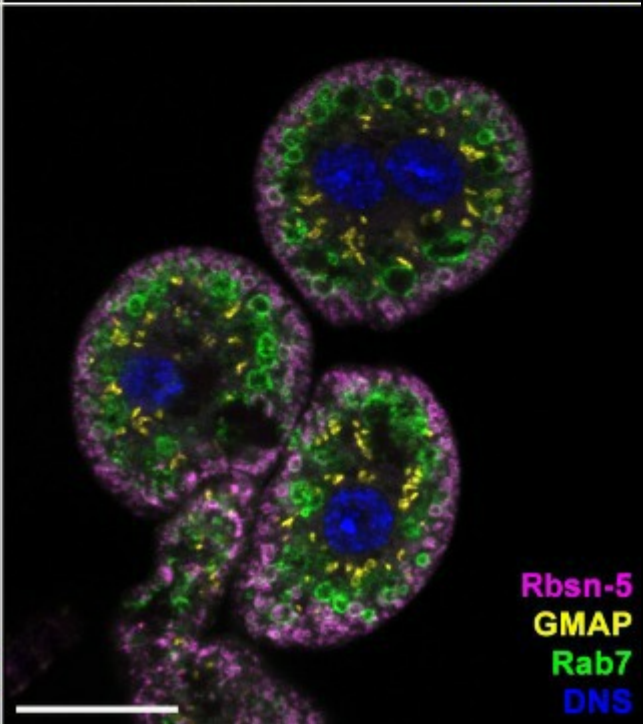
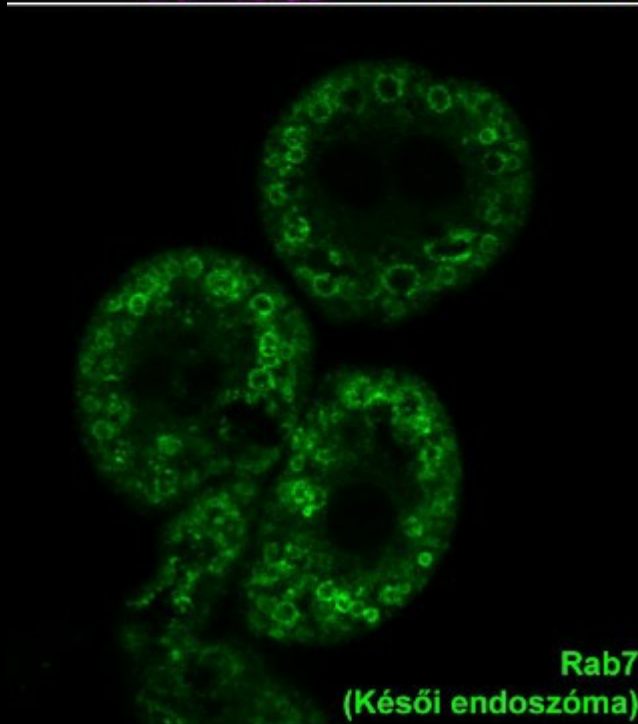
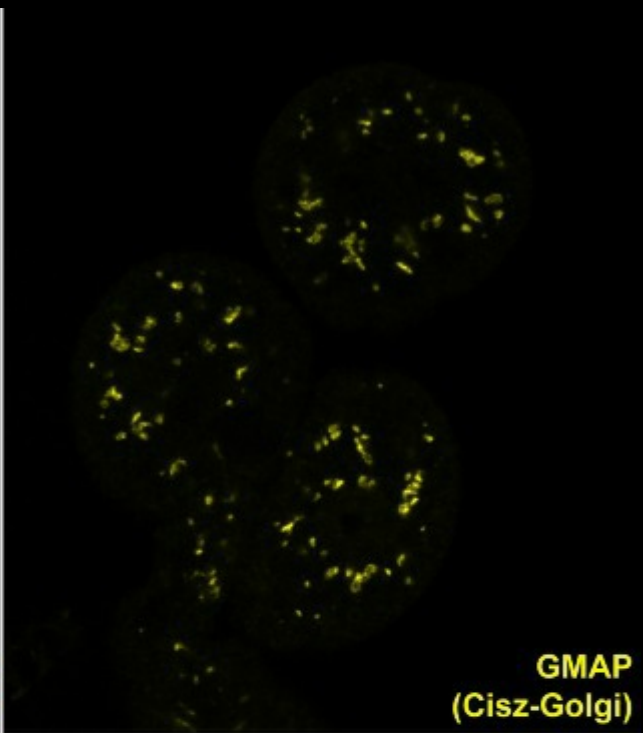
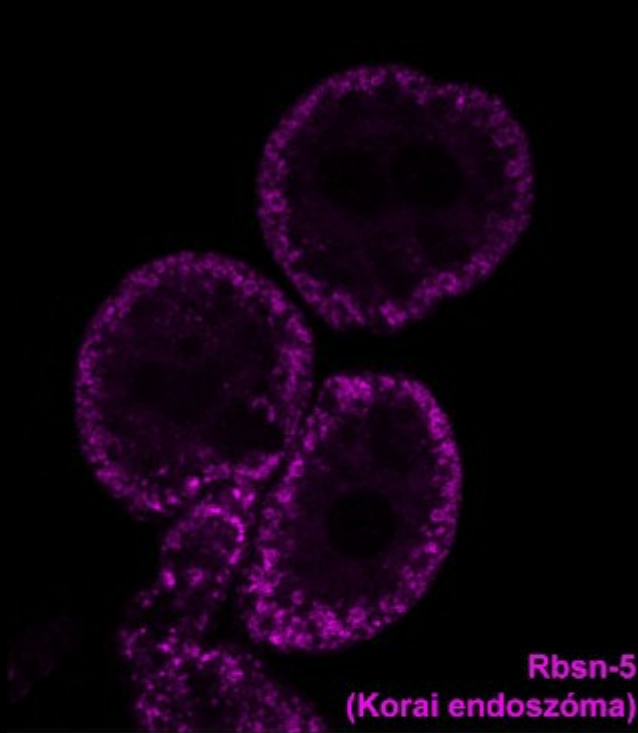


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLII. évfolyam 3-4. szám

2018. december



# 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**

info@remekdesign.hu

**XLII. ÉVFOLYAM 3-4. SZÁM**

**2018. december**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: Vad típusú ecetmuslica lárvális kiválasztósejtjeinek képe korai endoszómát (Rbsn-5, magenta), késői endoszómát (Rab7, zöld) és cisz-Golgi készüléket (GMAP, sárga) felismerő ellenanyagokkal történt immunfestést követően. (Lőrincz és mtársai, 107. oldal).*

### **AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK**

Kitüntetések, díjak ..... 4.  
Hunyady László: Álmodások és emlékek ..... 5.

### **HAZAI TUDOMÁNYOS MŰHELYEK**

Nyitray László: ELTE Biokémiai Tanszék: 50 év Szent-Györgyi Albert nyomdokain ..... 15.  
Tózsér József: A Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium a DE Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézetében ..... 28.

### **REVIEW**

Pál Gábor, Kintses Bálint: Irányított fehérjeevolúció ..... 43.  
Penke Botond, Szűcs Mária: Neurodegeneratív betegségek, demencia, Alzheimer-kór; gondolatok a 2018-as Agy-Díj kapcsán ..... 73.

### **TUDOMÁNYOS CIKK**

Lőrincz Péter, Kenéz Lili Anna, Juhász Gábor: Kiválasztósejtekkel az endo-lizoszómális pányvázófaktorok és más fehérjék nyomában ..... 100.

### **NAGY ELŐDEINK**

Nyitray László: Andrew G. Szent-Györgyi (1924-2015)- to be a cousin of Albert and to love myosins ..... 116.

### **KONFERENCIA FELHÍVÁSOK**

Molekuláris Élettudományi Konferencia, Eger, 2019. .... 136.  
44th FEBS Congress, Krakow, Poland, 2019. .... 137.  
13th Meeting of the Slovenian Biochemical Society, Dobrna, Slovenia, 2019. .... 138.

### **KONFERENCIA BESZÁMOLÓK**

FEBS konferencia, Prága, 2018. .... 139.  
FEBS3+ konferencia, Siófok, 2018. .... 144.

## **AKTUALITÁSOK**

Wollemann Mária professzor asszony köszöntése 95. születésnapján ..... 148.  
50 éves az ELTE Biokémiai Tanszék ..... 150.

## **FELHIVÁSOK**

A 2018. évi kiemelkedő cikkek listájának beküldése ..... 152.  
Olvasói levelek ..... 153.  
Alapítvány a Tudományos Szemészetért pályázata ..... 154.



*Meghitt karácsonyt és békés, boldog, sikereiben gazdag új évet kívánunk!*

Kiadja a Magyar Biokémiai Egyesület  
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.  
<http://www.mbkegy.hu>

Felelős kiadó Dr. Buday László

Az engedély száma III/SZI/397/1977

HU ISSN 2060 8152 (Online) | HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

## AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI 2018. JÚNIUS 15. ÉS 2018. NOVEMBER 30. KÖZÖTT

**Kondorosi Éva** akadémikusnak (MTA SZBK) ítélte idei díját az **International Balzan Prize Foundation**, melynek célja a kultúra, a tudomány és azon kezdeményezések támogatása, amelyek az emberiséget szolgálják az egész világon a béke és a testvériség jegyében.

A Bolyai-napon adták át a **Bolyai-ösztöndíj** odaítéléséről szóló okleveleket. A támogatás a tudományos pálya kiemelkedően fontos szakaszában, a PhD-fokozat megszerzését követő időben nyújt anyagi segítséget a fiatal kutatóknak. Az MBKE tagjai közül Bolyai-ösztöndíjasok 2018-ban:

**Kristóf Endre Károly** (Debreceni Egyetem),  
**Lőrincz Péter** (ELTE TTK),  
**Radnai Balázs** (Pécsi Tudományegyetem),  
**Sirokmány Gábor** (Semmelweis Egyetem).

Az MTA főtitkára **Hunyadi-Gulyás Évát**, a SZBK Proteomikai Kutatócsoportjának tudományos főmunkatársát kiemelkedő kutatói munkájáért **Főtitkári Kutatói Elismerésben** részesítette.

**Junior Prima díjat** kapott, amiben azok a 33 év alatti fiatal tudósok részesülhetnek, akik nemzetközi szinten is magasan jegyzett tudományos kutatási eredményekkel, publikációkkal büszkélkedhetnek:

**Harami Gábor** (ELTE TTK Biokémiai Tanszék),  
**Takáts Szabolcs** (ELTE TTK Anatómiai Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék).

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**



## ÁLMOK ÉS EMLÉKEK

**Hunyady László**

**Semmelweis Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet**



A Biokémia folyóirat főszerkesztője kért fel egy személyes hangvételi bemutatkozás megírására a folyóirat „Akikre büszkék vagyunk” rovatába annak kapcsán, hogy 2018. március 15-én az MTA Orvosi Tudományok Osztályának javaslatára Széchenyi-díjat vehettem át. Külön öröm számomra, hogy e rovatban Pósfai Györgyöt követem, akit

több mint 4 évtizede ismerek, mert mindketten a szombathelyi Nagy Lajos Gimnáziumba jártunk középiskolába. Igaz, Gyuri két évvel felettem járt, és útjaink az életben ritkán találkoztak össze, de nagyon örültünk egymásnak, amikor a Parlament kupolatermében találkoztunk.

1959. március 23-án születtem Szombathelyen. Bár nem vagyok tősgyökeres szombathelyi - édesapám Galántán, édesanyám pedig a Zala megyei Csertalakoson született, és magam csak 18 éves koromig éltem ott - még ma is egy kicsit szombathelyinek érzem magam. Az általános iskola negyedik osztályától kezdve matematika tagozatra jártam, és középiskolai tanulmányaimat is a fent említett szombathelyi Nagy Lajos Gimnázium matematika tagozatos osztályában végeztem. Elsősorban a természettudományos tárgyak érdekeltek, és rendszeresen vettem részt matematika, kémia és fizika középiskolai tanulmányi versenyeken. Legnagyobb sikeremnek azt tartom, hogy a középiskola második osztályában a Középiskolai Matematikai Lapok (KöMaL) országos feladatmegoldó versenyén második helyezést értem el. Szüleim mindketten orvosok voltak, de én nem akartam orvosi pályára menni, mert engem elsősorban a tudományos kutatás érdekelt. Édesapám rendszeresen megkérdezte, hogy mi szeretnék lenni, és mindig szomorúan vette tudomásul, hogy nem az orvosi pályára gondolok. Végül a gimnázium utolsó évének elején beadtam a derekamat,

és hozzáláttam az orvosi felvételihez szükséges biológia tantárgyból az előző három évben összegyűjtött lemaradásom bepótlásához. E döntésben - az apai ráhatás mellett - nagy szerepe volt Went István Élettan tankönyvének, melyből szüleim tanultak az egyetemen, és amelynek egy példánya otthon a szobámban található könyvespolcon hevert. Középiskolásként áhítattal lapozgattam ezt a könyvet, és arról álmodoztam, hogy majd az egyetemen egy kiemelkedő tudós lesz a gyakorlatvezetőm, aki felfigyel rám, és meghív a kutatócsoportjába, hogy én is ezen a területen kutathassak. Izgultam is, legyen olyan szerencsém, hogy pont az én gyakorlatvezetőm legyen ez a kiváló tudós. Mire másodéves lettem, és megkezdtem orvosi élettan tanulmányaimat, ezek az emlékek már valamennyire elhalványultak, de ennek ellenére pont az történt velem, amiről középiskolásként álmodoztam.

A gimnázium utolsó évében a felvételimet a Semmelweis Orvostudományi Egyetem (akkor így hívták) Általános Orvostudományi Karára adtam be. Abban az időben csak egy helyre lehetett jelentkezni, és Szombathelyről elvileg a Pécsi Orvostudományi Egyetemre kellett volna pályáznom, de engem mégis a SOTE vonzott. Emiatt a felvételire (amin akkor még az elért pontszám mellett egyéb szempontokat is mérlegeltek) kettős hátránnyal mentem, mert egyrészt orvos szülők gyermekeként nem voltam politikailag preferált származású, másrészt nem a körzet szerint előírt egyetemre jelentkeztem. Ennek ellenére elsőre felvettek. Másodévesként élettanból Spät András egyetemi adjunktus csoportjába kerültem, aki már a második félév elején meghívott a munkacsoportjába diákkörösnek. Így teljesült az, amiről a középiskolában álmodoztam, és megkaptam a lehetőséget arra, hogy egy már akkor is nemzetközileg elismert kutatócsoportban élettani kutatásokat végezhessenek.

Ennek ellenére a diákköri munkám meglehetősen nehezen indult. Eleinte rutin feladatokat végeztünk, és laborban dolgozó fiatal kutatók kísérleteiben vettünk részt. Tettem a dolgomat, de a teljesítményem nem volt kiemelkedő. A kezdeti módszertani tanulást követően Szabó Béla évfolyamtársammal (aki a Freiburgi

Egyetem farmakológia professzora lett) együtt Enyedi Péter izolált mellékvesekéreg glomerulosa sejteken végzett kísérleteiben vettünk részt. Amikor negyedévesen versenyelőadást tartottunk a labor oktatói előtt, hogy a közösen végzett munka eredményeit ki adhatja elő a TDK konferencián, diákkörös társamra esett a választás.

Diákkörös (és tudományos) munkámban az áttörést azt hozta, hogy munkacsoportvezetőm, Spät András, elolvasta Bob Michell mára több mint 2000-szer idézett összefoglaló cikkét [1], melyben arra hívta fel a figyelmet, hogy a Hokin munkacsoport által az ötvenes években leírt foszfoinozítid anyagcsere-változásokat ugyanazok a hormonok hozzák létre, melyeknek a hatására kalcium jel jön létre, és felvetette annak lehetőségét, hogy a két jelenség között kapcsolat lehet. Miután a mi munkacsoportunkban Balla Tamás akkoriban folyó kísérletei és az irodalmi adatok azt mutatták, hogy a kalciumnak szerepe van az angiotenzin II aldosteron szintézist serkentő hatásában, ezért Spät András nagyon érdekelte, hogy létrejön-e a foszfoinozítid válasz is. A laborban dolgozó fiatal diplomásokat azonban nem érdekelte ez a kérdés, mert úgy gondolták, hogy egy ilyen minor lipid változásait nem érdemes a nagyon kis mennyiségben előállítható patkány glomerulosa sejteken vizsgálni. Ebben a helyzetben Spät András megkérdezte tőlem, hogy engem érdekelne-e ez a feladat. Én gondolkodás nélkül igent mondtam, mert örültem, hogy egy teljesen ismeretlen új területen kapok önálló feladatot, és úgy gondoltam, hogy negyedéves hallgatóként nyugodtan vállalhatom az ezzel járó rizikót. Az új feladat és a bizalom szárnyakat adott nekem, nagy lelkesedéssel nekiláttam a szakirodalom olvasásához, és ennek alapján a feladat elvégzéséhez szükséges módszerek beállításához. Miután akkoriban nyugati országból több évig tartott (és szinte lehetetlen volt) vegyszereket vagy a kísérletekhez szükséges kromatográfiás lemezeket beszerezni, ezért témavezetőm körbetelefonálta azokat a kutatókat, akiknek lehettek ilyenek a birtokában. Aki tudott, szinte mindenki önzetlenül felajánlotta a nélkülözhető eszközeit, én pedig körbejártam, és begyűjtöttem ezeket. Több próbálkozás után végül sikerült beállítani a módszereket, és nekiláttunk a

kísérletek elvégzésének. Ebben sok segítséget kaptam a labor munkatársaitól, akik közül elsősorban Balla Tamás nevét szeretném kiemelni. A kísérletek nagyon hosszadalmasak voltak, általában reggel 8-tól másnap hajnalig tartottak, de sikerült kimutatnunk, hogy az aldosteron termelést serkentő tényezők közül az angiotenzin II fokozza a foszfatidil-inozitol anyagcserét. E munka eredményeként az egyetem elvégzésekor már két elsőszerzős cikkem volt a *Biochimica Biophysica Acta* folyóiratban [2, 3]. Ugyanabban a folyóiratban, melyben Bob Michell a fent említett, később az inozitol-foszfátok jelátviteli szerepének megismerésében mérföldkönek bizonyuló összefoglaló cikket közölte. Diákkörös munkám a kiindulópontja lett Spät András és munkacsoportja további kutatásainak, és így részese lehettem a kutatócsoport valamennyi tagjának kiemelkedő sikereket hozó kutatási irány beindításának.

Ezzel el is dőlt, hogy a diploma megszerzése után az Élettani Intézetben fogom kezdeni pályafutásomat. Ebben azért az is segített, hogy végzéskor sikertelenül pályáztam egyetemünk mindhárom belgyógyászati klinikájára. Hatodévre ugyanis én is beleestem a klinikum bűvöletébe, és ezért megpályáztam mindhárom belklinikán a kiírt állásokat. Ha e pályázatok közül bármelyik sikeres lett volna, akkor szinte biztos, hogy a belgyógyászatot választottam volna, annak ellenére, hogy munkacsoport-vezetőm, Spät András és Fonyó Attila, az Élettani Intézet akkori igazgatója, is arra biztatott, hogy az Élettani Intézetbe jöjjenek dolgozni.

1983-ban az MTA Tudományos Minősítő Bizottságának ösztöndíjasaként kezdtem el dolgozni az Élettani Intézetben. Nagyon szerencsés voltam, mert 1987-ben munkacsoport-vezetőm támogatásával kijutottam az NIH-be (National Institutes of Health), az USA legnagyobb orvosi területen működő kutatóintézetébe, ahol Kevin J. Catt munkacsoportjában dolgozhattam. Ez lett tudományos pályafutásom második meghatározó mérföldköve. Három alkalommal voltam – összesen több mint hat évig – hosszabb tanulmányúton ebben a munkacsoportban, és számtalan alkalommal tettem itt rövid (1-3 hónapos) látogatást. Első tanulmányutamon végeztem azt a munkát, melyben felvetettük, hogy a receptor internalizációja

szerepet játszik az angiotenzin II hatására létrejövő kalcium jel kialakulásában [4]. Ennek eredményeként 1992- ben kezdődő második tanulmányutam előtt azt a munkatervet adtam be, hogy az AT<sub>1a</sub> angiotenzin II receptorban (melynek szekvenciáját egy évvel ezt megelőzően, 1991-ben publikálták [5]) mutációkat hozok létre, melyek segítségével megvizsgálom, hogy milyen kapcsolatban áll egymással a receptor internalizációja és jelátvittele. Az NIH-ben sajátítottam el azokat a molekuláris biológiai módszereket, melyek segítségével ezeket a kísérleteket el lehetett végezni. Eredeti hipotézisünket ugyan nem sikerült igazolnunk, de e munka számos érdekes eredményt hozott. Leírtuk, hogy az angiotenzin receptor internalizációja és jelátvittele egymástól függetlenül létrejön [6]. Továbbá azonosítottuk egy szerin-treonin gazdag régió szerepét a receptor internalizációjában, és ebből kiindulva elsőként vetettük fel, hogy a receptor foszforilációja szerepet játszhat az internalizáció kialakulásában [7].

Tudományos pályafutásom harmadik kiemelkedő mérföldköve az volt, hogy sikerült elnyernem a Howard Hughes Medical Institute International Research Scholar Award támogatását, melyre 10 korábbi szocialista országból lehetett pályázni, és a 2000 beérkezett pályázat közül 90-et támogattak. E pályázat segítségével tértem haza 1995-ben, és alapítottam önálló munkacsoportot az Élettani Intézetben, melynek igazgatói állását éppen ekkor vette át mentorom, Spät András professzor. Munkacsoportommal folytattuk az NIH-ben megkezdett munkát, és meghonosítottam az ott elsajátított módszereket. Talán legnagyobb sikerünk annak a mutáns angiotenzin receptornak a leírása volt, melyben a konzervált 125-ös aszparaginsavat és a 126-os arginint cseréltük alaninra [8], és amelynek segítségével a később Nobel-díjban részesült Robert J. Lefkowitz munkacsoportja leírta, hogy a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok G-fehérjétől független jelátvitelt is képesek létrehozni [9].

Ennek előzménye az volt, hogy 2003 elején egy Gordon konferencián vettem részt, ahol a bárban Lefkowitz professzor munkatársával, Louis M. Luttrell-lel beszélgettem. Lou elmondta nekem, érdekelné őket, hogy az általuk leírt

$\beta$ -arresztin függő jelátvitel kialakulásához szükség van-e G-fehérje aktiválásra, és azt kérdezte, hogy az általam leírt mutáns angiotenzin II receptorok segítségével nem lehetne-e megvizsgálni ezt a kérdést. Én azt válaszoltam neki, hogy szerintem lehetne, mert mi kimutattuk, hogy a receptor internalizációját olyan mutációt tartalmazó receptorok is aktiválják, melyek nem képesek G-fehérjét aktiválni; az internalizációt pedig ugyanúgy a  $\beta$ -arresztin kötődése hozza létre, mint az általa leírt jelátvitelt. Kérésére hazatérésem után elküldtem neki több olyan mutáns angiotenzin receptor szekvenciát tartalmazó plazmidot, mely receptorok a mi eredményeink alapján nem voltak képesek G-fehérjét aktiválni, de létrehozták a receptor internalizációját. Ezt követően augusztusban kaptam üzenetet Lefkowitz professzortól (akivel előtte személyesen soha nem találkoztam), melyben arról tájékoztattott, hogy a kísérletek nagyon érdekes eredménnyel zárultak, és mellékelte a kéziratot, mely arról szólt, hogy az angiotenzin II hatására létrejövő  $\beta$ -arresztin által aktivált jelátvitel független a G-fehérje aktiválástól. Felajánlotta, hogy legyek társszerzője ennek a közleménynek, melyet örömmel elfogadtam, és a kéziratot néhány apróbb módosítással visszaküldtem. A cikk még abban az évben meg is jelent, máig több mint 500 hivatkozást kapott, és a Nobel-díj bizottság Lefkowitz professzor 2012-ben elnyert Nobel-díjának tudományos háttérét ismertető közleményében is citálták, melyben Lefkowitz professzor több mint 750 cikke közül 25-re hivatkoztak.

Újabb mérföldkő volt, hogy vezetésemmel 2012-ben létrejött az MTA-SE Molekuláris Élettani Kutatócsoportja. Munkacsoportom tudományos munkája során elsőként írtuk le, hogy az angiotenzin II jelátvitel során endokannabinoidok szabadulnak fel [10], és vizsgáltuk ennek szerepét az angiotenzin II hatásmechanizmusában [11, 12]. Az elmúlt években fokozatosan előtérbe kerültek a klinikai problémákból kiinduló kutatások, így például sikeresen vizsgáltuk a V2 vazopresszin receptor patogén mutációinak hatásmechanizmusát, és e munkánk eredményeként új terápiás lehetőségeket is felvetettünk [13, 14]. Az évek során számos hazai és külföldi kollaborációs partnerrel működünk

együtt, akik közül a már említettek mellett kiemelném Georges Vauquelinnel (Vrije Universiteit Brussel, VUB) és Adrian J. L. Clarkkal (Queen Mary School of Medicine, London), valamint a hazai partnereink közül Bagdy Györggyel és a Semmelweis Egyetem II. Belklinikájával (Tóth Miklós, Patócs Attila) folytatott együttműködést. Munkacsoportom napi munkájának irányításában folyamatosan kiemelkedő segítséget kapok Várnai Péter egyetemi tanártól és Balla András egyetemi docenstól. Munkánk sikeréhez alapvetően járultak hozzá a már Ph.D. fokozatot szerzett munkatársaink: Gáborik Zsuzsanna, Mihalik Balázs, Szaszák Márta, Szidonya László, Turu Gábor, Gyombolai Pál, Erdélyi László Sándor, Szalai Bence, Szakadati Gyöngyi és Tóth András Dávid, valamint munkacsoportunk többi dolgozója, Ph. D. hallgatója és diákköröseink.

2004-ben neveztek ki egyetemi tanárnak, majd 2005-ben lettem az Élettani Intézet igazgatója. Az intézet eredményei nagyon nagy büszkeséggel töltenek el, és munkatársaink sikereit saját sikereimnek élem meg annak ellenére, hogy a munkacsoportok többségének közvetlen szakmai irányításában nem veszek részt, és közleményeikben sem vagyok társszerző. Saját érdememnek azt tartom, hogy több igen tehetséges fiatal kutató sikeres külföldi tanulmányút után úgy döntött, hogy hazajön. Ebben nagy szerepe van annak, hogy intézetünkben lehetőséget nyújtunk önálló kutatócsoport alapítására azoknak, akik eddigi eredményeikkel és pályázati sikereikkel ezt kiérdemlik. Jelenleg 14 önálló kutatócsoport működik intézetünkben. Munkatársaink 2005 óta 4 alkalommal nyertek el Lendület támogatást, intézetünkben létrejött 1 MTA kutatócsoport, és számos kiemelt hazai (pl. NVKP, VEKOP stb.) és külföldi (ERC, Európai Unió, NIH stb.) támogatást nyertünk el. Intézetünkben jelenleg 3 MTA tag (köztük egy emeritus professzor), 6 MTA doktor (köztük 2 emeritus professzor) és 27 Ph.D. fokozattal rendelkező kolléga (köztük két külföldi) dolgozik. Az intézet vezetésében Ligeti Erzsébet professzor asszony nyújtott felbecsülhetetlen értékű segítséget. Igazgatói pályafutásom legfontosabb eredményének azt tartom, hogy kinevezésem óta mindenkit sikerült intézetünkben megtartanunk, aki új kutatócsoportot alapított, ami azt jelzi, hogy sikerül perspektívát nyújtani a legjobbaknak.



Kari és egyetemi feladataim keretében 2006 és 2012 között az ÁOK dékánhelyettese, majd 2012/13-ban egy évig a Semmelweis Egyetem általános rektorhelyettese voltam, 2013 óta pedig az ÁOK dékánja vagyok. Egyetemi vezetőként arra törekedtem, hogy az Élettani Intézetben sikereket elért értékrendet a kar és az egyetem egésze számára közvetítsem. Számos kari programot hoztam létre, melyek célja, hogy az oktatás és a tudományos kutatás terén elért eredmények az erkölcsi siker mellett anyagi elismerést (és ezáltal motivációt) is jelentsenek. Merit díj rendszert működtetünk, melynek keretében a legjobb szakmai eredményeket elért oktatók, illetve hallgatói szavazás alapján a legjobb oktatók rendszeres anyagi juttatást nyerhetnek el. Csaknem 100 oktató bevonásával 8 kari projektet indítottunk, melyek célja a kar és az egyetem működésének újragondolása, a követendő stratégia kialakítása. Ennek egyik eredményeként 2017 eleje óta működik az oktatói és kutatói életpályamodell, mellyel karunkon (és más karokon is) a kormányzat által a betegágy mellett dolgozó orvosoknak nyújtott fizetésemelést valamennyi oktató és kutató megkapta egyetemi forrásból. Az oktatás minőségének fejlődését szolgálja, hogy dékáni működésem alatt általánossá tettük, és folyamatosan működtetjük az oktatómunka hallgatói véleményezését, és ennek visszajelzéseiből kiindulva számos oktatást segítő intézkedést tettünk. Amikor 2005-ben intézetvezető lettem, majd egyetemi vezetőként is azt a célt tűztem magam elé, hogy egyetemünk a nemzetközi rangsorokban bekerüljön a világ 500 legjobb egyeteme közé. Ezt a célt 2018-ban sikerült először elérni, amikor az egyik legelismertebb nemzetközi felsőoktatási rangsorban, a Times Higher Education mellékletének (THE) rangsorában a Semmelweis Egyetem a 401-500. helyen végzett.

Kari vezetői pályafutásom során folyamatosan kritikák érték a klinikai oktatás színvonalát. Számos lépést tettünk ennek javítására. A fenti intézkedések mellett ezt a célt szolgálta a blokkosított oktatás bevezetése és a szimulációs oktatási módszerek elterjesztése. E területeken sikerült eredményeket elérnünk, azonban az a meggyőződésem alakult ki, hogy a klinikai oktatásban igazi áttörést a hálapénz megszüntetésével lehet csak elérni. 2017-ben pályázatot nyújtottam

Bár ez a próbálkozásom sikertelen volt, mert nem nyertem el a Semmelweis Egyetem Szenátusának támogatását, meggyőződésem, hogy e kérdés megoldása nélkül nem lehet igazi áttörést elérni a klinikai oktatás színvonalában.

Vezetőként nagyon fontosnak tartom, hogy a fiatalok minél előbb önállóságot kapjanak, mert erre tanított meg saját életutamat. A fiataloknak pedig azt tanácsolom, hogy legyenek következetesek álmaik megvalósításában, és minden élethelyzetben próbálják meg a lehető legjobb szakmai teljesítményt nyújtani. Legyenek nagy céljaik, de ha valami nem sikerül, azt ne tekintsék kudarcnak, lépjenek túl rajta, és találják meg az útjukat minden lehetséges helyzetben. Meg fogják látni, hogy a kemény és minőségi munka meghozza a megérdemelt sikereket.

#### Irodalomjegyzék

- [1] Michell R.H. (1975) Inositol phospholipids and cell surface receptor function. *Biochim Biophys Acta*, **415**: 81-47.
- [2] Hunyady L., Balla T., Nagy K., Spät A. (1982) Control of phosphatidylinositol turnover in adrenal glomerulosa cells. *Biochim Biophys Acta*, **713**: 352-7.
- [3] Hunyady L., Balla T., Spät A. (1983) Angiotensin II stimulates phosphatidylinositol turnover in adrenal glomerulosa cells by a calcium-independent mechanism. *Biochim Biophys Acta*, **753**: 133-5.
- [4] Hunyady L., Merelli F., Baukal A.J., Balla T., Catt K.J. (1991) Agonist-induced endocytosis and signal generation in adrenal glomerulosa cells. A potential mechanism for receptor-operated calcium entry. *Journal of Biological Chemistry*, **266**: 2783-8.
- [5] Murphy T.J., Alexander R.W., Griendling K.K., Runge M.S., Bernstein K.E. (1991) Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin II receptor. *Nature*, **351**: 233-6.
- [6] Hunyady L., Baukal A.J., Balla T., Catt K.J. (1994) Independence of type I angiotensin II receptor endocytosis from G protein coupling and signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, **269**: 24798-804.

- [7] Hunyady L., Bor M., Balla T., Catt K.J. (1994) Identification of a cytoplasmic Ser-Thr-Leu motif that determines agonist-induced internalization of the AT1 angiotensin receptor. *Journal of Biological Chemistry*, **269**: 31378-82.
- [8] Gáborik Z., Jagadeesh G., Zhang M., Spät A., Catt K.J., Hunyady L. (2003) The role of a conserved region of the second intracellular loop in AT1 angiotensin receptor activation and signaling. *Endocrinology*, **144**: 2220-8.
- [9] Wei H., Ahn S., Shenoy S.K., Karnik S.S., Hunyady L., Luttrell L.M., Lefkowitz R.J. (2003) Independent beta-arrestin 2 and G protein-mediated pathways for angiotensin II activation of extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**: 10782-7.
- [10] Turu G., Simon A., Gyombolai P., Szidonya L., Bagdy G., Lenkei Z., Hunyady L. (2007) The role of diacylglycerol lipase in constitutive and angiotensin AT1 receptor-stimulated cannabinoid CB1 receptor activity. *Journal of Biological Chemistry*, **282**: 7753-7.
- [11] Gyombolai P., Pap D., Turu G., Catt K.J., Bagdy G., Hunyady L. (2012) Regulation of endocannabinoid release by G proteins: a paracrine mechanism of G protein-coupled receptor action. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **353**: 29-36.
- [12] Szekeres M., Nádasy G.L., Turu., Soltész-Katona E., Tóth Z.E., Balla A., Catt K.J., Hunyady L. (2012) Angiotensin II induces vascular endocannabinoid release, which attenuates its vasoconstrictor effect via CB1 cannabinoid receptors. *Journal of Biological Chemistry* **287**: 31540-50.
- [13] Erdélyi L.S., Balla A., Patócs A., Tóth M., Várnai P., Hunyady L. (2014) Altered agonist sensitivity of a mutant v2 receptor suggests a novel therapeutic strategy for nephrogenic diabetes insipidus. *Molecular Endocrinology*, **28**: 634-43.
- [14] Erdélyi L.S., Mann W.A., Morris-Rosendahl D.J., Gross U., Nagel M., Várnai P., Balla A., Hunyady L. (2015) Mutation in the V2 vasopressin receptor gene, AVPR2, causes nephrogenic syndrome of inappropriate diuresis. *Kidney International*, **88**: 1070-8.

## ELTE BIOKÉMIAI TANSZÉK: 50 ÉV SZENT-GYÖRGYI ALBERT NYOMDOKAIN

*Nyitray László*  
*Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék*

*„A világhoz nem alkalmazkodni kell,  
hanem csinálni, nem újrarendezgetni azt,  
ami már megvan benne, hanem hozzáadni mindig.”*

(Ottlík Géza)

Az 50 évet általában két emberöltőnyi időnek tekintik, a tanszékünk életében én mégis a harmadik „öltőt” képviselem. Alapító professzorunk, **Bíró Endre** és az őt követő **Gráf László** két-két évtizedig álltak a tanszék élén. Jómagam 2007 óta vagyok tanszékvezető. Az irodalmi nyelvben először Arany János által használt szép „emberöltő” szavunk valahol a varrás öltéseiből származik, s az egymásba öltődő nemzedékek szakadatlan sorára utal. S ha már ezzel a kifejezéssel, a generációk, az emberöltők egymásba fonódásával indítottam az évfordulós köszöntőmet, hadd magyarázzam meg már az elején a talán kihívónak tetsző címet.

Miért is gondolom úgy, hogy a Biokémiai Tanszék kutatóiként az elmúlt 50 évben a kétségkívül legnagyobb magyar biokémikus, Szent-Györgyi Albert nyomdokain jártunk? Az ok leginkább Bíró Endre személyében rejlik, valamint a kutatási témáinkra és arra a tudományos ars poeticára is vonatkozik, amelyet Szent-Györgyi Albert honosított meg hazánkban. Ez utóbbi egyrészt a „nyitott laboratórium” szemléletet jelentette, azt a demokratikus szellemet, ami nyilvánvalóan hozzájárult a Szent-Györgyi csoport híres szegedi eredményeihez. Másrészt azt a hozzáállást a fiatalokhoz, az oktatáshoz, a következő kutatói generációkhoz (az „emberöltőkhöz”), ami a jövőre nézve a szigorúan vett tudományos eredményei mellett a Szent-Györgyi iskola talán legfontosabb továbbviendő öröksége volt.



**Bíró Endre** 1941-ben szerzett diplomát a szegedi (akkori nevén Horthy Miklós) Tudományegyetemen fizika-kémia tanári szakon. A háború poklából, munkaszolgálatból hazatérve 1945 tavaszán egy újsághirdetés alapján jelentkezett a budapesti Pázmány Péter Tudományegyetem Orvosi Fakultásán Szent-Györgyi Albert vezetésével éppen akkor megalakuló Biokémiai Tanszékre. Felvételt nyert, s mielőtt a csoport tagjainak zöme 1947 végére a rosszra forduló politikai légkör miatt Szent-Györgyi Albert aktív közreműködésével elhagyta az országot, Bíró Endre magába szívta a már említett kutatási mentalitást. Sőt, komoly szakmai eredményt is elért azzal a **Szent-Györgyi Andrással** együtt, akiről a Biokémia mostani lapszámának Nagy elődeink rovatában megemlékezünk (lásd 116. oldal). Az időközben Eötvös Loránd nevét felvett Tudományegyetem (amelyből a Semmelweis Orvostudományi Egyetem 1951-ben kivált) Bíró Endrét 1953-ban felkérte egy „Állatbiokémia Tanszék” megalakítására a Természettudományi Karon. A tervekből csak egy Biokémiai csoport lett a Származás és Örökléstani Tanszéken belül, s másfél évtizedet kellett várni, amíg végül 1968-ban megalakult a most 50 éves Biokémiai Tanszék.

Az első 20 év, a **Bíró-korszak**, az izomfehérjék, a miozin és az aktin kutatásának időszaka. Ezen a témán dolgozott a tanszék összes munkatársa, és nyugodt szívvel állíthatom, hogy világszínvonalon, egy jottányit sem elmaradva a világ bármely táján ugyanezen a témán dolgozó kutatóktól. Bíró Endre saját kutatási eredményei közül a miozin alfa-helikális szerkezetű „rúd régiójával” kapcsolatos eredményeit emelem ki, amelyről az izomfehérje-kutatás történetének egyik legjelentősebb, „The Mechanism of Muscle Contraction” címmel a Cold Spring Harbor szimpózium sorozat keretében 1972-ben megtartott konferencián számolt be, amelyet James Watson nyitott meg, s a díszelőadója Szent-Györgyi Albert volt.

Hadd nevezzem meg az indulás szemtanúit és a Bíró-iskola képviselőit, akik

részben még ma is a körünkben vannak, röviden megemlítve azt is, hogy mivel kerültek be „másodgenerációs” Szent-Györgyi Albert utódként az izombiokémia történetének annaleseibe.

**Mühlrad András** volt Bíró prof jobbkeze, aki a '70-es évek elején Izraelbe távozott, de még ma is, nyugdíjasan, aktív izomfehérje-kutató. Elsősorban az aktin szerkezet-funkció kutatása terén ért el figyelemreméltó eredményeket (150 publikációval).

**Bálint Miklós** a miozinmolekula „funkcionális anatómiájának” feltárásával szerzett magának szakmai hírnevet (25 cikk fűződik a nevéhez erről a területről), de legtöbbit az a sok száz biológus hallgató köszönhet neki (beleértve a jelenlegi tanszékvezetőt is), akikkel lelkes és naprakész előadásaival egy életre megszerettette a biokémiát és molekuláris biológiát, s belénk plántálta a Szent-Györgyi-féle kutatási szellemet (amit ő maga értelemszerűen Bíró Endrétől tanult meg).

**Hegyi György** örökifjú emeritus professzorként, túl a 75. évén ma is aktív kutatója a tanszéknek, oktat is. Az ő szerepe a tanszéken a kezdetektől a műszerek felügyelete, nem egyszer megújítása, javítása, karbantartása volt, nem kis hozzáértéssel. Szakmai eredményei közül a korai időkből az aktin hisztidin-40 oldalláncának szelektív módosítását és az aktin ATP-kötőhelyének biokémiai módszerekkel történő azonosítását emelem ki.

Hegyi Gyuri az említett eredményt egy, az alapítás körül a tanszékhez kerülő vegyész végzettségű kollégánkkal, **Szilágyi Lászlóval** együtt érte el. Szilágyi tanár úr nyugdíjasként napjainkban is nagyon komoly oktatási segítséget nyújt a tanszék számára. Egy izgalmas szakmai eredménye, már a Gráf-korszakból, hogy egy humán tripszinogén kódoló régiójában egy nem kanonikus start kodont azonosított.

Az alapítók között volt a 2009-ben elhunyt **Fábián Ferenc** is, aki többek között

a miozin ATP-áz aktivitás részleteit vizsgálta, s aki 1983-tól az akkori nevén Gödöllői Agrártudományi Egyetem Biokémiai Tanszékét erősítette oktatóként, nyugdíjba vonulásáig.

Végül az alapítók között volt egy pipázó, a lelkes és szisztematikus kutatás mellett remek novellákat író fiatal vegyész szaklaboros, **Gráf László**, a tanszék majdani második „öltője”, aki Bíró prof tanítványaként a miozin rúd limitált proteolízisével foglalkozott.

A Bíró Endre-iskola tehetséges kutatóiként megemlítem azokat a kollégákat, akiket Bíró Endre visszavonulását követően külföldre vetett a sors. **Ajtai Katalin** 1988-tól a Mayo Klinikán (Rochester, USA) folytatta izomfehérje kutatásait, együttműködve többek között Mühlrad Andrással is. **Pintér Katalin** a '80-as évek végétől az Oxfordi Egyetem kutatója lett. **Jancsó Ágnes** szintén a '80-as évek végétől az Egyesült Államokban dolgozott (többek között Szent-Györgyi András munkacsoportjában, a '90-es évek elején, együttműködve a jelenlegi tanszékvezetővel is). **Mócz Gábor** a '80-as évek első felében hagyta el az országot, s jelenleg a Honolului Egyetem professzora (ahol fluoreszcens fehérjékkel foglalkozik).

Bíró Endre a tanszékvezetői stafétát Gráf Lászlónak 1986-ban adta át, ezzel kezdetét vette a Biokémiai Tanszék **Gráf-korszaka**. Ezt a korszakot a továbbélő izomkutatás mellett a szerin-proteázok és inhibitorainak kutatása fémjelezte. Ezen túlmenően, nagyrészt Gráf László jóvoltából lépett szintet kutatásmódszertan tekintetében a tanszék, azáltal, hogy Kaliforniából (a UCSF-ről, ahol William Rutter csoportjában dolgozott) hazahozta és Magyarországon a fehérjekutatásban elsőként csatasorba is állította a géntechnológia fegyvertárát. Ez igen komoly teljesítmény volt, s a tanszék akkori szinte teljes gárdája az új módszerek bővületében élve saját kezűleg járult hozzá a kollektív sikerhez. Errőla hőskorról a Biokémia folyóiratban Szilágyi László tollából jelent meg élvezetes beszámoló [Biokémia 36/2: 77-80, 2012].





**Gráf László** (lásd Bér Rudinó festőművész róla készült rajzát) nagy formátumú kutató, akit nem lehet megkerülni, ha majd valaki a jövőben megírja a '80-as és '90-es évek magyar biokémiájának a történetét. Ha a sors keserű játéka nem szól közbe, és egy sikertelen térdműtét miatt nem lenne mozgásában korlátozott, most is aktív kutatással csillapítaná tudásszomját és részt venne a tanszéki és szélesebb körű

tudományos közéletben is. Szakmai eredményeit és sokoldalú, a világot egészében látni és megismerni vágyó személyiségét a *Biokémia* folyóiratban a 70. születésnapjára megjelent írásban mutattam be [*Biokémia* 36/2: 72-75, 2012].

Mit hozott a fentebb említetteken kívül a Gráf-korszak a tanszék életébe? Ki kell emelnem a PhD iskolák megjelenését, azon belül az először külön iskolaként indult, majd a Biológia Doktori Iskola részévé vált, Gráf László által alapított **Szerkezeti Biokémia Doktori Program** jelentőségét. Ez a doktori iskola legnagyobb programja, amely az összes biológus PhD-k egyharmadát adta, ez idáig összesen több mint 130-at, amelyből 55-en a tanszéken végezték a fokozatszerzéshez vezető kutatómunkájukat. A Gráf-korszak alatt a tanszék kutatócsoportjainak száma és diverzitása is növekedett, szakmai eredményeink továbbra is figyelemreméltóak voltak, tartottuk, tartjuk a helyünket a hazai és nemzetközi biokémiai műhelyek között. Gráf László a kutatói tevékenysége elismeréseként 1998-ban Széchenyi-díjat kapott. Az MTA 1993-ban választotta levelező, 2001-ben rendes tagjai sorába. Iskolateremtő tevékenységéért 2010-ben Szilárd Leó professzori ösztöndíjban részesült.

Üde szakmai színfoltként a '80-as évek második felében néhány évig a tanszék kötelékében dolgozott a matematikusból a Csányi Vilmos vezette Etológiai Tanszéken keresztül hozzánk került **Nagy András**. A Gödi Biológiai Állomás területén önállóan létrehozott egy kísérleti embriológia laboratóriumot, ahol már 1989-ben egérembrióból származó embrionális őssejt tenyésztet tudtak

fenntartani. Később a torontói Mount Sinai Kórház kutatóközpontjába került, s azóta ott végzi világszínvonalú kutatásait. 2009-ben felkerült a Scientific American magazin 10-es toplistájára (Bill Gates társaságában), amelyen azok a személyek szerepelnek, akik a szerkesztőség szerint a legtöbbet tették az orvostudomány, a közegészség és a környezet védelmének érdekében.

A tanszékünkön néhány évet eltöltött kollegáink közül megemlékezem még a 2011-ben, fájdalmasan korán elhunyt **Rónai András** farmakológusról, aki kutatómunkája mellett szarkasztikus humorával teremtett különleges tanszéki hangulatot.

Végül, de nem utolsósorban az 50 évünket összefoglaló közleményben meg kell neveznem azt a kutatót, aki ugyan formálisan nem tartozott a tanszék állományába, de tiszteletbeli professzorként tekintettünk mindig rá. Az ELTE TTK Professzor emeritusáról, az MTA Biológiai Osztály volt elnökéről, de számunkra leginkább az Enzimológiai Intézet volt igazgatójáról, szoros együttműködő partnerünkről és több évtizeden át a biológusok számára biofizikát oktató **Závodszy Péter** akadémikusról van szó. Gráf Lászlóhoz fűződő barátsága révén és hozzánk hasonlóan fehérjetudományt művelő kutatóként került kapcsolatba a tanszékünkkel. A Biokémiai Tanszék együttműködő partnerei közül ma is az MTA Enzimológiai Intézete van megkülönböztetett helyen (ld. alább).

A Gráf-korszak kapcsán említést érdemel, hogy hol volt a Biokémiai Tanszék munkatársai számára a *genius loci*? Ez az alapítás helyszínén, a Puskin utca 3. számú épület alagsori és földszinti helyiségeiben testesült meg. A tanszék kollektívája a Puskin utcai épülettől 2001 szeptemberében búcsúzott, majd néhány napon belül beköltözött a Duna parton épült új kampusz nagyszerű vörös épületének 5. emeletére. A korszerű infrastruktúra, az európai anyagforrások pályázhatósága és a külföldi tanulmányútjukról visszatérő fiatalok csatlakozása új lendületet hozott a tanszék életébe és kutatási tevékenységébe. **Nyitray László** 2007 nyarán vette át Gráf Lászlótól a tanszék vezetését, s ezzel kezdetét vette a máig tartó harmadik korszakunk.

Mielőtt a Biokémiai Tanszék jelenét összefoglalnám, szólnom kell még a Szent-Györgyi Albert örökség egy fontos aspektusáról. Nemzetközi kapcsolataink a Bíró-érában döntően, s a Gráf-érában is többünk számára meghatározó módon, Szent-Györgyi Albert két korai munkatársa, és nyugodt szívvel mondhatom, hogy sok szempontból szellemi örököse köré szerveződtek. **Gergely János** (1919-2013) alapította a Boston Biomedical Research Institute-ot, s azon belül egy olyan „szent-györgyis” izomfehérje-kutató intézetet hozott létre, ahol szívesen látott vendégkutatók lettek a Bíró-iskola munkatársai. A '71-es évektől kezdve a tanszéki kutatók többsége (Bálint M., Szilágyi L., Pintér K., Jancsó Á., Nyitray L. és Boldogh István) egy-egy évre tanulmányútra mehettek a Gergely-intézetbe. **Szent-Györgyi András** (1924-2015; Szent-Györgyi Albert unokaöccse) kutatócsoportjába a Brandeis Egyetemre (Waltham, MA) személyes ismeretség révén először én jutottam ki 1989-ben, s ettől kezdve egészen a haláláig tartó szoros együttműködés, mentor-tanítvány kapcsolt épült ki közöttünk, amelyből volt tanítványaim (Málnási Csizmadia András, Kovács Mihály) is sokat kamatoztathattak, míg az ő budapesti látogatásai és a vele való beszélgetések mindannyiunk számára élvezetesek és tanulságosak voltak.

A Gráf-korszak után a váltás zökkenőmentesen indult. A Nyitray-korszak 11 évében alapvető változást talán csak a legutóbbi évek hoztak, nevezetesen abban, hogy ma már az alap kutatás mellett jelentős alkalmazott kutatási projekteken is dolgozunk. A kutatási profilunk bővült, s továbbra is az ELTE TTK Biológiai Intézetének egyik legdinamikusabb tanszéke vagyunk, s megálljuk a helyünket a magyar biokémiai műhelyek között és a nemzetközi megméretésben is. Bár a kutatócsoportjaink létszáma kismértékben csökkent – Gráf László, Hegyi György és Szilágyi László évekkel ezelőtt, majd idén 30 év kutatóés oktatómunka után Venekei István docens kollégánk (aki szintén a szerin-proteázok szakértője volt) is nyugdíjba vonult –, ennek ellenére az elnyert támogatások és a szakmai teljesítmény szempontjából is előreléptünk. Sőt, az elnyert pályázatok volumenét tekintve az utolsó egy-két évben rekordot döntöttünk.



A tanszék jelenlegi vezetőjeként feladatom, hogy egy rövid ismertetőben bemutassam a Biokémiai Tanszék jelenlegi munkatársait, kutatási témáinkat és oktatási feladatainkat, és persze a sikereinket is. Hat kutatócsoportunk működik, többen több lábon is állnak. Három egyetemi tanár, egy docens, egy adjunktus és egy tudományos főmunkatárs alkotják a személyi állomány gerincét.

Bizonyos értelemben, bár más témára fókuszálva, Gráf László korábbi ELTE-MTA kutatócsoportja utódjának tekinthető a **Málnási Csizmadia András** vezette Motor Farmakológiai Kutatócsoport. Andrásra különösen büszkék vagyunk, mivel az ELTE első „dupla” ERC pályázat nyertes kutatója, s ő a tanszék legnagyobb volumenű pályázatainak témavezetője. Közös kutatásaik Kovács Mihállal jelenleg egy, reményeik szerint a stroke utáni regenerációt is elősegítő miozin inhibitor gyógyszer fejlesztésére irányulnak. Munkatársai közé tartozik a korábban Marie Curie Ösztöndíjas, tanszéki nevelésű tehetséges posztdoktor, a 2018-ban az ELTE Ígéretes Kutatója díjat elnyert **Gyimesi Máté**.

**Kovács Mihály**, a Tanszékünk első, MTA Lendület pályázatot nyert kutatója. Munkacsoportja a motorfehérjék tanulmányozását a DNS-helikázokra is kiterjesztette, s jelenleg az igen komplex DNS rekombinációs folyamatokban betöltött „jó, rossz és hasznos” szerepüket változatos, köztük *state-of-the-art* egyedi molekulavizsgálati módszereket is alkalmazva vizsgálja. GINOP pályázat nyerteseként az ELTE Martonvásári telephelyén a fentebb említett miozin inhibitor kutatásokban ő is oroszlánrészt vállal.

**Pál Gábor** az ELTE kétszeres Innovatív Kutatója, a Kar Kiváló Oktatója. A Genentech cégben elsajátította, Magyarországon meghonosította az irányított fehérjeevolúciós megközelítést, ezen a területen iskolát teremtett. Fehérje-fehérje kölcsönhatásokat evolvál alapkutatási és terápiás céllal (lásd 43. oldal). A komplementrendszer aktivátor proteázaival kapcsolatos, Gál Péterrel (MTA

TTK) közös, áttörő eredményei mára tankönyvi alapismeretté váltak. Vezetésével újfajta komplementgátlókat evolváltak, amelyek a stroke és szívinfarktus kezelésében ígérnek áttörést.

**Kardos József** a tanszék biofizikusa. Érdeklődésének homlokterében eredetileg az Alzheimer-kórért is felelős amiloid aggregátumok termodinamikai és szerkezeti kutatása állt, mely új vizsgálómódszerek kifejlesztéséhez is vezetett. Kutatásai a neuroimmun- és sejtbiológiai irányba tágultak, melyben molekuláris összefüggéseket keres a komplement mediált szinapszis elimináció és az említett neurodegeneratív kórban tapasztalt szinapszisvesztés között. Kétszeres NAP pályázat nyertes és részese a biomarkerek keresésére irányuló alkalmazott kutatási együttműködésnek, amit egy FIEK pályázat finanszíroz.

**Dosztányi Zsuzsanna** nemzetközileg is magasan jegyzett bioinformatikus, aki a Tanszékhez négy évvel ezelőtt csatlakozott MTA Lendület kutatócsoportjával. A szerkezetnélküli fehérjék, ezen belül is az ún. lineáris motívumok vizsgálata a fő kutatási irányuk, ma már „wet-lab” szintre is kiterjesztve. Számos, többek között tanszéken belüli kutatócsoporttal dolgozik együtt. Ő is részese a biomarkerek keresésére irányuló alkalmazott kutatási együttműködésnek.

**Nyitray László** a tanszékvezetés mellett kutatócsoportjával motor- és jelátviteli fehérjék más fehérjékkel, elsősorban lineáris motívumokkal történő fehérje-fehérje kölcsönhatásait tanulmányozza biokémiai és szerkezeti biológiai módszerekkel. Két alkalmazott kutatási projektben is szerepet vállal, belső (Pál Gábor) és külső (Kacskovics Imre, Immunológiai Tanszék és Richter Gedeon Zrt.) együttműködésekben. Részt vesz a közeljövőben induló HunProtExc Fehérjetudomány és alkalmazásai Nemzeti Programban is.

Büszkén írhatom, hogy a szenior témavezetők mellett több tanszéki fiatal munkatársunk is nyert el olyan kompetitív pályázatokat, amelyek lehetővé teszik számukra részben önálló témák kutatását is. **Harami Gábor** Prémium

helikázok működését kutatja. **Micsónai András** Bolyai ösztöndíjas, s egy CD-spektroszkópiai analizáló szoftver kifejlesztésével ért el jelentős szakmai sikert. **Kiss Bence** OTKA posztdoktori pályázattal jelenleg egyes komplementrendszer szerin-proteázokat vizsgál, valamint aktív közreműködője a tanszéki biomarker alkalmazott kutatási projektnek.

A korábbi tanszéki munkatársaink közül kiemelem **Reményi Attilát**, aki 2008-2013 között vezetett kutatócsoportot. Egy érdekes és fontos témát honosított meg a tanszéken, a jelátvitelben szerepet játszó protein-kinázok szerkezet-funkció összefüggéseit vizsgálja változatos módszerekkel. Jelenleg Lendület kutatócsoportot vezet az MTA TTK Enzimológiai Intézetben, de továbbra is vannak közös kutatási témáink. **Tóth Judit** tanszékünkön szerezte diplomáját és doktori fokozatát; később az MTA Enzimológiai Intézetében lett EMBO ösztöndíjas, majd sikeres önálló kutató. **Mike Árpád** NAP-kutatócsoportot vezetett az elmúlt három évben, amelynek során Na<sup>+</sup>-csatornákat vizsgáltak ideg-sejteken, „patch clamp” technikával. Évekig dolgozott velünk **Hetényi Csaba** vegyész/bioinformatikus, akivel rengeteg közös projektünk volt és részben még van is. Ő ma már a Pécsi Tudományegyetemet erősíti. A felsorolás végére maradt **Patthy András**, aki két évtizeden át segített bennünket peptidanalitikai tudásával, ami nélkül sokkal kevesebb cikk született volna a kutatásinkból.

A „csapat” tudományos teljesítményéről néhány szám: a **Biokémiai Tanszék 50 év alatt 461 tudományos közleményt publikált**. Az utolsó 10 évben 205, az utolsó 5 évben 120 a megjelent cikkeink száma. Ha a folyóiratok impakt faktorát is figyelembe vesszük, az utolsó 5 évre ez a szám 600, s éves lebontásban, egy cikkre vonatkoztatva már tartósan 5 fölé emelkedett (ami véleményem szerint kiváló teljesítmény). A még véget nem ért 2018-ban már közel 20 cikket publikáltunk, 6 körüli impakt átlaggal. A tanszék eddigi leg-sikeresebb éve egyébként 2012 volt, 20 cikkel (6 PNAS, 1 Nature SMB), 156-os össz impakt faktoral, 7,8-es impakt faktor/közlemény értékkel. Az utolsó 5 évben többek között 9 NAR, 2 TIBS, 4 PNAS, Angew. Chem. EMBO J, Mol. Sys. Biol.,

illetve a szűkebb szakterületünkről 10 JBC és 7 FEBS J közleményünk jelent meg.

A tanszék tudományos életének rövid bemutatását azzal zárom, hogy természetesen nem „elefántcsonttoronyban” dolgozunk, hanem a Szent-Györgyi-krédónak megfelelően sok-sok együttműködő partnerrel együtt értük el eredményeinket. Én csak két, hagyományos stratégiai együttműködő partner intézményt nevezek meg. Az MTA TTK Enzimológiai Intézet kiemelt partneri szerepéről már volt szó. A Gráf-korszakban a két vezető személyes kapcsolata volt a motorja a kiváló kapcsolatoknak. Részben most is így van ez: a jelen tanszékvezető és **Buday László** igazgató (aki egyúttal Magyar Biokémiai Egyesület elnöke) kiváló kapcsolata ugyanúgy garancia a gyümölcsöző és sok szálon futó együttműködésre. Kiemelendő még az Enzimológiai Intézetből **Gál Péter**, aki Pál Gábor évtizedes együttműködője. A másik intézmény esetében a személyt nevezem meg, **Perczel András**t, Széchenyi-díjas fehérjekutató vegyészt, aki jelenleg a Szerves Kémiai Tanszék és az MTA által támogatott MedInProt program vezetője, s akivel már évtizedek óta dolgozunk együtt fehérjetudományi projekteken. Jelenleg három közös nagy projektben vagyunk együtt érdekeltek, reményeim szerint a Biokémiai Tanszék további épülésére. Sok kollégánk bevonásával most jelent meg szerkesztésünkkel „Ezerarcú fehérjék” címmel egy, a fehérjetudomány módszertanát bemutató, új szemléletű könyv. Végül fontos megjegyezni, hogy az ELTE Biológiai Intézetének sok tanszékével (Genetikai, Immunológiai, Élettani és Neurobiológiai, Anatómiai, Sejt és Fejlődésbiológiai), illetve kutatócsoportjával is intenzív együttműködésekkel folytatunk.

Egyetemi tanszék lévén fontos feladatunk az ELTE TTK Biológiai Intézetén belül sokoldalú **oktatási feladatok** ellátása. Dióhéjban: természetesen a biokémia és molekuláris biológia oktatása az elsődleges feladatunk. Sok éven át két szinten oktattuk a tárgyat, az alapszint 5 óra előadás és 3 óra szemináriumi gyakorlat, míg az emelt szinten 7 óra előadást, 3 óra szemináriumi és 6 óra laboratóriumi gyakorlatot jelent, évente átlag 200 biológia alapszagos diáknak. Tavaly reformáltuk meg a képzést, csökkentve a kontaktórák számát. A biokémia tárgy



oktatása jelenleg kötelező 3x2 óra előadás, továbbra is 3 óra szeminárium és 5 órás választható laboratóriumi gyakorlat, valamint extra 3 órás választható „advanced” biokémia kurzus keretében zajlik.

A mi feladatunk a Géntechnológia tárgy oktatása is, amit Bálint Miklós oktatott először, míg a mai képzés szerkezetét a mostani tanszékvezető állította össze másfél évtizeddel ezelőtt. Jelenleg az MSc képzésben mindenki számára kötelező ez a kurzus elméleti szinten (természetesen már az alapképzés biokémia kurrikulumának is része az alapozás), míg gyakorlati szinten (egyhetes összevont gyakorlat formájában) a Molekuláris-, immun- és mikrobiológia specializáción (korábban szakirány) belül kötelező ez a tárgy. Számos kötelezően választható kurzus (pl. Fehérjetudomány) egészíti ki az általunk gondozott tárgyak sorát. Évekkel ezelőtt sikerült régi adósságunkat felszámolni, megírtunk több elektronikus tankönyvet (A biokémia és molekuláris biológia alapjai, Géntechnológia és Biokémiai gyakorlatok).

Nagy fába vágtuk a fejszénket egy évvel ezelőtt, amikor a Richter Gedeon gyógyszergyár kezdeményezésére, Kacs Kovics Imre, az Immunológiai Tanszék vezető kollégámmal összefogva, a BME Vegyész- és Biomérnöki Karával közös képzésben Biotechnológiai mesterképzési szak indítása mellett döntöttünk. Az ok, hogy a gyógyszergyáraknak a ma „sztár-gyógyszereinek” számító biologikumok (bioszimiláris gyógyszerek) gyártására új szemléletű szakemberekre van szükség. A sok tekintetben elit képzés 2018 őszén indult el. Az oktatás egyik leglényegesebb eleme a tudományos utánpótlás nevelése. Ebből a szempontból is eminensen teljesít a tanszék, mivel minden évben vannak hallgatóink, akik érmekeket nyernek TDK konferenciákon, s minden évben tucatnyi diák védi a tanszékünkön a szak- vagy diplomadolgozatát. Közülük a legjobbak bekerülnek a **Szerkezeti biokémia doktori programba**, amelynek számokban kifejezett sikerességéről fentebb már írtam.

A tanszék munkatársai a tudományos közéletből is kiveszik a részüket. Csak

annyit említek itt, hogy a Magyar Biokémiai Társaság főtítkárát (KM) és egyik alelnökét (NyL) is a Biokémiai Tanszék adja. Legvégül két mondat a tanszéki életről a labormunkán túl (Szent-Györgyi szellemében). Sok éves „kulturális” hagyomány – mindenestre remek csapatépítési tréningek – a Tanszék és az Enzimológiai Intézet munkatársai által rendezett „sörváltók”. Ennél azonban sokkal komolyabb sportteljesítmény, hogy immáron legalább másfél évtizede szinte kivétel nélkül a Biokémiai Tanszék érdemli ki az évente kétszer megrendezésre kerülő „Eötvös 5 km” elnevezésű futóverseny alapján az „ELTE Legsportosabb Tanszéke” címet. Hagyományosan járunk kerékpártúrákra, s népszerű az éves tanszéki kétnapos kirándulás, ami leginkább kulináris élményeket nyújt a résztvevőknek.

Végezetül mi mással zárhatnám ezt az írást, minthogy további, Szent-Györgyi Albert nyomdokain járó sikereket kívánok a Biokémiai Tanszéknek a következő 50 évre is!

## A RETROVIRÁLIS BIOKÉMIAI KUTATÓ LABORATÓRIUM A DEBRECENI EGYETEM BIOKÉMIAI ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI INTÉZETÉBEN

**Tózsér József**  
**intézetvezető egyetemi tanár**  
**Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,**  
**Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet**  
**E-mail: tozser@med.unideb.hu**

Dr. Tózsér József 1983-ban szerzett okleveles vegyész diplomát a Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetemen, majd 1988-ban egyetemi doktori fokozatot a Debreceni Orvostudományi Egyetemen. 1994-ben a biológiai tudományok kandidátusa, majd 2002-ben az MTA doktora címet szerezte meg és habilitált a Debreceni Egyetemen. Fésüs Lászlótól 2013-ban vette át a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet (BMBI), 2017-től pedig az ÁOK-n működő Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori iskola vezetését. 2017-től a Debreceni Egyetem egészségipari innovációért és képzésfejlesztésért felelős rektor-helyettese. Jelenleg is vezeti az 1992-ben általa alapított Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium nevű kutatócsoportot, valamint felelős a 2015-ben létrehozott és a BMBI intézetben működő Proteomika Szolgáltató Laboratórium szakmai irányításáért, melynek vezetője Csősz Éva.

### **A Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium története és bemutatása**

Tózsér József 1989-1991 között ösztöndíjjal az Egyesült Államokban, az *Frederick Cancer Research and Development Center* Molekuláris Virologiai és karcinogenezis Laboratóriumában dolgozott Stephen Oroszlan irányításával. A következő években szoros együttműködés alakult ki ezen csoport, valamint Irene T. Weber (jelenleg Georgia State University) és John M. Louis (NIH) kutatócsoportjai között, melynek célja elsősorban különböző vad típusú és mutáns retrovirális proteázok specificitásának vizsgálata és biokémiai karakterizálása volt. Hazatérése után, 1992-ben alapította meg a kutatócsoportot Bagossi Péterrel közösen. A csoport megalapítása óta a BMBI intézetben működik, korábban az Elméleti tömbben,

2005 óta pedig az Élettudományi Központban található a kutató laboratórium. A csoport létszáma jelenleg 11 fő (1. ábra).

A kutatócsoport legfőbb kutatási területét a retrovírusok életciklusának biokémiai és enzimológiai tanulmányozása képezi, különös tekintettel a virális proteázok funkciójának és tulajdonságainak vizsgálatára, továbbá a retrovírus-alapú génterápiás vektorok fejlesztése szintén a csoport érdeklődési területei közé tartozik.



**1. ábra. A Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium munkatársai.** Balról jobbra a hátsó sorban: Mohamed Mahdi (egyetemi tanársegéd), Tózsér József (egyetemi tanár), Mótyán János András (egyetemi adjunktus), Toldi Vanda (PhD hallgató), Miczi Márió (PhD hallgató), Linkner Tamás Richárd (PhD hallgató). Első sor: Golda Mária (tudományos segédmunkatárs), Szojka Zsófia Ilona (PhD hallgató), Janics-Pető Szilvia (laboratóriumi asszisztens), Kassay Norbert (tudományos segédmunkatárs), Szabó András (tudományos munkatárs).

A kutatócsoport munkatársai közül Tózsér József témavezetésével ezidáig Bagossi Péter (1996), Boross Péter (1999), Zahuczky Gábor József (2003), Kádas János (2004), Fehér Anita (2004), Sperka Tamás Viktor (2008), Eizert Helga (2013), Matúz Krisztina (2015) és Mohamed Mahdi (2016), míg Dr. Bagossi Péter témavezetésével Miklóssy Gabriella (2008) és Mótyán János András (2011) szereztek PhD fokozatot.

Csoportunk tagjai részt vesznek az intézet oktatómunkájában is, magyar és angol nyelven tartanak gyakorlatokat, szemináriumokat és előadásokat, elsősorban orvos, molekuláris biológus és biotechnológus hallgatók számára. Jelenleg a kutatómunkához szükséges anyagi támogatást részben OTKA és GINOP pályázati források biztosítják.

### **Bagossi Péter**

Fontosnak tartjuk ezúton is megemlékezni Bagossi Péter kollégánkról, aki 1992-től, a kutatócsoport alapításától kezdve dolgozott az intézetben. Tózsér József PhD hallgatójaként kezdte meg munkáját és a ranglétrán fokozatosan haladva egyetemi docensi kinevezést nyert 2008-ban. Önálló kutatási profilja részeként molekuláris modellezési technikákat, molekuláris mechanikai és dinamikai programokat alkalmazott és fejlesztett (AMMP, TINKER), valamint számos kollaborációs kutatásban, pályázat megvalósításában és vezetésében vett részt. Péter 45 éves korában súlyos betegség következtében hunyt el 2011-ben. Eredményei a mai napig fontos alapjait képezik a laborban folyó kutatásoknak, melyeket a jelenleg folyó kutatásainkban is rendszeresen hasznosítunk. Emléke előtti tisztelgés a Biokémiai és Molekuláris Biológiai intézet által alapított Bagossi Péter díj. A díjat olyan közlemény szerzőjének adományozzák a Debreceni Egyetemen, amely egy biokémiai vagy klinikai vonatkozású probléma molekuláris hátterének fehérjeszerkezet alapján történő feltárását írja le, és molekuláris modellezésre, illetve fehérjeszerkezet-meghatározásra épül.

### **Retrovirális proteázok biokémiai karakterizálása és összehasonlító vizsgálata**

A csoport fő érdeklődési területét a retrovírusok életciklusában fontos szerepet játszó fehérjék tanulmányozása képezi, a kutatómunka középpontjában a replikáció szempontjából nélkülözhetetlen proteáz (PR) funkciójának és jellemzőinek vizsgálata áll.

Számos virális proteázt alkalmaznak biokémiai, molekuláris- és sejtbiológiai, valamint biotechnológiai kutatásokban, azonban vizsgálatuk biológiai és orvosi szempontból igazán jelentős, hiszen a fertőzőképes vírusrészecskék előállítása nem nélkülözheti az érett proteáz funkcióját. A poliprotein processzálása az érési folyamat alapvető lépése, ezért is válhattak a virális proteázok az antivirális terápiák egyik legjelentősebb célmolekulájává. A retrovirális proteázok biokémiai karakterizálásának célja az egyes enzimek specifikus tulajdonságainak megismerése és ezen ismeretek felhasználása összehasonlító vizsgálatokban. Az általános hasonlóságok és különbségek feltérképezése, a gátolhatóság és a fehérjék mutációs képességek megértése hozzájárulhat a terápiás eljárások hatékonyabbá tételéhez.

A Retrovirális Biokémiai Kutató Laboratórium az évek során számos retrovirális proteáz biokémiai jellemzését végezte el és vett részt vizsgálatokban kollaborációs partnerekkel közösen (1. táblázat). A lista bővül, jelenlegi kutatásaink során további virális és retrovírus-szerű proteázokat is vizsgálunk.

**1. Táblázat. A kutatócsoport által karakterizált legfontosabb proteázok.**

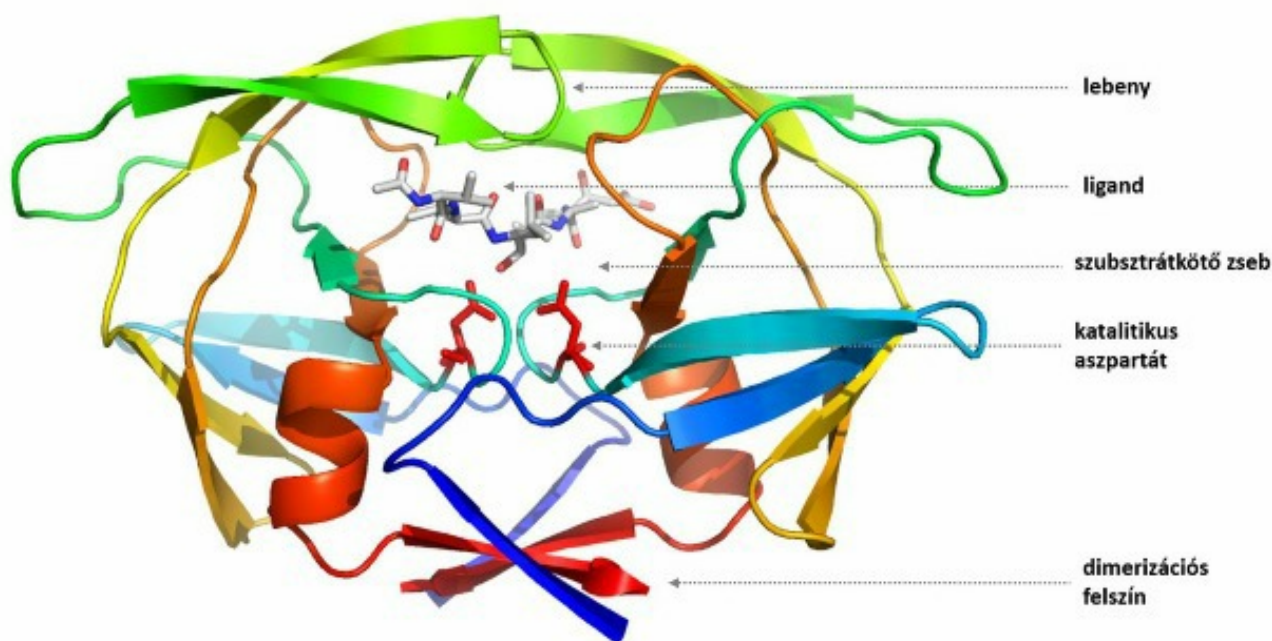
Vírus	Név	Hivatkozás
humán inmmundeficiencia vírus 1-es típus	HIV-1	[1]
humán inmmundeficiencia vírus 2-es típus	HIV-2	[2]
ló encefalitisz anémia vírus	EIAV	[3]
humán T-sejtes leukémia vírus 1-es típus	HTLV-1	[4]
szarvasmarha leukémia vírus	BLV	[5]
madár mieloblasztóma vírus	AMV	[6]
humán foamy vírus	HFV	[7]
egér leukémia vírus	MLV	[8]
xenotrópikus egér leukémia vírussal rokon-vírus	XMRV	[9]
dohány karcolatos vírus	TEV	[10]
dohány érfoltosság vírus	TVMV	[11]

A teljes munkafolyamat általában magába foglalja a vizsgálni kívánt fehérjék expresszióját, tisztítását és funkcionális analízisét, sok esetben kiegészítve kísérletes vagy *in silico* szerkezeti elemzésekkel. A laboratóriumban rendelkezésünkre állnak a fehérjetermeléshez szükséges expressziós rendszerek, a tisztításhoz szükséges kromatográfiás berendezések és az enzimológiai vizs-



gálatokhoz szükséges molekuláris biológiai és biokémiai anyagok és eszközök egyaránt. Az aktivitásmérések általában szintetikus oligopeptid szubsztrátok segítségével történnek. Az enzimológiai és a specificitás-vizsgálatokhoz olyan szubsztrát-sorozatok állnak rendelkezésünkre, melyek számos retrovirális proteáz természetes és módosított hasítóhely-szekvenciáját reprezentáló peptidet tartalmaznak.

Ezek felhasználhatóak többek között a homodimer formában aktív retrovirális proteázok dimerizációs képességének vizsgálatában (2. ábra). Munkáink során a HFV, XMRV, HIV-1 és HTLV-1 proteáz homodimerek stabilitása között jelentős eltéréseket tapasztaltunk, mely részben magyarázható az egyes fehérjék szerkezeti sajátágaival is, hiszen a különböző nemzetségekbe tartozó vírusok fehérjéi - a nagymértékű hasonlóság ellenére - meghatározó eltéréseket mutathatnak.



**2. ábra. A HIV-1 proteáz szerkezete.** A proteáz acetil-pepszttalinnal alkotott komplexének kristályszerkezeti képe (5HVP.pdb).

A proteázok vizsgálata nemcsak az antivirális gátlók fejlesztése szempontjából kiemelkedő jelentőségű, hanem fontos információkkal szolgálhat az

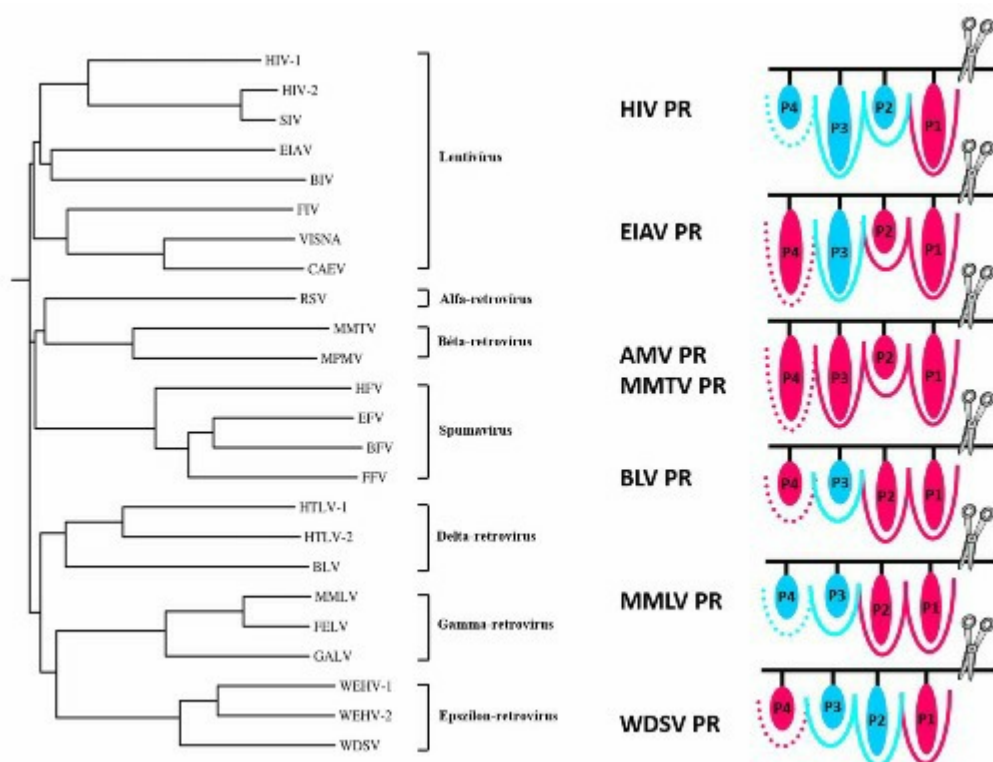


antivirális terápiák során kialakuló és a replikációt gátló szerek hatékonyságát nagyban csökkentő rezisztencia megértéséhez is. A közelmúltban a HIV-2 proteáz esetében kilenc különböző proteázgátlóval végeztük el a gátlási profil feltérképezését [2, 12]. *In vitro* aktivitásmérésekkel és sejtkultúras kísérletekben egyaránt igazoltuk, hogy az egyes, antiretrovirális terápiákban is alkalmazott inhibitorok eltérő hatékonysággal képesek gátolni a vad típusú HIV-2 proteázt. A HIV-1 proteázhoz hasonlóan [13] a rezisztencia-mutációk a HIV-2 PR esetében is jelentős mértékben képesek csökkenteni a gátlási képességet. Viszonylag kevés irodalmi adat áll rendelkezésre arról, hogy a HIV-1 PR gátlására kifejlesztett és használt klinikai inhibitorok milyen hatékonysággal képesek a HIV-2 PR gátlására, és mivel napjainkban sem állnak rendelkezésre HIV-2-specifikus gátlószerek, ezek a vizsgálatok jelentősek lehetnek a HIV-2 fertőzöttek esetében alkalmazott terápia szempontjából. További kutatásaink során azt is szeretnénk vizsgálni, hogy retrovirális eredetű celluláris aszpartil proteázok is érzékenyek lehetnek-e ezekre a gátlószerekre, ugyanis feltételezhetően egyes celluláris humán proteázok gátlása is hozzájárulhat az antiretrovirális terápiák során tapasztalt mellékhatások kialakulásához.

A proteázok egyedi jellemzése mellett fontos célunk összehasonlító elemzések elvégzése is, a különböző enzimek esetében az *in vitro* és *in silico* eredmények összehasonlíthatóságát az azonos rendszerben végzett analízisek biztosítják. Átfogó komparatív analízisben vizsgáltuk 11 különböző retrovírus-proteáz S4-S1 szubsztrátkötő zsebeinek aminosav preferenciáit, mely vizsgálatban a *Retroviridae* család mind a hét nemzetségének legalább egy tagja reprezentálva volt [14-16] (3. ábra).

A szintetikus peptid-alapú *in vitro* specificitás-vizsgálatok mellett a fehérjék *in silico* vizsgálata során a szubsztrátkötő zsebek méretét a modellezett enzim-szubsztrát komplexek szerkezeteken végzett számításokkal határoztuk meg. A számított és a kísérletesen meghatározott értékek jó korrelációt mutattak egymással, így meghatározhattuk az egyes nemzetségekre jellemző saját-

ságokat. A szűkebb és tágabb specificitású fehérjék közti hasonlóságok és különbségek feltérképezése révén információt kaphattunk a gátlószerek hatékonyságának a rezisztencia-mutációk következtében bekövetkező változásáról is, hiszen a rezisztencia kialakulásához vezető mutációk sokszor olyan aminosav bevezetésével járnak, melyek ekvivalens pozíciókban megtalálhatóak más proteázok esetében is. A specificitás-vizsgálatokban meghatározott tulajdonságok napjainkban a retrovirális fehérjékkel homológiát mutató celluláris proteázok biokémiai jellemzését célzó kutatásaink alapjául is szolgálnak.



**3. ábra. Retrovirális proteázok összehasonlító vizsgálata.** Retrovirális proteázok szekvenciája alapján végzett filogenetikai elemzés és az S4-S1 szubsztrátkötő zsebek aminosav-preferenciái. A hidrofób aminosav iránti preferenciát piros szín jelöli, míg a kékkel jelölt zsebek esetében nem jellemző a hidrofóbicitáson alapuló preferencia. Eizert és mtsai, 2008 alapján [15].

A kromatográfiás eljárások relatíve nagy oldószer-igénye mindig is egyszerűbb és olcsóbb eljárások keresésére ösztönözte a kutatókat. Bár kutatócsoportunkban hosszú évek óta sikeresen alkalmaztunk - és alkalmazunk jelenleg is - szintetikus oligopeptidok használatán alapuló mérési rendszert, alternatív lehetőségeket mi is kerestünk. E törekvésünk eredményeként különböző fluori-

metriás eljárásokat dolgoztunk ki. Egyikük szintén szintetikus peptid-alapú módszer, mely Edans/Dabcyl csoportokat tartalmazó szubsztrát használatán alapul és sikeresen alkalmaztuk HIV-1 és HTLV-1 proteázok mikrotiter-alapú gátlásvizsgálatában [17]. A közelmúltban egy rekombináns fehérje szubsztrát-alapú aktivitásmérési eljárást is kidolgoztunk [18]. Ezek a rekombináns fehérje szubsztrátok fluoreszcens címkét tartalmaznak, a mérés alapját pedig a proteolitikus hasítás következtében felszabaduló hasítási termékek fluorimetriás mérése képezi. A szubsztrátok egyik előnyös tulajdonsága, hogy a fluoreszcens fehérjék denaturáló elektroforézist követően a poliakrilamid gélben részlegesen renaturálhatóak, így fluoreszcens tulajdonságuk alapján detektálhatóak. Ezen rekombináns fehérje szubsztrátokat eddig sikeresen alkalmaztuk HIV-1 és TEV proteázok esetében, jelenleg további virális és humán proteázok esetében is használjuk szubsztrát-specifitását, kölcsönható felületek, és proteolitikus hasítóhelyek vizsgálata céljából.

Kutatócsoportunkban Bagossi Péter vezette be a szerkezeti biokémiai és bioinformatikai módszerek használatát, így munkáink jelentős részében az *in vitro* enzimológiai vizsgálatokat *in silico* analízisek vagy predikciók eredményeivel is kiegészíthettük, és egészítjük ki azóta is. A kísérletes szerkezet-vizsgáló módszerek alkalmazását igénylő munkák elsősorban szakmai együttműködések keretében valósultak meg. A HIV-1 kapszid fehérje módosításának a szerkezetre gyakorolt hatását CD spektroszkópiával vizsgáltuk [19], továbbá részt vettünk az XMRV [9], TVMV [20], HIV-1 és HIV-2 [13] proteázok szerkezetének röntgen-krisztallográfiás vizsgálatát célzó projekteken is.

### **A HIV-2 vizsgálata**

A HIV-1 PR régóta kutatócsoportunk fő vizsgálati célpontjai közé tartozik, és bár korábban is tanulmányoztuk a HIV-2 proteáz szubsztrát-specifitását [14, 15] vagy proteáz inhibitorokkal való gátlhatóságát [2, 13, 21], az elmúlt években érdeklődésünk a HIV vírus kevésbé tanulmányozott típusa, a HIV-2 felé is fordult. Bár a proteáz vizsgálatát nem nélkülözhetjük a jelenlegi folyó kutatásainkban sem, ezek fókuszában elsősorban a HIV-2 kiegészítő és szabályozó fehérjéi állnak.

A szakirodalomból ugyanis ismert volt egyes betegek esetében az ún. kettős, azaz a HIV-1 és HIV-2 vírusokkal egyaránt történő fertőzöttség, melyhez jellemzően alacsonyabb vírusterhelés és a vírus csökkent patogenitása társul azokhoz képest, akik csak a HIV-1 vírussal fertőzöttek. Annak ellenére, hogy a jelenség megértése fontos lehet a klinikai progresszió szempontjából, molekuláris hátterének csupán kevés részlete ismert. Feltételeztük, hogy a jelenség hátterében a HIV-1 és HIV-2 vírusok fehérje szinten történő kölcsönhatása állhat. A vírusok közötti interakció feltérképezésére kísérleteinket a kettős fertőzést modellező sejtes rendszerben végezzük, VSV.G pszeudotipizált replikáció-inkompetens vírusokkal [22], melyhez az intézeti infrastruktúra biztosítja a BSL-2 biztonsági szintű laboratóriumot. A vad típusú vírusok esetében azt tapasztaltuk, hogy a HIV-1 és HIV-2 vírusokkal történő szimultán fertőzés (transzdukció) jelentősen lecsökkenti a HIV-1 fertőzőképességét. A HIV-2 vírus kiegészítő és szabályozó fehérjéit kódoló gének szisztematikus módosítása után egyedül a Vpx fehérje inaktiválása szüntette meg a HIV-2-nek a HIV-1 replikációra gyakorolt elnyomó hatását. Ez arra utalt, hogy a HIV-2 Vpx fehérje lehet az, mely a HIV-1 vírussal való kölcsönhatásért és restriktív hatásért felelős. A gátló hatás biokémiai hátterét azonban még mindig nem ismerjük pontosan, így tovább folynak kutatásaink a kulcsfontosságú kölcsönhatások vizsgálata érdekében.

### **Hasnyálmirigy proteázok vizsgálata**

A kutatócsoport intézeti elődje az Elődi Pál professzor által vezetett szerin proteázos munkacsoport volt, melynek 1983-1992 között Tózsér József is tagjavolt, tudományos munkásságát Elődi professzor úr irányításával kezdte meg [23]. A szerin proteáz enzimcsalád tagjai a közelmúltban ismét a kutatócsoport érdeklődési körébe kerültek, ugyanis 2016 őszén csatlakozott hozzánk Szabó András tudományos munkatárs, aki korábban Sahin-Tóth Miklós laboratóriumában dolgozott az Egyesült Államokban (Boston University, Boston, USA), ahol több éven keresztül a krónikus hasnyálmirigy gyulladás genetikai rizikófaktorait kutatta. Fő kutatási területét jelenleg is a hasnyálmirigy-gyulladás ki-

alakulásában szerepet játszó fehérjék, valamint a humán hasnyálmirigy által jelentős mennyiségben szekretált inaktív proteáz-prekursorok aktiválódási mechanizmusa képezi. A tripszin autoaktivációját enteropeptidáz segíti, majd a hasnyálmirigy-eredetű kimotripszin, elasztáz és karboxipeptidáz enzimek a tripszin által katalizált limitált proteolízissel aktiválódnak. A tripszin autoproteolízisét a kimotripszin C izoforma szigorúan szabályozza. Korábbi kutatásaik során igazolták, hogy a tripszin prekursor proteolitikus lebontását a kimotripszin C szubsztrát-specifikus felismerése teszi lehetővé [24], a proteolitikus bontás pedig megakadályozza a tripszin hasnyálmirigyen belüli működését. Kimutatták továbbá, hogy a krónikus hasnyálmirigy gyulladás örökletes formájának kialakításáért felelős kationos tripszin mutációk ellenállóvá teszik annak prekursorát a kimotripszin C hasítással szemben [25]. A tripszin - és a többi proteáz - hasnyálmirigyen belüli aktiválódása a szerv önemésztéséhez és a betegség kialakulásához vezethet, eredményeik alapján a betegséghez a kimotripszin C funkcióvesztéses mutációi is hozzájárulnak [26, 27].

A krónikus hasnyálmirigy gyulladás kialakulásában szerepet játszó más génmutációk vizsgálatán túl [28] a jelenlegi kutatások célja annak a vizsgálata, hogy a betegség ellen védő hatású tripszin inhibitor mutációi hogyan befolyásol(hat)ják annak gátló funkcióját, és a tripszintől független mechanizmusok szerepet játszanak-e a betegség kialakulásában.

### **Együttműködések**

A csoport tagjai a Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet kutatócsoportjai mellett további hazai és külföldi partnerekkel is rendszeresen együttműködnek. A retrovirális proteázok vizsgálatában a legfontosabb külföldi kollaborációs partnerek közé tartozik Irene T. Weber (Georgia State University), Luis Menéndez-Arias (Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa"), John M. Louis (NIH, DHHS, USA), Stephen Oroszlan (NCI-Frederick, USA) és David Waugh (NCI-Frederick, USA).

A DE ÁOK-n működő intézetekkel szintén együtt dolgozhattunk több kutatásban is. Szöllősi János kutatócsoportjával (Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet) együttműködésben vettünk részt MHC -I, CD8 és T-sejt receptor komplex [29] és ErbB2 transzmembrán receptor [30] vizsgálatában, melynek során az összetett szerkezeti modellek predikcióját áramlási citometriás FRET mérések eredményei alapján végeztük el. Példaként említhető továbbá különböző testfolyadékok proteomikai vizsgálata specifikus biomarkerek azonosítása céljából, így nyálminta-elemzések Csősz Évával (Proteomika Szolgáltató Laboratórium) [31], valamint könnyminták analízise Csutak Adriennel és Berta Andrással (Szemklinika) [32], de a plazminogén aktivátorok vizsgálata is hosszú ideje a közös érdeklődés részét képezi a Szemklinikával való együttműködéseknek [33, 34]. A retrovirális és retrovírus-szerű proteázok *in silico* analízisei során szerzett tapasztalatainkat további fehérjék vizsgálata során is volt szerencsénk hasznosítani. Benkő Szilvia kutatócsoportjával (Élettani Intézet) kialakított együttműködésünk keretében a NOD-like receptor családba tartozó fehérjék vizsgálatában vettünk részt, ehhez kapcsolódóan elkészítettük a humán NLRC5 fehérje homológ modelljét [35], de szerkezet-alapú analíziseket végeztünk alfa-amilázok [36], transzglutamináz 2 [37] és disztrofin fehérjék [38] esetében is.

#### Irodalomjegyzék

- [1] Louis, J.M, Tőzsér, J., Roche, J., Matúz, K., Aniana, A., Sayer, J.M. (2013) Enhanced stability of monomer fold correlates with extreme drug resistance of HIV-1 protease. *Biochemistry*, **52**: 7678-88.
- [2] Mahdi, M., Szojka, Z., Mótyán, J.A., Tőzsér, J. (2015) Inhibition profiling of retroviral protease inhibitors using an HIV-2 modular system. *Viruses*, **7**: 6152-6162.
- [3] Tőzsér, J., Friedman, D., Weber, I.T., Bláha, I., Oroszlan, S. (1993) Studies on the substrate specificity of the proteinase of equine infectious anemia virus using oligopeptide substrates. *Biochemistry*, **32**: 3347-3353.
- [4] Kádas, J., Weber, I.T., Bagossi, P., Miklóssy, G., Boross, P., Oroszlan, S., Tőzsér, J. (2004) Narrow substrate specificity and sensitivity toward

- ligand-binding site mutations of human T-cell Leukemia virus type 1 protease. *J Biol Chem*, **279**: 27148-57.
- [5] Zahuczky, G., Boross, P., Bagossi, P., Emri, G., Copeland, T.D., Oroszlan, S., Louis, J.M., Tözsér, J. (2000) Cloning of the bovine leukemia virus proteinase in *Escherichia coli* and comparison of its specificity to that of human T-cell leukemia virus proteinase. *Biochim Biophys Acta*, **1478**: 1-8.
- [6] Tözsér, J., Bagossi, P., Weber, I.T., Copeland, T.D., Oroszlan, S. (1996) Comparative studies on the substrate specificity of avian myeloblastosis virus proteinase and lentiviral proteinases. *J Biol Chem*, **271**: 6781-6788.
- [7] Fenyőfalvi, G., Bagossi, P., Copeland, T.D., Oroszlan, S., Boross, P., Tözsér, J. (1999) Expression and characterization of human foamy virus proteinase. *FEBS Lett*, **462**: 397-401.
- [8] Fehér, A., Boross, P., Sperka, T., Oroszlan, S., Tözsér, J. (2004) Expression of the murine leukemia virus protease in fusion with maltose-binding protein in *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif*, **35**: 62-68.
- [9] Matúz, K., Mótyán, J.A., Li, M., Wlodawer, A., Tözsér, J. (2012) Inhibition of XMRV and HIV-1 proteases by pepstatin A and acetyl-pepstatin. *FEBS J*, **279**: 3276-86.
- [10] Kapust, R.B., Tözsér, J., Copeland, T.D., Waugh, D.S. (2002) The P1' specificity of tobacco etch virus protease. *Biochem Biophys Res Commun*, **294**: 949-55.
- [11] Tropea, J.E., Cherry, S., Bagossi, P., Copeland, T.D., Wlodawer, A., Waugh, D.S. (2005) Comparison of the substrate specificity of two potyvirus proteases. *FEBS J*, **272**: 514-523.
- [12] Mahdi, M., Matúz, K., Tóth, F., Tözsér, J. (2014) A modular system to evaluate the efficacy of protease inhibitors against HIV-2. *PLoS One*, **9**: e113221.
- [13] Tie, Y., Wang, Y.F., Boross, P.I., Chiu, T.Y., Ghosh, A.K., Tozser, J., Louis, J.M., Harrison, R.W., Weber, I.T. (2012) Critical differences in HIV-1 and HIV-2 protease specificity for clinical inhibitors. *Protein Sci*, **21**: 339-350.
- [14] Bagossi, P., Sperka, T., Fehér, A., Kadas, J., Zahuczky, G., Miklossy, G., Boross, P. and Tozser, J. (2005) Amino acid preferences for a critical



- substrate binding subsite of retroviral proteases. *J Virol*, **79**: 4213-4218.
- [15] Eizert, H., Bander, P., Bagossi, P., Sperka, T., Miklossy, G., Boross, P., Weber, I. T. and Tozser, J. (2008). Amino acid preferences of retroviral proteases for amino-terminal positions in a type-1 cleavage site. *J Virol*, **82**: 10111-10117.
- [16] Tőzsér, J. (2010) Comparative Studies on Retroviral Proteases: Substrate Specificity. *Viruses*, **2**: 147–165.
- [17] Bagossi, P., Kádas, J., Miklóssy, G., Boross, P., Weber, I.T., Tőzsér, J. (2004) Development of a microtiter plate fluorescent assay for inhibition studies on the HTLV-1 and HIV-1 proteinases. *J Virol Methods*, **119**: 87-93.
- [18] Bozóki, B., Gazda, L., Tóth, F., Miczi, M., Mótyán, J.A., Tőzsér, J. (2018) A recombinant fusion protein-based, fluorescent protease assay for high throughput-compatible substrate screening. *Anal Biochem*, **540-541**: 52-63.
- [19] Tóth, F., Kádas, J., Mótyán, J.A., Tőzsér, J. (2016) Effect of internal cleavage site mutations in human immunodeficiency virus type 1 capsid protein on its structure and function. *FEBS Open Bio*, **6**: 847-59.
- [20] Sun, P., Austin, B.P., Tőzsér, J., Waugh, D.S. (2010) Structural determinants of tobacco vein mottling virus protease substrate specificity. *Protein Sci*, **19**: 2240-2251.
- [21] Menéndez-Arias, L., Tőzsér, J. (2008) HIV-1 protease inhibitors: effects on HIV-2 replication and resistance. *Trends Pharmacol Sci*, **29**: 42-49.
- [22] Mahdi, M., Szojka, Z., Mótyán, J.A., Tőzsér, J. (2018) Inhibitory effects of HIV-2 Vpx on replication of HIV-1. *J. Virology*, **92**: pii: e00554-18.
- [23] Tőzsér, J., Szabó, G., Pozsgay, M., Aurell, L., Elödi, P. (1986) Active centre studies on bovine pancreatic chymotrypsin with tripeptidyl-p-nitroanilide substrates. *Acta Biochim Biophys Hung*, **21**: 335-348.
- [24] Batra, J., Szabó, A., Caulfield, T.R., Soares, A.S., Sahin-Tóth, M., Radisky, E.S. (2013) Long-range electrostatic complementarity governs substrate recognition by human chymotrypsin C, a key regulator of digestive enzyme activation. *J Biol Chem*, **288**: 9848-9859.

- [25] Szabó, A., Sahin-Tóth, M. (2012) Increased activation of hereditary pancreatitis-associated human cationic trypsinogen mutants in presence of chymotrypsin C. *J Biol Chem*, **287**: 20701-20710.
- [26] Beer, S., Zhou, J., Szabó, A., Keiles, S., Chandak, G.R., Witt, H., Sahin-Tóth, M. (2013) Comprehensive functional analysis of chymotrypsin C (CTRC) variants reveals distinct loss-of-function mechanisms associated with pancreatitis risk. *Gut*, **62**: 1616-1624.
- [27] Szabó, A., Ludwig, M., Hegyi, E., Szepeova, R., Witt, H., Sahin-Tóth, M. (2015) Mesotrypsin Signature Mutation in a Chymotrypsin C (CTRC) Variant Associated with Chronic Pancreatitis. *J Biol Chem*, **290**: 17282-17292.
- [28] Witt, H. és mtsai. (2013) Variants in CPA1 are strongly associated with early onset chronic pancreatitis. *Nat Genet*, **45**: 1216-1220.
- [29] Gáspár, R., Jr., Bagossi, P., Bene, L., Matkó, J., Szöllösi, J., Tőzsér, J., Fésüs, L., Waldmann, T. A., Damjanovich, S. (2001) Clustering of class I HLA oligomers with CD8 and TCR: three-dimensional models based on fluorescence resonance energy transfer and crystallographic data. *J Immunol*, **166**: 5078-86.
- [30] Bagossi, P., Horváth, G., Vereb, G., Szöllösi, J., Tőzsér, J. (2005) Molecular modeling of nearly full-length ErbB2 receptor. *Biophys J*, **88**: 1354-1363.
- [31] Csősz, É., Márkus, B., Darula, Z., Medzihradzky, K.F., Nemes, J., Szabó, E., Tőzsér, J., Kiss, C., Márton, I. (2018) Salivary proteome profiling of oral squamous cell carcinoma in a Hungarian population. *FEBS Open Bio*, **8**: 556-569.
- [32] Torok, Z., Peto, T., Csoosz, E., Tukacs, E., Molnar, A., Maros-Szabo, Z., Berta, A., Tozser, J., Hajdu, A., Nagy, V., Domokos, B., Csutak, A. (2013) Tear fluid proteomics multimarkers for diabetic retinopathy screening. *BMC Ophthalmol*, **13**: 40.
- [33] Tőzsér, J., Berta, A., Punyiczki, M. (1989) Plasminogen activator activity and plasminogen independent amidolytic activity in tear fluid from healthy persons and patients with anterior segment inflammation. *Clin Chim Acta*, **183**: 323-331.

- [34] Csutak, A., Steiber, Z., Tózsér, J., Jakab, A., Berta, A., Silver, D.M. (2017) Plasminogen activator activity in tears of pregnant women. *PLoS One*, **12**: e0177003.
- [35] Mótyán, J.A., Bagossi, P., Benkő, S., Tózsér, J. (2013) A molecular model of the full-length human NOD-like receptor family CARD domain containing 5 (NLRC5) protein. *BMC Bioinformatics*, **14**: 275.
- [36] Mótyán, J.A., Gyémánt, G., Harangi, J., Bagossi, P. (2011) Computer-aided subsite mapping of  $\alpha$ -amylases. *Carbohydr Res*, **346**: 410-415.
- [37] Thangaraju, K., Király, R., Mótyán, J.A., Ambrus, V.A., Fuxreiter, M., Fésüs, L. (2018) Computational analyses of the effect of novel amino acid clusters of human transglutaminase 2 on its structure and function. *Amino Acids*, **49**: 605-614.
- [38] Koczok, K., Merő, G., Szabó, G.P., Madar, L., Gombos, É., Ajzner, É., Mótyán, J.A., Hortobágyi, T., Balogh, I. (2017) A novel point mutation affecting Asn76 of dystrophin protein leads to dystrophinopathy. *Neuromuscul Disord*, **28**: 129-136.

## IRÁNYÍTOTT FEHÉRJEEVOLÚCIÓ

*Pál Gábor<sup>1</sup> és Kintses Bálint<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*ELTE Biokémiai Tanszék, Irányított Fehérjeevolúció Kutatócsoport, Budapest*

<sup>2</sup>*MTA SZBK Biokémiai Intézet, Kísérleti Evolúcióbíológiai Csoport, Szeged*

A 2018-as kémiai Nobel-díjat Frances Arnold, George Smith és Gregory Winter kapták az irányított fehérjeevolúció terén elért kimagasló és az emberiség számára nagy jelentőségű eredményeikért. A jelen cikk szerzői - az adott szakterület hazai művelőiként - arra kaptak felkérést, hogy ismertessék a díjazott tudósok fő eredményeit, majd mutassák be saját kutatásaik lényegét is. Egyikünk (Pál Gábor) kutatásai leginkább Smith és Winter, míg másikunké (Kintses Bálint) leginkább Arnold munkásságával függnek össze. A szerzők az adott szakterület részletesen tárgyalják az idén novemberben megjelent, Ezerarcú fehérjék című könyv 22. fejezetében.



**1. ábra. A 2018-as kémiai Nobel-díj nyertesei (balról jobbra): Frances Arnold, George Smith és Gregory Winter.** (Forrás: <https://www.nobelprize.org/>, ©The Royal Swedish Academy of Sciences).

Az emberi szervezetben több tízezer különböző fehérje és százezres nagyságrendű fehérjéken keresztüli kölcsönhatás létezik. A fehérjék és kapcsolatrendszereik megfelelő állapota élet-halál kérdése. A betegségek molekuláris hátterében mindig tetten érhető valamilyen hibás fehérjeműködés, vagy kóros kölcsönhatás. A legmodernebb terápiás eljárások lényege az ilyen

kölcsönhatások ultraszelektív megszüntetése az adott célra kifejlesztett gyógyszermolekulával. Mivel a kismolekulás gyógyszerek affinitása és /vagy specificitása gyakran nem elegendő a fehérje-fehérje kölcsönhatások megakadályozására, egyre nagyobb terápiás szerephez jutnak a nagy kötőfelszínű monoklonális ellenanyagok. Manapság ez a legdinamikusabban fejlődő gyógyszerfejlesztési irányzat, ami, mint látni fogjuk, szorosan összefügg Gregory Winter Nobel-díjával.

Mind alapkutatási, mind gyakorlati szempontból elementárisan fontos, hogy megfejtsük, milyen molekuláris mechanizmussal „választják ki” az egyes fehérjék kölcsönható partnereiket a hatalmas indifferens molekularegből, mi szabja meg a kölcsönhatás affinitását, specificitását. Minél mélyebben sikerül ezt feltárnunk, annál hatékonyabban avatkozhatunk be a kölcsönhatásokba újonnan kifejlesztett specifikus fehérjékkel. Hasonlóan, minél mélyebben sikerül megértenünk a természetben létező enzimek hatásmechanizmusát, annál nagyobb eséllyel fejleszthetünk ki számunkra fontos aktivitású, új enzimeket.

A '80-as évek elejére a rekombináns DNS technológiák kidolgozásával mindez lehetővé vált. A klónozás, irányított mutagenézis és rekombináns fehérje-expresszió eljárásai szabadkezet adtak a kutatóknak arra, hogy tetszőleges pontossággal és mértékben változtassák meg bármelyik fehérje aminosavsorrendjét. Az új tudományterületet fehérjemérnökségnek (protein engineering) nevezték el. Megjegyzendő, hogy a mai napig sem szó szerinti mérnöki megközelítésről van szó, ugyanis még mindig nem tudunk rutinszerűen új funkciókra alkalmas, új fehérjéket fejleszteni valódi tervezéssel, pusztán természettudományos törvényekre támaszkodva. Ezzel szemben a természetben tízezerrel találunk tervezési eljárás nélkül létrejött, szelektív, az adott célra optimális erősségű kölcsönhatásokat létesítő fehérjéket, illetve optimális szelektivitású és hatékonyságú enzimeket.

A ma létező fehérjeszerkezetek és funkciók elképesztő változatossága és a

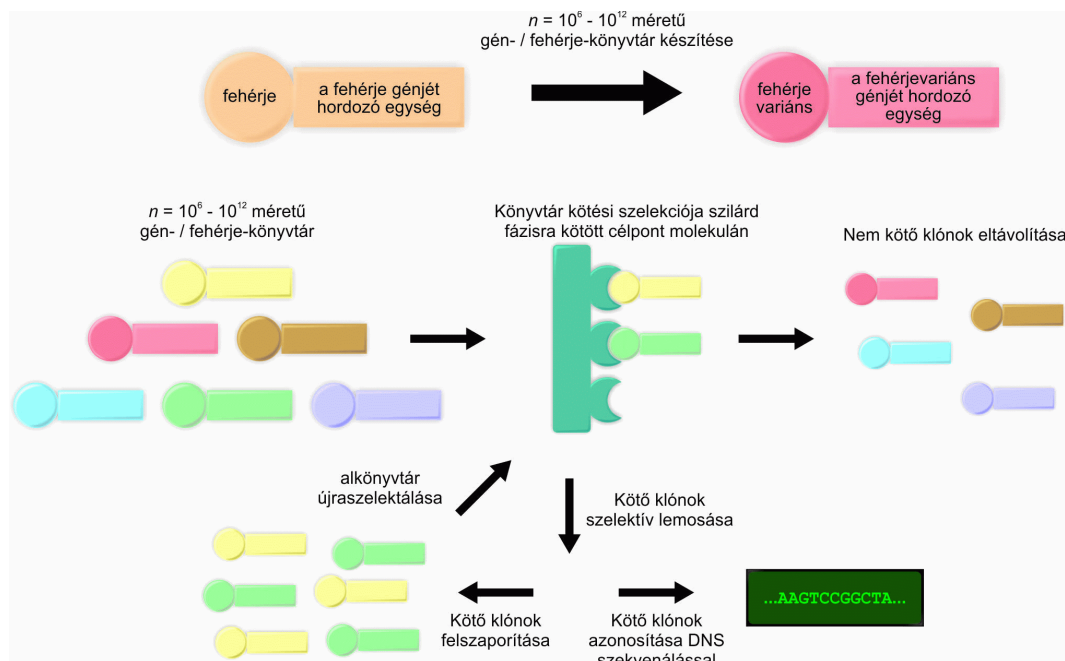
fehérjék révén kialakuló, szerteágazó molekuláris kapcsolati hálózatok a darwini evolúció közel négy milliárd évnyi eredményei. Tanulságos, hogy az újfajta fehérjék kifejlesztésében az igazi áttörést éppen az hozta, hogy sikerült a darwini evolúció alapelvét követve kidolgozni az első irányított fehérjeevolúciós eljárásokat. Ennek lehetősége azonban nem volt magától értetődő. A természetben az élőlény és annak génjei, fehérjei egymástól elválaszthatatlan egységben evolválódnak. Az új fehérje-variánsok rendkívül áttételes módon, sok más fehérjével kölcsönhatásban módosítják az élőlény fenotípusát. A kapcsolat mindkét irányból összetett. Egyrészt nem nyilvánvaló, hogyan lehetne egyetlen fehérje célzott evolválásával számunkra előnyös tulajdonságú élőlényeket fejleszteni, másrészt az sem világos, hogyan lehetne számunkra előnyösebb tulajdonságú fehérjét evolválni a befogadó élőlény „nemesítésével”. Utóbbi esetben az ehhez szükséges idő is határt szabhat. Mint látni fogjuk, egyes eljárásokban mégis összefonódik a fehérje és a befogadó élőlény evolúciója, de ilyenkor rövid generációs idejű mikrobákat alkalmaznak.

**George P. Smith** volt az, aki elsőként valósította meg irányított fehérjeevolúciót. Smith 1941-ben született az Amerikai Egyesült Államokban. A Harvard Egyetemen szerzett PhD-fokozatot bakteriológia és immunológia területen. Munkássága több mint negyven éve a Missouri Egyetemhez (University of Missouri, Columbia) kötődik. Smith a '70-es évek végén egy baktériumokban szaporodó vírus, a fonalas szerkezetű M13 bakteriofág működését vizsgálta. Az M13 fág DNS genomja a szaporodási ciklus egy részében egyszálú, és ez a korabeli eljárások számára nagyon hasznosnak bizonyult. Többek közt az ő munkája nyomán vált ez a fág olyan rekombináns DNS eljárások leghatékonyabb eszközévé, mint az egyszálú DNS-hez kötődő oligonukleotid primerekkel megvalósított irányított mutagenézis, és a Sanger-féle DNS-szekvenálás.

Az M13-alapú vektorokat kutatók ezrei használták, de egyedül Smith ismert fel egy vadonatúj lehetőséget ebben az eszközben. Szent-Györgyi Albert ismert gondolatát szabadon idézve Smith látta azt, *amit már mindenki látott*, de olyat

gondolt, *amit* senki más nem. Felismerte, hogy amennyiben az M13 fág valamelyik burokfehérje génjéhez idegen DNS-t kapcsol, úgy az ilyen fág-genommal transzformált baktérium az eredeti burokfehérje helyett egy fúziósfehérjét készít majd. A fúziósfehérjében az idegen eredetű rész egyetlen közös polipeptidláncot képez a burokfehérjével, és utóbbi által beépül a fág burokba. A sejtet tehát olyan fág-részecskék hagyják el, amelyek a felszínükön megjelenítik az idegen fehérjét, miközben azt fizikailag összekapcsolják a fehérjeburokba zárt idegen génnel.

Ezzel Smith megalkotta a fágbemutató (phage display) eljárást [1]. Smith eredeti célja olyan random génkönyvtárak előállítása volt, amelyekből hatékonyan azonosíthatók mindazon gének, amelyek fehérjeterméke ellen már létezett ellenanyag. Ezt a célt elérte, és a keresett gént nemcsak izolálta az immobilizált ellenanyaggal kihalászott fágon keresztül, hanem az egyszálú DNS forma szekvenálásával könnyen azonosítani is tudta. Azt is igazolta, hogy az ellenanyaghoz kötődő fehérjét hordozó fágok egyetlen affinitáskromatográfia-szerű lépéssel kihalászhatók indifferens fágok többeszeres feleslegéből [1].



**2. ábra. Az irányított fehérjeevolúció sémája.** (Engedéllyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitrai L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)



Pár évvel később Smith a fágbemutatást epitóp-térképezésre alkalmazta. Egy hexamer peptidet tartalmazó random peptid-fág fúziós könyvtárból, amely  $20^6=64$  millió-féle peptidet tudott egyenként klonálisan fágon megjeleníteni, klónokat szelektált ismert, lineáris peptid ellen kifejlesztett ellenanyagokkal. A hatalmas könyvtárból szelektált klónok által reprezentált szekvenciamintázat hűen tükrözte az eredeti peptid antigén szekvenciáját [2]. Ez a módszer már rendelkezett a darwini evolúció összes fontos ismervével: genetikailag kódolt fenotípus-eltéréseket mutató egyedek sokaságából kiindulva valamely tulajdonság eltérései alapján szelektálja az egyedeket, és a szelekciós tényezőnek leginkább megfelelő variánsok a többihez képest nagyobb hatékonysággal szaporodnak. Mindez messze túlmutatott az epitóp-térképezés jelentőségén, hiszen valószínűsítette, hogy bármilyen fehérje ellen evolválható kötőpeptid, és felvetette annak a lehetőségét is, hogy akár kisebb fehérjék is evolválhatók lehetnek fágon. Később mindez igazolást nyert.

Smith tehát az evolválandó fehérjét és annak génjét kiemelte a befogadó élőlényből, a fehérjét és a kódoló gént szellemes megoldással összekapcsolta, és az evolúciós folyamat leglényegesebb lépéseit precízen kontrollált módon, *in vitro* végezte el. Ötletét nem szabadalmaztatta, ingyenesen közkinccsá tette, és receptszintű részletességgel ismertette, annak érdekében, hogy a technológia széles körben elterjedhessen [3, 4].

Az eljárás továbbfejlesztett verzióiban megoldották többszáz aminosavas fehérjék evolválását M13 fágon, számos új variációképzési és szelektálási módszer került kifejlesztésre, és az irányított evolúciót rengeteg különböző célra adaptálták. Pár ilyet a cikk későbbi részében saját munkáink kapcsán megemlítünk, de elsőként azt emeljük ki, ami az emberiség számára újfajta gyógyszereket, Gregory Winter számára pedig Nobel-díjat eredményezett.

**Gregory P. Winter** munkássága szinte teljes mértékben az angliai Cambridgeben alapított MRC LMB (Orvosi Kutatási Tanács Molekuláris Biológiai

Laboratóriuma) intézményéhez kötődik. Winter a '70-es évek végén egy aminoacil-tRNS-szintetáz enzim génjének, a '80-as évek elején pedig az influenzavírus genomjának szekvenálásával foglalkozott. Ekkor ismerkedett meg az M13 fágon alapuló eljárásokkal. Már projektvezető volt, amikor Alan Fersht, elismert enzimológus, aki korábban szintén MRC LMB tag volt, egyéves vendégkutatói periódus után hazatért a Stanford Egyetemről, a Nobel-díjas Arthur Kornberg laboratóriumából, ahol elsajátította a rekombináns DNS technológia eljárásait. Fersht és Winter közös kutatásba kezdett, belevágtak a fehérjeműködés irányított mutagenézis-alapú vizsgálatába, és ezzel a '80-as évek közepén létrejött a fehérjemérnökség egyik bölcsője. Bár Winternek ez a hozzájárulása önmagában is megérne egy külön fejezetet, kanyarodjunk vissza a Nobel-díj felé vezető út ismertetésére.

Winter a 12. kutató, aki az MRC-ban elért eredményéért nyert el Nobel-díjat. Az MRC a '80-as évek elején már négy Nobel-díjas eredménnyel (Sanger 1958 és 1980, fehérje- és DNS-szekvenálás, Watson és Crick 1962, DNS-szerkezet, Kendrew és Perutz 1962, mioglobín és hemoglobín térszerkezete) fémjelzett élettudományi kutatóközpont volt. Ezt a gyűjteményt gazdagította 1984-ben Milstein és Köhler, akik a monoklonális ellenanyagok hibridóma-technológián alapuló előállításáért kaptak Nobel-díjat. Egér immunizálását követően a lépből izolálták az ellenanyagot termelő B-sejteket, amelyeket rákos sejtvonallal fuzionáltak. Egy szelektív eljárás révén így klónonként eltérő ellenanyagot termelő, és egyben korlátlanul osztódó sejtekhez jutottak.

A B-sejtek által termelt ellenanyagok az immunrendszer idegenfelismerésre specializálódott kötőmolekulái. A végleges ellenanyag-gének a genomban sok eltérő, tandem kópiában jelenlévő génszakasz B-sejtenként egyedi összeszerelése révén alakulnak ki. Legalább 100 millió eltérő B-sejt klón keletkezik az egyed élete során, és mindegyik egyedi antigénfelismerő felszínnel bíró ellenanyagot termel. Nyilvánvaló volt, hogy a patológiás szerepű fehérjék ellen termelt monoklonális ellenanyagok fontos gyógyszerek lehetnek. Az FDA által

engedélyezett első ilyen gyógyszer egy egérben kifejlesztett ellenanyag volt, ami az emberi T-sejtek felszínén lévő CD3-receptorhoz kötve csökkentette a sejtes immunválaszt. Szervátültetéseknel a szervkilökődés megakadályozására használták olyan betegek esetében, akik a hagyományos, szteroid-alapú kezelésre nem reagáltak. Kiderült azonban, hogy az emberi szervezet ellenanyagokat fejleszt az egéreredetű ellenanyag ellen, (human anti-mouse antibody, HAMA, illetve anti-drug antibody, ADA), ami az esetek jelentős részében megghiúsította a terápiát.

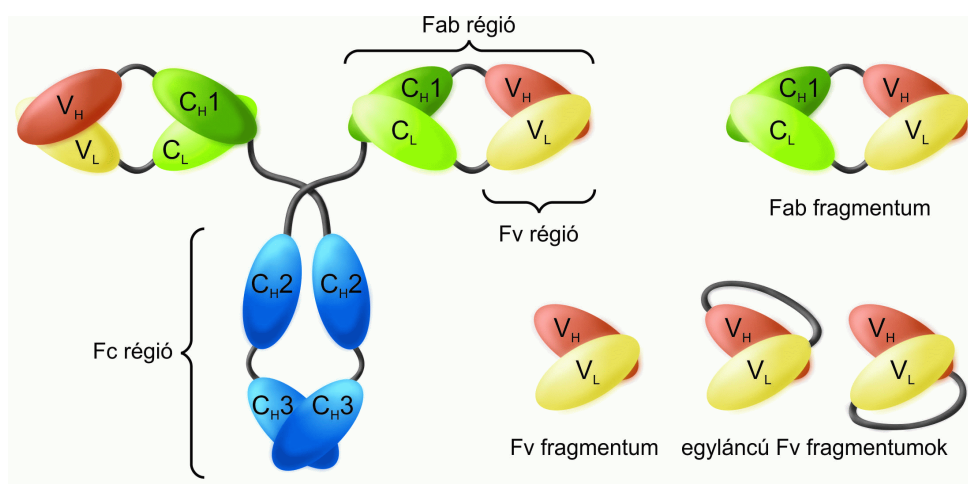
A probléma első megoldásaként kiméra ellenanyagokkal próbálkoztak: az egéreredetű ellenanyag antigénfelismerésért felelős, könnyű és nehézlánc szakaszokból álló variábilis doménjét beillesztették emberi ellenanyagba az emberi variábilis domén helyére. Bár így az egéreredetű idegen részek mennyisége csökkent, ez sem jelentett igazi áttörést.

Milstein vázolta gyakorlott fehérjemérnök kollégája, Winter számára a problémát. Winter egy, a kor technológiája által már éppen megvalósítható, radikális ötlettel állt elő: az egéreredetű antigénfelismerő hurkokat kódoló DNS részeket kell beültetni egy emberi ellenanyag génjébe, lecserélve az ott lévő hurok-kódoló szakaszokat. Fehérjemérnökként Winter abból indult ki, hogy az emberi és egéreredetű ellenanyagok homológ molekulák, és némi szerencsével a hurkok a közeli rokon vázszerkezetbe átültetve megőrzik eredeti konformációjukat, és így a kötési tulajdonság átmenthető az emberi fehérjére. Mint kiderült, egyes esetekben ez valóban jól működött. Az eljárást elnevezték ellenanyag humanizálásnak [5-7]. Ugyanakkor az esetek nagyobbik részében a humanizálás lényeges affinitáscsökkenéssel járt, és egyáltalán nem volt triviális kérdés, hogy utólagos, irányított mutagenézissel miként lehetne visszanyerni az elvesztett kötéseerősséget.

Csakhogy épp ekkorra vált publikussá George Smith fágbemutatás eljárása. Winter azonnal felismerte, hogy ez az irányított evolúciós eljárás megoldást

jelenthet, amennyiben az affinitáscsökkent humanizált ellenanyagokat fágon tovább lehetne evolváltni. Az ellenanyag túl nagy a fágbemutatáshoz, de Winter megoldotta, hogy kisebb, teljes felismerőfunkcióval rendelkező fragmentumokat juttasson a fágfelszínre [8, 9]. Ilyen az antigénkötő fragmentum (Fab) és az egyláncú variábilis fragmentum (scFv).

Winter azonban ennél is tovább ment: rájött, hogy maga a hibridóma technológia, és ezzel a humanizálás is elhagyható lehet, ha például emberi vérben lévő B-sejtekből, az éppen publikussá vált PCR eljárással, kiemelik a variábilis fragmentumokat kódoló génszakaszokat. Ezeket utána fágon meg lehet jeleníteni, és az így kapott könyvtárból ki lehet szelektálni a kívánt antigén ellen a megfelelő kötőmolekulákat, amiket utána irányított fehérjeevolúcióval tovább lehet evolváltni [10-12].

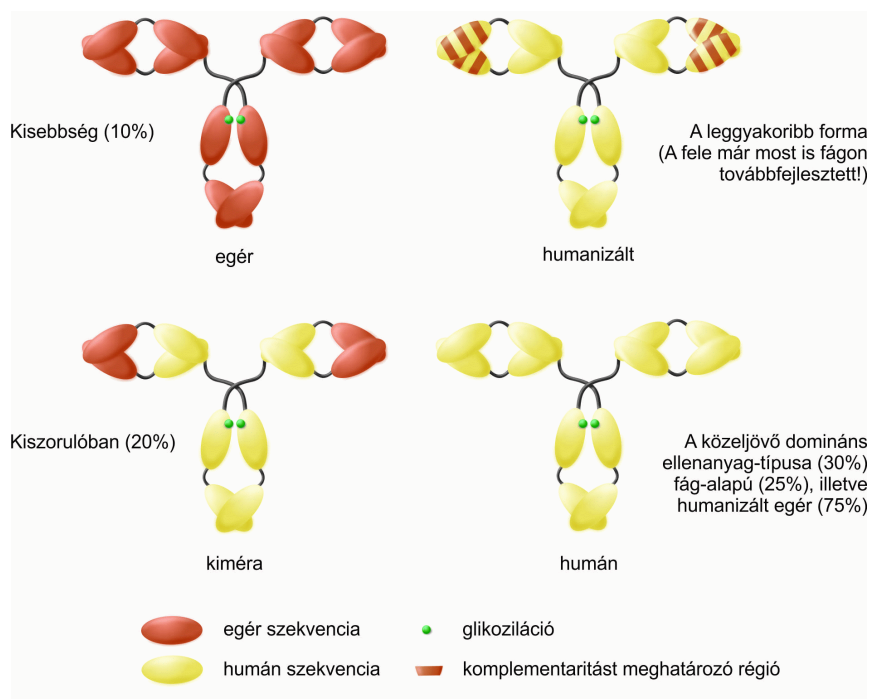


**3. ábra. Az ellenanyagok, és a fágon is megjeleníthető, antigénkötő tulajdonságú ellenanyag-fragmentumok alapszerkezete.** (Engedéllyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

„Szintetikus” fágkönyvtár alapú ellenanyagfejlesztési ötlete azonban még ezen is túlmutatott. Felismerte, hogy amikor antigénfelismerő hurkokat fejleszt, szabadon eltérhet a természetben fellelhető szekvenciáktól, azaz bármilyen hurkokat evolválhat irányított mutagenézissel [13].

A hibridóma technológiának egyetlen jól megragadható előnye van az irányított

evolúciós módszerekkel szemben: a keletkező ellenanyagok megméretődnek egy emlős szervezetben, így csökken az esélye annak, hogy súlyosan toxikusak lesznek emberben. Másfelől számos hátránnyal kell számolnunk.



**4. ábra. A fő, terápiás ellenanyag típusok.** A terápiás ellenanyagok fejlesztése során, az immunogenitás elkerülése érdekében, igyekeznek a nem humán eredetű részek arányát minimalizálni. (Engedéllyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

A kutató sem a kiindulási ellenanyagdiverzitást, sem a szelekciós folyamatot nem tudja érdemben befolyásolni. A szerencsén múlik, hogy az élőlényben keletkező ellenanyagok épp a célpont blokkolandó felszínére kötődnek-e, affinitásuk, specificitásuk megfelelő-e. Az élőlény egy „fekete doboz”. További hátrány, hogy immunizálásra nem használható súlyosan mérgező, vagy az állati szervezetben átalakuló antigén, de olyan sem, amely az immunizálandó élőlényben már eleve jelen van (akár teljes egészében, akár a blokkolandó epitópja tekintetében), és ezért beadása nem vált ki immunválaszt. Ugyanakkor a Smith és Winter eredményei által kifejlesztett irányított, *in vitro* fehérjeevolúció ezekben az esetekben is megoldásra vezethet.

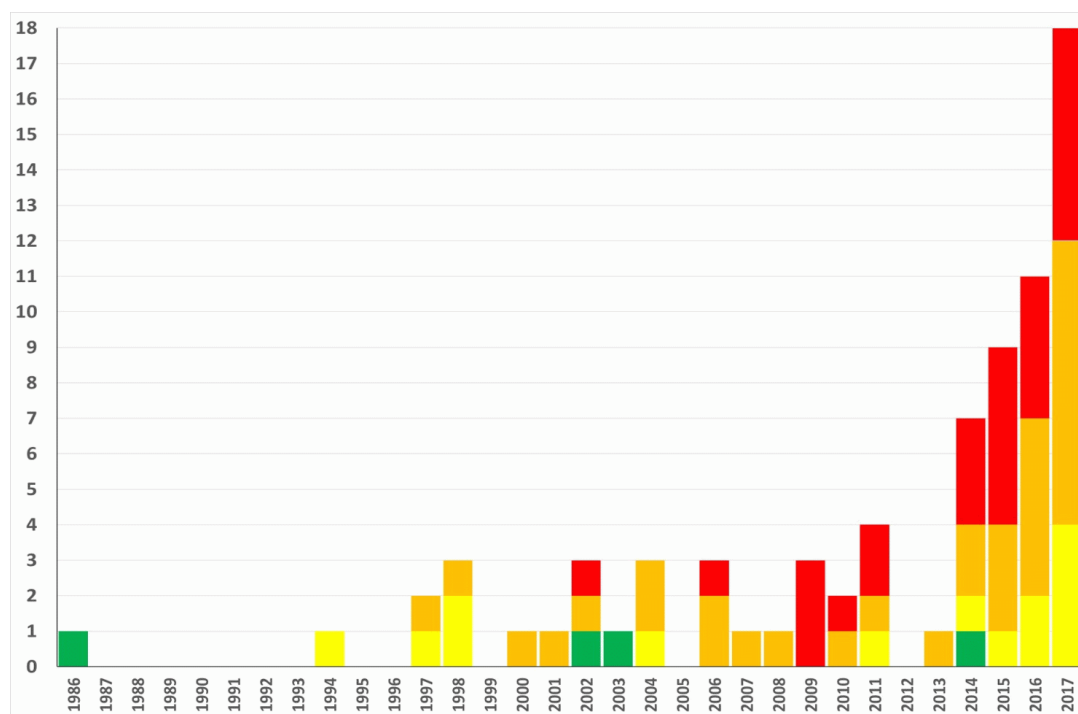
Winter nemcsak zseniális kutató, hanem rendkívül tehetséges üzletember is.

Mielőtt közölte volna a humanizálással és az ellenanyag-fragmentum fágbemutatással kapcsolatos eredményeit, előtte szabadalmaztatta ezeket az ötleteket, eljárásokat. Ezzel összefüggésben 1989-ben megalapította a Cambridge Antibody Technology céget annak érdekében, hogy a szabadalommal védett technológiákkal terápiás monoklonális ellenanyagokat fejlesszenek. Az első humanizált ellenanyag, amit az MRC LMB és a Cambridge-i Egyetem kutatói közösen fejlesztettek ki, a Campath (Alemtuzumab), ami az érett limfociták CD52 fehérjéjére specifikus, és amit különböző márkaneveken engedélyeztek krónikus limfoid leukémia, T-sejtes limfóma, bőr eredetű T-sejtes limfóma és újabban szklerózis multiplex terápiájára. Az első teljesen emberi eredetű ellenanyag, a Humira, a Cambridge Antibody Technology cég lobogója alatt került kifejlesztésre, és 2003-ban engedélyezték reumás ízületi gyulladás kezelésére.

Jelenleg kétféle módon állítanak elő teljesen humán terápiás ellenanyagot. Az egyik Winter forradalmian új eljárása, míg a másik a hibridóma technológia továbbfejlesztésén alapul. Utóbbi Michael Neuberger nevéhez fűződik, aki szintén a MRC LMB kutatójaként helyettesítette az egér saját ellenanyag-génkészletét a megfelelő emberi génszakaszokkal [14, 15]. Bár az így „humanizált” egér humán szekvencia-szakaszokból építkezik, a génszakaszok kombinatorikus összerendezését és az összeszerelődött gén további mutációit nem humán, hanem egérereditű enzimek irányítják. Az építőkövek tehát már emberi eredetűek, de mivel más a tervrajz és az építőmester, az építmény is kissé eltérő lehet, azaz nem feltétlenül keletkeznek tökéletesen ugyanolyan ellenanyagok egérben, mint emberben. Emellett ez az eljárás is hordozza a hibridóma technológiával kapcsolatban már említett korlátokat. Mivel az előnyök és a hátrányok a két megközelítésben kiegészítő jellegűek, mindkét eljárást sikerrel alkalmazzák humán terápiás monoklonális ellenanyagok előállítására. A monoklonális ellenanyag-alapú terápia dinamikusan fejlődő irányzat. Az utóbbi években meglódult az engedélyezett új gyógyszerek száma, és ez az irányvonat várhatóan folytatódik.

A kismolekulás gyógyszerekkel összevetve a monoklonális ellenanyagok

kifejlesztési és előállítási költsége magas, ezért drága eljárásokról van szó. Ennek megfelelően ezeket a gyógyszereket elsősorban a közvetlen életveszélyt jelentő, vagy életminőséget súlyosan rontó tumoros, illetve autoimmun betegségek ellen fejlesztik, és csak akkor vetik be, amikor a kevésbé költséges eljárások nem bizonyulnak sikeresnek, vagy az adott beteg esetében nem alkalmazhatók.



**5. ábra. Az USA-ban engedélyezett terápiás monoklonális ellenanyagok száma éves és típusok szerinti bontásban.** (Engedéllyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

Összefoglalva, George Smith korszakalkotó ötletét és eljárását, amely a fehérjeevolúciót az emberiség számára irányítható folyamattá tette, Gregory Winter rendkívül hatékonyan alkalmazta az ellenanyagok körére. A humán gyógyászatban ritkán alkalmazható, állati eredetű ellenanyagokon túllépve olyan eljárásokat fejlesztett, amikkel kimagasló hatékonysággal hozhatók létre humanizált ellenanyag-alapú, vagy teljesen humán eredetű terápiás ellenanyagok akár halálos mérgek, szervezetben lebomló, vagy éppenséggel nem immunogén anyagok ellen is.

**Frances Arnold** munkásságát két okból ismerték el Nobel-díjjal: egyrészt ő volt



az első, aki egy enzimen végzett irányított evolúciós kísérletet, másrészt az utóbbi két évtizedben tett megfigyeléseinek és technológiai fejlesztéseinek köszönhetően ma rutinszerűen tudunk új enzimeket létrehozni a laboratóriumban evolúciós megközelítéssel. A technológia jelentősége óriási. Egyrészt azért, mert „mérnöki” módszerekkel a mai napig nem tudunk működő enzimeket tervezni, másrészt pedig azért, mert az enzimek izgalmas, „zöld” alternatívát jelentenek az iparban alkalmazott szintetikus kémiai eljárások kiváltására. Csakhogy, a természetben fellelhető enzimváltozatok az élő rendszerekben katalizálандó, természetes reakciók felgyorsítására jöttek létre, így leginkább természetes körülmények között képesek jól működni. Ebből következik, hogy a természetben nem fellelhető ipari folyamatok túlnyomó részét – legyen az vegyipari, orvosi vagy éppen élelmiszeripari átalakítási művelet – nem tudjuk természetes enzimekkel helyettesíteni.

Frances Arnold a Kaliforniai Műszaki Egyetem (California Institute of Technology) fiatal professzoraként elsők között ismerte fel az 1980-as évek végén, hogy ha nem lehetséges egy enzim tulajdonságait az íróasztal mellől, tervezett módon megváltoztatni, akkor a természetben lejátszódó folyamatot kell utánozni a laboratóriumban. Az anyatermészet ugyanis a molekuláris mechanizmusok ismerete nélkül is sikeresen hozta létre enzimek sokaságát az elmúlt évmilliárdok alatt. A Nobel-díj indoklásában is kiemelt kísérlete során, amelyet 1993-ban publikált, a mai mosóporokban is megtalálható szubtilizin nevű enzimen végezte el a világ első irányított enzimevolúciós kísérletét [16]. E kísérlet során hibára hajlamosított PCR-technikával véletlenszerűen vitt be mutációkat a fehérjét kódoló gén teljes hossza mentén, majd olyan enzimvariánsokra szűrt, amik jobban működtek egy szintetikus oldószer jelenlétében. Három ciklusnyi mutagenézis és hatásszűrés eredményeként egy olyan fehérjeváltozatot talált, amely nagy oldószerkoncentráció mellett is megfelelően működött. A felfedezés jelentősége – ahogy azt a tudományos elismerés indoklásában is hangsúlyozzák –, hogy semmilyen más mai módszerrel nem lehetett volna megmondani, hogy a felfedezett három mutáció szükséges az enzim ilyen minőségi megváltoztatásához.

Az első kísérlet óta eltelt két évtizedben hatalmasat fejlődött a technika, mind technológiai, mind elméleti szempontból, amiben Frances Arnoldnak úttörő szerepe volt. Ahogy ő maga is nyilatkozta: „az élet – vagyis a biológia világa – a legkiválóbb vegyész, és az evolúció az ő tervezési folyamata”. E gondolat mentén a továbblépéshez a kutatóknak elmerült az evolúcióbiológia tudományában, hogy megfejtse azokat a természetben lévő evolúciós szabályszerűségeket, amelyek lehetővé teszik az enzimek csodálatos mértékű adaptációját az új körülményekhez és új feladatokhoz [17]. A kérdés az volt, milyen módszerekkel érhető el, hogy az előnyös mutációk elég gyakoriak legyenek az enzimvariánsokat tartalmazó génkönyvtárban ahhoz, hogy a természetbeli populációméreteknél sokkal kisebb áteresztőképességű laboratóriumi hatáshűrésű rendszerekkel is megtalálják őket.

Az egyik kulcsfelismerés, ami szükséges feltétele volt annak, hogy enzimeket új aktivitással lássanak el evolúciós megközelítéssel, a következő volt: a mutációk egyszerre befolyásolják az enzimek többféle jellegét, azaz pleiotrop hatásúak. A legtöbb mutáció például befolyásolja a fehérjék stabilitását (leggyakrabban hátrányosan). Ebből a megfigyelésből több fontos stratégia is született. Az egyik, hogy érdemes stabilabb fehérjéket használni kiindulási pontként, vagy a kívánt tulajdonság mellett a stabilitásra is szelektálni, mert a stabilabb fehérje több mutációt tud elviselni, ami nagyobb alkalmazkodóképességet, azaz evolvabilitást jelent [18]. Másként fogalmazva, a stabilitást elősegítő mutációk kompenzálják az aktivitás szempontjából előnyös mutációk egyéb – negatív, pleiotrop – hatásait. Ez a kompenzációs evolúcióként ismert jelenség a természetben is nagy jelentőséggel bír. A másik fontos tanulság, hogy az evolvabilitás maximalizálásához nem érdemes nagyon megnövelni a mutációs nyomást, mert sok mutáció egyidejű bevitele (azaz génenként több mint 2-3 aminosav cseréje) esetén a ritka, előnyös mutációk kívánt hatását elnyomhatják a nemkívánatos, hátrányos mutációk. A legjobb stratégia tehát az, ha minden enzimvariánsban egyszerre egyetlen mutációt engedünk meg, majd hatáshűrését követően ezt a körfolyamatot ismételjük mindaddig, ameddig a kívánt tulajdonságot el nem érjük [19].

Arnold azt is felismerte, hogy a természetben bekövetkező evolúciós „innovációk” ritkán történnek egyetlen nagy lépésben. Inkább a már jelen lévő, de még kis hatékonyságú funkciók kismértékű, fokozatos „javítgatása” a jellemző, ami jól összevág a kis mutációs ráta koncepciójával is. Más szóval, ha egy mesterséges reakciót akarunk egy enzimmel katalizáltatni, keresnünk kell olyan kiindulási pontot (enzimet), ami az adott mesterséges reakcióhoz nagymértékben hasonló természetes folyamatot katalizál. Az elképzelés azért működött fantasztikusan, mert kiderült, hogy az enzimek specificitása nem abszolút [20]. Az enzimek ugyanis az evolvált funkciójuk mellett – kisebb mértékben ugyan, de – sok más reakciót is katalizálnak, amelyek a fő funkció mellékreakcióiként foghatók fel. A jelenség oka nem más, mint a molekulák közötti nagymértékű hasonlóság. Ezt a jelenséget enzim-promiszkuitásnak nevezik, és egyre valószínűbbnek tűnik, hogy az enzimek jellemzően inkább promiszkusok, mint nem [21]. Ezekre a katalitikus potenciálokra tud hatni a szelekció a természetben: egy promiszkus enzimfunkció könnyen felerősíthető pontmutációkkal, akár több nagyságrenddel is, így az új funkció fokozatos javításával tényleges funkcióváltás érhető el.

Arnold az első teljes katalitikus funkcióváltást a citokróm-P450 enzimen demonstrálta. Ez az enzim eredetileg a hosszú szénláncú zsírsavak hidroxilálását végzi, a laboratóriumi evolúció révén azonban propán-monooxygenáz aktivitással ruházták fel [22]. A munka érdekessége, hogy a vad típusú enzim semmilyen katalitikus aktivitást nem mutatott a rövid szénláncú zsírsav-szubsztráton, ezért a szelekció első ciklusait egy köztes hosszúságú alkánon (oktán) végezték. Erre mutatott az enzimfehérje promiszkus aktivitást, és miközben a köztes szubsztráton javult a hatékonyság, az ötödik evolúciós ciklust követően már a propánon is mérhetővé vált az enzimaktivitás. A munka másik érdekessége, hogy a 13 ciklusból álló mutáció és szelekció során a hatékonyság fokozatosan javult – összesen 4 nagyságrendnyit –, viszont a kísérlet felénél stabilitásra is szelektálni kellett, hogy az adaptáció folytatódhasson.

E koncepcionális vívmányoknak köszönhetően Frances Arnold máig számtalan,

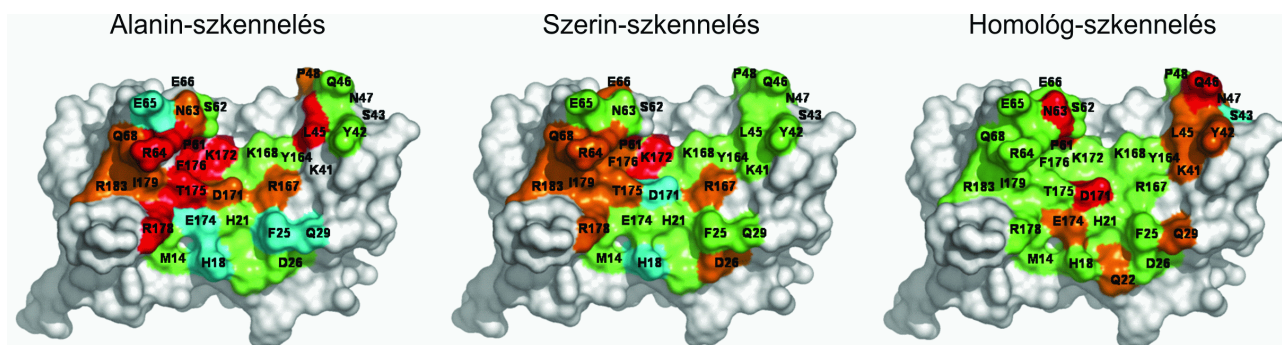
új aktivitással bíró enzimet hozott létre mesterségesen. Ma már olyan enzimeket evolvál, amelyek a természetben elő nem forduló kémiai kötések hoznak létre. Így például 2016-ban kutatócsoportjával egy olyan enzim előállítását publikálta, amely a szén és a szilícium közötti kovalens kötés katalízisét gyorsítja fel [23]. Ilyen kötések különböző ipari termékek (pl. festékek, kozmetikai szerek) tartalmazzanak. A hagyományos vegyipari folyamat során e célra drága platinakatalizátorokat használnak – ennek kiváltására lennének alkalmasak a környezetbarát módon előállított enzimek. Ez azonban csak egy kiragadott példa a számtalan alkalmazási lehetőség köréből, ahol a Nobel-díjjal kitüntetett tudós által létrehozott mesterséges enzimek felhasználást nyerhetnek, lévén a laboratóriumban előállított enzim molekulák között bioüzemanyag-előállításra vagy éppen gyógyszermolekulák szintézisére készített enzimeket egyaránt találunk. Így összességében elmondhatjuk, hogy Frances Arnold munkásságának köszönhetően ma már az enzimek szintjén végezhetünk „nemesítési folyamatot”, megszelídítve az evolúciót, amely jelentős előnyöket hordoz az emberiség számára. Ezzel a képességgel új molekulákat állíthatunk elő, a mai vegyipari eljárásokhoz képest jóval környezetkímélőbb módon.

## Saját munkásságunk áttekintő bemutatása

### Pál Gábor

Az irányított evolúció koncepcióját 20 éve, posztdoktorként ismertem meg a Genentech cég Department of Protein Engineering részlegében, ami két kutató együttműködésének köszönhetően az MRC LMB mellett a fehérjemérnökség másik bölcsője volt. Vezetője, Anthony Kossiakoff, a szerkezetkutatás, míg Jim Wells a funkcióvizsgálatok nagymestereként átütő eredményeket értek el többek közt a növekedési hormon hatásmechanizmusának feltárása és különleges proteázok kifejlesztése terén. Smith fágbemutató módszerét azonnal bevezették technológiai arzenáljukba, és többek közt egy fiatal kutató, Sachdev Sidhu csatlakozásának köszönhetően alkalmassá tették nagyobb fehérjék evolválására. Tudományos pályám meghatározó eleme, hogy az irányított evolúció elméletét és minden technikai részletre kitérő gyakorlatát közvetlenül Sachdev Sidhutól sajátíthattam el, miközben újfajta megközelítéseket fejlesztettünk ki.

A Genentechben vezették be a klasszikus, egyenkénti aminosavcserén alapuló pásztázó alanin-mutagenézist, amivel több, mint egy év alatt sikerült feltárniuk a növekedési hormon receptorkötő felszínén mind a 35 aminosavoldallánc energetikai szerepét. Kiderült, hogy a legfontosabb pozíciók kis, összefüggő területen csoportosulnak, ami alapján bevezették a köztudatba a kötési energia „hot spot” koncepciót [24-26]. Ennek kapcsán felmerült, nem torzítja-e a képet, hogy az alanin apoláros aminosav. Ennek megválaszolására egy, a Genentechben kifejlesztett irányított evolúciós megközelítést, a „sörétes” pásztázó alanin-mutagenézist [27] alkalmazva mind a 35 aminosavpozíciót egyszerre változtattuk meg bináris módon [28]. A vad típusú (vt) aminosav mellett 1:1 kiindulási arányban könyvtártól függően, vagy az alanin vagy a szerin (a legkisebb poláros aminosav) vagy a vad típusúhoz szerkezetileg leghasonlóbb (homológ) aminosavat engedték meg. Nagyszámú receptorkötő klón minden randomizált pozíciójában meghatároztuk, hogyan módosítja a szelekció a kiindulási vt/mutáns arányt. Bizonyítottuk, hogy a sörétes pásztázó mutagenézis és fágbemutatás kombinálásával 2-3 hét alatt fel lehet tárni hatalmas kötőfelszínek minden oldalláncának energetikai vagy specifitásában betöltött szerepét.



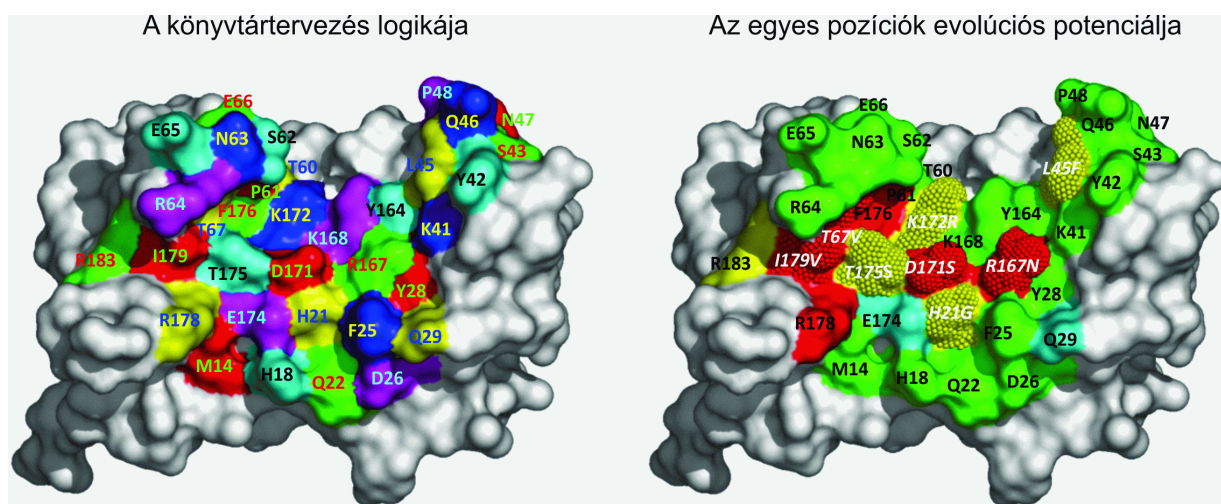
**6. ábra. Az emberi növekedési hormon receptorkötő felszínének jellemzése bináris pásztázó mutagenézissel.** A vad típusú aminosav lecserélésének kötésienergiát csökkentő hatása a kék, zöld, narancs és piros színek sorrendjében egyre nagyobb (Engedélyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

A szerin- és alanin-mutagenézis összevetésével igazoltuk, hogy az alanin apoláros jellege nem torzítja lényegesen az eredményeket [28]. Az így kapott adatsereg arra is alkalmasnak bizonyult, hogy feltárjuk a receptorkötő felszín egyes pozícióinak kooperatív energetikai viszonyát [29], vagy épp arra, hogy a



növekedési hormon fágbemutatással szub-pikomoláris affinitásúvá evolált kötőhelyén is feltárjuk az egyes aminosavak energetikai szerepét [30].

Egy különleges könyvtártervezési stratégiát kidolgozva a növekedési hormon receptorkötő felszínének mind a 35 pozíciójára megállapítottuk, a 20 aminosav közül melyiket, és milyen mértékben preferálja, azaz feltártuk ezek evolúciós potenciálját. Ezek ismeretében előre tervezett affinitású variánsokat hoztunk létre [31]. A Journal of Biological Chemistry a közleményt a hét cikkévé választotta, az Amerikai Biokémiai és Molekuláris Biológiai Egyesület (ASBMB) pedig külön kiadványban emlékezett meg róla.

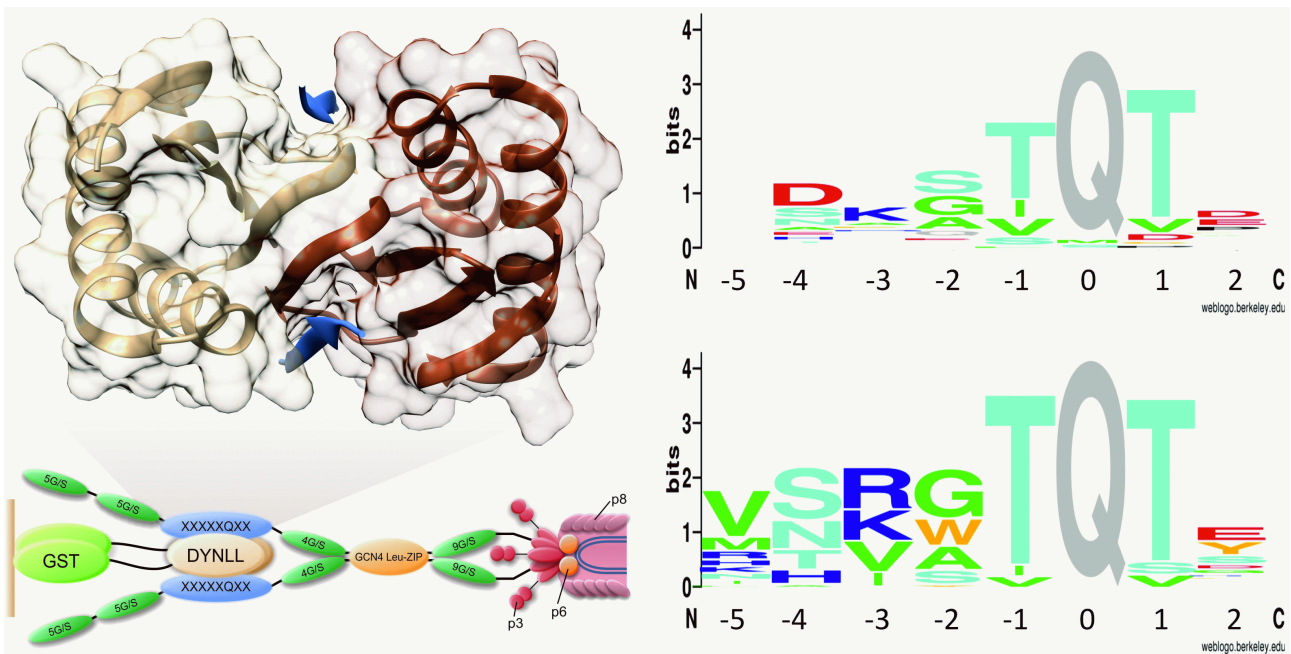


**7. ábra. Az emberi növekedési hormon receptorkötő felszínének átfogó jellemzése.** A baloldali képen a 6-féle szín egy-egy könyvtárt jelent. Minden könyvtár csak egyetlen energetikailag kitüntetett szerepű pozíciót tartalmaz. Az egy könyvtárba tartozó, egyidejűleg randomizált csoportok a lehető legtávolabb helyezkednek el egymástól. A jobboldali képen a kék, zöld, sárga és piros színek egyre növekvő konzerválódást, azaz evolúciós potenciált jeleznek. Az „érdes” felszín olyan pozíciókat jelez, ahol a 20-féle aminosav közül az eredeti vad típus helyett más aminosav evolválódik. A fehér felirat jelzi az irányított evolúció által feltárt új megoldást. (Engedéllyel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

Az ELTE Biokémiai Tanszékére 2003-ban visszatérve meghonosítottam az irányított fehérjeevolúciót, és részben doktoranduszok témavezetése, részben egy új PhD-kurszus elindítása által igyekszem ezt a tudást mind szélesebb körben átadni a következő nemzedéknek. Az evolúciós szemlélettel olyan új modelleket kezdtünk el tanulmányozni, mint a lineáris epitópokon keresztül megvalósuló

molekuláris felismerés, vagy a reverzibilis szerin proteáz inhibitorok kölcsönhatása a gátolt enzimmel.

Az LC8 dinein könnyűlánc egy konzervált, eukarióta homodimer fehérje, amit tanszékünkön Nyitray László kezdett el vizsgálni. Bár a fehérjét először a dinein motorfehérje egyik könnyűláncaként írták le, kiderült, hogy több tucat fehérjéhez kötődik. A homodimer két párhuzamos, azonos szerkezetű árkot képez, amivel egyszerre két lineáris epitópot képes kötni.

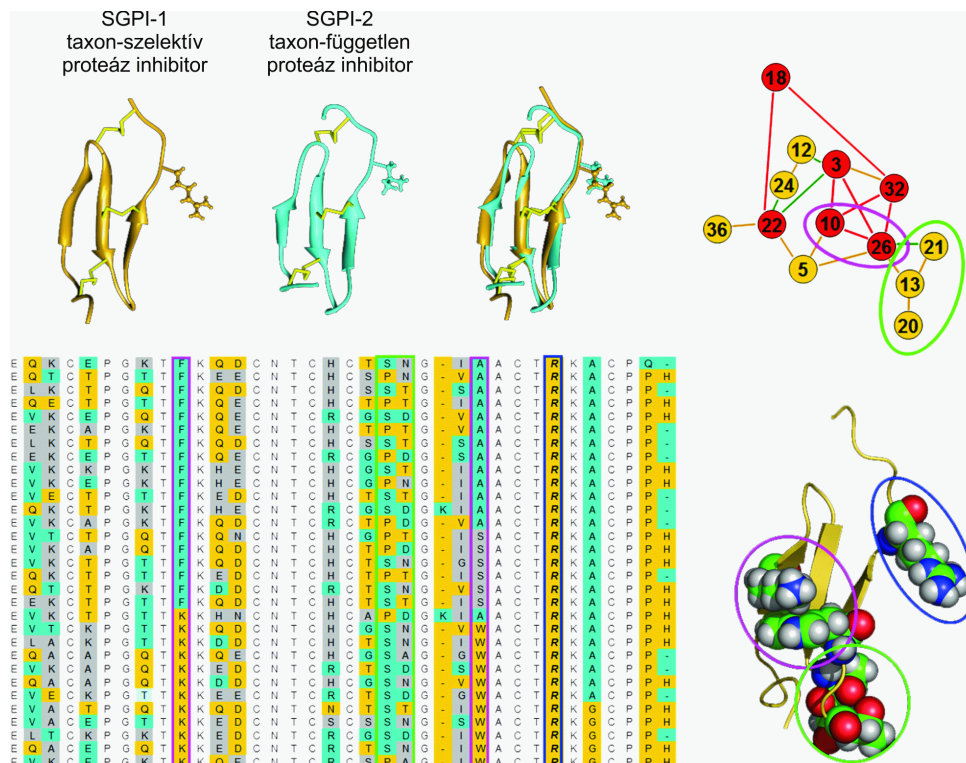


**8. ábra. Az LC8 fehérje felismerőhelyének jellemzése a szelektált partnerek szekvenciamintázatával.** A bal felső szerkezeti ábrán a dimer LC8 két azonos kötőárka 1-1 lineáris peptidet köt. A bal alsó ábra mutatja, hogyan sikerült dimer formában immobilizált LC8 fehérjével szemben szelektálni, a fágon dimer formában megjelenített peptideket. A jobb felső ábra a természetes, míg a jobb alsó ábra az irányított evolúcióval létrejött LC8 kötőpeptidek szekvenciamintázatát mutatja. (Engedélytel: Kintses B, Pál G: Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

Az LC8-at ma már csomóponti fehérjének tartják, amely egyfajta kapocsként elősegíti más fehérjék dimerizálását, és ami szabályzó szereppel bír pl. a sejtmagi transzport, a transzkripció, a mitózis, és az apoptózis folyamataiban. Elindítottunk egy együttműködést az LC8 ligandumkötő preferenciájának feltárására, amiben a munka javát közös doktoranduszunk, Rapali Péter végezte. Miután sikerült egy



random peptid-könyvtárat homodimer formában megjeleníteni fágon, a könyvtárból LC8-kötő klónokat szelektált, és meghatározta, hogy a kötőárok a lineáris epitóp egyes pozícióiban milyen aminosavakat preferál. Az eredményt összevetve a természetből ismert epitópokkal kiderült, hogy az alapvető egyezések mellett vannak érdekes eltérések is. Ilyen pl. az, hogy a fágszelekció az epitóp egyik szélén egy olyan kötőhelyet is feltárt, amit a természet csak ritkán használ. Az irányított evolúcióval kapott konszenzusnak megfelelő peptid ezzel összhangban, legalább 20-szor erősebben kötődött az LC8 fehérjéhez, mint az addig megismert legnagyobb affinitású természetes ligandum. A fág-evolvált szekvenciasereg alapján készített pontozómátrixszal a teljes humán intracelluláris proteomot átfésültük lehetséges LC8-kötő fehérjéket keresve. A többszáz találat közt egyetlen olyan is akadt, ami magát a 8-tagú fágszelektált konszenzus szekvenciát tartalmazta. Erről a mitózis folyamatában részt vevő, EML3 nevű fehérjéről addig nem írták le, hogy LC8-kötőpartner lenne, mi azonban igazoltuk, hogy éppenséggel a legerősebb LC8-kötő fehérje. Azóta számos általunk előre jelzett fehérjéről igazolták, hogy LC8-kötőpartner [32, 33].



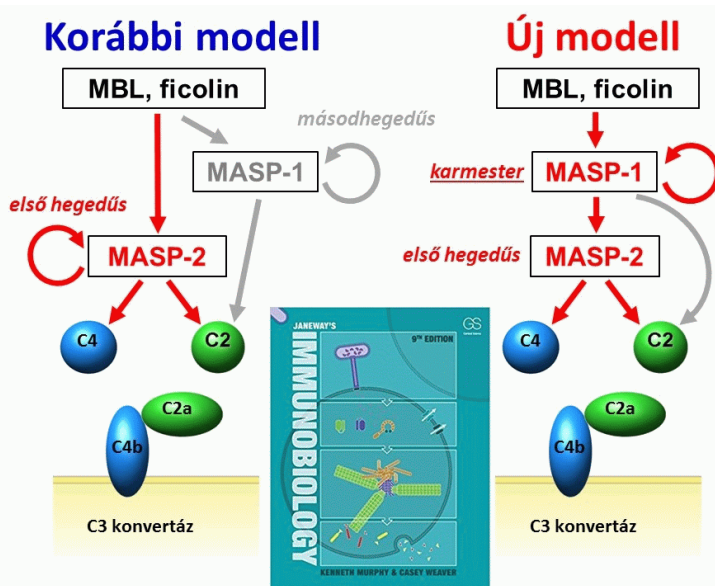
**9. ábra. A Pacifastin inhibitorok két alcsaládjának eltérő proteáz-szelektivitását a hidrofób mag és egy felszíni hajtú kombinációja szabja meg.** (Engedéllyel: Kintses B, Pál G; Irányított evolúciós módszerek. In: Budai L, Nyitray L, Perczel A (szerk.): Ezerarcú fehérjék. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2018; 585–642.)

A reverzibilis szerin proteáz inhibitorok témakörében cáfoltuk az eddig elfogadott működési modellt, ami szerint a kanonikus proteáz-kötő hurok autonóm módon határozná meg az inhibitor affinitását és specifitását. Azt találtuk, hogy a kölcsönhatást és az optimális hurokszekvenciát nagyban befolyásolja a hurkot hordozó váz, amiből a természetben legalább 18 eltérő típus (család) jött létre konvergens evolúcióval. Az egyik ilyen a Pacifastin család, amelynek vizsgálatát Gráf László kezdte el a tanszéken. A család funkcionális tulajdonságok tekintetében két alcsaládra bomlik, az egyik képes emlős tripszin gátlásra, a másik nem. Egyedi mutációkkal nem sikerült feltárni az eltérés okát. Szenthe Borbála doktori kutatási témája lett a rejtély irányított evolúciós megválaszolása. A két altípus egy-egy fehérjéjéből előállította az összes lehetséges kimérát (kb. negyedmillió klónt tartalmazó könyvtár).

A szelektált klónszekvenciák bioinformatikai elemzése feltárta, hogy az alcsaládokra jellemző eltérés független a kanonikus huroktól, azt a közös vázszerkezeten belüli, altípusonként egyedileg eltérő intramolekuláris kapcsolatok okozzák [34].

Proteáz inhibitorokkal kapcsolatos az a kutatás is, amit Gál Péterrel (MTA TTK), a komplementrendszer elismert kutatójával folytatunk idestova 15 éve. Együttműködésünk kezdetén az volt az elfogadott nézet, hogy a komplementrendszer három útvonala, a klasszikus, az alternatív és a lektin út egymástól függetlenül aktiválódik. Az ősi antimikrobiális védelmet nyújtó lektin úton három proteáz működik, a MASP-1, MASP-2 és MASP-3. Kutatásunk kezdetén sziklaszilárd ismeret volt, hogy a MASP-2 az egyedüli kulcsenzim, a MASP-1 mellékszereplőként besegít, míg a MASP-3-nak nincs aktiváló szerepe. A MASP-enzimek szerepének feltárása érdekében, egy többéves projektben, különböző inhibitor vázakon, irányított evolúcióval kifejlesztettük a világ első MASP-gátlóit, és egyben első szelektív lektin út inhibitorait. Elsősorban Kocsis Andrea és Héja Dávid munkája nyomán kiderült, hogy nem csak a MASP-2 inhibitor okoz totális lektin út gátlást, hanem a MASP-1 inhibitor is [35, 36]. A

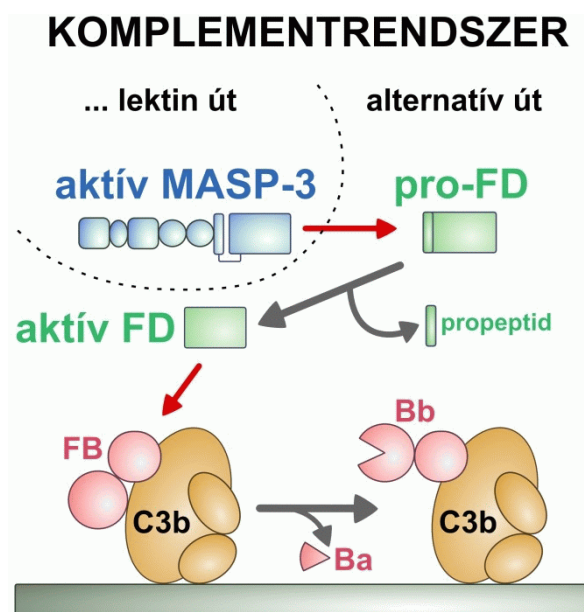
lektin út aktiváció akkori tankönyvi modellje tehát alapjaiban hibás volt. Számos kiegészítő kísérlet alapján új modellt alkottunk. Megállapítottuk, hogy a korábbi állításokkal ellentétben a MASP-2 *in vivo* képtelen önaktivációra, és a MASP-2 kizárólagos aktivátora a MASP-1 [37]. Ez az eredmény komoly visszhangot váltott ki, mára már a világ legnépszerűbb immunológiai tankönyvében, a Janeway's Immunobiology 9. kiadásában is az új modellünk szerepel.



**10. ábra.** A lektin út aktiváció korábbi hibás, és általunk javított új modellje, mely utóbbi a Janeway's Immunobiology 9. kiadásában is szerepel. (Saját ábra.)

A MASP-3 inhibitor kifejlesztésének feladatát doktorandusz hallgatóm, Szakács Dávid kapta. A projekt első fele sikerrel járt, a MASP-3 inhibitor azonban semmilyen komplementrendszer-vizsgáló tesztben nem mutatott hatást. Ezzel párhuzamosan Gál Péter csoportjában Dobó József kezdeményezésére, Oroszlán Gábor doktori témájaként egy látszólag független kísérletsorozat zajlott, melyben a faktor D (FD) aktivátorát keresték. A FD a komplementrendszer alternatív útjának legmagasabb szintű aktivátora, ami zimogén formában termelődik, de rendhagyó módon, processzált állapotban kering a vérben. Negyvenéves rejtély volt, hogy mi végzi a pro-FD processzálasát. Dobó József kifejlesztett egy rendszert, amivel vizsgálni lehetett, hogy a humán vérben van-e pro-FD aktiváló enzim. Kiderült, hogy van, de sem az általunk addig kifejlesztett, sem más beszerezhető inhibitorokkal nem sikerült azonosítani az aktiváló enzimet [38].

Ekkor kipróbáltuk a vadonatúj MASP-3 inhibitor, ami tökéletesen gátolta a tesztelt funkciót. Ezzel igazoltuk, hogy nyugvó (sem alvadási, sem gyulladási folyamat által nem érintett) vérben a MASP-3 a pro-FD kizárólagos inhibitora. Ez egyben azt is igazolta, hogy az alternatív út aktivációja gyökerestül össze van kapcsolva a lektin út aktivációjával. Az eredményt 2016-ban a Scientific Reports lapban közzétettük [39].



**11. ábra. A faktor-D (FD) aktiváció általunk igazolt új modellje.** Kimutattuk, hogy nyugvó emberi vérben kizárólag a lektin úthoz sorolt MASP-3 aktiválja az alternatív út legfelső aktivátorának ismert FD előalakját, a pro-FD-t. Ezzel bizonyítottuk, hogy a két, függetlennek hitt komplement útvonal valójában a legmélyebb szinten, gyökeresen kapcsolt. (Saját ábra.)

Mivel mind a lektin út, mind az alternatív út szerepe igazolt több súlyos betegség esetében, az inhibitorok új terápiás eljárások kiindulási anyagai lehetnek.

## Kintses Bálint

Jómagam az irányított evolúciós megközelítés részleteiről először Pál Gábortól, e cikk társszerzőjétől hallottam egy általa tartott PhD-kurzuson, és rögtön magával ragadott a terület érdekessége. Feltűnt, hogy a fágbemutató technika jóval nagyobb áteresztőképességű, mint az enzimeken végzett irányított evolúciós kísérletek. A nagyobb áteresztőképesség egyértelműen arra a tényre vezethető vissza, hogy a fágbemutató technikájának köszönhetően egyetlen reakcióterben is lehet hatalmas génkönyvtárakat szelektálni, míg enzimeknél ez

a megközelítés nem működik. Az enzimvariánsokat tartalmazó génkönyvtárból a sikeresebb enzimvariánsok elválasztása csak úgy lehetséges, ha az egyes könyvtáragokat egymástól térben elkülönítjük a reakció tesztelésekor. Ez viszont egy nehézkes és drága folyamat, ami milliós vagy milliárdos könyvtárméret mellett nagy fejtörést okoz az enzimeket fejlesztő vállalatoknak.

A problémára egy Cambridge-i kutatóközösség próbált megoldást találni egy új keletű miniatürizációs megközelítéssel, ami az *in vitro* kompartmentalizációnak nevezett technikát kombinálja mikrofluidikával [40]. A technika lényege, hogy az enzimvariánsok tesztelésére használt reakciótereket pikoliteres mérettartományra csökkentik le, ami az egyedi sejtek méretével összevethető, így elméletük szerint alkalmas arra, hogy akár több tízmilliós enzimkönyvtárak is tesztelhetők legyenek, költséghatékonyan. A megközelítés nagyon megtetszett, ezért az ELTE-n végzett doktori munkám befejeztével jelentkeztem a Cambridge-i Egyetemre, Florián Hollfelder csoportjába, azzal a céllal, hogy szeretnék az általuk alkalmazott megközelítésre épülő, irányított evolúciós kísérletekbe bekapcsolódni. Az állást megkaptam, és 3 évvel később elsőként demonstráltuk, hogy a rendszer az irányított evolúció révén éppúgy képes enzimek gyenge, promiszkuus aktivitásainak feljavítására, mint ahogy Frances Arnold kísérletei [41]. Ugyanakkor a nagyobb könyvtárméret lehetővé teszi, hogy az irányított evolúció folyamata során ciklusonként ne csak egyetlen mutációt vigyünk be a DNS-be, hanem mutációk kombinatorikus inkorporálásával olyan aktivitásokat is megnöveljünk, amit egyedi mutációk nem képesek előidézni.

A nagy áteresztőképesség mellett a technika másik nagy előnye, hogy a parányi reakciótér fogatnak köszönhetően a rendszerben nagy érzékenységgel detektálhatók a gyenge enzimaktivitások. Ebből kiindulva feltételeztük, hogy a technikát nemcsak arra tudjuk majd használni, hogy irányított evolúcióval feljavítsuk enzimek promiszkuus aktivitásait, hanem arra is, hogy környezeti minták vizsgálatával megtaláljuk azokat az enzimeket, amelyek optimális kezdőpontként szolgálhatnak egy-egy ilyen kísérlethez. Ahogy arról korábban

már szóltunk, egy kívánt enzimreakció akkor érhető el evolúciós megközelítéssel, ha találunk olyan kezdőpontot (természetes enzimet), amely kis hatékonysággal ugyan, de valamilyen mértékben képes katalizálni a szóban forgó enzimatikus folyamatot. Felvetődik tehát a kérdés: hol találunk ilyen enzimeket?

Az utóbbi évtizedben elterjedt DNS-szekvenálási technikák segítségével igazolást nyert, hogy a talajban grammonként is annyiféle baktérium él, hogy ezek összességében több millió gént kódolnak. Ekkora diverzitás bőven elég lehet arra, hogy szintetikus reakciók sokaságára találjunk evolúciós kezdőpontokat. A legtöbb baktérium ugyanakkor nem tenyésztethető a laboratóriumban, ezért a bennük lévő enzimek sem nyerhetők ki a hagyományos technikákkal. Jó hír viszont, hogy a *bakteriális közösség* DNS-tartalma – amit metagenomnak nevezünk – kinyerhető ezekből a mintákból. Ha pedig a kinyert metagenomot funkcionálisan kifejezzük egy másik baktériumban heterológ expresszióval, akkor a metagenom kísérletesen vizsgálható – akár promiszkuus enzimaktivitásokra is. Így merült fel bennünk az ötlet, mi lenne, ha a nagy áteresztőképességgel és érzékenységgel felvértezett hatásszűrő rendszerünket metagenomikai könyvtárak tesztelésére használnánk, hogy ily módon irányított evolúciós kezdőpontokat keressünk. Az elképzelés működött: promiszkuus enzimek sokaságát nyertük ki egy szintetikus vegyület lebontására, melyek katalitikus tulajdonságai irányított evolúcióval feljavíthatók [42].

Ezzel párhuzamosan az MTA SZBK-ban Papp Balázssal és Pál Csabával közösen azt vizsgáltuk, hogy ha ismerjük egy baktérium enzimekészlete által kódolt promiszkuus aktivitásokat (vagyis az evolúciós kezdőpontokat), akkor meg tudjuk-e jósolni, hogy az adott baktérium milyen új tápanyagok lebontásához képes alkalmazkodni, azaz milyen evolúciós innovációkat képes létrehozni. A kérdés jelentősége abban áll, hogy ha ez előre jósolható, akkor akár tervezhetően létrehozhatunk olyan baktériumokat, amik egy szintetikus anyag lebontását vagy termelését végzik saját enzimekészletükkel. E vizsgálsorozathoz összegyűjtöttük az összes ismert és általunk felfedezett promiszkuus reakciót,



amit az *Escherichia coli* baktérium kódol, és egy olyan matematikai modellbe foglaltuk, amely elsőként írja le az evolúciós nyersanyagokból felépülő anyagcsere-hálózat működését. Mivel ez a hálózat a sejt fiziológiás anyagcsere-hálózatának háttérében működik, a felszín alatti, vagyis *underground* anyagcsere-hálózat nevet adtuk neki [43, 44].

Ha pedig meg tudjuk mondani, hogy egy baktérium milyen új biokémiai reakciókat képesek katalizálni számunkra, akkor a következő lépésben ezeket a bakteriális genomok által kódolt promiszkuus aktivitásokat is ki tudjuk aknázni, azaz fel tudjuk őket erősíteni egy irányított evolúciós folyamatban, miközben megtartjuk őket saját genomi környezetükben. E cél megvalósításához egy olyan random mutagenesis technológiára volt szükség, amelyet Frances Arnold is használt 1993-ban arra, hogy enzimeket kódoló génszekvenciájuk teljes hossza mentén mutagenizáljon; esetünkben viszont a mutációbeépítési folyamatot nem egy plazmidon kódolt enzimen kell elvégezni, hanem egyenesen a baktérium genomjában. A feladathoz Nyerges Ákos és Pál Csaba vezetésével kifejlesztettünk egy olyan mutagenesis-eljárást, ami ezt lehetővé teszi, és világviszonylatban elsőként demonstráltuk egy bakteriális genomon kódolt fehérje több ciklusban végrehajtott, irányított evolúcióját [45]. A következő lépés, hogy ezt olyan promiszkuus enzimaktivitásokért felelős génekkel tegyük, amikkel új metabolikus lehetőséggel ruházzuk fel a baktériumot.

## Irodalomjegyzék

- [1] Smith, G.P. (1985) Filamentous Fusion Phage - Novel Expression Vectors That Display Cloned Antigens on the Virion Surface. *Science*, **228 (4705)**: 1315-1317.
- [2] Scott, J.K., Smith, G.P. (1990) Searching for peptide ligands with an epitope library. *Science*, **249 (4967)**: 386-90.
- [3] Smith, G., Petrenko, V. (1997) Phage display. *Chem Rev*, **97 (2)**: 391-410.
- [4] Smith, G.P., Scott, J.K. (1993) Libraries of peptides and proteins displayed on filamentous phage. *Methods Enzymol*, **217**: 228-57.



- [5] Jones, P., Dear, P., Foote, J., Neuberger, M., Winter, G. (1986) Replacing the Complementarity-Determining Regions In a Human-Antibody With Those From a Mouse. *Nature*, **321 (6069)**: 522-525.
- [6] Riechmann, L., Clark, M., Waldmann, H., Winter, G. (1988) Reshaping human antibodies for therapy. *Nature*, **332 (6162)**: 323-7.
- [7] Verhoeyen, M., Milstein, C., Winter, G. (1988) Reshaping human antibodies: grafting an antilysozyme activity. *Science*, **239 (4847)**: 1534-6.
- [8] Clackson, T., Hoogenboom, H.R., Griffiths, A.D., Winter, G. (1991) Making Antibody Fragments Using Phage Display Libraries. *Nature*, **352 (6336)**: 624-628.
- [9] McCafferty, J., Griffiths, A.D., Winter, G., Chiswell, D.J. (1990) Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature*, **348 (6301)**: 552-4.
- [10] Hoogenboom, H.R., Winter, G. (1992) By-Passing Immunization - Human-Antibodies from Synthetic Repertoires of Germline Vh Gene Segments Rearranged In vitro. *J Mol Biol*, **227 (2)**: 381-388.
- [11] Marks, J.D., Hoogenboom, H.R., Bonnert, T.P., McCafferty, J., Griffiths, A.D., Winter, G. (1991) By-passing immunization. Human antibodies from V-gene libraries displayed on phage. *J Mol Biol*, **222 (3)**: 581-97.
- [12] Winter, G., Milstein, C. (1991) Man-made antibodies. *Nature*, **349 (6307)**: 293-9.
- [13] Griffiths, A.D., Williams, S.C., Hartley, O., Tomlinson, I.M., Waterhouse, P., Crosby, W.L., Kontermann, R.E., Jones, P.T., Low, N.M., Allison, T.J., et al. (1994) Isolation of high affinity human antibodies directly from large synthetic repertoires. *EMBO J*, **13 (14)**: 3245-60.
- [14] Bruggemann, M., Caskey, H.M., Teale, C., Waldmann, H., Williams, G.T., Surani, M.A., Neuberger, M.S. (1989) A repertoire of monoclonal antibodies with human heavy chains from transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **86 (17)**: 6709-13.

- [15] Wagner, S.D., Williams, G.T., Larson, T., Neuberger, M.S., Kitamura, D., Rajewsky, K., Xian, J., Bruggemann, M. (1994) Antibodies generated from human immunoglobulin miniloci in transgenic mice. *Nucleic Acids Res*, **22 (8)**: 1389-93.
- [16] Chen, K., Arnold, F.H. (1993) Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90 (12)**: 5618-22.
- [17] Arnold, F.H., Wintrode, P.L., Miyazaki, K., Gershenson, A. (2001) How enzymes adapt: lessons from directed evolution. *Trends in Biochemical Sciences*, **26 (2)**: 100-6.
- [18] Bloom, J.D., Labthavikul, S.T., Otey, C.R., Arnold, F.H. (2006) Protein stability promotes evolvability. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103 (15)**: 5869-74.
- [19] Romero, P.A., Arnold, F.H. (2009) Exploring protein fitness landscapes by directed evolution. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, **10 (12)**: 866-76.
- [20] Jensen, R.A. (1976) Enzyme recruitment in evolution of new function. *Annual Review of Microbiology*, **30**: 409-25.
- [21] Khersonsky, O., Tawfik, D.S. (2010) Enzyme promiscuity: a mechanistic and evolutionary perspective. *Annual Review of Biochemistry*, **79**: 471-505.
- [22] Fasan, R., Chen, M.M., Crook, N.C., Arnold, F.H. (2007) Engineered alkane-hydroxylating cytochrome P450(BM3) exhibiting natively-like catalytic properties. *Angewandte Chemie*, **46 (44)**: 8414-8.
- [23] Kan, S.B., Lewis, R.D., Chen, K., Arnold, F.H. (2016) Directed evolution of cytochrome c for carbon-silicon bond formation: Bringing silicon to life. *Science*, **354 (6315)**: 1048-1051.
- [24] Cunningham, B.C., Wells, J.A. (1993) Comparison of a Structural and a Functional Epitope. *J Mol Biol*, **234 (3)**: 554-563.
- [25] Cunningham, B.C., Wells, J.A. (1989) High-Resolution Epitope Mapping of Hgh-Receptor Interactions by Alanine-Scanning Mutagenesis. *Science*, **244 (4908)**: 1081-1085.

- [26] Clackson, T., Wells, J.A. (1995) A Hot-Spot of Binding-Energy in a Hormone-Receptor Interface. *Science*, **267 (5196)**: 383-386.
- [27] Weiss, G.A., Watanabe, C.K., Zhong, A., Goddard, A., Sidhu, S.S. (2000) Rapid mapping of protein functional epitopes by combinatorial alanine scanning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97 (16)**: 8950-4.
- [28] Pal, G., Fong, S.Y., Kossiakoff, A.A., Sidhu, S.S. (2005) Alternative views of functional protein binding epitopes obtained by combinatorial shotgun scanning mutagenesis. *Protein Science*, **14 (9)**: 2405-13.
- [29] Pal, G., Ultsch, M.H., Clark, K.P., Currell, B., Kossiakoff, A.A., Sidhu, S.S. (2005) Intramolecular cooperativity in a protein binding site assessed by combinatorial shotgun scanning mutagenesis. *J Mol Biol*, **347 (3)**: 489-94.
- [30] Pal, G., Kossiakoff, A., Sidhu, S. (2003) The functional binding epitope of a high affinity variant of human growth hormone mapped by shotgun alanine-scanning mutagenesis: Insights into the mechanisms responsible for improved affinity. *J Mol Biol*, **332 (1)**: 195-204.
- [31] Pal, G., Kouadio, J.L., Artis, D.R., Kossiakoff, A.A., Sidhu, S.S. (2006) Comprehensive and quantitative mapping of energy landscapes for protein-protein interactions by rapid combinatorial scanning. *Journal of Biological Chemistry*, **281 (31)**: 22378-85.
- [32] Rapali, P., Szenes, A., Radnai, L., Bakos, A., Pal, G., Nyitray, L. (2011) DYNLL/LC8: a light chain subunit of the dynein motor complex and beyond. *FEBSJournal*, **278 (17)**: 2980-96.
- [33] Rapali, P., Radnai, L., Suveges, D., Harmat, V., Tolgyesi, F., Wahlgren, W.Y., Katona, G., Nyitray, L., Pal, G. (2011) Directed evolution reveals the binding motif preference of the LC8/DYNLL hub protein and predicts large numbers of novel binders in the human proteome. *PloS One*, **6 (4)**: e18818.
- [34] Szenthe, B., Patthy, A., Gaspari, Z., Kekesi, A.K., Graf, L., Pal, G. (2007) When the surface tells what lies beneath: combinatorial phage-display mutagenesis reveals complex networks of surface-core interactions in the pacifastin protease inhibitor family. *J Mol Biol*, **370 (1)**: 63-79.

- [35] Kocsis, A., Kekesi, K., Szasz, R., Vegh, B., Balczer, J., Dobo, J., Zavodszky, P., Gal, P., Pal, G. (2010) Selective Inhibition of the Lectin Pathway of Complement with Phage Display Selected Peptides against Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease (MASP)-1 and-2: Significant Contribution of MASP-1 to Lectin Pathway Activation. *J Immunol*, **185 (7)**: 4169-4178.
- [36] Heja, D., Harmat, V., Fodor, K., Wilmanns, M., Dobo, J., Kekesi, K., Zavodszky, P., Gal, P., Pal, G. (2012) Monospecific Inhibitors Show That Both Mannan-binding Lectin-associated Serine Protease-1 (MASP-1) and-2 Are Essential for Lectin Pathway Activation and Reveal Structural Plasticity of MASP-2. *Journal of Biological Chemistry*, **287 (24)**: 20290-20300.
- [37] Heja, D., Kocsis, A., Dobo, J., Szilagyi, K., Szasz, R., Zavodszky, P., Pal, G., Gal, P. (2012) Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. , **109 (26)**: 10498-10503.
- [38] Oroszlan, G., Kortvely, E., Szakacs, D., Kocsis, A., Dammeier, S., Zeck, A., Ueffing, M., Zavodszky, P., Pal, G., Gal, P., Dobo, J. (2016) MASP-1 and MASP-2 Do Not Activate Pro-Factor D in Resting Human Blood, whereas MASP-3 Is a Potential Activator: Kinetic Analysis Involving Specific MASP-1 and MASP-2 Inhibitors. *J Immunol*, **196 (2)**: 857-865.
- [39] Dobo, J., Szakacs, D., Oroszlan, G., Kortvely, E., Kiss, B., Boros, E., Szasz, R., Zavodszky, P., Gal, P., Pal, G. (2016) MASP-3 is the exclusive pro-factor D activator in resting blood: the lectin and the alternative complement pathways are fundamentally linked. *SCI REP-UK*, **6**.
- [40] Kintses, B., van Vliet, L.D., Devenish, S.R., Hollfelder, F. (2010) Microfluidic droplets: new integrated workflows for biological experiments. *Current Opinion in Chemical Biology*, **14 (5)**: 548-55.
- [41] Kintses, B., Hein, C., Mohamed, M.F., Fischlechner, M., Courtois, F., Laine, C., Hollfelder, F. (2012) Picoliter cell lysate assays in microfluidic droplet compartments for directed enzyme evolution. *Chem Biol*, **19 (8)**: 1001-9.

- [42] Colin, P.Y., Kintses, B., Gielen, F., Miton, C.M., Fischer, G., Mohamed, M.F., Hyvonen, M., Morgavi, D.P., Janssen, D.B., Hollfelder, F. (2015) Ultrahigh-throughput discovery of promiscuous enzymes by picodroplet functional metagenomics. *Nature Communications*, **6**: 10008.
- [43] Notebaart, R.A., Kintses, B., Feist, A.M., Papp, B. (2018) Underground metabolism: network-level perspective and biotechnological potential. *Current Opinion in Biotechnology*, **49**: 108-114.
- [44] Notebaart, R.A., Szappanos, B., Kintses, B., Pal, F., Gyorkei, A., Bogos, B., Lazar, V., Spohn, R., Csorgo, B., Wagner, A., Ruppin, E., Pal, C., Papp, B. (2014) Network-level architecture and the evolutionary potential of underground metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **111 (32)**: 11762-7.
- [45] Nyerges, A., Csorgo, B., Draskovits, G., Kintses, B., Szili, P., Ferenc, G., Revesz, T., Ari, E., Nagy, I., Balint, B., Vasarhelyi, B.M., Bihari, P., Szamel, M., Balogh, D., Papp, H., Kalapis, D., Papp, B., Pal, C. (2018) Directed evolution of multiple genomic loci allows the prediction of antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **115 (25)**: E5726-E5735.



**Pál Gábor** az ELTE Biokémia Tanszékén kezdte pályáját Gráf László csoportjában. Az irányított fehérjeevolúció tudományát a Genentech cégnél sajátította el. A fehérje-kölcsönhatások erősségét, specifitását meghatározó pozíciók feltárására különleges stratégiákat fejlesztett. Új utakat nyitott a természetben nem ismert funkciójú fehérjeváltozatok evolválására. Az ELTE Biokémiai Tanszékén megalapította az Irányított Fehérjeevolúció Kutatócsoportot. Nyitray Lászlóval együttműködve feltárta a metasztázis-kapcsolt S100A4 fehérje ligandumkötő helyének specifitását, és S100A4

gátlókat fejlesztett. Kutatócsoportja Gál Péterrel együttműködve specifikus proteáz inhibitor fehérjéket hozott létre, amelyekkel feltárták a komplementrendszer lektin és alternatív útjainak aktivációs mechanizmusát. Ezzel új lehetőségeket nyitottak többek közt a szívinfarktus és a szélütés terápiájában. A témában több szabadalmat is benyújtottak, melyek hasznosítására spin-off céget hoztak létre. BSc, MSc és PhD szinten egyaránt tart kurzusokat, eddig 27 BSc, illetve MSc, 14 TDK és 6 PhD dolgozat született témavezetésével. Negyven nemzetközi publikációja van, h-indexe 20. Kutatási, innovációs, oktatási és tehetséggondozó eredményeit számos kitüntetéssel (pl. Bolyai-plakett, Magyar Kutatási Díj, Juhász-Nagy Pál Tehetséggondozó Díj, két alkalommal ELTE Innovatív Kutatója Díj, Kar Kiváló Oktatója Díj) ismerték el.



**Kintses Bálint** doktori munkáját az ELTE-n végezte Málnási Csizmadia András laborjában, majd a Cambrdige-i Egyetemre került, ahol nagy átéretté váló képességű hatásszűrő rendszereket kezdett el fejleszteni enzimek irányított evolúciójához. A témát itthon folytatta Pál Csaba csoportjában az MTA SZBK Biokémiai Intézetében, ahol azóta az enzimek evolúciójához kötődő kérdések vizsgálata mellett az antibiotikumrezisztencia terjedését kutatja. Munkái eddig 16 magasan jegyzett tudományos folyóiratcikkben jelentek meg, és jelenleg saját kutatócsoport alapításán dolgozik.

## NEURODEGENERATÍV BETEGSÉGEK, DEMENCIA, ALZHEIMER-KÓR; GONDOLATOK A 2018-AS AGY-DÍJ KAPCSÁN

*Penke Botond és Szűcs Mária*  
*SZTE Orvosi Vegytani Intézet, Szeged*

*„Amit meg kell gyógyítani,  
azt előbb meg kell értenünk.”  
(Szent-Györgyi Albert, 1970)*

A több mint 100 milliárd idegsejtből felépülő agy a legbonyolultabb szervünk, az anyag evolúciójának csúcsa, ami valamennyi más szervünket irányítja. A tudományos kutatások egyik legnagyobb kihívása az emberi agy működésének megismerése. Ez a társadalom előregedése, a várható élettartamok meghosszabbodása miatt is egyre fontosabb szerepet tölt be a tudományos kutatásban. Napjainkban az agy betegségei (pl. depresszió, szorongás, pánikbetegség, krónikus stressz, alkohol- és drogfüggőség, skizofrénia, Alzheimer-kór (AK), Parkinson-kór (PK) és egyéb demenciák) mintegy százmilliónyi embert érintenek a világon.

### **Az agykutatás forradalma**

Az emberi agy működésének megismerését nagyon megnehezíti, hogy agyunkban nagyon sokféle sejttípus létezik, több mint a testünk összes többi részében együttvéve. További problémát jelent, hogy lehetőség szerint noninvazív módszereket kell használni az agyműködés tanulmányozására. Agyunk speciális szerkezete miatt megfelelő állatmodellt is nehéz találni a bonyolultabb kísérletekhez. A nehézségek ellenére az elmúlt 10-15 évben igazi technológiai robbanás következett be az idegtudományban, a bevezetett új módszerek forradalmasították az agykutatást. A fejlődésnek számos eleme van:

1.) *A molekuláris biológia fejlődése.* Befejeződött a humán genom projekt, fokozatosan megismerjük a központi idegrendszeri betegségek öröklődő változatainak genetikai hátterét. A kutatási céloknak megfelelően szinte tetszés



szerint állíthatunk elő genetikailag módosított állatokat, amelyek segítségével modellezni tudjuk a betegségek lefolyását. A proteomika fejlődése lehetővé tette, hogy akár egyetlen sejt szintjén tanulmányozzuk a fehérjék változásait, illetve megvizsgáljuk az egyes fehérjék szerepét egy konkrét idegrendszeri területen.

2.) Óriási áttörés volt a *mikroszkópia* fejlődésében: megjelentek az ún. szuperrezolúciós mikroszkópok, amelyek segítségével szerencsés esetben, egyetlen vizsgálatban annyi mérést lehet végrehajtani, mint elektron mikroszkóppal több hónap alatt. Elterjedt a kétfoton-mikroszkópia. Ennek segítségével feltérképezhető, hogy milyen hatásai vannak a neuronok különböző részein elhelyezkedő receptor molekulák aktiválásának, illetve gátlásának. Ez óriási segítség a gyógyszerkutatókban, mert így mérhető ki legpontosabban egy adott gyógyszerjelölt ideghálózatban kifejtett hatása.

3.) A *képalkotó módszerek* gyors fejlődése.  $^{18}\text{F}$ -deoxi-D-glükóz pozitron emissziós tomográfia (FDG-PET) alkalmazásával felismerhetők az agyban lejátszódó metabolikus változások, feltérképezhetők az agy alacsony aktivitású (hipometabolikus) és atrófiás területei. PET módszerrel pontosan feltérképezhető az is, hogy az agy melyik részén vannak toxikus fehérje kicsapódások, lerakódások. Ezek együttes alkalmazásával nyomon követhető a neurodegeneratív betegségek előrehaladása, illetve a gyógyszeres kezelések hatása.

4.) Az elektrofiziológiai módszerek fejlődése olyan bonyolult elektródok kifejlesztéséhez vezetett, amelyekkel célzottan csak egyetlen idegsejtet serkenthetünk, illetve gátolhatunk és vizsgálhatjuk ezek hatását.

5.) A fotokémia fejlődésével megjelent az *optogenetika* és az *optofarmakológia*. Optikai és genetikai módszerek kombinációjával (optogenetika) megoldható egy adott neuron aktivitásának követése az élő szövetben, akár szabadon mozgó állatban is. Ehhez a célsejteket (pl. neuronokat) genetikailag módosítják: ezek a sejtek fényérzékeny fehérjéket, pl. receptorokat, ioncsatornákat expresszálnak. A fényérzékeny molekulákat a kísérlet során fénnel aktiváljuk, és így a receptorok, ioncsatornák aktivitásának vezérlésével befolyásoljuk a sejt biokémiai folyamatait. A lézeres mikroszkópia lehetővé teszi a kiváltott hatások



pontos lokalizációját a biológiai mintában. Az optofarmakológia az ún. „uncaging” technológián alapul: a kezelendő sejt- vagy szövetmintákhoz inaktív formában hozzáadott hatóanyag egy fényre hasadó védőcsoportot tartalmaz, így megfelelő megvilágítással az aktív hatóanyag időben és térben jól irányíthatóan felszabadítható.

## **Az Agy-Díj**

Felgyorsult társadalmunkban az agyra nehezedő információs nyomás, a központi idegrendszer betegségeinek gyakorisága és az ezek következtében a családokra, társadalmakra, egészségügyi ellátásra nehezedő anyagi és erkölcsi terhek miatt széleskörű ismeretterjesztésre van szükség. 1992-ben ebből a célból jött létre az amerikai DANA alapítvány kezdeményezésére és napjainkig koordinációjában az „Agykutatás Hete” (Brain Awareness Week, BAW) elnevezésű rendezvénysorozat. Ez egy globális kampány, amelynek keretében március közepén a világ egy kicsit az agykutatásra fókuszál. Magyarországon 1997 óta vannak „Agykutatás Hete” rendezvények. A magyar kormány, megelőzve az Európai Unió és az USA új, nagyléptékű agykutatási programjait, már 2013-ban elindította a Nemzeti Agykutatási Programot (NAP) a felfedező kutatások, a megelőzés, az innováció, az orvosi ellátás hatékonyabbá tétele, a gyógyszerfejlesztés, valamint a hazai tudományos eredmények ösztönzése érdekében, amely program napjainkban is tart.

A dániai Grete Lundbeck Európai Agykutatási Alapítvány, (amely mögött egy nagy dániai, a központi idegrendszeri betegségek elleni szerek kutatására összpontosító gyógyszergyár áll), első ízben 2011-ben ítélte oda az "agykutatás Nobel-díjának" is nevezhető Agy-Díjat (The Brain Prize). Az egymillió euróval járó díjat a memória-folyamatokban kulcsszerepet játszó agyi ideghálózatok feltárásáért Buzsáki Györgynek, Freund Tamásnak és Somogyi Péternek ítelték oda, akik közül csak Freund Tamás (MTA KOKI) dolgozik idehaza. Valamennyien a híres magyar idegkutató iskola nagyjainak, Szentágothai Jánosnak, Grastyán Endrének és Vizi E. Szilveszternek az örökségét viszik tovább.

Az Agy-Díjat 2018-ban John Hardy, Bart De Strooper, Michael Goedert és Christian Haass kapta (1. ábra): *"For their groundbreaking research on the genetic and molecular basis of Alzheimer's disease, with far-reaching implications for the development of new therapeutic interventions as well as for the understanding of other neurodegenerative diseases of the brain"* [1].



JOHN HARDY

BART DE STROOPER

CHRISTIAN HAASS

MICHEL GOEDERT

**1. ábra. Az Agy-Díj (The Brain Prize) 2018 nyertesei.** Kép forrása: <http://www.thebrainprize.org/>.

A négy díjnyertes kutató kiemelkedő eredményeket ért el a neurodegeneratív betegségek kialakulásának, progressziójának és kezelési lehetőségeinek felderítésében. A neurodegeneratív betegségek (ND) legnagyobb része (AK, PK, Huntington-kór (HK), amiotrófiás laterálszklerózis (ALS), frontotemporális demencia (FTD), Creutzfeld-Jacob kór) protein konformációs betegség: a központi idegrendszerben hibás szerkezetű, toxikus fehérje-aggregátumok (amiloidok) halmozódnak fel. A négy díjazott tudós kutatásainak középpontjában elsősorban az Alzheimer- és a Parkinson kór áll.

*John Hardy* (University College, London) felfedezései a genetikai mutációk terén nagymértékben elősegítették nemcsak az AK és a PK, hanem a motor neuron és a progresszív szupranukleáris parézis betegségekben szerepet játszó folyamatok feltárását is. Ő az egyik legtöbbet idézett idegtudós. Nevéhez fűződik az AK amiloid-hipotézise [2, 3], amely szerint az idegsejtek károsodását a béta amiloid (A $\beta$ ) fehérje felhalmozódása, az ún. amiloid plakkok megjelenése okozza (lásd később). Kutatócsoportja kollaborációs együttműködéssel olyan transzgenikus egér törzseket fejlesztett ki, amelyekkel követhető a betegség lefolyása [4, 5].

Hardy legújabb hipotézise szerint a membránok sérülése és a foszfolipid metabolizmus zavara áll az AK kialakulásának háttérében [6].

Hardy és kutatótársa, *Christian Haass*, a Münchener Egyetem professzora megvizsgálták, hogyan változik az A $\beta$  termelés azoknál a betegeknél, akik az AK egy ritka, korán jelentkező örökletes formájában szenvednek [7]. Haass kutatásai derítették fel az A $\beta$  képződésének útjait az amiloid prekursor fehérjéből (APP) enzimes hidrolízissel [8]. Haass és kutatócsoportja kimutatta, hogy a genetikai mutációk megváltoztatják egyes specifikus immunsejtek, a mikroglia működését az agyban, ami az AK kialakulásához vezethet [9]. Ez a felfedezés a mikroglia aktivitásának modulálására épülő új terápiás vizsgálatokat indított el.

*Michael Goedert*, a Cambridge-i Egyetem kutatója egy másik kóros fehérje, a hiperfoszforilezett, aggregált tau szerepét vizsgálta a neurodegeneratív betegségekben humán agyszövetet, szövettenyészetet, illetve transzgenikus egereket használva [10, 11]. A tau a mikrotubulus-asszociált fehérjék (MAP) közé tartozik, foszforilált formában stabilizálja a mikrotubulusokat. Ha hiperfoszforilálódik, leválik a tubulin fehérjéről és aggregálódik, létrehozva az AK-ra jellemző intracelluláris neurofibrilláris kötegeket (NFT-t), ezáltal megakadályozza az idegsejt citoskeletonjának normál működését [12]. Az AK patomechanizmusában fontos szerepet játszik a szolubilis tau fehérje átalakulása oldhatatlan fibrilláris kötegekké [13].

*Bart De Strooper*, aki Londonban és a belgiumi Leuvenben is dolgozik, munkatársaival azt vizsgálta, hogy a A $\beta$  bioszintézisében kulcsszerepet játszó szekretáz enzim fehérjék működését megváltoztató genetikai hibák hogyan vezetnek az AK kialakuláshoz [14, 15]. Elsősorban a preszenilineket (PS1, PS2) vizsgálta. Ezek transzmembrán fehérjék, melyek az endomembránokban és a plazmamembránban is megtalálható gamma-szekretáz proteáz-komplex tagjai. De Strooper és munkatársai azt találták, hogy a preszenilin bizonyos mutációi abnormális A $\beta$  képződéshez vezetnek [15]. Ők írták le először, hogy az AK-t

évtizedeken át tartó A $\beta$ -akkumuláció előzi meg az agyban. Ennek alapján egy máig érvényes AK-patomechanizmus modellt dolgoztak ki (lásd 3. ábra).

### **Demencia és Alzheimer-kór**

Az agy élettani öregedése együtt jár a kognitív képességek hanyatlásával, de ez általában nem éri el azt a mértéket, amelyet kórosnak tartunk. Az öregedés és a demencia átmenete valójában egy pontosan nem meghatározható „szürke zóna”. Az agy öregedésének jelenségei közismertek:

- az életkorral kapcsolatos memóriazavarok,
- az életkorral kapcsolatos kognitív hanyatlás,
- az enyhe kognitív zavar („mild cognitive impairment”, MCI).

Az első két jelenség az öregedés normális velejárója, viszont az MCI már inkább a demencia része és gyakran alakul át Alzheimer-kórrá. A demencia nem egy betegségnek, hanem egy tünetcsoportnak a neve, amelyet memóriazavar és lebenytünetek (afázia, agnózia, apraxia) alkotnak. Leggyakoribb kóroka az AK: a demenciás betegek kb. 65-70%-ánál erre a betegségre jellemző elváltozásokat találtak. Az emberi életkor fokozatos növekedésével arányosan világszerte egyre gyakoribb ez a betegség, a betegek számát 2018-ban kb. 48-50 millióra becsülték. Ijesztő, hogy egy 65 éves férfinak 12%, egy 65 éves nőnek 21% esélye van arra, hogy a későbbiekben Alzheimer-beteggé váljon.

Magát a betegséget Alois Alzheimer 1906-ban azonosította és a részleteket 1907-ben publikálta [16]. Egy viszonylag fiatal, 51 éves demens asszony halála után, az agy boncolása során Alzheimer többféle, csak mikroszkóppal látható patológiás elváltozást talált az agyi metszetekben. Nagyfokú neuron pusztulást észlelt az agyban, később kiderült, hogy ez elsősorban a kolinerg rendszert érintette. Különleges, kongóvörössel festődő plakkokat mutatott ki az agy bizonyos részein, emellett fibrilláris szerkezetű fehérje kicsapódásokat (NFT-eket) és kisebb lipid elváltozásokat is talált [16]. Később kiderült, hogy az ilyen fiatal korban jelentkező betegség viszonylag ritka, ez egy családirag, autoszómális

domináns módon örökölhető forma, amely az AK betegek talán 1%-át teszi ki. Sokkal gyakoribb a sporadikus forma, amely kb. a 65. életév után jelentkezik és genetikai háttere máig sem teljesen tisztázott.

Egy évszázaddal ezelőtt az AK ritkasága miatt nem jelentett nagy problémát a társadalom számára. A XX. század második felében viszont a modern ipari társadalmakban egyre nőtt a 65 év feletti idősök százalékos aránya, így az AK betegek száma is rohamosan megnőtt. Elkezdődött az AK patomechanizmusának tudományos felderítése.

Az AK kialakulásának számos hipotézise van, amelyeket a közelmúltban megjelent összefoglaló cikkünkben tárgyaltunk [17]. Bármelyik hipotézis igaz voltát csak sikeres gyógyszerfejlesztés tudná igazolni. Az ún. kolinerg hipotézis szerint az AK elsősorban a kolinerg neuronok és szinapszisok elvesztésével kezdődik [18]. A tanulási és memóriarögzítési folyamatokban az acetilkolin kulcsszerepet játszik, az AK-ra az acetilkolin-hiány jellemző. A kolinerg-hipotézis [18] alapján tervezett kolinészteráz-inhibitor gyógyszerek (Donepezil, Rivastigmin, Galantamin) alkalmazása AK betegeknél a kezdeti stádiumban rövid ideig tartó javulást okoz, de a betegség progresszióját nem akadályozza meg. Ugyanez érvényes az AK Ca-hipotézisére [19] amely szerint a betegség oka a  $Ca^{2+}$ -egyensúly megbomlása a sejtekben, a folyamatos  $Ca^{2+}$ -beáramlás. Az ennek alapján kidolgozott NMDA-receptor antagonistá Memantine nevű gyógyszer időleges állapotjavulást hoz ugyan, de a betegség előrehaladását nem akadályozza.

Érdekes eredményre és egy új hipotézisre vezetett az amiloid plakkok és NFT-k analízise. Masters és társai azt találták, hogy a szenilis plakk (a magot körülvevő sejtörmelék, komplement fehérjék, lipofuscin és oxidációs termékek mellett) elsősorban egy 40-42 aminosavból álló polipeptid keveréket,  $A\beta$ -t tartalmaz [20]. Mivel ez a peptid különleges terciér és kvaterner szerkezettel rendelkezik, fehérjének tekinthető, bár móltömege 5000 Da alatt van. A  $\beta$ -amiloid

fehérje spontán módon rendeződik  $\beta$ -redőzött réteg szerkezetekké, oligomerekké és protofibrillumokká, ezek további aggregációja (nukleáció-polimerizációs reakcióval) nagyfokú rendezettségű kereszt-béta szerkezetű fibrillumok kialakulásához vezet (2. ábra). Az  $A\beta$  aggregátumok mind az idegsejteken belül, mind azokon kívül lerakódhatnak.

A  $\beta$ -amiloid hipotézis szerint az amiloid plakkok magjában található fibrilláris  $A\beta$  fehérje felelős az idegsejtek pusztulásáért [21]: az  $A\beta$  egy belső képződésű neurotoxin. Sikerült igazolni, hogy az  $A\beta$  egy 695-770 aminosavból álló prekursor proteinből (APP), képződik, proteolitikus enzimek közreműködésével. Az „APP processzálas” folyamatát C. Haas és kutató csoportja derítették fel [8, 22]. Mai tudásunk szerint számos enzim ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - és  $\eta$ -szekretáz) vesz részt a folyamatban, és az  $A\beta$  mellett számos más hasítási peptid és fehérje is keletkezik. Az APP és a  $\gamma$ -szekretáz komplex bizonyos mutációi felelősek az autoszomális-domináns öröklődésű AK kialakulásáért [23].

Az eredeti amiloid-hipotézis alapján intenzív gyógyszerkutatás indult el. Az volt a cél, hogy valamilyen módon megakadályozzák a toxikusnak tekintett  $A\beta$ -fibrillumok képződését. Ennek egyik módja az  $A\beta$ 1-40 és  $A\beta$ 1-42 bioszintézisében résztvevő  $\beta$ -(BACE), illetve  $\gamma$ -szekretáz enzimek gátlása. Több enzim-inhibitor családot terveztek és próbáltak ki – sikeresen. Ennek ellenére ezekből a vegyületekből eddig nem lett gyógyszer, és talán nem is lesz, az elkerülhetetlen mellékhatások miatt. Kiderült, hogy az  $A\beta$ 1-42 monomernek fontos élettani funkciói vannak pikomólos koncentrációban [24], emiatt teljes hiánya, vagyis a BACE teljes gátlása nem valósítható meg. A BACE részleges gátlása is problémákat okozhat, mivel így az APP processzálas újabb enzimes útja indul be, a  $\eta$ -szekretáz hasításának eredményeként pedig toxikus, rövid  $A\eta$ -peptidek keletkezhetnek [25]. Az  $A\beta$ -bioszintézisben résztvevő másik enzim, a  $\gamma$ -szekretáz más, fontos élettani folyamatnak is kulcsenzime, így gátlása szintén számos mellékhatással jár.

A gyógyszerkutatások másik iránya a toxikus A $\beta$  formák keletkezésének megakadályozása volt. Az eredeti amiloid-hipotézis szerint [2] a szenilis plakkok magjának anyaga, az A $\beta$ -fibrillumok jelentik a toxikus A $\beta$ -formát. A hipotézis szerint, ha megakadályozzuk az A $\beta$  fibrillumok képződését, illetve szétromboljuk a cross- $\beta$  fibrilláris szerkezetet, akkor megszüntetjük a toxikus fehérje jelenlétét és állandó toxikus hatását az extracelluláris térben. Sajnos, ez az út is zsákutcának bizonyult. Fel kellett tenni a kérdést: ha a  $\beta$ -amiloid felelős a betegség kialakulásáért, akkor a sokféle aggregációs forma közül melyik a neurotoxikus? A kutatás csak többszörös paradigmaváltás után jutott el az AK legmodernebb, holisztikus szemléletéhez.

### **Az AK A $\beta$ -oligomer hipotézise és a tau-hipotézis**

Már 1998-ban közölte egy kutatócsoport [26], hogy olyan kis móltömegű, vízoldható diffúzibilis  $\beta$ -amiloidot fedezett fel, amely szerepet játszhat a betegség kialakulásában. Néhány évvel később bebizonyosodott, hogy a neurotoxikus A $\beta$  formák vízoldható kis oligomerek (oA $\beta$ ) [27, 28]. Indulatoktól sem mentes heves vita indult meg arról, milyen A $\beta$  oligomerek az igazi neurotoxinok: dimer, trimer, hexamer, dodekamer formák vagy még nagyobb aggregátumok? Hol alakulnak ki a toxikus oligomerek: a sejteken kívül vagy belül? Csak az agyszövetben képződnek-e, vagy a szintetikus A $\beta$  peptidek in vitro is átalakulnak toxikus oligomerekké? Az oligomerek különböző elnevezéseket kaptak: ADDL (A $\beta$ -Derived Diffusible Ligand), soluble oA $\beta$ , A $\beta$ -globulomers, amylospheroids stb. A klasszikus amiloid-plakk hipotézis helyett kidolgozták az A $\beta$ -oligomer hipotézist. Ennek alapja az a felfedezés, hogy a vízoldható oA $\beta$  igen erős neurotoxinként viselkedik [28, 29]. A hipotézis szerint a toxikus oA $\beta$  elsősorban a szignalizációs utakat zavarja meg, gátolja az LTP kialakulását (ez a tanulási folyamatok és a memória elektrofiziológiai háttere) és a szinapszisok működését [26, 28, 30-32].

Tiszta, oligomer-mentes A $\beta$  fibrillumok és tiszta oA $\beta$  injektálásával állatkísérletekben bizonyították, hogy nem a fibrillumok, hanem az oA $\beta$  az a toxikus ágens, amely a szinapszisok működését megzavarja, majd a sejtek halálát



és memória vesztést okoz [29]. Toxikus A $\beta$  oligomerek az A $\beta$  fibrillum képződéstől teljesen függetlenül is keletkeznek és akkumulálódnak az agyban (2. ábra) [33]. Az A $\beta$  oligomerek nagymértékben heterogének, mind szerkezetüket (konformációjukat), mind méretüket tekintve, ráadásul nem mindegyik oA $\beta$  toxikus hatású („similar size, dissimilar toxicity”) [34]. Az AK sokféle megjelenési formája részben a toxikus oA $\beta$  sokféleségével értelmezhető.

Az intracelluláris A $\beta$  elektronmikroszkóppal kimutatható a szinapszisokban, ez a módszer a cerebrospinális folyadék oA $\beta$  tartalmának detektálására is alkalmas [37, 38]. Az oA $\beta$  intra- és extracelluláris halmaza között dinamikus egyensúly áll fenn. Az amiloid plakkokat körülveszi egy oA $\beta$  tömeg, amely feltehetőleg a fibrillumok végeinek letöredésével keletkezik és az A $\beta$  fibrillumokkal dinamikus egyensúlyban van.

Az APP nem-amiloidogén lebontása ( $\alpha$ -szekretázzal) elsősorban a plazmamembránban megy végbe. A  $\beta$ -amiloidképző hasítás (A $\beta$  bioszintézis)  $\beta$ - és  $\gamma$ -szekretázokkal viszont a sejten belül történik (korai endoszómák, lizoszómák, Golgi) [22]. A konformációváltozást, a toxikus oA $\beta$  képződést a sejt membránok lipid jellegű alkotórészei (koleszterin, GM1 gangliozid) segítik elő. Általánosan elfogadott, hogy az agyi eredetű és a szintetikus előállított oA $\beta$  egyaránt toxikus, és nagy valószínűséggel az oA $\beta$  indítja az AK patogenezist [39]. Feltételezik, hogy a natív, monomer A $\beta$  nem rendelkezik stabil 3D térszerkezettel, inkább belsőleg rendezetlen szerkezetű fehérjének (IDP) tekinthető, nagyfokú konformációs szabadsággal, emiatt könnyen tud kapcsolódni sokféle molekulához [39]. Kísérletekkel bizonyították, hogy a toxikus oA $\beta$  számos receptorhoz és ioncsatorna fehérjéhez tud kötődni, és így zavarja meg a szignalizációs utakat [40]. A következő receptorok *direkt* módon kötik meg az oA $\beta$ -t és hasonló aggregátumokat: p75NTR (p75 neurotrophin receptor), RAGE (Receptor for Advanced Glycation End Products), a sejt prion proteinje (PrP<sup>C</sup>), ephrin A4 receptor, ephrin B2 receptor, Na, K-ATPáz a 3 [40]. A következő fehérjék *indirekt*

módon vesznek részt az  $\alpha$ A $\beta$  toxikus hatásának kialakulásában: glutamát AMPA receptor, az NMDA receptor Gly-kötő doménje, metabotróp GluR5, nikotinerger acetilkolin receptor (N7-nAChR), inzulin receptor IGF-I, IGF-II.

Ezek a felfedezések új utakat nyitottak az AK gyógyszertervezésben. Először állatkísérletekben bizonyították, hogy az anti-A $\beta$  antitestek átjutnak a vér-agy-gáton. Ezt követően a gyógyszeripar számos A $\beta$ -ellenes monoklonális antitestet próbált ki klinikai kísérletben (Bapineuzumab, Gantenerumab, Solanezumab, Aducanumab, Crenezumab). Ezek egy része az A $\beta$  valamennyi aggregációs formáját megköti, másik része csak az oligomerekkel, illetve a plakkok anyagával reagál. Az eddigi vizsgálatok sikertelenek voltak: a sporadikus AD betegeknél antitestekkel nem sikerült megállítani a betegség előrehaladását. Ugyancsak sikertelenek voltak az aktív immunizálási kísérletek AK betegeken: azok a módszerek, amelyek a kísérleti állatokban jól működtek, nem bizonyultak sikeresnek humán beteganyagban, sőt gyulladást indukálnak.

Az AK másik jellemző fehérjéje a *tau-protein*, ennek hipofoszforylizációja (ptau keletkezése) az addig vízoldható fehérje kicsapódását, NFT kialakulását idézi elő a neuronokban. Az amiloid-hipotézissel párhuzamosan, szinte azzal egy időben kidolgozott tau-hipotézis az AK kialakulását a ptau-akkumuláció okozta neuron pusztulással magyarázta [41]. Az AK különböző súlyosságú stádiumait [42] legpontosabban az NFT-k különböző agyterületen való megjelenésével lehetett osztályozni (Braak I-VI). A szakirodalomban évtizedeken át heves vita folyt az amiloid- illetve tau-hipotézist elfogadók között a prioritás kérdéséről. Mostanra tisztázódott, hogy időben az A $\beta$  akkumuláció megelőzi ugyan a ptau keletkezését, de tau-fehérje depozíció nélkül nincs AK: ez a betegség is tauopátia. Az A $\beta$  és a ptau bonyolult kölcsönhatásban áll egymással, ráadásul mindkettő prionoid jellegű: a prion fehérjéhez hasonlóan az anatómiai utak mentén sejtről-sejtre tudnak terjedni, tovább víve a betegséget. Természetesen a tau, illetve a ptau fehérje is gyógyszer-célpont lett: közömbösítésére egyrészt monoklonális antitesteket alkalmaztak, másrészt a tau-fehérje aggregációját, a toxi-

kus NFT-k kialakulását gátló vegyületeket (pl. leuko-metilénkék) használtak klinikai kísérletekben. Mostanra ezek a Fázis III vizsgálatok is negatív eredménnyel zárultak.

### **Az AK kialakulásának neurovaszkuláris holisztikus modellje**

Nem példa nélkül való az, hogy egy gyakori és súlyos betegség gyógyszerének kutatása ideiglenesen eredménytelennek bizonyul. Ez történt a 90-es években a stroke gyógyszerkutatással is. Az AK kutatások sikertelenségét sokféleképpen magyarázzák:

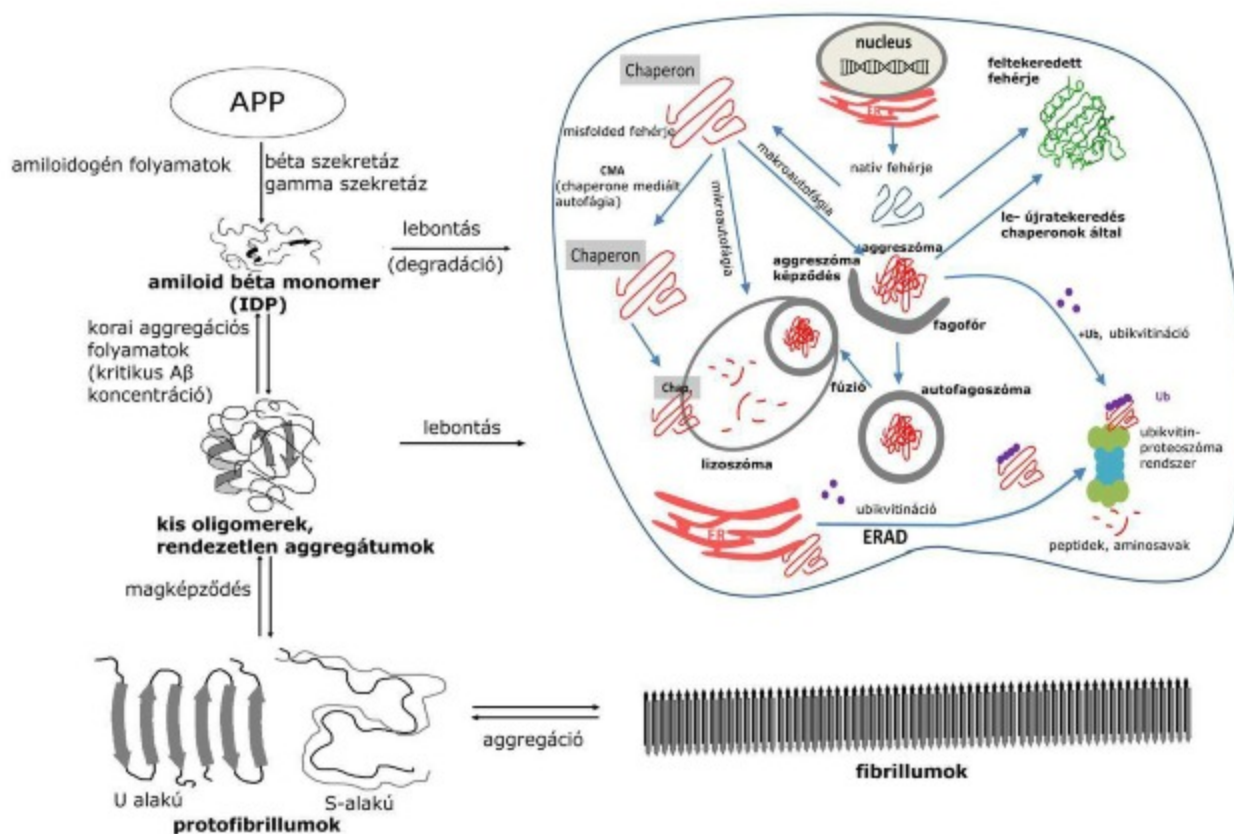
1. A betegség heterogén, multifaktoriális jellegű és az eddigi gyógyszerhatás-vizsgálati betegcsoportok heterogének voltak.
2. Transzlációs problémák: az állatkísérletekben sikeresnek bizonyult anyagok és módszerek nem vihetők át a bonyolult emberi agyra, a sporadikus AK-nak nincs (és talán nem is lesz) jó állatmodellje.
3. Pontatlan és túlságosan leegyszerűsítő volt a kiindulási hipotézis (A $\beta$ , ptau, Ca<sup>2+</sup>-egyensúlyzavar, acetilkolin hiány stb.).
4. Az AK túl kései fázisában, már az idegrendszeri tünetek jelentkezésekor, a beindult neuron pusztulás után kezdődött el a gyógyszerelés.

Mára széleskörűen elfogadott, hogy a sokszor módosított amiloid-hipotézis lényegileg igaz, de az AK sokkal bonyolultabb betegség, mintsem hogy egyetlen neurotoxin megjelenésével magyarázzuk az AK eredetét és progresszióját. Az AK kolinerg és amiloid hipotézise nem zárja ki egymást (konvergencia): az A $\beta$  akkumuláció valóban a kolinerg rendszer leépülését, működésképtelenségét okozza [43]. Zlokovic és társai *neurovaszkuláris hipotézise* egységes keretbe helyezi a vaszkuláris, az A $\beta$  és tau hipotéziseket [44, 45]. Ennek alapján a vaszkulotoxikus és neurotoxikus amiloidok agyi felhalmozódása a vér-agy gát komoly sérülését váltja ki. Az agyi vérkeringés csökkenése, a hipoxia együttesen kiválthatják a neurodegenerációt.

Az AK új, holisztikus szemlélete alapján a komplex patomechanizmus

megértésére a következő tényeket kell figyelembe vennünk:

- Az eredeti amiloid-hipotézis középpontjában a neuron állt. Megfigyelések szerint az agy valamennyi sejtje (neuronok, asztrociták, oligodendrociták, mikroglia) és a vér-agy-gát sejtjei egyaránt részt vesznek az AK kialakulásában.
- A betegség megállításához nem elegendő az, hogy csökkentsük az amiloid plakkok, illetve az A $\beta$ - és tau-oligomerek mennyiségét az agyban. Mindkét fehérjénél meg kell akadályozni a toxikus amiloid konformáció kialakulását, a nukleáció-polimerizáció folyamatát és a sejtről-sejtre terjedést. Az AK patogenezisben vannak amiloid független mechanizmusok is.



**2. ábra. Az A $\beta$  aggregációja különböző oligomerekké, protofibrillummá és fibrillumokká, és lebontásuk a sejtek clearance-rendszereinek segítségével.** APP: amiloid prekursor protein, IDP: rendezetlen fehérje (Intrinsically Disordered Protein), ERAD: Endoplazmás Retikulum-Asszociált Protein Lebontás (Endoplasmic Reticulum-Associated Protein Degradation). Penke [35] és Chiti [36] nyomán.

- Az agy öregedése gyakran A $\beta$ -akkumulációval és amiloid plakkok kialakulásával jár, klinikai tünet nélkül. (Ez az időskori tau-akkumulációra érvényes.)

Az A $\beta$  és a tau agyi akkumulációjának egyik elsődleges oka az amiloid-degradációs (chaperon-mediált-, mikro- és makro-autofágia, ubiquitin-proteaszóma rendszer) és kiürítési (clearance) rendszerek öregedéssel kapcsolatos egyre csökkenő aktivitása (2. ábra).

- Az AK két biokémiai patológiás folyamata, az A $\beta$  és a ptau-amiloid képződése kezdetben csaknem egymástól függetlenül alakul ki, bár az A $\beta$  által okozott celluláris stressz növeli a tau patológiát [46]. A familiáris és az időskori, sporadikus AK teljesen hasonló mechanizmusa: a fokozatosan előrehaladó A $\beta$ - és tau-akkumuláció egy küszöbértéket ér el, amiloidok képződnek, és a két fehérje kölcsönösen növeli egymás neurotoxikus aktivitását. Ez a kölcsönhatás a betegség új, agresszív fázisát hozza [47].
- A már régebről ismert, családirag öröklődő APP, PS1, PS2 génmutációk mellett különböző populáció genetikai (GWAS) vizsgálatok számos más gén részvételét is valószínűsítik a sporadikus AK kialakulásában. Ezek közül az APOE $\epsilon$ 4 allél kétszeres előfordulása nagymértékben növeli az AK kockázatát [48]. Mintegy 30 gén részvételét is kimutatták (TREM2, BIN1, ABCA7, PLCG2, SORL1, PICALM, CD33, CR1, CASS4, stb.) és feltételezik, hogy a kedvezőtlen génkombinációk siettetik az AK kialakulását [49]. Hardy hipotézise [6] szerint az A $\beta$  aggregátumok membrán károsító hatása, a foszfolipidek felszabadulása kulcsszerepet tölt be az AK patogenezisében. Így érthető, hogy bizonyos gének (az ABCA7 és APOE foszfolipid-transzporterek, a TREM2 foszfolipid receptor, a PLCG2 egy foszfolipáz) kedvezőtlen mutációi rontják a sejtek membrán-javító funkcióit és emiatt ezek a génmutációk az AK fontos rizikófaktorai [6].
- Szomatikus gén rekombinációkkal (pl. a neuronokban, az APP génben) olyan mutációk jöhetnek létre, amelyek korábbról már ismertek voltak, és az oA $\beta$  képződést indukálják. Ilyen mutációk kulcsszerepet játszanak a familiáris AK kialakulásában. A folyamatokban a reverz transzkriptáz enzim érintett. Így idős korban elvileg egyetlen neuron szomatikus mutációja elindíthatja az A $\beta$  akkumulációt és sejtről-sejtre terjedést [50].

A betegség kialakulása bonyolult folyamat és (a rendkívül ritka, gyors (7-10

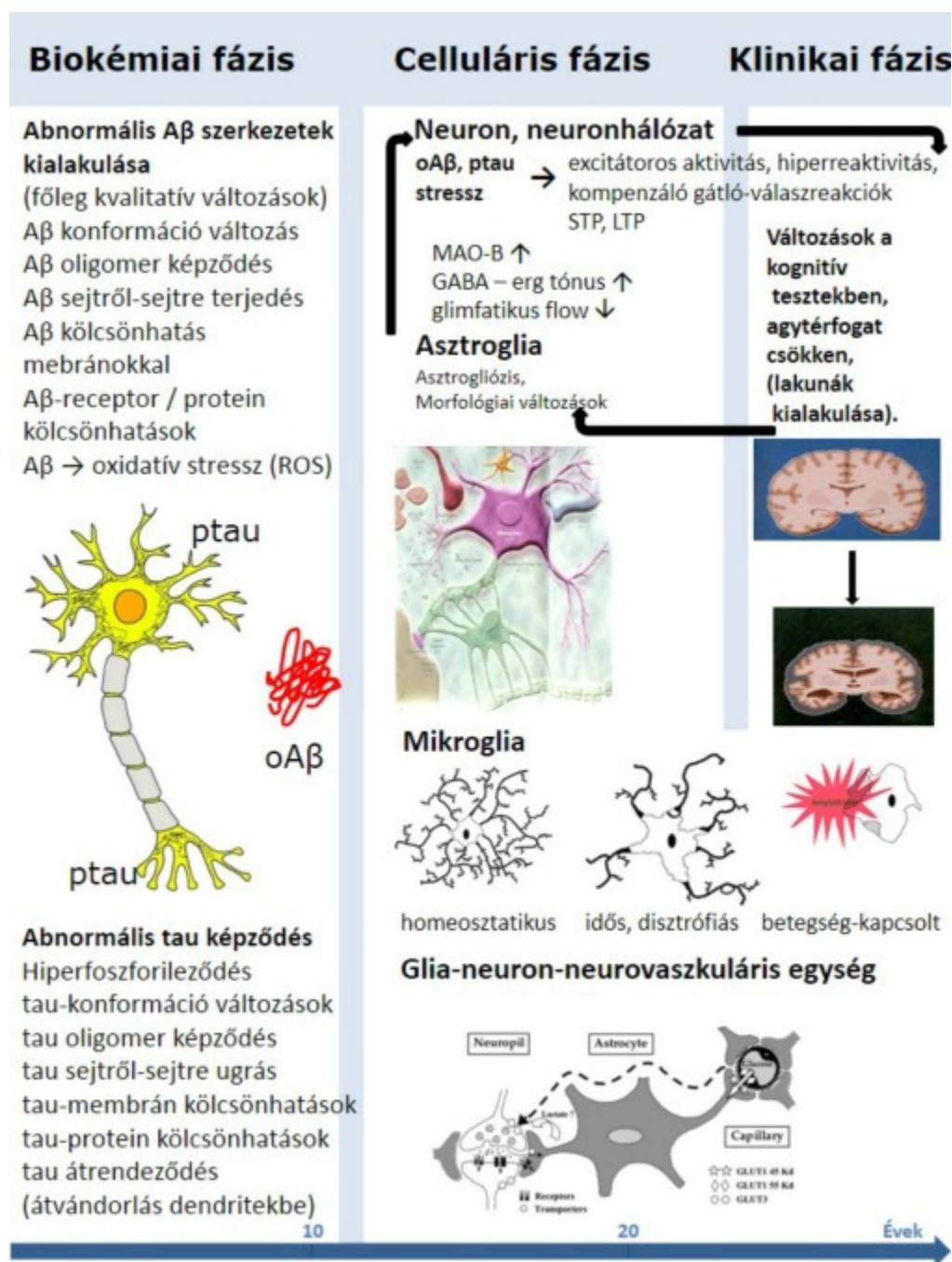
hónapos) lefolyású forma kivételével [51]) több évtizedig tart. De Strooper [40] szerint az AK kialakulásának 3 szakasza van: biokémiai, celluláris és klinikai fázis (3. ábra):

1. A *biokémiai fázis* során abnormális konformációjú A $\beta$  és tau szerkezetek képződnek. A hidrogénhidakkal és ionos kötésekkel összetartott U- és S-alakú A $\beta$ -monomer egységekből dimerek és trimerek képződnek, ezek az A $\beta$  további aggregációjának katalizátorai. Az oligomer A $\beta$ -k kölcsönhatásba lépnek membránokkal és különböző receptorokkal. Az oA $\beta$  oxidatív stresszt és a mitokondriumok működési zavarát okozza. A tau protein hiperfoszforileződik, ez a fehérje-konformáció változását okoz, majd (polianionos anyagokkal kölcsönhatásba lépve) tau oligomerek képződnek (otau). Mind az A $\beta$ , mind a tau oligomerek prion-szerűen, sejtről sejtre terjednek [52], és zavarják a sejtek szignalizációs folyamatait. A mikroglia is részt vesz a tau sejtről-sejtre terjedésében. A biokémiai fázis évtizedekkel megelőzheti a klinikai tünetek jelentkezését.

2. A *celluláris fázis* nagyon komplex folyamat, amelyben az agy valamennyi sejtje érintett, a neurovaszkuláris egység sejtjeit is beleértve. Ez akár 20 évvel is megelőzheti a klinikai fázist. Felborul az agy homeosztázisa, elsősorban az A $\beta$  és ptau akkumuláció által okozott proteopátiás stressz miatt. Pozitív visszacsatolások miatt komplex, önmagukat gerjesztő bűvös körök alakulnak ki (pl. oA $\beta$  képződés  $\rightarrow$  szignalizációs zavarok  $\rightarrow$  az APP fokozott proteolízise, növekvő oA $\beta$  szint  $\rightarrow$  ...) és tovább súlyosbítják a patológiás folyamatokat. A vér-agy-gát és a cerebroszpinális folyadék-gát funkciók fokozatosan romlanak, beindulnak az immunválasz-reakciók, a kóros amiloid-fehérje eltávolító (clearance) és degradációs rendszerek (pl. ubiquitin-proteaszóma rendszer, autofágiás utak) hatékonysága csökken. Az amiloidok aktiválják a mikroglia, ez segít ugyan az amiloid-depozitok lebontásában, de hosszabb távon destruktív mikroglia kialakulásához vezet és állandósuló neuroinflammációt idéz elő. A mikroglia szinapszis-karbantartó („pruning”) működése zavart szenved, a működő szinapszisok száma csökken. Az asztroglia neuron-tápláló, szinapszis-támogató funkciója csökken, ez megzavarja mind a rövid-, mind a hosszú távú szinaptikus plasztici-



tást. Az amiloid-clearance zavarai és csökkenése, a lipid-anyagcsere zavarai és a fokozódó mielin lebontás az oligodendrocitákban krónikus neuroinflammációval társul, ezek okozzák az idegsejt hálózatok egyensúlyzavarát és alulműködését. Irreverzibilis elektrofiziológiai kompenzációk és immunválaszok tovább nehezítik az agy homeosztázisának helyreállítását.



3. ábra. Az Alzheimer-kór biokémiai, celluláris és klinikai fázisának sematikus ábrázolása, De Strooper [40] nyomán.



3. A klinikai fázisban a változások irreverzibilissé válnak és olyan fokot érnek el, hogy kognitív tesztek segítségével is mérhetőek. Képkalkotó eljárással (MRI) kimutatható a hippokampusz zsugorodása. A cerebroszpinális folyadékban nő a tau és a ptau protein szintje, ugyanakkor csökken az  $\alpha\beta$  szint. Az agysejtek folyamatos pusztulása az egész agy térfogatát csökkenti, a demencia egyre súlyosabb és súlyosabb. PET vizsgálatokkal jól kimutatható egyes agyterületek alulműködése vagy teljes kiesése, illetve az amiloid jellegű fehérjék felhalmozódása.

### Saját kutatások

Kutatócsoportunk több mint 20 éve foglalkozik az AK kialakulásának és kezelésének kérdéseivel. Már 1997-ben közöltük, hogy a toxikus  $A\beta$  aggregátumok tönkreteszik a finom agyi kapillárisokat és a vér-agy-gátat [53]. Egy új neuroprotektív, az  $A\beta$ -aggregációt gátló peptid mimetikum vegyületcsaládot találtunk [54]. Új módszert dolgoztunk ki a szintetikus  $A\beta_{1-42}$  aggregációs formáinak standardizálására, a toxikus  $\alpha\beta$  preparálására [55]. Részt vettünk egy hősokk-fehérje-aktiváló neuroprotektív vegyületcsalád tervezésében és preklinikai vizsgálatában [56]. Jelenlegi kutatásaink célpontja az ER-stresszt oldó, proteosztázist helyreállító szigma-1 receptor agonisták neuroprotektív hatásának vizsgálata.

### Diszkusszió és jövőkép

Sok minden tisztázatlan még az AK patomechanizmusával kapcsolatban. Megválaszolatlan kérdés az idegsejtek szelektív vulnerabilitása: az AK miért éppen a hipocampus neuronjaiban indul? (Ez talán összefügg azzal, hogy ebben a régióban folyamatosan képződnek érett neuronok az őssejtekből.) Milyen szerepet játszhatnak az AK kialakulásában az epigenetikai faktorok, a DNS hipo- és hipermetilációja, a hiszton modifikációk, illetve a mitokondriális DNS mutációi? Van-e szerepe a periférián képződő  $A\beta$ -nak a vér-agy-gát fokozatos sérülésében és az AK kialakulásában [57]? Mindezek ellenére az eddigi kutatási eredmények ismeretében nem mondhatjuk többé azt, hogy „nem ismerjük az AK

patomechanizmusát”. A betegség heterogenitása és rendkívül komplex jellege viszont nagyon megnehezíti a gyógyszertervezést. Sok kutató véleménye szerint minden egyes sporadikus AK egyedi eset, a betegséget sokféle genetikai és környezeti faktor kombinációja idézi elő. Az AK heterogén genetikai háttere és megjelenése ellenére mindegyik formában közös a fehérje homeosztázis zavara, a toxikus amiloid oligomerek ( $A\beta$  és tau) megjelenése, így közös gyógyszercélpontok jelölhetők ki.

Mivel az AK legfontosabb rizikófaktora maga az öregedés, valójában az öregedési folyamatok lelassításáért kell harcolnunk. (Ez kicsit emlékeztet a stroke-kal kapcsolatos gyógyszerkutatásokra). De Strooper modellje alapján legfontosabb lenne az AK prevenciója, bár jelenleg ez az öröklődő, familiáris forma esetében nehéznek tűnik. Az időskori sporadikus forma veszélyét minél hamarabb fel kell ismerni, ezért folyik nagyon intenzív kutatás az AK korai diagnózisának területén. A betegség genetikai hátterének és a kedvezőtlen génkombinációknak a jobb megismerése sokat segíthet az AK prevencióban. Az AK gyógyszeres kezelésének minél korábbi megkezdését hangsúlyozza az a felismerés, hogy a betegség progressziója során tönkremegy a vér-agy-gát és ez megnehezíti a gyógyszerek bejutását az agyba [58]. Optimista nézetek szerint a toxikus amiloidokat megkötő monoklonális antitestek időbeni adagolásával sikeresen megakadályozható az AK kifejlődése. Ilyen Fázis III klinikai vizsgálatok jelenleg is folynak Kolumbiában egy nagy csoport familiáris öröklődésű fiatal emberen, akiknél még nem tört ki a betegség.

A lehetséges prevenció és a gyógyszeres kezelés irányai a jövőben tovább bővíthetnek:

- Az életmódbeli és táplálkozási faktorok egyre nagyobb szerepet játszhatnak az AK prevenciójában [17].
- Teljesen új, a humán AK-t jobban modellező egértörzseket vezetnek be a gyógyszerjelöltek preklinikai vizsgálatára, amelyek a korai, familiáris, illetve a sporadikus AD különböző génjeinek mutációját hordozzák (Jackson Laboratory,

USA, UK Dementia Institute London).

- Olyan gyógyszereket kutatnak, amelyek nem gátolják a mikroglia szükséges szinapszis-karbantartó funkcióit, de megakadályozzák a destruktív mikroglia kialakulását.
- Elképzelhető, hogy az AK kezelésére eddig hatástalannak bizonyult nem-szteroid gyulladásgátlók az AK legkorábbi fázisában alkalmazva megakadályozzák (vagy legalábbis késleltetik) a betegség kifejlődését.
- Új utat jelentene a protein homeosztázis fenntartásában kulcsszerepet játszó hősokkfehérjék (Hsp-k) alkalmazása a betegség legkorábbi szakaszában. Kis molekulájú Hsp-aktiváló vegyületek (co-inducers) segítségével megakadályozható a toxikus amiloidok képződése [35].
- A toxikus amiloid fehérjék sejtekből való eltávolítására olyan gyógyszerek is alkalmasak, amelyek serkentik a lebontási és clearance-utak működését. Ezek a Hsp indukáláson túl az ubiquitin-proteoszóma rendszer és a főbb autofágiás utak aktivitását szelektív módon fokozzák [35, 59]. Napjainkban hasonló módszer alkalmazásával (pl. egy ubiquitint eltávolító proteáz gátlása a PK betegségmodellben az  $\alpha$ -szinuklein aggregátumok képződésének megakadályozására) próbálkoznak és ez járható útnak látszik [60].
- Az oligomer  $A\beta$  és ptau receptor kötődési és szignalizációs zavart okozó hatása megelőzhető lenne a toxikus  $\alpha A\beta$  és  $\alpha$ tau képződésének gátlásával. Újra kutatják az ilyen aggregáció-gátló hatást mutató kis molekulájú peptideket, peptidmimetikumokat.
- Új gyógyszercélpont a sejtmembrán védelme, az  $A\beta$  által kiváltott fosfolipid transzport- és metabolizmus-zavar megakadályozása.
- Mivel a neuronok szomatikus APP mutációinak a kialakulásában szerepet játszik a reverz transzkriptáz enzim, így Chun és mtsai szerint az anti-retrovirális terápiát is érdemes kipróbálni AK betegeken [50].

Az AK kialakulásának további megismerése, a szomatikus mutációk, a mikroglia, asztroglia és az oligodendrociták szerepének mélyebb megértése valószínűleg újabb gyógyszerkutatói irányokat fog kijelölni.

## Köszönetnyilvánítás

A cikk a GINOP-2.3.2-15-2016-00034 és GINOP-2.3.2-15-2016-00060 pályázatok támogatásával jött létre.

## Irodalomjegyzék

- [1] [http://www.thebrainprize.org/flx/prize\\_winners/the\\_brain\\_prize\\_winners\\_2018/](http://www.thebrainprize.org/flx/prize_winners/the_brain_prize_winners_2018/)
- [2] Hardy, J.A., Higgins, G.A. (1992) Alzheimers-Disease - the amyloid cascade hypothesis. *Science*, **256 (5054)**: 184-185.
- [3] Selkoe, D.J., Hardy, J. (2016) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25years. *Embo Mol Med*, **8 (6)**: 595-608.
- [4] Huang, Y.H., Skwarek-Maruszcwska, A., Horre, K., Vandewyer, E., Wolfs, L., Snellinx, A., Saito, T., Radaelli, E., Corthout, N., Colombelli, J., Lo, A.C., Van Aerschot, L., Callaerts-Vegh, Z., Trabzuni, D., Bossers, K., Verhaagen, J., Ryten, M., Munck, S., D'Hooge, R., Swaab, D.F., Hardy, J., Saido, T.C., De Strooper, B., Thathiah, A. (2015) Loss of GPR3 reduces the amyloid plaque burden and improves memory in Alzheimer's disease mouse models. *Sci Transl Med*, **7 (309)**: Art. n. 309ra164.
- [5] Sasaguri, H., Nilsson, P., Hashimoto, S., Nagata, K., Saito, T., De Strooper, B., Hardy, J., Vassar, R., Winblad, B., Saido, T.C. (2017) APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *Embo J*, **36 (17)**: 2473-2487.
- [6] Hardy, J. (2017) Membrane damage is at the core of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, **16 (5)**: 342-342.
- [7] Haass, C., Hung, A.Y., Selkoe, D.J., Teplow, D.B. (1994) Mutations Associated with a Locus for Familial Alzheimers-Disease Result in Alternative Processing of Amyloid Beta-Protein Precursor. *J Biol Chem*, **269 (26)**: 17741-17748.
- [8] Haass, C., Selkoe, D.J. (1993) Cellular Processing of Beta-Amyloid Precursor Protein and the Genesis of Amyloid Beta-Peptide. *Cell*, **75: (6)** 1039-1042.

- [9] Schlepckow, K., Kleinberger, G., Fukumori, A., Feederle, R., Lichtenthaler, S.F., Steiner, H., Haass, C. (2017) An Alzheimer-associated TREM2 variant occurs at the ADAM cleavage site and affects shedding and phagocytic function. *Embo Mol Med*, **9 (10)**: 1356-1365.
- [10] Goedert, M., Klug, A., Crowther, R.A. (2006) Tau protein, the paired helical filament and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, **9**: 195-207.
- [11] Fitzpatrick, A.W.P., Falcon, B., He, S., Murzin, A.G., Murshudov, G., Garringer, H.J., Crowther, R.A., Ghetti, B., Goedert, M., Scheres, S.H.W. (2017) Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease. *Nature*, **547 (7662)**: 185-190.
- [12] Goedert, M., Eisenberg, D.S., Crowther, R.A. (2017) Propagation of tau aggregates and neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci*, **40**: 189-210.
- [13] Goedert, M. (2016) The ordered assembly of tau is the gain-of-toxic function that causes human tauopathies. *Alzheimers Dement*, **12 (10)**: 1040-1050, doi: 10.1016/j.jalz.2016.09.001.
- [14] Szaruga, M., Munteanu, B., Lismont, S., Veugelen, S., Horre, K., Mercken, M., Saido, T.C., Ryan, N.S., De Vos, T., Savvides, S.N., Gallardo, R., Schymkowitz, J., Rousseau, F., Fox, N.C., Hopf, C., De Strooper, B., Chavez-Gutierrez, L. (2017) Alzheimer's-causing mutations shift Abeta length by destabilizing gamma-secretase-Abetan Interactions. *Cell*, **170 (3)**: 443-456.
- [15] Le Guennec, K., Veugelen, S., Quenez, O., Szaruga, M., Rousseau, S., Nicolas, G., Wallon, D., Fluchere, F., Frebourg, T., De Strooper, B., Campion, D., Chavez-Gutierrez, L., Rovelet-Lecrux, A. (2017) Deletion of exons 9 and 10 of the presenilin 1 gene in a patient with early-onset Alzheimer disease generates longer amyloid seeds. *Neurobiol Dis*, **104**: 97-103.
- [16] Alzheimer, A. (1907) Über eine eigenartige erkrankung der hirnrinde. *Allg Zschr Psychiatr Psych gerichtl Med*, **64**: 146-148.
- [17] Penke, B., Fülöp, L. (2015) Életmód- és táplálkozási-faktorok szerepe az Alzheimer-kór prevenciójában. *Biokémia*, **39 (4)**: 39-53.

- [18] Francis, P.T., Palmer, A.M., Snape, M., Wilcock, G.K. (1999) The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress - Reply. *J Neurol Neurosurg Ps*, **67 (4)**: 558-558.
- [19] Arancio, O., Bezprozvanny, I., Berger, T., Bouteiller, J.M., Carrillo, M., Disterhoft, J., Foskett, K., Khachaturian, A.S., LaFerla, F., Landfield, P.W., Masliah, E., Mattson, M., Michaelis, M.L., Nixon, R., Snyder, H., Stutzmann, G., Thibault, O., Yang, A., Khachaturian, Z.S., Scholz, K., Hyp, A.s.A.C. (2017) Calcium hypothesis of Alzheimer's disease and brain aging: A framework for integrating new evidence into a comprehensive theory of pathogenesis. *Alzheimer's & Dement*, **13 (2)**: 178-182.
- [20] Masters, C.L., Simms, G., Weinman, N.A., Multhaup, G., McDonald, B.L., Beyreuther, K. (1985) Amyloid plaque core protein in Alzheimer-disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, **82: (12)** 4245-4249.
- [21] Hardy, J., Allsop, D. (1991) Amyloid deposition as the central event in the etiology of Alzheimers-disease. *Trends Pharmacol Sci*, **12 (10)**: 383-388.
- [22] Haass, C., Schlossmacher, M.G., Hung, A.Y., Vigo-Pelfrey, C., Mellon, A., Ostaszewski, B.L., Lieberburg, I., Koo, E.H., Schenk, D., Teplow, D.B., et al. (1992) Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature*, **359 (6393)**: 322-5.
- [23] Weggen, S., Beher, D. (2012) Molecular consequences of amyloid precursor protein and presenilin mutations causing autosomal-dominant Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, **4 (2)**: 9, doi: 10.1186/alzrt107.
- [24] Brothers, H.M., Gosztyla, M.L., Robinson, S.R. (2018) The Physiological Roles of Amyloid-beta Peptide Hint at New Ways to Treat Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*, **10**: 118, doi: 10.3389/fnagi.2018.00118. eCollection 2018.
- [25] Willem, M., Tahirovic, S., Busche, M.A., Ovsepian, S.V., Chafai, M., Kootar, S., Hornburg, D., Evans, L.D.B., Moore, S., Daria, A., Hampel, H., Muller, V., Giudici, C., Nuscher, B., Wenninger-Weinzierl, A., Kremmer, E., Heneka, M.T., Thal, D.R., Giedraitis, V., Lannfelt, L., Muller, U., Livesey, F.J., Meissner, F., Herms, J., Konnerth, A., Marie, H., Haass, C. (2015)



- $\eta$ -Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus. *Nature*, **526 (7573)**: 443-447.
- [26] Lambert, M.P., Barlow, A.K., Chromy, B.A., Edwards, C., Freed, R., Liosatos, M., Morgan, T.E., Rozovsky, I., Trommer, B., Viola, K.L., Wals, P., Zhang, C., Finch, C.E., Krafft, G.A., Klein, W.L. (1998) Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A beta(1-42) are potent central nervous system neurotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA*, **95 (11)**: 6448-6453.
- [27] Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., Selkoe, D.J. (2002) Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, **416 (6880)**: 535-539.
- [28] Klein, W.L., Krafft, G.A., Finch, C.E. (2001) Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum? *Trends Neurosci*, **24 (4)**: 219-24.
- [29] Viola, K.L., Klein, W.L. (2015) Amyloid beta oligomers in Alzheimer's disease pathogenesis, treatment, and diagnosis. *Acta Neuropathol*, **129 (2)**: 183-206.
- [30] Ferreira, S.T., Klein, W.L. (2011) The A beta oligomer hypothesis for synapse failure and memory loss in Alzheimer's disease. *Neurobiol Learn Mem*, **96 (4)**: 529-543, doi: 10.1016/j.nlm.2011.08.003 .
- [31] Hayden, E.Y., Teplow, D.B. (2013) Amyloid beta-protein oligomers and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*, **5 (6)**: 60, doi: 10.1186/alzrt226. eCollection 2013.
- [32] Mucke, L., Selkoe, D.J. (2012) Neurotoxicity of Amyloid beta-Protein: Synaptic and Network Dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **2 (7)**: a006338, doi: 10.1101/cshperspect.a006338.
- [33] Kaye, R., Head, E., Thompson, J.L., McIntire, T.M., Milton, S.C., Cotman, C.W., Glabe, C.G. (2003) Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science*, **300 (5618)**: 486-9.
- [34] Ladiwala, A.R., Litt, J., Kane, R.S., Aucoin, D.S., Smith, S.O., Ranjan, S., Davis, J., Van Nostrand, W.E., Tessier, P.M. (2012) Conformational

- differences between two amyloid beta oligomers of similar size and dissimilar toxicity. *J Biol Chem*, **287 (29)**: 24765-73.
- [35] Penke, B., Bogar, F., Crul, T., Santha, M., Toth, M.E., Vigh, L. (2018) Heat Shock Proteins and Autophagy Pathways in Neuroprotection: From Molecular Bases to Pharmacological Interventions. *Int J Mol Sci*, **19 (1)**: pii: E325. doi: 10.3390/ijms19010325..
- [36] Chiti, F., Dobson, C.M. (2017) Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem*, **86**: 27-68.
- [37] Georganopoulou, D.G., Chang, L., Nam, J.M., Thaxton, C.S., Mufson, E.J., Klein, W.L., Mirkin, C.A. (2005) Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102 (7)**: 2273-6.
- [38] Gouras, G.K., Tampellini, D., Takahashi, R.H., Capetillo-Zarate, E. (2010) Intraneuronal beta-amyloid accumulation and synapse pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, **119 (5)**: 523-41.
- [39] Choi, M.L., Gandhi, S. (2018) Crucial role of protein oligomerization in the pathogenesis of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Febs J*, **285 (19)**: 3631-3644.
- [40] De Strooper, B., Karran, E. (2016) The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Cell*, **164 (4)**: 603-15.
- [41] Iqbal, K., Alonso Adel, C., Chen, S., Chohan, M.O., El-Akkad, E., Gong, C.X., Khatoon, S., Li, B., Liu, F., Rahman, A., Tanimukai, H., Grundke-Iqbal, I. (2005) Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta*, **1739 (2-3)**: 198-210.
- [42] Braak, H., Braak, E. (1991) Neuropathological Staging of Alzheimer-Related Changes. *Acta Neuropathol*, **82 (4)**: 239-259.
- [43] Thathiah, A., De Strooper, B. (2011) The role of G protein-coupled receptors in the pathology of Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, **12 (2)**: 73-87.
- [44] Zlokovic, B.V. (2011) Neurovascular pathways to neurodegeneration in

- Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci*, **12 (12)**: 723-38.
- [45] Zhao, Z., Nelson, A.R., Betsholtz, C., Zlokovic, B.V. (2015) Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell*, **163 (5)**: 1064-1078.
- [46] Mesulam, N.M. (1999) Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: Bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron*, **24 (3)**: 521-529.
- [47] Karran, E., Mercken, M., De Strooper, B. (2011) The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, **10 (9)**: 698-712.
- [48] Stocker, H., Mollers, T., Perna, L., Brenner, H. (2018) The genetic risk of Alzheimer's disease beyond APOE epsilon 4: systematic review of Alzheimer's genetic risk scores. *Transl Psychiat*, **8**: 166.
- [49] Naj, A.C., Schellenberg, G.D., Consortium, A.s.D.G. (2017) Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. *Am J Med Genet B*, **174 (1)**: 5-26.
- [50] Lee, M.H., Siddoway, B., Kaeser, G.E., Segota, I., Rivera, R., Romanow, W.J., Liu, C.S., Park, C., Kennedy, G., Long, T., Chun, J. (2018) Somatic APP gene recombination in Alzheimer's disease and normal neurons. *Nature*, **563 (7733)**: 639-645.
- [51] Drummond, E., Wisniewski, T. (2017) Alzheimer's disease: experimental models and reality. *Acta Neuropathol*, **133 (2)**: 155-175.
- [52] Pignataro, A., Middei, S. (2017) Trans-synaptic spread of amyloid-beta in Alzheimer's disease: Paths to beta-amyloidosis. *Neural Plast*, **2017**: 5281829, doi: 10.1155/2017/5281829.
- [53] Jancso, G., Domoki, F., Santha, P., Varga, J., Fischer, J., Orosz, K., Penke, B., Becskei, A., Dux, M., Toth, L. (1998) Beta-amyloid (1-42) peptide impairs blood-brain barrier function after intracarotid infusion in rats. *Neurosci Lett*, **253 (2)**: 139-141.
- [54] Szegedi, V., Fulop, L., Farkas, T., Rozsa, E., Robotka, H., Kis, Z., Penke, Z., Horvath, S., Molnar, Z., Datki, Z., Soos, K., Toldi, J., Budai, D., Zarandi, M., Penke, B. (2005) Pentapeptides derived from Abeta 1-42 protect

modulatory effect of Abeta fibrils - an in vivo electrophysiological study. *Neurobiol Dis*, **18 (3)**: 499-508.

- [55] Bozso, Z., Penke, B., Simon, D., Laczko, I., Juhasz, G., Szegedi, V., Kasza, A., Soos, K., Hetenyi, A., Weber, E., Tohati, H., Csete, M., Zarandi, M., Fulop, L. (2010) Controlled in situ preparation of Abeta(1-42) oligomers from the isopeptide "iso-Abeta(1-42)", physicochemical and biological characterization. *Peptides*, **31 (2)**: 248-256.
- [56] Kasza, A., Hunya, A., Frank, Z., Fulop, F., Torok, Z., Balogh, G., Santha, M., Bernath, S., Blundell, K.L.I.M., Prodromou, C., Horvath, I., Zeiler, H.J., Hooper, P.L., Vigh, L., Penke, B. (2016) Dihydropyridine Derivatives Modulate Heat Shock Responses and have a Neuroprotective Effect in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, **53 (2)**: 557-571.
- [57] Wang, J., Gu, B.J., Masters, C.L., Wang, Y.J. (2017) A systemic view of Alzheimer disease - insights from amyloid-beta metabolism beyond the brain. *Nat Rev Neurol*, **13 (10)**: 612-623.
- [58] Sweeney, M.D., Sagare, A.P., Zlokovic, B.V. (2018) Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol*, **14 (3)**: 133-150.
- [59] Penke, B., Bogar, F., Fulop, L. (2016) Protein folding and misfolding, endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative diseases: In trace of novel drug targets. *Curr Protein Pept Sci*, **17 (2)**: 169-182.
- [60] Liu, X., Hebron, M., Shi, W., Lonskaya, I., Moussa, C.E. (2018) Ubiquitin specific protease-13 independently regulates parkin ubiquitination and alpha-synuclein clearance in alpha-synucleinopathies. *Hum Mol Genet*, doi: 10.1093/hmg/ddy365.



**Penke Botond** 1942-ben született, Beregszászon. 1965-ben végzett biológia-kémia szakos tanárként az ELTE-n. Pályafutását a szegedi József Attila Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszékén kezdte, majd 1977-től a Szegedi Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézetének docense. 1990-ben itt kapott egyetemi tanári megbízást. Magyarországi állásai mellett 1988–1989-ben a göttingeni Max Planck Kísérleti Orvostudományi Intézet, illetve több alkalommal a San Diego-i Salk Intézet vendégprofesszora volt. 1976-ban védte meg a kémiai tudomány kandidátusi, 1989-ben akadémiai doktori értekezését. Az MTA Szerves és Biomolekuláris Kémiai Bizottságának tagja. 2001-ben megválasztották az MTA levelező, 2007-ben pedig rendes tagjává. Akadémiai tisztségein túl a Magyar Peptidkémiai Társaság, a Magyar Gasztroenterológiai Társaság és a Magyar Kémikusok Egyesülete tagja, emellett az Európai és az Amerikai Peptid Társaság is felvette tagjai sorába. A *Journal of Peptide Science* és a *Current Protein and Peptide Science* című tudományos folyóiratok szerkesztőbizottsági tagja. 2012-től a Szegedi Tudományegyetem Orvosi Vegytani Intézetének professor emeritusa.



**Szűcs Mária** okleveles vegyészként végzett a szegedi József Attila Tudományegyetemen. 1977-2013 között az SZBK Biokémiai intézetében dolgozott, először Wollemann Mária kutatócsoportjában, majd önálló témavezetőként. Magyarországon elsők között tanulmányozta a hetvenes évek végén plazmamembrán (elsősorban opioid) receptorok kötési és funkcionális sajátságait, valamint a nyolcvanas évek végén kutatócsoportjával meghonosította a heterotrimer G proteinek kvalitatív és kvantitatív mérésére alkalmas módszereket. Tanulmányozta az opioid tolerancia/dependencia molekuláris mechanizmusait. A biológiai tudomány doktora címet 1997-ben kapta meg. Közel 5 évet töltött külföldi kutatóhelyeken (St. Louis University Medical School, St. Louis, MO, USA; University of Connecticut Health Sciences Center, Farmington, CT, USA; State University of New York, Brooklyn, NY, USA; MRC Neurobiology Unit, Cambridge, UK). 2010 óta napjainkig Penke Botonddal dolgozik részidőben az SZTE Orvosi Vegytani Intézetében, az Alzheimer-kór szakirodalmát dolgozza fel. 2017 óta nyugdíjas. Oktatóként rész vett az SZTE Elméleti Orvostudományok és a Biológiai Doktori Iskola munkájában, az Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola Habilitációs Bizottság tanácskozási jogú tagja. Tagja az MBKE-nek, a MIT-nek, az MKE Peptidkémiai Munkabizottságnak (ennek tikára 2015 óta), az International Narcotics Research Club-nak, a FENS-nek. Az „Agykutatás Hete” szegedi rendezvények egyik szervezője 2010-2014 között. Az MBKE internetes folyóiratának, a Biokémiának főszerkesztője 2009 óta.

## KIVÁLASZTÓSEJTEKSEL AZ ENDO-LIZOSZÓMÁLIS PÁNYVÁZÓFAKTOROK ÉS MÁŠ FEHÉRJÉK NYOMÁBAN

Lőrincz Péter<sup>1,2</sup>, Kenéz Lili Anna<sup>1</sup> és Juhász Gábor<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ELTE Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék, Budapest;

<sup>2</sup> MTA Prémium Posztdoktori Kutatói Program;

<sup>3</sup>MTA SZBK, Genetikai Intézet, Szeged

### Bevezetés

Az eukarióta sejtek összetett és dinamikusan változó szerkezettel bírnak. Belső membránjaik különféle tereket zárnak közre, amelyekben a sejt többi részétől elzárta, a sejt életéhez szükséges folyamatok (pl. fehérjeszintézis, lebontás stb.) zajlanak. A belső membránok által alkotott sejtszervecskék viszont nem egymástól elkülönülten léteznek, hanem folyamatos kapcsolatban és kölcsönhatásban állnak, bizonyos kompartmentek dinamikusan egymásba alakulni képesek. Ez sok esetben azt jelenti, hogy az adott kompartment egy másikkal egyesül, fúzionál. Ennek első lépése a membrán fehérje és lipid összetételének változása, amely során a membrán más identitást nyer és ezért ahhoz olyan effektor fehérjék toborzódnak, amelyek végső soron meghatározzák a sejtszervecske további sorsát [1].

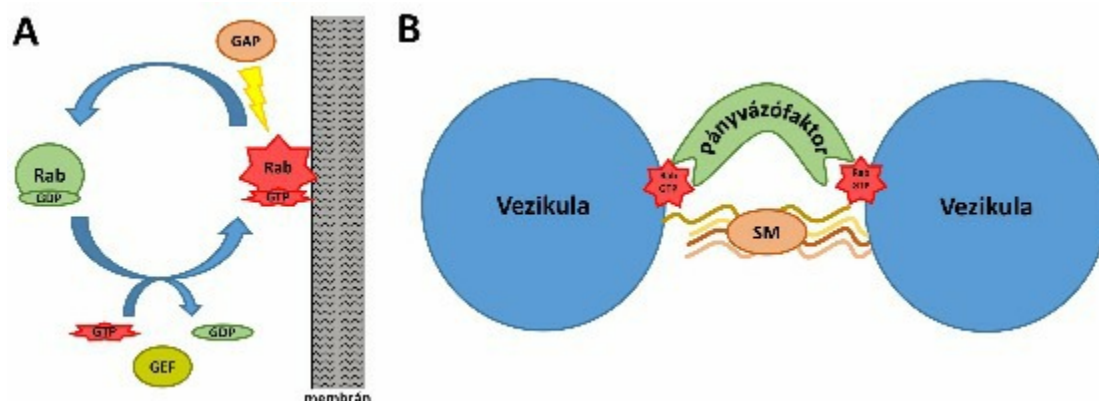
Endocitózis során igen látványosan tetten érhető ez a folyamat, ugyanis amikor a sejt anyagokat vesz fel, a kialakuló sejtszervecske - az endocitotikus vezikulum - a fejlődése során sok, a sejtbiológusok számára nagyon látványos változáson megy keresztül. Ennek megértéséhez röviden nézzük át az endoszómális utat.

### A Rab kis GTPázok és a klatrin mediált endocitózis

Az endocitózis egyik legáltalánosabb formája, a receptor mediált endocitózis során a ligandkötött receptorok alatt a membrán betűródik és egy klatrin burkos mélyedés alakul ki, amelyet aztán a dinamin fehérje lecsíp, a mélyedés tehát internalizálódik és innentől klatrin burkos vezikulumnak hívjuk. A klatrin burkot



a vezikulum gyorsan elveszíti, a kialakult képlet neve korai endocitotikus vezikulum, amelynek a membránját meghatározó legismertebb fehérje a Rab5 kis GTPáz [2, 3].



**1. ábra. A) Rab ciklus vázlatosan** (részletes magyarázat a szövegben). **B) A vezikula-fúziókban szereplő legfontosabb fehérjék** (a SNARE fehérjéket a képen különböző színű hullámvonalak jelölik).

Mielőtt azonban tovább mennénk az endocitotikus vezikulum sorsát illetően, tekintsük át röviden mik is azok a Rab kis GTPázok. A Rab fehérjék a Ras kis GTPázok közé tartozó monomer G fehérjék és az Arf kis GTPázokkal (amelyek szintén a Ras szupercsaládba tartoznak) együtt a sejten belüli membránforgalom legfőbb szabályozói. Lényegében időzített molekuláris kapcsolóknak tekinthetők, amelyek bekapcsolt állapotban GTP kötöttek és membránokhoz asszociálódnak, míg kikapcsolt állapotban GDP kötöttek és a citoszólban szolubilis helyezkednek el. A bekapcsolásukat GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor) fehérjék végzik úgy, hogy az inaktív Rab fehérje által kötött GDP-t GTP-re cserélik, ami elősegíti a Rab - itt nem részletezett módon történő - célmembránhoz asszociálódását. A Rab-ok azért tekinthetőek időzített kapcsolóknak, mert GTPáz aktivitással bírnak, azaz a megkötött GTP-t képesek elhidrolizálni, így csak korlátozott ideig képesek aktív állapotban maradni. A GTP hidrolízisét, azaz a Rab kikapcsolását GAP (GTPase-Activating Protein) fehérjék segítik, majd az inaktív Rab fehérjét GDI (GDP Dissociation Inhibitor) fehérjék jutattják vissza a citoszólba és a ciklus kezdődhet előlről (1.A ábra). Az aktivált Rab fehérje legfontosabb tulajdonsága, hogy számos effektor fehérje tud hozzá

kapcsolódni, amelyek a membrán további sorsát fogják meghatározni. A teljesség igénye nélkül ilyen effektorok lehetnek különféle motorfehérjék, kinázok, foszfatázok, pányvázófaktorok [1, 3, 4].

A korai endocitotikus vezikulum membránjához asszociált Rab5 fehérje tehát olyan fehérjéket toboroz a membránhoz, amelyek a vezikulumot tovább irányítják az endo-lizoszómális út következő állomása felé, amely a korai endoszóma. A korai endocitotikus vezikulumok egymással és magával a korai endoszómával is képesek egyesülni. A korai endoszóma membránjában főleg még Rab5 fehérjét találunk, de bizonyos membránrészletek Rab4 vagy Rab11 kis GTPázot is tartalmaznak. Ugyanis a korai endoszóma az a sejt szervecske, amelyben a felvett receptorok, ligandumok stb. további sorsa eldől. Azok a receptorok (és ligandjaik), amelyek a fentebb említett két Rab fehérje által meghatározott membránrészletekbe kerülnek, visszajutnak, azaz reciklizálódnak a plazmamembránba, míg a többi sorsa a lizoszómális lebontás. Ugyanis az aktív Rab5 olyan fehérjéket is köt, amelyek a membránhoz egy másik Rab fehérjét, a Rab7-et toborozzák. Amire az endoszóma membránja már kizárólag Rab7-et tartalmaz, addigra az endoszóma morfológiája markánsan megváltozik: a membránban megtalálható ligandum-receptor komplexek apró intraluminális vezikulumokba kerülnek, így a kialakult organellumot már multivezikuláris testnek, más néven késői endoszómának nevezzük. A Rab7 fehérje pedig olyan effektorokat képes toborozni, amelyek a késői endoszóma-lizoszóma fúziót hajtják végre, így a felvett anyag megemésztődhet [2, 3].

### **Fúziós lépések az endo-lizoszómális rendszerben**

Mint a fenti bevezetőből kitűnik az endoszómális út számos fúziós lépést tartalmaz: a korai endocitotikus vezikulumok egymással és a korai endoszómákkal, a különféle endoszómák pedig egymással és lizoszómákkal képesek fuzionálni. A lizoszóma a sejt számára nagyon fontos organellum, amelybe nemcsak az endoszómális rendszer szállítmánya érkezik, hanem többek között a sejt által lebontásra ítélt saját anyagokat (autofágia) és szekréciós granu-

lumokat (krinofágia) is a lizoszómális rendszer bontja le. A lizoszómális fúziókat a Rab7, Rab2 és az Arl8 kis GTPázok szabályozzák [5-11].

A vezikulafúziók a legtöbb esetben hasonlóan zajlanak, és egyik fontos kezdeti lépésük az, hogy az aktivált Rab fehérjéhez pányvázófaktorok toborzódnak. Ezek állhatnak egy fehérjéből vagy lehetnek több alegységes fehérje komplexek egyaránt. Az viszont közös bennük, hogy Rab-GTP kötésre képesek, így a fúzionálandó membránokat/vezikulumokat egymáshoz rögzítik. Ezt követően ide SM (Sec1/Munc18) fehérjék toborzódnak és összeszerelődik a 3 vagy 4 alegységből álló, de minden esetben 4 SNARE (Soluble NSF Attachment protein REceptor) domaint tartalmazó transz-SNARE komplex. A SNARE fehérjék közül az egyik az egyik membránban, a többi pedig a másikban helyezkedik el, és egymásra tekeredve képesek a két membránt összenyomva egyesíteni. Ezt a folyamatot az SM fehérjék, vagy bizonyos esetekben maga a pányvázó komplex is katalizálja (1.B ábra) [1, 12].

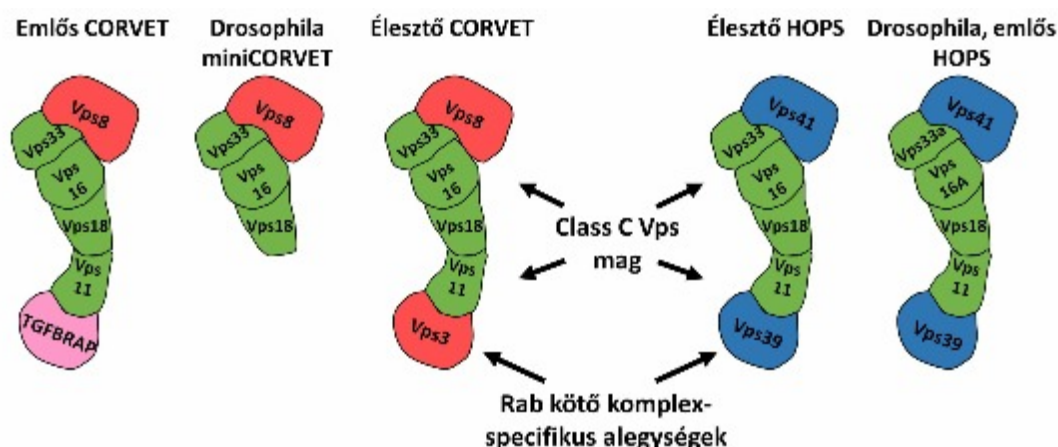
Ezáltal belátható, hogy a fúziós eseményeket irányító fehérjék nélkül vezikulafúzió, tehát a dinamikus sejtműködés elképzelhetetlen. Ma már több mint 60 SNARE fehérjét és számos pányvázó faktort ismerünk, amelyek a sejten belüli membrántranszport folyamat valamelyikére többé kevésbé specifikusak. Így ismerünk pl. a Golgi készülék (pl. COG (Conserved Oligomeric Golgi Complex)) vagy exocitózis/szekréció (pl. exocyst complex) specifikus komplexet is [13, 14].

Tanszékünkön nagy hagyománya van az egyik fő lizoszómális út, az autofágia tanulmányozásának. Ahogyan azt fentebb is láthattuk, lizoszómába nemcsak autofág, tehát saját eredetű anyag érkezik, hanem pl. endoszómális eredetű is, így az utóbbi években egyre inkább az autofág és endocitotikus folyamatokat, mint egymástól nem teljesen elválasztható lebontó útvonalakat vizsgáljuk. A munkánk kezdetén viszont azzal a problémával szembesültünk, hogy míg az elmúlt évtizedekben az autofágia vizsgálatára a lárvális muslica zsírszövet szinte tökéletes modell szervnek bizonyult és számos riporter, reagens és metódus áll

rendelkezésünkre [15, 16], addig az endocitózis, különös tekintettel az endoszómális fúziók vizsgálatára ilyen jól használható eszközkészletünk nem volt. Viszont egy szerencsés véletlen következtében, amely egy különleges pányvázó faktornak köszönhető, a helyzet mára sokat javult.

## A több alegységes endoszómális-lizoszómális pányvázófaktorok - CORVET és HOPS

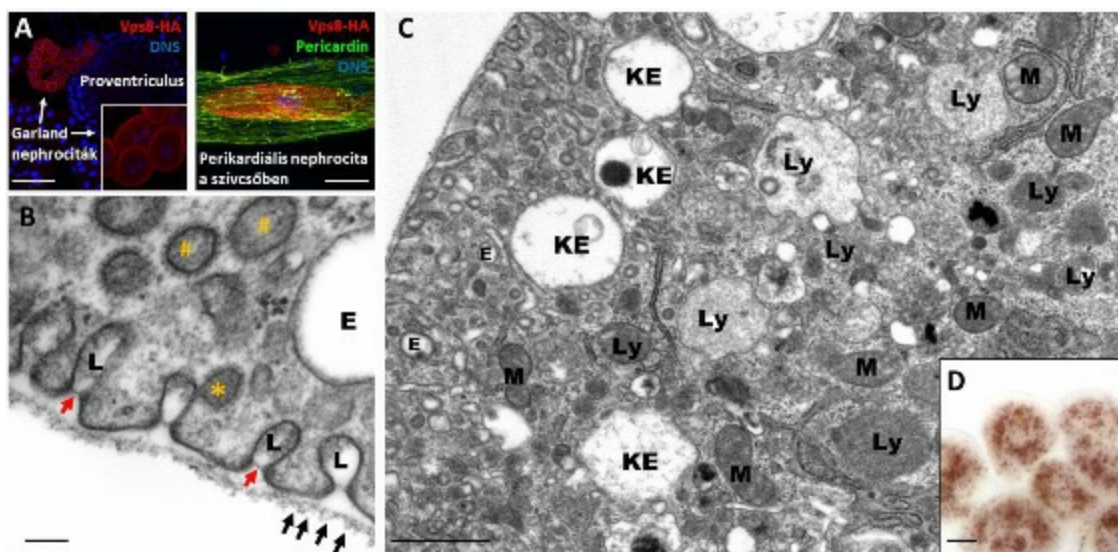
Az endoszómális-lizoszómális pányvázófaktorok és számos egyéb fehérje többségét élesztőben azonosították először, amelyek a legtöbb esetben konzerváltak többsejtűekben is. Így pl. az említett Rab5 és Rab7 fehérjék, a Rabenosyn-5 (Rbsn-5) fehérje (amely Rab5 tartalmú membránok, azaz korai endoszómák és endocitotikus vezikulumok pányvázója) vagy a hat alegységes HOPS (HOmotypic fusion and vacuole Protein Sorting, a Rab7, Rab2 és Arl8 tartalmú membránok, azaz a Golgi vezikulumok, késői endoszómák, autofagoszómák és lizoszómák pányvázója) homológjai mind megtalálhatóak magasabb rendű élőlényekben [6, 17, 18]. Azonban volt egy viszonylag későn azonosított komplex, amelynél a konzerváltság egyáltalán nem egyértelmű. Ez a komplex a CORVET (class C cORE Vacuole/Endosome Tethering) nevet viseli és hasonló a HOPS komplexhez.



**2. ábra. Különböző CORVET és HOPS komplexek felépítése.** Zöld színnel a Class C Vps-ek vannak jelölve, amelyek a komplexek központi részét alkotják. A HOPS specifikus Rab7 kötő alegységeket kék szín jelöli. A CORVET specifikus Rab5 kötő fehérjéket pedig piros vagy lila szín. Mivel a TGFBRAP a HOPS-ban megtalálható Vps39 paralógja, a lila szín a két fehérje rokonságát, illetve az élesztőben megtalálható Vps3-tól való eltérést mutatja.

Élesztőben mindkét komplex tartalmaz 4 közös alegységet, a Vps (Vacuolar protein sorting) 11, 16, 18 és 33 fehérjét, és közülük a Vps33 SM fehérje aktivitással is bír, tehát a komplexek a pályvázáson kívül a SNARE működéshez is fontosak [12, 19].

A 4 alegységes „class C” mag két ellentétes végén pedig Rab kötő alegységek találhatóak: a CORVET-ben a Rab5 kötésért felelős Vps8 és Vps3, a HOPS-ban pedig a Rab2, illetve Rab7 kötő Vps41 és Vps39 (2. ábra) [5, 8]. A két komplexet alkotó fehérjék egy kivételével mind konzerváltak, azonban a CORVET specifikus Vps3 kizárólag gombákban van jelen. Így a CORVET létezése magasabb rendűekben erősen kétséges volt. Nemrég mutatták be, hogy talán a Vps39 paralógja, a TGFBRAP1 töltheti be emlősökben a hiányzó Vps3 funkcióját, de hogy pontosan mit is csinál az emlős CORVET és pontosan milyen endoszómákat pályváz, az kérdéses [20, 21].



**3. ábra. A) A Vps8-HA riporter (az ábrán piros) a lárvális kiválasztósejtekben fejeződik ki** (bal oldali mérce: 100  $\mu$ m, jobb oldali mérce: 20  $\mu$ m, a Pericardin fehérje (a képen zöld színben) a szívcső falát jelöli ki). A sejtmagokat a DNS-t kék színnel festő fluoreszcens festékkel tettük láthatóvá. **B) A garland nefrocita lakúnáinak (L) és ultraszűrő membránjának (piros nyilak) elektronmikroszkópos képe.** Csillag: klatrin burkos mélyedés, kettőskereszt: klatrin burkos vezikulum, E: korai endoszóma, fekete nyilak: alaphártya. Mérce: 200 nm. **C) A garland nefrocita citopazmája számos endoszómát és lizoszómát tartalmaz.** E: korai endoszóma, KE: késői endoszóma, Ly: lizoszóma, M:mitokondrium. Mérce: 1  $\mu$ m. **D) AgNO<sub>3</sub> tartalmú táptalajon nevelt muslicalárva garland sejtjeiben jól láthatóak az ezüstöt tartalmazó raktározó lizoszómák (barna pöttyök).** Mérce: 20  $\mu$ m. Az ábra A) panelje a következő publikációból származik [22], ami a CC BY 4.0 licenz alapján szabadon felhasználható.



Muslicában viszont az a különleges, hogy genomjában sem *vps3* sem *tgfbrap/vps39-2* nincs jelen, de a *vps8* gén igen. Ezért azt szerettük volna kideríteni, hogy mi a funkciója a Vps8-nak muslicákban, illetve létezhet-e valamilyen más komplexforma az élesztő és emlős CORVET komplexen kívül. Első lépésben riportert készítettünk, amely a *vps8* gén promótere által szabályozottan fejeztet ki Vps8-HA (HA: hemagglutinin) fúziós fehérjét. Viszont, amikor a hemagglutinin-tagre specifikus ellenanyaggal megfestettük a lárvális muslica-szerveket kiderült, hogy szinte az összes szervben a festhetőség alatti szinten fejeződött ki a reporter. Ez alól a vérsejtek (és lárvális nyirokszervek), valamint a lárvális kiválasztó sejtek kivételnek bizonyultak (3.A ábra) [22]. Ez nagyon fontos nyom volt a számunkra, ugyanis ezek a sejtek végeznek legintenzívebben endocitózist a muslica lárvákban. A vérsejtek elsősorban fagocitálnak, és a fagocitózis vizsgálatának fontos modelljei. A kiválasztó sejtek pedig, ahogy a nevük is mutatja a kiválasztó rendszer részei, de több szempontból is különböznek a gerincesek hasonló funkciójú sejtjeitől.

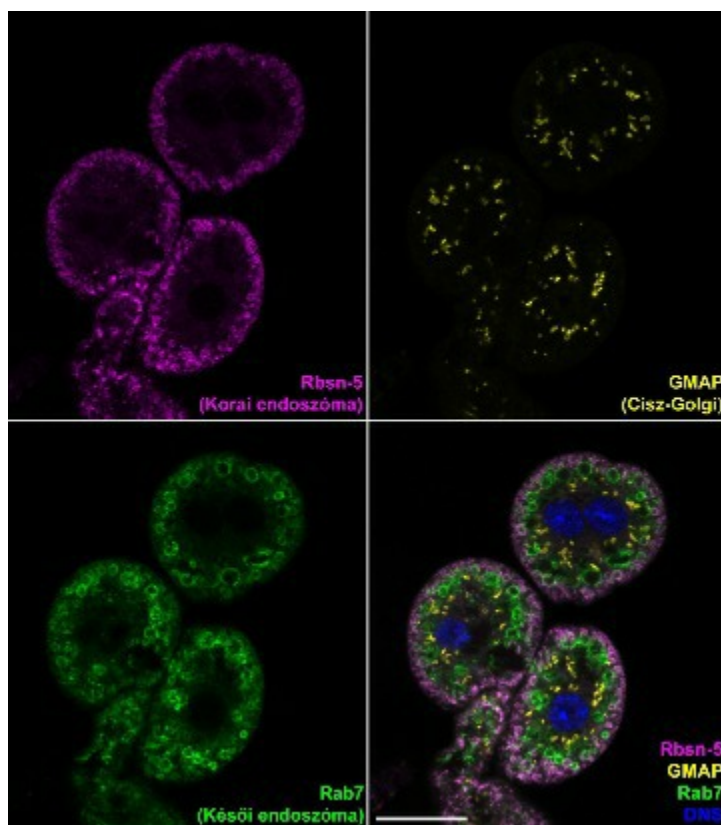
### **A rovarok különleges kiválasztó sejtjei**

Az emlősöktől eltérően a rovarok kiválasztó rendszere két részből áll. A szélesebb körben ismert Malpighi edények a nitrogén-, víz- és ionháztartásáért felelősek, míg a kiválasztó sejtek elsősorban a testfolyadékban található fölösleges/káros anyagokat próbálják meg eltávolítani vagy legalább izolálni [23]. A kiválasztó sejtek a szívcső falában és a nyelőcső körül koszorúszerűen helyezkednek el. Előbbiek neve perikardiális nefrocita, utóbbiak a garland nefrociták (a garland angolul koszorút, girlandot jelent). A két sejtfeleség lényegében ugyanazt a feladatot végzi, a felépítésük szinte teljesen azonos, különbség az elhelyezkedésük mellett a sejtmagok számában (a perikardiális sejt egy, a garland sejt két magvú) és a sejtalakban (az előbbi elnyújtottabb) van (3.A ábra) [23].

Elhelyezkedésükből következik, hogy nem csatlakoznak csőrendszerhez, így a „kiválasztandó” anyagokat a szó szoros értelmében nem képesek kiválasztani.



Mivel a rovar keringési rendszer nyílt, így a hemolimfa nyomása nem elégséges ahhoz, hogy a szűrőmembránon keresztül egy kiválasztó csőbe préselje a szűrletet. A megoldást a sejt felszínén kell keresnünk: a sejtfelszínük rendkívüli mértékben lakúnákkal (a plazmamembrán árkaival, betűródéseivel) borított, amelyek nyílását ultraszűrő membrán zárja le (3.B ábra). Ez a membrán ultrastruktúráját és fehérjekészletét tekintve szinte azonos az emberivel, nagyon szép példát mutatva arra, hogy olyan élőlényekben és szervekben található homológiát, amelyben első ránézésre nem is várnánk [24]. A lakúnák, betűródések mélyén pedig rengeteg klattrin burkos mélyedés található, amely mutatja, hogy itt igen intenzív endocitózis zajlik, tehát lényegében a sejt folyamatosan veszi fel innen a hemolimfát, az ultraszűrő membránon mintegy „átszívva” (3.B ábra). A felvett anyagot azután vagy reciklizálja, vagy lizoszómális rendszere segítségével bontja le. Azokat az anyagokat, pl. nehézfémeket, amikkel nem tud mit kezdeni, a lizoszómáiban elraktározza (3.D ábra).



**4. ábra.** Vad típusú *ecetmuslica* lárvális kiválasztósejtjeinek képe korai endoszómát (Rbsn-5, az ábrán magenta), késői endoszómát (Rab7, az ábrán zöld) és cisz-Golgi készüléket (GMAP, az ábrán sárga) felismerő ellenanyagokkal történt immunfestést követően. A sejtmagot jelölő DNS festék kék színnel látható. Mércé: 20  $\mu$ m.

Emiatt a rovar kiválasztó sejtek összességét a klasszikus irodalom „raktározó típusú” vesének nevezi [25, 26]. Bár sok különbség van a rovar és a gerinces vese között, az ultraszűrő membrán homológiája miatt a rovar nefrociták a kiválasztó funkciók vizsgálatának kedvelt modelljei, de ahogy azt alább látni fogjuk, másra is kitűnően alkalmasak.

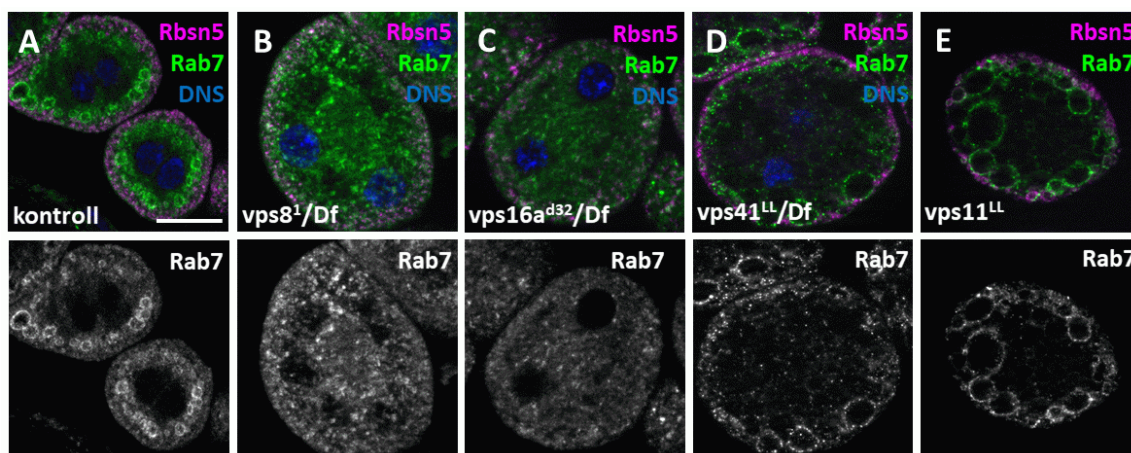
### **Egy különleges pányvázókomplex, a miniCORVET azonosítása**

A Vps8-HA riporter mutatta meg nekünk, hogy nefrocitákkal kell dolgoznunk, ha a CORVET funkcióit szeretnénk muslicában tanulmányozni. Ez a sejtfeleség folyamatos, tehát nem indukált endocitózist végez, ráadásul viszonylag állandó sebességgel. Ennek köszönhetően a garland nefrocita mind fény, mind elektronmikroszkópos szinten nagyon jellegzetes és szép felépítést mutat: a sejtmembrán alatt közvetlenül a korai endoszómák és endocitotikus vezikulumok rétege található, alatta a nagyobb átmérőjű Rab7 pozitív késői endoszómák rétege található, és ezzel részben átfedve, de a sejtmagokhoz közelebb pedig a lizoszómák és Golgi készülékek rétege van (3.C ábra, 4. ábra). A sejtben legbelül nagy kiterjedésű ER és két sejtmag található. Mivel ezek a rétegek normálisan mindig jelen vannak az állatban, így bármi, ami az endocitózis/lizoszóma képződés folyamatát megzavarja igen látványos és jól detektálható fenotípust okoz.

Felismertük, hogy a Vps8 hiányában a késői endoszómák mérete igen apró lesz, míg a korai endoszómák mérete lényegében nem változik (5.A, B ábra). Mivel a Vps8 korai endoszómákon Rab5-öt köt, így feltételezhető, hogy ilyenkor a korai endoszómák kialakulnak, a korai endocitotikus vezikulumok tudnak egyesülni, de a korai endoszómák fúziója hiányában azok csak apró késői endoszómákká képesek alakulni [22].

Mivel a fenotípus alapján a Vps8 szükséges az endoszómális fúziókhoz, ezért a HA-tag-et csaliként felhasználva ko-immunoprecipitációs és tömegspektrometriás vizsgálatokat végeztünk, hogy megállapítsuk, hogy vajon létezik-e CORVET a

muslicában. Meglepetésünkre sikerült kifognunk a Vps8-HA-val a CORVET és HOPS közös alegységeit, azaz a class C Vps fehérjéket, de csak hármat!



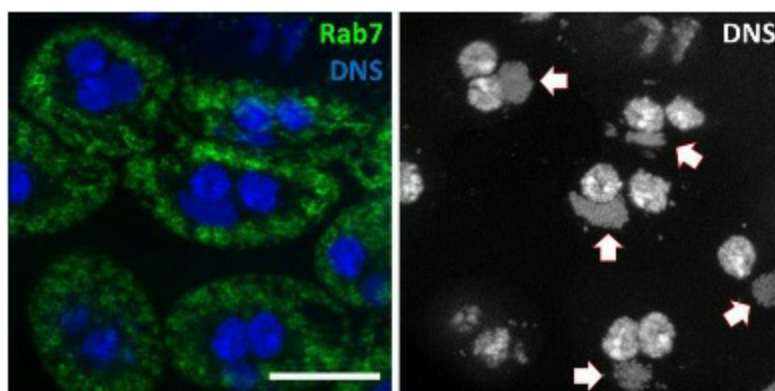
**5. ábra. MiniCORVET és HOPS mutáns kiválasztósejtekben az endoszómák mérete, eloszlása látványosan megváltozik.** A kontrollhoz (A) képest a miniCORVET specifikus Vps8 (B) vagy a Vps16A (C) class C Vps fehérje (amely mindkét komplexben benne van) hiányában, a korai endoszómális fúziók hiánya miatt, a Rab7 pozitív (a kompozit képeken zöld) késői endoszómák sokkal kisebbek és szinte kitöltik a citoplazmát. A HOPS specifikus Vps41 (D) hiányában a Rab7 pozitív (a kompozit képeken zöld) késői endoszómák nem tudnak lizoszómákkal fúzióálni, ezért méretük látványosan megnő. Mivel a Vps11 class C Vps fehérje hiányában a fenotípus a Vps41 mutáns fenotípusával és nem a Vps8 mutánssal egyezik meg, ezért a Vps11 nem része a miniCORVETnek. A magenta színnel jelölt Rbsn-5 pozitív korai endoszómák mérete, eloszlása egyik mutánsban sem változik számottevően. A sejtmagokat a DNS-t kék színnel festő fluoreszcens festékkel tettük láthatóvá. A színes kompozitképek alatt a Rab7 pozitív késői endoszómákat mutató csatorna fekete-fehéren is be van mutatva. Az ábra a következő publikációból származik: [22] amely a CC BY 4.0 licenz alapján szabadon felhasználható. Mércse: 20  $\mu$ m.

A Vps18, Vps33A és Vps16A komplexben volt a Vps8-al, de a Vps11 nem. Ráadásul, míg a Vps8-al kölcsönható három class C fehérje hiányában a Rab7 mintázat a Vps8 mutáns fenotípusával megegyezőnek bizonyult, addig a Vps11 mutáns állatok késői endoszómái nemhogy nem kisebbek, hanem pont ellenkezőleg, hatalmasak. Ez a fenotípus pedig teljesen megegyezett a Vps39 és Vps41 HOPS specifikus alegységek funkcióvesztéses fenotípusával (5.A,D,E ábra). Ez arra utal, hogy muslicákban létezik ugyan CORVET, viszont az kisebb - hat helyett négy alegységes - ezért miniCORVET-nek neveztük el (2. ábra). Az, hogy hogyan is működhet ez a kisebb komplex, az még nyitott kérdés. Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy más pályvázófaktorokkal (pl. Rabenosyn-5) működhet együtt, de ennek a lehetőségnek az igazolása/vizsgálata még hátra van [22].

A miniCORVET azonosítása egy további fontos jelentőséggel bír: kezünkbe került az a sejtípus, amely kitűnően alkalmas az endoszómális transzport és lebontás vizsgálatára. Viszonylag könnyen preparálható, folyamatos endocitózist végez és benne az organellek olyan méretűek és elhelyezkedésűek, hogy azok fény- és elektronmikroszkópiával egyaránt könnyen azonosíthatóak. Korai endoszómális fúziók hiányában kisebb endoszómák keletkeznek (ez megjelenhet a korai, illetve késői endoszómák szintjén is). Lizoszóma biogenezis és fúziós hiba esetén, a lebontás hiánya miatt a késői endoszómák és hibás lizoszómák óriásira nőnek [22].

### Nefrociták használata a jövőben

A fentebbiek ismeretében egyértelműnek tűnik, hogy ezek a sejtek endocitózis vizsgálatára kitűnőek, ennek ellenére meglepő, hogy nagyon kevés endocitózisról/lizoszómákról szóló cikk született ennek a sejtípusnak a tanulmányozásával. Ezek azonban egyáltalán nem elhanyagolható jelentőségűek: ebben a sejtípusban ismerték fel pl. az elsők között, hogy a dinamin csípi le az endocitotikus vezikulákat a membránról [27, 28], vagy hogy az ESCRT-0 alegysége, a Hrs szükséges az endoszómák által felvett receptor-ligandkomplexek intraluminális vezikulákba történő felvételéhez, azaz a multivezikuláris test képzéshez [29]. Egy későbbi munkánk során többek között a muslica nefrocitákkal sikerült igazolnunk, hogy a Rab2 Golgi Rab kis GTPáz szükséges a lizoszóma biogenezishez, így az endoszómális és autofág lebontáshoz [6].



**6. ábra.** *Wolbachia*val fertőzött *ecetmuslica* lárvális kiválasztósejtekben baktériumcsoportok DNS-festékekkel láthatóvá tehetőek (nyilak). Mércse: 20  $\mu$ m.

A fentieken kívül számos génről és fehérjéről feltételezzük, hogy a fentebb leírt folyamatokban szükségesek, így az ezzel a sejtféleséggel végzett munkáink nem fejeződtek be, sőt ugyancsak a véletlennek köszönhetően új távlatok is megnyíltak előttünk: néhány törzsben a két sejtmag mellett apró DNS festékkel festhető rögöket találtunk, amelyekről kiderült, hogy azok *Wolbachia pipientis* [30] baktériumok (6. ábra).

A *Wolbachia* egy Gram negatív intracelluláris baktérium, amely a Föld egyik legelterjedtebb parazitája. A szárazföldi ízeltlábú fajok 40%-ából kimutatható, de más gerincteleneket, pl. emberi kórokozó féregfajokat is fertőz. [31]. Obligát parazita, azaz gazdaszervezet nélkül életképtelen, ezért endoszimbiontának vagy reprodukív parazitának tekintik [32]. A túlélésért cserébe a gazdaszervezet más patogénekkal szembeni ellenállóképesége látványosan megnövekszik [33, 34]. A feltételezések szerint a baktériumot a sejtek valószínűleg receptor-mediált endocitózissal veszik fel. [35] Az, hogy hogyan is alakulnak ki a *Wolbachia* tartalmú vakuólumok, még egyáltalán nem ismert, véleményünk szerint ennek a kérdésnek a megválaszolására is alkalmas lehet a garland nefrocita.

### Irodalomjegyzék

- [1] Wickner, W., Schekman, R. (2008) Membrane fusion. *Nature structural & molecular biology*, **15 (7)**: 658-64.
- [2] Doherty, G.J., McMahon, H.T. (2009) Mechanisms of endocytosis. *Annual review of biochemistry*, **78**: 857-902.
- [3] Stenmark, H. (2009) Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nature reviews. Molecular cell biology*, **10 (8)**: 513-25.
- [4] Zhen, Y., Stenmark, H. (2015) Cellular functions of Rab GTPases at a glance. *Journal of cell science*, **128 (17)**: 3171-3176.
- [5] Balderhaar, H.J., Ungermann, C. (2013) CORVET and HOPS tethering complexes—coordinators of endosome and lysosome fusion. *Journal of cell science*, **126 (6)**: 1307-1316.



- [6] Lorincz, P., Toth, S., Benko, P., Lakatos, Z., Boda, A., Glatz, G., Zobel, M., Bisi, S., Hegedus, K., Takats, S., Scita, G., Juhász, G. (2017) Rab2 promotes autophagic and endocytic lysosomal degradation. *The Journal of cell biology*, **216 (7)**: 1937-1947.
- [7] Hegedus, K., Takats, S., Boda, A., Jipa, A., Nagy, P., Varga, K., Kovacs, A.L., Juhász, G. (2016) The Ccz1-Mon1-Rab7 module and Rab5 control distinct steps of autophagy. *Molecular biology of the cell*, **27 (20)**: 3132-3142.
- [8] Solinger, J.A., Spang, A. (2013) Tethering complexes in the endocytic pathway: CORVET and HOPS. *The FEBS journal*, **280 (12)**: 2743-2757.
- [9] Pankiv, S., Alemu, E.A., Brech, A., Bruun, J.A., Lamark, T., Overvatn, A., Bjorkoy, G., Johansen, T. (2010) FYCO1 is a Rab7 effector that binds to LC3 and PI3P to mediate microtubule plus end-directed vesicle transport. *The Journal of cell biology*, **188 (2)**: 253-69.
- [10] Csizmadia, T., Lorincz, P., Hegedus, K., Szeplaki, S., Low, P., Juhász, G. (2018) Molecular mechanisms of developmentally programmed crinophagy in *Drosophila*. *The Journal of cell biology*, **217 (1)**: 361-374.
- [11] McEwan, D.G., Popovic, D., Gubas, A., Terawaki, S., Suzuki, H., Stadel, D., Coxon, F.P., Miranda de Stegmann, D., Bhogaraju, S., Maddi, K., Kirchof, A., Gatti, E., Helfrich, M.H., Wakatsuki, S., Behrends, C., Pierre, P., Dikic, I. (2015) PLEKHM1 regulates autophagosome-lysosome fusion through HOPS complex and LC3/GABARAP proteins. *Molecular cell*, **57 (1)**: 39-54.
- [12] Sudhof, T.C., Rothman, J.E. (2009) Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins. *Science (New York, N.Y.)*, **323 (5913)**: 474-7.
- [13] Brocker, C., Engelbrecht-Vandre, S., Ungermann, C. (2010) Multisubunit tethering complexes and their role in membrane fusion. *Current biology : CB*, **20 (21)**: R943-52.
- [14] Lürick, A., Kümmel, D., Ungermann, C. (2018) Multisubunit tethers in membrane fusion. *Current Biology*, **28 (8)**: R417-R420.
- [15] Lorincz, P., Mauvezin, C., Juhász, G. (2017) Exploring Autophagy in *Drosophila*. *Cells*, **6 (3)**:



- [16] Nagy, P., Varga, A., Kovacs, A.L., Takats, S., Juhász, G. (2015) How and why to study autophagy in *Drosophila*: it's more than just a garbage chute. *Methods*, **75**: 151-61.
- [17] Kummel, D., Ungermann, C. (2014) Principles of membrane tethering and fusion in endosome and lysosome biogenesis. *Current opinion in cell biology*, **29**: 61-6.
- [18] Khatter, D., Raina, V.B., Dwivedi, D., Sindhwani, A., Bahl, S., Sharma, M. (2015) The small GTPase Arl8b regulates assembly of the mammalian HOPS complex on lysosomes. *Journal of cell science*, **128 (9)**: 1746-61.
- [19] Fratti, R.A., Wickner, W. (2007) Distinct targeting and fusion functions of the PX and SNARE domains of yeast vacuolar Vam7p. *Journal of Biological Chemistry*, **282 (17)**: 13133-13138.
- [20] Perini, E.D., Schaefer, R., Stoter, M., Kalaidzidis, Y., Zerial, M. (2014) Mammalian CORVET is required for fusion and conversion of distinct early endosome subpopulations. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, **15 (12)**: 1366-89.
- [21] Lachmann, J., Glaubke, E., Moore, P.S., Ungermann, C. (2014) The Vps39-like TRAP1 is an effector of Rab5 and likely the missing Vps3 subunit of human CORVET. *Cellular logistics*, **4 (4)**: e970840.
- [22] Lorincz, P., Lakatos, Z., Varga, A., Maruzs, T., Simon-Vecsei, Z., Darula, Z., Benko, P., Csordas, G., Lippai, M., Ando, I., Hegedus, K., Medzihradzsky, K.F., Takats, S., Juhász, G. (2016) MiniCORVET is a Vps8-containing early endosomal tether in *Drosophila*. *eLife*, **5**.
- [23] Denholm, B., Skaer, H. (2009) Bringing together components of the fly renal system. *Current opinion in genetics & development*, **19 (5)**: 526-32.
- [24] Weavers, H., Prieto-Sanchez, S., Grawe, F., Garcia-Lopez, A., Artero, R., Wilsch-Brauninger, M., Ruiz-Gomez, M., Skaer, H., Denholm, B. (2009) The insect nephrocyte is a podocyte-like cell with a filtration slit diaphragm. *Nature*, **457 (7227)**: 322-6.
- [25] Kowalevsky, A. (1889) Ein Beitrag zur Kenntnis der Excretions-organe. *Biol Centralbl*, **9**: 74-79.

- [26] Wigglesworth, V.B. (1943) The fate of haemoglobin in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and other blood-sucking arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **131 (865)**: 313-339.
- [27] Narita, K., Tsuruhara, T., Koenig, J.H., Ikeda, K. (1989) Membrane pinch-off and reinsertion observed in living cells of *Drosophila*. *Journal of cellular physiology*, **141 (2)**: 383-91.
- [28] Kosaka, T., Ikeda, K. (1983) Reversible blockage of membrane retrieval and endocytosis in the garland cell of the temperature-sensitive mutant of *Drosophila melanogaster*, *shibirets1*. *The Journal of cell biology*, **97 (2)**: 499-507.
- [29] Lloyd, T.E., Atkinson, R., Wu, M.N., Zhou, Y., Pennetta, G., Bellen, H.J. (2002) Hrs regulates endosome membrane invagination and tyrosine kinase receptor signaling in *Drosophila*. *Cell*, **108 (2)**: 261-269.
- [30] Hertig, M., Wolbach, S.B. (1924) Studies on rickettsia-like microorganisms in insects. *The Journal of medical research*, **44 (3)**: 329.
- [31] Zug, R., Hammerstein, P. (2012) Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PloS one*, **7 (6)**: e38544.
- [32] Charlat, S., Hurst, G.D.D., Merçot, H. (2003) Evolutionary consequences of *Wolbachia* infections. *Trends in Genetics*, **19 (4)**: 217-223.
- [33] Teixeira, L., Ferreira, Á., Ashburner, M. (2008) The Bacterial Symbiont *Wolbachia* Induces Resistance to RNA Viral Infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology*, **6 (12)**: e1000002.
- [34] Martinez, J., Longdon, B., Bauer, S., Chan, Y.S., Miller, W.J., Bourtzis, K., Teixeira, L., Jiggins, F.M. (2014) Symbionts commonly provide broad spectrum resistance to viruses in insects: a comparative analysis of *Wolbachia* strains. *PLoS Pathog*, **10 (9)**: e1004369.
- [35] White, P.M., Pietri, J.E., Debec, A., Russell, S., Patel, B., Sullivan, W. (2017) Mechanisms of Horizontal Cell-to-Cell Transfer of *Wolbachia* spp. in *Drosophila melanogaster*. *Applied and environmental microbiology*, **83 (7)**:



**Lőrincz Péter** 2009-ben szerzett biológus diplomát, majd Prof. Dr. Sass Miklós témavezetésével kezdte meg doktori tanulmányait az ELTE Anatómiai Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszékén, ahol 2012 januárjától egyetemi tanársegédként dolgozik, 2017-ben PhD fokozatot szerzett. 2014 nyarától Prof. Dr. Juhász Gábor kutatócsoportjában az endoszómák és autofagoszómák érési folyamatait vizsgálja. 2016-ban munkatársaival azonosította a korai endoszómák pányvázásához szükséges, addig ismeretlen miniCORVET komplexet. Eredményeiért 2016-ban elnyerte az Új Nemzeti Kiválósági Program doktorjelölti ösztöndíját. 2017-ben munkatársaival azonosított egy új, a lizoszómális lebontáshoz nélkülözhetetlen fehérjét, a Rab2-t. Jelenleg az ELTE Anatómiai Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszéken az MTA Prémium Posztdoktori Kutatói Program keretein belül a Wolbachia tartalmú vakuólum kialakulását és az autofagoszómák és endoszómák érési folyamatát vizsgálja.



**Kenéz Lili Anna** 2018-ban szerzett BSc diplomát az ELTE biológia szakán, dolgozatát a lizoszómák mozgásának molekuláris mechanizmusairól írta. Jelenleg MSc hallgatóként Prof. Dr. Juhász Gábor - az ELTE Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai tanszéken folyó - kutatásaiba kapcsolódott be. Dr. Lőrincz Péter témavezetése mellett a lizoszómális lebontás során fontos membránfúziós fehérjéket vizsgálja. 2015-óta az ELTE Bolyai Szakkollégiumának tagja, 2018-ban elnyerte az Új Nemzeti Kiválóság Program ösztöndíját a Wolbachia pipientis tartalmú vakuólum kialakulásának a tanulmányozására. Ugyanebben az évben megkapta a Nemzeti Felsőoktatási Ösztöndíjat is.

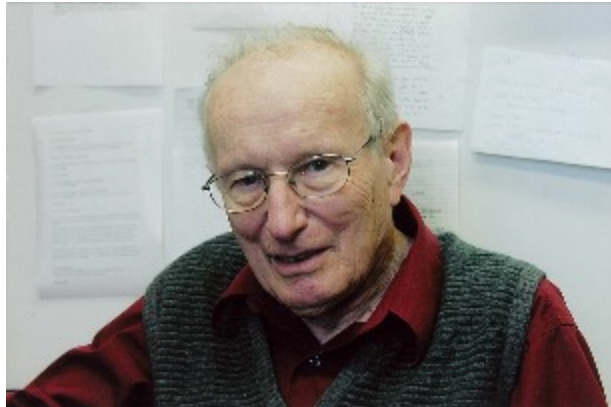


**Juhász Gábor** az autofágia vizsgálatából írta szakdolgozatát (1999, ELTE), PhD disszertációját (2004, ELTE), valamint habilitációs (2016, ELTE) és MTA Doktora értekezéseit (2016). 2004-2006 között a Minnesota-i Egyetemen dolgozott Tom Neufeld kutatócsoportjában, majd 2009-ben Wellcome Trust támogatással alapított saját labort az ELTE-n. 2015-től az MTA SZBK Lendület Drosophila Autofágia Kutatócsoportját vezeti tudományos tanácsadóként, emellett félállású egyetemi tanárként továbbra is oktat és kutat az ELTE Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszékén. Számos díj (pl. Bolyai ösztöndíj 2 alkalommal, Bolyai plakett) nyertese, a Molekuláris Sejt- és Neurobiológia Doktori program vezetője az ELTE-n, és az Autophagy szaklap (ötéves átlagos impakt faktor: 11,019) társszerkesztője (Associate Editor).

**ANDREW G. SZENT-GYÖRGYI (1924-2015) –  
TO BE A COUSIN OF ALBERT AND TO LOVE MYOSINS<sup>1</sup>**

**Nyitray László**  
**Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biokémiai Tanszék**

*„Ideas are cheap, but good data is hard to come by.”*  
(Andrew Szent-Györgyi)



**Figure 1. Andrew (Csuli) Szent-Györgyi.**

**Growing up and joining Albert Szent-Györgyi's laboratory**

Gábor András Szent-Györgyi, Csuli, as he was called by family members, friends and colleagues in science (a popular synonym for sparrow in Hungarian), was born in Budapest on May 16<sup>th</sup>, 1924. His father, a judge and excellent sportsman, was 56 years old when he was born, explaining why Albert Szent-Györgyi, his cousin, was so much his senior. That is why during his scientific career people often had mistaken him for Albert's son or nephew. Her mother, Lily Kronberger, „was a princess” (Andrew's words), a great figure skater, who won four successive ladies' world championships during the years 1907-1910. She was the first Hungarian woman to become a world champion in any sport. Csuli's love of classical music, arts and sports was certainly greatly influenced by his parents (Zoltán Kodály was a family friend, who later visited the Szent-Györgyis in the US).

<sup>1</sup>Ez az írás a „Muscle Contraction. A Hungarian Perspective” című könyvben [1] Nyitray, L. (2018) Andrew G. Szent-Györgyi – To be a Cousin of Albert and to Love Myosins, In: M.S.Z. Kellermayer (Ed.), Muscle Contraction. A Hungarian Perspective, Semmelweis Publishers, Budapest, pp. 229-252. megjelent fejezet kissé átdolgozott változata.

After graduating from high school (Werbőczy Gimnázium), he became a medical student at Pázmány Péter University (where one of his classmates and lifelong friends was Georg Klein, the world-famous Hungarian-Swedish biologist and writer). He was contemplating to follow Albert Szent-Györgyi's footsteps.

As he writes in his unpublished memoir [2]<sup>2</sup>:

*„I decided by the end of the first year in 1943 that I was more interested in doing research than practicing medicine. This was also greatly influenced by the book by Albert entitled: »Studies on Biological Oxidation and some of its Catalysts« published in 1937, the year Albert received the Nobel Prize, which my mother used for teaching me English. It was certainly more interesting than any language book.”*

He started to work at the Department of Physiology. His first meeting with Professor Aladár Beznák was as follows:

*„He asked me what I was interested in. I told him without knowing much: enzymes.”*

Later he was invited to Szeged by his cousin, but he first wanted to finish the third year of medical school. However, the course of history interrupted his plans:

*„In retrospect the delay was an extremely lucky decision. The German army marched into the country in March of 1944. Albert was placed under house arrest and within a few months went into hiding from the Gestapo. (...) By that time Albert, together with his colleagues, had started to publish their fundamental studies on muscle biochemistry, which revolutionized the field, although because of the war this reached the western world with a five-year delay.”*

<sup>2</sup>Quotes throughout the text are from the unpublished memoir of Andrew Szent-Györgyi with permission from his daughter, Kathy Szent-Györgyi and his widow, Ursula Rowan.

A detailed account on how Albert Szent-Györgyi survived the occupation of Hungary by Nazi Germany and how the results of the famous „Szeged Studies“ were published was presented by Andrew at the European Muscle Conference in Hortobágy in September 2005 (it also appeared in [3]).

After surviving the hardships of war, Andrew finally joined Albert Szent-Györgyi, who became Professor of Biochemistry at the Medical Faculty of Pázmány University in Budapest. The laboratory became functional in September 1945. According to Andrew:

*„Life in Albert’s laboratory was an island of paradise. Discussions were free and interesting. Differing opinions were respected and, most importantly, there were no informers, which became more and more important as the Stalinist communist party grabbed more and more power over the country. The discussions at the table were wide ranging and free.”*

Szent-Györgyi’s team continued to work on myosin. Andrew’s first collaborator at the bench was a fresh university graduate and war survivor from Szeged, Endre Bíró. Their most important finding, **the first major contribution** of Andrew Szent-Györgyi to muscle research, was that the steady-state ATPase activity was increased during the contraction of actomyosin or of minced and washed muscle [4]. This result is interpreted today that actin allosterically increases the  $Mg^{2+}$ -ATPase activity of myosin [5].

### **Woods Hole years with Albert**

Albert Szent-Györgyi’s departure from Hungary in 1947, Andrew managed to obtain his medical diploma and got married to the beautiful Éva Szentkirályi, his fellow medical student who was also interested in science. Albert devised a plan on how his young investigators from Budapest could leave the country, where the political situation was getting worse, and the communist takeover was foreseeable. As Andrew writes:



*„Albert wrote letters to his friends asking them to extend invitations for his young investigators to spend time in their laboratories, thereby facilitating their acquisition of passports to leave Hungary. Mihályi went to Stockholm to Theorell, Gergely to Evans in Manchester, Lajta to the Naples Biological Station, Lóránd to Astbury in Leeds, Laki to NIH in Washington. I was invited by Fritz Buchthal in the Neurophysiological Institute of Copenhagen in Denmark.”*

After a short stay in Denmark the young couple arrived to the US in the summer of 1948, and went to Woods Hole, MA, where they stayed until 1962. Woods Hole was an extraordinary place to be and to work. The Institute for Muscle Research was established by Albert Szent-Györgyi at the Marine Biology Laboratory. MBL's strength was (and still is) the summer Physiology Course attracting the world's leading scientists and students. Nothing highlights this more than the fact that as many as 57 Nobel Prize laureates have significant affiliations with the MBL. As Andrew describes it:

*„The high quality of science and the beauty of Woods Hole were stunning. The place was a hub of biology. (...) The 13 years that we stayed in Woods Hole were a particularly exciting time in biology. It encompassed the development of molecular biology. I remember walking back after the lectures following the extensive discussions of the step-by-step contributions that slowly clarified the understanding of a fundamental aspect of nature. The importance and relevance of the experiments and considerations of the proof required to make the story acceptable was a memorable experience for me.”*

Although most members of the Budapest laboratory gathered there in the first year, they had all left in the following years to find permanent positions elsewhere in the US. Soon thereafter Albert felt the need for new approaches to understand life and switched to cancer research. According to Csuli:

*„He switched from muscle in 1952 and I stayed in muscle, he didn't mind it. As a matter of fact, it was then that I found something important.”*

It was **his second important contribution to muscle biochemistry**, characterizing the heavy and light meromyosins (terms coined by him) obtained by limited proteolysis of muscle myosin, together with Elemér Mihályi [6-8]:



**Figure 2. Andrew Szent-Györgyi working at MBL, ca. 1954-56 (courtesy of MBL).**

*„I stayed with research into muscle since I felt that its proper understanding would shed light on many different cellular functions. In 1952, with Mihályi, we made the important discovery showing that the proteolytic enzyme, trypsin, splits the myosin molecule into two well-defined fractions. I could show that these fragments had different functions. The heavy meromyosin was water soluble and interacted with actin, and was able to perform the reactions required for contraction in solution. The other fraction, light meromyosin, was responsible for forming the myosin filaments characteristic of myosin in muscle. The heavy meromyosin opened up new approaches in the study of contraction in solution and is extensively used even today.”*

I should mention here that the first experiments, which finally led to the discovery of meromyosins, were done by a fellow Hungarian, at that time in Bethesda at NIH, János Gergely [9]. A few years later Andrew and Carolyn Cohen showed that LMM is fully alpha-helical [10].

Between 1953 and 1957 Andrew was an instructor at the Physiology Course.

Here he realized how important and exciting it was to teach eager and curious young students, often mesmerized by the secrets of life and life forms, especially marine creatures, the objects of their experiments.

*„The student chose to work spending a week with three of the six instructors to learn the experimental methods and the thinking about the problems of a particular field on which the instructors worked. The course was very intensive, and the students spent long hours in the laboratory, in the informal discussions and at lectures. Following the formal six week-course the students could stay for the rest of the summer, working with the instructors or with scientists not directly involved in the course.”*

His fellow instructors were the leading biochemists and molecular biologist of those years: George Wald, Steve Kuffler<sup>3</sup>, Herman Kalckar, Mat Meselson and Frank Stahl<sup>4</sup>, and finally, Jim Watson. Besides doing long hours of teaching and research, they also enjoyed life. Here is Csuli's account of the so-called Gamow-Watson party:

*„In 1954 Watson persuaded Francis Crick to spend a month in Woods Hole. Rosalind Franklin also visited for about two weeks or so. There was also George Gamow, a famous physicist who had escaped from Russia and was the first to propose the „big bang” theory to explain the birth of the universe.*

*He became interested in how DNA can code amino acids that are the building blocks of proteins. (...) One late evening, Watson was in the Captain Kidd, the pub frequented by scientists, and he decided to play a joke on Gamow who was staying in Prof's cottage on Penzance Point. He wrote a letter, imitating Gamow's handwriting, inviting everyone to Muscle Beach adjoining the cottage:*

<sup>3</sup>Born as Kuffler Vilmos, a pre-eminent Hungarian-American neurophysiologist, the „father of modern neuroscience.”

<sup>4</sup>Their famous experiment to prove the semi-conservative replication mechanism was conceived at MBL

»To introduce Mr. Tomkins to a topsy-turvy RNA party on Muscle Beach (The cottage of Seven Winds)«. The party was »scheduled« for three weeks from the date on the letter, which was distributed to every mailbox. (...) Once people realized that all this was a joke, there was guessing as to who were the perpetrators. Eventually Wald guessed that it had to be Jim, although his helpers were not identified. (...) All in all about two hundred people attended the party, and most of them brought drinks. It was one of the high points of the summer.”



**Figure 3. Andrew gives a lecture at MBL, ca. 1966** (courtesy of the National Library of Medicine).

Francis Crick adds to the story in his book, „What Mad Pursuit“: „The other hoaxer turned out to be Szent-Györgyi’s nephew, Andrew Szent-Györgyi. I negotiated a treaty. Jim and Csuli, as he was known, would provide the beer, Joe (Gamow) would provide the whisky.” Jim Watson also features the young Csuli in his book, „Genes, Girls, and Gamow”, as the joker of the company who was involved in all parties and events that helped to create a relaxing atmosphere. He writes: „Andrew Szent-Györgyi and his super-attractive wife, Eve (...) let me know the local gossip and what to expect of dinner with the boring married couples. As a rule the most attractive girls took the invertebrate course”.

Speaking of Eve (Éva), who, besides being the mother of their three children (Chris<sup>5</sup>, Kathy, and David<sup>6</sup>), was fully committed to research. In the first summer

<sup>5</sup>Chris Szent-Györgyi is a molecular biologist at Carnegie Mellon University, Pittsburgh.

<sup>6</sup>David Szent-Györgyi is a computer scientist working for BioVision Technologies.

of their stay in Woods Hole she helped the Prof (as Albert was called by almost everyone) in the experiments that led to the development of glycerol-extracted psoas muscle fiber preparation [11]. She considered those days as one of the high points of her scientific career, which is described by Csuli as follows:

*„While she was an excellent collaborator who also produced important work based entirely on her own ideas and designs, her studies were in many ways part and parcel of my laboratory. She was much liked by the scientific community and friends, as shown by the large number of letters which I received from colleagues and friends after her death. She had publications of work of her own design and approach, in addition to a number of papers which represented our joint efforts. She was careful and a good critic and in every respect a great help.”*



**Figure 4. Csuli with the Prof in ca. 1976.** (Éva Szentkirály in the background) (courtesy of NLM).

One additional biographical episode from this period as told by Andrew:

*„In the summer of 1949, Marta's<sup>7</sup> children, Gábor and Orsi, received permits to leave Hungary and arrived in Woods Hole. Little did I know that I would marry Orsi nearly 40 years later after the death of our spouses in 1985 and in 1988.”*

The last event I have to mention from the Woods Hole period is that Andrew and

<sup>7</sup>Márta Borbíró, Albert's devoted second wife who died of breast cancer in 1961. She was a great help to Albert in focusing on his science, and a great hostess for entertaining Albert's friends and guests in Woods Hole.

Éva bought a land near a cedar swamp and built a house on Wilson Road in 1957. Like the „Seven Winds”, Albert Szent-Györgyi’s house on Penzance Point, this house later became a summer escape for so many muscle people, all friends of Andrew (including the author of the present manuscript, who feels privileged for having belonged to this circle). He and Éva were as great hosts and hostesses as Albert and Márta had been half a generation earlier.

### **Andrew’s flagship research: scallop, as a model for myosin regulation**

In 1962 Andrew accepted a position and became a Professor of Biophysics at Dartmouth Medical School in Hanover, NH. Four years later he joined Brandeis University in Waltham, MA, where he was a Full Professor of Biology for more than 30 years, and after officially retiring in 1997, Emeritus Professor.



**Figure 5. Orsi (Ursula) and Csuli in front of the Wilson Road house, 2003**

He kept visiting his lab until his death. From 1975 to 1979 he served as Chair of the Biology Department. While he was a faculty member at Brandeis, he lived in Wellesley with Eve until her premature death, then with his second wife, Ursula (Orsi) Rowan, who was not involved in science but was also a great hostess and took fantastic care of Andrew and all the frequent visitors in their home.



During the summer months he moved down to Woods Hole and served as a faculty member of MBL from the early 1950s through the 1980s. He directed the Physiology Courses from 1967 through 1972, and, under his leadership, attracted a number of influential scientists to participate, including Sidney Brenner, Hugh Huxley, Julian Huxley, Alfred Sturtevant, Kenneth Van Holde, and Harvey Lodish. Practically all instructors were or became members of the National Academy of Sciences or the American Academy of Arts and Sciences. Some of the students were also extraordinary and later became leaders of their fields: Robert Waterstone, Harold Weintraub, Mary-Lou Pardue, Al Readfield and others. His interaction with the course continued as late as 2010. Let me quote here a Physiology Course attendee from the 2000s:

*„He attended every 9:00 am lecture in the Physiology Course and formed part of my morning ritual as I watched him glide into the bike lot in front of the Lillie Building and perform his mildly alarming, last-minute dismount. He often kibbitzed with students and instructors in the Physiology Course on the proper way to purify and assay myosin motors (...) And because of Albert, we still have Andrew tooling around Woods Hole on his bicycle, a palpable human connection to that work and to that time.”<sup>8</sup>*

After setting up his lab at Brandeis he started to work with molluscan muscles, which turned out to be a lucky choice, but from a different point of view than they first thought [12, 13]:

*„My collaboration with Carolyn intensified, working, of all things, on molluscan muscles such as scallops, clams, oysters and mussels. The reason for working on these shellfish was not gastronomical but rather their ability to maintain tension with little or no energy requirement. These muscles contain paramyosin, having a coiled-coil  $\alpha$  helical two-stranded structure, and we showed how they form filaments.”*

<sup>8</sup>From the blogspot of Dyche Mullins (now a Professor of Cellular and Molecular Pharmacology at USCF): <http://kinetictrap.blogspot.hu/2012/07/dodging-nazis-and-discovering-actin.html?View=timeslide>.

Andrew was not quite accurate in saying that working with these sea creatures had no culinary aspects. When I worked in his lab, after isolating muscle proteins from shellfish, we had great seafood parties from the rest of the material; what a delicious clam chowder from quahogs (*Mercenaria mercenaria*)! Lobster from Maine was a different story in the Wilson Road house; it was not used as research material, but prepared personally by Csuli, and he was also a master of grilling.



**Figure 6. Andrew talking at the Physiology Course in Woods Hole in 2009.** (Courtesy of Dyche Mullins.)

**His third major contribution to muscle research** comes from 1969. He introduced scallop myosin as a model to study calcium regulation of myosins [14].

*„In vertebrate skeletal striated and also heart muscles, contraction is inhibited by proteins bound on actin filaments in the absence, not in the presence, of calcium. The myosins of these muscles do not bind calcium, regulation is actin-linked. Surprisingly, in molluscan muscles regulation is myosin-linked due to the ability of myosin to bind calcium. We understand the structural and biochemical properties that account for these differences. The importance of these findings lies in the emerging observations of many cell functions where regulation depends on myosins that can directly bind calcium.”*

The original observation was followed by a series of seminal papers showing how calcium binding to the essential light chain of myosin works as an on-off switch to regulate scallop (and other molluscan) myosin activity [15-18]. Andrew Szent-Györgyi provided the muscle community with such an excellent model to study myosin regulation that it was sooner or later used by almost all important researchers in this field all around the world.

One of the ultimate goals of such structure-function studies is to see the structure at atomic resolution. This was a long (and still unfinished) tour de force with scallop myosin. In order to study the huge asymmetric myosin motor proteins by X-ray crystallography, it is a must to work with smaller domains. The first breakthrough towards structure determination was the isolation and characterization of the scallop myosin regulatory domain [19]. Afterwards came the first high-resolution structure of this key domain, followed by structures of the isolated head domain in several key enzymatic intermediate steps of the motor, as a result of collaboration with Carolyn Cohen and her nice and talented French postdoc, Anne Houdusse [20, 21]. These structures revealed part of the calcium regulatory mechanism, but also the mechanistic details of how a motor protein converts the chemical energy of ATP into mechanical work [22]. The hardest part of the myosin regulation story was the crystallization of heavy meromyosin from any molluscs (which is the minimal myosin fragment that is still regulated); no atomic resolution structure of this fragment has been reported yet. Andrew's last research paper is from 2013, together with Carolyn (who passed away last December) summarizes the current status of their decades of efforts [23].

The minor contribution of the author of this article to Andrew Szent-Györgyi's scallop years was the determination of the sequence of the scallop myosin heavy chain by cloning and characterizing its gene and transcript [24, 25]. My appearance as a postdoc in Csuli's lab initiated many years of fruitful collaboration with Hungarians, including my former students, András Málnási Csizmadia and

Mihály Kovács, and also Miklós Nyitrai [26, 27]. Andrew frequently travelled to Hungary since the 80's, visiting family members, attending meetings and workshops, discussions with his young Hungarian collaborators, or events commemorating Albert Szent-Györgyi.



**Figure 7. Brandeis alumni at a Gordon Conference in 1990.** (First row from left: Andrew Szent-Györgyi, Hugh Huxley, Carolyn Cohen.)

### Csuli's personality

He followed his famous cousin's principles in many respects. „Scientific research is a passion” said Albert in 1943 and that was also Andrew's *ars poetica* in doing research. He really loved myosins, he loved to work in the lab himself and did experiments manually until his mid-eighties (when he developed trembling hands preventing manual work). He had a sense of humor with a little sarcasm, a great deal of wit, and highly democratic and liberal views of the world. He had a special gift for evoking an appreciation of science, echoing his own devotion and that of other scientists, first of all Albert Szent-Györgyi's. I have already mentioned the legendary hospitality of his two spouses. Their house both in Wellesley, and especially in Woods Hole, was a pilgrimage site for many of his scientist friends. I have pleasant memories being in both places, often together with „big names” of the muscle field.

Linus Pauling said about Albert Szent-Györgyi that he was „the most charming scientist in the world”. Csuli was also liked by all his fellow scientists from all

around the world. He knew almost everybody who counted in biochemistry and molecular biology in the past century. He was lucky to be in the right place at the right time, in the small fishing village at Cape Cod. As a matter of fact, he humbly attributed most of his scientific success to luck. As he notes:

*„I happened to meet a large number of people who usually one wouldn't have occasion to meet. So there were many pluses in my connection with Albert.”*

I have personally heard a great many insider stories and anecdotes about all the great names that I previously mentioned in the article. I should add a few more: Otto Warburg, Otto Meyerhof, Otto Loewi, Hans Krebs, Leonor Michaelis, Carl Neuberg, Fritz Lipmann, William Astbury, Andrew Huxley, Max Perutz and John Kendrew. Despite my continuous efforts I could not persuade Andrew to write these up for the next generations of young scientists.

One may ask whether Andrew was in the shadow of Albert. He answered such a question during an interview by the National Library of Medicine<sup>9</sup>:

*„People asked me, »Is it hard to have a cousin« – they said »uncle« really – »who is so famous and such a personality and to work there? How did you feel?« I said, »Well, of course it was at first disturbing because I knew I would be on my own, but I had the feeling that I really hated all the old biochemists, because they already had discovered everything worthwhile to discover«.”*

Although he is certainly not as famous as his elder cousin, he is respected scientist throughout the research community on his own right. He was certainly helped by Albert – in entering medical school, in leaving Hungary, in settling in Woods Hole, in getting introduced to numerous famous scientists. Andrew returned these favors after Albert's death by being a historian of muscle research and telling the

<sup>9</sup>Available in Profiles of Science of NLM (). <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/wgbbbx.pdf>



story of discovering actin and myosin in Szeged for the future generations, and as an ambassador to keep Albert's legacy as a scientist and a humanist alive for the future [3, 28].

Andrew Szent-Györgyi was a great admirer of many other activities and lived a full life. He loved classical music. One of his best friends from high school throughout his life was Dénes Zsigmondy (1922-2014), a Hungarian violinist and music educator. He was a frequent visitor in Szent-Györgyi's house, and I have fond memories of house concerts there together with the cream of Brandeis University scientists. One highlight was when he played Bartók's sonata for solo violin, an extremely difficult piece.



**Figure 8. Csuli skiing in ca. 1960 and in Alpbach in 2004.**

Andrew had a keen interest in all kinds of arts and kept educating his students not only to love science but to appreciate high culture as well. He had a fantastic library of art albums, not to mention his great collection of classical music CDs. Just to name a few of his favorites: Schubert's piano sonatas played by András Schiff, as well as Wagner's and Mozart's operas.

He was also a good sportsman and a tough outdoors man. Tennis and skiing were his favorites, and he was also a good swimmer – many times together with Albert in the treacherous currents around Penzance Point in Woods Hole. Many



from the muscle field could remember him from the ski slopes during Alpbach meetings or in Alta, Utah (where his family skied every winter with the Huxleys). We skied together the lift-free Tuckerman Ravine in the White Mountains. Living in New England, he climbed all the peaks above 3000 feet with his sons. Our best climb together was the picturesque Mount Lafayette in New Hampshire. Around 1990, I suggested the lab to go whitewater rafting. He accepted the idea immediately and we went to explore the rapids of the Penobscot and Kennebeck rivers in Maine.

Finally, a short list of biographical data of his research career: Andrew Szent-Györgyi published more than 150 research articles and received numerous awards, including the Public Health Service Research Career Award (1962-1966), a Guggenheim Fellowship (1966), election to the American Academy of Arts and Sciences (1975), and a MERIT Award from the National Institutes of Health (1987-1997). He served as president of the Society of General Physiologists (1970-1971), president of the Biophysical Society (1974-1975), and was an honorary member of the Hungarian Academy of Sciences from 1998.

At the age of 88, a symposium was organized in his honor at the MBL in Woods Hole. After his death, many of his close collaborators also attended the „Andrew Szent-Györgyi Memorial Symposium” organized by the Hungarian Academy of Sciences in Budapest in 2016.

As an epilogue, a couple of „Szentgyörgyisms”, collected by Jim Sellers, Andrew’s former PhD student at Brandeis:

- You’re only as good as your proteins.
- The best work is that which you do with your own hands! A scientist works in the lab.
- Don’t be afraid to be surprised.
- You must be willing to prove yourself wrong.
- A good biochemist should collaborate with a structural biologist.

- Sometimes you have to be precise in your experiments and sometimes you don't. You can save a lot of time by knowing when!
- You can't control whether you're the smartest guy in the room, but you can control whether you're the hardest working guy in the room.
- If people think you're lucky, it's probably because you're working harder than they are.
- It is OK to have other passions in your life than science.
- The greatest service you can do to me is to prove me wrong.

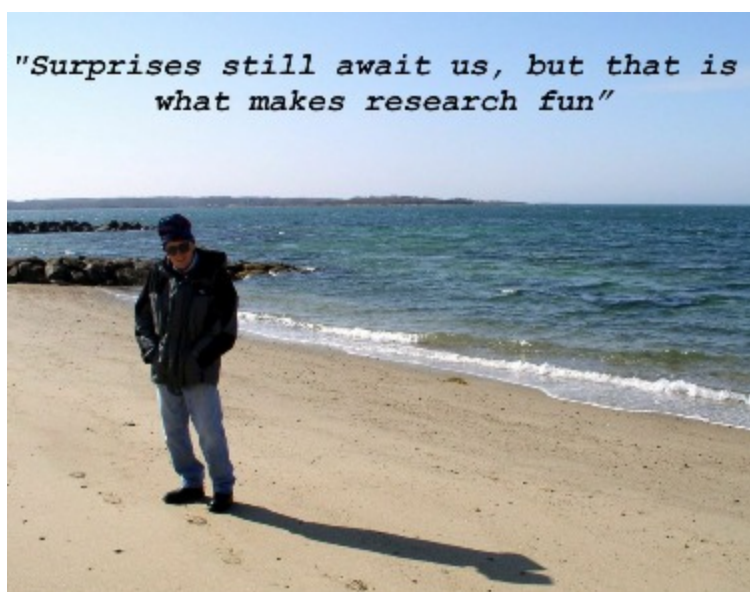


**Figure 9. Andrew with students at MBL, ca. 2014 (courtesy of MBL.)**

### **Acknowledgements:**

I am indebted to Miklos Kellermayer for inviting me to writing a portrayal of Andrew Szent-Györgyi. I had the privilege to work with him as a postdoctoral fellow back in the '90s and later to collaborate with him for a decade. I always considered him as a mentor and role model. I am thankful to Ursula Rowan,

Andrew's widow and Kathy Szent-Györgyi, for allowing me to use excerpts from Andrew's unpublished memoir. I am also thankful to Ágnes Jancsó (my former colleague both in Budapest and in Andrew's laboratory) for sharing with me some of her photos of Andrew, and to her, Erna Pap Nyitray, and Mihály Kovács for reading and correcting the text.



**Figure 10. Andrew Szent-Györgyi at Penzance Point (Beach at the „Seven Winds”), 2012.**

## References

- [1] Nyitray, L. (2018) Andrew G. Szent-Györgyi – To be a Cousin of Albert and to Love Myosins, in: M.S.Z. Kellermayer (Ed.), *Muscle Contraction. A Hungarian Perspective*, Semmelweis Publishers, Budapest, pp. 229-252.
- [2] Szent-Györgyi, A.G. (2007) *Memories of Andrew G. Szent-Györgyi. unpublished (with permission from Kathy Szent-Györgyi and Ursula Rowan)*.
- [3] Szent-Györgyi, A.G. (2006) 64 Years of actomyosin. *Biokémia*, **30**: 2-6.
- [4] Biro, N.A., Szent-Györgyi, A.E. (1949) The effect of actin and physico-chemical changes on the myosin ATP-ase system, and on washed muscle. *Hung Acta Physiol*, **2**: 120-33.
- [5] Kovács, M., Málnási-Csizmadia, A. (2018) Biophysical approaches that revealed the action of myosin as a molecular machine, in: M.S.Z. Kellermayer (Ed.), *Muscle Contraction. A Hungarian Perspective*, Semmelweis Publishers, Budapest, pp. 286-315.
- [6] Mihályi, E., Szent-Györgyi, A.G. (1953) Trypsin digestion of muscle proteins. I. Ultracentrifugal analysis of the process. *J Biol Chem*, **201**: 189-96.
- [7] Szent-Györgyi, A.G. (1953) Meromyosins, the subunits of myosin. *Arch Biochem Biophys*, **42**: 305-20.

- [8] Mihalyi, E., Szent-Gyorgyi, A.G. (1953) Trypsin digestion of muscle proteins. III. Adenosinetriphosphatase activity and actinbinding capacity of the digested myosin. *J Biol Chem*, **201**: 211-9.
- [9] Gergely, J. (1950) On the relationship between myosin and ATPase. *Fed Proc*, **9**: 176.
- [10] Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C. (1957) Role of proline in polypeptide chain configuration of proteins. *Science*, **126**: 697-8.
- [11] Szent-Gyorgyi, A. (1949) Free-energy relations and contraction of actomyosin. *Biol Bull*, **96**: 140-61.
- [12] Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C., Kendrick-Jones, J. (1971) Paramyosin and the filaments of molluscan "catch" muscles. II. Native filaments: isolation and characterization. *J Mol Biol*, **56**: 239-58.
- [13] Cohen, C., Szent-Gyorgyi, A.G., Kendrick-Jones, J. (1971) Paramyosin and the filaments of molluscan "catch" muscles. I. Paramyosin: structure and assembly. *J Mol Biol*, **56**: 223-7.
- [14] Kendrick-Jones, J., Lehman, W., Szent-Gyorgyi, A.G. (1970) Regulation in molluscan muscles. *J Mol Biol*, **54**: 313-26.
- [15] Szent-Gyorgyi, A.G., Szentkiralyi, E.M., Kendrick-Jones, J. (1973) The light chains of scallop myosin as regulatory subunits. *J Mol Biol*, **74**: 179-203.
- [16] Lehman, W., Szent-Gyorgyi, A.G. (1975) Regulation of muscular contraction. Distribution of actin control and myosin control in the animal kingdom. *J Gen Physiol*, **66**: 1-30.
- [17] Simmons, R.M., Szent-Gyorgyi, A.G. (1978) Reversible loss of calcium control of tension in scallop striated muscle associated with the removal of regulatory light chains. *Nature*, **273**: 62-4.
- [18] Simmons, R.M., Szent-Gyorgyi, A.G. (1980) Control of tension development in scallop muscle fibres with foreign regulatory light chains. *Nature*, **286**: 626-8.
- [19] Kwon, H., Goodwin, E.B., Nyitray, L., Berliner, E., O'Neill-Hennessey, E., Melandri, F.D., Szent-Gyorgyi, A.G. (1990) Isolation of the regulatory domain of scallop myosin: role of the essential light chain in calcium binding. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **87**: 4771-5.
- [20] Xie, X., Harrison, D.H., Schlichting, I., Sweet, R.M., Kalabokis, V.N., Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C. (1994) Structure of the regulatory domain of scallop myosin at 2.8 Å resolution. *Nature*, **368**: 306-12.
- [21] Houdusse, A., Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C. (2000) Three conformational states of scallop myosin S1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**: 11238-43.
- [22] Houdusse, A., Kalabokis, V.N., Himmel, D., Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C. (1999) Atomic structure of scallop myosin subfragment S1 complexed with MgADP: a novel conformation of the myosin head. *Cell*, **97**: 459-70.
- [23] O'Neill-Hennessey, E., Reshetnikova, L., Senthil Kumar, V.S., Robinson, H., Szent-Gyorgyi, A.G., Cohen, C. (2013) Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of squid heavy meromyosin. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, **69**: 248-52.
- [24] Nyitray, L., Goodwin, E.B., Szent-Gyorgyi, A.G. (1991) Complete primary structure of a scallop striated muscle myosin heavy chain. Sequence

- comparison with other heavy chains reveals regions that might be critical for regulation. *J Biol Chem*, **266**: 18469-76.
- [25] Nyitray, L., Jancso, A., Ochiai, Y., Graf, L., Szent-Gyorgyi, A.G. (1994) Scallop striated and smooth muscle myosin heavy-chain isoforms are produced by alternative RNA splicing from a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **91**: 12686-90.
- [26] Nyitrai, M., Szent-Gyorgyi, A.G., Geeves, M.A. (2003) Interactions of the two heads of scallop (*Argopecten irradians*) heavy meromyosin with actin: influence of calcium and nucleotides. *Biochem J*, **370**: 839-48.
- [27] Takacs, B., O'Neill-Hennessey, E., Hetenyi, C., Kardos, J., Szent-Gyorgyi, A.G., Kovacs, M. (2011) Myosin cleft closure determines the energetics of the actomyosin interaction. *FASEB J*, **25**: 111-21.
- [28] Szent-Gyorgyi, A.G. (2004) The early history of the biochemistry of muscle contraction. *J Gen Physiol*, **123**: 631-41.

## Tisztelt Kollégánk!

Örömmel tájékoztatjuk, hogy a [Magyar Biokémiai Egyesület](#) (MBKE) és a [Magyar Genetikusok Egyesülete](#) (MAGE) **2019. március 29-31** között megrendezi negyedik közös szervezésű konferenciáját:

**„Molekuláris Élettudományi Konferencia 2019”** („Hungarian Molecular Life Sciences 2019”) címmel.

A nagy múltú, rokon szakterületek kutatóit összefogó egyesületek 2013-ban hozták létre a legnagyobb hazai élettudományi konferenciát, melyet elhatározásunk szerint két évente, így 2019-ben is megszervezünk. Hazai és külföldi tudományos műhelyekből mintegy négyszáz kutató részvételére számítunk. Az egyesített konferencia mindkét egyesület hagyományait folytatni kívánja. Az előző három konferencia sikerei alapján bízunk benne, hogy a közös szervezés a hazai élettudományi konferenciák történetében egy lassan tradícióvá váló új minőséget hozott létre. A 2019-es konferencia célja fórumot teremteni a biokémia, a szerkezetbiológia, a sejtbiológia, a fejlődésbiológia, a klasszikus és molekuláris genetika, az emberi betegségek molekuláris biológiája, a rendszerbiológia, a szintetikus biológia, a genomika és a bioinformatika területén dolgozó kutatók számára.

Alkotószellemű, a szakmai megbeszéléseket központba állító, baráti hangulatú, de egyben elegáns kongresszust kívánunk szervezni, ahol régi ismerősök találkozhatnak, és új munkakapcsolatok születhetnek. A konferenciánkat a minden igényt kielégítő egri Hotel Eger-Park konferenciaközpontban rendezzük meg. A helyszínt úgy választottuk, hogy az előadótermek és a poszter kiállítások, valamint a cégek kiállításai az éttermekkel és a szállodai szobákkal egy épületegyüttesben helyezkedjenek el, ahol bőségesen vannak szakmai megbeszélésre alkalmas közösségi terek, valamint kikapcsolódást szolgáló létesítmények is.

Ezennel tisztelettel hívjuk Önöket, legyenek résztvevői ennek a molekuláris biológiai kutatásokat bemutató kiemelkedő jelentőségű tudományos rendezvénynek. Számítunk az Önök részvételére abban, hogy kiváló hangulatú, emelkedett és emlékezetes, mindnyájunk számára hasznos tudományos rendezvényt hozhassunk létre. Felhívjuk szíves figyelmüket arra, hogy az előadások nyelve angol, ennek megfelelően az előadás címeiket és összefoglalókat is angol nyelven várjuk.

A konferenciáról további információkat találnak a <http://hunlifesci.hu/> honlapon. A konferenciát a [Diamond Congress Kft](#)-vel együttműködésben szervezzük. A Diamond Congress munkatársai kérésre további részletes információval szolgálnak.

A konferencia szervezői nevében:

**Virág László**  
**Kovács Mihály**

**Erdélyi Miklós**  
**Mihály József**

**Buday László**  
**Varga Máté**





## Welcome Message

Dear Colleagues and Friends,

We are pleased to inform you that the 44th FEBS Congress will be held in Krakow, Poland, from July 6th to July 11th, 2019. The theme of this year's Congress will be: "From molecules to living systems".

The organizers, the Polish Biochemical Society and the Federation of the European Biochemical Societies (FEBS), are delighted to invite you to participate in the Congress. Poland will be hosting this prestigious event for the third time. Previous editions held in our country took place in 1966 and 2004. The upcoming event will be a chance to review the current trends for further development of biochemistry and related fields.

Krakow is a beautiful and vibrant city, located by the Vistula river, with one of the oldest Universities in Europe – the Jagiellonian University, a truly charming academic center surrounded by many historical places worth visiting.

The 44th FEBS Congress will take place at the modern ICE Congress Center, located in the very heart of Krakow. The 37 sessions will encompass 5 parallel sections as well as several poster sessions. Moreover, a specialized exhibition will also be organized.

Plenary lectures will be delivered by eminent scientists representing various fields of molecular life sciences, who have already kindly confirmed their participation. Among them there are two Nobel Laureates: Andrew Z. Fire (Stanford) who will deliver the Opening Lecture and Venkatraman Ramakrishnan (Cambridge, UK) who will honor us with the Closing Lecture.

We sincerely hope that the Congress in Krakow will offer a unique opportunity for interesting, fruitful scientific interactions to all participants, providing them with memorable and pleasant experiences.

On behalf of the Organizing Committee, we would like to warmly invite scientists from all parts of the world to join us at the 44th FEBS Congress, and we look forward to welcoming you in Krakow in 2019!

Yours faithfully,

Andrzej B. Legocki  
Piotr Laidler  
Adam Szewczyk



NATIONAL INSTITUTE OF CHEMISTRY

SI-1001 Ljubljana  
Hajdrihova 19, POBox 660  
Phone: +386 (0)1/476 02 00  
Fax: +386 (0)1/476 03 00  
<http://www.ki.si>

## Invitation to participate at the 13<sup>th</sup> Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation

The Slovenian Biochemical Society, with the help of members from the National Institute of Chemistry, is organizing the 13<sup>th</sup> Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation. The meeting will be held from the 24th to the 27th of September, 2019 in Dobrna, Slovenia.

Our meetings are always well attended as they present an important opportunity for Slovenian biochemists, international collaborators and invited speakers to gather and discuss and present many up-to date topics.

We would like to take this opportunity to invite you to contribute and present work of members of your society in the form an oral or poster presentation. If you are interested, please refer to our web page <http://dobrna2019.sbd.si/en/about.html> for details on abstract submission.

We sincerely hope that you will join us and take the opportunity strengthen you relations with current collaborators and to form new networks.

We are looking forward to hearing from you,  
With kind regards,

dr. Mojca Benčina,  
Chair of the Organizing Committee

## **BIOKÉMIA ÖRÖKKÉ!**

### **Beszámoló a 'Biochemistry 201∞' című 43. FEBS kongresszusról (2018. július 7-12, Prága)**

Prológus:

...” Ha a konferencia lényegesen több résztvevővel bír, mint 150 ember: elvesztél. Nem tudod fejben tartani az arcokat, ha valaki leveszi a konferencia-kitűzőt, fogalmad sincs, hogy oda tartozik-e vagy sem. 150 ember felett jó esélyed van arra, hogy azokkal fogsz beszélgetni, akiket már korábban is ismertél, és a konferencia kedves, de nagyrészt haszontalan turistaúttá változik át.” ...

Részlet Csermely Péter "A rejtett hálózatok ereje" című könyvéből (Vince Kiadó, 2004).

A nagy konferenciák nem nekem valók... Vajon igaza lesz-e kedvenc biokémikus/hálózatkutató szerzőmnek, amikor könyvében a szociális hálózatokat stabilizáló gyenge kapcsolatok törvényszerűségeiről elmélkedik? Ezekkel a gondolatokkal léptem be a prágai Vysehrad történelmi városrész 9700 férőhelyes, 50 előadótermes, neo-funkcionalista stílusú Kongresszusi Központjába, hogy részt vegyek a FEBS által jegyzett, nagyszabású 43. Biokémiai Konferencián (1. fotó).

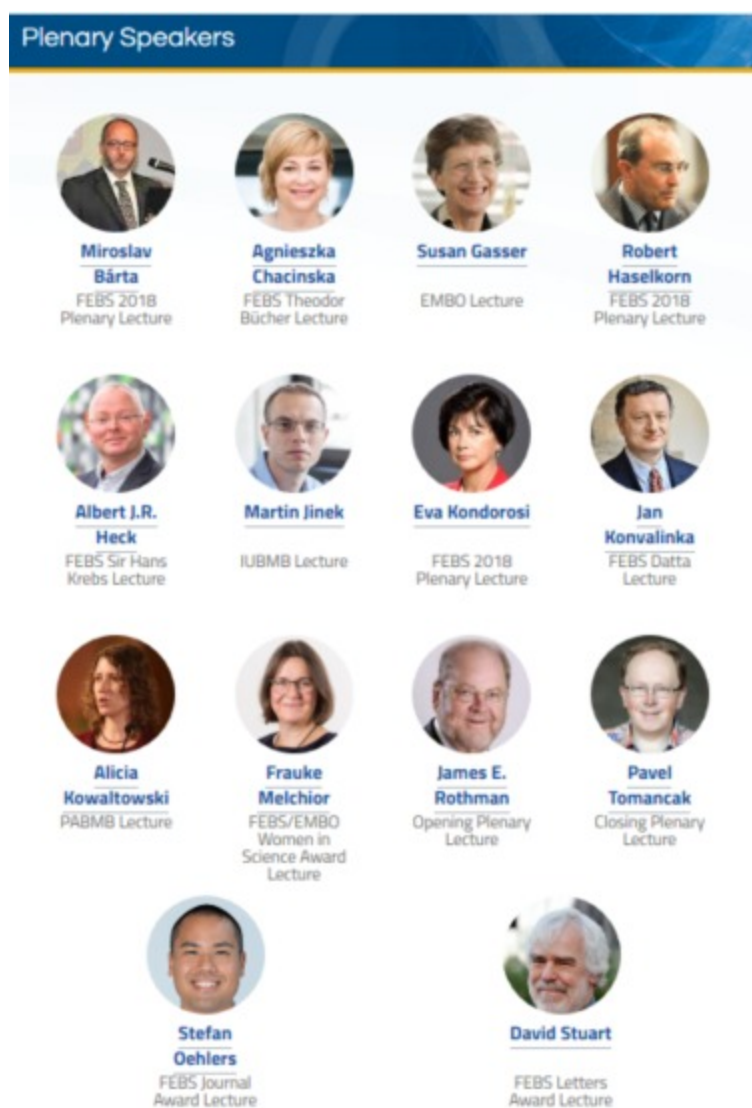


**1. Fotó. A debreceni „csapat” megérkezik.** Balra: Nagy Dénes (Debreceni Egyetem), jobbra: Székvölgyi Lóránt (Debreceni Egyetem).

A rendezők igazán találóan a „Biokémia Örökké” elnevezést adták az eseménynek, mely kiválóan jellemezte a kongresszus célját: egy olyan kiemelkedő nemzetközi fórum kialakítását Európán belül és a környező közép-

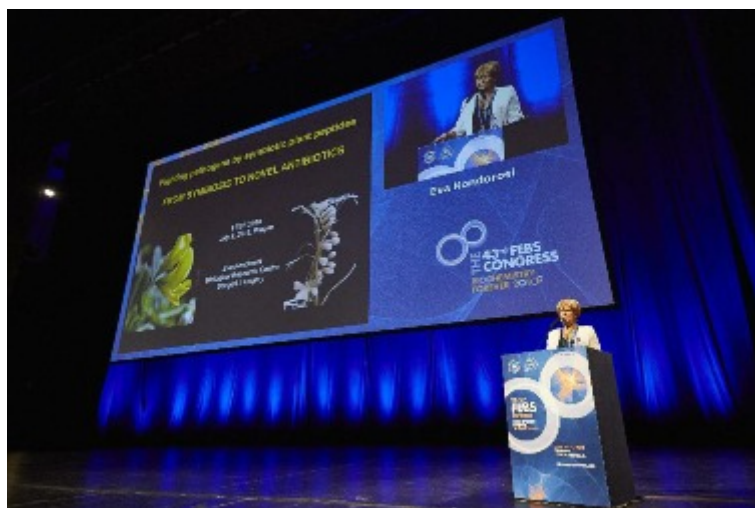
európai régióban, amely lehetőséget biztosít a tudás megosztására a különböző tudományágak között. Az idei esemény szimbolikus jelentőséggel is bír, mivel pontosan 50 évvel ezelőtt, 1968-ban, első alkalommal gyűltek össze a molekuláris élettudományok képviselői Prágában az 5. FEBS Kongresszus keretén belül, amely csupán néhány héttel Csehszlovákia Varsói Szövetség általi megszállása előtt történt. (További érdekesség, hogy 2018 a Független Csehszlovákia megalapításának 100. évfordulója.)

A tudományos program magját az egyes tudományterületek legkiemelkedőbb kutatóinak inspiráló plenáris előadásai adták (2. fotó), amelyet a különböző szekciók további specializált előadásai egészítettek ki.



**2. Fotó. Plenáris előadások és előadók a 2018-as FEBS kongresszuson.**

A nagyszámú kiváló előadás közül, teljesen szubjektív módon, kiemelném például Albert Heck (Hollandia) 'FEBS Sir Hans Krebs' előadását a humán proteom tömegspektrometriás vizsgálatok segítségével feltárt magasabb-rendű szerveződéséről, William Earnshaw (UK) előadását a mitotikus kromoszómák szerkezetéről, vagy Kondorosi Éva (Szeged) plenáris előadását (3. fotó) a szimbiotikus növényi peptidek keletkezéséről és szerepükről a humán patogén baktériumok elleni közdelemben. A poszter szekciók további lehetőséget biztosítottak a fiatal kutatók számára, hogy aktívan részt vegyenek a tudományos diskussziókban, illetve a legjobb poszterek készítői 'speed talk' és 'short talk' prezentációk formájában lehetőséget kaptak eredményeik bemutatására szóbeli előadások formájában is.



**3. Fotó. Kondorosi Éva (SZBK) plenáris előadása.**

A konferencia interdiszciplináris szellemisége és mérete kiemelkedő lehetőséget nyújtott minden résztvevő számára, hogy a saját kutatási területén túl betekintést nyerjen a biokémiai tudományok kulcsfontosságú új eredményeibe. Ezen kívül számos speciális szekcióban a résztvevők olyan tágabb témakörökhöz is hozzászólhattak, mint például a nők helyzete a tudományban, tudományetika, hogyan publikáljuk, molekuláris élettudományok oktatása, vagy a tudomány és társadalom kapcsolata 2018-ban.

A 43. FEBS kongresszus idén is, mint már számos alkalommal, nagy hangsúlyt

helyezett a kutatók új generációjának támogatására és inspirálására. Több fiatal tudós nyert ösztöndíjat a konferencián való részvételre, számos díjat és oklevelet osztottak ki a legkiválóbb fiatal kutatóknak (4. fotó), a Fiatal Kutatók Fóruma pedig elősegítette a tapasztalt kutatókkal való aktív interakciót.



**4. Fotó. Fésüs László (Debreceni Egyetem) oklevelet ad át a legjobb poszter kategóriában.**

#### Epilógus

A 43. FEBS kongresszus bőven túllépett egy átlagos biokémiai konferencia keretein, amely tetten érhető volt a résztvevők és meghívott előadók nagy számában, a lefedett témakörök és párhuzamos szekciók sokféleségében, és az átadott díjak és szakmai elismerések kiemelkedően magas mennyiségében.

Beteljesültek-e a prolóógusban megfogalmazott premisszák? Nos, igen is, meg nem is. Egy több ezer fős kongresszuson teljesen normális, hogy időnként kicsinek és elveszettnek érzi magát az ember, viszont ezzel egyáltalán nem vagyunk egyedül. Sok száz résztvevő ugyanígy érez, és legtöbbször elég egy mosoly vagy egy kis kezdeményezőkézség, és máris nem vagyunk egyedül – azonnal képesek vagyunk megteremteni azt a „kisvilág hálózatot” (Csermely Péter, 2004) amelyben otthonosan érezzük magunkat, és így a konferencia nem változik át egy „kedves, de haszontalan turistaúttá”. Egy(-tíz) korsó cseh sörrel megsíkositva a társalgásokat (5. fotó) pedig egészen kiváló új szakmai és emberi kapcsolatokat



szerezhethetünk, amelyek, a konferencia interdiszciplináris jellege miatt, sokszor teljesen váratlan helyről, távoli tudomány területekről érkezhetnek. Közvetlen kollégáinkkal pedig valódi öröm végre kötetlenül beszélgetni, eszmét cserélni tudományról, családról és az élet nagy dolgairól, amelyre sajnos a napi rutin és rohanás mellett otthon szinte egyáltalán nincs időnk.

Egy szó, mint száz: a nagy konferenciák mégiscsak nekem valók, úgyhogy már be is írtam a naptáramba a következő FEBS meeting időpontját: 2019. július 6-11, Krakkó.



**5. Fotó. Egy korsó Policce („Policska”).**

Köszönetnyilvánítás

Ez a beszámoló nem jöhetett volna létre Bukó Zsanett (Debreceni Egyetem) segítségével nélkül.

*Székvölgyi Lóránt  
MTA-DE Lendület Genomszerkezet és Rekombináció Kutatócsoport vezető  
Debreceni Egyetem ÁOK  
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet*

## **BESZÁMOLÓ A FEBS3+ 'FROM MOLECULES TO LIVING SYSTEMS' KONFERENCIÁRÓL**

2018-ban az MBKE rendezte azt a FEBS3+ konferenciát, amelynek előzményei 2012-ben Opatijában (Horvátország), illetve 2015-ben Portorožban (Szlovénia) kerültek megrendezésre. A FEBS3+ kezdeményezés keretében a FEBS támogatást nyújt, amennyiben három vagy több ország FEBS tagszervezete együtt rendezi meg éves konferenciáját. Ennek megfelelően 2018-ban az MBKE közösen rendezte a konferenciát a Szlovén Biokémiai Társasággal, a Szerb Biokémiai Társasággal, valamint a Horvát Biokémiai és Molekuláris Biológiai Társasággal. A konferencia az MBKE 2018. évi vándorgyűlésének a szerepét is betöltötte.

A konferencia helyszínéül a minden irányból jól megközelíthető Siófokot választottuk, a Hotel Azúr konferenciaközpontját. A négynapos konferencia szeptember 2-5 között került megtartásra. Népes bizottságok szervezték a konferenciát: egy 12 tagú tudományos szervezőbizottság, valamint egy 8 tagú operatív szervezőbizottság. Bár a szervezés oroszánrészét a Diamond Congress szervezőcég végezte, mégpedig hibátlanul, a nagyszámú bizottságnak megvolt az az előnye, hogy alaposan megismerkedhettek a különböző országokból delegált bizottsági tagok. Az MBKE részéről Buday László elnök, Kovács Mihály főtktár, Szüts Dávid és Bay Péter vettek részt a bizottságokban.

A résztvevők száma 260 fő volt, amely enyhe csökkenést jelentett az előző FEBS3+ konferenciához képest. Azonban majdnem minden résztvevő absztrakttal jelentkezett, így igen tartalmas tudományos programot tudunk összeállítani. 64 előadásra nyílt lehetőség. Minden résztvevő társaság meghívott egy-egy plenáris előadót; közülük Tora László (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire és Université de Strasbourg, Franciaország) és a szlovén vendég Jernej Ule 'FEBS National Lecturer' státuszban került meghívásra. Tora László váratlan

események következtében nem tudott részt venni a konferencián, így helyét Bay Péter vette át sikeresen a négy plenáris előadó között:

**Bay Péter** (Debreceni Egyetem, Orvosi Vegytani Intézet),

**Jernej Ule** (The Francis Crick Institute és University College London, Egyesült Királyság),

**Sergej Djuranovic** (Washington University in St. Louis, School of Medicine, Department of Cell Biology and Physiology, Saint Louis, USA),

**Sanja Sever** (Harvard Medical School, Charlestown, USA).

A plenáris előadók nemcsak legújabb eredményeiket mutatták be 40-50 perces előadásaikban a mikrobiom onkológiai hatásairól, az mRNS splicingról, a fehérjék átíródásáról és a vesebetegségek molekuláris hátteréről, hanem az eredményekhez vezető út részletezésével a fiatalabb kutatókat inspiráló előadásokat tartottak.

További 60 előadást 12 tematikus szekcióba rendeztünk, melyek kettésével párhuzamosan futottak. A 24 meghívott előadó mellé lehetőség nyílt további 36 előadás kiválasztására a legérdekesebb beküldött absztraktokból. A szekciók témáit a résztvevő társaságok igényei szerint határoztuk meg, így kerültek a témák közé olyanok, mint 'Immunity and inflammation', vagy 'DNA repair and cancer'. A konferencia címével összhangban az egész konferencián végigívelő téma volt a humán betegségek molekuláris alapon történő vizsgálata és gyógyítása. Érdekes példa volt erre a hasnyálmirigy alfa-sejtjeinek átprogramozása béta-sejtté a diabétesz gyógyításának céljából, a vese podociták funkciójának javítása, vagy a májfunkció és májbetegségek nem-függésének leírása. Technikai érdekességeket is hallottunk, például az áramlási citometria és a tömegspektrometria kombinálásával kifejlesztett 'mass cytometry', melynek segítségével egyszerre 100-nál is több immunofenotípust lehet megkülönböztetni.

A konferencia igen fontos alkotóeleme volt a két poszterszekció, melyeken

összesen 144 poszter került bemutatásra tematikus elrendezésben. Nagyon élénk diskusszió alakult ki a poszterek előtt, és nem volt könnyű dolga a bizottságnak a három poszter díj odaítélésében.

A tudományos programokon túl is volt lehetőség a résztvevők közötti interakcióra, amely az egyik fő célja a FEBS3+ rendszerben közösen szervezett konferenciáknak. A háromnapos eső ugyan keresztülhúzta a kerti grillpartival kapcsolatos számításainkat, de így is lehetőség nyílt egy közös balatoni hajókirándulásra a gálavacsora előtti délutánon. A vacsora utáni élő zene pedig különösen sikeres volt minden nemzet és korosztály körében.

Összegzésül elmondható, hogy a szomszédos országok biokémiai társaságaival néhány évente közösen rendezett konferencia valóban serkenti az együttműködések, és segít tágítani a kutatók horizontját. A fiatal kutatók részvétele és szereplése különösen hasznos, ezért a FEBS összesen 29 doktorandusz vagy nemrég végzett postdoc részvételét külön támogatta. Reméljük tehát, hogy a FEBS3+ konferenciáink a jövőben is folytatódnak!

*Szüts Dávid*

*a szervezőbizottság elnöke*

*MTA TTK Enzimológiai Intézet*





## WOLLEMANN MÁRIA PROFESSZOR ASSZONY KÖSZÖNTÉSE 95. SZÜLETÉSNAJÁN<sup>1</sup>

*Kedves Mária! Kedves Munkatársak!*

A mai „intézeti teázás” alkalmat nyújt arra is, hogy a mindennapok rohanásában megálljunk egy pillanatra és egy kerek évforduló kapcsán köszöntsük egy olyan munkatársunkat, aki az intézet hivatalos alapítása óta, tehát a kezdetektől közöttünk van, sőt alkot, dolgozik.



Wollemann Mária, az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai intézet nyugalmazott tudományos tanácsadója, a Szegedi Tudományegyetem címzetes egyetemi tanára 95 éves. Olykor regényes élete, pályája néha szívszorító, máskor mosolygató élményeit számos alkalommal megosztotta velünk, mert a szó szoros értelmében közöttünk élt. Történetei mindig érdekesek, tanulságosak és emlékezetesek voltak.

Orvosegyetemi tanulmányait a második világháború időszakában részben Budapesten, részben pedig Szegeden végezte. Praktizálni sohasem praktizált, mert már egyetemi éveiben elköteleződött a megismerés, a kutatás és a tudomány szeretete mellett. Kutatói pályáját a Budapesti Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani, Anatómiai és Orvosvegytani intézeteiben kezdte. Mária életművében meghatározó szakasz volt az Országos Idegsebészeti Intézetben töltött bő másfél évtized, ahol orvosbiológiai kutatásokkal, nevezetesen az agytumrok biokémiájával foglalkozott. Ezen tanulmányait 1968-as „az orvostudomány doktora” tudományos fokozatért benyújtott nagydoktori disszertációja és a „Biochemistry of Brain Tumors” című angol nyelvű könyve foglalta össze, amelyet a McMillan Press London, a University Park Press Baltimore és az Akadémiai Kiadó közösen jelentetett meg 1974-ben.

<sup>1</sup>A köszöntő 2018. július 26-án, az SZBK klubhelyiségében tartott rendezvényen hangzott el.



Az SZBK Biokémiai Intézetéhez 1971-ben csatlakozott, itt csoportvezetőként, 1978-83 között pedig intézet igazgatóként tevékenykedett. Érdeklődési területe ekkor fordult az idegrendszeri jelátviteli fehérjék, a membránreceptorok kutatása felé. Az adrenerg, majd később a narkotikumokkal kölcsönható opioid receptorok mellett az adenilcikláz enzimeket és a protein kinázokat is kutatta. Mária a szó legnemesebb értelmében iskolateremtő tudós személyiség, csoportjában, majd a tágabb „receptoros”, illetve neurobiológiai munkaközösségében mintegy negyven egyetemi doktori vagy PhD fokozat, valamint négy megvédett nagydoktori disszertáció született.

Mária folyamatosan alkot, szellemiségétől elválaszthatatlan a tudásvágy, a természet minél jobb megismerése. A természet és az állatok szeretete életének meghatározó részévé vált; magunk is nyomon követhettünk négy hűséges angol szetter barátot: Sheilát, Fánit, Pötyit és Jennyt, valamint érzékeltük Mária vonzalmát a madarakhoz és az ornitológiához. Publikációs listáján még madárhangokkal kapcsolatos cikkek is szerepelnek.

Mária életútját rangos kitüntetések és elismerések is kikövezték. Ezeknél is fontosabbnak tartom nyitott, befogadó és elfogadó személyiségét, sokszínűségét, érzékenységét és empátiáját, amikkel felénk, munkatársai felé fordul. Élete és munkássága elválaszthatatlan az intézettől, folyamatos jelenléte ma is mindennapjaink része. Tudományos naprakészsége és a szakirodalom nyomon követése elismerésre méltó, egyben példamutató.

Ha a születésnap tényleges dátuma el is múlt már, köszöntsük szeretettel ezen az intézeti fórumon mindnyájunk kedves és tisztelt Wollemann Máriáját!

Isten éltesse sokáig!

*Benyhe Sándor  
tudományos tanácsadó  
MTA SZBK Biokémiai intézet*

*BIOKÉMIA  
XLII. évfolyam 3-4. szám 2018. december*

## 50 ÉVES AZ ELTE BIOKÉMIAI TANSZÉKE – BESZÁMOLÓ A JUBILEUMI ÜLÉSRŐL

2018. augusztus 29-én az ELTE Biokémiai Tanszék munkatársai jubileumi ülést tartottak a tanszék ötvenedik születésnapja alkalmából a Lágymányosi Kampuszon, az ELTE Déli Tömb épületében. Az emlékülés – a tanszék múltjára, jelenére és jövőjére együttesen utalva az "Az izomfehérjéktől és szerin proteázoktól a biomarker-kutatásig és gyógyszerfejlesztésig" címmel került megrendezésre. A jeles eseményre az ELTE Biológiai Intézete jubileumi kiadványt jelentetett meg (1. ábra).



**1. ábra.** „50 éves a Biokémiai Tanszék” kiadvány. (Fotó: Kocsis Judit).

Az ülés nyitómozzanataként a tanszéket Buday László, a Magyar Biokémiai Egyesület elnöke köszöntötte. A tanszék múltjáról és jelenéről Nyitray László tanszékvezető tartott összefoglalót "50 év Szent-Györgyi Albert nyomdokain" címmel (lásd hasonló című írását a mostani Biokémia 16. oldalán). A Tanszék születésének körülményeiről Mühlrad András, a Hebrew University emeritus professzora és Hegyi György, a Tanszék professzor emeritusa emlékezett meg. Gráf László, a Tanszék korábbi vezetője a fehérjék, illetve a tanszéki hallgatók és kollégák közötti kölcsönhatások természetéről tartott eszmefuttatást. A tanszéki életről való megemlékezéseket a jelenleg a torontói Lunenfeld-Tanen-

baum Research Institute-ban kutatócsoportot vezető Nagy András folytatta, majd Závodszy Péter fejtette ki, hogy miért jó erre az ötven évre visszaemlékezni. Maria Jolanta Redowicz, a varsói Nencki Kísérleti Biológiai Kutatóintézet laborvezetője az Intézetük és a Tanszék közötti nagy múltú és gyümölcsöző együttműködés elismeréseként Emlékérmeket és oklevelet adott át a Tanszék részére (2. ábra).



**2. ábra. Nyitrai László tanszékvezető egyetemi tanár a Nencki Intézettől a Biokémiai Tanszék számára adományozott emlékérmekkel.** (Fotó: Kocsis Judit).

Az ülés második felében a tanszék munkatársai (Szilágyi László, Málnási-Csizmadia András, Pál Gábor, Kovács Mihály, Kardos József) adtak ízelítőt a napjainkban végzett izgalmas, a felfedező kutatások mellett az ipari alkalmazások területén is jelentős eredményeket elért munkáikról. Az ülést a tanszék egyik kulcsfontosságú ipari együttműködő partnere, a Printnet Kft. képviselőjében Hári Péter ügyvezető előadása zárta, amelyben 14 évnyi kiemelkedően sikeres kooperáció eredményeit foglalta össze.

A nagy látogatottságú rendezvényen hallgatók és ELTE-s kollégák mellett nagy számban voltak jelen a hazai biokémikus, illetve a tágabb szakmai közösség prominens képviselői.

*Kovács Mihály  
egyetemi tanár  
ELTE TTK Biokémiai Tanszék*

## **FELHÍVÁS**

A Biokémia folyóirat szerkesztőbizottsága fontosnak tartja, hogy az MBKE tagjai értesüljenek tagtársaik kiemelkedő tudományos eredményeiről. A korábbi évekhez hasonlóan a márciusi lapszámban megjelentetjük a kiemelkedő közlemények listáját. Kérjük, hogy küldjék be:

***a 2018-ban a FEBS Letters, FEBS Journal, FEBS Open Bio, Molecular Oncology, TIBS, IUBMB Life, FASEB Journal újságokban megjelent, valamint IF > 8 (a 2017/2018-as SCI szerinti) cikkek listáját.***

**Beküldési határidő:**

**2019. február 15.**

A listát Szűcs Mária főszerkesztőnek kérjük beküldeni a szucs.maria@brc.mta.hu e-mail címre.

## FELHÍVÁS

A Biokémia folyóirat szerkesztőbizottsága egy új rovatot indít „**Olvasói levelek**” címen, ahová az olvasók beküldhetik az újság jelen rovataiba nem besorolható írásaikat, illetve a korábban megjelent cikkekre reflektáló gondolataikat, véleményüket. Az írások csak abban az esetben kerülnek közlésre, ha azok nyelvezetét és tartalmát a szerkesztőbizottság a Biokémia szellemiségével összeegyeztethetőnek tartja.

A leveleket Gallyas Ferenc szerkesztőbizottsági tagnak kérjük küldeni a következő e-mail címre: [ferenc.gallyas@aok.pte.hu](mailto:ferenc.gallyas@aok.pte.hu).

## ALAPÍTVÁNY A TUDOMÁNYOS SZEMÉSZETÉRT FELHIVÁSA

Az alapítvány célja a szemészeti biokémia, illetve retinakutatás terén kifejtett tudományos tevékenység segítése, további eredmények elérésének ösztönzése továbbá a tudományos eredményt elért orvosok és kutatók elismerése pénzjutalommal és emléklappal.

Az alapítvány nyitott, a csatlakozók vagyoni hozzájárulásukkal, támogathatják az alapítványt.

A díjra pályázni lehet biokémiai vagy szemészeti élettani kutatómunka, illetve retinakutatás alapján készített, az elmúlt évben megjelent magyar vagy idegen nyelven publikált tudományos dolgozattal. A pályázó a pályázati határidő lejártakor nem lehet több 35 évesnél.

A beérkező pályázatokat a Kuratórium elbírálja és 2019-ben 2 díjat oszt ki: **szemészeti (retinakutatás)** és **biokémiai témában**. A díjakat és az okleveleket a Magyar Szemorvostársaság Kongresszusán adjuk át.

**A pályázatok beadási határideje: 2019. április 30,**  
**Prof. Dr. Janáky Márta, SZTE ÁOK Szemészeti Klinika,**  
**6720 Szeged, Korányi fasor 10-11 címre.**

*Prof. Dr. Janáky Márta*  
*az Alapítvány a Tudományos Szemészetért*  
*Kuratórium elnöke*