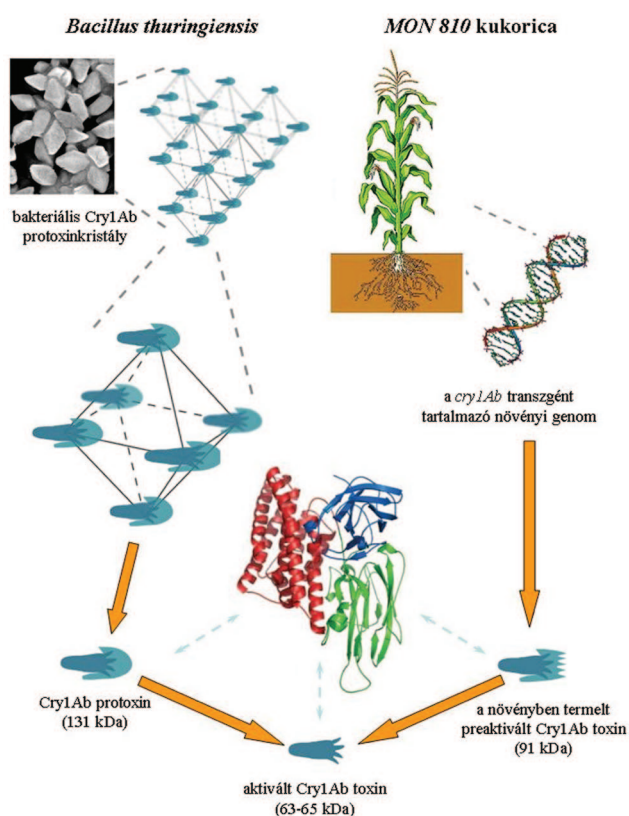
### *Géntechnológiai úton módosított (GM) növények környezeti kockázatainak vizsgálata*

A kémiai növényvédelem mellett – és a kémiai környezetterhelés csökkentésének vagy megszüntetésének jelentős ígéréttel – jelentkezett a mezőgazdasági géntechnológia, amely a mezőgazdasági kultúrnövények genomi szintű módosításával törekszik egyes növényvédelmi gondok megoldására. A géntechnológiai módosítás által megváltoztatott növényi tulajdonságok szerint a GM növényeknek mára különböző nemzedékeit különböztetjük meg. Az elsőgenerációs GM növények valamely mezőgazdasági kártevő elleni védekezésben szerepet játszó transzgén tartalmaznak. Ezen belül döntően két típus, a rovarrezisztens és a gyomirtószer-toleráns növényfajok ismeretesek: az első rovartoxikus transzgenikus fehérjét termel, a második olyan transzgenikus enzimfehérjét, amely ellenállóvá teszi adott gyomirtószer-hatóanyaggal szemben. A másodikgenerációs GM növények a bevitt transzgén hatására valamilyen kedvező termesztési vagy tápértékbeli tulajdonsággal, pl. szárazságtűréssel rendelkeznek, illetve táplálkozástani szempontból kedvező transzgenikus összetevőt termelnek. A harmadikgenerációs GM növények ipari vagy gyógyászati szempontból fontos transzgenikus összetevőt (fehérjét) állítanak elő. Vélhető, hogy a nemzedékek sora ezzel messze nem zárult le, hiszen kifinomultabb technikákkal, pl. géncsendesítéssel, RNS-interferenciával vírusellenállóvá tett növények már a negyedik generációt jelenthetik.

Számottevő szabadföldi alkalmazást a mai napig az elsőgenerációs GM növények értek el, melyeknek mindkét típusa közvetlenül kapcsolódik a kémiai növényvédelemhez, hiszen az első maga termel rovarirtószer-hatóanyagot (ilyen értelemben olyan, mint egy bioformulált rovarirtó szer), a második pedig alkalmas arra, hogy adott esetben – akár totális hatású, minden növényi szervezetet pusztító – gyomirtó szert alkalmazzanak rajta. Az Európai Unió engedélyezési folyamatában ma 130 egyszerű (egyetlen genetikai eseményt tartalmazó) és összetett (többszörös genetikai eseményt tartalmazó) GM fajtacsoport – kis részük visszavont kérelmezésű – található, ezeknek 49%-a gyomirtószer-toleráns (főként a *glyphosate* és *glufosinate* hatóanyagokra), 43%-a rovarrezisztens (főként a *Bacillus thuringiensis* különféle törzsei által termelt Cry1 és Cry3 típusú toxinféhrjék vagy módosulataik termelése révén), s csupán 8% céloz egyéb módosítást (beltartalom, színváltoztatás, szárazságtűrés stb.).

Magyarországon az egyetlen köztermesztésben engedélyezésre benyújtott élelmi célú GM növény a MON 810 genetikai eseményhez tartozó, kukoricamolyrezisztens kukorica-fajtacsoport [78]. A transzgenikus fajta hatásának alapja az, hogy a – például a *Bacillus thuringiensis* (Bt) var. kurstaki baktériumban megta-

lálható – kristályos Cry1Ab toxinfehérje módosított alakját termeli. A Cry toxinok biológiai növényvédő szerként és GM növényekben megvalósított mindkét kijuttatási formája e lektinfehérjék különböző rovarrendek ellen mutatott specifikusán alapul, a kétféle alkalmazás között jellegzetes különbségek mutatkoznak [79]. A MON 810 GM kukoricában a toxinfehérje termelődését és eloszlását, valamint a növény által termelt és a mikrobiális Cry1Ab toxin keresztreaktivitását kétféle kereskedelmi immunoassay módszer segítségével meghatározva kimutattuk, hogy a GM kukorica hatóanyagában különbözik a vonatkozó Bt-készítménytől (DIPEL®): míg előbbi a rovarok bélrendszerében metabolikus aktivációt megkívánó protoxin(oka)t (egyéb Cry1- és Cry2-protoxinok mellett a 131 kDa molekulatömegű Cry1Ab protoxint) tartalmaznak, utóbbi egyetlen (91 kDa nagyságú), ún. preaktivált toxinfehérjét termel (7. ábra). Ez a toxin-tartalombeli különbség – a bioanalitikai vonatkozásokon és növényvédőszerengedélyezési kérdéseken túl – jelentősen kihat a Cry1Ab elleni ellenálló képesség (rezisztencia) gyors kialakulásának biológiai lehetőségére. Emellett a MON 810 kukorica a teljes vegetációs időszak során folyamatosan termeli a kurtított Cry1Ab-toxint. Ez a tény nem egyeztethető össze az integrált növényvédelem (IPM) alapelveivel, mivel a rovarellenes ágens alkalmazása nem korlátozható a rovarkártevő kritikus megjelenési idejére [79-81].



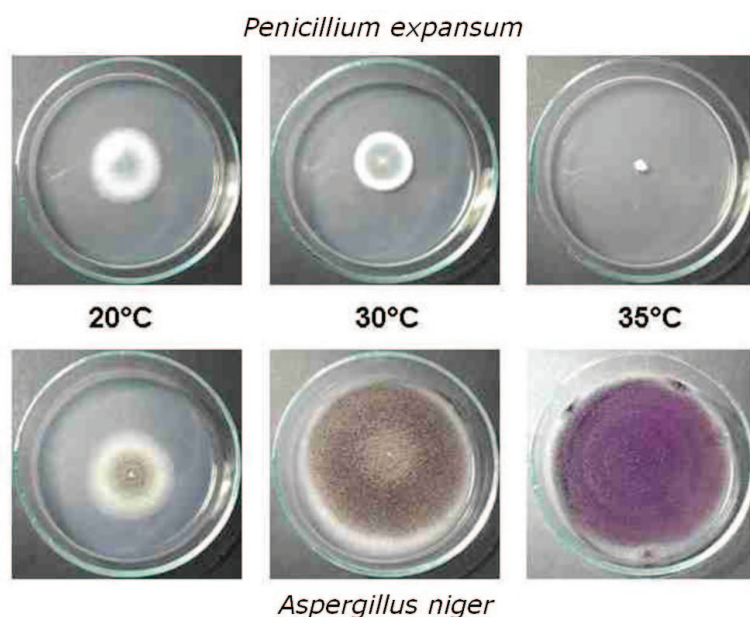
**7. ábra. A bakteriális és a MON 810 GM kukorica által termelt Cry1Ab toxinfehérjék összehasonlítása.** A bakteriális protoxinból (131 kDa, balra lent) enzimes proteolitikus aktiválással alakul ki a toxinfehérje rovarokon aktív alakja (63-65 kDa, lent). A MON 810 GM kukorica ezzel szemben a Cry1Ab protoxin és aktivált toxin köztes alakját (91 kDa, jobbra lent) termeli. Középen a Cry1A toxinfehérjecsalád jellegzetes háromdoménes szerkezete látható: a rovartoxikus hatásért (bélpórusnyitásért) felelős I. domén (helikális köteg, piros), a receptorkötődésért felelős II. domén (tripla  $\beta$ -lemez, kék) és a III. domén ( $\beta$ -szendvics, zöld).

### Penészgombák mikotoxintermelésében mutatkozó környezeti feltételek vizsgálata

A globális éghajlatváltozás kutatói az évszázad végére a földfelszíni átlaghőmérséklet 1- 6,5°C-os emelkedését prognosztizálják. A regionális éghajlati modellek azt sugallják, hogy a Kárpát-medence is veszélyeztetett régió az éghajlatváltozásra. A klímaváltozás egyik lehetséges következménye a melegkedvelő toxinogén penészgombafajok fokozott jelentkezése mérsékelt égövi országokban is. A szakirodalom szerint ezzel a jelenséggel az utóbbi években már a hazánkkal szomszédos országokban is szembesültek. Ezek a változások kedvezőtlen hatást gyakorolnak az élelmiszer-biztonságra, különösen a mikotoxinszennyezettség tekintetében, a toxikus penészgombák egyre gyakoribb előfordulásának és erőteljesebb növekedésének kockázata miatt [82].

A KÉKI Mikrobiológiai Osztályán a penészgombák növekedését befolyásoló legfontosabb ökofiziológiai tényezők – a hőmérséklet és a vízaktivitás – hatásának tanulmányozása a patulin mikotoxint termelő *Penicillium expansum* és az ochratoxin A mikotoxint termelő *Aspergillus niger* törzsekre jelenleg is folyik [83]. A telepátmérő növekedési adataira illesztett matematikai statisztikai modell [84] segítségével meghatározható a lag fázis és a növekedési sebesség. A laboratóriumi mesterséges táptalajra (MEA – malátaagar) kidolgozott növekedési modell [85] megfelelőségét ellenőriztük élelmiszermodellekben, almalé és szőlőlé tápközegben. A vizsgálatok eredményei megerősítették, hogy az *A. niger* növekedésének hőmérséklet optimuma magasabb, mint a *P. expansum* esetében (8. ábra).

Vizsgálati eredményeink és az irodalmi információk tehát alátámasztották azt a feltételezésünket, hogy a „hőhullámos” időszakokban a *Penicillium*-fajokénál melegebbet „kedvelő” *Aspergillus*-fajok a hőhullámokra jellemző hőmérsékletek időszakában a nagy vízaktivitású élelmiszer-nyersanyagokon jelentős mértékű szaporodásra képesek.



**8. ábra *Penicillium expansum* és *Aspergillus niger* 6-napos telepei a hőmérséklet függvényében.**

*Mikotoxinok biológiai lebontásának lehetőségei*

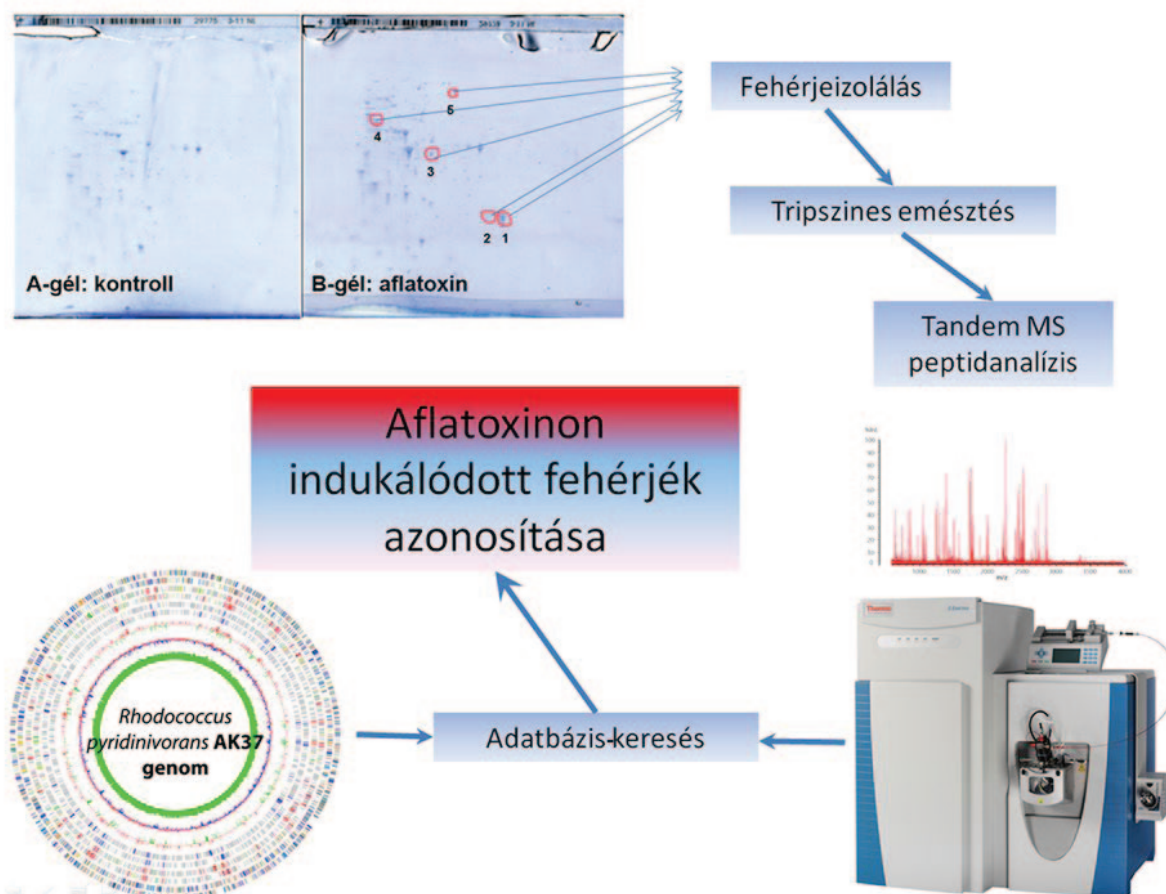
A mikotoxinok fonalas gombák másodlagos anyagcseretermékei, melyek erős biológiai hatást fejtenek ki gerinces szervezeteken. A két legveszélyesebb mikotoxin az aflatoxinB1 és a zearalenon. Az előbbi az egyik legerősebb genotoxikus szerves vegyület, míg a másik az emlősök ösztrogénreceptoraihoz kötődve hormonháztartás zavaró hatású szennyező.

Az aflatoxintermelő gombák az elmúlt egy-két évben jelentek meg Magyarországon, ahol napjainkban már számottevő gazdasági károkat is okoznak a kukoricatermésben [86]. A mikotoxinok elleni védekezés nem megoldott terület, a fizikai, kémiai és biológiai eljárások egyike sem kínál teljes megoldást a problémára. A legígéretesebbeknek a biológiai eljárások tűnnek, ahol mikroorganizmusok által termelt enzimekkel érik el a takarmányok detoxifikálását. Ezidáig ochratoxin- és zearalenonmentesítésre dolgoztak ki osztrák kutatók a *Trichosporon mycotoxinivorans* élesztő észterázenzimén alapuló takarmányadalékot [87]. Az elmúlt két év jelentős tudományos eredményeként a Szent István Egyetem Környezetvédelmi és Környezetbiztonsági Tanszékével együttműködve az aktinomicéták közé tartozó aromásbontó *Rhodococcus*-törzsek rendkívül hatékony aflatoxin- és zearalenonbontó képességéről számoltunk be [88, 89]. Jelenleg a vizsgálatba vont *Rhodococcus erythropolis* és *R. pyridinivorans* törzsek aflatoxin- és zearalenonmetabolizmusának feltárásán és a kulcsgének azonosításán dolgozunk. A feladat nehézsége miatt több párhuzamos kutatási területen is együttműködünk egyetemi partnerünkkel.

A projekt első részében a törzsek genomi szintű információ tartalmának kinyerését újgenerációs szekvenálással oldottuk meg [90]. Ezek után az aflatoxin B1 hatására indukálódó fehérjék azonosítását végeztük 2D-proteomelválasztás utáni peptidszekvenálással. A toxinmentes kontroll és az aflatoxinon növesztett *R. pyridinivorans* AK37-sejtekből fehérjékivonatot készítettünk, melyeket kétdimenziós (2D) gélelektroforézis segítségével szeparáltunk. Izoelektromos pont, majd méret szerinti elválasztást követően a géleket Coomassie blue fehérjefestékkel festettük, és az így kapott „térképeket” vizuálisan hasonlítottuk össze. Azokat a fehérjéket, melyek a kezelt mintákban (a kontrollhoz képest) szignifikáns mennyiségben felszabályozódtak (összesen 5 fehérjefolt) steril szikével kivágtuk, és tripszines emésztés után LC-MS-MS (LTQ-ORBITRAP) tandem tömegspektrofotometriás vizsgálatnak vetettük alá a müncheni Max Planck Intézet Proteomika Osztályának segítségével. A kapott peptidszekvenciákkal homológiakereséseket hajtottunk végre az AK37-törzs genomszekvenciáját használva, melynek eredményeként főleg a sejt egészséges homeosztázisáért és a DNS-hibajavításért felelős fehérjéket (HU DNS-kötőfehérje, RecA, egyszálú DNS-kötőfehérje, szukcinil-CoA szintetáz béta-alegység, TU-elongációs faktor) azonosítottunk (9. ábra). A 2D-proteomanalízis alapján nem találtuk meg a toxinbontásért felelős hipotetikus enzimeket. Úgy véljük, hogy az aflatoxinbontásért felelős enzimek valószínűleg konstitutív oxigenázok lehetnek, melyek a toxin aromás és ciklikus szerkezetének felbontását végezhetik. Ilyen putatív oxigenázból 80 különböző szekvenciát azonosítottunk a *R. pyridinivorans* AK37 genomjában.



A következőkben a *Rhodococcus*-törzsekből transzpozon alapú random mutagenézis-könyvtárakat készítünk, melyekből a nullmutánsok szelekcióját genotoxicitást és endokrin zavaró hatást mérő tesztekkel végezzük [89, 91]. Ezek analízise vezethet el a katabolikus út enzimeinek feltárásához. A program sikeres befejezése új távlatokat nyithat az aflatoxin- és zearalenon-biodetoxifikáció területén.



**9. ábra. Aflatoxinnal indukálható fehérjék azonosítása 2D proteintérképezéssel a *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 törzsnél.** - Minták: A-gél; toxinmentes táptalajon tenyésztett *R. pyridinivorans* AK37 összfehérje; B-gél; 4mg/kg aflatoxin B1-tartalmú táptalajon tenyésztet AK37-tözs összfehérjéje. - Eredmények: A kontrollhoz képest öt különböző méretű indukálódó fehérjét találtunk, melyet piros szín jelez. A tandem tömegspektrometriával azonosított fehérjék: 1. HU DNS-kötőfehérje, 2. RecA, 3. egyszálú DNS-kötőfehérje, 4. szukcinil-CoA szintetáz béta-alegység, 5. TU-elongációs faktor

*Biokorrózió – mikroorganizmusok által előidézett korrózió tanulmányozása, korrózióknak ellenálló bevonatok fejlesztése*

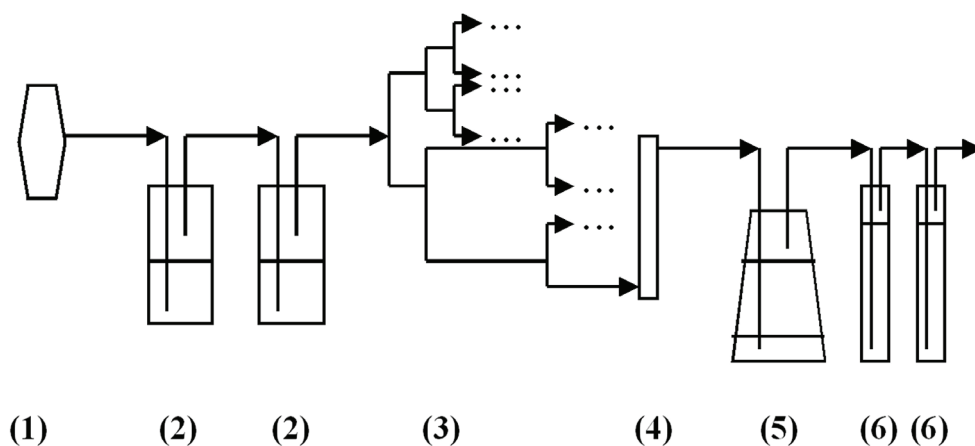
A szerkezeti anyagok mikrobiológiai korróziójának jelenségét a talajba helyezett acélszerkezetek korróziós károsodása kapcsán ismerték fel a XX. század első évtizedeiben. A mikroorganizmusok által okozott korrózió három fajtáját különböztethetjük meg: (1) a megtapadó mikroorganizmus által létrehozott differenciális szellőzésű mikrogalvánelemek biokorróziója; (2) mikroorganizmusok anyagcseretermékei által okozott korrózió; (3) a mikroorganizmusok által a

szerkezeti anyag valamelyik összetevőjét tápanyag-használatként kiváltott korrózió [92, 93]. Az élelmiszeriparban a szerkezeti anyagok sokkal inkább vannak kitéve a mikrobiológiai korrózióknak, mint számos más iparágban, hiszen a mikroorganizmusok létfeltételei itt a leginkább biztosítottak. A KÉKI Mikrobiológiai Osztályán már a 80-as években megindultak az ilyen jellegű vizsgálatok. Felismerve, hogy az élelmiszeriparban biokorróziós szempontból a szerves anyagokból álló vagy azokat nagy mennyiségben tartalmazó szerkezeti anyagok és bevonatok vizsgálata fontosabb, mint a fémeké, lenolaj, epoxigyanta és klórszulfonált polietilén kötőanyagú bevonóanyagok biokorrózióval szembeni ellenállóságát tanulmányozták [94, 95]. Az MTA Kémiai Kutatóközponttal közösen Langmuir-Blodgett technikával hidroxámsavakat és foszfonsavvegyületeket tömör, rendezett, szilárd fázisként vittek fel fém-, illetve üvegfelületre. Atomerő-mikroszkópia és epifluoreszcens mikroszkópia segítségével igazolták, hogy mind az 1-foszfono-oktadecán, mind a sztearoil-hidroxámsav gátolja a mikroorganizmusok tapadását, így ezek a vegyületek a szerkezeti anyagok élettartamának növelésére felhasználhatók [96, 97]. Vizsgálták a szulfátredukáló baktériumok szerepét lágyacél és sárgaréz anaerob korróziójában. Potenciosztatikus polarizációs mérésekkel határozták meg a korróziós folyamatok sebességét, a felvitt szulfidrétegek felületét atomerő-mikroszkóppal tanulmányozták [98].

#### *Biológiai lebomlás – csomagolóanyagok mikrobiológiai lebomlásának nyomon követése*

A biodegradáció a természet újrahasznosító folyamata; meghatározó résztvevői a mikroorganizmusok – különösen a baktériumok és gombák –, amelyek évmilliók során alakították ki a természetben előforduló polimerek jelentős részének hasznosítását lehetővé tevő anyagcsereútjaikat. Egy anyag szétesése azonban nem kizárólagosan a mikrobák tevékenysége által valósulhat meg, így a biodegradáció csak egy formája a lebomlásnak, hiszen – pl. polimerek esetén – négy további (többnyire együttesen előforduló) degradációs folyamatot is megkülönböztetünk: (a) fotodegradációt, a természetes napfény hatására; (b) kémiai oxidációt, a jelen lévő oxidáló vegyületek hatására; (c) a hőhatásra bekövetkező hődegradációt; ill. (d) mechanikai hatások következtében fellépő (mechanikai) degradációt. Az anyagok biodegradációja is többféle szinten valósulhat meg. Az „elsődleges” biodegradáció a molekulaszervezetben bekövetkező olyan változást – például láncszakadást vagy a valódi lebomlás szempontjából érdektelen mellékreakciót – jelent, amely révén megváltoznak az anyag fiziko-kémiai tulajdonságai. Az elsődleges biodegradációt vizsgáló tesztek (pl. ISO 846) az anyagok öregedését vizsgálják. A „teljes (végső) biodegradáció” kifejezést általában fenntartják az anyagok enzimes folyamatokon keresztül történő lebomlásának jellemzésére, amely a sejtek számára többnyire közvetlenül is felhasználható szerves vegyületek keletkezését jelenti. Tekintettel arra, hogy a kiindulási anyagok általában túl nagyok a membrántranszport folyamatai számára, a sejtek enzimeket választanak ki és ezekkel bontják le a komponenseket. Ebben a formában a sejtekbe bejutva a különböző vegyületek CO<sub>2</sub>-ra és vízre (aerob út), illetve metánra (anaerob út) bomlanak le, valamint hozzájárulnak a biomasza felépítéséhez.

A KÉKI Mikrobiológiai Osztályán Száraz és munkatársai a talajok biológiai aktivitásának mérésére használt módszer átalakításával és fejlesztésével kidolgoztak egy könnyen bővíthető, a szabványok ajánlásainak megfelelő, szilárd közegű vizsgálati módszert [99, 100] A mérőrendszer felépítése a 10. ábrán látható, optimalása a nemzetközi körelemzésekből ismert mikrokristályos cellulózzal történt, elsősorban biodegradálhatónak fejlesztett keményítő alapú csomagolóanyagok lebomlásának tanulmányozásában [101].



**10. ábra A biodegradáció mértékének meghatározására kialakított, levegőztetett mérőrendszer összeállítási vázlata:** (1) membránszivattyú; (2) CO<sub>2</sub>-mentesítő gázmosó edények illetve üres edények; (3) elosztórendszer; (4) rotaméter; (5) inkubátorlombik; (6) fejlődött CO<sub>2</sub>-ot elnyelő gázmosó edények (CO<sub>2</sub>-csapdák) [99].

A csomagolástervezés szempontjai közül napjainkra a környezetvédelmi kérdések a legfontosabbak közé emelkedtek. A rendszerszemléletű gondolkodásmód a csomagolóanyag előállításától a csomagolóeszköz megsemmisítéséig kíséri figyelemmel a folyamatot, az újrahasznosítás lehetőségeit is figyelembe véve; ezek a tanulmányok az ún. „életútelelezések” megnevezéssel terjedtek el. Pintér és munkatársai papír, műanyag és papír/műanyag többrétegű, kereskedelmi forgalomban használatos „lebomló” zacskók, tasakok és kísérleti fejlesztés alatt álló keményítő alapú csomagolóanyagok biodegradálhatóságát vizsgálták talajban beágyazásos és respirometriás mérésekkel, referencia anyagként Avicel®-t használva [102, 103].

#### Irodalomjegyzék

- [1] Halász, A., Mátrai, B., Muayad, A. (1987) The effect of oxygen absorption rate (aeration rate) on the methionine content, protein content and growth rate of some methionine-rich mutants of *Candida guilliermondii* 812. *Acta Aliment. Hung.*, 16: 249-262.
- [2] Halász, A., Mátrai, B., Muayad, A. (1989) S-metabolism of methionine-rich yeasts. *Acta Aliment. Hung.*, 18: 361-385.
- [3] Hajós, Gy., Halász, A., Békés, F. (1989) Designed protein modification by enzymatic technique. *Acta Aliment. Hung.*, 18: 325-334.

- [4] Halász, A., Baráth, Á., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W.H. (1994) Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Tech.*, 5: 42-49.
- [5] Halász, A., Baráth, Á., Holzapfel, W.H. (1999) The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation. *Z. Lebensm. Untersuch. Forsch. A*, 208: 434-438.
- [6] Baráth, Á., Németh, E., Halász, A. (2001) Experiments for production of lacto-fermented red beet juice. In: *Biologically active phytochemicals in food.* (Phannhauser, W., Fenwick, G.R., Khokhar, S., Eds.) (The Royal Society of Chemistry, Cambridge) pp. 528-532.
- [7] Baráth, Á., Halász, A., Németh, E., Zalán, Zs. (2004) Selection of LAB strains for fermented red beet juice production. *Eur. Food Res. Technol.*, 218: 184-187.
- [8] Zalán, Zs., Hudáček, J., Stětina, J., Chumchalová, J., Halász, A. (2010) Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *Eur. Food Res. Technol.*, 230: 395-404.
- [9] Zalán, Zs., Hudáček, J., Tóth-Márkus, M., Husová, E., Solichová, K., Hegyi, F., Plocková, M., Chumchalová, J., Halász, A. (2011) Sensorically and antimicrobially active metabolite production of *Lactobacillus* strains on Jerusalem artichoke juice. *J. Sci. Food Agr.*, 91: 672-679.
- [10] Halász, A., Zalán, Zs. (2009) Biochemical principles of the use of yeast biomass and LAB starter cultures in food production. *Acta Aliment. Hung.*, 38: 71-85.
- [11] Hegyi, F., Zalán, Zs., Halász, A. (2012) Improved 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) colorimetric assay for measuring the viability of lactic acid bacteria. *Acta Aliment. Hung.*, 41: 506-512.
- [12] Kukolya, J., Nagy, I., Ládai, M., Tóth, E., Oravec, O., Márialigeti, K., Horvath, L. (2002) *Thermobifida cellulolytica* sp. nov., a novel lignocellulose-decomposing actinomycete. *Int. J. Syst. Evol. Microb.*, 52: 1193-1199.
- [13] Wilson, D. B. (2004) Studies of *Thermobifida fusca* plant cell wall degrading enzymes. *Chem. Rec.*, 4: 72-82.
- [14] Lykidis, A., Mavromatis, K., Ivanova, N., Anderson, I., Land, M., DiBartolo, G., Martinez, M., Lapidus, A., Lucas, S., Copeland, A., Richardson, P., Wilson, D.B., Kyrpides, N. (2007) Genome sequence and analysis of the soil cellulolytic actinomycete *Thermobifida fusca* YX. *J. Bacteriol.*, 189: 2477-2486.
- [15] Tóth, Á., Baka, E., Nagy, I., Horváth, B., Tánicsics, A., Barna, T., Kukolya, J. (2013) Genome project for lignocellulosic degrader *Thermobifida fusca* strain TM51. *Genome Announc.* (submitted)
- [16] Fekete, C.A., Kiss, L. (2012) Purification and characterization of a recombinant  $\beta$ -D-xylosidase from *Thermobifida fusca* TM51. *Protein J.*, 31: 641-650.
- [17] Morais, S., Salama-Alber, O., Barak, Y., Hadar, Y., Wilson, D.B., Lamed, R., Shoham, Y., Bayer, E.A. (2012) Functional association of catalytic and ancillary modules dictates enzymatic activity in glycoside hydrolase family 43  $\beta$ -xylosidase. *J. Biol. Chem.*, 287: 9213-9221.
- [18] Kukolya, J., Tóth, Á., Hubert, Á., Bohn, S., Nagy, I., Bracher, A., Barna, T. (2013) Structural and functional characterization of a unique betaxylosidase combining crystallography, electron microscopy and biochemistry data. *J. Biol. Chem.* (submitted)



- [19] Cuadrado, C., Hajós, Gy., Burbano, C., Pedrosa, M.M., Ayet, G., Muzquiz, M., Pusztai, Á., Gelencsér, É. (2002) Effect of natural fermentation on the lectin of lentils measured by immunological methods. *Food Agr. Immunol.*, 14: 41-49.
- [20] Cuadrado, C., Burbano, C., Gelencsér, É., Pedrosa, M.M., Ayet, G., Muzquiz, M., Pusztai, Á., Hajós, Gy. (2000) Influence of germination on lectin in *Lens culinaris* seeds. *Acta Aliment. Hung.*, 29: 231-240.
- [21] Hajós, Gy., Gelencsér, É., Grant, G., Bardócz, S., Sakhri, M., Duguid, T.J., Newman, A.M., Pusztai, Á. (1996) Effect of proteolytic modification and methionine enrichment on the nutritional value of soya albumins for rats. *J. Nutr. Biochem.*, 7: 481-487.
- [22] Hajós, Gy., Gelencsér, É., Pusztai, Á., Grant, G., Sakhri, M., Bardócz, S. (1995) Biological effects and survival of trypsin-inhibitors and the agglutinin from soybean in the small-intestine of the rat. *J. Agr. Food Chem.*, 43: 165-170.
- [23] Pusztai, Á., Grant, G., Bardócz, S., Baintner, K., Gelencsér, É., Ewen, S.W.B. (1997) Both free and complexed trypsin inhibitors stimulate pancreatic secretion and change duodenal enzyme levels. *Am. J. Physiol.-Gastr. L.*, 35: G340-G350.
- [24] Pusztai, Á., Grant, G., Bardócz, S., Gelencsér, E., Hajós, Gy. (1997) Novel dietary strategy for overcoming the antinutritional effects of soyabean whey of high agglutinin content. *Brit. J. Nutr.*, 77: 933-945.
- [25] Gelencsér, É., Grant, G., Kelly, D. (2004) Assessment of the potential of legume lectins to act as a mucosal adjuvant. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Oilseeds.* (Muzquiz, M., Hill, G.D., Cuadrado, C., Pedrosa, M.M., Burbano, C., Eds.), (EAAP European Association for Animal Production Publication. Wageningen Academic Publ.) pp. 143-147.
- [26] Nagy, A., Jedrychowski, L., Gelencsér, É., Wroblewska, B., Szymkiewicz, A. (2005) Induction of specific mucosal immune responses by viable or heat denatured probiotic bacteria of *Lactobacillus* strains. *Acta Aliment. Hung.*, 34: 33-39.
- [27] Takács, K., Szamos, J., Janáky, T., Polgár, M., Gelencsér, É. (2010) Immuno-analytical detection of the cross-reactive major cereal allergens. *Food Agr. Immunol.*, 21: 317-334.
- [28] Halász, A., Horváth-Szanics, E., Nagy-Gasztonyi, M., Pauk, J., Hajós, Gy. (2007) Changes in total- and alpha-amylase activities and wheat germ agglutinin content in wide-range herbicide resistant wheat lines. *Cereal Res. Commun.*, 35: 1405-1413.
- [29] Horváth-Szanics, E., Szabó, Z., Janáky, T., Pauk, J., Hajós, Gy. (2006) Proteomics as an emergent tool for identification of stress-induced proteins in control and genetically modified wheat lines. *Chromatographia*, 63: S143-S147.
- [30] Szamos, J., Takács, K., Szabó, EE., Kovács, E., Gelencsér, É. (2011) Purification of natural Mal d 1 and Mal d 2 allergens and monitoring of their expression levels during ripening in Golden Delicious apple. *Food Res. Int.*, 44: 2674-2678.
- [31] Polgár, M., Hajós, Gy., Gelencsér, É. (2006) Importance of the recognition of the cross-reactions among animal origin proteins. *Allergológia és Klinikai Immunológia*, 9: 7-12.
- [32] Németh, E., Halász, A. (2010) Immunmodulating properties of food components: Role of probiotic bacteria in the prevention of food allergy. In: *Chemical and biological properties of food allergens: Immunomodulating properties of food components.* (Jedrychowski, L., Wichers, H.J., Eds.), (Boca Raton: CRC Press, Taylor and Frances Group) pp. 78-82.

- [33] Halász, A., Nagy, A. (2010) Chemical and biological properties of food components: Influence of food matrix and gut microflora on immune response and absorption of food allergens. In: Chemical and biological properties of food allergens: Immunomodulating properties of food components. (Jedrychowski, L., Wichers, H.J., Eds.), (Boca Raton: CRC Press, Taylor and Frances Group) pp. 74-78.
- [34] Tömösközi-Farkas, R., Daood, H.G., Polgár, Zs., Hajos, Gy. (2006) Determination of glycoalkaloids in Hungarian potatoes by HPLC., *Chromatographia*, 63: S115-S118.
- [35] Bánáti, D., Tóth-Markus, M., Adányi, N., Boross, F., Vámos-Falusi Zs., Daood, H.G., Szabó, T. & Nyéki, J. (2010) Composition and sensory properties of sour cherry cultivars. *Intl. J. Hortic. Sci.*, 16: 19-23.
- [36] Nagy-Gasztonyi, M., Sass-Kiss, Á., Tömösközi-Farkas, R., Bánáti, D., Daood, H.G. (2010) Liquid chromatographic analysis of phenolic compounds in organically and conventionally grown varieties of sour cherries. *Chromatographia*, 71: 99-102.
- [37] Tóth-Markus, M., Adányi, N., Boross, F., Daood, H.G., Bánáti, D., Szabó, T., Nyéki, J. (2010) Comparison of apples from organic and integrated farming. *Intl. J. Hortic. Sci.*, 16: 15-18.
- [38] Daood H.G., Tömösközi-Farkas, R., Kapitány, J. (2006) Antioxidant content of bio and conventional spice red pepper (*Capsicum annum* L.) as determined by HPLC. *Acta Agron. Hung.*, 54: 113-140.
- [39] Daood, H.G., Korbász, M., Hamdan, S., Beczner, J. (2008) Simultaneous LC determination of Ergosterol, Tocopherols, and Carotenoids in Foods. *Chromatographia*, 68: s137-s140.
- [40] Pek, Z., Daood, H., Gasztonyi, M., Nemenyi, A., Berki, M., Tóth-Markus, M., Helyes, L. (2012) Yield and phytochemical compounds of broccoli as affected by temperature, irrigation and foliar sulfur supplementation. *Hortic. Sci.*, 47: 1646-1652.
- [41] Jánosi, A., Szamos, J. (2001) Comparison of two methods in purification of meat-DNA for PCR. *Acta Aliment. Hung.*, 30: 113-118.
- [42] Némedi, E., Ujhelyi, G., Gelencsér, É. (2007) Detection of gluten contamination with PCR method. *Acta Aliment. Hung.*, 36: 241-248.
- [43] Ujhelyi, G., Vajda, B., Béki, E., Jakab, J., Jánosi, A., Neszlényi, K., Némedi, E., Gelencsér, É. (2008) Surveying the RR soy content of commercially available food products in Hungary. *Food Control*, 19: 967-973.
- [44] Walsh, M.C., Buzoianu, S.G., Gardiner, G.E., Rea, M.C., Gelencsér, É., Jánosi, A., Epstein, M.M., Ross, R.P., Lawlor, P.G. (2011) Fate of transgenic DNA from orally administered Bt MON810 maize and effects on immune response and growth in pigs. *PLOS ONE*, 6: 1-12.
- [45] Jánosi, A., Ujhelyi, G., Gelencsér, É. (2007) Species-specific detection of poultry in meat model mixtures and commercial sausage products by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analysis. In: Rapid methods for food and feed quality determination. (Amerongen, A., Barug, D., Lauwaars M., Eds.), (Wageningen Academic Publishers, Netherlands) pp. 189-196.
- [46] Koppányné Szabó, E., Ujhelyi, G., Jánosi, A., Mohr, A., Szántó-Egész, R., Sipos, R., Dallmann, K., Micsinai, A., Zsolnai, A., Egerszegi, I., Anton, I., Tóth,

- G., Molnár, J., Stéger, V., Marincs, F., Tóth, P., Rátky, J. (2013) PCR sorsorozásra alkalmas DNS kivonása különböző, feldolgozott mangalica termékekből. *Élelmiszer Tudomány Technológia*, 67: 12-17.
- [47] Szabó, E.E., Gelencsér, É., Kovács, E., Jánosi, A., Takács, K., Kiss, E. (2012) Examinations of allergenic proteins coding genes of some domestic apple cultivars. *Acta Aliment. Hung.*, 41: 8-18.
- [48] Zsolnai, A., Radnóczy, L., Fésüs, L., Anton, I. (2006) Do mangalica pigs of different colours really belong to different breeds? *Arch. Tierzucht*, 49: 477-483.
- [49] Szabó, E.E., Gelencsér, É., Kovács, E., Jánosi, A. (2009) Az alma allergén fehérjéi. *Élelmezési Ipar*, 63: 19-22.
- [50] Kardos, Gyné., Léder, Fné., Czukor, B., Cserhalmi, Zs. (2013) Rádiófrekvenciás (RF) hőkezelés alkalmazása gabonapelyhek előállítására. *Élelmiszer Tudomány Technológia*, 67: közlésre elfogadott.
- [51] Cserhalmi, Zs., Márkus, Zs., Czukor, B., Baráth, Á., Tóth, M. (2001) Physico-chemical properties and food utilization possibilities of RF-treated mustard seed. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 1: 251-254.
- [52] Schuster-Gajzágó, I., Kiszter, A.K., Tóth-Márkus, M., Baráth, Á., Márkus-Bednarik, Zs., Czukor, B. (2006) The effect of radio frequency heat treatment on nutritional and colloid-chemical properties of different white mustard varieties. *Innov. Food Sci. Emerg.*, 7: 74-79.
- [53] Váradi, M., Adányi, N., Nagy, G., Rezessy-Szabó, J. (1993) Studying the bi-enzyme reaction with amperometric detection for measuring maltose. *Biosens. Bioelectron.*, 8: 339-345.
- [54] Váradi, M., Adányi, N., Szabó, E.E., Trummer, N. (1999) Determination of the ratio of D-and L-amino acid oxidase enzyme reactor coupled to amperometric detection. *Biosens. Bioelectron.*, 14: 335-340.
- [55] Adányi, N., Tóth-Markus, M., Szabó, E.E., Váradi, M., Sammartino, M.P., Tomassetti, M., Campanella, L. (2004) Investigation of organic-phase amperometric biosensor for measuring glucose in FIA system. *Anal. Chim. Acta*, 501: 219-225.
- [56] Adányi, N., Váradi, M. (2004) Study of the behaviour of catalase based thin-layer biosensor used in organic-phase FIA system. *Eur. Food Res. Technol.*, 219: 432-437.
- [57] Adányi, N., Váradi, M. (2003) Development of organic phase amperometric biosensor for measuring cholesterol in food samples. *Eur. Food Res. Technol.*, 218: 99-104.
- [58] Erdélyi, K., Frutos, A.G., Ramsden, J.J., Szendrő, I., Voirin, G. (2007) Grating-based optical biosensors. In: *Handbook of biosensors and biochips*. (Marks, R.S., Cullen, D.C., Karube, I., Lowe, C.R. Weetall, H.H., Eds.) (John Wiley and Sons Ltd., New York) pp. 1-18. DOI: 10.1002/9780470061565.hbb056, ISBN 978-0-470-01905-4.
- [59] Trummer, N., Adányi, N., Váradi, M., Szendrő, I. (2001) Modification of the surface of integrated optical wave-guide sensors for immunosensor applications. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 371: 21-24.
- [60] Levkovets, I., Adányi, N., Trummer, N., Váradi, M., Szendrő, I., Starodub, N. F., Székács, A. (2004) Development of optical (OWLS) immunosensors for macromolecules. *Biokémia*, XXVIII: 7-15.
- [61] Székács, A., Maloschik, E., Levkovets, I., Adányi, N., Váradi, M., Szendrő,

- I. (2005) Immobilization techniques of macromolecules and small analytes onto silica surfaces for the development of optical (OWLS) immunosensors. *FEBS J.*, 272: 528.
- [62] Keresztes, Zs., Kálmán, E., Ernst, A., Székács, A. (2004) Utilization of atomic force microscopy for surface studies on OWLS immunosensor surfaces (in Hungarian). *Biokémia*, XXVIII: 2-4.
- [63] Székács, A., Trummer, N., Adányi, N., Váradi, M., Szendrő, I. (2003) Development of a non-labeled immunosensor for the herbicide trifluralin via OWLS detection. *Anal. Chim. Acta*, 487: 31-42.
- [64] Székács, A., Adányi, N., Székács, I., Majer-Baranyi, K., Szendrő, I. (2009): Optical waveguide light-mode spectroscopy immunosensors for environmental monitoring. *Appl. Optics*, 48: 151-158.
- [65] Adányi, N., Levkovets, I.A., Rodriguez, G.S., Ronald, A., Váradi, M., Szendrő, I. (2007) Development of immunosensor based on owls technique for determining aflatoxin B1 and ochratoxin A. *Biosens. Bioelectron.*, 22: 797-802.
- [66] Majer-Baranyi, K., Székács, A., Szendrő, I., Kiss, A., Adányi, N. (2011) Optical waveguide lightmode spectroscopy technique based immunosensor development for deoxynivalenol determination in wheat samples. *Eur. Food Res. Technol.*, 233: 1041-1047.
- [67] Adányi, N., Székács, I., Szendrő, I., Székács, A. (2012) Determination of histamine content in vegetable juices by using direct and competitive immunosensors. *Food Agr. Immunol.*, accepted. DOI:10.1080/09540105.2012.731686
- [68] Adányi, N., Majer-Baranyi, K., Nagy, A., Németh, Gy., Szendrő, I., Székács, A. (2013) Optical waveguide light-mode spectroscopy immunosensor for detection of carp vitellogenin. *Sens. Actuat. B-CHEM.*, 176: 932-939.
- [69] Suhajda, Á., Hegóczki, J., Janzsó, B., Pais, I., Vereczkey, G. (2000) Preparation of selenium yeasts. Preparation of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 14: 43-47.
- [70] Retoxmet (LIFE04ENV/H/000374) project. Layman's report. Available from: [http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=LIFE04\\_ENV\\_HU\\_000374\\_LAYMAN.pdf](http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=LIFE04_ENV_HU_000374_LAYMAN.pdf)
- [71] Vereczkey, G., Hegóczki, J., Pándi, F. (2010) Biológiai módszerek alkalmazási lehetőségeinek vizsgálata az élelmiszeripari környezetvédelem területén. *Élelmiszer Tudomány Technológia*, 64: 1-7.
- [72] Maloschik, E., Ernst, A., Hegedűs, Gy., Darvas, B., Székács, A. (2007) Monitoring water polluting pesticides in Hungary. *Microchem. J.*, 85, 88-97.
- [73] Mörtl, M., Maloschik, E., Juracsek, J., Székács, A. (2010) Pesticide contamination in surface water and soil in Hungary. *Növényterm.*, 59: 263-266.
- [74] Mörtl, M., Németh, Gy., Juracsek, J., Darvas, B., Kamp, L., Rubio, F., Székács, A. (2013) Determination of glyphosate residues in Hungarian water samples by immunoassay. *Microchem. J.*, 107: 143-151.
- [75] Németh, Gy., Székács, A. (2012) Comparison of the legal regulations of pesticides and hazardous chemicals in the European Union with emphasis on genotoxic and endocrine disrupting effects. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 47: 251-274.



- [76] Székács, A., Darvas, B. (2012) Forty Years with Glyphosate, Herbicides - Properties, Synthesis and Control of Weeds. (Dr. Mohammed Nagib Hasaneen Ed.) (InTech) DOI: 10.5772/32491. Available from: <http://www.intechopen.com/books/herbicides-properties-synthesis-and-control-of-weeds/forty-years-with-glyphosate>
- [77] Fejes, Á., Takács, E., Fekete, G., Darvas, B., Ferguson, B.S., Saxena, D., Székács, A. (2011) Aquatic effect duration and degradation study of Cry4 toxin with immunoassay and *Aedes aegypti* larval biotest. *Aquatic Insects*, 34: 211-226.
- [78] Székács, A., Darvas, B. (2012) Environmental and ecological aspects of first generation genetically modified crops regarding their impacts in a European maize producer country. *Int. J. Environ. Protect.*, 2: 9-15.
- [79] Székács, A., Darvas B. (2012) Comparative aspects of Cry toxin usage in insect control. In: *Advanced technologies for managing insect pests* (Ishaaya, I., Palli, S. R., Horowitz, R., Eds.) (Springer-Verlag) pp. 195-230.
- [80] Takács, E., Darvas, B., Székács, A. (2012) Analytical difficulties and certain biological aspects of Cry1Ab toxin determination in MON 810 genetically modified maize. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 47: 293-306.
- [81] Székács, A., Darvas, B. (2012) Environmental assessment of MON 810 maize in the Pannonian Biogeographical Region. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 47: 307-320.
- [82] Farkas, J., Beczner, J. (2011) Climate change and food safety. Editorial. *Acta Aliment. Hung.*, 40: 313-314.
- [83] Korbász, M.A., Beczner, J. (2009) Modelling mould growth. *Acta Microbiol. Imm. H.*, 56: 186.
- [84] Baranyi, J., Roberts, T.A. (1994) A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.*, 23: 277-294.
- [85] Csernus, O., Andrásy, É., Bata-Vidács, I., Beczner, J., Farkas, J. (2011) *Penicillium expansum* és *Aspergillus niger* növekedési hőmérséklet- és vízakaktivitás-függésének vizsgálata, különös tekintettel a klímaváltozásra. *Élelmiszer-vizsg. Közl.*, 57: 209-218.
- [86] Dobolyi, Cs., Sebők, F., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Baranyi, N., Szécsi, Á., Tóth, B., Varga, M., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Krifaton, Cs., Kukolya, J. (2013) Occurrence of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* isolates in maize kernel in Hungary. *Acta Aliment. Hung.* (accepted for publication)
- [87] Molnar, O., Schatzmayr, G., Fuchs, E., Prillinger, H. (2004) *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Syst. Appl. Microbiol.*, 27: 661-71.
- [88] Kriszt, R., Krifaton, Cs., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Kriszt, B., Czéh, Á., Fehér-Tóth, Sz., Török, L., Szőke, Zs., Kovács, K.J., Barna, T., Ferenczi, Sz. (2012) A New Zearalenone biodegradation strategy using non-pathogenic *Rhodococcus pyridinivorans* K408 strain. *PLOS ONE*, 7: e43608. doi:10.1371
- [89] Krifaton, Cs., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Szűcs, A., Kukolya, J. (2011) Analysis of aflatoxin-B1-degrading microbes by use of a combined toxicity-profiling method. *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, 726: 1-7.

- [90] Kriszt, B., Táncsics, A., Cserhádi, M., Tóth, Á., Nagy, I., Horváth, B., Nagy, I., Tamura, T., Kukolya, J., Szoboszlay, S. (2012): De novo genome project of the aromatic degrader *Rhodococcus pyridinivorans* strain AK37. *J. Bacteriol.*, 194: 1247-1248.
- [91] Krifaton, Cs., Kriszt, B., Risa, A., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Harkai, P., Eldridge, M., Wang, Kukolya, J. (2013) Application of a yeast estrogen reporter system for screening zearalenone degrading microbes. *J. Hazard. Mater.*, 244: 429-435.
- [92] Beczner, J. (1995) Biocorrosion of materials. *Chemicals for corrosion protection. ACH - Models Chem.*, 132: 742-743.
- [93] Telegdi, J., Beczner, J., Keresztes, Zs., Kármán, F.H., Kálmán, E. (1997) Inhibition of microbiologically induced corrosion. In: *Microbial Degradation Processes in Radioactive Waste Repository and in Nuclear Fuel Storage Areas.* (Wolfram, J.H., Rogers, R.D., Gázsó, L.G., Eds.) (Kluwer Academic Publisher, The Netherlands) pp. 177-188.
- [94] Böröczné Szabó, M., Beczner, J. (1989) Az élelmiszeriparban alkalmazott műanyag bevonatok biokorróziós viselkedése I. *Korróziós Figyelő*, 29: 70-74.
- [95] Böröczné Szabó, M., Beczner, J., Koltainé Jutasi, E. (1989) Az élelmiszeriparban alkalmazott műanyag bevonatok biokorróziós viselkedése II. *Korróziós Figyelő*, 29: 75-78.
- [96] Telegdi, J., Rigó, T. Beczner, J., Kálmán, E. (2005) Influence of Langmuir-Blodgett nanolayers on microbial adhesion. *Surf. Eng.*, 21: 107-112.
- [97] Rigó, T., Telegdi, J., Beczner, J., Kálmán, E. (2004) Langmuir-Blodgett rétegek a mikrobiológiai korrózióban. *Korróziós Figyelő*, 44: 3-8.
- [98] Keresztes, Zs., Telegdi, J., Beczner, J., Kálmán, E. (1998) The influence of biocides on the microbiologically influenced corrosion of mild steel and brass. *Electrochim. Acta*, 43: 77-85.
- [99] Száraz, L., Kánai, I., Beczner, J. (2003) A complex way of assessing biodegradability of polymer films – a practical approach. *Acta Aliment. Hung.*, 32: 295-309.
- [100] Száraz, L., Beczner, J., Kayser, G. (2003) Investigation of biodegradability of water-insoluble materials in a solid test based on the adaptation of a BOD measuring system. *Polym. Degrad. Stabil.*, 81: 477-482.
- [101] Száraz, L., Beczner, J. (2003) Optimization processes of a CO<sub>2</sub> measurement set-up for assessing biodegradability of polymers. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 52: 93-95.
- [102] Pintér, Sz., Petrik, M., Bata-Vidács, I., Vásárhelyi, K., Beczner, J. (2009) Biodegradation of packing materials. *Acta Microbiol. Imm. H.*, 56: 82-83.
- [103] Pintér, Sz., Petrik, M., Beczner, J. (2012) Élelmiszeripari csomagolóanyagok biodegradálhatóságának vizsgálata laboratóriumi respirométerrel. *Élelmiszer-vizsg. Közl.*, 58: 17-31.

## HADLACZKY GYULA 1948-2013

Elsírtuk könnyeinket, szárazon kopognak a szavak, 2013. március 10.-én elhunyt barátunk és kollégánk, dr. Hadlaczky Gyula. Sem élete, sem tudományos karrierje nem volt szokványos. Az olvasónak el kell felejteni ebben az esetben dr. Ezésez Gézát. Dévényi Tibor: dr. Ezésez Géza karrierje, Gondolat, 1975). Kollégaként és talán egy kicsit barátként is, szerencsés voltam, hogy Gyula tudományos karrierjének és élete fontosabb eseményeinek tanúja, résztvevője és esetleg segítője is lehettem. Visszaemlékezésem ezért nagyon szubjektív és nem konvencionális, ugyanis nem lehet konvencionális nekrológot írni egy olyan emberről, mint Gyula.



A hetvenes évek elején az SZBK Genetikai Intézetének, amelyet Alföldi Lajos igazgatott, az akkori magyar tudományos standard szerint egy megszüntetendő intézetnek kellett volna lennie. A Straub Brunó által létrehozott SZBK az addig megszokottól teljesen eltérő szempontok szerint működött. Minden délután ötórás tea volt, ahol személyes sértésekbe torkolló tudományos viták zajlottak arról, hogy az Intézet csoportjainak mit és hogyan kellene kutatni. A vitákban nem számított, hogy kinek mi a rangja, ha későn érkezett, az igazgató vagy a helyettese is a földön ült. Csak a tudományos érvek számítottak, mindenkit el lehetett küldeni melegebb éghajlatra, ha hülyeséget mondott, és ezt egy egyetemi szakdolgozó is megtehetette! Rendkívül fontos, az Intézet további teljesítményét és eszmeiségét meghatározó időszak volt ez. Én, aki a csoportvezetők közül elsőként jöttem haza amerikai postdoc évről (Maróy Péter szerint mint „nyugatot járt csoportvezető”), ezeknek a vitáknak egy évvel később érkező résztvevője lehettem.

Az Alföldi Lajos kezdeményezésére indított, az akkori nemzetközi tudományos világban újdonságnak számító növényi szomatikus sejtgenetikai csoport mellett működött egy hagyományos, elsősorban a búzanemesítéssel kapcsolatos csoport is, amelyet Belea Adonisz kandidátus vezetett. (Akkoriban, a szigorú tudományos minősítési rendszer és az intézeti kutatók fiatal életkora miatt, az igazgatón és helyettesén kívül csak Beleának és Dudits Dénesnek volt kandidátusi fokozata). Belea azzal lepte meg Alföldit, hogy a mai termesztett búza őséne kiderítésére citogenetikai módszereket alkalmazna, és mivel az Intézetben nincs citogenetikai kutató, ő szeretne egyet kívülről idehozni. A választása Hadlaczky Gyulára esett, aki az egyetemi tudományos diákköri dolgozatát a Gödöllői Agrártudományi Egyetemen, növényi citogenetikából készítette. Alföldi beleegyezése után Belea kiderítette, hogy emberünk a Soponyai Mezőgazdasági Termelészövetkezet állattenyésztési üzemágának vezetője. Így került az Intézetbe Hadlaczky Gyula. Ahogy az előzőekben is írtam, az Intézet nem volt konvencionális, mégis képzeljenek el egy 190 centinél magasabb, hosszú hajú, farmernadrágos fiatalembert, aki lapátkezeivel megszorítja a kezem és bemutatkozik. Midenkire hihetetlen hatást gyakorolt, volt benne valami olyan emberi

kisugárzás, amit csak az érthet meg, aki találkozott már hasonlókkal. A nagyon rövid beilleszkedési periódus után az intézeti élet egyik színes egyénisége lett, és megismerhettük addigi életét. Özvegy édesanyja nevelte a nővérével együtt Székesfehérváron, nagy szeretetben. Ragaszkodása édesanyjához egy igazi, anya-fia évődő kapcsolat volt, aminek később magam is tanúja lehettem (egy csodálatos nokedlis csirkepaprikás „ürügyén”). A technikumi érettségi után Gyula a Gödöllői Agrártudományi Egyetem hallgatója lett. Tanulmányai mellett, amelyek szeretetéről nincs információ, bőven részt vett az évfolyam egyéb aktivitásaiban is, magas szinten kézilabdázott (az ő magasságával és izomzatával ez természetes), fekete-fehér filmeket készített és élvezte lány évfolyamtársai rajongó imádatát. A kölcsönös rajongás folytatódott a szegedi évek alatt is... Ideérkezése után röviddel a búza evolúciós genetikai kutatásokban nemzetközi szinten is elsőként alkalmazták a kromoszóma sávozáson alapuló kromoszóma geneológiát. Volt szerencsém első cikkének angol változatát „nyugatot járt csoportvezetőként” angolra „helyesíteni” (később megdicsért, hogy én vezettem be a „wheat evolutionary cytogenetics” terminológiát a növénynevelés köztudatba). Gyakorlatilag az Intézetben lakott. Tíz óra körül érkezett; motorral, birka bekecsben (csak szigorú ordítózásom után hagyta abba télen a motorozást) és ha egyáltalán hazament, hajnali egy-két órakor indult haza. Volt egy NDK Zeiss mikroszkópja, vagy ott ült, vagy az elektronmikroszkóp mellett. De másra is volt ideje. A hetvenes évek közepén „beszerzett” egy igazi, amerikai Chevrolet gépkocsit, 2.1-es orbitális motorral, rozsdáta karosszériával. Onnantól kezdve minden este hat óra körül lement az SZBK autószerelő műhelyébe, ahol Árokszállási Gyurival, a hivatásos szerelővel nekiálltak „működni”. Először, a majdnem teljes Műszak csodálatára, Gyula egyedül kivette egy emelővel a több mint 7 mázsa motort, majd a karosszéria hibákat meghegesztette, és az autót „villamos sárgára” festette. Így született az Intézet „sárga tengerelattjárója”, az Intézet akkori negyedik kutatói autója. Ezzel a „járművel” jelentünk meg Debrecenben 1975-ben a humángenetikai kongresszuson, ahol a szegedi különítmény (akkor itthon szokatlanul), farmerban, nyakkendő nélkül jelent meg a kongresszusi fogadáson, és miután már az asztaloknál nem volt ülőhely, a nagyterem szőnyegén foglalt helyet, az úri közönség nagy megrökönyödésére.

Az intézeti átszervezés után Gyula kooperálni kezdett a Dudits Dénes által vezetett növényi szomatikus sejtgenetikai csoporttal, és olyan egyedi kísérleteket végzett, amelyek eredményeként a világon először Szegeden állítottunk elő sárgarépa-humán sejt hibridet, vagy készítettek növényi kromatint pre-maturális kondenzációra mitotikus humán sejttel történt fúzió után. Mindezt a tőle megszokott, hihetetlen munkabírással végezte. A sok munka végül mégis megbosszulta magát, talán a koncentrációkészség csökkenésében, amire legjobb példa a karácsonyi pulykaleves története. Abban az időben Gyuláék egy panelház tizedik emeletén lévő lakásban laktak és karácsony előtt, mielőtt az Intézetbe indult volna, feltette a pulykahúsleveszt a gázra, majd ott felejtette. Az Intézetbe jött a rendőrségi telefon, hogy „Hadczyk úr, eloltottuk a kuktája alatt a gázt.” Egy ajtó ára, egy szén égett kukta, plusz a „szervek” kiszállási díja bánta a konyhaművészetét.



Az akkori intézeti szokásnak megfelelően elérkezett az idő, hogy Gyula külföldön is kipróbálja magát. Egy Wellcome Trust ösztöndíjjal az Edinburgh-i MRC Klinikai és Populációs Citogenetikai Intézetben töltött egy év alatt emlős kromoszómákon kezdett dolgozni. Kísérletesen bizonyította, hogy az akkor felkapott teória, miszerint a kromoszómáknak van egy alapvető szerkezeti eleme, amely a fehérje váz és a DNS ennek mentén szerveződik hurkokba, kísérleti melléktermék, és valójában nem létezik. Ez alatt az idő alatt jó barátokat is szerzett, megszerette a skót felföldet, itt lett barátja Bill, az intézet elektronmikroszkópos főasszisztense és a skót malt whisky, amit nagy szakértelemmel, időnként mérséklettel fogyasztott.

A 80-as évek elején ismét külföldön találjuk, a stockholmi Karolinska Intézet Sejtbiológiai és Genetikai Intézetében, az akkori sejtgenetika egyik pápájánál, Nils Ringertznél dolgozik és bizonyítja, hogy a sejten belül is „rend” van, a kromoszómák meghatározott térben helyezkednek el.

Hazatérése után folytatta az emlős kromoszómák tanulmányozását, mostmár önálló csoportvezetőként. Elsődleges célja az emlős kromoszóma centromér izolálása és jellemzése volt, de a 80-as évek végén írt tudományos tervében célul tűzte ki a mesterséges kromoszómák, mint új típusú génbeviteli eszközök előállítását. Próbálkozásai eredményre vezettek, és az újonnan képződött kromoszómákat leíró két PNAS cikk nagy nemzetközi érdeklődést váltott ki. Ezek alapozták meg azt a történetet, amelyet máig a hazai biotechnológiai alap kutatás külföldi gyakorlati hasznosulásának egyik sikertörténeteként tarthatunk számon. Eredményeire alapozva egy kanadai üzletember 1996-ban létrehozta a Chromos Molecular Systems nevű biotechnológiai céget, amely az SZBK-val hosszú távú együttműködési szerződést kötött és vállalta a Hadlaczky csoport magyarországi kutatási támogatását, valamint a kutatási eredmények szabadalmaztási költségeit. A Chromos forráshiánya miatt évek múlva megszűnt a kutatási támogatás, de az SZBK kizárólagossági jogot kapott a mesterséges kromoszóma technológia teljes körű magyarországi génterápiai felhasználására. A felhasználás lehetőségét egy monogénes betegség egérmodelljén a Hadlaczky-csoport egy össejt-mesterséges kromoszóma kombináció sikeres gyógyító hatásával bizonyította. Az ezt követő években Gyula egyre kiábrándultabb lett, miután látta a hazai érdeklődés hiányát a technológia alkalmazását illetően, és ennek egyik legutolsó újságinterjúja során hangot is adott.

Freud szerint a harmonikus személyiséget két dolog jellemzi: tud dolgozni és tud szeretni. Hadlaczky Gyula mindkét tulajdonsággal rendelkezett. Büszke volt három fia sikereire, betegsége utolsó szakaszában azért szeretett volna tovább élni, hogy tanúja lehessen 13 éves, legkisebb fia felcseperedésének. Rendszeresen vendégül látta a nagycsaládot balatoni nyaralójában. Rendkívül egyenes, őszinte ember volt, aki hitt a demokráciában és minden diktatórikus megnyilvánulást elutasított. Becsülte és tisztelte munkatársait; a leghűségesebbek számára, nyugdíjba vonulásuk alkalmából ezüst emlékérméket veretett. Maradék szabadidejében mást is alkotott: jó humorú farsangi filmeket készítettünk, székely kaput és bútorokat faragott, kerti tavat ásott, kertészkedett és már nagy betegen, kemencét épített.

Számos díja ellenére az Intézetben sokan úgy érezzük, itthon nem kapta meg a kivételes tehetségének kijáró támogatást és tudományos megbecsülést, de jó magyar szokás szerint ez már másokkal is megesett, akikről szintén csak a haláluk után derült ki hiányuk tragikus következménye. Nélküle üres lett az Intézet és soha sem lesz olyan, mint vele. Ez volt Hadlaczký Gyula és az SZBK Genetikai Intézet élete...

Isten nyugosztalja!

**Raskó István**  
**MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont**

## TRADÍCIÓ ÉS SZAKMAI IGÉNYESSÉG SÜMEGEN

2013. május 21-24 között került megrendezésre — a hagyományoknak megfelelően Sümegen — a **43. Membrán-Transzport Konferencia**. A rendezvénynek a Hotel Kapitány adott otthont, és a magas színvonalú szervezésért a Remedicon Kft.-t illeti köszönet. A szakmai program vázát Kellermayer Miklós és Hegedűs Tamás, a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet munkatársai állították össze.

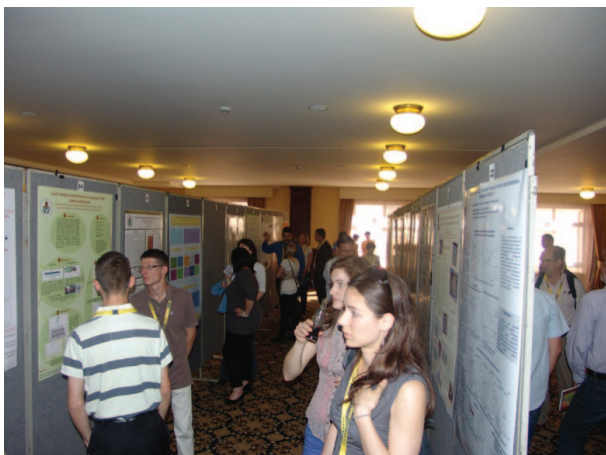
A program szervezésében a tradíció és újdonság harmóniája lebegett szem előtt. A konferencia fő témái között szerepelt a membránszerkezet és dinamika, membrán-fehérje kölcsönhatások, a membránfunkciók, membránfehérje-modellezés, jelátvitel és angiogenezis. Vagyis egy olyan paletta, amely felrajzolt egy szakmai ívet, de egyúttal helyet hagyott a szélesebb tudományos tematika eredményeinek. Az előadók elsősorban a legjelentősebb hazai kutatóműhelyekből kerültek ki, de üdvözölhettünk jeles nemzetközi tudósokat is: Irwin Arias (NIH, USA), Gyöngyösi Mariann (Medical University of Vienna, Ausztria). A konferencián 196 regisztrált vendég vett részt és 16 laboratóriumi műszercég állított ki. 45 előadás hangzott el, köztük öt előadást cégek szakmai képviselői, további ötöt pedig a 61 bemutatott poszterből kiválogatott legjobb fiatal kutatók tartottak.

A szokásokhoz híven, a nyitórendezvényen tartották meg a díjazottak előadásait. Kovács Tibor díjban idén **Bugyik Edina** (Semmelweis Egyetem I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet) és **Tóth Mónika Ágnes** (Pécsi Tudományegyetem ÁOK, Biofizikai Intézet) részesült. A Romhányi-díjat **Erdődi Ferenc**, a Debreceni Egyetem OEC, Orvosi Vegytani Intézet professzora kapta. A nyitórendezvényt a Semmelweis Egyetem Medikus Zenekarának koncertje, a konferenciát pedig gazdag társasági és kulturális programok (a vár megtekintése, sümegi kulturális séta, tárlatvezetés a Püspöki Palotában) színesítették.

### *Kellermayer Miklós és Hegedűs Tamás*









## **BESZÁMOLÓ A PEPTIDKÉMIAI MUNKABIZOTTSÁG 2013. ÉVI ÜLÉSÉRŐL**

Az MTA Szerves és Biomolekuláris Kémiai Tudományos Bizottság keretében működő Peptidkémiai Munkabizottság immár hagyományosan Balatonszemesen a Richter Gedeon NyRt. üdülőjében tartotta éves ülését május 29-31 között. Az ülésen résztvevő 63 fő összesen 43 előadást hallgathatott meg, amelyek bemutatták a hazai peptid- és fehérjekutatás legfrissebb eredményeit.

Az ülés központi témája a peptid alapú gyógyszerek jelentősége és ez által a peptidkémia perspektívája volt. A témával kapcsolatos vitaindító előadást Hudecz Ferenc professzor tartotta. A vitában körvonalazódtak azok a kitörési pontok is, amelyek hozzájárulhatnak azokhoz a hazai peptidkémiai kutatásokhoz, amelyek nemzetközileg is elismert eredményekre vezethetnek. A fiatalok számára a perspektívákat jól demonstrálta Dr. Martinek Tamás előadása, aki a Lendület Program keretében felállított kutatócsoportja segítségével végzett, peptid foldamekkel kapcsolatos kutatásait mutatta be. Szintén a lehetőségek tárát mutatta be Dr. Szűcs Mária, aki a 2012-es kémiai Nobel-díjjal összefüggésben, a receptorkutatás területén szerzett tapasztalatait osztotta meg a hallgatósággal. Penke Botond professzor pedig a szokásos izgalmas és érdekes stílusában beszélt arról, hogy elkerülhetők-e a krónikus időskori betegségek a polipeptidek és fehérjék konformációs változásának megismerése és befolyásolása által. Fontos további témák voltak az irányított/célzott tumorterápiával kapcsolatos kutatások (pl. GnRH, RGD, NGR, tuftsin irányító peptidekkel), a fertőző és autoimmun betegségek (TBC, rheumatoid arthritis, hólyagos autoimmun bőrbetegségek) diagnosztikájának és kezelésének lehetőségei és hatékonyabb enzim inhibitorok előállítására. Előadások hangzottak el a peptid- és fehérjekémiai kutatásokat (elő)segítő módszerek (NMR, tömegspektrometria, proteomika, bioinformatika, királis kromatográfia) alkalmazhatóságáról különböző területeken. Ezeket az előadásokat két műszerbemutató előadás (Labsystem Kft. és UNICHEM Magyarország Kft.) is színesítette.

A korábbi évekhez hasonlóan a Munkabizottsági Ülésen kiállítók is részt vettek, akik egyben szponzorálták is az eseményt. A szponzoroknak (Alapítvány a Magyar Peptid- és Fehérjekutatásért, Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Nyrt., GenLab Kft., LAB-EX Kft., Labsystem Kft., Merck Kft., S-Biotech Kft., UNICAM Magyarország Kft., Uratim Kft.) ez úton is köszönjük a támogatást, amely hozzájárult az ülés magas színvonalú lebonyolításához.

A Peptidkémiai Munkabizottság nevében:

**Mező Gábor**  
**elnök**

**Szabó Ildikó**  
**titkár**



*Az első élettudományi molekuláris szemléletű konferencia:*  
**HUNGARIAN MOLECULAR LIFE SCIENCES 2013**  
**AZÚR HOTEL, SIÓFOK**  
**2013. ÁPRILIS 5-7.**

**A tavaszi időben, az idei szokatlanul erős márciusi zimankó utáni első melegebb napok időjárását élvezve egy úttörő vállalkozásnak lehattunk tanúi** a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE), a Magyar Genetikusok Egyesülete (MAGE) és a Magyar Biológiai Társaság Sejt- és Fejlődésbiológiai Szakosztálya közös konferenciája révén. Az egyes társaságok kutatói már régóta érzékelik, hogy mennyire közös szemléleten alapulnak a sejtbiológiai, genetikai és biokémiai kutatások, és ez a közös szemlélet a molekuláris jelzővel írható le. Az élettudomány nagy kérdéseinek molekuláris alapú megközelítése egyértelműen egyszerre igényli a sejtbiológia, a genetika és a biokémia módszertanát és hátterét. Ez az együttes megközelítés elengedhetetlen a mai élettudományi kutatások nagy versenyében ahhoz, hogy nemzetközileg jelentős eredményt lehessen elérni.

Az elvi alapok mellett a fenti három társaság kutatói között sok eddigi együttműködés és személyes kapcsolat is kialakult az elmúlt évek során. Az egymás által szervezett egyedibb konferenciákon egyszerre voltak jelen sejtbiológusok, genetikusok és biokémikusok – továbbá, ma már nem is olyan könnyű és egyértelmű, hogy egy adott kutató ezen kategóriákból melyikbe is sorolja be magát. Szakmai szempontból azért nagyon jó döntés a hármas találkozó, mert a klasszikus és molekuláris biokémia, a géntechnológia és a most kialakuló bioinformatika módszereit mindenki használja, kiegészítve a csak rá jellemző módszerekkel. Az integrálódás szakmai szempontokon túl anyagi okokkal is indokolható - nem kell egy évben három különböző helyen és időpontban szervezett tanácskozássra elmenni. Külföldi konferenciákra egy kutatóhelyről általában egy-egy kutató megy el, de egy hazai rendezvényen akár az egész labor megjelenhet. Kortól függetlenül mindenkinek hasznos, érdekes és értékes a személyes találkozás, a kapcsolatépítés, a tapasztalatok megosztása.

Biokémia, genetika, sejtbiológia: mindhárom területen uralkodóvá vált a molekuláris szemlélet, a közelmúltbeli technológiai fejlesztéseknek köszönhetően. Így a rokon szakterületek kutatói számára az együttműködés a három terület között magától értetődik, és kiemelkedően megtermékenyítő sikerekhez vezethet az egyes biológiai problémák megközelítésében.

Felsőoktatási intézményekből, a Magyar Tudományos Akadémia, valamint a minisztériumok által fenntartott kutatóintézetekből több mint négyszáz kutató vett részt a siófoki rendezvényen. Az egyesített konferencia felvállalja mindhárom egyesület hagyományait, így a rendezvény a X. Magyar Genetikai Kongresszus, a XVII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok, valamint a Magyar Biokémiai Egyesület 2013. évi vándorgyűlése volt egyben. A közös szervezés a korábban elkülönült szakterületek integrálásával lehetőséget nyújt arra, hogy a hazai élettudományi konferenciák történetében új minőséget hozzon létre. Az integrálás jegyében szerepelt a konferencia sejtbiológiai témakörei között a programozott

sejthalál, a rendszerbiológia, az őssejtekkel kapcsolatos új felismerések megvitatása, a fehérjeszerkezetek új kutatási eredményeinek ismertetése, a betegségek molekuláris mechanizmusának megértésében elért eredmények bemutatása, de szó esett a jelátviteli, illetve a sejtmembránnal kapcsolatos kutatásokról is. Az egyesített konferenciát hagyományteremtő szándékkal szervezték, reményei szerint két év múlva újra találkoznak. Alkotószellemű, a szakmai megbeszéléseket központba állító, de egyben elegáns kongresszusokat terveznek, ahol régi ismerősök találkozhatnak, és új munkakapcsolatok születhetnek. Az egyesített konferencia páratlan lehetőséget nyújt a hazai és külföldi kutatók számára, hogy multidiszciplináris nézőpontból tekinthessenek egymás kutatási területére.

„Kevés olyan biológiai kutatási irány létezik ma, amelynek ne lenne sejtbiológiai vonatkozása. Az immunológiától a neurobiológiáig, az etológiától a fehérjekutatásig szinte minden területnek vannak sejtbiológiai aspektusai. Hasonló állítás tehető a genetikáról és a biokémiáról is” – vázolja fel a közös konferencia indokát Sass Miklós, az ELTE professzora, a Magyar Biológiai Társaság Sejt- és Fejlődésbiológiai Szakosztály egyik vezetője. Hosszú időn keresztül a három tudományterület külön tartotta a saját konferenciáját. Ám egyszer csak azon kapták magukat, hogy a sejtbiológusok nagy többsége eljár a genetikusok konferenciáira, a genetikusok pedig a sejtbiológusok rendezvényein jelentek meg nagy számban. Nem véletlen az áthallgatás, az érdeklődés a tudományágak belső fejlődéséből következik. A sejtbiológiában egyre inkább teret nyertek a molekuláris biológiai, genetikai megközelítések, míg a genetikai-molekuláris biológiai és biokémiai kutatások sem nélkülözhatték a sejtbiológiai részletek megismerését. A hazai genetika nagyszámú képviselője eleve fejlődésgenetikai kérdésekre koncentrált, de akik sokáig tisztán genetikai kérdésekkel foglalkoztak, azok sem tudtak volna jelentős, nemzetközi lapokban publikálni, ha nem igazolják vissza a mutációk sejttani, vagy akár szervszintű hatásait. Ma már nem elég azt igazolni, hogy egy adott gén milyen fehérjét kódol, és annak milyen biokémiai tulajdonságai vannak, hanem meg kell mondani, hogy a kérdéses gén/fehérje hibája milyen fejlődési rendellenességet, esetleg sejttani defektust okoz és mi az életteni szerepe, milyen a molekuláris hatásmechanizmusa, más fehérjével való kölcsönhatása. Ezért óhatatlanul a genetikusok sejtbiológusok lettek, a sejtbiológusok pedig genetikusok. 2000-ben Szabad János professzor javasolta, hogy ha ilyen sokan járunk egymás konferenciáira, akkor logikus, ha a következőt együtt szervezik meg. „Soros főszervezőként felvettem a kapcsolatot a genetika konferencia akkori koordinátorával és megszerveztük az első közös találkozót. Valójában ez még két konferencia volt, amit egy időben, egy helyen tartottunk. Külön szekciók szóltak a sejtbiológusokhoz és külön szekciók a genetikusokhoz. Az évek során ezek a határok elmosódtak, a szekciók tematikus alapon szerveződtek. A következő lépés annak felismerése volt, hogy a genetikus-sejtbiológus jelenséghez hasonló összefonódás jelent meg a biokémia-molekuláris biológia és a genetika irányzatai között, s azon keresztül a sejtbiológia felé. Akik elmentek a genetikai konferenciára, azok jártak a biokémikusok rendezvényeire és fordítva. Ebből logikusan következett az a döntés, hogy a három tudományterület képviselői együtt tartják ezévi konferenciájukat” – magyarázta az újszerű kezdeményezést Sass Miklós professzor.



A kapcsolatépítést segíti, hogy kiváló kutatók tartottak Siófokon plenáris előadást. Kondorosi Éva akadémikus elnökletével Burgyán József, Nagy Ferenc, Koncz Csaba, Buzás Edit, Málnási-Csizmadia András és a brit, de a jelenleg Hollandiában dolgozó Ian D. Hickson is tartott plenáris előadást a siófoki eseményen. Az utánpótlás nevelést szolgálja a BIO-SCIENCE Kft. pályázata, amely a 2012-2013-ban, nemzetközi folyóiratban megjelent, molekuláris biológiai témájú közlemény szerzőjét/szerzőit díjazza. A 35 év alatti pályázók cikkeit a Magyar Biokémiai Egyesület elismert szakemberekből álló bizottsága bírálja el. A pályázat díja bruttó 500 ezer forint, amit labortermékekre, illetve a konferencián való részvétel költségeinek (regisztráció+szállásköltség) fedezésére használhat fel a nyertes (az ezévi pályázatra beérkezett pályaművek listáját és a nyertest lásd a 71. oldalon).

Az egyre szűkülő hazai források ellenére is kétségtelen, hogy több hazai biokémiai, sejtbiológiai és genetikai kutatócsoport is egyértelműen a világ fősodrában található. A Lendület programnak, illetve külföldi pályázati pénzeknek köszönhetően itthon is végezhető nivós munka. Élvonalbeli kutatás csak ott végezhető, ahol ezt kellő pénz is támogatja. „Nem várunk a sült galambra, megdolgozunk a megfelelő kutatási feltételek biztosításáért a nemzetközi pályázati piacon is” – mondja Vértessy Beáta. Ugyanakkor egyértelműen látszik, hogy a jelenleg rendelkezésre álló keretek nem biztosítják még az élvonalbeli kutatások fenntarthatóságát sem. A nagyon kisszámú kiemelt támogatás csak néhány csoport fennmaradását biztosítja, mintha egy zöldellő réten csak néhány kis fűcsomót öntöznénk.

Napjainkban minden nagyobb egyetemi városban működik a genomika területen aktív munkacsoport, Budapesten, Szegeden és Debrecenben elérhetőek a legfontosabb szekvenálási szolgáltatások, és hamarosan Pécs is csatlakozik e sorhoz. Változatlanul nincs azonban a hazai genomikai és bioinformatikai kutatásokat érintő központi terv, támogatás vagy akarat. Ugyanez igaz a technológiai fejlesztésekre, amik változatlanul esetlegesek és nagyon kevésbé koordináltak. A több kihasználatlan és nagy értékű műszer mellett, kevés, közepes létszámú, jól képzett kutatóműhely van, amit tovább gyengít a szűkös pályázati forrás. Ez jelentős versenyhátrányt jelent a hazai kutatóknak és megnehezíti a nemzetközi együttműködésekben történő bekapcsolódást is.

### **Társasági előzmények:**

Az 1962-ben alakult Magyar Biokémiai Társaság tavaly ünnepelte létének ötvenedik évfordulóját. A hazai biokémia gyökerei természetesen 1962-től jóval messzebbre nyúlnak vissza: biokémiai kutatásokat több mint száz éve művelnek hazánkban. A hazai biokémiai kutatások nemzetközi élvonalba emelkedésének időszakát elsősorban a szegedi Szent-Györgyi iskola fémjelzi. E korszak világra szóló sikere Szent-Györgyi Albert 1937-es orvosi Nobel-díja. A magyar biokémia és molekuláris biológia nemzetközi rangját mutatja, hogy a „European Molecular Biology Organization”-nak, azaz az EMBO-nak tíz magyarországi tagja van, több mint a régió bármelyik másik országának (Patthy László, Damjanovich Sándor, Nagy László, Burgyán József, Dudits Dénes, Szabad János, Nagy Ferenc, Udvardy Andor, Kondorosi Éva, Venetianer Pál).

A Magyar Genetikai Szövetség megalapításának gondolata 1985-ben merült fel. Az elgondolást 1987-ben követte tett, amikor Budapesten megalakult a Magyar Genetikusok Szövetsége (MGSZ). Az az igény, hogy a Magyar Genetikusok Egyesülete önálló tagsággal alakuljon meg, 1991 augusztusában Szegeden fogalmazódott meg. A következő évben létrejött egyesület akkor meghatározott célja - elő-mozdítsa a genetika tudományának fejlődését, valamint segítse tagjainak szakmai, tudományos fejlődését, megismertesse a genetikának és határterületeinek tudományos eredményeit – a mai napig érvényes.

A Magyar Biológiai Társaság Sejt- és Fejlődéstani Szakosztálya közel ötven éves története során elsősorban olyan fórumot adott a hazai szakemberek számára, amely lehetőséget biztosított a vezető, nemzetközi hírű tudósoktól kezdve a pályakezdő fiatalokig mindenkinek, hogy munkáját, eredményeit évről-évre bemutassa a szakma hazai művelői számára. Ezek a „vándorgyűlésnek” nevezett összejövetelek kiváló alkalmat jelentettek a tudományban nagyon fontos kapcsolatok, kooperációk kialakítására, új gondolatok, módszerek megismerésére és cseréjére. Kezdetben a Szakosztályt hosszú éveken át olyan nagyszerű, ismert és elismert tudósok vezették, mint Törő Imre, Csaba György, Röhlich Pál, Oláh Imre, Fésüs László. Később a Szakosztály vezetői funkcióját mindig a következő összejövetel szervezője töltötte be. A konferenciákat felváltva szervezték budapesti, szegedi, debreceni és pécsi Kollégák. A Szakosztály a konferenciák szervezése mellett mindig igyekezett fiatal kutatók külföldi kongresszusokon való szereplését támogatni és az utóbbi években hazai tehetséggondozás egyik fórumává vált, amikortól a középiskolás diákok bevonása megkezdődött a tudományos kutatásba, Csermely Péter kezdeményezésére és szervezésében.

**Vértessy Beáta**  
**az MBKE főtitkára**

## A BIO-SCIENCE DÍJ EREDMÉNYHIRDETÉSE

Hagyományainkhoz híven, a Magyar Biokémiai Egyesülettel együttműködve a **BIO-SCIENCE Kft. pályázatot hirdetett** 2012-2013-ben, nemzetközi folyóiratban megjelent, molekuláris biológiai témájú közlemény szerzője/szerzői részére. A pályázati kiírásban foglaltak szerint a hazai tudományos műhelyekben készült közlemények előnyt élveztek.

A pályázatra örvendetesen nagyszámú pályamű érkezett (lásd lent). Az MBKE Intézőbizottsága titkos szavazás alapján a díjat **Papp Diánának** ítélte. A díjazott felkérést kapott arra, hogy eredményeit adja elő a „Hungarian Molecular Life Sciences 2013 (Molekuláris Élettudományi Konferencia 2013)” siófoki rendezvényen.

### A nyertes pályamű:

*Papp, D., Csermely, P., Soti, C. (2012) A Role for SKN-1/Nrf in Pathogen Resistance and Immunosenescence in Caenorhabditis elegans. PLoS Pathog. 8(4): e1002673. doi: 10.1371/journal.ppat.1002673. Impakt faktor :9,13. (Ide kattintva a cikk letölthető).*



Balról jobbra: Vértessy Beáta, a Magyar Biokémiai Egyesület főtitkára, Tátrai Ágnes, a Bio-science Kft. ügyvezető igazgatója, Papp Diána az oklevéllel és Fésűs László, a Magyar Biokémiai Egyesület elnöke.

Az MBKE Intézőbizottsága **Sarlós Kata** részére MBKE előadói díjat adott és felkérte, hogy a jövő évi Vándorgyűlésen adja majd elő munkáját.

Sarlós, K., Gyimesi, M., Kovács, M. (2012) RecQ helicase translocates along single-stranded DNA with a moderate processivity and tight mechanochemical coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109(25):9804–9809. IF:9,68

### **Gratulálunk a díjazottaknak!**

Ezúton is köszönjük a Bio-Science Kft. támogatását!

### **Az MBKE Vezetősége**

#### **A beérkezett cikkek bibliográfiai adatai**

Baghy, K., Horvath, Z., Regos, E., Kiss, K., Schaff, Z., Iozzo, R.V., Kovalszky, I. (2013) Decorin interferes with platelet-derived growth factor receptor signaling in experimental hepatocarcinogenesis. *FEBS J.* 280(10):2150-64. IF:3,79

Balázs, M., Rónavári, A., Németh, A., Bihari, Z., Rutkai, E., Bartos, P., Kiss, I., Szvetnik, A. (2012) Effect of DNA polymerases on PCR-DGGE patterns. *Int. Biodeterioration & Biodegradation* In Press, Available online 9 June 2012. IF:2,074

Boratkó, A., Gergely P., Csontos, C. (2013) RACK1 is involved in endothelial barrier regulation via its two novel interacting partners. *Cell Commun. Signal.* 11(1):2. IF:5,5

Bögel, G., Gujdár, A., Geiszt, M., Lányi, Á., Fekete, A., Sipeki, S., Downward, J., Buday, L. (2012) Frank-ter Haar Syndrome Protein Tks4 Regulates Epidermal Growth Factor-dependent Cell Migration. *J. Biol. Chem.* 287(37):31321–31329. IF:4,773

Burkovics, P., Sebesta, M., Sisakova, A., Plault, N., Szukacsov, V., Robert, T., Pinter, L., Marini, V., Kolesar, P., Haracska, L., Gangloff, S., Krejci, L. (2013) Srs2 mediates PCNA-SUMO-dependent inhibition of DNA repair synthesis. *EMBO J.* 32(5):742–55. IF:9,205

Dunai, Z.A., Imre, G., Barna, G., Korcsmaros, T., Petak, I., Bauer, P.I., Mihalik, R. (2012) Staurosporine Induces Necroptotic Cell Death under Caspase-Compromised Conditions in U937 Cells. *PLoS ONE* 7(7):e41945. IF:4,09

Fekete, A., Kenesi, E., Hunyadi-Gulyas, E., Durgo, H., Berko, B., Dunai, Z.A., Bauer, P.I. (2012) The Guanine-Quadruplex Structure in the Human c-myc Gene's Promoter Is Converted into B-DNA Form by the Human Poly (ADP-Ribose) Polymerase-1. *PLoS ONE* 7(8):e42690. IF:4,09

Juhász, S., Balogh, D., Hajdu, I., Burkovics, P., Villamil, M.A., Zhuang, Z., Haracska, L. (2012) Characterization of human Spartan/C1orf124, an ubiquitin-PCNA interacting regulator of DNA damage tolerance. *Nucleic Acids Res.* 40(21):10795–10808. IF:8,03



Kolozsvári, B., Bako, E., Becsi, B., Kiss, A., Czikora, A., Toth, A., Vamosi, G., Gergely, P., Erdodi, F. (2012) Calcineurin regulates endothelial barrier function by interaction with and dephosphorylation of myosin phosphatase. *Cardiovascular Res.* 96(3), 494–503. IF:5,08

Kozma, D., Simon, I., Tusnady, G.E. (2012) CMWeb: an interactive on-line tool for analysing residue–residue contacts and contact prediction methods. *Nucleic Acids Res.* 41(Database issue) D524-9. IF:8,03

Kozma, D., Simon, I., Tusnady, G.E. (2012) PDBTM: Protein Data Bank of transmembrane proteins after 8 years. *Nucleic Acids Res.* 40(Web server issue) W329-33. IF:8,03

Lontay, B., Pál, B., Serfőző, Z., Kószeghy, Á., Szűcs, G., Rusznák, Z., Erdódi, F. (2012) Protein phosphatase-1M and Rho-kinase affect exocytosis from cortical synaptosomes and influence neurotransmission at a glutamatergic giant synapse of the rat auditory system. *J. Neurochem.* 123(1):84–99. IF:4,06

Margittai, É., Low, P., Stiller, I., Greco, A., Garcia-Manteiga, H.M., Pengo, N., Benedetti, A., Sitia, R., Banhegyi, G. (2012) Production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the Endoplasmic Reticulum Promotes In Vivo Disulfide Bond Formation. *Antioxid. Redox Signal.* 16(10):1088–1099. IF:8,2

Muha, V., Horvath, A., Bekesi, A., Pukancsik, M., Hodoscsek, B., Merenyi, G., Rona, G., Batki, J., Kiss, I., Jankovics, F., Vilmos, P., Erdelyi, M., Vertessy, B.G. (2012) Uracil-Containing DNA in *Drosophila*: Stability, Stage-Specific Accumulation, and Developmental Involvement. *PLoS Genet.* 8(6): e1002738. IF:8,69

Pandur, E., Sipos, K., Grama, L., Nagy, J., Poór, V.S., Sétáló, G. Jr, Miseta, A., Fekete, Z. (2013) Prohepcidin Binds to the HAMP Promoter and Autoregulates its Own Expression. *Biochem. J.* 451(2):301-11. IF:4,9

Pankotai, T., Zsindely, Z., Vamos, E.E., Komonyi, O., Bodai, L., Boros, I.M. (2013) Functional characterization and gene expression profiling of *Drosophila melanogaster* short dADA2b isoform-containing dSAGA complexes. *BMC Genomics* 14:44 doi:10.1186/1471-2164-14-44. IF:4,07

Papp, D., Csermely, P., Soti, C. (2012) A Role for SKN-1/Nrf in Pathogen Resistance and Immunosenescence in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Pathog.* 8(4): e1002673. IF:9,13

Sárközy, M., Zvara, Á., Gyémánt, N., Fekete, V., Kocsis, G.F., Pipis, J., Szűcs, G., Csonka, C., Puskás, L.G., Ferdinandy, P., Csont, T. (2013) Metabolic syndrome influences cardiac gene expression pattern at the transcript level in male ZDF rats. *Cardiovasc. Diabetol.* 12:16. IF:3,35

Sarlós, K., Gyimesi, M., Kovács, M. (2012) RecQ helicase translocates along single-stranded DNA with a moderate processivity and tight mechanochemical coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109(25):9804–9809. IF:9,68

Schamberger, A., Sarkadi B., Orbán, T.I. (2012) Human mirtrons can express functional microRNAs simultaneously from both arms in a flanking exon-independent manner. *RNA Biol.* 9(9):1177–85. IF:5,56

Temesvari, M., Kobori, L., Paulik, J., Sarvary, E., Belic, A., Monostory, K. (2012) Estimation of Drug-Metabolizing Capacity by Cytochrome P450 Genotyping and Expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 341(1):294-305. IF:3,83

Tóth, E., Kulcsár, P.I., Fodor, E., Ayaydin, F., Kalmár, L., Borsy, A.É., László, L., Welker, E. (2013) The highly conserved, N-terminal (RXXX)<sub>8</sub> motif of mouse Shadoo mediates nuclear accumulation. *Biochim. Biophys. Acta* 1833(5):1199–1211. IF:4,66

Visnovitz, T., Solti, A., Csikos, G., Fricke, W. (2012) Plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase gene expression, protein level and activity in growing and non-growing regions of barley (*Hordeum vulgare*) leaves. *Physiol. Plant.* 144(4):382–393. IF:3,11