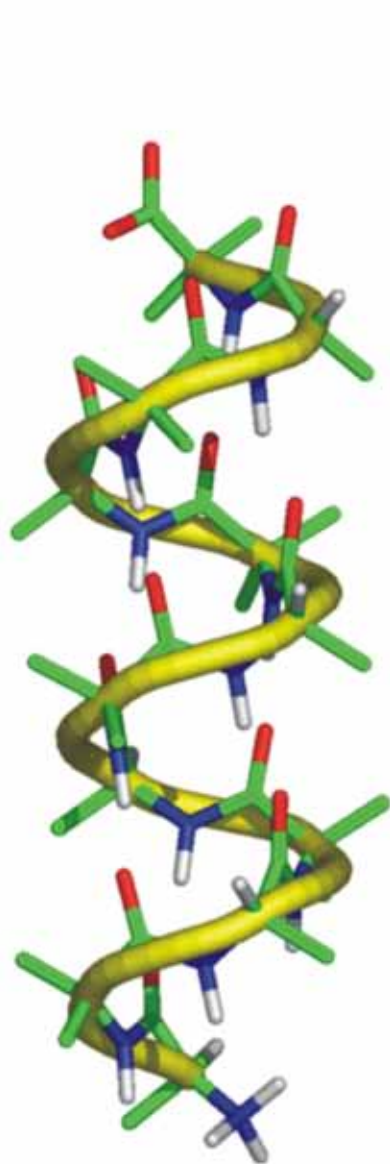


BIOKÉMIA

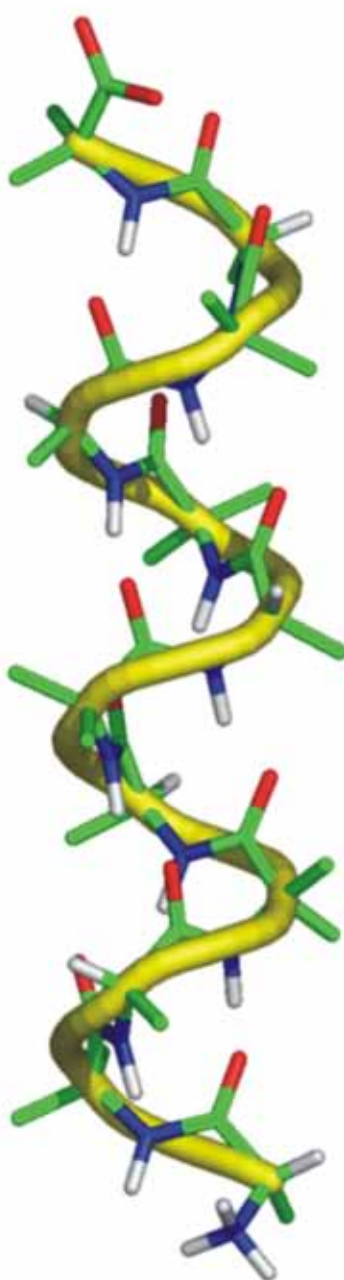
A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XXXVIII. évfolyam 2. szám

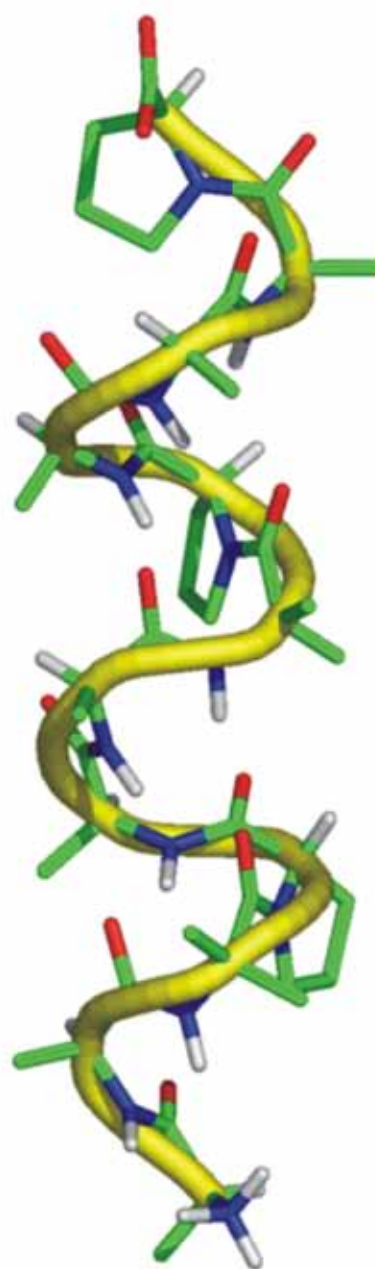
2014. június



α -hélix



3₁₀-hélix



β -bend
ribbon spiral

BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

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

Főszerkesztő:

Szűcs Mária

szucs.maria@brc.mta.hu

Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter

berdipeter@gmail.com

XXXVIII. ÉVFOLYAM 2. SZÁM

2014. június

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép: A peptaibol molekulák jellegzetes helikális szerkezetei.

(lásd Leitgeb Balázs írását, 41. oldal)

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak 3.

Dux László a Magyar Érdemrend középkeresztje kitüntetést kapta 5.

A Széchenyi-díjas Mandl József 11.

HAZAI TUDOMÁNYOS ISKOLÁK

Bemutatkozik az SZBK Proteomikai Laboratóriuma 16.

REVIEW

Boros Imre: Új DNS szekvenálási módszerek II. 23.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNY

Leitgeb Balázs: Bioaktív peptaibol molekulák 36.

Lukács András: Fénnyel hajtott fehérjék 50.

KONFERENCIA BESZÁMOLÓK

A 44. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg 57.

A Peptidkémiai Munkabizottság 2014. évi ülése, Balatonszemes 59.

„Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells

EU COST STEM-CHEM” konferencia, Budapest 61.

KONFERENCIA HIREK

Az MBKE 2014. évi vándorgyűlése, Debrecen 67.

Danube Scientific Conference on Epigenetics, Budapest 68.

FEBS-EMBO jubileumi konferencia, Párizs, 2014 69.

AKTUALITÁSOK

A 70 éves Dudits Dénes köszöntése 70.

SZERKESZTŐI ROVAT

Fórum: tudomány-finanszírozás pályázati formában..... 74.

TUDOMÁNY ÉS MŰVÉSZET

Bősze Szilvia: A gyapjú metamorfózisa – Nemezsművészet 75.

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 2014. MÁRCIUS 15. – JÚNIUS 15. KÖZÖTT

Kiemelkedő tudományos munkássága elismeréseként az MTA Elnöksége 12 kutatót részesített **Akadémiai Díjban**, köztük **Bánhegyi Gábor György**, az MTA doktora, a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet egyetemi tanára, intézetigazgatója az endoplazmás retikulum metabolikus és redox homeosztázisának tanulmányozásában elért jelentős eredményeiért, valamint az endoplazmásretikulum-stressz folyamatok feltárásáért részesült a díjban.

Pál Csaba (Szegedi Biológiai Kutatóközpont) kapta az idei **Szent-Györgyi Talentum Díjat** a baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának részletes feltérképezéséért. A tudományos elismerést, amelyet 2013-ban alapított a Szegedi Orvosbiológiai Kutatások Jövőjéért Alapítvány, két Nobel-díjas biokémikus, Ada Yonath és Aaron Ciechanover adta át Szegeden.

A **Farkas Tibor-emlékplakettet Hegedűs Csilla** (Semmelweis Egyetem, MTA Molekuláris Biofizikai Kutatócsoport) kapta a Szegedi Biológiai Kutatóközpontban rendezett Straub-napokon, a humán ABCG2 multidrog transzporter fehérje kölcsönhatása molekulárisan célzott daganatellenes gyógyszerekkel témában elért eredményeiért.

Új **Lendület-kutatócsoportok** (18) létrejöttéhez és működéséhez 2014-ben 800 millió forint áll rendelkezésre. Az MBKE tagjai közül pályázati támogatást nyert:

Bay Péter (37), a Debreceni Egyetem docense, aki a mikrobiom, az emberi szervezet, valamint a tumorok közötti kölcsönhatásokat tervezi vizsgálni, ugyanis a mikrobióta összetétele szorosan összefügg a szervezet metabolikus egyensúlyával. Mivel a tumorok anyagcseréje jelentősen különbözik a gazdaszervezettől, feltételezhető, hogy a mikrobióta változása a metabolizmus befolyásolásán keresztül hajlamosíthat a daganatok kialakulására.

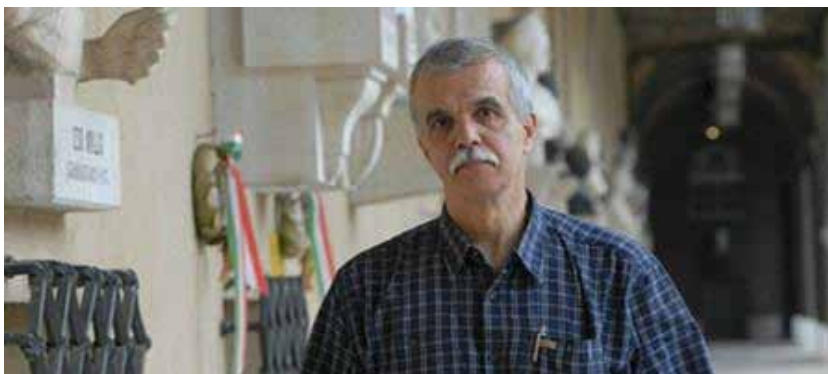
Dosztányi Zsuzsanna (45) az Eötvös Loránd Tudományegyetem Biokémiai Tanszékén alakít önálló kutatócsoportot. Célja a fehérjék

rendezetlen részein található, más molekulákhoz való kapcsolódásra szolgáló lineáris motívumok kölcsönhatásainak vizsgálata kísérletes és számítógépes módszerek, valamint a különböző betegségekhez tartozó adatok kombinálásával.

Gratulálunk a kitüntetetteknek!

DUX LÁSZLÓ

„Kis keresztm
 Hogy szereztem?
 Feleljétek ezt, ha kérdik:
 Elkopott a lába térdig.”
 /Arany János/



A biológia, biokémia iránti érdeklődésem tudatosan a középiskolai osztálytagozat választáskor érhető tetten legelőször. 1968-ban bekerültem a szegedi Radnóti Miklós Gimnázium biológia-kémia tagozatára. Ez akkor elitképzésnek számított, az érettségiző

osztályok több mint fele került általában az orvosi karokra. Osztályfőnököm, egyben biológia tanárom Ésik Zoltán tanár úr azóta is felismerhető nyomokat hagyott gondolkodásomon, oktatói, pedagógusi énemen. Rajta kívül a „kádári paradoxonnak” köszönhetően (1956 után az egyetemekről, főiskolákról kirúgott oktatók egy részét a hatvanas - hetvenes évek fordulóján már itt-ott engedték középiskolákban tanítani) további fantasztikus tanáregyéniségek tanítottak bennünket, egyetemi színvonalon. Tönkretett szakmai karrierjüket, minden megaláztatásukat diákjaik kiemelkedő teljesítményével igyekeztek elfeledni. Máig hálás lehet nekik korosztályom ezért.

Zoli bácsi kemény, igazságos, maximalista pedagógiai alapállása folyamatosan feszegette szellemi és fizikai teljesítőképességünk határait. Későbbi oktatói pályám megalapozásához nagyban hozzájárult azzal, hogy rendszeresen feladatul szabta, hogy egy-egy óra anyagából készüljek fel (többnyire egyetemi, főiskolai tankönyveket ajánlott ezekhez) és tartsam meg az óra felét, egészét osztálytársaimnak. Néha a szomszéd osztályba is átvitt „vendégszerepelni”. Kitartó nevelőmunkája eredményeként harmadik és negyedik osztályban is a legjobb tíz közé jutottam biológiából az akkor csúcsversenynek számító OKTV-n. Ennek köszönhetően kétszeresen sem kellett felvételiznem az orvoskarra biológiából.

Egyetemi tanulmányaimat 1972-ben kezdtem meg a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetemen (akkor Szegedi Orvostudományi Egyetemen). A középiskola hatása olyan erősen motivált, hogy elsőévesen már jelentkeztem a Biokémia Intézetbe diákkörösnek. Nem is különösebben foglalkoztatott, hogy ott kik vannak, és mivel foglalkoznak. A kor lehetőségeihez mérten szerencsés volt a választásom, mivel az intézetet a korábbi Szent-Györgyi tanítvány és Straub munkatárs, Guba Ferenc vezette. (Nevét a „Guba-Straub solution” üvegfeliratként még minden amerikai izomkutató laboratórium hűtőszekrényében őrizte.) A

Szent-Györgyi alapította szegedi izomkutató iskola újraindítása az ő nevéhez fűződik. Legjelentősebb felfedezése a vastag filamentumok vázfehérjéjének fibrillin néven való leírása volt. Miután magyar Acta-ban jelent meg az eredmény és nem kapott kellő nemzetközi figyelmet, évtizedekkel később a japán Maruyama professzor titin néven írta le ugyanezt a fehérjét. Guba professzor higgadt, elfogulatlan intézetvezetői munkája, kétségtelen nemzetközi tekintélye (az akkor még viruló „magyar izomkutató maffia”, melynek révén 1977-ben, 1980-ban, 1983-ban és 1986-ban is számos külföldi izomkutató jött el Szegedre az általunk megszervezett konferenciákra) szerepet játszott elméleti orvos-kutató pályán maradásomban is.

Közvetlen irányítóm, témavezetőm Mazareán Hortenzia adjunktusnő lett. Az önzetlen segítő, utánpótlás nevelő kutató-tanár példaképe. Laboratóriumából indultak diákkörösként többek között Buzás Edit budapesti és Édes István debreceni professzorok is. Számomra különleges lehetőségeket adott, hogy témavezetőm férjével Heiner Lajos professzorral és munkatársával Domonkos Jenő professzorral az Idegklinikán szakmai mester-tanítvány kapcsolatba kerülhettem. Ők a Szent-Györgyi iskola egy másik ágából, Huszák István professzor közvetítésével vitték tovább az izombetegségek, az izomrosttípusok plaszticitásának vizsgálatát. Első publikációim ezen a területen jelentek meg.

Az egyetem elvégzése után az Intézetben maradtam. Egy érdekes, izgalmas évet tölthettem sorkatonaként (törzsszászlósi rangban) Kecskeméten a Repülőorvosi Vizsgáló és Kutató Intézetben. Erre az időre esett az első és máig egyetlen magyar űrrepülés, az ehhez kapcsolódó tudományos vizsgálatok előkészítése, földi ellenőrzése és értékelése is. Érdeklődésem a terhelés-élettan, biokémia, molekuláris adaptáció iránt azóta is megmaradt.

A katonaság után, 1980-tól egy évet az MTA SZBK Biofizikai Intézetében töltöttem, Joó Ferenc laboratóriumában. Az ITC kurzus elvégzése mellett, Frici kiváló szervező, menedzselő képességéből is példát adott sokunknak, akik az akkori Egyetem szűk levegőjéből átszökdöstek esténként laboratóriumába kutatni és friss szellemet szívni.

Korosztályom meghatározó élménye volt még az 1980 nyarán, Budapesten megrendezett Élettani Világkongresszus. Többségünket akkor csapta meg először a BNV fűvén heverésző több ezer fiatal kutató szellemi szabadsága, a lépcsőn ülő, szendvicset falatozó Nobel-díjasok emberi közelsége.

1981 őszén leszakvizsgáztam orvosi laboratóriumi diagnosztikából. Elméleti intézeti munka mellett ezt akkor lehetett, és a szakorvosi bizonyítványomat elraktam jó mélyen a fiók aljára.

Diákkörös témavezetőim, a Heiner házaspár közvetítésével 1982 tavaszától posztdoktori álláshelyet kaptam a State University of New York, Upstate Medical Center Syracuse Biokémiai Intézetében Martonosi Antal laboratóriumában.

Martonosi professzor Szegedről menekült el 1956 decemberében. A menekülttáborból Gergely János, szintén egykori Szent-Györgyi tanítvány, világhírű izomkutató segítségével került Amerikába, ahol az izom kalcium reguláció, a szarkoplazmatikus retikulum kutatás világszerte elismert vezető kutatójává vált.

Tervezett feladatom szerint a kalcium szint változásainak hatását vizsgáltam volna izomsejt tenyészetek fehérje expressziójára. Mivel egy amerikai kolléganő, akinek a szövettenyésztést kellett csinálnia, csak néhány hónappal utánam lépett munkába, az addig paragon maradó idő „agyonütésére” kitaláltuk, hogy próbáljuk meg kristályosítani a szarkoplazmatikus retikulum kalcium ATPáz enzimét. Ez addig senkinek sem sikerült. Jorgensen és munkatársai a dániai Aarhusban hasonló próbálkozásokat tettek Na-K ATPáz enzimmal, de ma már érthető okokból, alig haladtak a feladattal.

A posztdoktori év elteltével, 1983 tavaszán 12 elkészített közleménnyel térhettem haza Szegedre. Az ion-transzportáló ATPáz enzimek, elsősorban a SERCA konformáció-specifikus kristályosítása, szerkezet és működés vizsgálatára elindult munkák a következő tíz-húsz évben közel egy tucat magyar kutató bekapcsolódásával (köztük Varga Sándor, Papp Sándor, Jóna István, Csermely Péter, Keresztes Tamás, Végh Miklós, Molnár Elek, Müllner Nándor), illetve számos külföldi kutatócsoport tevékenységének köszönhetően 2005-re eljutott az enzim nagyfelbontású szerkezet meghatározásához, a transzportciklus molekuláris értelmezéséhez (Chikashi Toyoshima, Tokyo University, Japán). Magam még kétszer fél évet töltöttem Syracuse-ban, 1984 és 1986-ban. Ezek a rövid távollétek lehetővé tették szegedi csoportom megszervezését, tanítványaim pályára állítását is. A SERCA enzim két, illetve háromdimenziós konformáció-specifikus kristályosításából, az ehhez kapcsolódó funkcionális munkákból védtem meg 1985-ben kandidátusi, 1989-ben akadémiai doktori értekezésemet.

1989 nyarán Guba professzor nyugdíjba vonult. Helyére többen pályáztunk. Az akkori kari-egyetemi vezetés a pályázók közül Nagy Zsoltot találta legalkalmasabbnak az egykori Szent-Györgyi intézet jogutódjának vezetésére. Az egyik akkor elutasított pályázó szakmánk meghatározó egyénisége lett Debrecenben. Én, aki akkor Humboldt ösztöndíjasként Németországban, Konstanzban Pette professzor világhírű izom-plaszticitás kutató laboratóriumában dolgoztam, a külföldön maradás mellett döntöttem.

Megpályáztam és elnyertem a londoni Hammersmith Hospital és a Cornell Egyetem Állatorvostudományi Patológiai Intézet együttműködésében akkor induló izomdystrophia kutatási program nemzetközi koordinátori állását. Ennek révén közvetlen szakmai és baráti kapcsolatba kerültem Victor Dubowitz professzorral, a gyermekkori izombetegségek területének meghatározó orvoskutató egyéniségével. A program alapját a Cornell Állatorvosi Karán akkor azonosított X kromoszómához kötött kutya izomdystrophia genetikai, patológiai, pathobiokémiai vizsgálata, a kutya modellen történő sejt és génterápiás próbálkozások szigorú szakmai keretek közötti, ellenőrzött lefolytatása képezte.

A kutya X kromoszómához kötött dystrophiája a humán Duchenne típusú izomsorvadás megfelelő állatmodelljének bizonyult. A gyorsan fellendült, négy földrészre kiterjedő kutatási programot jelentősen megzavarta, amikor 1991 telén állatvédők felgyújtották és teljesen kiégették Londonban a Hammersmith Hospital gyermek neurológiai épületének legfelső szintjén működő izomkutató intézetet. A helyreállításokat követően eredményeink főleg a dystrophiás izom regenerációs képességéről, ennek molekuláris szabályozásáról születtek. Az ekkor kifejlesztett és standardizált izomregenerációs modell azóta is fontos kutatási projektjeink meghatározó részét képezi.

Közben idehaza lezajlott a rendszerváltás. 1990 nyarán távollétemben egyetemi tanári kinevezést kaptam a szegedi Biokémiai Intézetbe. Hazatérésemre a Cornellén, illetve Londonban folyó munkák lezárását-átadását követően, 1992 nyarán került sor. Az egyetem megújult vezetése átmenetileg megbízott a korábban szinte csak papíron létező Központi Klinikai Kémiai Laboratórium megszervezésével és irányításával. 1993 januárjában Nagy Zsolt leköszönt és elhagyta a Biokémiai Intézetet és Szegedet, így tanszékvezetőként térhettem vissza egykori felnevelő iskolámba. Emellett a Központi Klinikai Kémiai Laboratórium megújítására szakmailag kiváló, elkötelezett munkatársaim segítségével megkezdett munkát egészen 1998-ig folytattam. Ezalatt irányításom alatt létrejött egy nemzetközileg is versenyképes klinikai biokémiai diagnosztikai oktató-kutató fejlesztő egység. Az ebből kinőtt QualiCont *in vitro* diagnosztikai minőségellenőrző non profit szervezet azóta is elismert tagja az európai minőségellenőrző szervezetek szövetségének (EQUALM), számos hazai és EU pályázat sikeres nyertese és végrehajtója. Reinauer János professzor a Düsseldorfi Egyetem Klinikai Kémiai Intézete, illetve az Institut für Standardisierung und Dokumentation in Medizinischen Laboratorium vezetőjének barátsága és szakmai támogatása ezen területeken különösen értékesnek bizonyult. Az 1997-ben indított, majd 2008-ban a „bolognai” reformok mellékhatásaként megszűnt klinikai kémikus képzésünk hét végzett évfolyamának hallgatói többségükben a hazai és nemzetközi biokémiai, molekuláris diagnosztikai kutatás-fejlesztés elismert munkatársai lettek.

A hazai egészségügy, kiemelkedően a diagnosztikai ágazatok piacosítása, privatizációja, közvetítő cégek közbeékelődése számos konfliktust generált. Ezek 1997-98 fordulóján olyan helyzetet teremtettek, hogy a Központi Klinikai Kémiai Laboratórium vezetéséről lemondtam, ezzel egy időben 8 kiváló munkatársam kényszerült elhagyni az Egyetemet. Az addig kiválóan működő integrált diagnosztikai-oktatói-kutatási rendszer megszűnt. Eltávozott munkatársaink a szakmában maradvá azóta is sikeres együttműködő partnereink oktatási, kutatás-fejlesztési programjainkban. Magam, ezen küzdelmek során szerzett „hírnevem” révén kerültem megválasztásra a Magyar Orvosi Kamara Etikai Kollégiumának elnöki tisztségébe először 2003-ban, mely tisztséget 2010-ig töltöttem be. Ennek kapcsán alkalmam volt az Európai Unió Egészségügyi Csalás- és Korrupcióellenes Hálózat (EHFCN) létrehozásában és működésében is szerepet vállalni.

A Biokémiai Intézet szakmai renoválását 1993 januárjában kezdtük meg. Két szenior kolléga, Ferdinandy Péter és Zádor Ernő bevonásával néhány év alatt ismét versenyképes, hazai és nemzetközi pályázatokra, diákkörös hallgatók nevelésére alkalmas körülményeket sikerült kialakítani. Péter, aki 2011-óta a Semmelweis Egyetem Farmakológiai Intézet tanszékvezetője, kardiovaszkuláris kutatócsoportja kiemelkedően eredményes alap és alkalmazott kutatásokat folytatott elsősorban a szívizomzat molekuláris adaptációja, hypoxia túrésének molekuláris mechanizmusa terén. Zádor Ernővel a vázizom regeneráció, adaptáció vizsgálatainak hazai feltételeit teremtettük meg. Kiemelkedően eredményes volt ebben a Leuveni Katolikus Egyetem Molekuláris Élettani Intézetében Frank Wuytack-kal fenntartott, közel 15 éves szoros szakmai együttműködés is.

Hazatértemkor, 1992 nyarán a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem oktatási rektorhelyettesének választottak. Így módom nyílt a rendszerváltás utáni első felsőoktatási törvény megalkotásában, az abban lefektetett legfontosabb feladatok megvalósításában részt venni. Tagja lehettem az első országos akkreditációs bizottságnak, a doktori iskolák létrehozását, az intézmény akkreditáció elindítását elvégző testületnek.

1993-ban alapított doktori képzésünk azóta is sikeresen működik. Biokémia, Biofizika, Molekuláris és Sejtbiológia programunkban, mely 2000 óta a Multidiszciplináris Orvostudományi Doktori Iskola részeként működik, eddig 56 hallgató szerzett tudományos fokozatot.

Egyetemünk öt karán, három nyelven oktatunk biokémiát, pathobiokémiát, laboratóriumi diagnosztikát, orvosi analitikát. Különösen büszke vagyok arra, hogy eddig huszonöt (magyar, angol, német) orvostanhallgató évfolyam választott meg legjobb oktatójának. Munkatársaim az egyetem egyik legeredményesebb tudományos diákkörét működtetik az intézetben. Volt tanítványaim, munkatársaim közül eddig öten, részben az én életút-menedzselésemmel nyertek el tanszék-, intézetvezetői állást (Molnár Elek, Takács Zoltán, Becskei Attila, Török Mariann, Ferdinandy Péter). Igaz, közülük csak egy dolgozik idehaza Magyarországon.

Az egészségügy, illetve a felsőoktatás, kutatás-fejlesztés, utánpótlás nevelés jelenére, jövőjére vonatkozó nézeteimet sohasem titkolva, az ezzel járó vitákat, konfliktusokat, nemegyszer hátrányokat vállalva 2007-ben a Professzorok Batthyány Körének szegedi csoport-, majd 2009-ben országos elnökévé választottak. Így kaptam felkérést a 2010-es kormányalakításkor a felsőoktatásért és tudomáspolitikáért felelős helyettes államtitkári poszt betöltésére. A megtisztelő szolgálatot 2012 januárjáig végeztem. Ezalatt megalkottuk a 2011. évi CCIV törvényt a Nemzeti Felsőoktatásról, melyet a parlament - Karácsony előtti este - döntő többséggel elfogadott. Helyettes államtitkári munkám idejére esett Magyarország első, eddig egyetlen EU elnökségi ciklusa, 2011. január-június között. Ennek keretében a tagországok felsőoktatásért felelős vezetői testületének (Directors General Conference) munkáját irányíthattam.

2012 februártól visszatértem a teljes körű egyetemi tanári, intézetvezetői munkába. A tantermi előadások megtartása, a diákokkal, diákkörösökkel való napi közvetlen kapcsolat, a vizsgáztatás változatlanul kiemelkedő örömforrás számomra. Az oktatás fejlesztésében megtisztelő új lehetőségeket adott az MBKE felkérése a FEBS Education Committee munkájában való képviselőre. A szakmai vezetéssel most indult molekuláris medicina oktatást fejlesztő TÁMOP pályázat szintén sok új lehetőséget nyit meg kollégáink számára. (Az augusztus 23-25 között Debrecenben megrendezésre kerülő nemzetközi biokémia oktatási workshopra ezúton is szeretném felhívni kollégáink figyelmét).

Valahogy így jutottam el 2014. március 15-én a Magyar Érdemrend középkeresztjével való megtisztelő kitüntetésig ¹.

Az élet persze nem áll meg, azóta is vannak sikerek, kudarcok, gondok és örömök. Utóbbiban leginkább feleségem, három gyermekünk és három unokánk révén részesülök, és továbbra is vallom Szent Pál Rómaiakhoz írt levelének (9.16) gondolatait: *Non est volentis, neque currentis, sed miserentis Dei.*

¹ Lásd Biokémia XXXVIII. évfolyam 1. szám, 2014. március (a szerkesztőbizottság megjegyzése).

MANDL JÓZSEF¹

Ismert, hogy ugyanazt az eseménysorozatot hajlamosak vagyunk egészen különbözően látni és láttatni. A tudományos ismeretanyag szakadatlan változása az, ami új és új szemléleteket, korokat, némi gúnyval divatokat hoz felszínre. Saját munkáinkat, eredményeinket kényszerülhetünk rendre átértékelni, mivel azok új összefüggések felismerésével egészen más megvilágításba helyeződnek. A molekuláris sejtbiológia az organellum stresszek jelentőségével szembesült az elmúlt évtizedekben.

Mai szemmel nézve, tudományos érdeklődésem végig elsősorban a máj endoplazmás retikulum (ER) membrán körül forgott, miközben azt hittem, hogy mindig valami újjal foglalkozom. A glikogenoretikuláris rendszer címen írtunk régebben egy közleményt Bánhegyi Gáborral, ami a glikogén és az ER kapcsolatáról szól. „Első” munkacsoportom negyven évvel ezelőtti interpretációjában a galaktózamin hepatitisben kialakuló fehérjeszintézis gátlás a galaktózamin beépülésével megváltozott glikogén partikulum és a riboszómákkal teli ER membrán közti kóros kölcsönhatáson alapult. Ennek izolált májsejteken történő vizsgálata volt hajdan kandidatúrám fő témája. A glikogén partikulum és az ER membrán kapcsolatán alapul az a megfigyelés, hogy a glikogenolízis a forrása a glukuronidáció UDP-glukuronát ellátásának, aminek a leírása 1988-ban jelentette az áttörést biotranszformációs munkacsoportunk nemzetközi elismerésében. Mai szemmel ER stresszt okozott, ha bikarbonátos, fiziológiás Krebs-Henseleit puffer helyett más alapú, bikarbonát nélküli puffereket használtam a hetvenes években izolált májsejtek inkubációs médiumaként. Az ER membrán okozta kompartmentalizáció volt a biotranszformáció és ezen belül a glukuronidáció szabályozásával, kofaktor ellátásával - ami 1991-ben nagydoktori értekezésem tárgya volt - kapcsolatos szinte valamennyi megfigyelésünk alapja.

Amikor szinte észrevétlenül „csúsztuk át” a NADPH révén az intracelluláris és ezen belül az ER antioxidáns homeosztázis tanulmányozásába, akkor is folyton „búvópatakként” a glikogénbe (például az aszkorbát szintézis forrása a glikogenolízis, a glutation és aszkorbát kapcsolat a glikogenolízist is érinti), vagy a különböző antioxidánsok kompartmentalizációs, ER membrán transzport problémáiba ütköztünk. Az is végső soron a glikogénhez kötődött, hogy a máj ER membránkötött enzim rendszerek, a glukuronsavas konjugációt katalizáló UDP glukuronozil transzferázok és a glukóz-6-foszfát rendszer között számos hasonlóság van; a C-vitamin szintézis utolsó lépését katalizáló gulonolakton oxidáz is intraluminális, aktív centrummal bíró ER membrán enzim. Az aszkorbát szerepel a diszulfid híd képződésben és mindez a fehérje folding kapcsán „pillanatok” (évek) alatt többek között ahhoz a kérdéskörhöz vitt el, hogy mi az ER stressz, kompenzációs szabályozási rendszer vagy betegségek közös patomechanizmusa.

¹ Mandl József 2014. március 15-én Széchenyi-díjat kapott, lásd Biokémia XXXVIII. évfolyam 1. szám, 2014. március (a szerkesztőbizottság megjegyzése).

Különböző „tévelygések, kalandozások”, mint pl. Ah (aryl hydrocarbon) receptor, HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) mediálta folyamatok, hatások az „eredeti” gondolkörbe ER stresszorként „tértek vissza”. Ma a metabolikus szindróma, kettes típusú cukorbetegség celluláris jelenségeivel foglalkozunk különböző kísérleti rendszerekben. A sorozatos „témamódosulások molekuláris tudatalattija” címen is végig lehetne ezt gondolni.

Mindez alapvetően ellentmondott tudományos indíttatásomnak. A biokémia a sejtmembrán belső oldalán van, ami a membránon kívül található, az az élettan – mondta Garzó Tamás, akinek a laboratóriumába kerültem pályakezdőként 1973-ban. Garzó idegenkedett a membrántranszport folyamatoktól és a biokémiát elsősorban az enzimatis reakciók tudományának tekintette. A transzport az már „majdnem élettan”.... és a kompartmentalizációs logika, a strukturális elkülönültség jelentősége távol állt az érdeklődésétől. Garzó igen mély humorú, nagyon művelt, komoly intellektusú személyiség, „közvetlen Straub tanítvány” volt, később atyai jó barátom.

A kandidatúra utáni témaválasztásom úgy történt, hogy elolvastam 1983-ban az akkor számomra teljesen ismeretlen Ron Thurman összefoglaló közleményét arról, hogy az intermedier anyagcsere májban mennyiben határozhatja meg a gyógyszer metabolizmust. Egy cikk alapján választottam témát igazi probléma felvetés, szakmai kapcsolatok és kellő metodikai ismeretek nélkül. A történet utólag is valószínűtlen.

Tudományos pályafutásom színtere a budapesti „orvosvegytani” intézet. Intézetbe kerülésemben és egész pályaválasztásomban orvosi kémia gyakorlatvezetői minőségében Machovich Raymund döntő szerepet játszott. Első éves medikusként 1967-ben pár hét egyetemi lét után meghívott, hogy legyek externista a Straub Intézetben. Ez akkor óriási megtiszteltetés és komoly önbizalmat adó helyzet volt. Később az élet úgy hozta, hogy soha nem dolgoztam a laboratóriumában, de sokat kooperáltunk. 1973 augusztusának végén az általános orvosdoktori végezettséget jelentő hagyományos, kesztyűs kézfogást Antoni Ferenc rektortól kaptam, aki akkor már az Intézet igazgatója volt. Hiába voltam az évfolyam egyik legjobb tanulója, klinikusi álláspályázataimat elutasították, helyet az Intézetben kaptam. Ugyan 1979-ig évente tájékoztattak, hogy már nincs állásom, de végül lett. Tudományos pályán az egyetlen érdemi munkahely igen ritka és nem is feltétlenül jó; nekem egy kivétellel valamennyi közleményem ebből az intézetből került beküldésre. Nem lehettem Humboldt-ösztöndíjas, mert a meghívóm Nyugat Berlinbe hívott. Nagyon későn, 35 évesen lett csak lehetőségem – és nagyon nem az érdeklődési területemen - külföldön egy évet dolgozni. Harvard kinevezettként genetikailag instabil baktérium mutánsokon dolgoztattak éhbérért, rengeteget, lelkesen és teljesen feleslegesen Bostonban. Természetesen később különböző országokból számos más kutatóval kooperáltam, de minden munkám az Intézetből indult, ide kötődött.

Az orvosi munkában az önálló, alkotó, értelmiségi lét egyre jobban korlátozódik – különböző új és új szempontok, megfontolások miatt protokollok, a döntési szabadságot folyamatosan szűkítő szabályok közé szorul. Egyszerre akartam

klinikus és elméleti, kutató orvos lenni. Erre a típusú létre Magyarországon mindig is kevesebb lehetőség volt nemzetközi összehasonlításban. Ugy képzeltem, hogy intézeti kezdés után klinikai pályára lépek, de a kutatást a betegellátás mellett is folytatni fogom. Nem így alakult. Nyolc évig kerületi éjszakai ügyeket vállaltam, illetve egy évig, hatodévesen mentőtiszt is voltam. Mindez a klinikai orvoslás perifériája, de a közvetlen gyógyítás öröme páratlan sikerélmény, amiben a kutatóorvosi lét nem részesíti az embert.

Tudományos pályafutásomban 1976-ban jött „sorsdöntő” nap. Antoni Ferenc behívott és kezembe nyomott egy üvegcsét, benne 10 mg Worthington kollagenáz mintát. Azt mondta, hogy a májkutatás jövője a májsejt izolálás. Kollagenázos máj perfúzióval lehetett májsejtet izolálni. „Kezében a jövője” - mondta határozottan, és utamra bocsátott. 2 mg kollagenáz kellett körülbelül egy egérmáj perfúziójához, tehát a „jövőm” 5 kísérletnyi volt. Sosem láttam előtte máj perfúziót, és a közleményt is csak nehezen tudtam megszerezni. „Nyugati gyógyszer” rendelése ma már elképzelhetetlenül nehéz volt. Egy éves „átfutás” után kapta meg az ember – vagy nem – a rendelt/kért vegyszert. Be kellett állítanom egy módszert önerőből, felszerelés, érdemi segítség nélkül abból a célból, hogy majd ennek alapján kutatom a májat, úgy általában, ha lesz kollagenáz hozzá. Ezen a ponton lettem kutató. A manualitást soha nem tartottam erősségemnek, de 12 m² -nyi „laborunkban”, kémcsőállványból tákolt „műtőasztalon” „hályogkovácsként” (hogy mennyire, azt Chapel Hillben később értettem meg) megtanultam önerőből az egér vena portae kanulálást, és a májsejt izolálást. Ma is látom, amikor először kifehéredett az egér mája jelezve, hogy rendszeresen sikerült átáramoltatnom fiziológiás sóoldattal. Egyedül meg tudtam oldani a hepatocita izolálást. Kovács úr, a furfangos üvegtechnikus által készített, általam tervezett, mindenféle inkubációs „ötletcsövekben”, állandó buborékolatás mellett „életben tartottam” őket és ez *nekem* nagy dolog volt. Radioaktív aminosav inkorporációs kísérletekkel fehérje szintézist mérve bizonyítottam, hogy a májsejtjeim „élnek”. Garzó Tamás végezte az első radioaktív izotópos biokémiai kísérleteket Magyarországon és megtanított az izotópos munkára. Az önbizalmamat, miszerint életképes kísérletező vagyok, biztosan a sikeres májsejt izolálás alapozta meg. Ezzel léptem ki az „árnyékból”. Az állatkísérletek jelentős szerepet játszottak életemben. Diákkörösként Tóth Miklós vezetésével patkányok heréit, mellékveséit és mellékpajzsmirigyeit (!!) vettük ki – néha egyszerre - és a szérum kalcium szint szabályozására vontunk le lelkesen mindenféle, forradalmi következtetéseket. Minden jel szerint „manuális kutatói” életem 1994-ben Chapel Hillben, Ron Thurman laboratóriumában Fogarty ösztöndíjas, visiting professzorként patkányok máját elég komplex rendszerben, amerikai módon, asszisztens nélkül perfundálva ért véget.

Az oktatást kreatív tevékenységnek tartom és személyiség jegynek is, hogy ki mennyire végzi ezt valódi, alkotó energiákkal. Közismert, hogy az orvostudomány Magyarországon azért tekinthető európai mércével szemlélve átlagosnak (ami nagyon szép teljesítmény), mert igen komoly elméleti oktatás alapozza meg. 1973-ban fogorvosoknak kezdtem orvosi kémiát tanítani. A kémiát a fogorvosok utálták, én meg nem tudtam. Mint az egyszeri nyelvtanár, pár leckével jártam előttük. Gyakorlatot vezetni később megtanultam és szerettem. Voltak olyan

napok, amikor két ötórás kémia gyakorlatom volt. Az első tantermi előadást 1980-ban tartottam. Előadni, oktatni Garzó Tamástól tanultam. A hetvenes években ő gyakorolta e téren rám a legnagyobb hatást, majd a nyolcvanas években Faragó Anna. Tanulmányi felelős volt és én lettem a helyettese. A későbbiekben pedig én váltottam őt mint tanulmányi felelős. Egy elméleti intézetben ez fontos beosztás, nagyon sokat lehet belőle tanulni és tapasztalni. Későbbi, húsz éves igazgatói pályafutásomat ennek a feladatkörnek az ellátása megalapozta. Rákerültem a „térképre”. Előadás ide, előadás oda; oktatóként az igazán meghatározó az írásbeli tananyagalkotó tevékenység. A legjobb „tanításomnak” a Faragó Anna szerkesztette 1988-as biokémia jegyzetben írt hemosztázisról szóló fejezetemet éreztem, a legfontosabbnak az Ádám Veronika szerkesztette 1994-es tankönyvben írt fejezeteimet. A legnagyobb jelentőségűnek az Orvosi Patobiokémia könyvet remélem, amit Machovich Raymunnal szerkesztettem és átdolgozott kiadása angolul most megjelent.

Az experimentális kutatói pályafutás munkacsoportokban zajlik. Mindig – később vezetőként is – igen komplikált emberi viszonyok vetnek körül. Számos, sajtószerű emberi történet kísérte kutatásaimat. 1977-ben Machovich Raymunnal kooperációban kimértem, hogy jóddal jelzett protrombin kötődik izolált hepatocitákhoz. Antoni azonnal le akarta közölni, és felszólított, hogy írjam meg a cikket. Garzó felsorolta, hogy ezt miért nem lehet még megtenni, és hogy ő így nem akar társszerző lenni. Antoni közölte, úgy tűnik számára, hogy nekem derogál egy akadémikussal, rektorral egy cikkben szerepelni. Ilyen típusú, képtelen helyzetekben, „vidám” konfliktusokban kezdtem edződni, akkor mint status nélküli senki. Az a cikk sohasem készült el. Baráttal, a szomszéd intézetben dolgozó Machovich Raymunnal való kooperációk – az így kialakult két intézeti, „változó munkacsoport” miatt - eredményezték a legbonyolultabb emberi helyzeteket. Egy közlemény kísérletes anyagát megcsinálni, a cikket megírni érdektelen volt ahhoz a feladathoz képest, hogy az ember a társszerzők sorrendjét ebben a munkacsoportban megkonstruálja. Én rendre középre kerültem, mint társszerzőnek a legjobb helyen...

Kutatói pályafutásom közel felében egy nagyon erős intézet igazgatója lehettem. Vezetőként is „középen” találhattam magam, amennyiben az Intézetben kinevezésemkor négy MTA doktora professzor volt, nálam tíz - húsz évvel idősebbek és nagyon tehetséges fiatalok, köztük két későbbi akadémikus, további, két későbbi MTA doktor bontogatta szárnyait, illetve két kortársam írt később nagydoktorit. További igen tehetséges generációt én vettem fel, akik most törnek be az élvonalba. Hálás lehetek a sorsnak, hogy a hazai molekuláris kutatások egyik legjelentősebb műhelyének lehettem a vezetője. Két alapvetést igyekeztem megfogadni: vezetőként az ember soha ne magyarázkodjon, hanem intézkedjen; saját vezetői tevékenységünk kapcsán vagy köszönetünket fejezzük ki vagy semmit, és az értékelését hagyjuk másra. Sok munkatársamnak, elsősorban a közvetleneknek, tartozom köszönettel és legfontosabb „külső”, szakmai kapcsolatomnak, Angelo Benedettinek.

65 éves korban magyar egyetemeken az öregedés intézményesített. Abbahagyni a kutatásokat intellektuálisan nem lehet. 1997-ben kísérleti munkám találkozott

egy magyar gyógyszerfejlesztéssel. Selye János az Álomtól a felfedezésig című könyve egy ilyen típusú munkában a „felfedezéstől az álomig” logikává alakul, amit egyszer egy Ph.D. kurzusban is próbáltam a doktori iskolánkban sikertelenül egy e területen járatos gazdasági szakemberrel oktattatni. A gyógyszerkutatás állandóan újabb alapkutatói kérdéseket hoz a felszínre, ami a finanszírozókat mindig joggal idegesíti. Időmet egyre nagyobb százalékban töltöm ezzel. Miközben az Intézet vezetésében nem veszek részt, érdekesebbnél érdekesebb, közéleti feladataim lettek az egyetemen és máshol. 2012 nyarán életemnek egy „kevésbé adminisztratív” szakasza kezdődött más kihívásokkal és régi érdeklődések új megfogalmazásaival.

BEMUTATKOZIK A SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONT PROTEOMIKAI LABORATÓRIUMA

A tömegspektrometria kb. 3 évtizede vált a fehérje szerzetkutatás fontos szereplőjévé. Olyan szerencsés voltam (és olyan öreg vagyok), hogy ott lehettem a kezdeteknél [1]. Eleinte csak izolált, gondosan tisztított fehérjét lehetett tömegspektrometriával tanulmányozni. „Hatalmas” mennyiségeket (minimum nanomólynyi anyagot) kellett megemészteni, frakcionálni (kézzel gyűjtöttük a frakciókat!) és kézzel, egyenként töltöttük be a mintákat, analizáltuk az elegyeket, komputeres segítség nélkül értelmeztük az adatokat.

Manapság „high-throughput” kísérletekkel jellemezhetjük kvalitatív vagy kvantitatív módon fehérje-komplexek, sejt-szervecskék vagy éppen különböző sejt-típusok fehérje-összetételét és poszt-transzlációs változásait. Ezekben a kísérletekben nagyságrendekkel kevesebb anyagot használunk. Az egyik általánosan használt „benchmark” BSA triptikus emésztménye, és minden valamire való készüléken úgy 60%-os szekvencia lefedettséget lehet elérni 25 femtomólyból. Ezt a hatalmas változást a következő felfedezések, fejlesztések tették lehetővé: új ionizációs technikák bevezetése (Fenn és Tanaka Nobel-díjat kapott 2002-ben az electrospray és lézer-ionizáció felfedezéséért), új tömeganalizátorok kifejlesztése (Makarov, az Orbitrap még mindig fiatal „atyja”, talán a legzseniálisabb tervező), a kromatográfia „miniatürizálása”, az automatizált adatgyűjtés szoftverének megalkotása, genom-szekvenálás, azaz fehérje-adatbázisok létrehozása (ami ott nincs, az még mindig „nem létezik”) és végül, de nem utolsósorban, az adat-lekereső szoftverek (search engines) kifejlesztése.

Az SzBK Proteomikai Laboratórium története számomra egy telefonhívással kezdődött. Valamikor 2000-ben, a Szilikon-völgyből, ahol éves „sabbatical”-jét töltötte, telefonált Víg László, az SzBK Biokémiai Intézetének akkori igazgatója, San Francisco-ba, nekem, a UCSF egyik proteomikai kutatójának. Azzal az ajánlattal, hogy vezethetném az SzBK alakulóban lévő tömegspektrometriás csoportját. A háttérben az állt, hogy a Szegedi Egyetem Orvosi Vegytani Intézete (Penke Botond vezetésével) és az SzBK összefogott és megpályázott egy MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight) tömegspektrométert. A pályázat elnyerése után esett meg az a bizonyos telefonhívás, és nem sokkal később, már mint a csoport megbízott vezetője, Janáky Tamással (SzTE OVI) és a pályázat benyújtójával, Udvardy Andorral (SzBK Biokémiai Intézet) írtam ki a tendert, és indítottam el a laboratórium kialakítását.

Van abban valami varázslatos, amikor egy koszos alagsori raktárhelyiségből ragyogó, légkondicionált laboratórium lesz. Ebben az új laboratóriumban kapott helyet nemcsak az új műszer, hanem a megfelelő minta előkészítéshez szükséges túlnyomásos fülke és egy sereg praktikus „apróság”: vízfürdő, 0,6 ml-s Eppendorf-csövekhez való rázó gép, centrifuga stb. és picurka irodánk is. Két újsütetű

munkatárs is került a csoportba, mindketten vegyészek, szintetikus kémiai háttérrel. Darula Zsuzsanna Eötvös-ösztöndíjjal a UCSF Tömegspektrometriai csoportjában (<http://msf.ucsf.edu/>) „gyorstalpalón” sajátította el a proteomika alapjait. Nem is akárhogyan! Három hónap megfeszített munka 3 cikket „hozott a konyhára” [2-4]. Hajnal Andrea ezalatt az SzBKban felügyelte a labor-kialakítás munkálatait, azután részt vett a készülék installálásában, és egyedül látott neki a tanultak éles mintákon való alkalmazásának [5]. Úgy adódott, hogy a beüzemelésétől számított egy éven belül a labor munkatársai kicserélődtek (szülési szabadság és külföldi kiküldetés miatt). Igen feszült időszak volt ez. Az új „tömegeseknek”, Hunyadi-Gulyás Évának és Klement Évának 2002-ben „repülőváltóval” kellett átvenni a feladatokat. Jól sikerült! Ez volt a hőskor. Néha úgy érzem, lemoshatatlanul rajtunk ragadt a MALDI-labor címke, pedig már régesrég inkább más ionizációval dolgozunk.

A tömegspektrometria kb. olyan tempóban fejlődik, mint a számítógépek. Így, mire az ember megveszi és üzembe állítja a készüléket, az már csaknem elavultnak számít. (Nem lehetne felgyorsítani a közbeszerzési folyamatot, egy cseppet?) Így esett, hogy mire a MALDI-TOF tömegspektrométert beüzemeltük, már nem azt választottuk volna. Ennek ellenére sok szép siker fűződik ehhez a készülékhez is, csak sokkal több „trükköt” kellett bevetnünk, hogy legalább lépést tudjunk tartani a korszerűbb készülékekkel, azaz a gazdagabb laborokkal. Elsősorban fehérjéket azonosítottunk, de feladatunk volt izoformák megkülönböztetése [6] vagy hasítóhelyek meghatározása is [7]. Sőt még *de novo* szekvenálásra is vetemedtünk [8]. A komplexebb feladatok megoldásában segített az, hogy később frakcionálni is tudtuk az elegyeket, mert 2003-ban vehettünk egy nanoHPLC rendszert (Eldex/Sunchrom). Normálisan ezeket a rendszereket electrospray ionizációjú készülékekhez kapcsolják. Mi csak álmodtunk ilyesmiről. De addig is 75 mikron belső átmérőjű, fordított fázisú oszlopokon, ~400-600 nl/min áramlási sebességgel, gradiens elúcióval frakcionálhattunk emésztési elegyeket, a cseppeket gondosan a MALDI minta-lemezre gyűjtve.

Így „felfegyverkezve” lassan bemerészkedtünk egy sokkal izgalmasabb, változatosabb, de egyben problémásabb területre, a poszt-transzlációs változások kutatására. Az ilyesfajta vizsgálódásra a MALDI már csak nagyon korlátozottan használható, de szerencsére az SzTE OVI „iker-laboratóriumunkban” elérhető volt számunkra egy electrospray-készülék. Idővel (2005-ben), egy Jedlik pályázatnak hála, hozzánk is került egy ioncsapda (Thermo LCQ Fleet), némiképp primitív, meglehetősen kis felbontású, de a meglévő nanoHPLCvel és egy új autosamplerrel LC/MS/MS üzemmódban ez is jelentős javulás volt a korábbi állapotokhoz képest, amikor mindig vendégségbe kellett mennünk, ha értelmesen akartunk mérni. Tovább gyarapodtunk. 2009-ben egy Baross pályázatból egy nagyobb kapacitású, a fordított fázisra ortogonális frakcionálási/dúsítási eljárások alkalmazását lehetővé tevő JASCO HPLC rendszert vettünk, amihez frakciószedő is tartozik. 2010-ben kollaborációs partnereinknek hála (Magyar Zoltán, SzBK Növénybiológiai Intézet) beszerezhettünk egy új, nagynyomású nanoHPLC rendszert (Waters nanoACQUITY), amely nagyobb felbontású és reprodukálhatóbb kromatográfias szeparálást tesz lehetővé.

Már csak egy korszerű tömegspektrométer hiányzott, de évekig nem írtak ki olyan pályázatot, ahol ilyen nagy értékű műszerben gondolkodhattunk volna. Addig is módszereket adaptáltunk és fejlesztettünk, sikerrel [9-11]. A helyileg elérhető műszerek gyakran kevésnek bizonyultak, így hálával tartozunk a UCSF tömegspektrometriás csoportjának, Kai Schefflernek a Thermo Scientific brémai demonstrációs laboratóriumából, és Takáts Zoltánnak (akkor még SOTE, most Imperial College London), hogy lehetővé tették, hogy mintáinkat időnként az ő készülékeiken analizálhassuk.

A labor története műszerekben



1. ábra. A labor története műszerekben.

2012-ben végre felderült az ég! Beindult az MTA infrastruktúra-fejlesztési programja. Az SzBK teljes támogatását élvezve, Vígh Lászlóval (SzBK Biokémiai Intézet) benyújtottuk műszerpályázatunkat. Még az év őszén sikeresen installálták az akkor valóban state-of-the-art LTQ-Orbitrap Elite (Thermo Scientific) hibrid tandem tömegspektrométerünket. A készülék amerikaián kifejezve 24/7 dolgozik – kéthetes váltásokkal proteomikai és lipidomikai mérések (Balogh Gábor, Péter Mária, SzBK Biokémiai Intézet) folynak. A proteomikai kísérletek során a készülék a nanoAQUITY HPLC rendszerhez kapcsolva LC/MS/MS üzemmódban működik. Detektálási érzékenysége (< femtomól), tömeg-felbontása (240.000), a tömegmérés pontossága (5 ppm-en belül) felülmúl minden készüléket, amivel eddig dolgozhattunk. Háromféle MS/MS technikát is kínál. Ezek közül számunkra az ún. electron-transfer dissociation (ETD) nélkülözhetetlen, mert glikopeptidek analízise enélkül nem megoldható. Márpedig önálló kutatásaink az extracelluláris poszt-transzlációs módosítások vizsgálatára fókuszálnak, amelyeknek a zöme glikoziláció. Szérumfehérjék O-glikozilációjának vizsgálatában elért eredményeink úttörő jellegűnek számítanak. Tehát az új készülék jelentősen megkönnyíti ezt

a kutatást is [12], mint ahogy új távlatokat nyitott kollaboratív projektjeinkben [13-14]. Nyitottak vagyunk új kollaborációkra. Ahogy weboldalunkon is leírtuk (http://www.brc.hu/file/documents/proteomics_mintad.pdf), ha már a kísérlet-tervezésben is részt veszünk, jobb eredményekre számíthatunk.

A jelenlegi „legénység” csupa fiatal nő:

Bálóné Árva Ágnes – technikus,

Dr. Darula Zsuzsanna - Bolyai ösztöndíjas, az extracelluláris PTM projekt vezetője,

Dürgő Hajnalka – PhD-jelölt, fiatal kutatói ösztöndíjas,

Dr. Hunyadi-Gulyás Éva – a „facility manager”,

Dr. Klement Éva – Bolyai ösztöndíjas, a kulcs módszer-fejlesztő foszforiláció analízisre.



2. ábra. A csoport tagjai (balról jobbra): Dürgő Hajnalka, Darula Zsuzsa, Klement Éva, Medzihradszky Katalin és Hunyadi-Gulyás Éva

Diákok:

Kitka Diána – B. Sc. biológia szakos hallgató, diákkörös

Raffai Tímea – M. Sc. biológia szakos hallgató, diákkörös

Tórizs Szabina – B. Sc. jelölt, biomérnök hallgató, diákkörös

Sarnyai Farkas - M. Sc. biológia szakos hallgató, szakdolgozó.

A csoportban általában jó a hangulat, jól dolgozunk együtt és a „lipidomikai különítménnyel” is. A csoport tagjai remekül kiegészítik egymást, a területek felosztása szinte spontán adódott. Rengeteget segít a kutatásban, amikor különböző nézőpontok értékelése összeadódik.

Szeretünk tanítani. Egyetemi kurzusokon, valamint az ITC-s diákoknak is tartunk előadásokat tudományterületünkről. Mindig akad egy-két hallgató, aki a laborban ismerkedik a szakma alapjaival. A témavezetésért most már munkatársaim a felelősök. Más egyetemekről, pl. Corvinus Egyetemről is kapunk 1-1 napra érdeklődő látogatókat. 2012-ben a tehetséges középiskolai diákoknak szervezett Varázslatos Kémia tábor résztvevői töltöttek nálunk egy délutánt a MALDI-készülékkel ismerkedve. Írtunk egy ismeretterjesztő összefoglalót is a proteomikáról, amely letölthető a következő weboldalról: <http://www.eduvital.net/index.php/hu/2013-03-19-09-55-58/dokumentumtar/161-biologiai-hatteranyag>, és megjelent a Kémia Tanítása 2012. 4. számában is.

Nemcsak szakmailag, de a magánéletben is összetartunk. Vannak közös bulik, közös kirándulások. Még a Sierra Nevadába is eljutott valamennyi szenior kutató néhány éve, amikor részt vettek az ASBMB poszt-transzlációs módosításokkal foglalkozó speciális szimpóziumán, amely a gyönyörű Lake Tahoe mellett került megrendezésre. Kihasználva San Francisco közelségét, a konferencia előtt néhány napot a UCSF laboratóriumában töltöttek mintákat analizálva, később persze városnézésre is jutott idő. Az ottani lakásom ugyan szűkös ennyi embernek, de azért elfértünk, és nagyon élveztük az együtt töltött időt.

Reméljük, még sok izgalmas projekten dolgozunk együtt a jövőben. És talán felkeltettük néhány olvasó érdeklődését is.

Irodalomjegyzék

- [1] Medzihradszky, K.F., Medzihradszky, D. (1995) Amit mindig tudni akartál a fehérjékről... Tömegspektrometria a fehérjeszerkezet kutatás szolgálatában. *Biokémia*, **19**: 49-61.
- [2] Greenbaum, D., Baruch, A., Hayrapetian, L., Darula, Z., Burlingame, A., Medzihradszky, K.F., Bogyo, M. (2002) Chemical approaches for functionally probing the proteome. *Mol Cell Proteomics*, **1**: 60-68.
- [3] Medzihradszky, K.F., Darula, Z., Perlson, E., Fainzilber, M., Chalkley, R.J., Ball, H., Greenbaum, D., Bogyo, M., Tyson, D.R., Bradshaw, R.A., Burlingame, A.L. (2004) O-sulfonation of serine and threonine: mass spectrometric detection and characterization of a new posttranslational modification in diverse proteins throughout the eukaryotes. *Mol Cell Proteomics*, **3**: 429-440.
- [4] Perlson, E., Medzihradszky, K.F., Darula, Z., Munno, D.W., Syed, N.I., Burlingame, A.L., Fainzilber, M. (2004) Differential proteomics reveals multiple components in retrogradely transported axoplasm after nerve injury. *Mol Cell Proteomics*, **3**: 510-520.
- [5] Bódi, J., Mihala, N., Hajnal, A., Medzihradszky, K.F., Süli-Vargha, H.

- (2003) Synthesis of the C-terminal domain of the tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1). *J Pept Sci*, **9**: 430-441.
- [6] Békési, A., Zagyva, I., Hunyadi-Gulyás, E., Pongrácz, V., Kovári, J., Nagy, A.O., Erdei, A., Medzihradzsky, K.F., Vértessy, B.G. (2004) Developmental regulation of dUTPase in *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem*, **279**: 22362-22370.
- [7] Csizmók, V., Bokor, M., Bánki, P., Klement, E., Medzihradzsky, K.F., Friedrich, P., Tompa, K., Tompa, P. (2005) Primary contact sites in intrinsically unstructured proteins: the case of calpastatin and microtubule-associated protein 2. *Biochemistry*, **44**: 3955-3964.
- [8] Ott, P.G., Varga, G.J., Szatmári, A., Bozsó, Z., Klement, E., Medzihradzsky, K.F., Besenyei, E., Czelleng, A., Klement, Z. (2006) Novel extracellular chitinases rapidly and specifically induced by general bacterial elicitors and suppressed by virulent bacteria as a marker of early basal resistance in tobacco. *Mol Plant Microbe Interact*, **19**: 161-172.
- [9] Hlavanda, E., Klement, E., Kókai, E., Kovács, J., Vincze, O., Tökési, N., Orosz, F., Medzihradzsky, K.F., Dombrádi, V., Ovádi, J. (2007) Phosphorylation blocks the activity of tubulin polymerization-promoting protein (TPPP): identification of sites targeted by different kinases. *J Biol Chem*, **282**: 29531-29539.
- [10] Darula, Z., Medzihradzsky, K.F. (2009) Affinity enrichment and characterization of mucin core-1 type glycopeptides from bovine serum. *Mol Cell Proteomics*, **8**: 2515-2526.
- [11] Klement, E., Lipinszki, Z., Kupihár, Z., Udvardy, A., Medzihradzsky, K.F. (2010) Enrichment of O-GlcNAc modified proteins by the periodate oxidation-hydrazide resin capture approach. *J Proteome Res*, **9**: 2200-2206.
- [12] Darula, Z., Medzihradzsky, K.F. (2014) J Glycan Side Reaction May Compromise ETD-Based Glycopeptide Identification. *Am Soc Mass Spectrom* [Epub ahead of print].
- [13] Rigó, G., Ayaydin, F., Tietz, O., Zsigmond, L., Kovács, H., Páy, A., Salchert, K., Darula, Z., Medzihradzsky, K.F., Szabados, L., Palme, K., Koncz, C., Cséplő, A. (2013) Inactivation of plasma membrane-localized CDPK-RELATED KINASE5 decelerates PIN2 exocytosis and root gravitropic response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **25**: 1592-1608.
- [14] Farkas, A., Maróti, G., Durgó, H., Györgypál, Z., Lima, R.M., Medzihradzsky,

K.F., Kereszt, A., Mergaert, P., Kondorosi, E. (2014) *Medicago truncatula* symbiotic peptide NCR247 contributes to bacteroid differentiation through multiple mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**: 5183-5188.

Medzihradszky F. Katalin
MTA SzBK Biokémiai Intézet, Szeged;
Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy,
University of California San Francisco,
San Francisco, USA

ÚJ DNS SZEKVENÁLÁSI MÓDSZEREK II.

Boros Imre

SZTE Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék,

SZBK Biokémiai Intézet, Szeged

borosi@bio.u-szeged.hu

Az összefoglaló első része a DNS szekvenálási technikák fejlődését és az új generációs módszerek (NGS) legfontosabb jellemzőit tekintette át (lásd Biokémia XXXVIII. évfolyam 1. szám, 2014. március, 20-32. oldal). A mostani írás a leggyakrabban használt néhány „szekvenáló platform” és egy-két sikerrel kecsegtető új próbálkozás jellegzetességeit foglalja össze. Ezeket mint szintézissel, hibridizáció-ligálással és egyedi molekulák vizsgálatával szekvenciát meghatározó eljárások csoportosítom, megjegyezve, hogy egyesek besorolása ezek közül egynél több csoportba is helytálló lehet. Nem tárgyalom a szekvenálási eljárások megkezdését bevezető és befejező eljárások kiterjedt témaköreit. Az elsőbe tartoznak mindazok a módszerek, amelyekkel a szekvenálandó nukleinsav mintát előállítják. Tekintettel, hogy ez archív anyag, formalinnal fixált és parafinba ágyazott metszet, friss szövetek és igen sokféle más forrásból is származhat és szelektálása, konverziója, dúsítása is több módon történhet, a téma önmagában is külön cikket igényelne. Hasonlóan terjedelmes lenne a szekvenálási adatok feldolgozását érintő kérdések áttekintése is.

Szekvenálás szintézissel

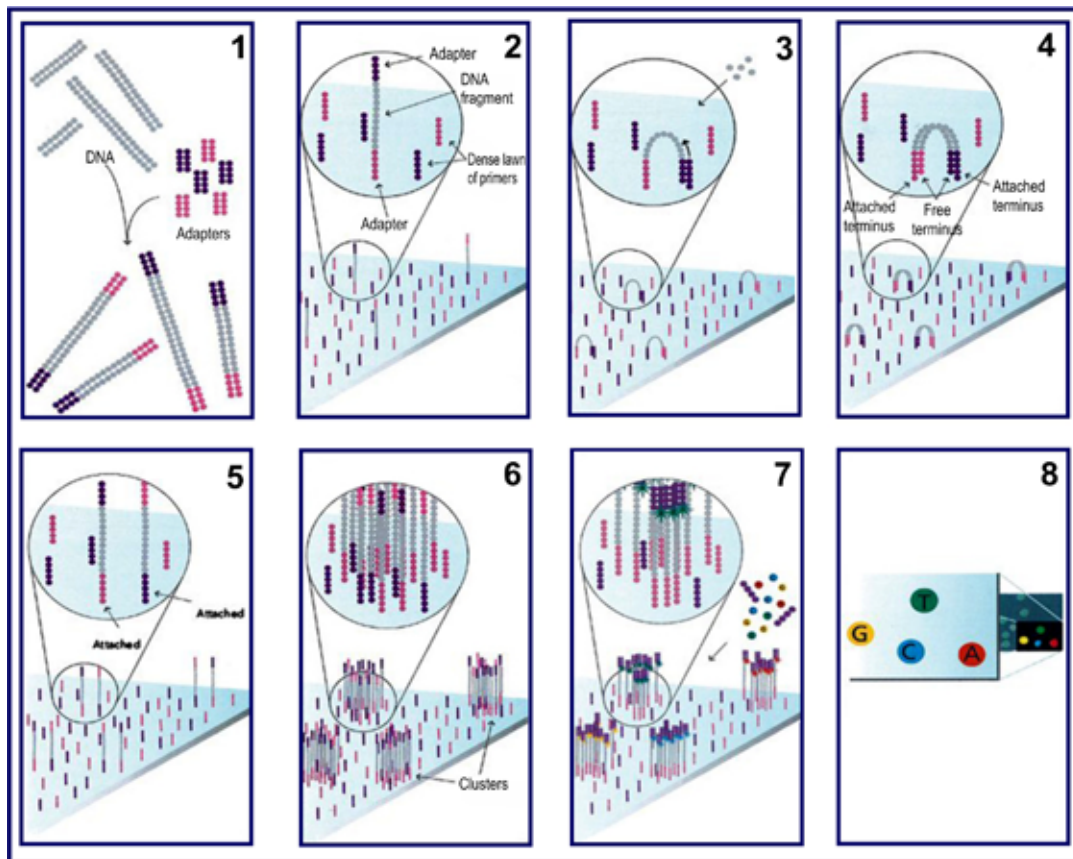
A szintézissel megvalósított szekvenálásokban a vizsgált DNS az egyesszálú templát, ami alapján DNS polimeráz épít komplementer szálát. A szintézis követése a foszfodiészter kötés kialakításakor képződő valamelyik ion (pirofoszfát vagy proton) kimutatása vagy a nukleotid beépüléssel járó fluoreszcencia jel változás mérése alapján történik. A szintézissel megvalósított szekvenálások variációi többek között abban különböznek, hogy vannak-e blokkoló csoportok a beépítésre kerülő nukleotidokon és hogy az egyes nukleotidok fluoreszkáló jelzései eltérőek-e vagy azonosak.

Piroszekvenálás

Az első kereskedelmi sikeres NGS készülék a piroszekvenálás módszert alkalmazó Life Sciences 454 GS volt. Ennek továbbfejlesztett változata a 2008-ban bevezetett Roche GS FLX Titanium és ezt a módszert használja a Roche benchtop készüléke, a GS Junior is. A piroszekvenálás során DNS polimerázzal végzett nukleotid beépítéskor felszabaduló pirofoszfát hasítása hajtja az ATP szintézist

adenozin-5'-foszfoszulfáttól (APS), az ATP-t pedig luciferáz használja és a luciferin-oxyluciferin átalakulást katalizálva fényfelvillanást okoz. A szekvenáláshoz használt könyvtár készítéséhez a feldarabolt minta-fragmentumokhoz adaptort ligálnak, majd a fragmentumokat agaróz szemcsékhez kapcsolják. A szemcsék felszínükön az adattorral komplementer oligot tartalmaznak. A minta hígításával biztosítják, hogy szemcsénként átlagosan csak egy-egy fragmentum kötődjön az adaptor és a szemcse felületéhez rögzített komplementer oligonukleotid hibridizációjával. A szemcséken kötött fragmentumokat ezt követően emulziós PCR reakcióban amplifikálják. Az emulzió képzésénél is fontos, hogy egy-egy csepp csak egy-egy szemcsét tartalmazzon. A reakciókat követően a fragmentumok milliányi másolatait tartalmazó szemcséket, és kisebb szemcsék felületére kapcsolva a reakcióhoz szükséges enzimeket, ún. pikotiter lemez (PTP) lyukaiba helyezik. A szekvenáló készülékben a pikotiter lemezt optikai vezető üvegszálakra helyezik, olyan elrendezésben, hogy az egyes lyukakból a fényfelvillanások külön-külön rögzíthetők az optikai vezető másik végéhez kapcsolt CCD kamerával. A DNS szintézishez lánckezdő oligonukleotidot (primer), polimerázt és a 3'-OH-n védőcsoportot nem tartalmazó prekursorokat adnak a szemcsékhez. A PTP felületén egyenként folytatják át a nukleozid-trifoszfátokat, ahonnan azok diffúzióval jutnak be az agaróz szemcsék közé. Fényfelvillanás jelzi, hogy melyik nukleotidnál történt beépülés és a felvillanások a helyzeti információ alapján egy-egy fragmentumhoz rendelhetők. A fényfelvillanás intenzitása arányos a beépült nukleotidok számával. Az egyes szemcséken eltérő számban képződött templát szám okozta intenzitás eltérések kompenzálásához az adaptor elejének szekvenciája alapján a rendszer kalibrálja, hogy mekkora az egy nukleotid beépítése okozta fényintenzitás. Homopolimer részek szintézisekor hibát okozhat azonban, hogy a több azonos nukleotid beépülésekor az érzékelő telítődik, illetve a jel intenzitás nem arányos a beépülések számával. A nukleotid azonosítás, „base-calling” során a rendszer a felvillanás sorozatokat nukleotid sorrendekké alakítja, több minőségi ellenőrzést elvégezve. A piroszekvenálást használó eszközök erőssége, hogy hosszú leolvasásokat tesznek lehetővé. Hátrányuk a viszonylag magas költség és korlátozott teljesítmény.

Szekvenálás ciklikusan ismételt (megfordítható) láncterminációval (cyclic reversible termination)



1. ábra. Az Illumina szekvenálás szintézissel módszer a cég által készített ismertető szerinti lépésekben (1-8) összefoglalva. Fontos kiemelni, hogy a különböző minták DNS (DNA) fragmentumai az adapterekbe épített „vonalkód” nukleotid részletek alapján a könyvtárak elkészítését követően keveredhetnek és együtt kezelhetők. A vázlat az egyes lépések részletezését tekintve nagyvonalú, pl. a 2. mezőben bemutatott állapot (az átfolyó cella felületen kovalensen rögzített ss templát fragmentumok) eléréséhez a következő lépésekre van szükség: (a) ssDNS fragmentumok kapcsolása adaptor régiók hibridizációjával a cella felületen, (b) komplementer szál szintézise a cella felületen rögzített adaptorról, mint primerről indított szintézissel, (3) denaturáció és a kovalensen nem kötött eredeti fragmentum eltávolítása.

A fluoreszcens színekkel megkülönböztetett terminátor nukleotidokat használó Sanger-féle ciklusos láncterminációs szekvenálást az Illumina cég NGS készülékei alkalmazzák. A szekvenálás tehát ezekben az eszközökben is szintézissel történik. A lánchosszabbítási lépésekben egyidejűleg mind a négy nukleotid jelen van, de minden ciklusban csak egy nukleotid épülhet be, mert a prekursorok a dezoxiribóz 3'-OH-n védőcsoportot tartalmaznak. A négyféle nukleotid a bázishoz kapcsolt fluoreszcens csoportok alapján optikailag megkülönböztethető. A minta-előkészítés első lépése ebben a módszerben is adaptor és azonosító „barcode” részből álló oligonukleotid kapcsolása a fragmentált DNS végeire (1. ábra). Az adattorral ellátott fragmentumokat ezt követően átfolyó cella felületéhez

kapcsolják. A cella üvegbe mart, felületkezelt U-alakú vájat, aminek két végén történik a reagensek be-, illetve kiáramoltatása. A cella felülete akrilamiddal van bevonva, ehhez rögzített adaptor-komplementer oligonukleotidok biztosítják a fragmentumok kapcsolódását. Egyetlen négyzetmilliméter cella felület több százezer fragmentum kapcsolódását biztosíthatja. Már a kapcsolás és minden további lépés is a szekvenáló berendezésben történik. Ezek során először az átfolyó cella felületén rögzített fragmentumokat PCR reakcióval megsokszorozzák. Az ún. „bridge amplification” PCR reakcióban a fragmentumok két végére ligált kétféle adapter az átfolyó cella felületen váltakozva található adapter-komplementer oligonukleotidokkal hibridizálva biztosítja mindkét templát szál megsokszorozását. A sokszorozás eredményeként a cella egyes pontjain egy-egy fragmentum több százezer másolata alkot rögzített kettősszalú fragmentum csoportokat (klaszterek). A következő lépésben a duplaszalú DNS egyik láncát az adapterben tett hasítást követően denaturációval eltávolítják, a rögzítve maradt egyszálú fragmentumhoz primert kapcsolnak és a lánchosszabbítások ciklikus lépései következnek. Ezek során nukleotid beépítés, a cella felület fluoreszcencia jeleinek optikai rögzítése, a védő és fluoreszkáló csoportok eltávolítása és újabb nukleotid beépítés lépések követik egymást 35-300 cikluson át. Az adaptorok és átfolyó cella megfelelő megválasztása, valamint a megfelelő minta előkészítés lehetővé teszi azt is, hogy a fragmentumok egyik végéről indított szekvenálás befejezése után eltávolítsák a szintézis terméket és a másik végről is szintézist végezzenek („paired end szekvenálás”). Ez fragmentumonként akár 2 x 300 nukleotid szekvencia meghatározását eredményezheti. A futások időigénye a ciklusok számától függően több nap lehet. Ez persze nem jelenti, hogy a használt enzimnek és reagenseknek ilyen hosszú élettartammal kell rendelkezni. A használt anyagok a készülék termosztált dobozában helyezkednek el közvetlen felhasználásukig. A leírt szekvencia meghatározási módszer előnye, hogy mivel egyszerre csak egy nukleotid beépítése történik, az ismétlődések nem okoznak hibát. Nukleotid kimaradás és fáziseltolódás előfordulhat azonban, ha egy védőcsoport vagy fluoreszcencia jelet adó csoport eltávolítása nem történik meg, vagy azok valamelyike a prekuzoron nincs meg.

Az Illumina cég a különböző teljesítményre képes készülékek széles skáláját kínálja. Az adatbázisokban ma megtalálható szekvenciák többsége a HiSeq 2000 és 2500 használatával nyerték. A legújabb rendszer a HiSeq X Ten, amivel a cég számítása szerint valóban elérhető lesz az 1000 USD/genom költség még az eszköz amortizáció, reagens és munkaerő költségek figyelembevételével is. A több egységet tartalmazó rendszer egy-egy egysége háromnaponta 1,8 terabázis

(Tb) szekvencia adat termelésére képes. Az Illumina platformok „benjaminja” a MiSeq, ami egy futásban maximum 15 Gb szekvencia leolvasására képes. Ennek egy software-specifikus változata a klinikai alkalmazásra FDA jóváhagyást kapott MiSeqDx.

Szekvenálás protonfelszabadulás méréssel

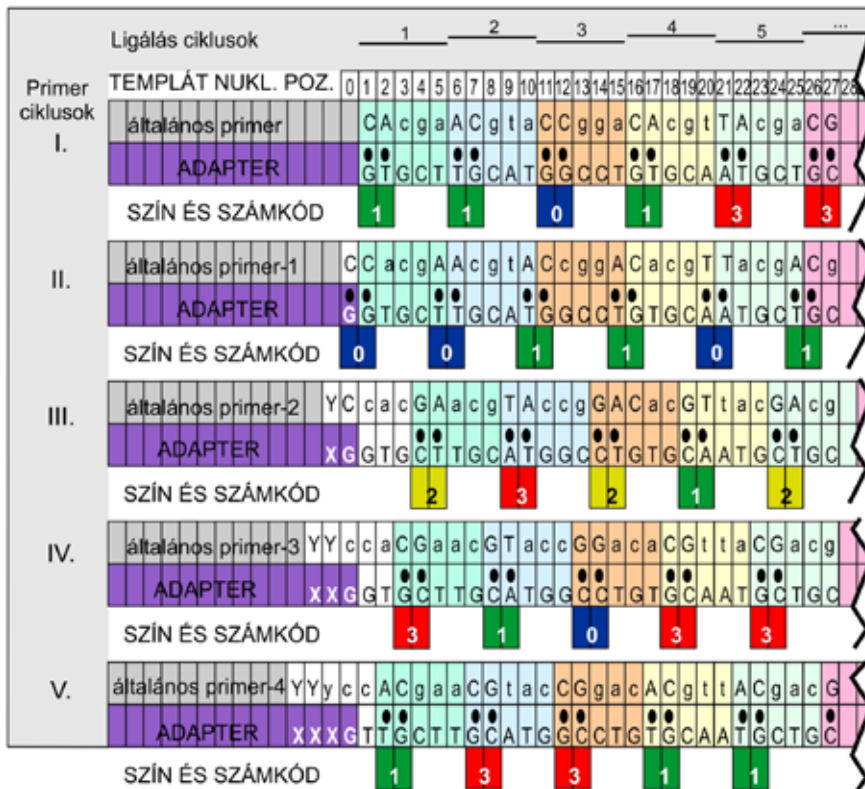
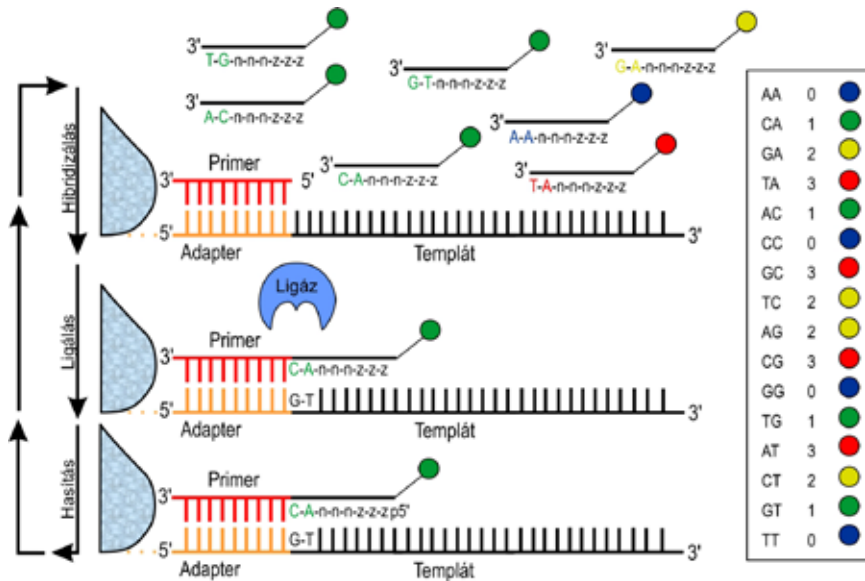
Szintézissel megvalósított szekvenálást végez a 2010-ben bemutatott Ion Torrent berendezés is. Ebben a szekvenálás a nukleotidbeépítéskor felszabaduló H^+ kimutatásán alapul. A könyvtár készítés első lépései ebben a módszerben is a DNS fragmentálása, fragmentum végek enzimes javítása és adaptorok ligálása. Ezt követően a fragmentumokat összekeverik felületükön adaptor-komplementer oligokat tartalmazó szemcsékkel, PCR reagensekkel és DNS polimerázzal. A szemcsék és fragmentumok helyes keverési aránya fontos, mert ezzel biztosítják, hogy a következő lépésben, amikor olajjal összerázva a reakciót micellák képződnek, azok többsége csak egy szemcsét tartalmazzon, aminek a felületén egy DNS fragmentum kapcsolódott. A következő lépés PCR amplifikáció, aminek eredményeként minden templáton másolatok százaléki képződnek. Ezt követi az emulzió „feltörése”, az olaj eltávolítása és a DNS-t tartalmazó szemcsék összegyűjtése. A DNS-t tartalmazó szemcsékhez primert adnak és az Ion Chip zsebeibe helyezik. Ez egy specifikusan kialakított félvezető szilikon mikrochip. A chip felső rétege perforált szigetelő lemezke. Ennek felső felülete képezi egy áramlási cella alját, amiben a reagenseket mozgatják. A lyukak alsó részükkel H -ion érzékelőhöz csatlakoznak, ami a nukleotid beépítéskor felszabaduló proton koncentrációváltozást elektromos jelként érzékeli. A nukleotid prekursorokat egyenként folytatják át a chip felszínén. A jel erőssége arányos a nukleotid beépülések számával. A szekvenátor az adaptor nukleotidjai alapján kalibrálja az egyes zsebekre az egy nukleotid beépítéskor generált jelet (ez a fragmentumok számától, azaz a PCR amplifikációtól függ). A használt nukleozidtrifoszfátok nem hordoznak $3'$ védőcsoportot, ezért homopolimer részek előfordulásakor a több nukleotid beépülés eredményezte jel megfeleltetése a beépült nukleotidok számának hibás lehet. Ez a készülék hibaspektrumának döntő komponense. Az IonTorrent PGM készüléke a kisebb laborok számára is elérhető három benchtop készülék (PGM, GS Junior, MiSeq) egyike. Előnye a gyorsaság és viszonylag olcsó üzemelési költség. Számos helyen használják hazánkban is. Nagyobb testvére, a Proton most kezd megjelenni a hazai laboratórium(ok)ban.

Szekvenálás ligálással

A hibridizáció-ligálás ismétlésével végzett szekvencia meghatározás elvi alapja, hogy megfelelő körülmények biztosításakor a ligáz csak olyan szomszédos nukleotidok között alakítja ki a foszfodiészter kötést, amelyek tökéletesen illeszkednek templát párjaikhoz. Mivel automatizált szintézissel oligonukleotid keverékek egyszerűen előállíthatók és ezekben a sokféleség ellenére is egy-egy szekvencia bőven elegendő ahhoz, hogy a fluoreszcencia jele alapján detektálható legyen, a hibridizáció-ligálási módszerekben lényegében kiválogatják a vizsgált pontokon tökéletesen illeszkedő komplementer oligonukleotidokat. A templát az a molekula, amit vizsgálnak. A hozzákapcsolt adaptor az előbbi azonosítását, megsokszorozását és rögzítését teszi lehetővé, valamint primereket köt, amelyekkel a templáttal H-hidakat képző „vizsgáló” oligonukleotidokat (próbák) a ligáz kovalens kötéssel összekapcsolja. Ez utóbbiak a lehetséges szekvencia variánsok teljes spektrumát alkotják. Egyes tagjaik megkülönböztetése fluoreszkáló jelzéseik alapján történik.

2 bázis olvasás

Oligonukleotidok hibridizálásával és ligálásával végez nukleotidsorrend meghatározást az Applied Biosystems SOLiD (Sequencing by Oligo Ligation and Detection) szekvenáló készülék. Ebben az eljárásban adaptorokkal ligált fragmentumokat kapcsolnak mágneses gyöngyökhöz, amelyek felületükön az adaptorokkal komplementer oligokat tartalmaznak. Emulziós PCR-rel amplifikálást végeznek, majd a gyöngyöket kovalens kötéssel egy speciálisan előkezelt üveglemez felületéhez kapcsolják, amit a szekvenáló átfolyó kazettájába helyeznek. Egyidejűleg két lemezt kezelnek, míg az egyikben a szekvenáló reagenseket folytatják át, a másikkal a jelet rögzítik. A szekvenálás lényegében ismételt ligálási ciklusokból áll. Minden ciklus 10-15 ligálási lépést tartalmazhat. Majd ezek ismétlése következik egy újabb primert használatával. Öt primer ciklusban, melyek mindegyikében egy-egy nukleotiddal megrövidített primert használnak (tehát 5-ször 10-15 ligálási ciklus eredményeként) fragmentumonként 50-75 nukleotid sorrendje határozható meg. A szekvenálási folyamat lépéseit a 2. ábra mutatja.



2. ábra. A szekvenálás ligálással SOLiD logika. A felső rész egy ligálási ciklus részletező bemutatása. A használt oktamer próba keverék néhány tagja és a 3' végi két nukleotidjuk szerinti színkód látható. Az egyszerűbb áttekintéshez, csak a zöld jelet hordozó próbákból szerepel mind a négy variáns (TG, AC, GT és CA), amelyekből a CA végű kapcsolható a példaként megadott templát szekvencián a primerhez. Az ábra alsó része szemlélteti, hogy a felső részen bemutatottak szerinti egymást követő ligálási ciklusok hogyan adnak információt az első primerrel az 1-2. és 6-7. és 11-12.... nukleotidokról. Ezt a részleges szekvencia információt a további primerekkel végzett ligálási ciklusok teszik teljessé, minden pozícióról kétszer nyerve szekvencia információt („2 base calling”).

A gyöngyök felületén rögzített fragmentumokhoz először az adapterrel komplementer primert adnak, aztán egy próba oligo keveréket és ligázt. Amelyik próba oligonukleotid 3' vége megfelel a primer 5' végével szomszédos nukleotidoknak, azt a ligáz odakapcsolja. Az oligonukleotid keveréket alkotó oligonukleotidok oktamerok. Az 3' végi két nukleotid egy kód szerint megfelel négy lehetséges fluorszcencia jel valamelyikének. A következő három pozícióban (3-4-5) bármely nukleotid előfordulhat. Ez tehát már önmagában 4^3 , azaz 64 oligonukleotid variáció. A további három pozícióban is vannak eltérések, de ezekben a nem szokványos bázisok szerepe a fontos a hibridizáció erősítésére és az 5' végen a fluoreszkáló jelzés. Minden ligálási lépést követően rögzítik a színt a felület egyes pontjain. Ez a templát két nukleotidjáról ad információt („2-base calling”). A következő lépésben a hibridizáló oligonukleotidba épített módosított nukleotid mellett az 5. és 6. nukleotidok között kémiai hasítást végeznek és a próba oligo 6-7-8 nukleotidjait eltávolítják. A továbbiakban a meghosszabbított primert használva újra elvégzik a ligálási ciklust. Ez a 6. és 7. pozícióban elhelyezkedő nukleotidokról szolgáltat információt. 10-15 alkalommal elvégezve a ligálási ciklust így 50-75 nukleotidnyi részre kiterjedően nyerhető részleges szekvencia adat. Mivel a két utolsó nukleotid tizenhat variációban fordulhat elő, egy adott primer használatával az információ egy-egy hibridizációs lépés után nem egyértelmű. Azzá tehető azonban azzal, hogy egy-egy nukleotiddal elcsúsztatva a primert másik ligálási lépésekben újra információt nyernek a szomszédos nukleotidok alkotta párokról. A kívánt számú ligálási ciklus után tehát a primert egy nukleotiddal rövidebbel cserélik, és újra elvégzik a ligálási ciklusokat. Négy primer rövidítési lépéssel és primerekként 10-15 ciklust használva, 50-75 nukleotidnyi folyamatos szekvencia nyerhető. A SOLiD eljárás erőssége a „2 base calling”, ami jelentősen megnöveli a pontosságot. Hátránya azonban a rövid leolvasási hossz.

cPAL technika

Szekvenálás ligálással módszert alkalmaz a Polonator G.007 készülék (Compleat Genomics) is, de ebben egy-egy nukleotid leolvasása történik egy-egy ligálási lépésben. Újszerű a módszerben a templát készítése. A genom DNS-t ultrahangozással törlik, majd adaptorokat kapcsolnak hozzá, körré zárják, restriktions enzimmel hasítják és újra adaptort ligálnak a végekhez majd újra körré zárják, míg kb. 400 bp-os cirkuláris molekulákat nyernek, melyekben négy különböző adaptor van. Ezeket a cirkuláris molekulákat PCR-rel felszaporítják, egy egymással összehurkolt molekulákból álló ún. nanoball (DNB) szerkezeteket kialakítva. A DNB-t olyan szilikon chipre kapcsolják, amelynek a felületén

rendezetten, egymástól mikrométer távolságra vannak DNS kötőhelyek. Egy helyre csak egy minta fragmentum tapadhat ki és rendezett elrendezés jön létre kis felületen. A DNS-hez 40-40 oligonukleotid alkotta keverékekkel végeznek hibridizációt és ligálást. A keverék elemeit alkotja minden adaptorhoz egy-egy komplementer szekvencia (8 db horgony: 4 adaptor mindkét oldalára 1-1) és minden horgony mellé 4-4 próba. A próbák négy különböző fluoreszkáló jellel jelöltek, az adapterekhez legközelebbi nukleotidok minősége szerint. Horgony és próba szekvenciákat kombináltan használva a keverékekben hibridizáció, ligálás, lemosás, hibridizáció, ligálás ismétlésével minden adaptor mellett egy rövid szekvenciárészlet meghatározható. (cPAL, combinatorial probe-anchor ligálás technika). Egy DNB-ről 62-70 nukleotid szekvencia olvasható. A módszer előnyei, hogy kicsi a hibalehetőség, mert ez nem láncreakció, ezért nem okoz hibát, ha egy lépés nem teljes. Továbbá olcsó is a módszer, mert a fragmentum elrendezés miatt kicsi a reagens igény. Három humán genom szekvenálása alapján számolva genomként 4400 USD volt a költség. Az analízis 45-87-szeres lefedettséget és a genom szekvencia 86-95 %-át eredményezte. Hátránya azonban a módszernek, hogy a cirkularizációs lépések miatt egyes genom részek kimaradnak és a nagyon rövid leolvasások miatt (10 bp) a hosszabb ismétlődéseknél nem meghatározható a szekvencia.

Egy molekula szekvenálási módszerek

A módszerek, illetve platformok harmadik csoportjába az egy molekulán végzett szekvencia analízisről és az ilyen irányú próbálkozások egy részéről írok. Ezek vonatkozásában legkevésbé teljes az áttekintés, mert próbálkozások sokaságáról található többé-kevésbé részletes említés az irodalomban. E módszerek egy része valójában szintézissel megvalósított szekvenálás, de van közöttük a polinukleotid lánc bontásán alapuló és számos más módszer is, amelyek a DNS láncok nukleotid egységeinek „letapogatását” végzik.

Szintézis követése egyedi molekulákon, valós időben

Az egyedi molekulákon folyó szintézis valós időbeli követésén alapul (single-molecule real-time, SMRT) a Pacific Biosciences cég módszere. Az eljárás folyamatosan követi fluoreszcensen jelölt nukleotidok láncba építését a szekvenálandó DNS templát alapján. A szintézist Ø29 DNS polimeráz végzi egy speciálisan kialakított nanoszerkezetben (zero-mode waveguide, ZMW). Ezt üvegre helyezett vékony alumínium rétegbe (100 nm) képzett nanométeres nagyságrendű lyukak százazrei alkotják. Minden lyuk alulról gerjesztő lézerrel megvilágítható. A mérete miatt a lyukban a fény nem terjed, de az alsó

rétegben fluoreszcencia jel képződhet, ami érzékelhető. A méret és a geometriai elrendezés biztosítja, hogy az egymás melletti lyukakban történő gerjesztések eredményei külön-külön érzékelhetők. A minta DNS-t polimerázzal összekeverve helyezik el a százezernyi ZMW szerkezetet tartalmazó SMRT cellába úgy, hogy minden lyuk alján egyetlen molekula polimeráz rögzül. Egy lyukat így egy 20 zeptoliteres reakcióedénynek tekinthetünk. A szintézishez nukleozid-pentafoszfát szubsztrátokat használnak, amelyek a beépítéskor lehasadó részen hordozzák a spektrálisan megkülönböztethető jelzést. A beépülés érzékelését a nanoszerkezet elrendezés biztosítja: csak a beépülő nukleotid prekuzora tartózkodik a lyuk alján a polimeráz aktív centrum közelében kellő hosszú ideig (ms) ahhoz, hogy érzékelhető fluoreszcencia jelet adjon. A minta előkészítéskor egy hairpin linkerrel összekapcsolva a dsDNS két szálát a fragmentum mindkét polinukleotidláncának szekvenciája olvasható (SMRTbell templat). A PacBio RS rendszert használták a Haiti kolerajárvány idején a kórokozó azonosítására. Öt baktérium törzs szekvenálását végezték el a berendezéssel. Az átlagos leolvasás hossz 700-1000 nukleotid volt, esetenként azonban 10.000 nukleotidos leolvasásokat is elértek. Az egyes leolvasások pontossága 81-83 % volt. Az egyedi leolvasások viszonylagos magas hibájának oka az, hogy esetenként egy prekuzor hosszabb ideig tartózkodik az aktív centrum közelében, de nem kerül beépítésre, vagy éppen fordítva, olyan gyorsan beépítésre kerül, hogy nem szolgáltat érzékelhető jelet.

Szintézis követése egyedi molekulákon, nem valós időben

Egyedi templat-molekulákon folyó szintézis követésével nyer szekvencia adatot a kevésbé elterjedt HeliScope készülék is. A készülék átfolyó cellába helyezett fedőlemezről készít fényképeket és rögzíti az egyedi molekulákon, egy-egy nukleotid addíciójával zajló szintézis lépéseit. A fedőlemez felületen vagy a templat fragmentumok vagy a primerek rögzítettek. Minden prekuzor ugyanazzal a fluorofórral jelzett. Minden ciklus után fényképen rögzítik a beépülési helyeket a lemezen, majd eltávolítják a fluoreszkáló csoportot és új ciklust indítanak. A beszámolók szerint ez a módszer jó eredményt adott a fonalféreg genom szekvenálásával kipróbálva. Az átlagos leolvasások ugyan rövidek (> 25) voltak, és előfordultak hibák, a nagyszámú fragmentum olvasásával azonban nagy mennyiségű és jó minőségű szekvencia adat volt nyerhető (2,8 Gb).

Szekvenálás „nanopore” technológiával

A fejlesztés alatt álló DNS szekvencia meghatározásra szolgáló berendezések egy részének működési elve a nanométeres nyílású membránba ágyazott

csövecskéken (nanopore) áthaladó egyedi DNS molekulák által létrehozott változások kimutatása. Az áthaladó nukleotidok változásokat okoznak a póruson át zajló ionáramlásban, ami a pórust tartó membrán két oldalán mérhető. A nanopórusok biológiai vagy mesterséges anyagból kialakított, a dsDNS vastagságával összemérhető (4 nm) átmérőjű csövecskék. Fehérjéből és szerves anyagból képzett nanopórusokkal egyaránt folynak kísérletek. A legsikeresebben használt fehérje csatorna a *Staphylococcus* alfa-hemolizin (α HL) biológiai membránba építve. A szintetikus nanopórusokat szilikonból vagy más mesterséges anyagokból, pl. grafénből készítik. A csövecskéket membránba építik és a membrán által elválasztott térrész közötti ion elmozdulást érzékeny elektronikával mérik. Nehézséget okoz, hogy a bázisok hasonlósága miatt kicsi az egyes bázisok okozta különbség és viszonylag nagy az alapzaj. A leggyakrabban használt biológiai membránok vastagsága 5 nm, az ezekben kialakított csatorna tehát lényegesen hosszabb, mint két bázis távolsága (3,4 Å) a DNS-ben. Mivel 10-14 nukleotid elfér a csőben, az áram átfolyás blokkolásának mérésével lehetetlen egyedi bázis feloldást elérni. Nehézséget okoz a sebesség is, mert az elektroforézissel mozgatott DNS áthaladási sebessége (nukleotid/mikrosec nagyságrend) Mhz felbontású érzékelést kívánna. Ahhoz, hogy 120-150 mV potenciálnál, ami tekintettel a membrán vastagságára igen jelentős feszültségkülönbséget jelent, pA nagyságrendű áramjel legyen mérhető, az áthaladási sebességet le kell lassítani nukleotid/ms nagyságrendre. A szintetikus nanopórusok előnye, hogy kiküszöbölhető velük a biológiai lipid kettősréteg instabilitása és nehéz kezelhetősége. További előnyük, hogy könnyebben összekapcsolhatók párhuzamosan működő egységekké. Grafénnal végzett kísérletekben már sikerült 1-5 nm vastag, 5-10 nm hosszúságú csöveken DNS-t átvezetve áramingadozásokat kimutatni.

A „nanopore” technikával DNS szekvencia meghatározás eddig legeredményesebben az Oxford Nanopore MinION nevű eszközzel sikerült. A 2014 februárjában tesztelt eszköz a „lab on a chip” technológia megtestesítője. Előállítói olcsó, a laboratóriumon kívüli környezetben is használható szekvenátornak szánják. Az eszközben baktériumban termelt alfa-hemolizin heptamerek alkotnak nanopórusokat. Minden nanopórushoz exonukleáz kapcsolt, és az egyenként levágott nukleotidok a csatornában ciklodextrinhez kötődnek (a módszer tehát tekinthető szekvenálásnak bontással). A nukleotid kötött állapotában történik az ionáram változás érzékelése. A négy nukleotid különböző mértékű áram változást okoz, ezért megkülönböztethető. Egy-egy nukleotid áthaladás 20 ms. Ezzel az áthaladási sebességgel a human genom

100.000 póruson egy óra alatt átjut, azaz leolvasható. A készülék, amelynek mérete egy csomag rágógumihoz hasonlítható, a közelmúltban tett próbák szerint még nem váltja be a várakozásokat, de figyelemre méltó eredményeket mutat. A kipróbálás két baktérium genomon történt. Az átlagos leolvasási hossz 5,4 kb volt és egyes olvasások elérték a 10 kb-t is. Teljes genomokat azonban még nem sikerült összerakni csak a MinION készülékkel szerzett adatok alapján.

Befejezőként még egy érdekes szekvenálási próbálkozást említek. Ebben optikai csipessel rögzített polisztirol gyöngyökhöz rögzítik a DNS fragmentum végeit és RNS polimerázzal transzkripciót végeznek rajta. A nukleotidok beépítése konformáció változással jár, ami a DNS kismértékű torzulását okozza. Ez a polisztirol szemcse \AA nagyságrendű, de jól érzékelhető elmozdulását eredményezi. A Sanger-féle láncterminációs módszer legkorábbi változatához hasonlóan, ha egyes reakciókban egy-egy nukleotid prekursor koncentrációja alacsonyabb, mint a többi, akkor a létrejövő elmozdulások ritmusa a szekvenciáról szolgál információt. A módszer kipróbálói 32 nukleotid olvasásakor 30-at helyesen azonosítottak.

Számos további DNS nukleotid sorrend meghatározási módszerrel tett próbálkozásokról található hír az irodalomban. Az ezekből származó megoldások talán a szekvenálás még újabb nemzedékeinek megszületését jelentik majd. Nehéz azt megjósolni, hogy melyik lesz tíz-tizenöt év múlva az uralkodó technika, és hogy miben lesz az közös a ma használtakkal. Az bizonyos azonban, hogy alkalmazásaikkal lehetőség nyílik majd a genetikai és epigenetikai különbségek feltárására egyedek és többsejtű szervezetek egyes sejtjei között is. Izgalmas még gondolni is arra, hogy ezzel mi mindenre nyerhetünk majd magyarázatot.

Köszönetnyilvánítás

Az összefoglaló elkészítését a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program című kiemelt projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Irodalomjegyzék

Mardis, R.E. (2013) Next-Generation Sequencing Platforms. *Annu Rev Anal Chem*, **6**: 287-303.

Niedringhaus, P.T., Milanova, D., Kerby, M.B., Synder, M.P., Barron, A.E. (2011) Landscape of Next-Generation Sequencing Technologies. *Anal Chem*, **83**: 4327-4341.

Metzker, L.M. (2010) Sequencing Technologies – the next generation. *Nature Rev Gen*, **11**: 31-46.

Ansorge, J.W. (2009) Next- generation DNA sequencing Techniques. *New Biotech*, **25**: 195-203.



Boros Imre Miklós 1953-ban született Taktaharkányban. 1978-ben végzett a JATE biológus szakán. Ekkor már több éve diákkörös hallgatóként az SZBK-ban dolgozott Venetianer Pál csoportjában. 1985-ben szerzett kandidátusi fokozatot, 2000-ben MTA Doktora címet. Pályakezdésétől az SZBK Biokémiai Intézet munkatársa. 2002-től a Szegedi Egyetemen egyetemi tanára, jelenleg a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék és a Biológus Tanszékcsoporthoz vezetője. Több alkalommal dolgozott hosszabb időn át az Egyesült Államokban (1986-89 NIH Cancer Institute, 1992-95 Case Western University, Medical School). Cancer Institute Oncology Research Faculty Development Award, Széchenyi Ösztöndíj, Szentágotthai Ösztöndíj, Straub plakett, Ipolyi Arnold Díj elismeréseket kapott. Érdeklődése a génműködés transzkripció szinten megvalósuló szabályozása, az utóbbi tíz évben munkacsoportja a kromatinszerkezet szerepét és epigenetikai hatásait vizsgálja.

BIOAKTÍV PEPTAIBOL MOLEKULÁK

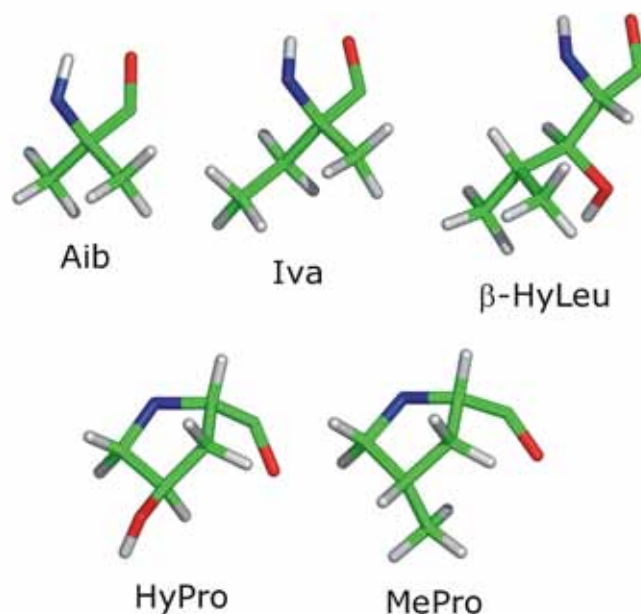
Leitgeb Balázs

*MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biofizikai Intézet;
Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar,
Mikrobiológiai Tanszék*

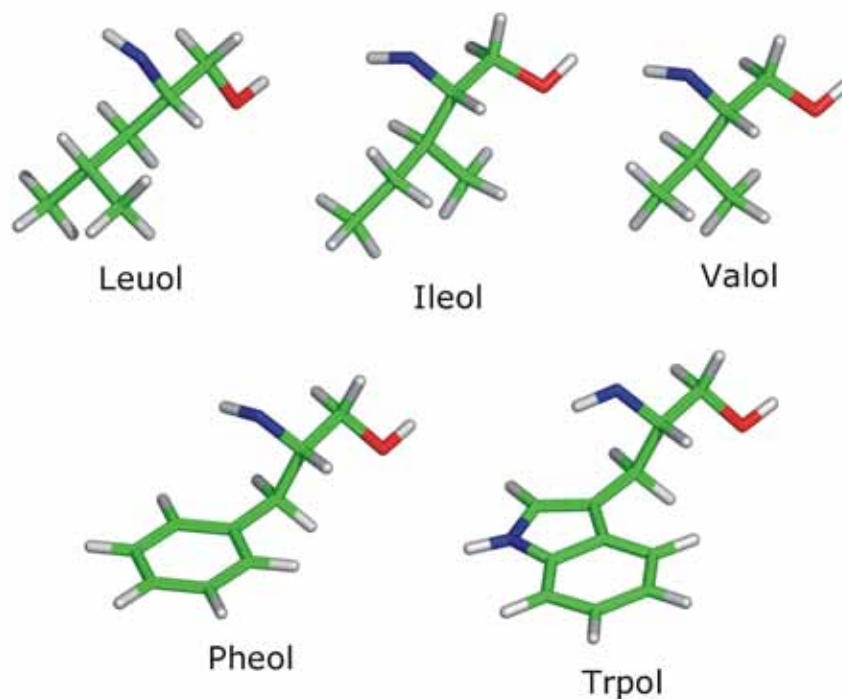
Általános jellemzés

A peptaibol molekulák gombák által termelt peptid antibiotikumok, amelyek az antimikrobiális peptidok népes családjába tartoznak [1-3]. A peptaibol peptidcsalád első tagját, az alamethicint 1967-ben izolálták a *Trichoderma viride* gombából [4, 5], és az azóta eltelt közel ötven év alatt már több mint 1000 peptaibol molekulát azonosítottak [6]. Nemcsak a *Trichoderma* nemzetségbe tartozó fajok termelnek peptaibolokat, hanem más nemzetségek (pl. *Acremonium*, *Emericellopsis*, *Hypocrea*, *Mycogone*, *Paecilomyces*, *Sepedonium* és *Stilbella*) gombafajaiból is izoláltak peptaibol molekulákat [1]. Mivel egyre újabb és újabb peptaibolokat azonosítanak, így a peptaibol család tagjainak száma folyamatos növekedést mutat.

A peptaibol elnevezés a peptidcsaládot alkotó molekulák három jellegzetes tulajdonsága alapján származtatható, miszerint a peptaibolok peptidok, illetve nagy számban tartalmaznak α -aminoizovajsavat (Aib), valamint a molekulák C-terminális végén általában egy amino-alkohol egység található [1]. A peptaibol elnevezés tehát a fent említett három karakterisztikus sajátosság alapján áll össze, azaz: **peptaibol = peptide + Aib + amino alcohol**. A peptaibol molekulák 5-20 aminosavból épülnek fel, és több nem-proteinogén aminosavat is tartalmaznak (pl. Aib; izovalin, Iva; β -hidroxileucin, β -HyLeu; hidroxiprolin, HyPro és metilprolin, MePro) (1. ábra) [1]. A peptaibolok többsége esetén az N-terminális aminosav acetilált, míg a peptidok C-terminális végéhez egy amino-alkohol egység kapcsolódik (pl. leucinol, Leuol; izoleucinol, Ileol; valinol, Valol; fenilalaninol, Pheol és triptofanol, Trpol) (2. ábra) [1].



1. ábra. A peptaibol molekulákban előforduló nem-proteinogén aminosavak: α -aminoizovajsav, Aib; izovalin, Iva; β -hidroxileucin, β -HyLeu; hidroxiprolin, HyPro és metilprolin, MePro.



2. ábra. A peptaibol molekulákban található amino-alkohol egységek: leucinol, Leuol; izoleucinol, Ileol; valinol, Valol; fenilalaninol, Pheol és triptofanol, Trpol.

Bioszintézis és biológiai hatások

A peptaibol molekulák nem-riboszómális bioszintézis úton jönnek létre, melynek során nagy multifunkcionális enzimek (ún. peptid szintetázok) játszanak szerepet

a bioszintézisben [1]. Ezek a peptid szintetázok egy tiotemplát mechanizmus által építik fel a peptaibolokat a különböző prekursorokból. A peptid szintetázok moduláris szerkezettel jellemezhetők, ahol mindegyik modul szemiautonóm egységként funkcionál, és ezek a modulok ismerik fel, aktiválják és módosítják a szintetizálódott peptidek különféle aminosav egységeit.

A nem-riboszómális bioszintézis úton létrejött peptaibolok általában mikroheterogén elegyként szintetizálódnak [1]. Ez azt jelenti, hogy egyrészt eltérő szekvencia hosszal rendelkező peptidek találhatóak egy adott csoporton belül, másrészt pedig többfajta, különböző aminosav összetételű, de azonos szekvencia hosszal rendelkező peptid szintetizálódik egyszerre. Ilyen mikroheterogén elegyként szintetizálódnak például az alamethicinek (ALM): ALM F30 és ALM F50 molekulák [4, 7], amelyek 20 aminosavból épülnek fel; illetve a harzianinok (H): a 11 aminosavból álló H B-I és H K-VI peptid [8, 9], a 14 aminosavból felépülő H C molekulák [10] és a 18 aminosavból álló H A-V peptid [11]; valamint a hypomurocinok (HM): a 11 aminosavból felépülő HM A molekulák [12] és a 18 aminosavból álló HM B peptidek [12] (1. táblázat).

A peptaibol molekulák a biológiai hatások széles spektrumával jellemezhetők [1], úgymint antibakteriális hatás (pl. *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus* és *Streptococcus* fajokkal szemben); antifungális hatás (pl. *Aspergillus*, *Candida*, *Dictyostelium*, *Mucor* és *Penicillium* fajokkal szemben); antivirális hatás; hemolitikus aktivitás; immunszuppresszív sajátság; neuroleptikus sajátság; membrán-kötött enzimek aktiválása; és képesek pórusokat kialakítani a membránokban.

Csoportosítás és adatbázisok

A peptaibol molekulákat az eddigiek során már többféleképpen csoportosították [1]. Egy korábbi felosztás szerint a peptaibolokat kilenc különböző alcsaládba (SF1-SF9) sorolták be egyrészt az aminosav tartalmuk, másrészt pedig a szekvencia hosszuk alapján. Az ezen felosztás szerint kapott mindegyik alcsaládba karakterisztikus szekvencia hosszal rendelkező peptidek tartoznak, amelyek bizonyos aminosavakat tartalmaznak adott pozíciókban a szekvenciájukat illetően. Két másik, egyszerűbb felosztás alapján a peptaibol molekulákat a szekvencia hosszuk, vagyis a peptideket felépítő aminosavak száma alapján az alábbi módokon csoportosíthatjuk.

1. táblázat: Mikroheterogén elegyként szintetizálódó peptidok molekula szekvenciái. Alamethicinok, harzianinok és hypomurocinok.

Alamethicinok

Alamethicin F30/1, F30/2, F30/3, F30/4, F30/5, F30/6, F30/7, F30/8, F30/9, F30/10;

Ac-Aib¹-Pro²-Aib³-Ala⁴-Aib⁵-Xaa⁶-Xaa⁷-Aib⁸-Xaa⁹-Aib¹⁰-
Xaa¹¹-Xaa¹²-Aib¹³-Pro¹⁴-Val¹⁵-Aib¹⁶-Xaa¹⁷-Glu¹⁸-Gln¹⁹-Pheol²⁰;

ahol Xaa⁶: Ala/Aib, Xaa⁷: Glu/Gln, Xaa⁹: Aib/Leu/Val, Xaa¹¹: Ala/Gly,
Xaa¹²: Leu/Val, Xaa¹⁷: Aib/Val;

Alamethicin F50/2, F50/3a, F50/3b, F50/3c, F50/4a, F50/4b, F50/5, F50/6a, F50/6b, F50/7, F50/8a, F50/8b, F50/8c;

Ac-Aib¹-Pro²-Xaa³-Xaa⁴-Xaa⁵-Xaa⁶-Gln⁷-Aib⁸-Xaa⁹-Aib¹⁰-
Gly¹¹-Xaa¹²-Aib¹³-Pro¹⁴-Xaa¹⁵-Aib¹⁶-Xaa¹⁷-Gln¹⁸-Gln¹⁹-Pheol²⁰;

ahol Xaa³: Ala/Aib, Xaa⁴: Ala/Aib, Xaa⁵: Ala/Aib, Xaa⁶: Ala/Aib/Gly,
Xaa⁹: Ala/Aib/Leu/Val/Iva, Xaa¹²: Leu/Val, Xaa¹⁵: Val/Iva,
Xaa¹⁷: Aib/Val/Iva;

Harzianinok

Harzianin B-I, K-VI;

Ac-Aib¹-Asn²-Xaa³-Ile⁴-Aib⁵-Pro⁶-Xaa⁷-Leu⁸-Aib⁹-Pro¹⁰-Leuol¹¹;

ahol Xaa³: Leu/Ile, Xaa⁷: D-Iva/Leu;

Harzianin C-I, C-III, C-VI, C-VIII, C-IX, C-X, C-XI, C-XII, C-XIII, C-XIV, C-XV;

Ac-Aib¹-Xaa²-Leu³-Aib⁴-Pro⁵-Xaa⁶-Xaa⁷-Aib⁸-Pro⁹-Xaa¹⁰-
Leu¹¹-Aib¹²-Pro¹³-Leuol¹⁴;

ahol Xaa²: Asn/Gln, Xaa⁶: Ala/Ser, Xaa⁷: Ile/Val, Xaa¹⁰: Aib/D-Iva;

Harzianin A-V;

Ac-Aib¹-Gly²-Ala³-Aib⁴-D-Iva⁵-Gln⁶-Aib⁷-Val⁸-Aib⁹-Gly¹⁰-
Leu¹¹-Aib¹²-Pro¹³-Leu¹⁴-Aib¹⁵-D-Iva¹⁶-Gln¹⁷-Leuol¹⁸;

Hypomurocinok

Hypomurocin A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-5a;

Ac-Xaa¹-Gln²-Xaa³-Xaa⁴-Aib⁵-Pro⁶-Leu⁷-Xaa⁸-Aib⁹-Pro¹⁰-Leuol¹¹;

ahol Xaa¹: Aib/D-Iva, Xaa³: Ile/Val, Xaa⁴: Leu/Ile/Val, Xaa⁸: Leu/Ile;

Hypomurocin B-1, B-2, B-3a, B-3b, B-4, B-5;

Ac-Aib¹-Xaa²-Ala³-Leu⁴-Aib⁵-Gln⁶-Xaa⁷-Val⁸-Aib⁹-Gly¹⁰-
Xaa¹¹-Aib¹²-Pro¹³-Leu¹⁴-Aib¹⁵-Aib¹⁶-Gln¹⁷-Xaaol¹⁸;

ahol Xaa²: Ala/Ser, Xaa⁷: Aib/D-Iva, Xaa¹¹: Aib/D-Iva,
Xaaol¹⁸: Leuol/Valol;

Az egyik esetben három csoportot különböztethetünk meg: (1) rövid szekvenciájú peptaibolok, amelyek 5-10 aminosavból épülnek fel; (2) közepes szekvenciájú peptaibolok, amelyek 11-16 aminosavból állnak; (3) hosszú szekvenciájú peptaibolok, amelyek 17-20 aminosavból épülnek fel. A másik esetben a peptaibol molekulákat két csoportba sorolhatjuk be: (1) rövid szekvenciával rendelkező peptaibolok, amelyek 10-16 aminosavból állnak (pl. H B, H K, HM A és H C peptidek) (1. táblázat); (2) hosszú szekvenciával rendelkező peptaibolok, amelyek 17-20 aminosavból épülnek fel (pl. H A, HM B és ALM peptidek) (1. táblázat).

A különböző gombafajokból izolált és azonosított peptaibol molekulákat összegyűjtötték, és eddig két adatbázis készült a peptaibolokra vonatkozóan. Egy korábbi, 2004-ben készített adatbázis (The Peptaibol Database; <http://peptaibol.cryst.bbk.ac.uk>) több mint 300 peptaibol molekulát tartalmaz, amelyekkel kapcsolatban az alábbi adatok találhatóak meg az adatbázisban: a peptaibolok szekvenciái, a peptaibolokat termelő organizmusok, szakirodalmi adatok és hivatkozások, néhány peptaibol molekula esetén térszerkezeti információk [13]. Egy későbbi, 2013-ban készült adatbázisban (The Comprehensive Peptaibiotics Database; <http://peptaibiotics-database.boku.ac.at>) már több mint 1000 peptaibol molekula található meg, és ebben az adatbázisban a következő adatok lelhetők fel: a peptaibolok szekvenciái, a peptaibolok különböző csoportjai, a peptaibolokat termelő organizmusok, szakirodalmi adatok és hivatkozások [6].

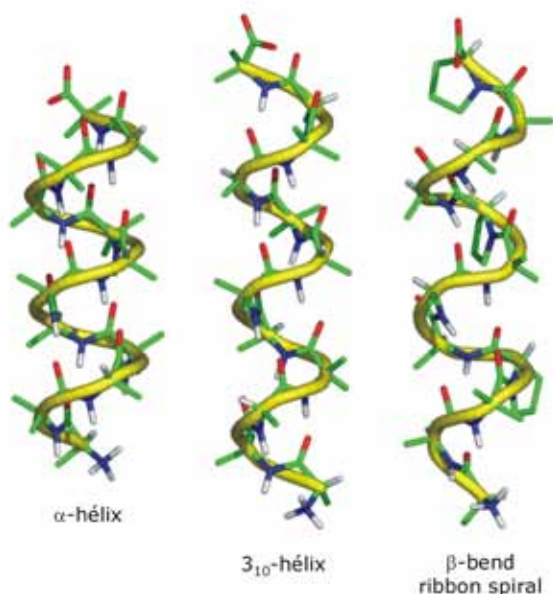
Térszerkezeti tulajdonságok

Ezidáig már több peptaibol molekula térszerkezeti tulajdonságait határozták meg főként kísérleti módszerekkel, azonban számos peptaibol esetén csak az elsődleges szerkezet, vagyis az aminosav szekvencia ismert, és ezen peptidek térszerkezetére vonatkozóan nem található semmiféle adat az irodalomban. Az eddigi szerkezetvizsgáló munkák során egyrészt különböző kísérleti módszereket (röntgenkristallográfia, cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia, Raman spektroszkópia, Fourier-transzformációs infravörös (FTIR) spektroszkópia és mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópia) használtak, másrészt pedig különféle elméleti módszereket („távolság-geometria” (DG), szimulált anelláció (SA) és molekuladinamika (MD)) alkalmaztak [1]. Mindemellett a peptaibolok térszerkezeti sajátosságainak azonosítására felhasználták a kísérleti és elméleti módszerek kombinációit is. A peptaibol molekulák térszerkezetét eltérő körülmények között, illetve különböző környezetben tanulmányozták, úgymint kristályszerkezetben, vizes oldatban, különféle szerves oldószerekben, micellák

jelenlétében, membránhoz kötötten, valamint membránba ágyazódva [1].

Az eddigi eredmények alapján megállapítható, hogy a peptaibolok általában valamilyen helikális szerkezettel (α -hélix, 3_{10} -hélix és β -bend ribbon spiral) (3. ábra) jellemezhetők [1]. Ezek a helikális struktúrák megjelenhetnek a peptid teljes szekvenciája mentén, vagy a peptid szekvenciáját tekintve annak csak egy bizonyos részében. Mindemellett előfordulhat egyrészt olyan eset, amikor a peptid csak egyfajta helikális szerkezetet (α -hélix vagy 3_{10} -hélix) tartalmaznak, másrészt pedig olyan eset is, amikor a peptidben kétfajta helikális struktúra (kevert $\alpha/3_{10}$ -helikális motívum) is megjelenik egyszerre. A fent említett helikális szerkezetek az alábbi karakterisztikus Φ és Ψ torziós szög értékekkel rendelkeznek, amelyek alapján meghatározhatók: (1) α -hélix: $\Phi = -60^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi = -50^\circ \pm 30^\circ$ [1]; (2) 3_{10} -hélix: $\Phi = -60^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi = -30^\circ \pm 30^\circ$ [1]; (3) β -bend ribbon spiral az (Xaa-Yaa-Aib-Pro) szekvencia motívumokra vonatkozóan: $\Phi_i = -90^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi_i = -27^\circ \pm 30^\circ$, $\Phi_{i+1} = -98^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi_{i+1} = -17^\circ \pm 30^\circ$, $\Phi_{i+2} = -49^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi_{i+2} = -50^\circ \pm 30^\circ$, $\Phi_{i+3} = -78^\circ \pm 30^\circ$ és $\Psi_{i+3} = 3^\circ \pm 30^\circ$ [14]. Ezeket a helikális struktúrákat a következő jellegzetes intramolekuláris H-kötések stabilizálják [1]: (1) az α -hélix esetén: $i \leftarrow i+4$ vagy $1 \leftarrow 5$ H-kötés, amely az $i+4$ pozíciójú aminosav NH donor csoportja és az i pozíciójú aminosav CO akceptor csoportja között létrejövő H-kötés; (2) a 3_{10} -hélix esetében: $i \leftarrow i+3$ vagy $1 \leftarrow 4$ H-kötés, amely az $i+3$ pozíciójú aminosav NH donor csoportja és az i pozíciójú aminosav CO akceptor csoportja között kialakuló H-kötés; (3) a β -bend ribbon spiral esetén: $i \leftarrow i+3$ vagy $1 \leftarrow 4$ H-kötés.

Mint az korábban említésre került, több peptaibol térszerkezetét tanulmányozták már ezidáig, azonban a továbbiakban a peptaibolok bioszintézisének példaként említett molekulák (alamethicin, harzianin és hypomurocin peptid) (1. táblázat) térszerkezetére vonatkozó eredmények kerülnek bemutatásra.



3. ábra. A peptaibol molekulák jellegzetes helikális szerkezetei: α -hélix, 3_{10} -hélix és β -bend ribbon spiral.

Alamethicinek

Az ALM esetén számos szerkezetvizsgálatot végeztek el különböző kísérleti és elméleti módszerek alkalmazásával különféle körülmények között annak érdekében, hogy azonosítsák ennek a peptidnek a térszerkezeti tulajdonságait.

Az ALM kristályszerkezete alapján azt állapították meg, hogy ez a peptid nagyrészt α -helikális konformációval rendelkezik, azonban egy kisebb torzulás figyelhető meg a helikális szerkezetre vonatkozóan a Pro¹⁴ aminosav környékén [15]. Az eredmények azt mutatták, hogy az ALM szerkezetileg két helikális résszel jellemezhető, amelyeket a Pro¹⁴ aminosav körüli hajlított struktúra köt össze, és a két hélix tengelye 20°-os szöveget zár be egymással. A kialakuló intramolekuláris H-kötés mintázat egyezést mutatott a megjelenő másodlagos szerkezeti elemekkel [15]. Ennek alapján az ALM molekula N- és C-terminális részeiben az α -helikális konformációra jellemző H-kötés mintázat figyelhető meg, míg a Pro¹⁴ körüli hajlított szerkezet esetén 1 \leftarrow 4 H-kötés található.

Több NMR mérést is végeztek az ALM esetén, és ezek közül néhány mérés eredménye azt mutatta, hogy ez a peptid szerkezetileg két régióra osztható [16-19]. A kristályszerkezettel egyezésben majdnem az összes NMR vizsgálat arra az eredményre vezetett, hogy az ALM molekula N-terminális részében túlnyomórészt α -helikális konformáció jelenik meg. Ugyanakkor az ALM peptid C-terminális részére vonatkozóan különböző másodlagos szerkezeti elemeket javasoltak. Az egyik NMR mérés alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a C-terminális rész egy nyújtott β -szál konformációt vesz fel vizes oldatban és metanolban [16]. Ezzel ellentétben, egy másik, metanolban végrehajtott NMR mérés arra a megfigyelésre vezetett, hogy a C-terminális rész a kristályszerkezethez hasonló α -helikális konformációval jellemezhető, azonban a C-terminális dipeptid szakasz valamivel nyújtottabb szerkezetet mutat [17]. Egy további, metanolban elvégzett NMR mérés eredményei pedig azt mutatták, hogy a C-terminális rész kevésbé határozott szerkezettel rendelkezik [18]. Emellett egy következő, metanolban és micella jelenlétében elvégzett NMR mérés, illetve az azt követő DG és SA számítások alapján azt a következtetést vonták le, hogy a C-terminális rész kevésbé rendezett és flexibilis szerkezettel jellemezhető, ugyanakkor az SA számításokkal kapott struktúrák esetén a C-terminális rész tartalmazott helikális szakaszokat [19].

Más NMR mérések azt mutatták, hogy az ALM túlnyomórészt α -helikális konformációt vesz fel szerves oldószerekben és micellák jelenlétében, amely

alapvetően megegyezik a korábban meghatározott kristályszerkezettel [20-22]. Egy következő vizsgálat alapján, amely során az NMR mérést kombinálták a DG/SA módszerrel, azt állapították meg, hogy az ALM szerkezetileg az alábbi részekre osztható [23]: (1) helikális konformáció (1-10 aminosavak); (2) hajlított szerkezet a Pro¹⁴ aminosav körül; (3) helikális konformáció (13-18 aminosavak). Mindemellett azt tapasztalták, hogy a 18-as és 19-es pozícióban lévő aminosavakból álló dipeptid egység rendelkezik a legkevésbé határozott szerkezettel. További NMR mérések során az ALM molekulában kialakuló intramolekuláris H-kötések stabilitását tanulmányozták metanolban, illetve membrán jelenlétében [24, 25]. Ezekben az esetekben is helikális szerkezetet figyeltek meg, és az eredmények azt mutatták, hogy a Pro¹⁴ aminosav nem változtatja meg jelentősen a H-kötés mintázatot, amely hasonlónak bizonyult ahhoz a H-kötés mintázathoz, amit korábban a kristályszerkezetben is megfigyeltek.

A CD, Raman és FTIR mérések hasonló eredményekre vezettek mint amiket a röntgenkristallográfiás és NMR mérések alapján meghatároztak, melyek szerint az ALM főként helikális szerkezettel jellemezhető szerves oldószerekben és membránok jelenlétében [26-28].

NMR mérésből származó kényszerfeltételekkel, illetve kényszerfeltételek nélkül elvégzett MD számítások alapján, figyelembe véve a szerkezeti tulajdonságokat, a dinamikus viselkedést és a flexibilitást, az ALM teljes szekvenciáját illetően három régiót lehetett megkülönböztetni [29]. Az „A” régió az N-terminális 1-9 aminosavakat foglalja magában, amely α -helikális konformációval rendelkezik. A „C” régió a C-terminális 12-20 aminosavakat öleli fel, és ez a flexibilis régió határozatlan szerkezettel jellemezhető, azonban bizonyos mértékben megfigyelhetők 3_{10} -helikális szakaszok ebben a régióban. A „B” régió a 10-es és 11-es pozícióban található aminosavakat foglalja magában, amely összeköti az „A” és „C” régiókat, és ez a dipeptid egység mutatta a legnagyobb flexibilitást. További SA számítások és kényszerfeltételekkel végrehajtott MD szimulációk eredményei azt mutatták, hogy az ALM molekulában található két helikális szakasz által bezárt szög kb. 20° [30], hasonlóan ahhoz, amit a kristályszerkezet esetén is megfigyeltek. Mindemellett ezt a helikális konformációt javasolták az ALM stabil szerkezetének. Kloroformban elvégzett MD számítások során azt tapasztalták, hogy az ALM megtartotta a túlnyomórészt α -helikális konformációját, azonban különböző szerkezeti sajátosságokat figyeltek meg a Gly¹¹-Pro¹⁴ tetrapeptid egység, valamint a Pheol²⁰ körüli C-terminális régió esetében [22].

További, metanolban végrehajtott MD szimulációk során egyrészt egy ideális α -helikális konformációból, másrészt pedig az ALM kristályszerkezetéből kiindulva a másodlagos szerkezeti elemeket és H-kötés mintázatokat tanulmányozták, illetve ezek dinamikus tulajdonságait és stabilitását vizsgálták. Az egyik esetben azt tapasztalták, hogy mindkét kiindulási konformáció esetén egy jól meghatározott struktúra alakult ki az MD számítások során, amely túlnyomórészt α -helikális szerkezettel jellemezhető, azonban az Aib¹⁰-Aib¹³ tetrapeptid egységre vonatkozóan szerkezeti változatosságot figyeltek meg [31]. Ezeknek a konformációs tulajdonságoknak megfelelően egy karakterisztikus H-kötés mintázatot azonosítottak, amelyben az α - és 3_{10} -hélixekre jellemző H-kötések keverten jelentek meg. Az Aib¹⁰-Aib¹³ tetrapeptid egység esetében megfigyelt szerkezeti változatosság ellenére azt tapasztalták, hogy a Gly¹¹, Leu¹² és Aib¹³ aminosavak NH csoportjai kialakíthatnak stabil, nem-szokványos H-kötéseket. Hasonló MD szimulációk a fentiekkel egyező megfigyelésekre vezettek az ALM másodlagos szerkezeti elemeire és H-kötés mintázataira vonatkozóan, figyelembe véve mindkét kiindulási szerkezetet [32]. Ezen MD számítások alapján azt állapították meg, hogy a főként α -helikális H-kötés mintázat tartalmaz a 3_{10} -hélixre jellemző H-kötéseket, ugyanakkor pedig konformációs heterogenitást figyeltek meg a Gly¹¹-Pro¹⁴ tetrapeptid egység esetén.

Több MD szimulációt is végeztek különböző körülmények között (úgy mint vízben, metanolban és oktánban; illetve a lipid kettősréteg felszínén és a lipid kettősrétegben) annak érdekében, hogy részletesen tanulmányozzák az ALM térszerkezeti sajátosságait és dinamikus tulajdonságait [33-35]. Ezen MD számítások során az N- és C-terminális régiókban megfigyelhető helikális szerkezetek, valamint a két hélixet összekötő hajlított szerkezet stabilitását és dinamikáját vizsgálták, továbbá a különböző körülmények között megfigyelt konformációkat összehasonlították egymással. A kiindulási α -helikális konformációt kevésbé stabilnak találták vízben, ugyanis a peptid C-terminális része esetén eltűnt a kezdeti helikális szerkezet, és ez a rész egy flexibilis konformációt vett fel, ugyanakkor azonban az N-terminális rész α -helikális maradt. A metanolban megfigyelt, illetve a lipid kettősrétegbe ágyazott szerkezetek sokkal stabilabbnak bizonyultak, mint a vízben azonosított struktúrák. A lipid kettősréteg felszínén kialakuló konformáció esetén azt állapították meg, hogy túlnyomórészt α -helikális szerkezettel jellemezhető, és csak a Gly¹¹-Pro¹⁴ tetrapeptid egység esetén figyeltek meg némi szerkezeti flexibilitást. Oktánban és a víz-oktán határfelületnél az ALM stabil α -helikális szerkezetet vett fel, és csupán kis eltérést tapasztaltak a kiindulási konformációhoz képest.

Harzianinok

A H B-I és H K-VI esetén metanolban elvégzett CD és NMR mérések alapján a β -bend ribbon spirál struktúrát javasolták ezen két molekulára vonatkozóan, amely szerkezetet $1\leftarrow 4$ H-kötések stabilizálnak [8, 9].

A tizenegy H C peptid esetében metanolban végrehajtott CD és NMR mérések alapján szintén a β -bend ribbon spirál szerkezetet javasolták mint preferált másodlagos szerkezeti elemet, amelyet $1\leftarrow 4$ H-kötések stabilizálnak [10]. A H C molekulák közül a H C-IX peptid esetén elvégeztek metanolban egy részletes szerkezetvizsgálatot CD és NMR spektroszkópia alkalmazásával, illetve molekulamodellézési számításokat is végrehajtottak [14]. Ezek az eredmények azt mutatták, hogy a H C-IX egy átfedő β -turn-ökből álló helikális struktúrával jellemezhető, amely az Asn² és Leu¹⁴ aminosavak között jelenik meg. Ezt a β -bend ribbon spirál szerkezetet $1\leftarrow 4$ H-kötések stabilizálják, amelyek közül néhány hiányzik a Pro⁵, Pro⁹ és Pro¹³ aminosavaknak köszönhetően, ugyanis ez a három Pro aminosav megszakítja a kialakuló H-kötés hálózatot.

A H A-V esetén elvégzett CD és NMR mérések eredményei arra a következtetésre vezettek, hogy ez a molekula túlnyomórészt α -helikális szerkezetet vesz fel szerves oldószerben [11]. Mindemellett azonban két torzult régiót is megfigyeltek erre a peptidre vonatkozóan, amelyek közül az egyik az N-terminális részen található 3_{10} - vagy kevert $\alpha/3_{10}$ -turn struktúra, míg a másik a Pro¹³ aminosav körül kialakuló hajlított szerkezet.

Hypomurocinok

A HM A-1 esetén elvégzett NMR mérés azt mutatta, hogy ez a molekula egy kevert helikális konformációt vesz fel dimetil-szulfoxidban, amely α - és 3_{10} -hélixet, valamint I típusú β -turn struktúrát tartalmaz [36]. A micellák jelenlétében végrehajtott NMR mérés eredményei pedig arra a megfigyelésre vezettek, hogy a HM A-1 túlnyomórészt 3_{10} -helikális szerkezettel jellemezhető [36]. A HM A-3 és HM A-5 esetében dimetil-szulfoxidban elvégzett NMR mérések alapján azt állapították meg, hogy ezek a peptidek szintén helikális szerkezettel rendelkeznek [37]. A HM A-1 molekulához hasonlóan ezen két molekula esetén is egy kevert helikális konformációt javasoltak, amely az α - és 3_{10} -hélikális részek mellett I típusú β -turn struktúrát is tartalmaz.

Alkalmazási lehetőségek

Az antimikrobiális rezisztenciának köszönhetően napjainkban egyre nagyobb szükség van különböző, új és hatékony antimikrobiális szerek kifejlesztésére. A peptaibolok biológiai hatása rendkívül széles spektrumban mutatkozik meg, és mindemellett változatos aminosav összetétellel, illetve térszerkezettel rendelkeznek, így ezek a bioaktív molekulák potenciális jelöltek lehetnek ebből a szempontból. Napjainkig már több mint 1000 peptaibol molekulát azonosítottak, és az intenzív kutatások következtében az ismert peptaibolok száma valószínűleg továbbra is növekvő tendenciát mutat majd. Az újonnan izolált bioaktív peptaibol molekulák azonosításával, illetve biológiai és térszerkezeti jellemzésével kapcsolatos kutatási téma rendkívül ígéretes lehet nemcsak abban a tekintetben, hogy új és hatékony, potenciális gyógyszerjelölteket nyújthat a humán gyógyászat számára, hanem abban a tekintetben is, hogy ezek a molekulák potenciális komponensei lehetnek mezőgazdasági alkalmazásokra szánt biokontroll készítményeknek.

Köszönetnyilvánítás

A kézirat elkészítése a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. A kézirat elkészítése az Országos Tudományos Kutatási Alap (OTKA) K 106000 támogatásával készült.

Irodalomjegyzék

- [1] Szekeres, A., Leitgeb, B., Kredics, L., Antal, Z., Hatvani, L., Manczinger, L., Vágvölgyi, C. (2005) Peptaibols and related peptaibiotics of *Trichoderma* - A review. *Acta Microbiol Immunol Hung*, **52**: 137-168.
- [2] Peptaibiotics, (2007) *Chem Biodivers*, **4**: 1021-1412.
- [3] Peptaibiotics II, (2013) *Chem Biodivers*, **10**: 731-961.
- [4] Leitgeb, B., Szekeres, A., Manczinger, L., Vágvölgyi, C., Kredics, L. (2007) The history of alamethicin: a review of the most extensively studied peptaibol. *Chem Biodivers*, **4**: 1027-1051.
- [5] Kredics, L., Szekeres, A., Czifra, D., Vágvölgyi, C., Leitgeb, B. (2013) Recent results in alamethicin research. *Chem Biodivers*, **10**: 744-771.
- [6] Stoppacher, N., Neumann, N. K. N., Burgstaller, L., Zeilinger, S., Degenkolb, T., Brückner, H., Schuhmacher, R. (2013) The comprehensive peptaibiotics database. *Chem Biodivers*, **10**: 734-743.

- [7] Kirschbaum, J., Krause, C., Winzheimer, R. K., Brückner, H. (2003) Sequences of alamethicins F30 and F50 reconsidered and reconciled. *J Pept Sci*, **9**: 799-809.
- [8] Augeven-Bour, I., Rebuffat, S., Auvin, C., Goulard, C., Prigent, Y., Bodo, B. (1997) Harzianin HB I, an 11-residue peptaibol from *Trichoderma harzianum*: isolation, sequence, solution synthesis and membrane activity. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1587-1594.
- [9] Rebuffat, S., Hlimi, S., Prigent, Y., Goulard, C., Bodo, B. (1996) Isolation and structural elucidation of the 11-residue peptaibol antibiotic, harzianin HK VI. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 2021-2027.
- [10] Rebuffat, S., Goulard, C., Bodo, B. (1995) Antibiotic peptides from *Trichoderma harzianum*: harzianins HC, proline-rich 14-residue peptaibols. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1849-1855.
- [11] Rebuffat, S., Duclohier, H., Auvin-Guette, C., Molle, G., Spach, G., Bodo, B. (1992) Membrane-modifying properties of the pore-forming peptaibols saturnisporin SA IV and harzianin HA V. *FEMS Microbiol Immunol*, **105**: 151-160.
- [12] Becker, D., Kiess, M., Brückner, H. (1997) Structures of peptaibol antibiotics hypomurocin A and B from the ascomycetous fungus *Hypocrea muroiana* Hino et Katsumoto. *Liebigs Ann/Recueil*, 767-772.
- [13] Whitmore, L., Wallace, B. A. (2004) The peptaibol database: a database for sequences and structures of naturally occurring peptaibols. *Nucleic Acid Res*, **32**: D593-D594.
- [14] Ségalas, I., Prigent, Y., Davoust, D., Bodo, B., Rebuffat, S. (1999) Characterization of a type of β -bend ribbon spiral generated by the repeating (Xaa-Yaa-Aib-Pro) motif: the solution structure of harzianin HC IX, a 14-residue peptaibol forming voltage-dependent ion channels. *Biopolymers*, **50**: 71-85.
- [15] Fox, R. O., Richards, F. M. (1982) A voltage-gated ion channel model inferred from the crystal structure of alamethicin at 1.5-Å resolution. *Nature*, **300**: 325-330.
- [16] Banerjee, U., Tsui, F.-P., Balasubramanian, T. N., Marshall, G. R., Chan, S. I. (1983) Structure of alamethicin in solution: one- and two-dimensional ^1H nuclear magnetic resonance studies at 500 MHz. *J Mol Biol*, **165**: 757-775.
- [17] Esposito, G., Carver, J. A., Boyd, J., Campbell, I. D. (1987) High-resolution ^1H NMR study of the solution structure of alamethicin. *Biochemistry*, **26**: 1043-1050.
- [18] Yee, A. A., O'Neil, J. D. J. (1992) Uniform ^{15}N labeling of a fungal peptide: the structure and dynamics of an alamethicin by ^{15}N and ^1H NMR spectroscopy. *Biochemistry*, **31**: 3135-3143.

- [19] Franklin, J. C., Ellena, J. F., Jayasinghe, S., Kelsh, L. P., Cafiso, D. S. (1994) Structure of micelle-associated alamethicin from ^1H NMR. Evidence for conformational heterogeneity in a voltage-gated peptide. *Biochemistry*, **33**: 4036-4045.
- [20] Chandrasekhar, K., Das, M. K., Kumar, A., Balaram, P. (1988) Molecular conformation of alamethicin in dimethylsulfoxide solution: a two-dimensional n. m. r. study. *Int J Pept Protein Res*, **32**: 167-174.
- [21] Kelsh, L. P., Ellena, J. F., Cafiso, D. S. (1992) Determination of the molecular dynamics of alamethicin using ^{13}C NMR: implications for the mechanism of gating of a voltage-dependent channel. *Biochemistry*, **31**: 5136-5144.
- [22] Bak, M., Bywater, R. P., Hohwy, M., Thomsen, J. K., Adelhorst, K., Jakobsen, H. J., Sorensen, O. W., Nielsen, N. C. (2001) Conformation of alamethicin in oriented phospholipid bilayers determined by ^{15}N solid-state nuclear magnetic resonance. *Biophys J*, **81**: 1684-1698.
- [23] Yee, A. A., Babiuk, R., O'Neil, J. D. J. (1995) The conformation of an alamethicin in methanol by multinuclear NMR spectroscopy and distance geometry/simulated annealing. *Biopolymers*, **36**: 781-792.
- [24] Dempsey, C. E. (1995) Hydrogen bond stabilities in the isolated alamethicin helix: pH-dependent amide exchange measurements in methanol. *J Am Chem Soc*, **117**: 7526-7534.
- [25] Dempsey, C. E., Handcock, L. J. (1996) Hydrogen bond stabilities in membrane-reconstituted alamethicin from amide-resolved hydrogen-exchange measurements. *Biophys J*, **70**: 1777-1788.
- [26] Vogel, H. (1987) Comparison of the conformation and orientation of alamethicin and melittin in lipid membranes. *Biochemistry*, **26**: 4562-4572.
- [27] Cascio, M., Wallace, B. A. (1988) Conformation of alamethicin in phospholipid vesicles: implications for insertion models. *Proteins*, **4**: 89-98.
- [28] Haris, P. I., Chapman, D. (1988) Fourier transform infrared spectra of the polypeptide alamethicin and a possible structural similarity with bacteriorhodopsin. *Biochim Biophys Acta*, **943**: 375-380.
- [29] Fraternali, F. (1990) Restrained and unrestrained molecular dynamics simulations in the NVT ensemble of alamethicin. *Biopolymers*, **30**: 1083-1099.
- [30] Biggin, P. C., Breed, J., Son, H. S., Sansom, M. S. (1997) Simulation studies of alamethicin-bilayer interactions. *Biophys J*, **72**: 627-636.
- [31] Gibbs, N., Sessions, R. B., Williams, P. B., Dempsey, C. E. (1997) Helix bending in alamethicin: molecular dynamics simulations and amide hydrogen exchange in methanol. *Biophys J*, **72**: 2490-2495.

- [32] Sessions, R. B., Gibbs, N., Dempsey, C. E. (1998) Hydrogen bonding in helical polypeptides from molecular dynamics simulations and amide hydrogen exchange analysis: alamethicin and melittin in methanol. *Biophys J*, **74**: 138-152.
- [33] Tieleman, D. P., Sansom, M. S. P., Berendsen, H. J. C. (1999) Alamethicin helices in a bilayer and in solution: molecular dynamics simulations. *Biophys J*, **76**: 40-49.
- [34] Tieleman, D. P., Berendsen, H. J. C., Sansom, M. S. P. (1999) Surface binding of alamethicin stabilizes its helical structure: molecular dynamics simulations. *Biophys J*, **76**: 3186-3191.
- [35] Tieleman, D. P., Berendsen, H. J. C., Sansom, M. S. P. (2001) Voltage-dependent insertion of alamethicin at phospholipid/water and octane/water interfaces. *Biophys J*, **80**: 331-346.
- [36] Pradeille, N., Zerbe, O., Möhle, K., Linden, A., Heimgartner, H. (2005) The first total synthesis of the peptaibol hypomurocin A1 and its conformational analysis: an application of the 'azirine/oxazolone method'. *Chem Biodivers*, **2**: 1127-1152.
- [37] Pradeille, N., Tzouros, M., Möhle, K., Linden, A., Heimgartner, H. (2012) Total synthesis of the peptaibols hypomurocin A3 and hypomurocin A5, and their conformational analysis. *Chem Biodivers*, **9**: 2528-2558.



Leitgeb Balázs 2000-ben kémia tanári és 2002-ben biológia tanári diplomát szerzett a Szegedi Tudományegyetemen, majd ezt követően 2006-ban szerezte meg Ph.D. fokozatát. 2004 óta az MTA SZBK Biofizikai Intézetében végzi kutatómunkáját, és 2009-2012 között egy hároméves OTKA posztdoktori kutatási pályázat témavezetője volt. 2010-ben megkapta az Akadémiai Ifjúsági Díjat, illetve 2010-től kezdődően három évre elnyerte a Bolyai János Kutatási Ösztöndíjat. Ezt követően 2013-ban 16 hónapra elnyerte a Magyary Zoltán Posztdoktori Ösztöndíjat, amelynek keretében az SZTE TTIK Mikrobiológiai Tanszékén is folytatja kutatói és oktatói tevékenységét. Fő kutatási területe bioaktív peptidek térszerkezetének, folding folyamatainak, szerkezet-aktivitás összefüggéseinek és hatásmechanizmusának tanulmányozása molekulamodellézési módszerek alkalmazásával.

FÉNNYEL HAJTOTT FEHÉRJÉK

Lukács András

Pécsi Tudományegyetem, ÁOK, Biofizikai Intézet

Van-e közös a vándormadarak, a rovarok és a fotoszintetikus baktériumok között? Egy biztosan, mindegyikben van egy flavin alapú fotoreceptor, amely a létükhöz elengedhetetlen. A vándormadarak tájékozódása és a rovarok napi ritmusának kialakítása például egyaránt a kriptokróm nevű kék fény fotoreceptor segítségével valósul meg. A *Rhodobacter sphaeroids* nevű fotoszintetikus baktérium pedig egy BLUF domén fehérje segítségével védekezik a túl sok fényvel szemben.

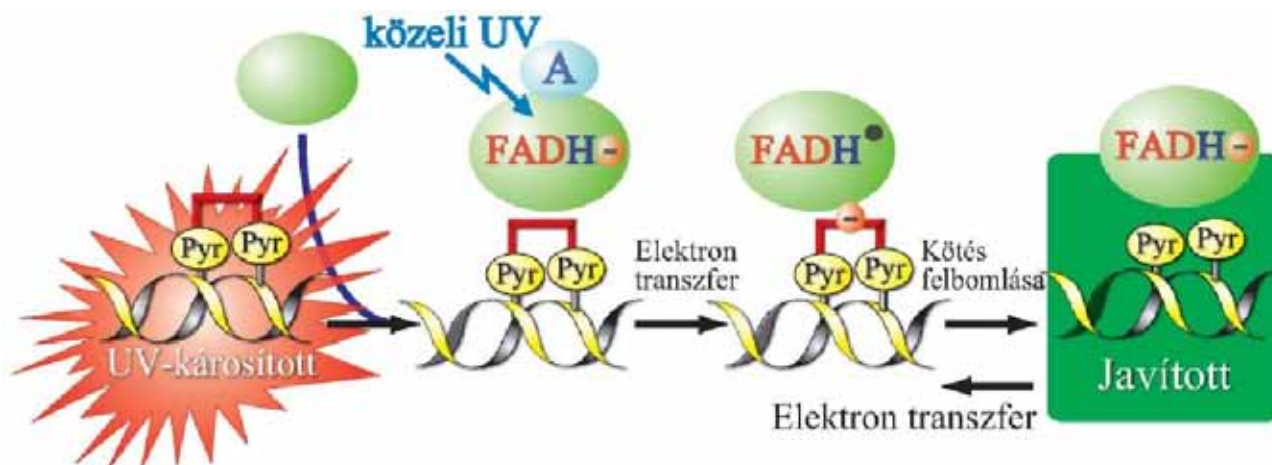
A természetben közel kétszáz flavoproteint ismerünk, amelyek a flavinok változatos redoxállapotainak köszönhetően számos fontos folyamatban játszanak kulcsszerepet, ezek közül azonban csak néhány fotoaktív, vagyis olyan, amelynek működéséhez esszenciális a fényabszorpció. A fototropizmus, a fototaxis, vagy a cirkádián ritmus szabályozása mind olyan folyamat, amelyben fotoaktív flavoproteinek fontos szerepet játszanak.

A növények fototropizmusa – vagyis a fény irányába való fordulása és növekedése – például az úgynevezett LOV (light-oxygen-voltage) típusú fotoaktív flavoproteinnel valósul meg, amelyekben a fényabszorpciót követően az FMN molekula C4-es atomja és egy közeli cisztein között kovalens kötés jön létre, létrehozva a fehérje szignalling állapotát. Számos élőlény esetében figyelhető meg a fototaxisnak nevezett folyamat – amikor az adott organizmus a fény irányába, vagy a fényvel ellentétes irányba mozog – amely mögött szintén fotoaktív flavoproteinek állnak.

Fotoliázok és kriptokrómok

A fotoaktív flavoproteinek között különleges helyet foglalnak el a kriptokróm/fotoliáz fehérjecsaldába tartozó fehérjék, amelyek számos egzotikus funkciót képesek ellátni. A kriptokróm/fotoliáz fehérjecsaldát egyetlen ismert tagja sokáig a fotoliáz volt, amelyről több mint ötven évvel ezelőtt fedezték fel, hogy kék fény hatására képes a DNS-ben létrejött hibák javítására. Claude S. Rupert és munkatársai *H. influenzae* törzsből kivont DNS-t világították meg UV fényvel, amelynek következtében a transzformációs határfok jelentősen csökkent. Ezt követően, az UV által károsított DNS-hez sejtmentes *E. coli* kivonatot adtak, majd kék fényvel megvilágították. Ruperték azt vették észre, hogy megvilágítás nélkül az *E. coli* nem gyakorolt semmilyen hatást, kék fény hatására azonban a transzformációs határfok tízszeresére nőtt, amiből arra következtettek, hogy az *E. coli* tartalmaz egy fényvel aktivált enzimet, amelyet fényreaktíváló enzimnek, később pedig fotoliáznak neveztek el. A fotoliáz működésének molekuláris részletei azonban még évtizedekig rejtve maradtak. A fotoliáz működésének megértésében Aziz Sançar nyolcvanas években végzett kísérletei játszottak döntő szerepet, aki kimutatta, hogy a javítás fényindukált elektron transzfer hatására

valósul meg. Az általa végzett kísérletek arra engedtek következtetni, hogy a fotoliáz a fényabszorpciót követően felhasítja az UV fény által létrehozott pirimidin dimereket. E mögött egy elegáns molekuláris folyamat áll: a fényabszorpciót követően a flavin kofaktorról egy elektron „ugrik” a pirimidin (Pyr) dimerre, aminek következtében a kötés felhasad – vagyis a DNS szál javítása megtörténik – majd az elektron visszakerül a flavinra (lásd az 1. ábrán).

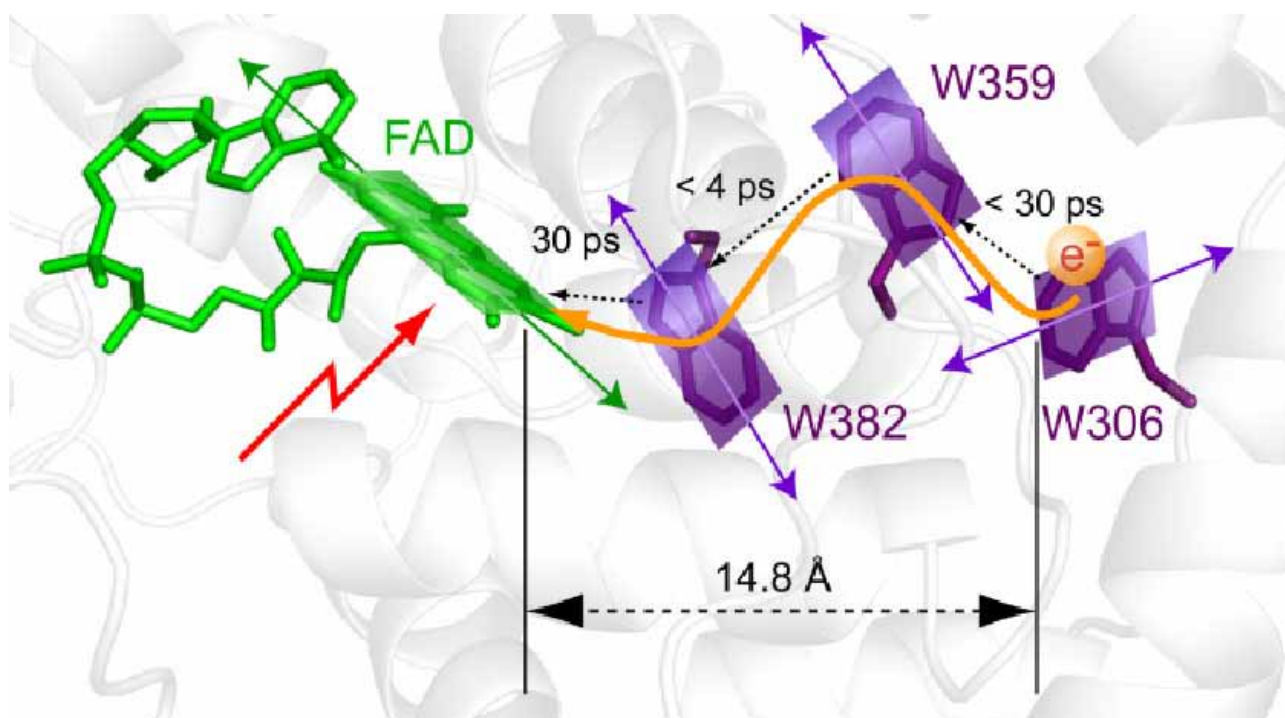


1. ábra. A fotoliáz javítási mechanizmusa.

A javítási folyamat fontos feltétele, hogy a flavin kofaktor (FAD) teljesen redukált (FADH^-) állapotban legyen. A fotoliázban az expresszálast és tisztítást követően a flavin a félig redukált redox állapotában van. Klaus Brettel és Marten Vos kollégáim az ezredfordulón fedezték fel [1], hogy látható fény hatására a flavin teljesen redukálódik, méghozzá egy elektrontranszfer segítségével, amelyben három közeli triptofán vesz részt. A folyamatot fotoaktivációnak nevezték el, amelyet közös munkánk során az elmúlt néhány évben sikerült részletesen jellemeznünk. Kísérleteink során azt sikerült igazolni, hogy a flavin fényabszorpcióját követően a legközelebbi triptofánról (W382) egy elektron ugrik a flavinra, amely (a javításhoz szükséges) FADH^- állapotba kerül. Ezt követően egy elektron ugrik a második (W359) triptofánról az elsőre, majd a terminális triptofánról (W306) a másodikra, hogy pótolja az elektron hiányt. Kísérleteink során azt állapítottuk meg, hogy a fényabszorpciót követő elektron transzfer kaszkád mintegy 30 ps alatt megvalósul, ami tekintettel a flavin és a terminális triptofán közötti 15 Å távolságot, egy igen hatékony nagy hatótávolságú elektron transzfer folyamat.

Fiziológiás körülmények között a fotoliázban nagy valószínűséggel nem kerül sor fotoaktivációra, az általunk leírt jelenségnek a kriptokrómokban van kiemelkedő szerepe. A kriptokrómok ugyanis olyan a fotoliázokkal homológ fehérjék, amelyek nem képesek a DNS szál javítására. Az általunk karakterizált triptofán lánc (vagy nanodrót) viszont az összes kriptokrómban jól konzervált és kulcsszerepet játszik a fehérje működésében.

A kriptokrómok felfedezésekor – a kilencvenes évek kezdete – eleinte az sem volt világos, hogy mi a fehérje funkciója, innen származik az elnevezés is.



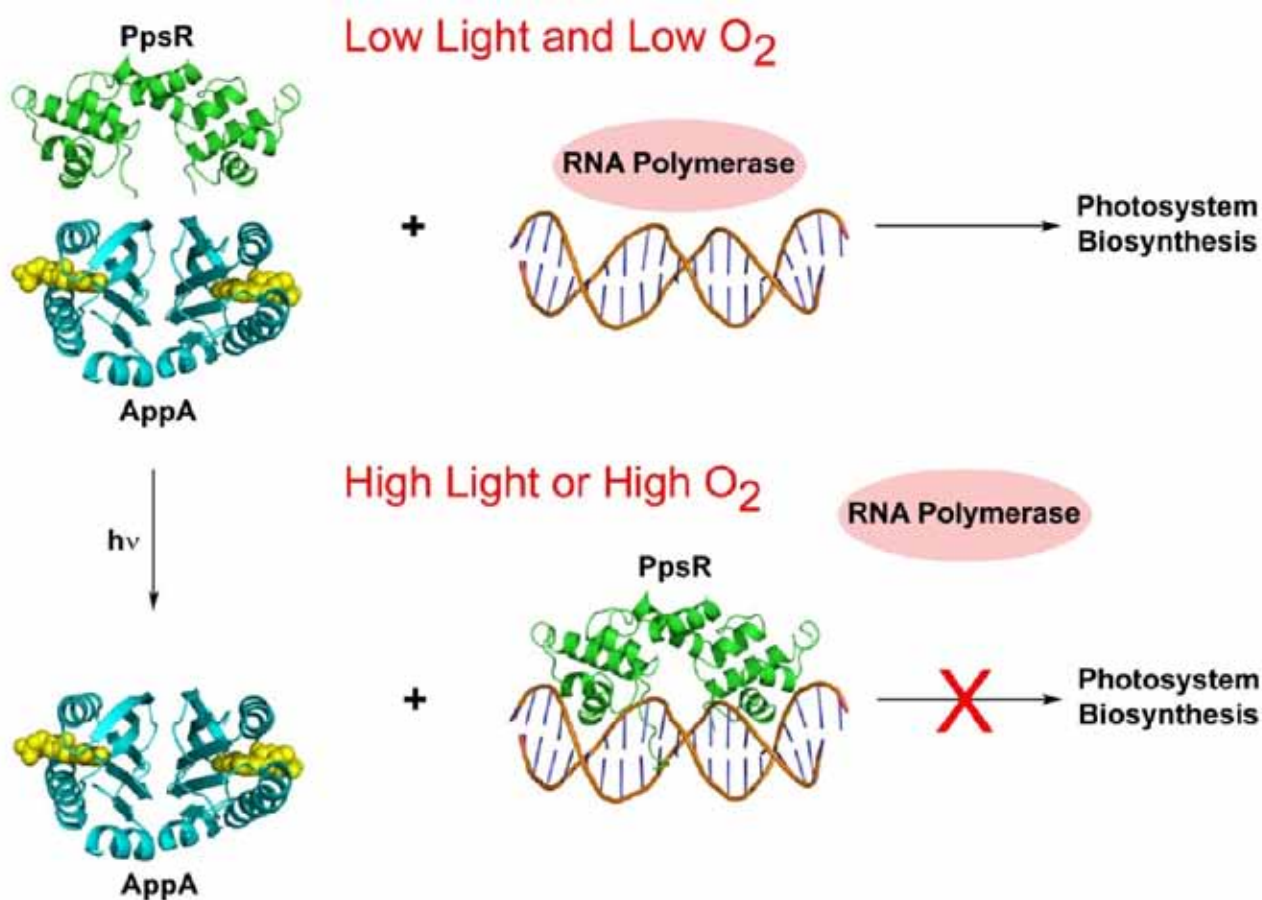
2. ábra. A fotoaktiváció folyamata a triptofán „nanodrót” segítségével [2].

Később kiderült, hogy a fehérje egy kék fény fotoreceptor, amely a növényekben a növekedés szabályozásában vesz részt. 1996-ban fedezték fel, hogy a kriptokrómok emberekben és egerekben is megtalálhatóak, majd 1998-ban sikerült bizonyítani, hogy ezek a fehérjék fénytől függően vagy akár attól függetlenül is a cirkádián ritmus szabályozásában vesznek részt. Nemrégiben vált ismertté a kriptokrómok talán legegzetikusabb funkciója, a föld mágneses terének „érzékelése”, amellyel a költöző madarak tájékozódása megvalósul. A fény abszorpciót követően a kriptokrómokban ugyanis egy flavin és egy triptofán gyök pár jön létre, ami kölcsönhat a föld mágneses terével. A jelenség az elméleti fizikusok fantáziáját is megragadta és besorolták az általuk kvantum biológiának nevezett kategóriájába.

BLUF domén fehérjék

A fotoaktív flavoproteinek másik kiterjedt családját alkotják a BLUF domén fehérjék, ahol az elnevezés (BLUF = blue light using FAD) mindössze arra utal, hogy a kék fény érzékelése az FAD-t tartalmazó domén segítségével valósul meg. A legismertebb és legtöbbet vizsgált BLUF domén fehérje az AppA (activation of photopigment and PUC A protein), amely a *Rhodobacter sphaeroides* nevű fotoszintetikus baktériumban található, feladata a transzkripció reguláció. Sötétben az AppA hozzákötődik a PpsR (photopigment suppression in *R. sphaeroides*) nevű transzkripció faktorhoz, intenzív kék színű fény hatására az AppA-PpsR komplex disszociálódik, lehetővé téve a PpsR DNS-hez kötődését, leállítva a fotoszintetikus gének bioszintézisét. Ez a mechanizmus különlegesen érdekes, mivel az N terminálisnál elhelyezkedő BLUF doménben végbemenő fotokémiai folyamatok a C terminálisnál olyan strukturális változásokhoz vezetnek, amelyek eredményeképpen a PpsR leválik az AppA-ról. Saját kísérleteink arra

utalnak, hogy a fényabszorpciót követően az FAD körüli aminosavak hidrogén kötés hálózata átrendeződik [3] és ez indítja el azt a strukturális átrendeződést, amelynek következtében az AppA-PpsR komplex disszociálódik. A fotoaktiválódást és a strukturális átrendeződést különösen érdekessé teszi, hogy a fényabszorpciót követő hidrogén kötés rendszer átrendeződése a pikoszekundumos skálán valósul meg, míg a világos állapotba való teljes átmenet mikroszekundumok alatt jön létre. Az Oxford közeli Rutherford Appleton Laboratory-ban dolgozó kollégáimmal a közelmúltban elsőként végeztünk olyan kísérleteket, amelyek során ugyanazon mérés során a femtoszekundumos-mikroszekundumos skálán tudtuk nyomon követni a fehérjedinamikát tranziens infravörös spektroszkópia segítségével [4].



3. ábra. Az AppA működése fény hatására [5].

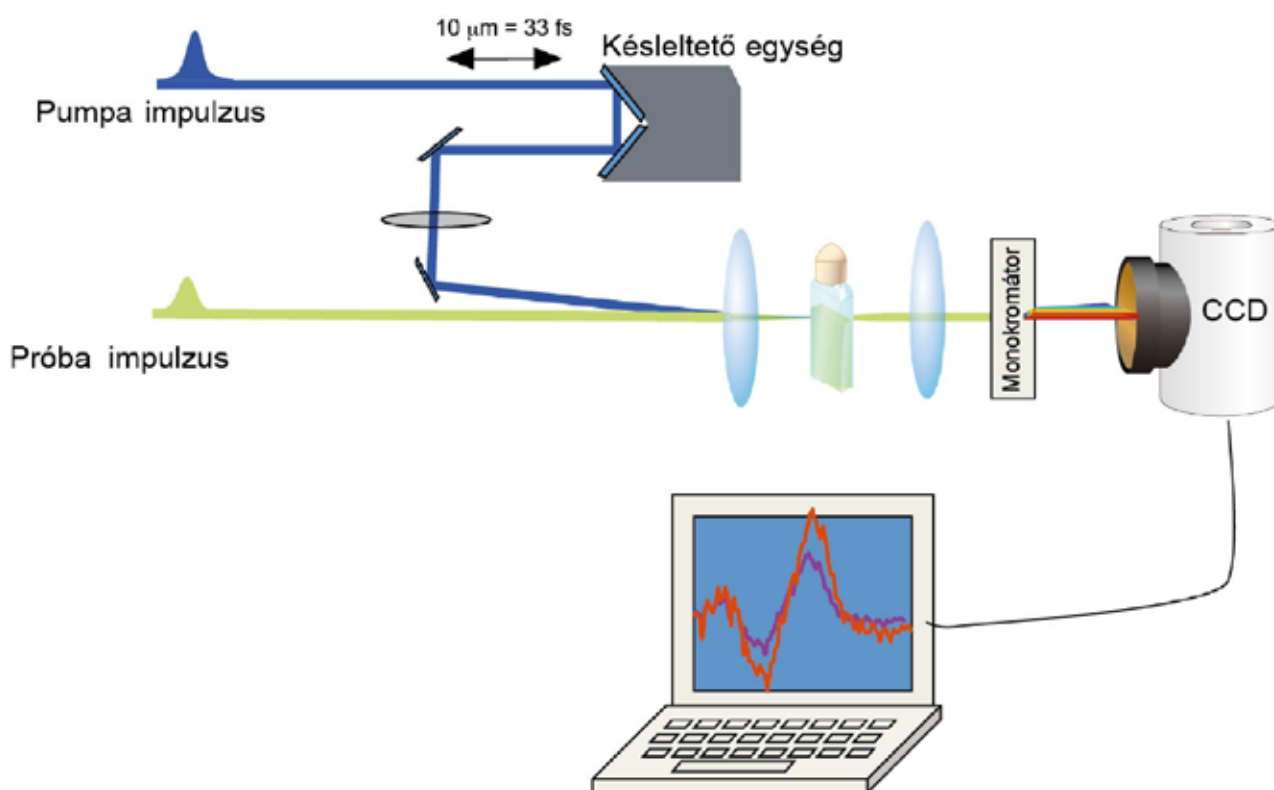
A fotoszintetikus tengeri baktériumok mellett BLUF domén fehérjék végzik el a fény érzékelését például bizonyos organizmusokban a fototaxis során.

A BLUF domén fehérjét tartalmazó proteinek fontos csoportját alkotják az *Acinetobacter* családba tartozó baktériumok. Ez a család azért különösen érdekes, mert több tagja az évek során rezisztens „szuperbaktériummá” vált. Az *A. baumannii* például egy olyan, kórházakban tenyésztő baktérium, amely mára már rezisztenssé vált a legtöbb ismert antibiotikummal szemben. Az *A. baumannii*-ban található BlsA (blue light sensing protein A) fehérjéről néhány éve derült ki, hogy az AppA-hoz hasonló BLUF domént tartalmaz, amely felelős a

baktérium fényérzékeléséért. Kék fény hatására az *A. baumannii* motilitása és a biofilm képződés leáll, virulenciája viszont növekszik. A közelmúltban elsőként végeztük el az *Acinetobacter baumannii* nevű baktérium BlsA nevű fehérjének a spektroszkópai karakterizálását [6]).

Molekuláris mozi

Tekintettel arra, hogy a fényelnyelést követő molekuláris folyamatok nagyon rövid idő alatt (femto- és pikoszekundum) valósulnak meg, vizsgálatainkhoz ultragyors, úgynevezett femtoszekundumos lézereket – az impulzushossz tízezerszer rövidebb, mint a másodperc milliárdod része – kell használnunk. Ez érthető, ha arra gondolunk, hogy ha egy gyorsan mozgó tárgyról akarunk fényképet készíteni, akkor a zársebességnek nagyon rövidnek kell lennie, hogy a kép ne legyen elmosódott.



4. ábra. Tipikus pumpa-próba spektroszkópai berendezés. A pumpa és a próba impulzus között eltelt idő egy nagyon érzékeny tükörrendszerrel állítható be. A kísérlet során ezt a távolságot változtatjuk, miközben például az abszorpcióváltozást detektáljuk.

Az ultragyors spektroszkópia során a fényképezőgép szerepét egy úgynevezett próba impulzus játssza; minél rövidebb ez az impulzus, annál rövidebb molekuláris folyamatokat vagyunk képesek megfigyelni. Fotoaktív fehérjéről lévén szó a mérésekhez szükségünk van egy ún. pumpa impulzusra is, ez indítja el a fényaktivált folyamatokat. A mérőrendszer a pumpa – egyben gerjesztő – impulzus elindítása után bizonyos időközönként készít felvételt – abszorpciót mér például – a molekuláról a próba impulzus segítségével. Tekintettel arra,

hogy nagyon rövid időskáláról (femtosekundum-pikosekundum) van szó, a pumpa és a próba impulzus közötti késleltetést nem lehet elektronikusan kontrollálni. Ennek a problémának a kiküszöbölésére egy pontosan állítható mozgatható tükörrendszert alkalmazunk, a fénysebesség ismeretében ugyanis könnyen kiszámolható, hogy a pumpa és a próba impulzus beérkezése között mennyi idő telt el, ha ismerjük az impulzusok által megtett távolságot. Egy 100 mikrométeres hosszkülönbség például a pumpa és a próba impulzus között mintegy 300 femtosekundumnak felel meg. A mérések során tehát ezt a távolságot folyamatosan növelve a próbaimpulzus segítségével számos „pillanatfelvételt” készítünk, amelyekből összeáll végül a molekuláris mozi.

Előretéki

A fotoliázokon és a kriptokrómokon végzett kísérleteink során arra a következtetésre jutottunk, hogy ezeknek a fehérjéknek a funkcióját – vagyis, hogy a cirkádián óra szerepét töltik be éppen vagy a DNS szálát javítják – a fehérje által nem kovalensen kötött flavin redox állapota határozza meg. Egy magyar, angol, francia és amerikai együttműködés keretében jelenleg olyan kísérleteket végzünk, amelynek a célja az, hogy a fotoliázt kriptokrómmá kapcsoljuk, a kriptokrómokat pedig fotoliázzá, a flavin redox állapotának megváltoztatásával. Ultragyors spektroszkópiai kísérleteink arra utalnak, hogy ez az átkapcsolás a fotociklusának látványos átalakulásához vezet, miközben elveszti a DNS javításra való képességét.

Irodalomjegyzék

- [1] Aubert, C., Vos, M.H., Mathis, P., Eker, P., Brettel, K. (2000) Intraprotein radical transfer during photoactivation of DNA photolyase. *Nature*, **405**: 586–90.
- [2] Lukacs, A., Eker, A.P.M., Byrdin, M., Brettel, K., Vos, M.H. (2008) Electron hopping through the 15 Å triple tryptophan molecular wire in DNA photolyase occurs within 30 ps. *J Am Chem Soc*, **130**: 14394–5.
- [3] Lukacs, A., Haigney, A., Brust, R., Zhao, R.K., Stelling, A.L., Clark, I.P. et al. (2011) Photoexcitation of the blue light using FAD photoreceptor AppA results in ultrafast changes to the protein matrix. *J Am Chem Soc*, **133**: 16893–900.
- [4] Brust, R., Lukacs, A., Haigney, A., Addison, K., Gil, A., Towrie, M., Clark, I. P., Greetham, G.M., Tonge, P.J., Meech, S.R. (2013) Proteins in Action: Femtosecond to Millisecond Structural Dynamics of a Photoactive Flavoprotein. *J Am Chem Soc*, **135(43)**: 16168-16174.

- [5] Anderson, S., Dragnea, V., Masuda, S., Ybe, J., Moffat, K., Bauer, C. (2005) Structure of a novel photoreceptor, the BLUF domain of AppA from *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochemistry*, **44**: 7998–8005.
- [6] Brust, R., Haigney, A., Lukacs, A., Gil, A., Hossain, S., Addison, K. et al. (2014) Ultrafast Structural Dynamics of BlsA , a Photoreceptor from the Pathogenic Bacterium *Acinetobacter baumannii*. *J Phys Chem Lett*, **5(1)**: 220-224.



Lukács András a Budapesti Műszaki Egyetemen szerzett mérnök-fizikus diplomát 1997-ben. 1999-2002 között a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében volt Ph.D. hallgató, 2003-2005 között az R&D Ultrafast Lasers spin-off cégnél dolgozott, 2005-2006 között Marie Curie Ph.D. hallgató volt a franciaországi Ecole Polytechnique, Laboratoire d'Optique et Biologie kutatóintézetében. 2007-ben szerzett Ph.D. fokozatot a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán. 2007-2009 között az Ecole Polytechnique, Laboratoire d'Optique et Biologie kutatóintézetében volt posztdoktorális kutató, 2009-2011 között a University of East Anglia vegyész karán dolgozott tudományos főmunkatársként. 2011 óta újra a PTE ÁOK Biofizikai Intézetében tevékenykedik. Kutatási területe a fotoaktív fehérjék

funkcionális dinamikájának vizsgálata ultragyors spektroszkópiai módszerekkel. Munkáját az elmúlt egy évben az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával megvalósuló TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program Magyary Zoltán posztdoktori ösztöndíjjal támogatta.

KONFERENCIA A SÜMEGI VÁR ALATT

Az idén immár 44. alkalommal került megrendezésre a Membrán-Transzport Konferencia, amelynek ezúttal is Sümeg adott helyet május 20 és 23 között. Rendezvényünket a konferencia választmányának elnöke, Fischer Emil professzor úr nyitotta meg. Annak jeleként, hogy a város a szíven viseli rendezvényünket, a konferencia megnyitóján Rátosi Ferenc, Sümeg város polgármestere is köszöntötte a résztvevőket. Ugyancsak ezen ünnepélyes alkalommal került sor **Somogyi János, Kellermayer Miklós és Módis László professzor urak születésnapjára köszöntésére is**. Még ezen az estén hangzott el a 2014-ben **Romhányi Díjjal** kitüntetett **Berki Tímea** (PTE KK, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet), valamint a **két Kovács Tibor díjas, Kapuy Orsolya** (SE, Orvosi vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet) és **Oláh Tamás** (DE ÁOK, Élettani Intézet) tudományos előadása.

A konferencia további menetét meghatározta, hogy az elmúlt évtizedekben ez az esemény komoly rangot és elismerést vívott ki magának a hazai rendezvények között. A sümegi találkozók ugyanis hagyományosan remek légkörben zajlanak, és igen sokrétű tudományos tematikát ölelnek fel, számos egymáshoz kapcsolódó, de együtt egy igen széles szakterületi arzenált felvonultató tudományágot fednek le, érintenek. Így volt ez az idén is, a hagyományokat követve állítottuk össze mi is a tudományos programot. A szekciók előadásai tájékoztatást nyújtottak a membránoksejtbiológiájának, élettani vonatkozásainak alapvető összefüggéseiről és a vonatkozó membránok lipid összetételéről is. A program összeállításakor ugyancsak figyelmet szenteltünk a membránokon keresztül, vagy azok felületén lezajló mozgások és kölcsönhatások megismerésének, illetve a sejtek közötti kommunikációban betöltött szerepüknek is. Remek előadások hangzottak el, sok esetben a kérdések sokaságát kellett az előadóknak megválaszolni, és tartalmas viták is kialakultak.

Ez alkalommal is szem előtt tartottuk a konferencia azon szerepét, amit a fiatal kutatók megismertetésében, tapasztalatszerzésében és oktatásában tölt be. Minden szekcióban voltak olyan fiatal kollégák, akik lehetőséget kaptak, hogy eredményeikről beszéljenek. További érdekes kutatások mutatkoztak be a két délutáni poszter szekcióban, és a tradíciókat követve a konferencia utolsó napján a kiemelkedő eredményeket elérő fiatalok számára külön tudományos szekciót is kialakítottunk. Ebben a szekcióban Balogh Petra (SE, Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet), Debreczeni Márta (SE, III. sz. Belgyógyászati Klinika), Futó Kinga (PTE ÁOK, Biofizikai Intézet), Juhász Tamás (DE ÁOK, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet), Kosztyi Gergely (SE, Orvosi vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet), Molnár Anikó (ELTE TTK, Biológiai Intézet), Tóth Mónika (PTE ÁOK, Biofizikai Intézet) és Végh A. Gergely (MTA SZBK, Biofizikai Intézet) tarthatott előadást.

Nagy örömünkre az időjárás is kegyeibe fogadta konferenciánkat, ami nagyban elősegítette – a társasági programokkal egyetemben – azt, hogy a sümegi találkozókra jellemző, egyfajta könnyed és laza hangulat is kialakulhasson.

Mindezek alapján úgy gondolom, hogy a korábbi sümegi rendezvényekhez hasonlóan a Membrán-Transzport Konferencia az idén is érdekes, színvonalas és a résztvevő kutatók számára hasznos tudományos találkozó volt.

Nyitrai Miklós



BESZÁMOLÓ A PEPTIDKÉMIAI MUNKABIZOTTSÁG 2014. 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 28-30. között, amelyen közel hetvenen vettek részt.

Az idei ülés szomorú aktualitása volt, hogy kiváló kollégánk, Bajusz Sándor professzor tavaly decemberben elhunyt¹. Ezért az ülés elején rá emlékeztünk, amely során Medzihradszky Kálmán professzor úr emlékező szavai után megtekintettük azt a riport filmet, amit Bajusz Sándorral, nem sokkal halála előtt készítették.

Az idei Munkabizottsági Ülést megtisztelte jelenlétével az Európai Peptid Társaság két, éppen Magyarországon tartózkodó tisztségviselője Anna Maria Papini (University Florence, Italy) és Dirk Tourwé (Vrije Universiteit Brussel, Belgique) professzorok, akik saját kutatásaikról tartottak egy-egy előadást egy angol nyelvű szekció keretében.

A szokásos esti gondolatébresztő előadást idén Mező Gábor professzor (ELTE TTK, MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) tartotta. Előadásában az irányított tumorterápia területén keresztül mutatott rá arra, hogy érdemes a dogmaként kezelt molekuláris részeket is megváltoztatni, mert hatékonyság növelés érhető el.

A 2013-as kémiai Nobel-díjjal összefüggésben, Náray-Szabó Gábor professzor (ELTE TTK Szerves Kémiai Tanszék, MTA-ELTE Fehérjemodellező Kutatócsoport, Budapest) a fehérjék számítógépes modellezéséről tartott átfogó előadást. Zarándi Márta professzor asszony (SZTE Orvosi Vegytani Intézet, Szeged) pedig kutatói pályájának jelentős részét kitevő munkáit mutatta be „Daganatos betegségek gyógyítása. Peptidek alkalmazása” címmel. További 44 előadás hangzott el többek között a célzott tumorterápiával kapcsolatos kutatások (pl. GnRH, tuftsin irányító, illetve sejtpenetráló peptidekkel), a fertőző és autoimmun betegségek (TBC, rheumatoid arthritis) diagnosztikájának és kezelésének lehetőségei és hatékonyabb enzim inhibitorok előállítására. Előadások hangzottak

¹ Bajusz Sándorról Medzihradszky Kálmán megemlékezése a Biokémia XXXVIII. évfolyam 1. számában, 2014. március jelent meg (a szerkesztőbizottság megjegyzése).

el a peptid- és fehérjekémiai kutatásokat segítő szintetikus és műszeres módszerek alkalmazhatóságáról különböző területeken. Ezeket az előadásokat két műszerbemutató előadás (UNICAM Magyarország Kft és a ABL&E-JASCO 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., ABL&E-JASCO Magyarország Kft., Gen-Lab Kft., LAB-EX Kft., S-Biotech Kft., UNICAM Magyarország Kft.) ezúton is köszönjük a támogatást, amely hozzájárult az ülés magas színvonalú lebonyolításához.

Mező Gábor
elnök

Szabó Ildikó
titkár



ÖSZEFOGLALÓ

CHEMICAL APPROACHES TO TARGETING DRUG RESISTANCE IN CANCER STEM CELLS, EU COST ACTION CM1106 (STEMCHEM), 2ND WORKING GROUP MEETING

Az ELTE Természettudományi Karán, a Kémiai Intézet épületében, 2014. március 27-28. között az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport és az ELTE TTK Szerves Kémiai Tanszék – az EU COST „Chemistry and Molecular Sciences and Technologies Action CM1106” keretében, az „Eötvös Tudományos Konferencia” sorozat részeként – nemzetközi tudományos konferenciát rendezett a tumor őssejtek célzott elpusztítása („Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells”) témakörben.

A COST program keretében elnyert négy éves (2012/03/18 – 2016/03/27) projekt, amelynek címe „Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells” (StemChem) hosszú távú célja olyan kutatói hálózat kialakítása, amelyben szerves és elméleti kémikusok, biológusok és más, gyógyszerkutatással foglalkozó szakemberek olyan vegyületek fejlesztésére vállalkoznak, amelyek hatásosak lehetnek a rezisztens tumor őssejtek elpusztításában. A programban, amelyet Prof. D. Passarella (Dipartimento di Chimica Organica e Industriale, Università degli Studi di Milano) kémikus vezet, 32 országból közel 50 kutatócsoport 1200 kutatója vesz részt, így ez a COST kutatási program az egyik legnagyobb a maga nemében. Az itthoni tumor ellenes hatóanyagokkal kapcsolatos eredményei alapján Dr. Hudecz Ferenc akadémikust felkérték, hogy az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, illetve az ELTE Szerves Kémia Tanszéke csatlakozzon a hálózathoz, és magyar részről vegyen részt az irányító testület (Management Committee, MC) munkájában.

A hálózaton belül a tudományos kutatás három területen, munkacsoportban folyik: (1) vegyületek szintézise, kémiai jellemzése, (2) számítógépes módszerek és (3) farmakológiai kutatások.

A tumorőssejtek kutatása viszonylag új terület. A tumor őssejtek elnevezése onnan ered, hogy ezek a speciális tumorsejtek az őssejtekhez bizonyos fokig hasonló differenciálódó képességgel, valamint különleges túlélési stratégiákkal rendelkeznek. A napjainkban zajló kutatásoknak köszönhetően sikerülhet ezeket a tumorőssejteket karakterizálni, a többi tumorsejttől megkülönböztetni, viselkedésüket leírni. A jelenlegi kutatások során analizálják ezen sejtek működését, valamint működésükben a törvényszerűségeket és jellegzetes sejt felszíni struktúrákat, receptorokat határoznak meg. A kutatók másik tábora igyekszik olyan molekulákat találni és fejleszteni, amelyek *in vitro* kísérleti rendszerekben, az egészséges sejtek károsítása nélkül alkalmasak a rendkívül ellenálló és variábilis tumorőssejteket elpusztítani. A magyar kutatók a kémiai és a biológiai munkacsoport munkájában vesznek részt: egyfelől új molekulákat fejlesztenek ki, másrészt a többi laboratóriumban kifejlesztett molekulák célba

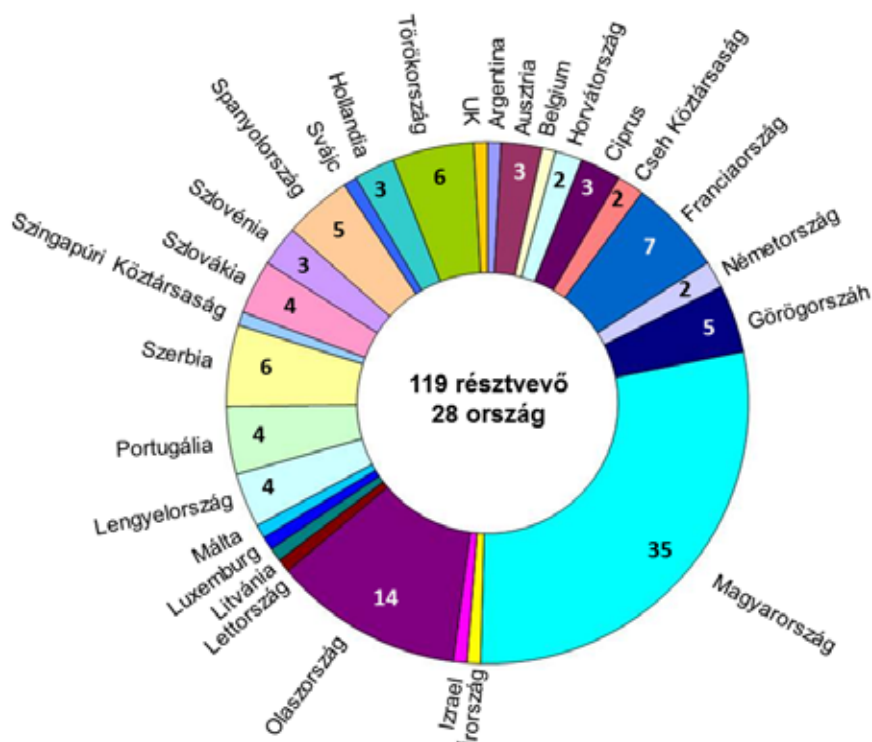
juttatását végzik elsősorban peptid típusú hordozó molekulák alkalmazásával.

A StemChem hálózat tagországainak kutatói évente találkoznak tudományos konferencia keretében, ahol beszámolnak saját eredményeikről, illetve neves külső szakembereket hívnak meg. A konferenciákon plenáris előadások hangzanak el és poszterek bemutatására is sor kerül. Ezenkívül PhD hallgatók és fiatal post doc kutatók számolnak be eredményeikről, amelyeket egy hálózati kutatócsoportban – e COST program támogatásával – értek el. Az első konferenciát 2013 elején rendezték Portugáliában (Porto, 2013. február 21-22), míg a másodikat ősszel Lengyelországban (Varsó, 2013. szeptember 19-20). A budapesti, márciusi munkacsoport találkozó szervezőbizottságának társelnökei Dr. Mező Gábor tudományos tanácsadó és Dr. Bősze Szilvia tudományos főmunkatárs voltak. A találkozó tudományos programja új szerves vegyületek szintéziséről, szerkezeti és funkcionális tulajdonságaikról szóló legfrissebb eredményeket összegezte.

A budapesti konferencia meghívott előadói között volt Yi Yan Yang (Institute of Bioengineering and Nanotechnology, Singapore, Szingapúri Köztársaság); Nadine Martinet (Institute of Chemistry, University of Nice, Franciaország), Anne T. Collins (York, UK), Sarkadi Balázs (SE-MTA) és Madarász Emília (MTA KOKI).

A hálózatról, valamint a már lezajlott munkacsoport találkozókról a következő honlapokon tájékozódhatnak bővebben: CMST COST Action CM1106; http://www.cost.eu/domains_actions/cmst/Actions/CM1106; <http://www.stemchem.org/>; <http://www.stemchem.org/Meetings/Meetings.htm>.

A budapesti találkozón huszonnyolc ország 119 résztvevő szakemberrel képviseltette magát. A résztvevők számának megoszlását országonként az 1. ábra mutatja.



A munkacsoport találkozon a nyitóbeszédet és a résztvevők köszöntését a konferencia szervező bizottságának elnöke, Prof. Hudecz Ferenc tartotta (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, ELTE Szerves Kémiai Tanszék). Beszédében bemutatta a szervezőbizottságot, valamint az ELTE és a kutatócsoportok jelenét és múltját. Ezután Prof. Daniele Passarella, a COST Action tudományos bizottságának elnöke megnyitotta a kétnapos tudományos ülést.

Az első szekció levezető elnöke és társelnöke Prof. Maurizio Botta (University of Siena, Italy), valamint Dr. Bősze Szilvia (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) voltak. Hunyadi Attila (Faculty of Pharmacy, University of Szeged) ismertette kutatócsoportjának eredményeit az MDR tumorsejtek pusztítására sikeresen alkalmazott protoflavonoidok, illetve ekdiszteroid típusú vegyületekről. Prof. Martial Ruat (Laboratory of Neurobiology and Development, CNRS UPR 3294, Gif sur Yvette, Franciaország) előadásában ismertette a „Hedgehog” szignáltranszdukciós útvonal lehetséges modulátorait tumor őssejtek esetében. Prof. Yi Yan Yang (Institute of Bioengineering and Nanotechnology, Singapore, Szingapúri Köztársaság) meghívott szakértő ismertette az intézetükben zajló nanotechnológiai kutatások eredményeit. Kitért a biodegradábilis polimer struktúrákra, amelyek ígéretes konstrukciók a hatóanyagok célba juttatására tumor sejtek, illetve tumor őssejtek esetében is. A szállítórendszerekkel elért *in vitro* és *in vivo* eredmények, valamint a szintetikus megközelítések messzemenően felkeltették a hallgatóság érdeklődését. Dr. Ana Podolski-Renić (University of Belgrade, Institute for Biological Research „Siniša Stanković”, Belgrád, Szerbia) ismertette a multirezisztencia kialakulásának és fenntartásának legfőbb törvényszerűségeit, valamint ezen sejten belüli folyamatok blokkolásának lehetséges stratégiáit. Prof. Paul Murphy (School of Chemistry, National University of Ireland, Galway, Írország) lektin inhibitorokról, valamint a csoportjában előállított új, makrociklusos vegyületekről és ezen vegyületek lehetséges modulátor funkciójáról beszélt.

A délelőtti második szekció elnöke Prof. Marija Balic (Medical University Graz, Ausztria), a társelnök pedig Prof. Mező Gábor (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport) voltak. A meghívott előadót, Prof. Madarász Emíliát (Institute of Experimental Medicine of Hungarian Academy of Sciences, Budapest) Maria Balic mutatta be a hallgatóságnak. Prof. Madarász Emília kitűnő összefoglaló előadásában az idegrendszeri őssejteket mutatta be. A szekció következő előadója, Dr. Michael Christodoulou (University of Milan, Milánó, Olaszország) a vismodegib származékok, analógok szintézisét és a vegyületekkel folytatott biológiai vizsgálatok eredményeit ismertette. Prof. Christian D. Muller (University of Strasbourg, Strasbourg, Franciaország) csoportjának publikált, illetve legfrissebb adatait prezentálta új, apoptotikus folyamatokat indukáló enzim célpontok esetében.

A délutáni szekció elnöke Prof. Danijel Kikelj (University of Ljubljana, Szlovénia), társelnöke pedig Dr. Szabó Ildikó (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) voltak. Az első előadó Prof. Nadine Martinet (Institute of Chemistry, University of Nice, Franciaország) a vegyületkönyvtár molekuláival kapott legújabb

eredményeiről beszélt. A vegyületkönyvtár létrehozását a munkacsoportok, illetve a professzor asszony kezdeményezték a StemChem hálózati munka megindulásakor. A munkacsoportoktól összegyűjtött vegyületeket a hálózathoz tartozó kutatócsoportok laboratóriumaiban folyamatosan tesztelik, hatásos vegyületek után kutatva. A hálózat vegyülettárának bővítését, valamint a vegyülettár elemeinek tesztelését Prof. Martinet koordinálja a project futamideje alatt. A vegyülettárral kapcsolatos örvendetes eredmények összefoglalását Ana Martins (University of Szeged, Hungary – Universidade Nova de Lisboa, Portugália) prezentációja követte. A fiatal kutató az ekdiszteroidokkal elért izgalmas eredményeit ismertette. Dr. Alfons Nonell-Canals (Mind the Byte, Barcelona, Spanyolország), aki az „iMols” elnevezésű „cloud” platformot mutatta be, és vázolta a hallgatóság számára alkalmazhatóságát a hatóanyag keresés menetében. Dr. Deborah Quaglio („La Sapienza” University, Rome, Olaszország) új és rendkívül ígéretes konstrukciókat mutatott be hatóanyagok célba juttatására, valamint a szupramolekuláris felismerésre.

A szekció befejezését követően került sor az irányító testület (MC, Management Committee) ülésére, valamint a poszterszekcióra.

A következő nap reggeli szekciójának elnöke és társelnöke Prof. Daniele Passarella (University of Milan, Olaszország) és Dr. Schlosser Gitta (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) voltak. Prof. Pierre Schembri-Wismayer (University of Malta, Málta) prezentációjában leukémia kezelésében alkalmazható vegyületeket mutatott be. Dr. Alexandros Zografos (Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Görögország) új, lehetséges célba juttató konstrukciókról beszélt. Őt követte a harmadik meghívott szakértő, Prof. Anne Collins (University of York, York, Egyesült Királyság), aki a STAT3 szerepével kapcsolatos kutatásai eredményeit mutatta be prosztata tumor őssejtek esetében.

A konferencia ötödik szekciójának elnöke Prof. Panagiota Sotiropoulou (Université Libre Bruxelles, Belgium) volt, Dr. Bánóczy Zoltán (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) társelnökkel. A szekció legelső előadója a meghívott szakértő, Prof. Sarkadi Balázs (Institute of Molecular Pharmacology, Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences – Molecular Biophysics Research Group, Semmelweis University, National Blood Center, Budapest) volt. Sarkadi professzor az ABC transzporterekkel és az őssejtekkel kapcsolatos kutatásai eredményeit foglalta össze érdekes előadásában. A szekció következő előadója Prof. Kéri György (MTA-SE Pathobiochemistry Research Group, Semmelweis University, Budapest, Vichem Chemie Research Ltd., Budapest), aki a csoportjában fejlesztett „DriverHit Library” alkalmazhatóságát ismertette a tumorőssejtek elleni hatóanyag keresésben. Őt követte Prof. Mező Gábor (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest), aki összefoglalta a legfontosabb, új *in vitro* and *in vivo* eredményeket a peptid típusú hordozó molekulákkal a tumorsejtek pusztításában.

A munkacsoport találkozó hatodik szekciójának elnöke és társelnöke Dr. Gabriela Almeida (IPATIMUP, Portugália), valamint Dr. Uray Katalin (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) voltak. Ez a szekció Dr. Orbán Erika

prezentációjával indult (Institute of Biophysical Chemistry, Goethe University Frankfurt, Németország), aki összefoglalta G-fehérje kapcsolt receptorok sejtmentes expressziójának lehetőségeit és ismertette a módszerrel elért saját eredményeit humán Gonadotropin Releasing Hormone Receptor esetében.

A szekció befejezését követően öt előadás következett, amelyekben a poszter prezentációk legjobbjai mutatták be röviden összefoglalva eredményeiket. Az öt győztest a tudományos bizottság (Scientific Committee) tagjai választották ki a poszterek összefoglalói alapján. A győztesek és a poszterek száma, valamint témája röviden: (1) Sanja Vrbeč, Dominik Nabergoj (University of Ljubljana, Szlovénia, Université de Strasbourg, Franciaország) szintetikus alkaloid analógok apoptózist indukáló hatása különböző humán tumorsejteken és tumor őssejteken (P32); (2) Marcela Dvorakova (Institute of Experimental Botany, Prága, Cseh Köztársaság) acetilált adenzindifoszforszármazékok vizsgálata (P20); (3) Bánóczy Zoltán (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) sejt penetráló peptid konjugátumok és *in vitro* hatásuk (P3); (4) Renkse Bos (University of Groningen, Hollandia) makrofágok és Wnt szignál humán tüdő tumorok esetében (P38); (5) Rengul Cetin-Atalay (Bilkent University, Ankara, Törökország) új, kismolekulatömegű kináz inhibitorok alkalmazhatósága máj eredetű tumorok és tumor őssejtek esetében (P4).

A munkacsoport találkozó záró szekciójának levezető elnöke és társelnöke szintén Dr. Gabriela Almeida (IPATIMUP, Portugália), valamint Dr. Uray Katalin (MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest) voltak. Dr. Maria M.M. Santos (University of Lisbon, Portugália) új, ígéretes tumorelles vegyületekről beszélt. A találkozó utolsó előadója Dr. Andreani D Odysseos (EPOS-Iasis, R&D, Nicosia, Ciprus) volt, aki szabad és észterizált gamma-tokotrienol származékok őssejtekre gyakorolt hatásáról beszélt.

Az előadást követően Prof. Daniele Passarella és Prof. Hudecz Ferenc kihirdették a poszter prezentációk legjobbjait, valamint megköszönték a szervező bizottság és a segítők munkáját. Külön kiemelték az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoporthoz, valamint a Szerves Kémiai Tanszékhez kötődő Ph.D. hallgatók, illetve alap- és mester szakos hallgatók nélkülözhetetlen munkáját („zöld pólós” csapat), valamint megköszönték a találkozó szponzorainak támogatását (2. ábra). Prof. Daniele Passarella röviden ismertette az irányító testület ülésén elhangzottakat és a következő szimpózium lehetséges helyszínét.

A kétnapos budapesti találkozón a munkacsoportok kutatói számoltak be legújabb eredményeikről, hatvanhét prezentációt mutattak be, ebből huszonhárom előadás, negyvennégy pedig poszter volt. Ezek között a prezentációk között szerepelt fiatal kutatók munkája (ESR presentations, early stage researchers), számosan közülük első nemzetközi szimpóziumukon vettek részt. A találkozón számos új együttműködés részleteit dolgozták ki különböző kutatócsoportok. Publikációk, valamint szabadalmak előkészítése történt meg.

A szimpózium programja, valamint a prezentációk összefoglalói és a szimpóziumon készült fotók letölthetők a StemChem honlapról: <http://www.stemchem.org/Meetings/Meetings.htm>.

Bósze Szilvia
*tudományos főmunkatárs,
 a szervező bizottság társelnöke,
 MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport*

Chemical Approaches to Targeting Drug Resistance in Cancer Stem Cells



**A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET 2014. ÉVI VÁNDORGYŰLÉSE
DEBRECEN, 2014. AUGUSZTUS 24-27.**

Tisztelt Kolléga!

Örömmel értesítjük, hogy a Magyar Biokémiai Egyesület Debrecenben rendezi meg 2014. évi Vándorgyűlését. A program kettő vagy több szekcióban zajlik majd, angol nyelven. Tervezzük nemzetközi hírű külföldi előadók meghívását plenáris előadások tartására.

A vándorgyűlés tervezett témái:

- Biocrystallography and structural biology
- Signaling and post translational modifications
- Genomics and Epigenetics
- Genome structure, function and maintenance
- Biochemical pharmacology
- Cell death and differentiation
- Stem cells
- Proteomics
- Membrane Biochemistry
- Pathobiochemistry
- Poster sessions

A konferencia főszervezője Tózsér József, e-mail cím: tozser@med.unideb.hu.

A Vándorgyűlés felhívása és minden további információ az Egyesület honlapján lesz megtalálható (<http://www.mbkegy.hu>), illetve elektronikus levélben értesítjük az MBKE tagjait.

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

Fésüs László
az MBKE elnöke

Vértessy Beáta
az MBKE főtitkára

Tózsér József
Debreceni Egyetem OEC Biokémiai és
Molekuláris Biológiai Intézet

Kedves Kollégák!

2014. november 19-21. között Budapesten kerül megrendezésre a **Danube Scientific Conference on Epigenetics** c. tudományos konferencia, amelyre tisztelettel meghívjuk.

A konferencia hivatalos honlapja elérhető itt: <http://danube-epigenetics.weebly.com/>

Szakítson időt és jöjjön el a konferenciára mert:

- ✓ A transzkripció szabályozás és epigenetikai mechanizmusokról a terület vezető képviselői jönnek el Budapestre.
- ✓ Poszter és poszter előadás formájában bemutathatja saját és kutató csoportja eredményeit.
- ✓ A nemzetközi résztvevőkkel új kollaborációs kapcsolatokat kezdeményezhet.

Milyen témák kerülnek napirendre?

Az utóbbi évek forró területei közül többet részletesen tervezünk bemutatni, úgy mint transzkripció szabályozás és epigenetikai vonatkozásai, anyagcsere, in vitro fertilizáció és központi idegrendszeri folyamatok szabályozásának epigenetikai vonatkozása.

Részletes program a meghívást elfogadó előadók nevével és szakmai profiljával itt: <http://danube-epigenetics.weebly.com/programme.html>

Hol kerül megrendezésre a konferencia?

A nyitó díszelőadás és a gálavacsora helyszíne a Gellért Hotel. A következő két nap eseményei a Magyar Tudományos Akadémia új, Duna-parti Természettudományi Kutatóközpontjában kerülnek megrendezésre (<http://danube-epigenetics.weebly.com/location.html>).

Hogyan tudok részt venni a konferencián?

Jelentkezzen a korai regisztrációs időszakban az alábbi linken: <http://danube-epigenetics.weebly.com/registration.html> szeptember 15-ig, és küldjön absztraktot: <http://danube-epigenetics.weebly.com/abstracts.html> !
Lehetőséget biztosítunk a legjobb absztraktok szóbeli bemutatására, amelyek közül a legjobb díjazásban részesül.

További kérdése van? Lépjen velünk kapcsolatba: <http://danube-epigenetics.weebly.com/contact.html>!

A Tudományos Szervező Bizottság nevében:

Arányi Tamás

Bálint Bálint L.

FEBS-EMBO jubileumi konferencia Párizs, 2014

The Federation of European Biochemical Societies (FEBS), EMBO - Excellence in life sciences, and the French Society for Biochemistry and Molecular Biology (SFBBM) will hold a joint conference for the life sciences in 2014.

The FEBS EMBO 2014 Conference will take place from **Saturday 30 August to Thursday 4 September 2014** at the Palais des Congrès in **Paris, France**.

2014 marks the **50th anniversary** of FEBS and EMBO, and the **centennial** of the SFBBM.

This year's meeting replaces the normally separate annual conferences of FEBS and EMBO, and combining our communities, we expect to bring together a wide range of researchers.

Angela Nieto, Susan M. Gasser, Eric Westhof and Michael Reth have agreed to act as the programme committee. They have put together a scientific programme covering the breadth of the life sciences. In addition, there will be sessions on science policy, publishing and careers and education, as well as activities tailored specifically for scientists in the early stages of their careers. Further information and registration is at <http://www.febs-embo2014.org/>.

We are all looking forward to welcoming you in Paris!

Frédéric Dardel

President, SFBBM

frederic.dardel@parisdescartes.fr

Maria Leptin

Director, EMBO

maria.leptin@embo.org

Israel Pecht

Secretary General, FEBS

israel.pecht@weizmann.ac.il



50 ÉV A TUDOMÁNY SZOLGÁLATÁBAN; DUDITS DÉNES 70 ÉVES



Dudits Dénes (Mosonmagyaróvár, 1943) a Gödöllői Agrártudományi Egyetem Genetikai és Növénynevelési Tanszékének lelkes diákkörös hallgatójaként búza- és borsónövények genetikai vizsgálatával kezdte tudományos pályáját. Professzora, Bálint Andor támogatásának köszönhetően még egyetemista korában lehetősége nyílt arra, hogy nyári gyakorlatát a garteslebeni Kaiser Wilhelm Institute of Crop Plant Research nevű, nagyhírű intézményben végezhesse, ami az akkori idők szocialista

országainak növénykutatási fellegvárát jelentette. Szintén Bálint Andor ajánlása alapján kapott felkérést Láng Istvántól, aki Straub F. Brunó mellett az akkor alakuló Szegedi Biológiai Központ megszervezését irányította, hogy csatlakozzon az SZBK Genetikai Intézetének kutatógárdájához. Így a hazai viszonyok között kiemelkedő kutatási feltételeket és szellemiséget biztosító SZBK munkatársaként kapcsolódott be 1971-ben a nemzetközi szinten is jelentős kutatási témákba. Itteni első kutatási területe a 70-es évek elején világszerte kibontakozó növényi szomatikus- és sejtgenetikai irányhoz kapcsolódó búza szövettenyészetekből történő növényregeneráció volt. Az ebben a témában elnyert egyéves UNESCO-ösztöndíja lehetővé tette, hogy a kanadai Prairie Regional Laboratoryban (Saskatoon) elsajátítsa a növényi protoplaszt fúzió módszerét, amit hazatérése után széleskörűen alkalmazott a szomatikus hibridek előállításában. Ezen vizsgálatok alapján szerezte meg 1984-ben a biológiai tudományok doktora címet. Munkatársaival kezdeményezte az aszimmetrikus hibridizációval történő génátvitelt, rendszertanilag távoli növények között [1].

Dudits Dénes korán bekapcsolódott a 80-as évek elején indult növényi génebézési kutatásokba, és a csoportjához csatlakozott Koncz Csaba részvételével megvalósította a kukorica mitokondriális DNS klónozását, amivel a hazai növénybiológiai kutatások új irányba indultak [2]. Kétéves bostoni vendégprofesszori útból hazatérve kutatásainak fő iránya a növényi gének izolálása és a transzgenikus növények előállítása lett. 1986-ban munkatársaival leköszölte az első transzgenikus lucerna előállítását [3], amit egy nagyon hatékony kukorica transzformációs rendszer kidolgozása követett a szegedi Gabonakutató Intézet munkatársával, Mórocz Sándorral közösen [4]. Ezzel a nemzetközi szabadalmi védelmet kapott módszerrel történt a LibertyLink® kukoricacsalád előállítása, amelyet herbicid rezisztens GM hibridként jelenleg is termesztnek.

A totipotens növényi őssejtek és a szomatikus embriogenezis molekuláris hátterének vizsgálata során egy kalciumfüggő proteinkinázot izoláltak és jellemeztek [5]. Későbbi fehérje foszforilációs kutatásaik a növényi sejtciklus szabályozásának tanulmányozásához kapcsolódnak. Elsőként igazolták a ciklinfüggő kinázok jelenlétét növényekben [6]. Dombrádi Viktorral és a debreceni kollégákkal együttműködve bizonyították, hogy a PP2A foszfatáz gátlása a mikrotubulusok korai szerveződését eredményezheti a mitotikus növényi sejtekben [7]. Az utóbbi években intenzív kutatásokat folytatnak a növényi retinoblasztóma homológ fehérjék poszttranszlációs módosításának vizsgálatára [8].

Tudományos teljesítményét a több mint 200 tudományos közleményére kapott 4000 feletti számú hivatkozás és 38-as Hirsh index fémjelzi, amit a hazai tudományos közvélemény MTA tagsággal ismert el; 1990-ben az Agrártudományi Osztály levelező, 1995-ben pedig rendes tagja lett. A nemzetközi tudományos közösség magas szintű elismerését pedig az Academia Europea (1990) és az EMBO (2000) tagság jelzi. Az általa elért eredmények alapján megkapta a legmagasabb állami tudományos elismerést, a Széchenyi-díjat is (1995).¹

Dudits Dénes kiemelkedő tudományos munkája mellett igen sikeres tudományszervező tevékenységet folytatott: 10 éven keresztül volt az SZBK Növénybiológiai Intézetének igazgatója, majd pedig 13 évig az SZBK főigazgatója. Két akadémiai ciklus idejére az MTA élettudományi alelnökének választották (2008-14). Vezetése alatt nyerte el az SZBK a rangos Centre of Excellence of the European Union címet, és az ő kezdeményezésére történt meg az SZBK tudományos eredményességének első nemzetközi standardok szerinti felmérése is 1998-ban, amit az EMBO végzett.

Pályafutása során végig nagy jelentőséget tulajdonított a laboratóriumban szerzett tudás innovatív alkalmazásának, ami számos nemzetközi szabadalmat és ezekre épülő, a növényi biotechnológiában jelentős felhasználást eredményezett. Az általa 1999-ben alapított Barabás Zoltán Biotechnológiai Egyesület fontos szerepet játszik a növényi biotechnológia eredményeinek széleskörű megismertetésében és a GM növényekkel kapcsolatos társadalmi előítéletek leküzdésében.

¹ Dudits Dénest 2014 májusában Szeged város Pro Urbe díjjal tüntette ki (a szerkesztőbizottság megjegyzése).

Nevéhez fűződik a szegedi Biopolisz koncepció kidolgozása, amely szerint a Szegedi Tudományegyetem és az SZBK tudományos potenciálja révén elért kutatási eredményekre épülő innovatív biotechnológiai vállalkozások a kutatási infrastruktúra közvetlen közelében létrehozandó inkubátorban nyerjenek elhelyezést. Sajnos ez a beruházás a gazdasági környezet kedvezőtlen alakulása miatt még mindig megvalósításra vár.

Dudits Dénes 70 éves kora ellenére is rendületlen energiával dolgozik tovább az SZBK Növénybiológiai Intézetének emeritus professzoraként. A még diákkörös hallgatóként megismert alapokhoz visszanyúlva poliploidizációval, a kromoszómakészlet megduplázásával gyorsan növő, nagy biomassza hozamú energiafűz genotípusok kifejlesztésén fáradozik. Másik kedvenc témája a szintetikus oligonukleotidok segítségével történő irányított mutációk létrehozása növényi rendszerekben. A módszer napjainkban egyre fokozottabb figyelmet kap, mivel ez a géntechnológiai eljárás segítheti a jövő társadalmi elvárásait kielégítő nagy termésbiztonságú és kedvező tulajdonságú növények előállítását.

A hosszú és eredményes kutatói pálya folytatásához további jó egészséget és sok sikert kívánunk!

Irodalomjegyzék

[1] Dudits, D., Maroy, E., Praznovszky, T., Olah, Z., Gyorgyey, J., Cella, R. (1987) Transfer of resistance traits from carrot into tobacco by asymmetric somatic hybridization: Regeneration of fertile plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **84**: 8434-8438.

[2] Koncz, C., Sumegi, J., Udvardy, A., Racsmany, M., Dudits, D. (1981) Cloning of mtDNA fragments homologous to mitochondrial S2 plasmid-like DNA in maize. *Molecular General Genetics*, **183**: 449-458.

[3] Deak M, Donn G, Feher A, Dudits D. (1986) Dominant expression of a gene amplification-related herbicide resistance in medicago cell hybrids. *Plant Cell Report*, **5**: 97-100.

[4] Omirulleh, S., Abraham, M., Golovkin, M., Stefanov, I, Karabaev, M., Mustardy, L.A., Morocz, S., Dudits, D. (1993) Activity of a chimeric promoter with the doubled CaMV 35S enhancer element in protoplast-derived cells and transgenic plants in maize. *Plant Mol Biol*, **21**: 415-28.

[5] Bogre, L., Olah, Z., Dudits, D. (1988) Ca²⁺-dependent protein kinase from alfalfa (*Medicago varia*): Partial purification and autophosphorylation. *Plant Science*, **58**: 135-144.

[6] Hirt, H., Pay, A., Gyorgyei, J., Bako, L., Nemeth, K., Bogre, L., Schweyen R.J., Heberle-Bors, E., Dudits, D. (1991) Complementation of a yeast cell cycle mutant by an alfalfa cDNA encoding a protein kinase homologous to p34cdc2. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **88**: 1636-1640.

[7] Ayaydin, F., Vissi, E., Meszaros, T., Miskolczi, P., Kovacs, I., Feher, A., Dombradi, V., Erdodi, F., Gergely, P., Dudits, D. (2000) Inhibition of serine/threonine-specific protein phosphatases causes premature activation of cdc2MsF kinase at G2/M transition and early mitotic microtubule organisation in alfalfa. *Plant J*, **23**: 85-96.

[8] (Dudits D., Abraham, E., Miskolczi, P., Ayaydin, F., Bilgin, M., Horváth, G.V. (2011) Cell-cycle control as a target for calcium, hormonal and developmental signals: the role of phosphorylation in the retinoblastoma-centred pathway. *Annals of Botany*, **107**: 1193-202.

Vass Imre
igazgató
MTA SZBK
Növénybiológiai Intézet

FÓRUM: TUDOMÁNY-FINANSZÍROZÁS PÁLYÁZATI FORMÁBAN

A Magyar Idegtudományi Társaság levelező hálózatán (*Ganglion*) a Nemzeti Agykutatási Program (NAP) egy pályázója sok reflexiót váltott ki. Az érdekes levelek a tudományos pályázati rendszer általános hazai helyzetére is rávilágítanak.

Többségünk nem a tudományos közélet NAP-os oldalán tevékenykedik, de a hazai pályázati rendszerrel szükségszerű kapcsolata van és véleménye is van róla. Egyesületünk teret kíván nyújtani tagtársainknak, hogy véleményt nyilvánítsanak tudomány-területünk speciális problémáiról és tudományos pályázati rendszerünk egészével kapcsolatban.

Ha a *Ganglion* NAP-os levélírói hozzájárulnak, az ő írásaikat is hamarosan megjelentetjük a MBKE Fórum rovatában.

Hozzászólások és vélemények (más témákban is!) az alábbi címen keresztül juthatnak el a Fórumra.

Én ott folytatom.

Maksay Gábor
rovat-felelős
maksay.gabor@ttk.mta.hu

A GYAPJÚ METAMORFÓZISA - NEMEZMŰVÉSZET

A gyapjú

Az állati fehérjék, így a fehérjét tartalmazó állati szőrök felhasználása is egyidős az emberiséggel. Ha textíliára gondolunk - amely fogalom különböző eredetű (növényi, állati, szintetikus) szálak keresztezésével vagy összehurkolásával létrehozott lapszerű testet jelent - számtalan példa jut eszünkbe. Nyilvánvaló, hogy a szálak összehurkolására és/vagy keresztezésére számtalan módszer, technika született: nemezelés, hurkolásos variációk, szövés.

Ezen módszereket, technikákat tekintve a legegyszerűbb és szinte eszközt sem igénylő módszer a nemezelés. Nyilvánvaló, hogy a nemezelés „felfedezése” azon a megfigyelésen, tapasztalaton alapult, hogy az állati szőrök közül bizonyosak nedvesedést, mechanikai behatást és hőhatást követően „összetapadtak”, szinte szétválaszthatatlanná váltak.

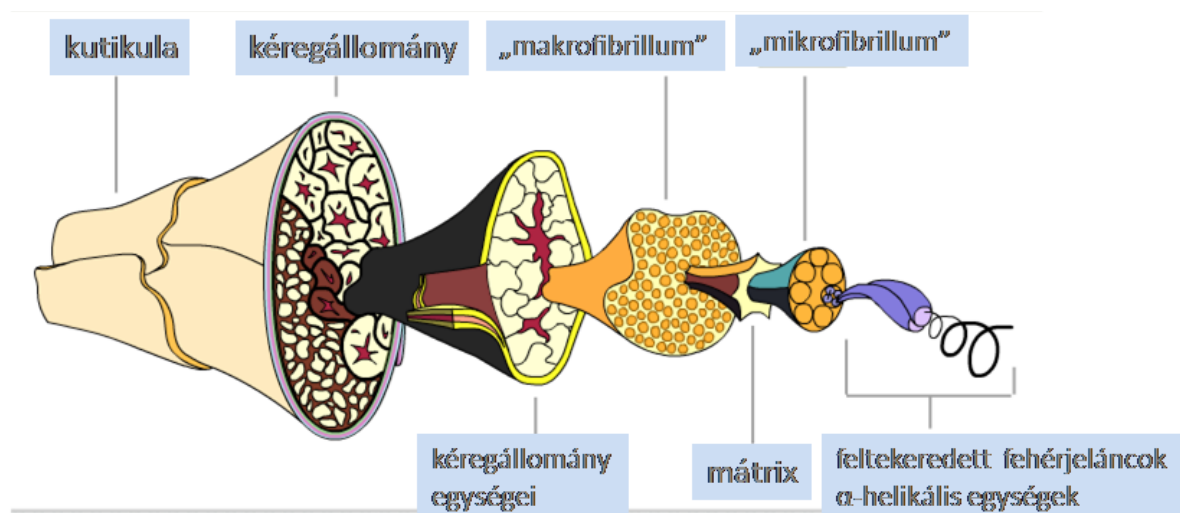
A nemez szó nagy valószínűséggel perzsa eredetű, jelentése: „ver”, így a legősibb textília neve utal a készítésének módjára, hiszen a gyapjút a nemez készítése közben víz alkalmazásával verik, gyúrnak, döngölik. Egy régi monda szerint az első nemez Salamon pásztor fia készítette, aki hitte, hogy a juhok gyapja textillé alakítható. Mivel nem sikerült a gyapjúból szövetet készítenie, ezért dühödten, könnyezve taposta meg a gyapjút, amiből nemez keletkezett.

A „nemezlődés” aktuálisan éppen hátrányos voltát mindannyian tapasztalhattuk egy-egy kedvenc gyapjú pulóver vagy szoknya látványos méretcsökkenésénél. A mosás közben (akár gépi, akár kézi mosásról van szó) a „nemezlődést” előidéző hatások (mechanikai behatás, hőhatás, pH változás stb.) miatt a gyapjúsálak tömörödnek, zsugorodnak és mindezen folyamatokat követően a ruhadarab „összemegy”.

Mi a szerkezeti oka a nemezlődést okozó változásoknak a gyapjú esetében?

A nemezeléssel létrehozott textíliák alapanyaga elsősorban a gyapjú. A gyapjút alkotó elemi szál szerkezete, a pikkelyes szerkezetű külső felület teszi alkalmassá a gyapjút a nemezelésre. A szőrszál harántmetszetén három réteget különíthetünk el: kutikula - felhám, kéregállomány, velőállomány. A felhámot alkotják a fenyőtobozhoz hasonló szerkezetet alkotó lapos pikkelyek. A kéregállományt hosszúkás, orsó-alakú sejtek alkotják, ez a réteg festékanyagokat

is tartalmazhat. A kéregállomány a legfontosabb rétege a gyapjúszálnak, mert a lényeges fizikai tulajdonságok (erősség, nyújthatóság, rugalmasság, zsugorodó képesség) ennek a rétegnek a függvényei. Az egymáshoz lazán fűződő sejtekből álló velőállomány nem minden gyapjúszálban található, inkább csak a durvábbakban, kerek vagy sokszögletű sejtek alkotják, melyek lazán fűződnek egymáshoz (a velőállományt tartalmazó gyapjúszálaknál a vastagság ezért nem arányos a rugalmasságukkal). Ez az állomány is tartalmazhat festékanyagot (1. ábra). A gyapjút alkotó fehérjék helikális szerkezetű α -keratin típusúak és a szálban két vagy három hélix "sodronyszerűen" csavarodik össze, bonyolult rendszert alkotva, hiszen tizenegy ilyen sodronyszál alkot egy protofibrillumot, amelyben két szál közepén, kilenc pedig e kettő központi szál körül helyezkedik el. A protofibrillumok átmérője megközelítőleg 1 angström. A keratint zömében kéntartalmú aminosavak (metionin, cisztein, cisztin) építik fel.



1. ábra. A gyapjúszál szerkezete.

A juhoktól származó gyapjún kívül más állatból származó szőrből is lehet nemezelni (alpaka, láma, angoranyúl stb.), de egyik típusú állati szőr sem képes olyan mértékben nemezelődni, egyikből sem lehet olyan nagy felületű, egységes textúrájú textíliát kialakítani, mint gyapjúból. A gyapjú szálhalmaz nedves, vizes állapotban történő gyúrása, mozgatása, tömörítése, sulykolása (kallózása) okozza azt, hogy a szálhalmaz összefüggő lappá alakul, ami a nemez. A kutikula pikkelyeinek további felnyílását az alkalikus pH is elősegíti, ezért a nemezelésnél alkalmazott víz legtöbb esetben szappanos is (egyész szerzők és a nemezelők tapasztalatai szerint a pH 7-10 tartomány a legideálisabb). A hőhatás is kedvezően befolyásolja a folyamatot, ezért langyos, illetve kifejezetten meleg (adott esetben forró) vizet is alkalmaznak, alkalmazhatnak a nemezelés egyes szakaszaiban.

A legáltalánosabb nemezkészítési módszer lényege és menete az, hogy az állatokról levágott gyapjút először a növénymaradványoktól, piszoktól tisztítják meg válogatással, majd mossák, zsírtalanítják, megszárazítják. Ezt követi a „kártolás”, ami a csomós gyapjú fellazítása, szálaira való szétzilálása, fésülése megfelelő eszközökkel. Ezután következik maga a nemezelés, amely processzus során a gyapjút rétegekben kirakják, bevizezik, majd különböző technikájú gyúrással tömörítik, textúráját sűrítik. A készítés módját, a műveleteket, a víz hőmérsékletét a készített tárgy határozza meg. A gyapjú elemi szálai pikkelyes felületükkel a fentebb felsorolt műveletek következményeként olyan szorosan összeakadnak, összekuszálódnak, hogy nem lehet szétválasztani a szálakat. Az így alkotott nemezből kisebb méretű tárgyak - papucs, kesztyű, sapka, ékszerek - és nagy darabok - szőnyeg, jurta - és még egyéb sokféle tárgy készülhet. Természetesen a mai nemezkészítők nagy része nem maga állítja elő az alapanyag gyapjút, hanem vásárolja.

Érdekesség, hogy a fentebb már említett, mindenki számára ismert gyapjú ruhadarab „összemenés” nemkívánatos jelenségét úgy küszöbölik ki, hogy a gyapjúsálak felületén a pikkelyeket vegyszeres kezeléssel elroncsolják, illetve műgyantával befedik. Ezen alapul az úgynevezett „superwash” kezelés is, amelyet követően a gyapjúsálak felülete mentes a pikkelyektől, így a belőlük készült fonalak és a majdani ruhadarabok akár mosógépben történő mosása is lehetséges. Természetesen a „superwash” jelzésű gyapjú maga nem alkalmas nemezelésre, csak fonalkészítésre.

A nemezkészítés történetének rövid összefoglalása

A nemezkészítés elsősorban azokon a területeken honosodott meg, illetve olyan népcsoportok alkalmazták ezt a módszert, ahol gyapjút adó állatok voltak. Az időszámítás előtti második és első évezredben a nemezkészítés elterjedt volt Euráziában és az ősi technikák nagyrészt változatlanul fennmaradtak a nomád népeknél. Írásos emlékek a korai időkből nem maradtak fenn, azonban tárgyi emlékek, elsősorban sírokból igen. A legfontosabb ilyen leletek pl. szibériai területen található jégbefagyott sírhalmokból kerültek elő (2. ábra). A sírhalmok temetkezési kamráinak falait nemez borította, ezeket a leletek tanúsága szerint réz- és faszögekkel erősítették fel. A falakat borító szőnyegszerű darabokon kívül párnákat, állatfigurákat, nyeregtakarókat és takarókat is feltártak. Ezeket a tárgyi emlékeket az Ermitázsban őrzik, a híres pazariki leletegyüttes részeként.



2. ábra. Szkíta rátétes nemeztakaró (részlet) és nemez madár, pazariki sírleletek. i.e. V-IV. század, Ermitázs, Szentpétervár.

A kínaiak legrégebbi írásos feljegyzései (Si-king; Énekek könyve) vagy a Történelem könyve (Su-king) még nem említik a nemezt. A kínaiak a korai időkben nem készítettek gyapjából textíliát, alapjában véve idegenkedtek a gyapjából készült darabok viselésétől. Az első kínai írások, amelyekben nemez szerepel, az i.e. IV-III. századból származnak, ezek elsősorban szőnyegekről, derékaljakról tesznek említést. Kína északi része ősidők óta kapcsolatban áll a pásztornépek lakta ázsiai részekkel, így a későbbi időkben a nemezkészítést a nomád népek közvetítésével elsajátították a birodalom egyes részein és a nemez darabok viselése is megszokottá vált (pl. nemezkalapok, köpenyek).

A kínaiakkal ellentétben a mongolok önmaguktól mesterei voltak a nemezkészítésnek. A nagy utazók részletesen beszámoltak a mongol birodalom területén készített nemezsátrokról (ismertebb nevükön jurtákokról), valamint egyéb nemezéből készült használati tárgyokról, elsősorban a csodálatos szőnyegekről (3-4. ábra). Maga Hérodotosz is említést tesz a nomádok által használt nemezsátorról i. e. 440 körül. Marco Polo XIII. századi velencei utazó is beszámol a mongolok házáiról, amelyek köralaprajzúak és szállíthatók, nemezéből készült művészi alkotások. A nemezsátrak, jurták, nemezszőnyegek más népeknél is

használatban voltak: kirgizek, üzbégek, török népek, vagy a honfoglaló magyarok. Tibetben a nemez szintén elterjedt volt, a takarók, ruhák és sátrak készítését a területen első ízben a T'ang dinasztia idejéből származó munkák említik. Az indiai területeken is ősidők óta ismerik a nemezt, mind ruhadarabként, mind pedig használati tárgyak (szőnyegek, párnák) alapanyagaként.



3. ábra. Nemezkészítők ábrázolása, ismeretlen mongol festő (részletek). A festményrészletek illusztrálják a nemezkészítés munkamenetét, a gyapjú lerakását, bevizezését, valamint a lovak segítségével végzett hengergetést, ami a nagy darabok (jurta elemek, szőnyegek) esetében a kézi gyúrás, tömörítést helyettesítette. Ulánbátor, Nemzeti Múzeum.



4. ábra. Tradicionális szőnyegkészítés. A rétegenként kirakott gyapjút feltekerik és bevizezést követően kézi erővel görgetik, gyúrnak.

A perzsák nemezkészítését kínai és görög írások egyaránt megerősítik. Maga Xerxész a görögök elleni hadjáratokban viselt tollakkal díszített nemezsüveget. A klasszikus görög irodalomban is találunk utalásokat a nemezre, Homérosz nemezsizakot említ az Iliásban. A görög katonák is használtak nemezből készült fejfedőt és ezt a viseletet a római légiósok is átvették.

A kortárs nemez-művészet

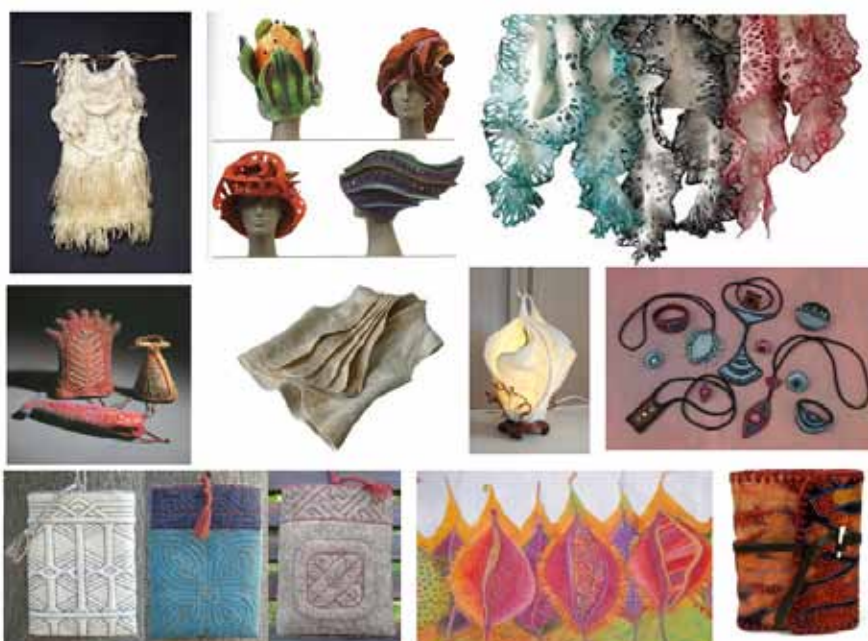
A rövid történeti összefoglaló csak érzékelteti az ősi textilkészítési mód elterjedését, valamint azt, hogy egyes népeknél egyértelmű és nélkülözhetetlen volt az állatok nyújtotta alapanyag felhasználása, mind használati tárgyak, mind pedig ruhadarabok előállítására érdekében. Azt nem mondhatjuk, hogy a nemez-készítés feledésbe merült volna, hiszen elsősorban Eurázsia-ban (mongol, kazah, türkmén, kirgiz, török és skandináv területek) a mai napig létező és élő kézműves technika különböző viseletek és tárgyak előállítására. A nemez-elés mellett fokozatosan kialakultak a textíliák előállítására alkalmas egyéb, eszközfejlesztést is igénylő technikák (pl. fonalkészítés, szövés, varrás stb.). Megjelentek egyéb állati alapanyagok (ilyen pl. az óriási karriert befutott hernyóselyem) és a növényi alapanyagok is (pl. kender, gyapot), valamint elkezdődött az alapanyagok kombinálása.

Természetesen az iparosodás, a gépesítés magával hozta az ipari „nemez” előállítását is (ismertebb néven: filc), amely folyamat során géppel az úgynevezett „szakállas” tűk fel-le mozgásával a gyapjúszálak víz nélkül is nemez-elhetők, vagyis összekuszálhatók. Ezekben a speciális tűkön található apró kampók a gyapjúszálak között lefelé mozgás közben magukkal ragadják a szálakat, felfelé pedig akadálymentesen kicsúsznak. Így minél többször haladnak át a tűk gyapjúszálak halmazán, annál tömörebb, stabilabb felületet, anyagdarabot hoznak létre.

A hagyományos kézi, vizes nemez-elés újbóli reneszánsza leginkább az 1960-as évektől indult, elsősorban a kézművesség, a régi kézműves mesterségek újraélesztése volt a leginkább felsorolható ok. Napjainkban mind Európában (elsősorban Németországban, Oroszországban, a volt Szovjetunió egyes utódállamaiban, Törökországban és a skandináv területeken), mind az Egyesült Államokban, Japánban rendkívül népszerű a nemez-elés. Egyrészt szabadidős tevékenység szintjén, másrészt kézművesek, művészek számára megélhetést nyújtó mesterségként. A jó minőségű, természetes, illetve festett, nemez-elésre alkalmas gyapjú-típusok elérhetőek, csakúgy, mint a szükséges selyem, növényi vagy szintetikus festékek. Rendkívüli népszerűségnek örvend napjainkban a gyapjú és a selyem, a gyapjú és a pamut típusú anyagok, sőt még a gyapjú és a szintetikus textíliák keverése, egybedolgozása is. Ezt szintén a minden megfelelő „pórusméretű” textílián átpenetrálni képes gyapjúszálak teszik lehetővé.

Hazánkban is népszerű az ősi technika és a magyar nemezsművészek világszerte ismertek. A legtöbbben talán Nagy Mari és Vidák István nevét ismerik, akik kutatásaikkal sokat tettek azért, hogy ez a típusú textilművészet újra felvirágozzon. Eurázsiai útjaik tapasztalatait, felfedezéseit és a tanulmányutakon elsajátított technikai részleteket könyveikben, kiadványaikban az országban elsők között osztották meg az érdeklődőkkel. Elsők között szerveztek mind professzionális kézműveseknek, mind laikusoknak workshopokat, táborokat, ahol ők maguk, vagy az általuk meghívott magyar és külföldi mesterek tanították a nemez készítés fortélyait. Ma már hazánkban és külföldön is sok-sok workshop, tanfolyam, tábor ad lehetőséget az egyes nemeztárgyak, viselhető ruhadarabok készítésének elsajátítására.

A nemzetközi porondon is ismert nemezsművészek és kézműves mesterek felsorolása nem lehet teljes, szerencsére nagyon sokan vannak ma már, de ebben az írásban azokat szeretném megemlíteni, akik workshopjain volt szerencsém részt venni: Pócs Judit, Róbert Vanda, Csille Márti, Tóth Piroska (5. ábra). A külföldiek közül, akiktől szintén tanulhattam, azok többek között a következők: Mehmed Girgic (Törökország) (6. ábra), Charity van der Meer (Hollandia), Dagmar Binder, Inge Evers (Németország), Sharon Costello, Lori Flood, Chad Alice Hagen, Jori Johnson, Renate Maile-Moskowitz (USA) (5. ábra). A felsorolt mesterek hagyományos vizes technikával előállított munkáiban megjelentek más anyagok is a gyapjúszálakkal kombinálva: hernyóselyem, szintetikus szálak, vagy akár a pamut.



5. ábra. Kortárs nemezsművészek munkái. Charity van der Meer, Pócs Judit, Dagmar Binder, Csille Márti, Chad Alice Hagen, Sharon Costello, Róbert Vand. Forrás: a művészek honlapjai és workshopok tájékoztatói.



6. ábra. Mehmed Girgic, török nemezsművész munka közben. A mester elsősorban szőnyegeiről híres. Forrás: <http://textilesofistanbul.wordpress.com/2011/11/16/felt-in-turkey-case-study-mehmet-girgic>.

A kézi tűnemezés (needle felting) is rendkívül népszerű lett az utóbbi két évtizedben, David és Eleanor Stanwood révén a speciális tűket alkalmazva. Ezen művészek közül (bár számosan vannak és sajnálom, hogy nem felsorolhatók mindannyian) egyik kedvencem Brigitte Krag Hansen (7. ábra).



7. ábra. Brigitte Krag Hansen munkái, tűnemezés. Ezek a figurák szárazon a speciális nemezeltűk segítségével készültek.



8. ábra. Bősze Szilvia munkái: sálak, stólák, sapkák, ruha (felhasznált anyagok: merino, wensleydale gyapjú és hernyóselyem), szőnyegek. Az egyes darabok hagyományos vizes technikával készültek, kézi hengergetés és gyúrással.

Felhasznált és ajánlott irodalom (válogatás):

- [1] Bunn, S. (2001) *Nomadic Felts: Artistic Traditions in World Cultures*. British Museum Press, ISBN: 978 0 7141 2557.
- [2] Nagy, M., Vidák, I. (2005) *Nemzsművészet, Hagomány és újrafelfedezés*. Tisza Közi Népművészeti Egyesület, Nemzsművészeti Műhely ISBN: 963 218 388 6.
- [3] Johnson, J. (2006) *Feltmaking and Wool Magic, Contemporary Techniques and Beautiful Projects*. Quarry Books ISBN: 13: 978 1 59253 275 8.
- [4] Mullins, W.G. (2009) *Felt*. Berg, ISBN: 13: 978 1 84520 439 6.
- [5] Mornu, N. (2011) *500 Felt Objects: Creative Explorations of a Remarkable Material (500 series)*. Lark Crafts, ISBN: 13: 9781 60059 705 3.
- [6] Brown, G.M., Salamony, S. (2010) *1000 Artisan Textiles: contemporary fiber art, quilts and wearables*. Quarry Books, ISBN: 13: 978 1 59253 609 2.
- [7] Brown, S., Dent, A., Martens, C., McQuaid, M. (2009) *Fashioning Felt*. Cooper Hewitt, National Design Museum, ISBN: 978 0 910503 89 1.

- [8] Hansen, B.K. (2004) New Felt using the felting needle. Fortaget Klematis, ISBN: 87 7905 877 9.
- [9] Hagen, C.A. (2005) Fabulous Felt Hats, Dazzling Designs from Handmade Felt. Lark Books, ISBN: 1 57990 542 0.
- [10] Cooper, C. (2007) Felted Jewelry, 20 Stylish Design. Lark Books, ISBN: 1 57990 870 5.
- [11] Polgár, J.P., Toldi, Gy. (2011) Juh- és kecsketenyésztés. Pannon Egyetem, Kaposvári Egyetem, Digitális Tankönyvtár.

**Az írást összeállította és elsősorban kedvcsinálónak szánta
az interneten elérhető nemezésekkel
kapcsolatos információk böngészéséhez:
Bősze Szilvia**



Bősze Szilvia 16 éve foglalkozik nemezeléssel, tűnemezeléssel, gyapjúfestéssel, szabadidős tevékenységként. A munkáiban alkalmazott alapanyagok: különböző típusú merino gyapjúk, wensleydale gyapjú, hernyóselyem, pamut. Saját darabjaiból, amelyek hagyományos vizes technikával készültek, a 8. ábra ad ízelítőt. 1990-ben végzett az ELTE TTK, Budapest biológia-kémia szakán. 1990-ben biológia-kémia szakos középiskolai tanári diplomát kapott. 1993 óta dolgozik az MTA Peptidkémiai Kutatócsoportban Budapesten, ahol 1999-ben szerezte Ph.D. fokozatát. 1999 óta tudományos főmunkatárs, 2001 óta a Mikroanalitikai Laboratórium vezetője. Kutatási területei: fehérjék antigénszerkezetének feltérképezése, epitóppetidek szintézise, szerkezet - hatás összefüggések vizsgálata, szintetikus antigének előállítása látens *M. tuberculosis* fertőzőttesség kimutatására, antimikrobiális szerek, peptidepitópok specifikus célsejtbe juttatása oligopeptid- és fehérje-konjugátumaik segítségével, tumor őssejtekbe történő specifikus és szelektív célbajuttatásra alkalmas hatóanyag-hordozó konstrukciók fejlesztése. 2000-ben Akadémiai Ifjúsági Díjat, 2001-ben Bolyai János kutatási ösztöndíjat, 2005-ben Bruckner Győző Ifjúsági díjat kapott.