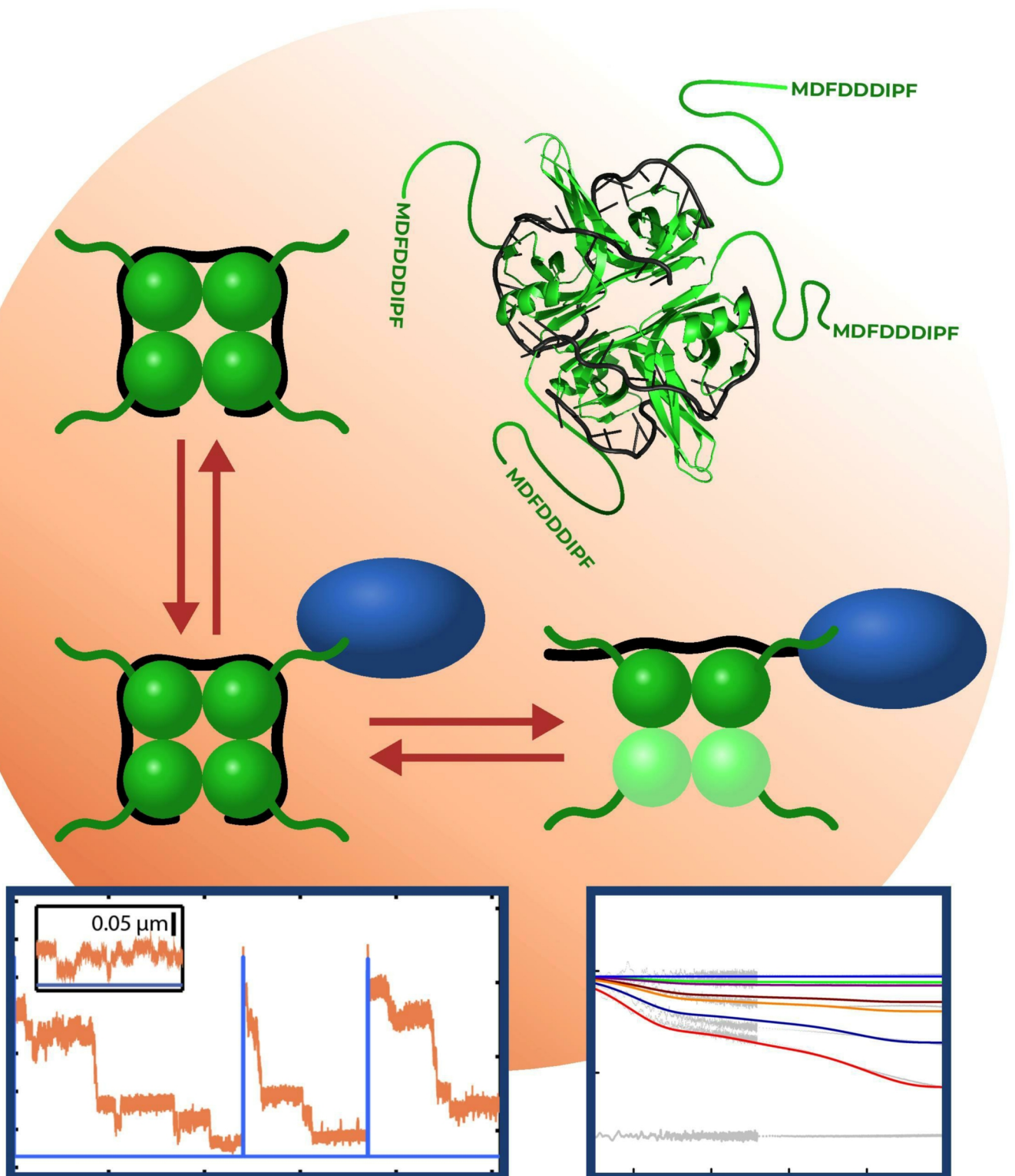


BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLIII. évfolyam 1. szám

2019. március



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

XLIII. ÉVFOLYAM 1. SZÁM

2019. március

TARTALOMJEGYZÉK

Címlapkép: A bakteriális egyszálú DNS-kötő fehérje (SSB) tánca kötőpartnereivel. Felül: az E. coli SSB (zöld) egyszálú DNS-kötött (fekete) térszerkezeti ábrája (PDB kód: 1EYG) a C-terminális régiók rajzával. Középen: az SSB DNS-kötésmód váltásának modellje (kék: SSB-kötő fehérje). Alul: a témában megjelent közlemény (Mills, Harami és mtsai., 2017, NAR) kulcskísérletei stilizáltan. A kompozíciót Zelenyánszki Helga alkotta.

AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK

Kitüntetések, díjak 3.

Harami Gábor, Kovács Mihály: Célkeresztben a bakteriális egyszálú

DNS-kötő fehérjék 4.

TUDOMÁNYOS CIKK

Nagy Kinga, Vértessy G. Beáta: Uracil-DNS alapú vírusok: mi lehet a

túlélési stratégia? 18.

REVIEW

Keserű György Miklós: Alaputatások nélkül nincs esély új terápiákra 36.

Maksay Gábor: Kémiai és biológiai periodicitás; Mengyelejev öröksége 42.

VISSZATEKINTÉS AZ ELMÚLT 50 ÉV KIEMELKEDŐ CIKKEIRE

Tompa Péter: Rendezetlen fehérjék: funkció (?) szerkezet nélkül 49.

A 2018. ÉVBEN MEGJELENT KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA 53.

KONFERENCIA HÍREK

49. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg 59.

TUDOMÁNY ÉS MŰVÉSZET

Bernáth Sándor: Meglepett pillanatok 60.



Örömteli húsvéti ünnepeket kívánunk minden kedves olvasónknak!

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. NOVEMBER 30. ÉS 2019. MÁRCIUS 15. KÖZÖTT

Az MBKE legrangosabb díját, a **Tankó Béla díjat életmű kategóriában Vígh László** (MTA SZBK, Biokémiai Intézet), a **Tankó Béla díjat Erdődi Ferenc** (Debreceni Egyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet) kapta.

Széchenyi-díjjal tüntették ki **Csermely Pétert** (SE, ÁOK, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet) a komplex rendszerek adaptációs, tanulási és döntéshozatali mechanizmusainak hálózatos vizsgálata területén elért iskolateremtő, a gyógyszerkutatásban is sikeresen alkalmazott eredményei, valamint a tudományos élet ifjú tehetségeinek felkutatása és pályájának egyengetése érdekében végzett, nemzetközileg is kiemelkedő tevékenysége elismeréseként.

Magyar Érdemrend Tisztikereszt polgári tagozata kitüntetésben részesült a haza érdekeinek előmozdításában és az egyetemes emberi értékek gyarapításában végzett tevékenysége elismeréseként:

Boros Imre Miklós (SZTE, TTK, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék),
Enyedi Péter (SE, ÁOK, Élettani Intézet).

Akadémiai Ifjúsági Díjat kapott **Nyerges Ákos József** (MTA SZBK, Biokémiai Intézet) „A bakteriális evolúciós folyamatok megértésével az antibiotikum rezisztencia kialakulása ellen új gyógyszerfejlesztési eljárások kidolgozása szintetikus biológiai módszerekkel” című cikksorozatáért.

A NOVOFER Alapítvány által adományozott **Gábor Dénes-díjjal** 2019-ben **Puskás László Gézá**t tüntették ki (MTA SZBK és Avidin Kft.) a nemzetgazdasági és világ-egészségügyi szempontból fontos gyógyszerkémiai és klinikai fejlesztési eredményeiért.

Gratulálunk a kitüntetetteknek!

CÉLKERESZTBE A BAKTERIÁLIS EGYSZÁLÚ DNS-KÖTŐ FEHÉRJÉK

Harami Gábor^{1,2*} és Kovács Mihály^{1,3}

**¹ ELTE-MTA Lendület Motorenzimológiai Kutatócsoport,
ELTE TTK Biokémiai Tanszék, Budapest;**

² MTA Prémium Posztdoktori Program;

**³ MTA-ELTE Motor Farmakológiai Kutatócsoport,
ELTE TTK Biokémiai Tanszék, Budapest**

Összefoglalás

Az antibiotikum-rezisztens patogén baktériumtörzsek elterjedése korunk egyik kiemelt globális fenyegetését jelenti. Ezért kiemelten fontos, hogy a jövőben új hatásmechanizmusú antibakteriális szerek álljanak rendelkezésünkre. Ehhez új molekuláris célpontok azonosítása szükséges. A genomkarbantartó folyamatok vizsgálata során figyelmünk homlokterébe került a bakteriális egyszálú DNS-kötő (*single-stranded DNA binding; SSB*) fehérje és annak kölcsönhatási hálózata, amely számos szempont alapján ideális támadási célpont lehet. Az SSB-k nagyszámú, a baktérium genomkarbantartásban szerepet játszó partnerfehérje működését képesek befolyásolni rövid, rendkívül konzervált fehérje-fehérje kölcsönhatási peptidmotívumuk (C-terminális peptid, CTP) révén. Kiemelendő, hogy e kölcsönhatások nagy része önmagában is esszenciális a baktérium életképességéhez, ezért az SSB-vel a partnerekért versengő molekulák potens, széles spektrumú antimikrobiális hatással rendelkezhetnek. Laboratóriumunkban célul tűztük ki a SSB-kölcsönhatások sejtes szerepének feltárása mellett a bakteriális növekedést hatékonyan gátló CTP-szerű peptidváltozatok létrehozását egy új szűrőeljárás segítségével. Az azonosított molekulák segítséget nyújthatnak az SSB-partnerfehérje kölcsönhatások funkciójának – és ezáltal a genomkarbantartás mechanizmusának – megértéséhez, illetve kiindulópontul

**Harami Gábor 2018-ban Junior Prima díjat kapott, lásd Biokémia XLII. ÉVFOLYAM 3-4. SZÁM 2018. december, 4. oldal, a szerkesztőbizottság megjegyzése.)*

szolgálhatnak jövőbeli többcélpontos antibiotikumok kifejlesztéséhez.

Antibiotikum: ma még jó, és holnap?

Az Alexander Fleming által felfedezett penicillin használata hatalmas áttörést jelentett az 1940-es évek gyógyászatában. Döbbenetes módon azonban már az 50-es években felismerték, hogy egyre több baktériumtörzs vált ellenállóvá a penicillinnel szemben, így lázas munka irányult további antimikrobiális szerek azonosítására [1]. A ma széles körben alkalmazott hatóanyagok több mint fele az 1950–1970-ig tartó időszakban került felfedezésre, így e korszak joggal nevezhető az antibiotikum-fejlesztés aranykorának [1]. A korai reményekkel ellentétben azonban az új szereknek ellenálló törzsek sajnos gyakran már az adott hatóanyag bevezetését követő években terjedésnek indultak. Mára számos, több molekulával szemben egyidejűleg ellenálló patogén baktériumtörzs ismert és okoz komoly egészségügyi gondot világszerte. A probléma súlyosságát növeli, hogy – technikai és pénzügyi okok miatt – az újonnan megjelenő hatóanyagok száma jelentősen csökkent az aranykor óta [1].

A rezisztencia kialakulásának hátterében három fő molekuláris mechanizmus állhat, melyek akár egyidejűleg is működhetnek az adott baktériumtörzsben. A sejt védekezhet a hatóanyag kémiai módosításával, intracelluláris koncentrációjának csökkentésével (a bejutás meggátlásával, illetve a hatóanyag kipumpálásával) vagy célpontjának megváltoztatásával [2]. Az utóbbi mechanizmus egyik ismert változata során az antibiotikum célpontjául szolgáló eredeti (gyakran fehérje) molekula helyett egy, a funkcióját megtartó mutáns változat jelenik meg, amelyre azonban az antibiotikum már nem tudja a hatását kifejteni [2]. Mindegyik mechanizmus kialakulása a baktériumok genetikai változottságára és változékonyságára vezethető vissza, fűszerezve a spontán mutációval létrejövő vagy már a környezetben meglévő rezisztens allélok, illetve rezisztenciagének horizontális géntranszfer révén történő gyors elterjedésével. A folyamatban az antibiotikumoknak a humán egészségügyben, illetve az állattartásban történő túlzott és sokszor felesleges alkalmazása jelentős katalizátorszerepet játszik [1, 2].

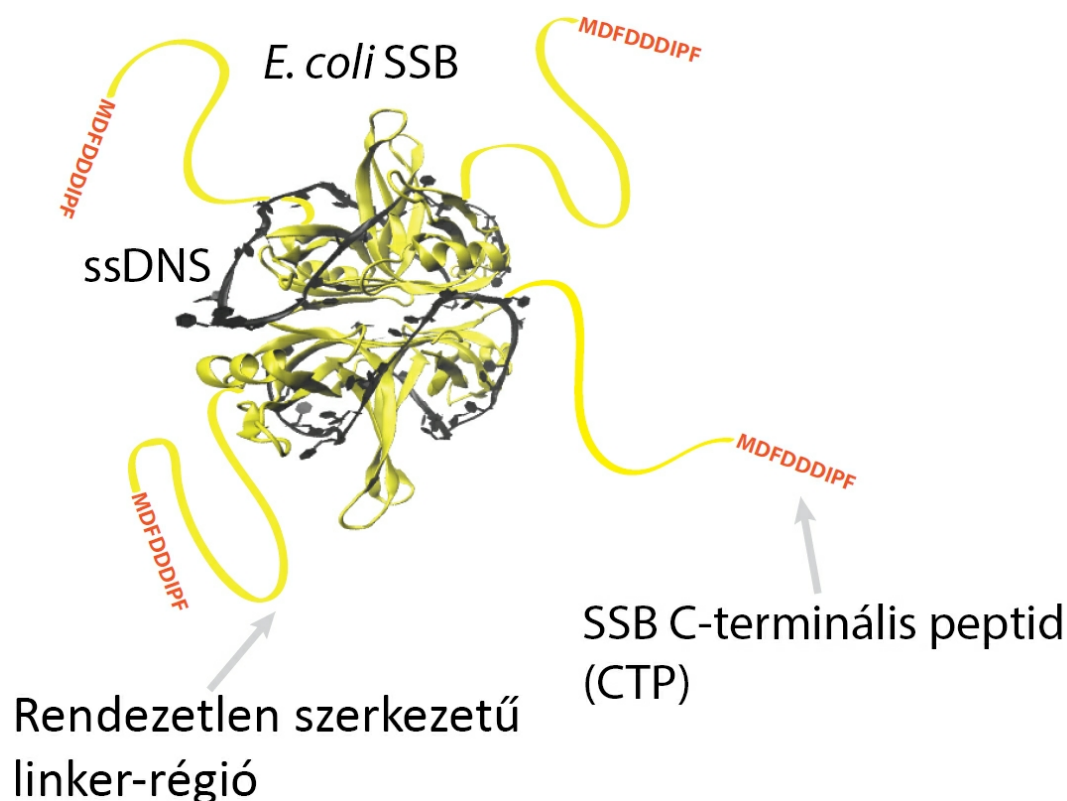
A rezisztenciamechanizmusokról gyűlő, egyre növekvő tudásunk alapján kiemelten fontos lenne az antibakteriális gyógyszerek felesleges alkalmazásának visszaszorítása és új hatásmechanizmusú hatóanyagok kifejlesztése. Számos jelenleg alkalmazott molekula hatását egyetlen fő sejtes célponton keresztül fejti ki, amelyek mutációja viszonylag nagy valószínűséggel megtörténhet. Rögvest felvetődik, hogy egy többcélpontos szer esetében a rezisztencia kialakulásának esélye nagyságrendekkel alacsonyabb lehet, hiszen az független események sorozatát követelné. Ezzel összhangban a bakteriális DNS-giráz és a Topoizomeráz IV enzimek működését egyidejűleg gátló fluorokinolon hatóanyagok esetében a spontán rezisztencia kialakulásának alacsony esélyét figyelték meg [3]. Habár e molekulák esetén is megjelentek ellenálló törzsek [4], az eredmények arra biztatnak, hogy érdemes minél összetettebb, egyidejűleg gátolható és a baktériumokra specifikus molekuláris hálózatokat azonosítani és célba venni.

Egy biztató célpont: a DNS-anyagcsere csomópontjában elhelyezkedő SSB-kölcsönhatási háló

A prokariótákban elterjedt „kanonikus” SSB fehérje a bakteriális DNS-anyagcserefolyamatokban keletkező egyszálú (ss) DNS-szakaszokkal nukleoproteinszálakat alkot, hogy meggátolja a nukleolitikus lebontást, illetve a replikáció és DNS-hibajavítás szempontjából kedvezőtlen másodlagos DNS-szerkezetek kialakulását [5]. A fehérje funkcióját a legtöbb baktériumban (*Escherichia coli* (*E. coli*)-ban is) homotetramer formában látja el. Minden SSB alegység tartalmaz egy N-terminális DNS-kötő domént. Az eddig feltérképezett törzsek genomja kódol legalább egy olyan SSB-változatot, amelyben az N-terminális domén után egy kevésbé ismert funkciójú, rendezetlen szerkezetű linker-régió és egy C-terminális fehérje-fehérje interakciós peptidszakasz (CTP) található (1. ábra) [5].

Az elmúlt évek kutatásai rávilágítottak, hogy az SSB fehérjék konzervált CTP régiójukon keresztül legalább 14, főként a DNS-hibajavításban és -replikációban nélkülözhetetlen feladatot ellátó enzimmel alakítanak ki kölcsönhatást [5]. Az

utolsó két hidrofób aminosav (Pro, Phe) megléte esszenciális a fizikai kapcsolat létrejöttéhez, a CTP-ben lévő négy aszpartát pedig negatív töltése révén elősegíti a peptid illeszkedését a partnerfehérjék hidrofób kötősebe mellett található bázikus árokba [5].

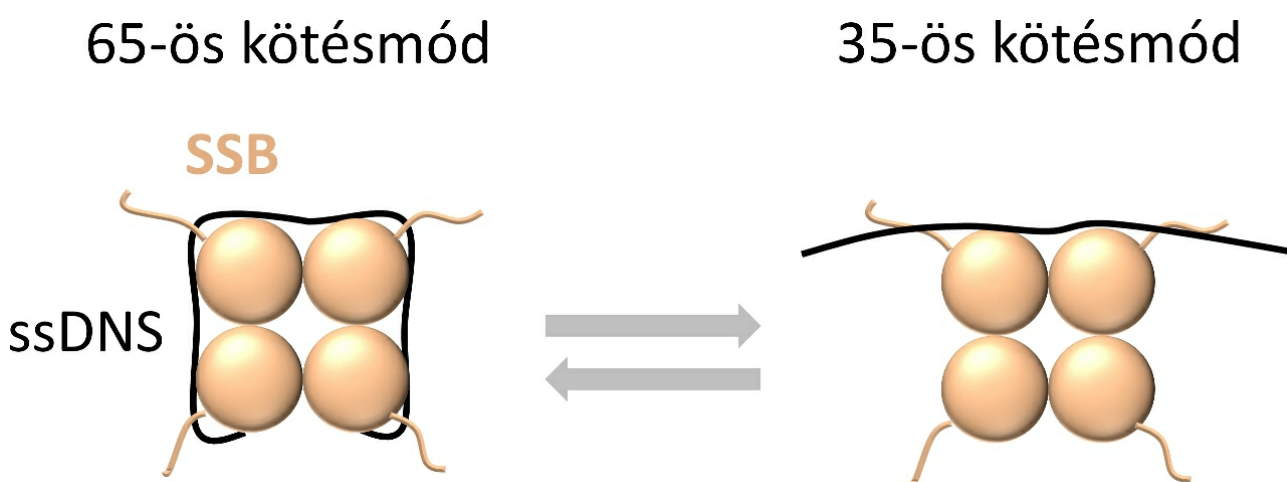


1. ábra. Az *E. coli* SSB fehérje röntgenkristallográfiával meghatározott térszerkezete két, 35 nukleotidból álló ssDNS molekula jelenlétében (PDB azonosító: 1EYG) [6]. Az SSB rendezetlen szerkezetű linker-régióját sárga rajzolt vonal, míg a C-terminális peptid (CTP) pozícióját piros aminosavkód szemlélteti. (Korábbi közleményünk [7] nyomán.)

Az SSB a CTP-n keresztül lép érintkezésbe többek közt a munkacsoportunk által intenzíven vizsgált RecQ helikáz fehérjével is [5, 7–9]. A széles körben (a baktériumoktól az emberig) elterjedt RecQ fehérjék kulcsszerepet játszanak számos genomkarbantartó folyamatban [10, 11]. Sokrétű, DNS-szubsztrátjaik szerkezetét érzékelő és a DNS-szerkezet által modulált aktivitásaik révén a RecQ helikázoknak egyebek mellett központi szerepük van a homológ rekombinációs események lebonyolításában és minőségellenőrzésében [11–13]. Ezen enzimek ATP-hidrolízishez kapcsolt módon képesek a kettősszálú (ds) DNS-molekulák szálainak szétválasztására, illetve bonyolultabb, többszálú DNS-anyagcseretermékek szétszerelésére is [11, 12]. Működésük során a DNS egyik szálát sínként

használva, azon 3'-5' irányultsággal haladnak, miközben leválasztják a másik szálát [11, 12, 14–16]. Ismert, hogy az *E. coli* SSB képes a RecQ helikáz szálszétválasztó aktivitását specifikus fehérje-fehérje kölcsönhatáson keresztül elősegíteni [7–9]. A kölcsönhatás specificitását jelzi, hogy az SSB CTP-ben megtalálható prolin szerinre cserélése jelentősen csökkenti az SSB (amúgy közepes affinitású, $K_d \sim 2\text{-}5 \mu\text{M}$) kötődését a RecQ-hoz, míg peptid szekvenciájának random összekeverése teljesen megszünteti a kölcsönhatást [8, 9].

Az intenzív kutatások ellenére az SSB fehérje-fehérje kölcsönhatásainak szerepe nagyrészt még mindig felderítetlen. Laboratóriumunk jelenlegi munkája részben az SSB-RecQ kölcsönhatás funkciójának felderítésére irányul. Vizsgálataink során meglepődve tapasztaltuk, hogy az SSB CTP-nek a RecQ helikázhoz való kötődése csak kismértékben befolyásolta a helikáz ATP-hidrolitikus, illetve DNS-szálszétválasztó aktivitását [7]. A kölcsönhatás azonban nagymértékben megváltoztatta a SSB fehérje DNS-kötő sajátságait [7]. Régóta ismert, hogy az *E. coli* SSB két különböző fő DNS-kötő móddal rendelkezik: az ún. 65-ös kötési módban ~ 65 nukleotid csavarodik az SSB tetramer mind a négy alegységére, ezzel szemben a 35-ös kötési módban ~ 35 nukleotid tekeredik a fehérje csupán két alegységére (2. ábra) [17].



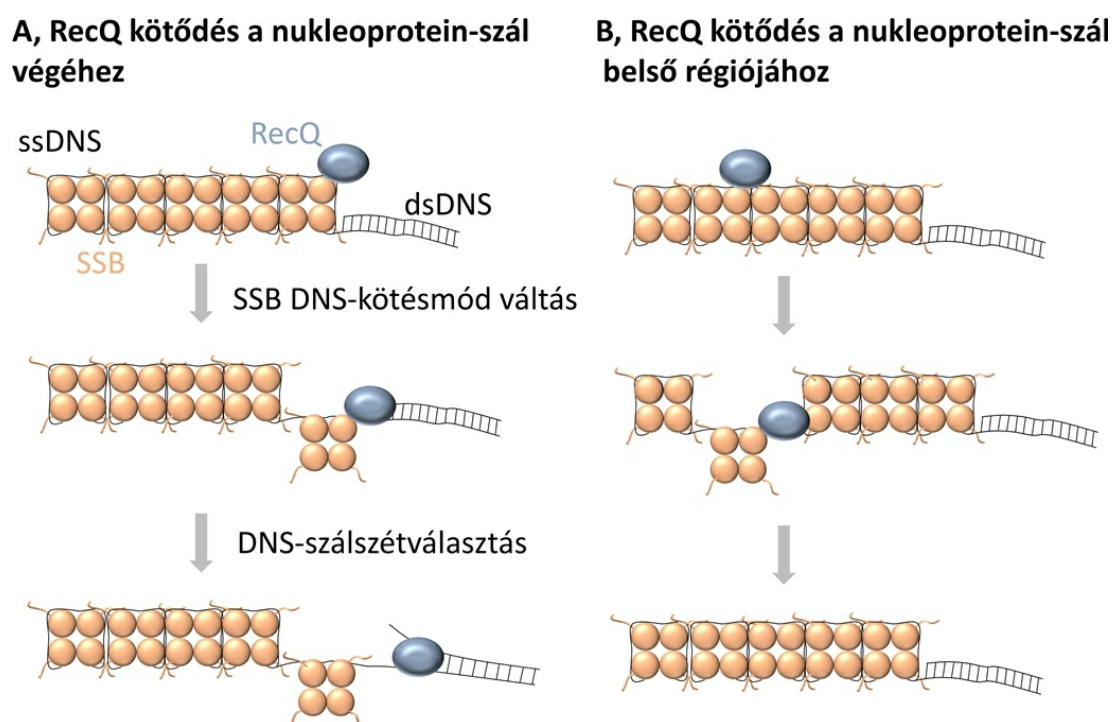
2. ábra. Sematikus ábra az *E. coli* SSB két fő ssDNS-kötő módjáról, melyek képesek egymásba reverzibilis módon átalakulni. A 65-ös DNS-kötésmódban a fehérje négy, míg a 35-ös kötésmódban két alegysége vesz részt. Az ábra a DNS pozícióját csak sematikus szemlélteti.

A két DNS-kötő mód reverzibilisen átalakulhat egymásba; a közöttük kialakuló egyensúly függ a hőmérséklettől, pH-tól, ionerősségtől, valamint az SSB/ssDNS mennyiségi arányától [17, 18]. Meglepő módon a kötésmódok *in vivo* funkciója szintén ismeretlen [19]. Nemrég közölt cikkünkben a mágnescsipeszes egyedi-molekula-mérések, a tranziens enzimkinetika és a mechanisztikus modellezés eszköztárát kombinálva az SSB DNS-kötésmódjainak és az SSB CTP fehérje-fehérje kölcsönhatásainak meglepő összefüggését figyeltük meg [7]. Azt tapasztaltuk, hogy a RecQ helikáz a CTP-vel való kölcsönhatása révén képes a DNS-kötött SSB-ben kötésmódváltást kiváltani. Méréseinkben a RecQ helikáz CTP-hez történő kapcsolódásának hatására az SSB a 65-ös kötési módból a 35-ös kötési módba váltott. A kötésmódváltás hatására korábban SSB-vel fedett ssDNS-szakaszok válhatnak szabaddá, melyekhez a RecQ nagy affinitással kötődik [7]. Az eredményeink alapján megalkotott mechanisztikus modell szerint, ha a RecQ az SSB-nukleoprotein-szálban az egyszálú és kétszálú DNS találkozási pontjánál lévő SSB-tetramerben idéz elő kötésmódváltást, akkor a felszabaduló ssDNS-szakasz kiindulási pontként szolgálhat a helikáz DNS-szál-szétválasztó aktivitásának elindulásához (3.A ábra). Ezzel szemben a RecQ kötődése a nukleoprotein-szál belső részeihez rövid életidejű lesz, mert az enzim DNS-en való haladását a szomszédos SSB-molekulák gátolják (3.B ábra).

Modellünkkel összhangban, hasonló CTP-kölcsönhatás-indukált DNS-kötésmódváltást figyeltek meg a bakteriális PirA, PriC és RecO SSB-partnerek esetében is [20–22]. A fentiek alapján körvonalazódni látszik az SSB DNS-kötésmódok és a CTP-kölcsönhatások általános sejtbeli szerepe. A baktériumsejt az SSB segítségével védi az anyagcsere-folyamatai során keletkező sérülékeny ssDNS-szakaszokat, viszont a CTP-kölcsönhatás révén a sejt számára szükséges, illetve előnyös DNS-átalakító folyamatokat végző enzimek hozzáférhetnek a megfelelő DNS-régiókhoz. Ezzel összhangban a CTP partnerfehérjékkel kialakított kölcsönhatásait gátló mutációk letálisak az *E. coli* sejtek számára [23].

Egyszálú DNS-kötő fehérjék természetesen az eukarióta sejtekben is megtalál-

hatóak mind a sejtmagban (RPA, replikációs fehérje A, humán SSB1 és SSB2), mind a mitokondriumban (mtSSB), és – a bakteriális SSB fehérjékhez hasonlóan – számos partnerfehérjével alakítanak ki kölcsönhatást [24]. Szerkezetük azonban jelentősen eltér a bakteriális SSB-ktől és közös jellemzőjük, hogy nem tartalmazzák a CTP régiót [24, 25]. Érdekes módon – a szerkezeti különbségek ellenére – az eukarióta RPA fehérje esetében is több eltérő DNS-kötésmódot figyeltek meg [26, 27].



3. ábra. Az SSB a RecQ helikázt (kék ellipszis) a szétválasztandó DNS-szakaszokhoz toborozza. (A) A RecQ helikáz szálszétválasztó aktivitása az ss-dsDNS találkozási pontnál elindulhat a CTP kölcsönhatás és SSB DNS-kötésmód váltás miatt felszabaduló ssDNS-szakaszról. **(B)** A RecQ fehérje kölcsönhatása az SSB nukleoprotein-szál belső régiójával improduktív és rövid életidejű. (Korábbi közleményünk [7] nyomán.)

Az SSB kölcsönhatási hálózatán keresztül hatékonyan gátolható a bakteriális növekedés

A fent részletezett SSB-funkciók és a CTP-kölcsönhatás sajátosságai alapján ez a rendszer ideális célpontja lehet új, többcélpontos, széles spektrumú bakteriális növekedést gátló szereknek. A CTP kölcsönhatásai esszenciálisak a baktériumsejtek számára, és – mivel a CTP uniform módon kötődik az ismert kölcsönható partnerekhez – feltételezhető, hogy a CTP-vel a partnerekért versengő mole-

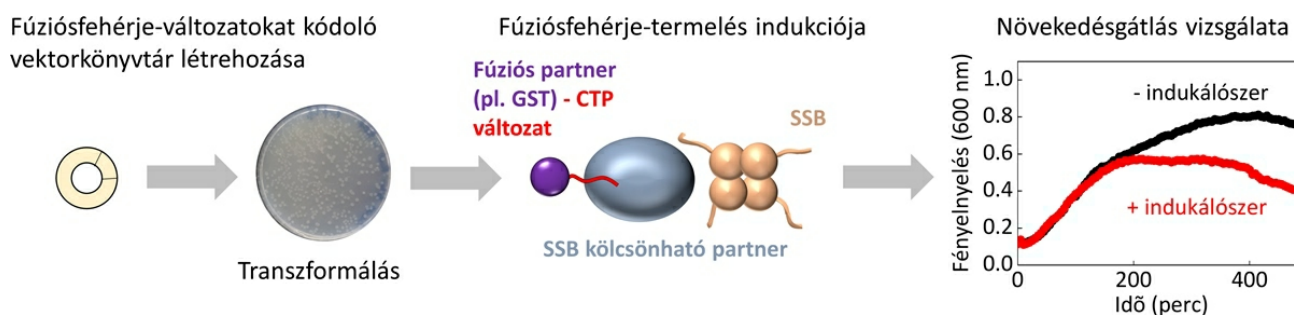
kulák az egész kölcsönhatási hálót egyidejűleg gátolhatják, anélkül, hogy az eukarióta sejtekre hatással lennének. Egy ilyen többcélpontos molekula esetében a célfehérjék mutációjával kialakuló rezisztencia megjelenésének esélye feltételezhetően rendkívül alacsony lesz, hiszen a baktériumsejtben ehhez egyidejűleg kellene megváltoznia az összes kötőpartnernek és az SSB CTP-nek.

A fenti elképzelés alapján kismolekula-szűrő eljárással az elmúlt évek során sikeresen azonosítottak három olyan vegyületet, melyek – feltételezhetően a CTP-kölcsönhatások gátlása révén – széles spektrumú antibiotikus hatással rendelkeztek [28]. Azonban sajnálatos módon az azonosított molekulák számos negatív hatást fejtettek ki a vizsgált eukarióta sejtvonalakra, így humán terápiás alkalmazásuk egyelőre nem valószínűsíthető [28].

Laboratóriumunkban jelenleg kismolekulák azonosítása helyett olyan CTP-változatok létrehozásán dolgozunk, amelyek a vad típusú peptidnél nagyobb affinitással képesek a kölcsönható partnerekhez kötődni. Saját eredményeink (lásd fentebb), illetve más kutatócsoportok mechanizmus-vizsgálatai azt támasztják alá, hogy a vad típusú SSB CTP a közepesen erős affinitású, tranziens kölcsönhatások kialakítására adaptálódott [5, 7, 9, 29]. Ebből kiindulva nagy valószínűséggel előállíthatók az SSB-partnerekhez a vad típusnál jelentősen nagyobb affinitással kötődő CTP-peptidvariánsok a lehetséges aminosav-szekvenciákat felölelő hatalmas kémiai térben. Az erősen kötő CTP-variánsok – versengve a sejtben lévő endogén SSB-vel – már alacsony koncentrációban is hatékonyan gátolhatják a bakteriális növekedést, mivel DNS-kötő domén hiányában a toborzó funkciójukat nem tudják betölteni.

A CTP-változatok szűréséhez kidolgoztunk egy újszerű eljárást, amelynek segítségével a baktériumsejten belül, fúziós fehérjéhez kapcsolt nagyszámú peptidvariánsnak a bakteriális növekedésre gyakorolt hatása vizsgálható közepes áteresztőképesség mellett. Fúziós partnerként a bakteriális anyagcserével jelentősen nem interferáló, többféle inert fehérjét is teszteltünk (pl. eGFP:

módosított zöld fluoreszcens fehérje, GST: Glutation-S-transzferáz, MBP: Maltóz-kötő fehérje). Géntechnológiai eljárások segítségével végül létrehoztunk egy, a fúziós peptid indukálható expresszióját lehetővé tevő, a fúziós peptid-változatokat kódoló plazmid vektor könyvtárát. Első könyvtárunkat úgy alkottuk meg, hogy a kifejeződő peptid az eredeti CTP szekvencia 3, bioinformatikai elemzés alapján változatosságot mutató, aminosav-pozíciójában bármely természetes aminosavat hasonló eséllyel jelenítsék meg. A vektorkönyvtár baktériumsejtbe való transzformálása és az egyes transzformált klónok szelektálása után az adott peptidváltozatokat termelő baktériumok növekedési görbéjét a megfelelő kontrollok mellett lemezolvasó készülék segítségével követjük nyomon. Hatékony gátlópeptidek esetében, ahogyan nő annak sejten belüli koncentrációja, úgy lassul a populáció növekedési üteme és a baktériumok pusztulni kezdenek (4. ábra).



4. ábra. A bakteriális növekedést gátló CTP-változatok azonosítására kidolgozott szűrőeljárás munkafolyamata. Az egyes fúziós CTP-változatokat indukálószer hatására kifejező baktériumkultúrák növekedését – párhuzamosan az indukálatlan kontrollal – lemezolvasó készülék segítségével, 600 nm-en mérhető fényelnyelés-változás alapján követjük nyomon. A jobb oldali panelen látható, hogy a baktériumkultúra növekedését gátolja az adott GST-fuzionált CTP-változat indukált termelése (piros görbe). Kontroll kísérleteinkben a GST önálló túltermelése nem volt hatással a baktériumok növekedésére (nem közölt adatok).

A vad típusú CTP-nél hatékonyabb növekedésgátló hatást mutató peptidváltozatok aminosav-szekvenciája meghatározható a mérés végén a sejt kultúrákból kinyert plazmidok nukleotidsorrendjének szekvenálással való leolvasásából. Sokrétű optimalizációt követően jelenleg a mutáns CTP-változatok tesztelését végezzük és párhuzamosan fejlesztés alatt áll egy új generációs DNS-szekvenálást alkalmazó módszer is, melynek segítségével milliós nagyságrendben tesztelhetjük a változatokat.

Kitekintés

Az azonosított, bakteriális növekedést hatékonyan gátló CTP-változatok reményeink szerint megfelelő kísérletes eszközök lesznek ahhoz, hogy az SSB fehérje-fehérje kölcsönhatásainak szerepét mélységeiben feltárhassuk. A peptidek azonosítása után számos vizsgálati irányba tárul kapu, pl. az adott peptideket szintetikusán előállítva vizsgálni tudjuk azok kölcsönhatását az izolált partnerfehérjékkel, hogy feltárjuk a gátlás hatásmechanizmusát. További munkával feltárhatjuk a CTP-aminosav szekvencia és a partnerfehérje-kölcsönhatás affinitásának összefüggéseit. Ezen információk jelentősen elősegíthetik a kölcsönhatási hálót gátló új kismolekulák fejlesztését. Harmadrészt, a peptidváltozatok önmagukban kiindulásként szolgálhatnak új hatóanyagok fejlesztéséhez. A peptidek baktériumsejtbe való bejuttatása és proteolitikus hasítástól való megvédése az ígéretes molekulajelöltek további optimalizációját fogja igényelni [30].

Bízunk benne, hogy eredményeinkkel hozzájárulunk új hatásmechanizmusú, széles spektrumú, többcélpontos antibakteriális szerek kifejlesztéséhez, amelyek ellen a célfehérjék mutációján keresztül kialakuló rezisztencia megjelenésének esélye jelentősen alacsonyabb lesz, mint a jelenleg használt hatóanyagok esetében.

Köszönetnyilvánítás

Munkánk a Human Frontier Science Program (RGY0072/2010), az MTA „Lendület” Program (LP2011-006/2011.) és az MTA Prémium Posztdoktori Program, valamint az ELTE KMOP-4.2.1/B-10-2011-0002, NKFIH K-116072, NKFIH K-123989 és NKFIH ERC_HU 117680 pályázatok támogatásával készült.

Irodalomjegyzék

- [1] Ventola, C. L. (2015) The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P&T*, **40**: 277–283.
- [2] Munita, J. M., Arias, C. A. (2016) Mechanisms of Antibiotic Resistance.

Microbiol Spectr, **4**(2).

[3] East, S. P., Silver, L. L. (2013) Multitarget ligands in antibacterial research: progress and opportunities. *Expert Op Drug Discov*, **8**: 143–156.

[4] Redgrave, L. S., Sutton, S. B., Webber, M. A., Piddock, L. J. V. (2014) Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol*, **22**: 438–445.

[5] Shereda, R. D., Kozlov, A. G., Lohman, T. M., Cox, M. M., Keck, J. L. (2008) SSB as an organizer/mobilizer of genome maintenance complexes. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **43**: 289–318.

[6] Raghunathan, S., Kozlov, A. G., Lohman, T. M., Waksman, G. (2000) Structure of the DNA binding domain of E. coli SSB bound to ssDNA. *Nat Struct Biol*, **7**: 648–652.

[7] Mills, M., Harami, G. M., Seol, Y., Gyimesi, M., Martina, M., Kovács, Z. J., Kovács, M., Neuman, K. C. (2017) RecQ helicase triggers a binding mode change in the SSB–DNA complex to efficiently initiate DNA unwinding. *Nucleic Acids Res*, **45**: 11878–11890.

[8] Shereda, R. D., Bernstein, D. A., Keck, J. L. (2007) A central role for SSB in Escherichia coli RecQ DNA helicase function. *J Biol Chem*, **282**: 19247–19258.

[9] Shereda, R. D., Reiter, N. J., Butcher, S. E., Keck, J. L. (2009) Identification of the SSB Binding Site on E. coli RecQ Reveals a Conserved Surface for Binding SSB's C Terminus. *J Mol Biol*, **386**: 612–625.

[10] Croteau, D. L., Popuri, V., Opresko, P. L., Bohr, V. A. (2014) Human RecQ Helicases in DNA Repair, Recombination, and Replication. *Annu Rev Biochem*, **83**: 519–552.

[11] Bernstein, K. A., Gangloff, S., Rothstein, R. (2010) The RecQ DNA helicases in DNA repair. *Annu Rev Genet*, **44**: 393–417.

[12] Harami, G. M., Seol, Y., In, J., Ferencziová, V., Martina, M., Gyimesi, M., Sarlós, K., Kovács, Z. J., Nagy, N. T., Sun, Y., Vellai, T., Neuman, K. C., Kovács, M. (2017) Shuttling along DNA and directed processing of D-loops by RecQ helicase support quality control of homologous recombination. *Proc Natl Acad Sci USA*, **114**: E466–E475.

- [13] Harami, G. M., Gyimesi, M., Kovács, M. (2013) From keys to bulldozers: expanding roles for winged helix domains in nucleic-acid-binding proteins. *Trends Biochem Sci*, **38**: 364–371.
- [14] Gyimesi, M., Sarlós, K., Kovács, M. (2010) Processive translocation mechanism of the human Bloom's syndrome helicase along single-stranded DNA. *Nucleic Acids Res*, **38**: 4404–4414.
- [15] Sarlós, K., Gyimesi, M., Kovács, M. (2012) RecQ helicase translocates along single-stranded DNA with a moderate processivity and tight mechanochemical coupling. *Proc Natl Acad Sci USA*, **109**: 9804–9809.
- [16] Harami, G. M., Nagy, N. T., Martina, M., Neuman, K. C., Kovács, M. (2015) The HRDC domain of E. coli RecQ helicase controls single-stranded DNA translocation and double-stranded DNA unwinding rates without affecting mechanoenzymatic coupling. *Sci Rep*, **5**.
- [17] Lohman, T. M., Ferrari, M. E. (1994) Escherichia coli single-stranded DNA-binding protein: multiple DNA-binding modes and cooperativities. *Annu Rev Biochem*, **63**: 527–570.
- [18] Roy, R., Kozlov, A. G., Lohman, T. M., Ha, T. (2007) Dynamic structural rearrangements between DNA binding modes of E. coli SSB protein. *J Mol Biol*, **369**: 1244–1257.
- [19] Waldman, V. M., Weiland, E., Kozlov, A. G., Lohman, T. M. (2016) Is a fully wrapped SSB–DNA complex essential for *Escherichia coli* survival? *Nucleic Acids Res*, **44**: 4317–4329.
- [20] Bhattacharyya, B., George, N. P., Thurmes, T. M., Zhou, R., Jani, N., Wessel, S. R., Sandler, S. J., Ha, T., Keck, J. L. (2014) Structural mechanisms of PriA-mediated DNA replication restart. *Proc Natl Acad Sci USA*, **111**: 1373–1378.
- [21] Wessel, S. R., Marceau, A. H., Massoni, S. C., Zhou, R., Ha, T., Sandler, S. J., Keck, J. L. (2013) PriC-mediated DNA Replication Restart Requires PriC Complex Formation with the Single-stranded DNA-binding Protein. *J Biol Chem*, **288**: 17569–17578.
- [22] Inoue, J., Nagae, T., Mishima, M., Ito, Y., Shibata, T., Mikawa, T. (2011)

- A Mechanism for Single-stranded DNA-binding Protein (SSB) Displacement from Single-stranded DNA upon SSB-RecO Interaction. *J Biol Chem*, **286**: 6720–6732.
- [23] Antony, E., Weiland, E., Yuan, Q., Manhart, C. M., Nguyen, B., Kozlov, A. G., McHenry, C. S., Lohman, T. M. (2013) Multiple C-terminal tails within a single E. coli SSB homotetramer coordinate DNA replication and repair. *J Mol Biol*, **425**: 4802–4819.
- [24] Ashton, N. W., Bolderson, E., Cubeddu, L., O’Byrne, K. J., Richard, D. J. (2013) Human single-stranded DNA binding proteins are essential for maintaining genomic stability. *BMC Mol Biol*, **14**: 9.
- [25] Dickey, T. H., Altschuler, S. E., Wuttke, D. S. (2013) Single-stranded DNA-binding proteins: multiple domains for multiple functions. *Structure*, **21**: 1074–1084.
- [26] Fan, J., Pavletich, N. P. (2012) Structure and conformational change of a replication protein A heterotrimer bound to ssDNA. *Genes Dev*, **26**: 2337–2347.
- [27] Fanning, E., Klimovich, V., Nager, A. R. (2006) A dynamic model for replication protein A (RPA) function in DNA processing pathways. *Nucleic Acids Res*, **34**: 4126–4137.
- [28] Marceau, A. H., Bernstein, D. A., Walsh, B. W., Shapiro, W., Simmons, L. A., Keck, J. L. (2013) Protein interactions in genome maintenance as novel antibacterial targets. *PLoS ONE*, **8**: e58765.
- [29] Lu, D., Keck, J. L. (2008) Structural basis of Escherichia coli single-stranded DNA-binding protein stimulation of exonuclease I. *Proc Natl Acad Sci USA*, **105**: 9169–9174.
- [30] Otvos, L., Wade, J. D. (2014) Current challenges in peptide-based drug discovery. *Front Chem*, **2**: 62.



Harami Gábor az ELTE-n szerzett biológusdiplomát 2010-ben, majd ugyanitt 2016-ban kapott PhD fokozatot. Munkáját a Dr. Kovács Mihály által vezetett MTA-ELTE Lendület Motorenzimológiai kutatócsoportban (www.mk-lab.org) végzi, mint tudományos munkatárs. 2017-ben elnyerte az MTA Prémium Posztdoktori Pályázatát, amelynek keretében jelenleg a homológ rekombináció minőségellenőrzésének lépéseit vizsgálja újszerű egyedi- és sokmolekula módszerek segítségével. Munkájáért 2018-ban Junior Prima Díjban részesült.



Kovács Mihály az ELTE-n végzett biológusként, majd ugyanitt szerzett PhD fokozatot 2002-ben. Az USA-beli National Institutes of Health-ben végzett posztdoktori munka után megalakította a Motorenzimológiai Kutatócsoportot az ELTE-n (www.mk-lab.org). Jelenleg a miozin 2 sejt-váz-motorfehérjék gátlásának terápiás felhasználását célzó, illetve a DNS-rekombináció és -hibajavítás enzimeinek biológiai szerepeit és működési mechanizmusait felderítő projekteket vezet. Az ELTE Szerkezeti Biokémia Doktori Programjának vezetője, illetve a Magyar Biokémiai Egyesület főtitkára.

URACIL-DNS ALAPÚ VÍRUSOK: MI LEHET A TÚLÉLÉSI STRATÉGIA?

Nagy Kinga^{1, 2} és Vértessy G. Beáta^{1,2}

*¹Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Vegyésszmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia
és Élelmiszertudományi Tanszék, Budapest;*

²MTA TTK, Enzimológiai Intézet, Budapest

Összefoglalás

A genetikai állomány épségének megőrzése minden élőlény számára nélkülözhetetlen, az abban bekövetkező elváltozások tumorok kialakulásához vagy a sejt halálához vezethetnek. Az uracil bázis DNS-ben való megjelenése az esetek többségében hibának számít, amit a sejt erre specializálódott enzimek készlete javítani igyekszik. A hibajavítás fontosságát bizonyítja, hogy az ebben a folyamatban kulcsszerepet játszó enzimek konzerváltak a baktériumoktól egészen az emberig. Mikael Skurnik és munkatársai 2005-ben egy igen érdekes vírust találtak, amely *Yersinia* fajokat fertőz és DNS-e a timin bázisok helyett teljes egészében uracil bázissal helyettesített. A mai napig mindössze 3 ilyen vírusról számoltak be az irodalomban, azonban egyik esetben sem sikerült felfedni, hogyan képesek ezek a vírusok különleges DNS-üket létrehozni, illetve fenntartani olyan gazdasejtekben, amelyekben a DNS-ben megjelenő uracil bázis hibának számít. A célunk ezen vírusok túlélési stratégiájának megértése, valamint azon vírus genomi régiók feltérképezése, amelyek felelősek lehetnek az uracilos DNS kialakításáért. Kísérleteink során a Φ R1-37 bakteriofág genetikai könyvtárával dolgoztunk, mivel a vírus teljes genetikai állományának szekvenálása megtörtént. Egy nagyáteresztő képességű módszert dolgoztunk ki, amely segítségével olyan ágenseket kerestünk a fág DNS-ében, amely az uracil DNS-ből való eltávolításáért felelős enzim (UNG) működését gátolni képes. Ehhez magas genomi uracil tartalmú sejteket transzformáltunk az UNG enzim génjét tartalmazó, valamint a fág genomi részleteit tartalmazó plazmid DNS-ekkel. A túlélő sejtekből kolónia PCR, majd szekvenálás segítségével azonosítottuk a fág genom azon részleteit, amelyek felelősek lehetnek az

uracilos DNS menekítéséért. A kapott adatokat bioinformatikai analízisnek vetettük alá. Az általunk kidolgozott módszerrel több fág fehérjét is sikerült azonosítani, amelyek potenciális UNG inhibitorok lehetnek. Ennek megerősítésére a későbbiekben *in vitro* kísérleteket is tervezünk végezni.

Bevezetés

Az uracil bázis az RNS polimer egyik építőeleme. A DNS-ben megtalálható timin bázist helyettesíti, bázispárosodás szempontjából szintén az adeninnel szembe, azzal 2 hidrogén-hidat kialakítva épül be az RNS-be ribonukleotid formában. A DNS-ben kétféleképpen jelenhet meg. Egyrészt a DNS-ben már jelenlévő citozin bázisok oxidatív dezaminációja során keletkezhet, illetve a replikáció során a DNS polimerázok is beépíthetik timin helyett dezoxiribo-formában, mivel nem tudnak különbséget tenni a dUTP és a dTTP között. Ennek a valószínűsége a sejten belüli dUTP/dTTP aránytól függ, amely szigorú enzimatikus szabályozás alatt áll. A DNS-beli uracil megjelenése az esetek többségében hibának számít, amelyet a sejt eliminálni igyekszik. A citozin dezaminációja során keletkező uracil – amennyiben nem kerül javításra a replikáció előtt – stabil pontmutációt eredményez, amely az elhelyezkedésétől függően, akár végzetes kimenetelű is lehet a sejt számára [1, 2]. A timin helyett beépülő uracil nem okoz mutációt, mivel bázispárosodás szempontjából megegyezik a timinnel, azonban az ily módon beépülő nagymennyiségű uracil is végzetes lehet a sejt számára. Ennek oka, hogy az uracil eliminálásáért felelős uracil-DNS glikoziláz (UDG) enzimes család egyes tagjainak, köztük a legjelentősebb hibajavító enzimnek, az UNG-nak mind az egyszálú DNS-en megjelenő uracil, mind pedig az adeninnel, illetve guaninnal szemközti uracil szubtrátja, azok eltávolítását fogják katalizálni a DNS-ből [3, 4]. Amennyiben nagymennyiségű uracil kerül a DNS-be, a hibajavítás következtében DNS kettősszál töréseket, illetve kromoszóma fragmentációt okozhat. Ennek elkerülése érdekében a sejt igyekszik minimalizálni a sejten belüli dUTP koncentrációt. A dUTPáz (dezoxiuridin-trifoszfát-nukleotid-hidroláz), illetve a timidilát-szintáz enzimek feladata a sejten belüli dUTP/dTTP szint alacsonyan tartása [5]. A dUTPáz enzim katalizálja a dUTP hidrolízisét

dUMP-vé, a timidilát szintáz pedig a dUMP redukív metilációját dTMP-vé. A dTMP-t ezek után nukleotid kinázok foszforilálják dTTP-vé, ami már a DNS egyik építőeleme [6].

A DNS-beli uracil eddig ismert élettani szerepei

Az uracil bázis megjelenése a DNS-ben azonban néhány esetben létfontosságú. Az ellenanyag termelő B-limfociták DNS-ét az antigén hatására bekövetkező aktivációjukat követően az AID (aktiválás indukált dezamináz) enzim módosítja a citozinok oxidatív dezaminációja által. Ennek során uracilok keletkeznek a DNS-ben. Ezek egy része a hibajavítás elmaradása következtében mutációkat eredményez, illetve a hibajavítás során kettős száltörések keletkeznek a DNS-en, amelyek fontos szerepet játszanak a szomatikus hipermutációban, illetve az osztályváltó rekombinációban [7]. E folyamat teszi lehetővé, hogy minden ember kb. 10^{11} -féle ellenanyagot képes előállítani, holott az emberi haploid genom mérete „csak” 3×10^9 bázispár.

Az immunrendszer ezen kívül más esetekben is felhasználja a DNS-ben lévő citozinok dezaminációját uracillá. A sejteket fertőző vírusok számára is elengedhetetlen a saját genetikai állományuk sértetlenségének megőrzése. Ezen vírusok DNS-ét az APOBEC (apolipoprotein B mRNA editing enzyme) enzim család tagjai módosítják a citozinok uracillá történő dezaminálása révén. Az uracil bázisokat az uracil-DNS glikoziláz enzimcsalád tagjai vágják ki a virális DNS-ből, amely során a DNS fragmentálódhat. A hibajavítás elmaradása következtében pedig olyan mutációk keletkezhetnek, amelyek ellehetetlenítik a fertőzést [8, 9].

A fent említett folyamatok nélkülözhetetlenek az immunrendszer megfelelő működéséhez, hiányukban súlyos immunhiányos állapot alakulhat ki [10]. Megfelelő szabályozásuk azonban szintén létfontosságú, túlműködésüket ugyanis számos daganatos megbetegedéssel hozták összefüggésbe [11]. A DNS-beli uracil megjelenését HIV (Humán Immundeficiencia Vírus) vírus fertőzés esetén is vizsgálták. Kimutatták, hogy a reverz transzkripció során a keletkező virális

cDNS-be beépült dUTP-k annak degradációját idézik elő, valamint gátolják a vírus integrációját a genomba a fertőzött sejt UNG enzim aktivitásának köszönhetően [12].

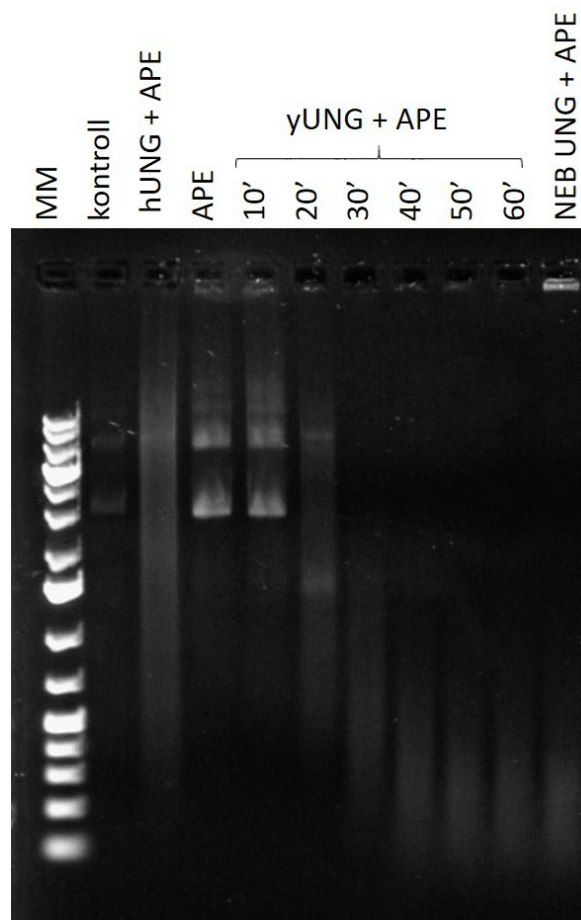
Az *ung* gént nem tartalmazó *Drosophila melanogaster* esetében kimutatták, hogy a lárva, báb és imágó szintén megemelkedett uracil szinttel rendelkezik (200-2000 uracil/millió bázis), amelynek fontos szerepe lehet az egyedfejlődés során [13, 14].

Uracil alapú DNS-el rendelkező vírusok

Több olyan vírust írtak le az irodalomban, amelyek DNS-e timin helyett uracil bázissal helyettesített. Ilyenek a *Bacillus subtilis*-t fertőző PBS1 és PBS2 fágok [15], a *Yersinia* fajokat fertőző Φ R1-37 [16], valamint a *Staphylococcus*okat fertőző S6 fág [17]. Ezek a bakteriofágok olyan baktériumokat fertőznek, amelyek rendelkeznek a DNS uraciltartalmának minimalizálásáért felelős enzimmérszlettel (pl. uracil-DNS glikozilázok), illetve – a *Staphylococcus*okat leszámítva, amelyek nem rendelkeznek saját dUTPáz génnel [18] – azokkal az enzimekkel, amelyek az alacsony dUTP/dTTP arány fenntartásáért felelősek (pl. dUTPáz és timidilát-szintáz).

Felmerül a kérdés, hogy ezek a vírusok hogyan élhetnek túl és hozhatják létre uracilos genomjukat egy olyan környezetben, ahol a DNS-ben megjelenő uracil bázis hibának számít. A *Bacillus subtilis*-t fertőző PBS fágok ezt a problémát egy UNG inhibitor fehérjével, az UGI-val oldják meg [19]. Az UNG az UDG enzimmcsalád tagja, emberben és a legtöbb baktériumban a legjelentősebb szereppel bír az uracil bázis DNS-ből való eltávolítása tekintetében [20]. Az UGI fehérje nélkülözhetetlen a fágok túlélése szempontjából, mivel hiányában a vírusok uracilos DNS-e feldarabolódna a baktériumsejtbe való bejutást követően. Az elmúlt években két olyan további fehérjét azonosítottak, melyek szintén erősen gátolják az UNG-ot (p56, SaUGI) [21, 22]. Érdekes módon az UGI, p56 és SaUGI fehérjék egymáshoz semmilyen jelentős szekvencia hasonlóságot nem mutat-

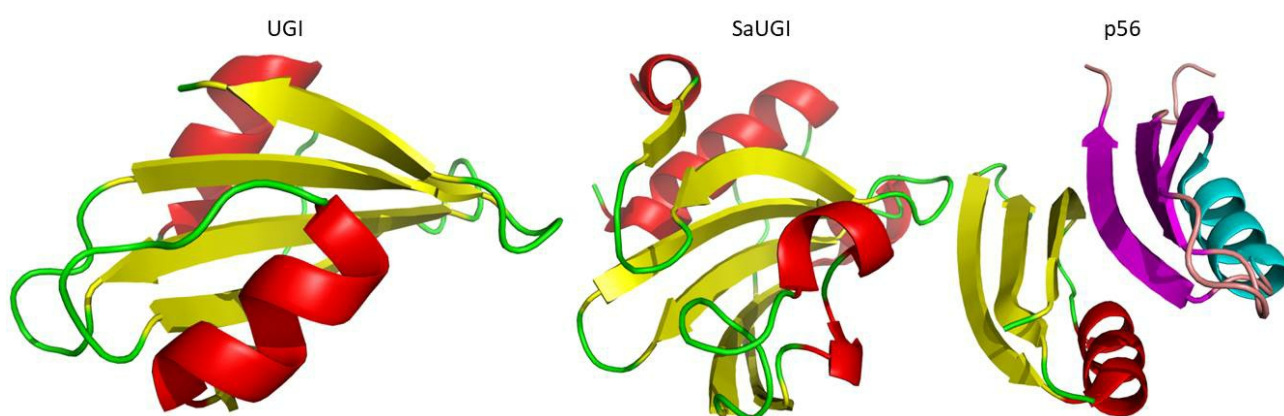
nak, egyértelműen külön evolúciós ágakban jöttek létre. Háromdimenziós térszerkezetükből az is kiderült, hogy a feltekeredési mintázatuk is eltérő. Mégis minden esetben olyan fehérje felszín hoznak létre, amely a DNS-t mimikálja, és szorosan kötődik az UNG-hoz [22]. A Φ R1-37 és az S6 fág esetében nem találtak az UGI-hoz hasonló fehérjét, tehát felmerül a kérdés, hogy ezen vírusok milyen stratégiát alkalmaznak a túlélésük érdekében.



1. ábra. A *Yersinia enterocolitica* és humán UNG enzimek aktivitásának vizsgálata. MM: molekula marker (DNS létra); kontroll: kezeletlen uracilos plazmid DNS; hUNG + APE: humán UNG-al és APE-val kezelt plazmid; APE: csak APE-val kezelt plazmid (annak ellenőrzésére, hogy a kezelések során a DNS ténylegesen az uracilok megléte miatt fragmentálódik); yUNG + APE: yersinia UNG és APE enzimmel kezelt plazmid; NEB UNG + APE: a NEB által forgalmazott UNG enzimmel és APE-val kezelt plazmid. A kezelések minden esetben 37°C-os termosztálással történtek: a humán és a NEB-es UNG esetében 10 percig tartott; a yersinia UNG esetében a fent megjelölt időtartamokig. A csak APE-val történt kezelés 60 percig tartott. A kísérletekben a humán és yersinia UNG-ot azonos moláris koncentrációban alkalmaztam.

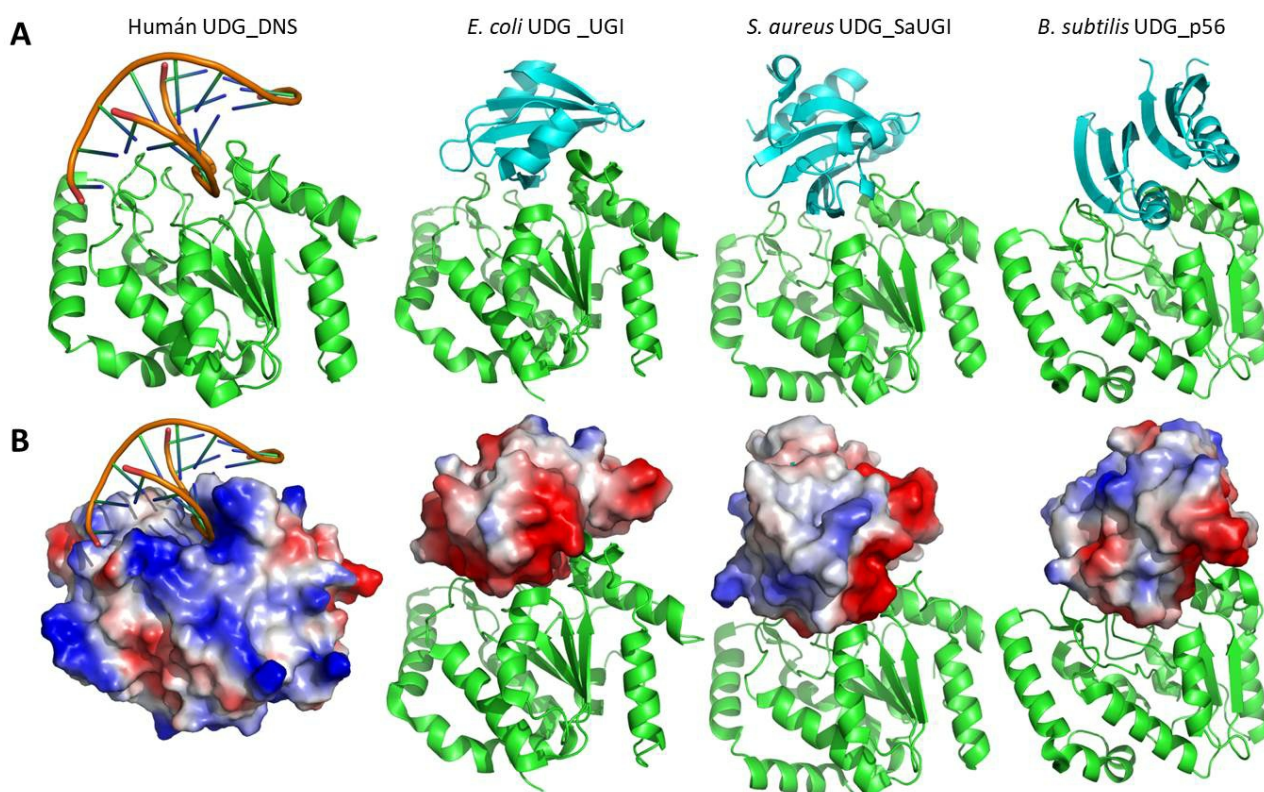
Kutatásunk során a *Yersinia* fajokat fertőző Φ R1-37 bakteriofág genomi könyvtárával dolgoztam, mivel ezen fág teljes genetikai állományának szekvenálási adatai ismertek [23]. A fertőzött sejtben jelenlévő UNG fehérje enzimatis aktivitásának eliminálása mindenképp szükséges a vírus túlélésének szempontjából. Ez létrejöhet i, direkt inhibíció által, vagy ii, az *ung* gén átíródásának szabályozása révén illetve, iii, a menekítés bekövetkezhet, amennyiben a gazdasejt UNG fehérjéje alacsony enzimatis aktivitással rendelkezik. A vírus fertőzés során az UNG mRNS szintjében nem tapasztaltak változást [24], így céлом volt a fennmaradó két lehetőség vizsgálata.

Először megvizsgáltam a fág által fertőzött *Yersinia enterocolitica* UNG fehérjének enzimatis aktivitását. Ehhez általam előállított uracilos plazmid DNS-t [25] emésztettem a már jól karakterizált humán, valamint yersinia UNG enzimekkel (1. ábra). Az UNG enzim a dezoxiribóz és az uracil bázis között létrejött N-glikozidos kötést hasítja. A keletkező bázismentes (AP) helyen a dezoxiribóz és a foszfát közötti kötés hidrolízisét az APE (AP-endonukleáz) enzim katalizálja. A hidrolízist követően egyes száltörés keletkezik a DNS-en. Amennyiben nagymennyiségű uracilt tartalmaz a DNS, a két enzim együttes működése annak fragmentálódásához vezet.



2. ábra. Az eddig ismert UNG inhibitorok. UGI: 84 aminosav, 9,5 kDa, $pI = 4,13$; SAUGI: 112 aminosav, 13,4 kDa, $pI=4,51$; p56: 56 aminosav, 6,6 kDa, $pI = 4,17$. A SAUGI és az UGI monomer, a p56 dimer formában fejt ki hatását. Színezés: piros (és türkiz): α -hélix; sárga (és lila): β -redő; zöld (és rózsaszín): random kanyarok.

A kapott eredmények alapján a yersinia UNG enzimről elmondható, hogy aktív, és az APE enzimmel közreműködve képes az uracilos DNS-t elemészteni. Ezek alapján feltételezhető, hogy a Φ R1-37 fágoknak is kódolnia kell olyan fehérjét/fehérjéket, amely(ek) képesek a gazdasejt UNG enzimének működését gátolni, különben a fertőzés során az uracilos DNS-e feldarabolódna. Ennek ellenére a fág genomjában nem találtak olyan gént, amely szekvenciálisan az eddig ismert UGI-khoz (2. ábra) hasonló lenne.

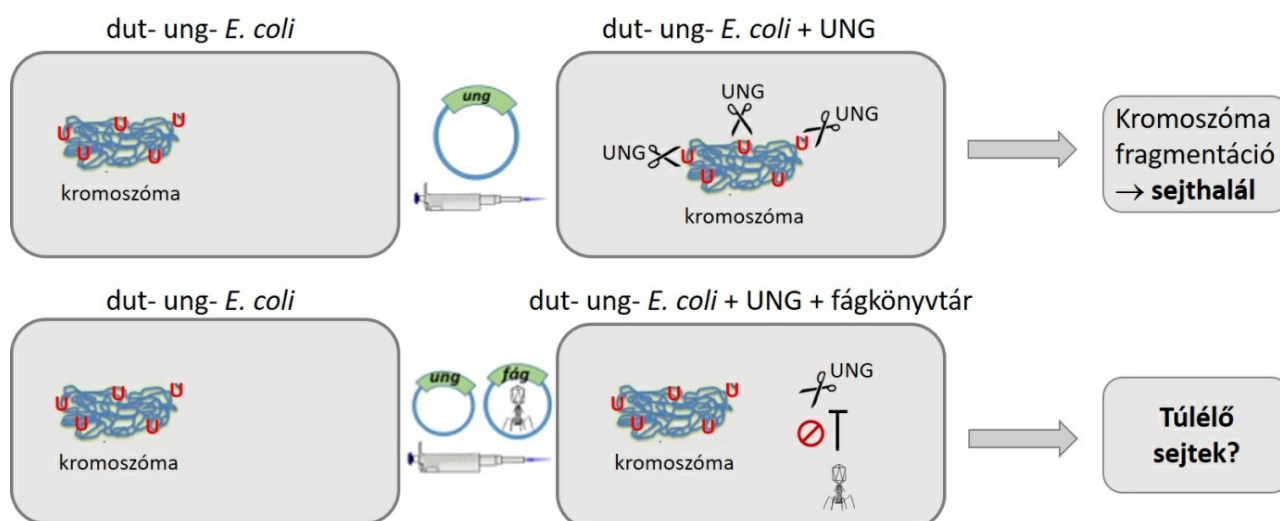


3. ábra. Az eddig ismert UNG inhibitorok UDG-vel alkotott komplexei. (A) balról jobbra: a humán UDG DNS-el alkotott komplexe (PDB kód: 2OYT); az *E. coli* UDG (zöld) UGI-val (türkiz) alkotott komplexe (PDB kód: 1LQM); A *S. aureus* UDG (zöld) SaUGI-val (türkiz) alkotott komplexe (PDB kód: 3WDG); a *B. subtilis* UDG (zöld) p56 dimerrel (türkiz) alkotott komplexe (PDB kód: 3ZOQ). **(B)** Az egyes inhibitorok UDG-vel alkotott komplexei és azok elektrosztatikus képe (PyMol programmal generálva). A humán UDG esetében az UDG, a többi esetben az inhibitor elektrosztatikus képe látható. A humán UDG-nél látható, hogy a fehérje pozitívan töltött felszíne köti a DNS-t. Az inhibitor fehérjék minden esetben a DNS-t mimikálják, az enzimek DNS kötő részéhez kapcsolódnak kivétel nélkül.

Ennek oka az is lehet, hogy az eddig ismert három UNG inhibitor nukleotid és aminosav szekvencia tekintetében is nagyban eltérnek egymástól. A közös bennük az, hogy 3D-s szerkezetük kialakulását követően DNS-t mimikálnak, a

felületükre kerülő negatív töltésű aminosavaknak köszönhetően [22] (3. ábra).

A Φ R1-37 bakteriofágban várhatóan jelenlévő UGI funkciójú fehérje azonosítására egy új, nagyátersztő képességű kísérletes modellrendszert hoztunk létre, mellyel olyan faktor(oka)t keresünk a bakteriofág genomjában, amely(ek) képes(ek) az uracilos DNS menekítésére (4. ábra). Ehhez olyan duplamutáns *Escherichia coli* (*E. coli* dut- ung-) sejteket használtunk, amelyek genomja nem kódol se működőképes dUTPáz, se UNG enzimeket. Ennek következtében genomi DNS-üknek uracil szintje megemelkedett, melynek mértéke irodalmi adatokból ismert (6580 ± 174 uracil/millió nukleotid [26]).



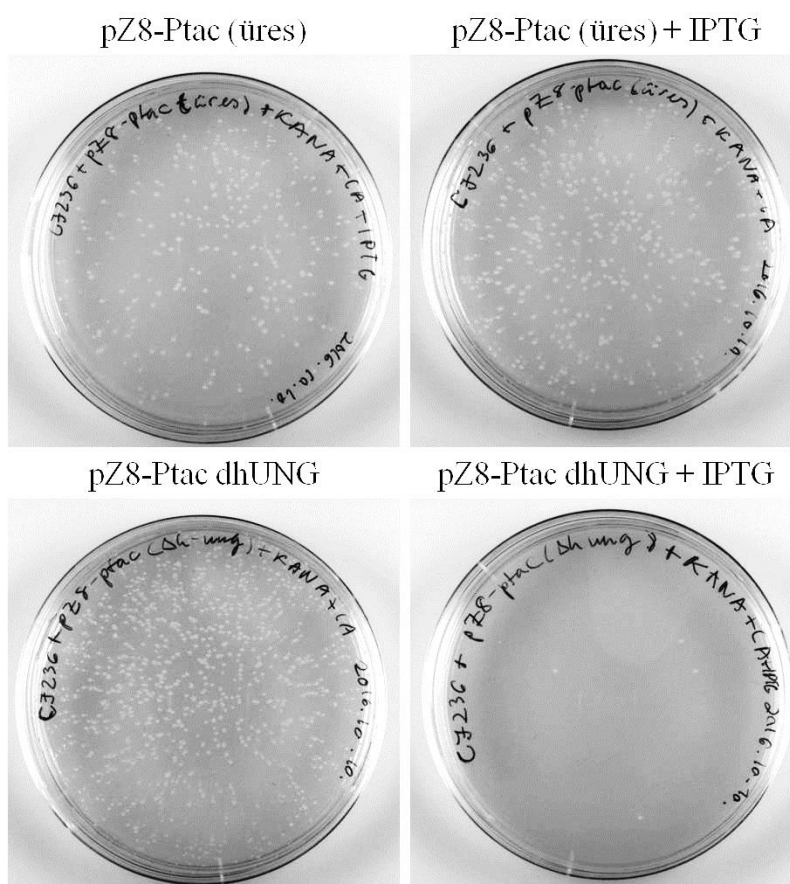
4. ábra Az általunk kidolgozott kísérleti modell sematikus ábrája. A kísérleti terv szerint a duplamutáns *E. coli* sejt magas uracil tartalmú genomi DNS-e a rekombináns UNG enzim hatására feldarabolódik, amely a sejt pusztulásához vezet. Amennyiben a fág genomi könyvtárát az UNG enzimmel együttesen juttatjuk a sejtbe, ha a könyvtár olyan fág genomi részletet kódol, amely véd az UNG katalitikus aktivitásával szemben, a sejtek életben fognak maradni.

A baktériumok genomi uracil szintje a két enzim működésének hiányában olyan mértékű, hogy amennyiben rekombináns UNG enzimet expresszáltunk ezekben a sejtekben, az a genomi DNS-ük fragmentálódását, ezzel pedig a sejtek pusztulását okozza.

Annak ellenőrzésére, hogy a modell rendszerünk megfelelőképpen működik, a humán UNG enzim génjét tartalmazó plazmid DNS-el transzformáltunk dupla-

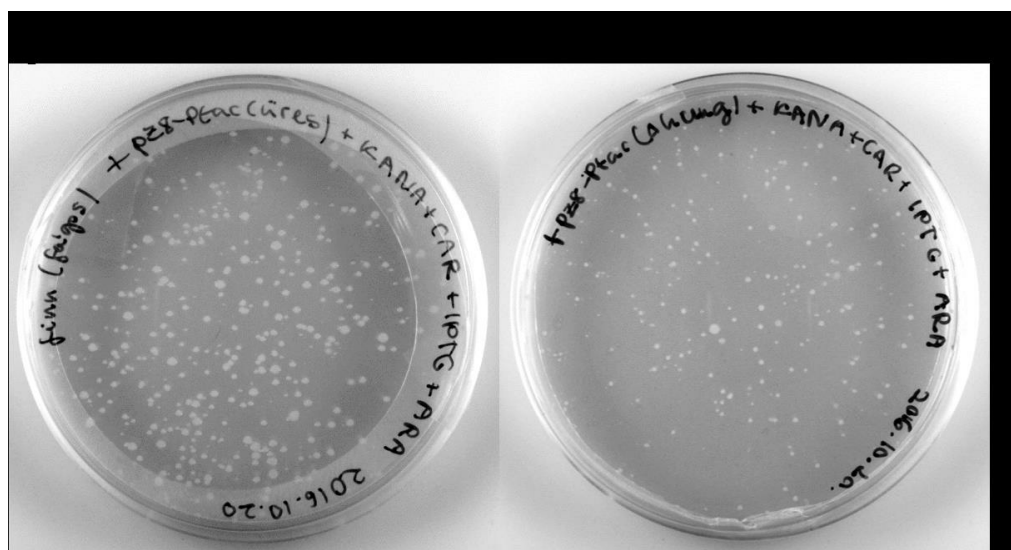
mutáns *E. coli* sejteket, majd IPTG mentes, illetve IPTG-t tartalmazó táptalajra szélesztettük, mellyel az *ung* gén kifejeződését indukáltuk. Kontrollként üres, az *ung* génjét nem tartalmazó plazmiddal is elvégeztük a kísérleteket. Azt tapasztaltuk, hogy abban az esetben, amikor az UNG enzimet expresszáltattuk a sejtekben, az a baktériumok pusztulását eredményezte, amíg a többi esetben túléltek (5. ábra).

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy amennyiben a Φ R1-37 bakteriofág genom DNS-éből készített könyvtárral együtt juttatjuk az *ung* génjét tartalmazó plazmidot a sejtekbe, majd mindkét plazmidról indukáljuk a kódolt gén átírását, lesznek-e olyanok, amelyek túlélnek az UNG katalitikus aktivitását.



5. ábra Túlélési kísérletek. dut- ung- duplamutáns *E. coli* sejtek transzformálása. Balról jobbra: üres pZ8-Ptac, üres pZ8-Ptac + IPTG, Δ humán UNG-ot tartalmazó pZ8-Ptac, Δ humán UNG-ot tartalmazó pZ8-Ptac + IPTG; Δ humán UNG: a humán UNG enzim, amelyről az első 84 aminosavat eltávolítottuk. A pZ8-Ptac vektort Timothy Lu laborjától kaptuk (Addgene plasmid # 74064) [27]. A vektor tac promótert tartalmaz, amely IPTG-vel indukálható.

A Φ R1-37 bakteriofág genomi DNS-éből készített könyvtárat Mikael Skurnik laborja bocsájtotta rendelkezésünkre [23].



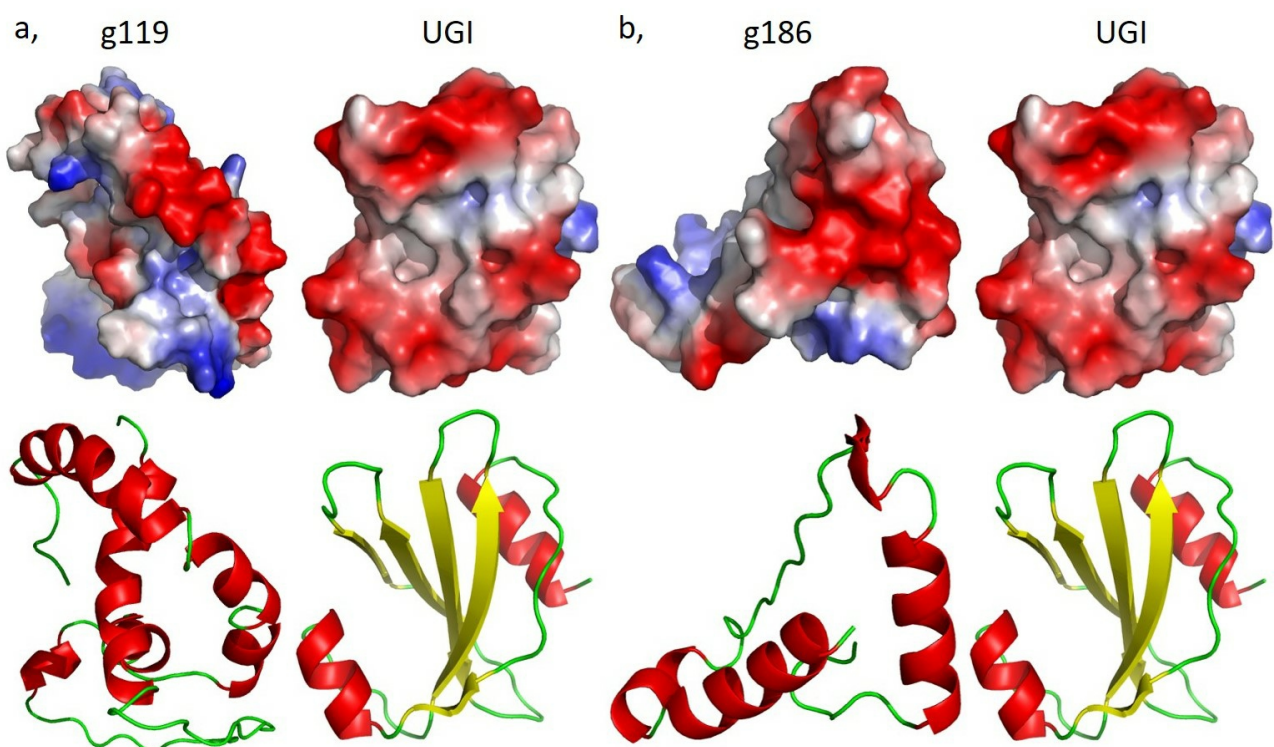
6. ábra. Túlélési kísérletek. Fágkönyvtár tartalmazó dut- ung- duplamutáns *E. coli* sejtek transzformálása balról jobbra: üres pZ8-Ptac + IPTG + arabinóz, Δ humán UNG-ot tartalmazó pZ8-Ptac + IPTG + arabinóz. A fág genomi DNS-éből készült könyvtár pBAD 30 vektorba lett klónozva, amelyről a génátírás arabinózzal indukálható.

1. táblázat Potenciális UNG inhibitorok.

| fehérje | Mw (kDa) | pI | korai | konstitutív | találatok száma |
|---------|----------|------|-------|-------------|-----------------|
| g084 | 13,4 | 9,12 | | + | 3 |
| g085 | 50,5 | 5,16 | | + | 4 |
| g089 | 40,2 | 4,56 | | + | 4 |
| g119 | 12,99 | 5,39 | - | | 3 |
| g120 | 14,6 | 8,73 | | + | 3 |
| g133 | 17,2 | 6,29 | | + | 5 |
| g185 | 14,6 | 9,60 | | + | 7 |
| g186 | 14,6 | 5,87 | | + | 6 |
| g191 | 49,9 | 9,01 | | + | 4 |
| g295 | 151,9 | 5,36 | | + | 3 |

Színezés: lila: a fágfertőzés során konstitutívan termelődő fehérjék; kék: a fágfertőzés első, korai szakaszában termelődő fehérjék; sárga: azon fehérjék, amelyekre a szekvenálás során több mint 4 találatot kaptunk; zöld: azon fehérjék melyek mérete hasonló a már ismert UGI-kéhoz (a három ismert UGI átlag méretétől maximum 30%-ban térnek el); piros: azon fehérjék, melyek pI értéke ≤ 6 .

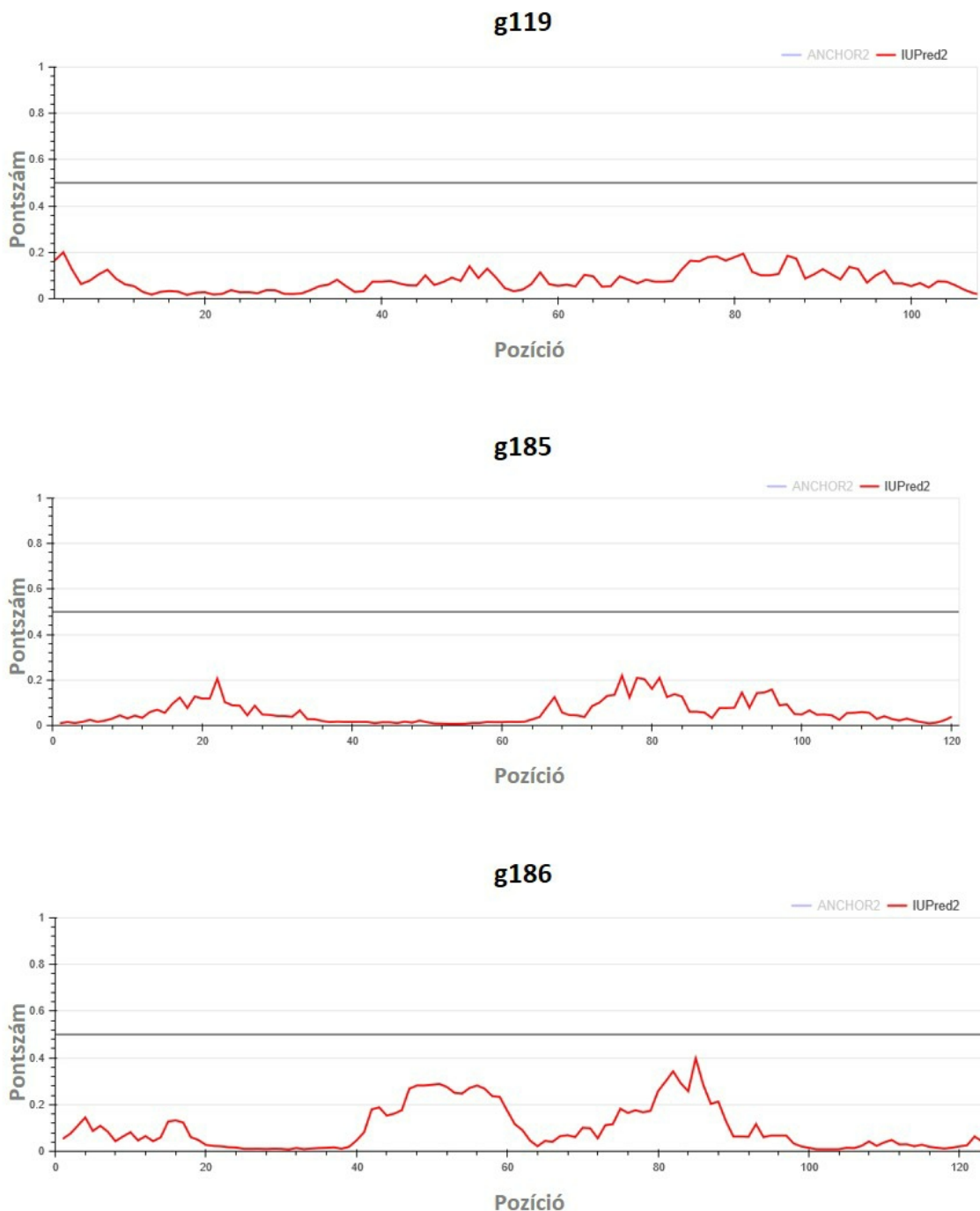
Amennyiben a fágkönyvtárat tartalmazó plazmiddal együtt juttattuk a dupla-mutáns *E. coli* sejtekbe az *ung*-ot tartalmazó plazmidot, majd indukáltuk a gének kifejeződését, azt tapasztaltuk, hogy a sejtek egy része túlélte (6. ábra). Ez azt jelenti, hogy a Φ R1-37 bakterio-fág genomjában valóban találhatóak olyan régiók, amelyek képesek az uracilos DNS menekítésére, így szerepet játszhatnak a vírus túlélésében. Annak vizsgálatára, hogy az életben maradt sejtek a fág genom mely részleteit hordozó plazmidot tartalmazzák, kolónia PCR-eket végeztünk, majd a PCR termékeket szekvenálással azonosítottuk.



7. ábra. A webszerverek segítségével épített háromdimenziós modellek a PyMol programmal megjelenítve. (a) A *g119* fehérje Phyre2 szervertől épített modellje. Fent: A fehérjék PyMol programmal generált elektrosztatikus felületi potenciál térképe. Színezés: *g119*: piros: -80,9 kék: +80,9; *UGI*: piros: -82,3 kék: +82,3; Lent: másodlagos szerkezeti modellek; *UGI* PDB ID: *UGI1*. **(b)** A *g186* fehérje Swiss-model szervertől épített modellje. Fent: A fehérjék PyMol programmal generált elektrosztatikus felületi potenciál térképe. Színezés: *g186*: piros: -92,2 kék: +92,2; *UGI*: piros: -82,3 kék: +82,3; Lent: másodlagos szerkezeti modellek; *UGI* PDB ID: *UGI1*.

A szekvenálás során kapott szekvenciákat ráillesztettük a vírus genomra, majd azonosítottuk a nukleotid szekvenciák által kódolt fehérjéket. A kapott fehérje találatokat bioinformatikai analíziseknek vetettük alá, amely során hasonló méretű és pI (izoelektromos pont) értékű fehérjéket kerestünk az eddig ismert

UNG inhibitorokhoz. A kapott találatok közül összegyűjtöttük azokat, melyek megfeleltek az alábbi kritériumoknak: i, méretük és / vagy pI értékük hasonló a már ismert UGI-khoz; ii, a vírus fertőzés során korai- vagy konstitutívan termelődő fehérjék [24] (1. táblázat).



8. ábra. Az IUPred programmal kapott rendezetlenségi predikciók. Amennyiben a piros vonal a vízszintes fekete vonal alatt helyezkedik el, a fehérje adott szakasza rendezettnek tekinthető.

A g119, g185 valamint a g186 fehérjékkel további bioinformatikai analízist végeztünk. A g119 fehérje mind méretében, mind pI értékében hasonlóságot mutat az eddig ismert UGI-khoz. A g185 és g186 fehérjéket kaptuk vissza legtöbbször a szekvenálási kísérletek során. Bár pI értékük eltér az UNG inhibitorokétól, ez nem zárja ki, hogy harmadlagos szerkezetük kialakulását követően a felszínükön egy jól definiált negatív töltéssel rendelkező rész jöjjön létre. Ezen vírusfehérjék bioinformatikai analízise során kiderült, hogy nem mutatnak szekvenciális hasonlóságot, egyik adatbázisban található fehérjéhez sem. Annak vizsgálatára, hogy felszínükön – a többi UGI-hoz hasonlóan – található-e negatív töltésű felület, harmadlagos szerkezeti modelleket építettünk a Phyre2 [28] illetve a Swiss-model [29] webszerverek segítségével. Szekvenciális homológok hiányában csak a g119 fehérje esetében sikerült modellt építeni a Phyre2 server segítségével (7/a. ábra), valamint a g186 fehérjére a Swiss-model serverrel (7/b. ábra).

g119

```
MNQYSESYKSSIMGYFKDRYLVLITERFKDLPQLTFMCLKVKSVAVINNSEWDDDLLKANIRCFFSQEIKDHSKY
----HHHHHHHHHHH---EEEEEEHHH---HHHEEEEEEEEEEE-----HHHHHHH-HHHH-----
EDWMTRLDEVFEESCQYAKDQTFIKAMGSLSLIN
HHHHHHHHHHHHHHHHHHH-----HHHHHH-----
```

g185

```
MVFSYMKINKLNIRELSNQININIAGSVSHDRFFDITYRGIKGFLLMNIGKKIAFCENMVFFAHYSYNTIQSNKQ
---HHHH-----HHHH---EEEEEEE-----EEEEEE---HHHH---HHEEEEEEEEEEE-----
TRWYELNIRDRFQRAAINHFEGVNIERYEPLFIKTYKYKERII
-EEEE- -HHHHHHHH-----HEHHHHHHH-----
```

g186

```
MKIFKNPYDLRKDTLSVFNDFDVATTRLFLFHMKLITLIRCQYHKEPYPPDERIDVDELYDISINDDSIAMAIFF
-----HE-----HHHHHHHHHHHHHHHHHHH-----EEEEEE-----EEEEEE-
STNKKLYERSKESTGDKLFQLYNLFHLNYESSILVFGSCRGNYSYLL
---HHHH-----HHHHHHHHHHH-----EEEEEE-----EE--
```

9. ábra. A JPred programmal kapott másodlagos szerkezeti elemek. H: α -hélix; E: β -redő.

A többi fehérje esetében is végeztünk rendezetlenségre, illetve másodlagos szerkezeti elemekre predikciót az IUPred [30], valamint a JPred [31] webszerverek segítségével (8. és 9. ábra).

A kapott eredmények alapján elmondható, hogy ezen fehérjéknek nincs eddig

ismert szekvenciális, illetve szerkezeti homológjuk, így a harmadlagos szerkezeti modellek megbízhatósága limitált, azonban feltételezhetően rendezett fehérjék. A g186 fehérje magasabb pI értéke ellenére is feltételezhetően tartalmaz jól definiált negatív töltésű felszínt, a g119 fehérjével együtt. Annak ellenőrzésére, hogy ezek a fehérjék valóban képesek az UNG inhibíciójára, *in vitro* kísérleteket tervezünk végezni.

A túlélési kísérletek során kapott eredmények arra engednek következtetni, hogy egy magas uracil tartalmú genom nem képes az UNG fehérje jelenlétében fennmaradni, hiszen a duplamutáns *Escherichia coli* sejtek a humán *ung* gén indukálása esetén elpusztultak, míg ezen gén hiányában, illetve a gén indukálása nélkül túléltek. Mindemellett az is elmondható, hogy a Φ R1-37 bakteriofág ténylegesen tartalmazhat olyan génszakaszokat, amelyek feltételezhetően megakadályozzák az UNG enzim megfelelő működését. A túlélő sejtekkel végzett kísérleti eredmények több potenciális fehérje találatot is adtak. Ezen találatok további analízisét tervezzük a továbbiakban.

Irodalomjegyzék

- [1] Olinski, R., Jurgowiak, M., Zaremba, T. (2010) Uracil in DNA--its biological significance. *Mutat Res*, **705**: 239–45.
- [2] Vértessy, B.G., Tóth, J. (2009) Keeping uracil out of DNA: physiological role, structure and catalytic mechanism of dUTPases. *Acc Chem Res*, **42**: 97–106.
- [3] Krokan, H.E., Bjørås, M. (2013) Base excision repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, **5**: a012583.
- [4] Krokan, H.E., Drabløs, F., Slupphaug, G. (2002) Uracil in DNA-occurrence, consequences and repair. *Oncogene*, **21**: 8935–48.
- [5] Nagy, G.N., Leveles, I., Vértessy, B.G. (2014) Preventive DNA repair by sanitizing the cellular (deoxy)nucleoside triphosphate pool. *FEBS J*, **281**: 4207–23.
- [6] Welsh, S.J., Hobbs, S., Aherne, G.W. (2003) Expression of uracil DNA

- glycosylase (UDG) does not affect cellular sensitivity to thymidylate synthase (TS) inhibition. *Eur J Cancer*, **39**: 378–87.
- [7] Meyers, G., Ng, Y.-S., Bannock, J.M., Lavoie, A., Walter, J.E., Notarangelo, L.D., Kilic, S.S., Aksu, G., Debré, M., Rieux-Laucat, F., Conley, M.E., Cunningham-Rundles, C., Durandy, A., Meffre, E. (2011) Activation-induced cytidine deaminase (AID) is required for B-cell tolerance in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **108**: 11554–9.
- [8] Priet, S., Sire, J., Quérat, G. (2006) Uracils as a cellular weapon against viruses and mechanisms of viral escape. *Curr HIV Res*, **4**: 31–42.
- [9] Harris, R.S., Dudley, J.P. (2015) APOBECs and virus restriction. *Virology*, 479-480: 131–145.
- [10] Revy, P., Muto, T., Levy, Y., Geissmann, F., Plebani, A., Sanal, O., Catalan, N., Forveille, M., Dufourcq-Lagelouse, R., Gennery, A., Tezcan, I., Ersoy, F., Kayserili, H., Ugazio, A.G., Brousse, N., Muramatsu, M., Notarangelo, L.D., Kinoshita, K., et al. (2000) Activation-Induced Cytidine Deaminase (AID) Deficiency Causes the Autosomal Recessive Form of the Hyper-IgM Syndrome (HIGM2). *Cell*, **102**: 565–75.
- [11] Rebhandl, S., Huemer, M., Greil, R., Geisberger, R. (2015) AID/APOBEC deaminases and cancer. *Oncoscience*, **2**: 320–33.
- [12] Weil, A.F., Ghosh, D., Zhou, Y., Seiple, L., McMahon, M.A., Spivak, A.M., Siliciano, R.F., Stivers, J.T. (2013) Uracil DNA glycosylase initiates degradation of HIV-1 cDNA containing misincorporated dUTP and prevents viral integration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **110**: E448-57.
- [13] Muha, V., Horváth, A., Békési, A., Pukáncsik, M., Hodoscsek, B., Merényi, G., Róna, G., Batki, J., Kiss, I., Jankovics, F., Vilmos, P., Erdélyi, M., Vértessy, B.G. (2012) Uracil-containing DNA in *Drosophila*: stability, stage-specific accumulation, and developmental involvement. *PLoS Genet*, **8**: e1002738.
- [14] Horváth, A., Békési, A., Muha, V., Erdélyi, M., Vértessy, B.G. (2013) Expanding the DNA alphabet in the fruit fly: uracil enrichment in genomic DNA. *Fly (Austin)*, **7**: 23–7.

- [15] Takahashi, I., Marmur, J. (1963) Replacement of Thymidylic Acid by Deoxyuridylic Acid in the Deoxyribonucleic Acid of a Transducing Phage for *Bacillus subtilis*. *Nature*, **197**: 794–5.
- [16] Kiljunen, S., Hakala, K., Pinta, E., Huttunen, S., Pluta, P., Gador, A., Lönnberg, H., Skurnik, M. (2005) Yersiniophage phiR1-37 is a tailed bacteriophage having a 270 kb DNA genome with thymidine replaced by deoxyuridine. *Microbiology*, **151**: 4093–102.
- [17] Uchiyama, J., Takemura-Uchiyama, I., Sakaguchi, Y., Gamoh, K., Kato, S., Daibata, M., Ujihara, T., Misawa, N., Matsuzaki, S. (2014) Intragenus generalized transduction in *Staphylococcus* spp. by a novel giant phage. *ISME J*, **8**: 1949–52.
- [18] Kerepesi, C., Szabó, J.E., Papp-Kádár, V., Dobay, O., Szabó, D., Grolmusz, V., Vértessy, B.G. (2016) Life without dUTPase. *Front Microbiol*, **7**: 1768.
- [19] Savva, R., Pearl, L.H. (1995) Cloning and expression of the uracil-DNA glycosylase inhibitor (UGI) from bacteriophage PBS-1 and crystallization of a uracil-DNA glycosylase-UGI complex. *Proteins Struct Funct Genet*, **22**: 287–9.
- [20] Schormann, N., Ricciardi, R., Chattopadhyay, D. (2014) Uracil-DNA glycosylases-structural and functional perspectives on an essential family of DNA repair enzymes. *Protein Sci*, **23**: 1667–85.
- [21] Serrano-Heras, G., Ruiz-Masó, J.A., del Solar, G., Espinosa, M., Bravo, A., Salas, M. (2007) Protein p56 from the *Bacillus subtilis* phage phi29 inhibits DNA-binding ability of uracil-DNA glycosylase. *Nucleic Acids Res*, **35**: 5393–401.
- [22] Wang, H.-C., Hsu, K.-C., Yang, J.-M., Wu, M.-L., Ko, T.-P., Lin, S.-R., Wang, A.H.-J. (2014) *Staphylococcus aureus* protein SAUGI acts as a uracil-DNA glycosylase inhibitor. *Nucleic Acids Res*, **42**: 1354–64.
- [23] Skurnik, M., Hyytiäinen, H.J., Happonen, L.J., Kiljunen, S., Datta, N., Mattinen, L., Williamson, K., Kristo, P., Szeliga, M., Kalin-Mänttari, L., Ahola-Iivarinen, E., Kalkkinen, N., Butcher, S.J. (2012) Characterization of the genome, proteome, and structure of yersiniophage phiR1-37. *J Virol*, **86**: 12625–42.

- [24] Leskinen, K., Blasdel, B.G., Lavigne, R., Skurnik, M. (2016) RNA-Sequencing Reveals the Progression of Phage-Host Interactions between ϕ R1-37 and *Yersinia enterocolitica*. *Viruses*, **8**: 111
- [25] Róna, G., Scheer, I., Nagy, K., Pálinkás, H.L., Tihanyi, G., Borsos, M., Békési, A., Vértessy, B.G. (2016) Detection of uracil within DNA using a sensitive labeling method for in vitro and cellular applications. *Nucleic Acids Res*, **44**: e28.
- [26] Horváth, A., Vértessy, B.G. (2010) A one-step method for quantitative determination of uracil in DNA by real-time PCR. *Nucleic Acids Res*, **38**: e196.
- [27] Cleto, S., Jensen, J.V., Wendisch, V.F., Lu, T.K. (2016) *Corynebacterium glutamicum* Metabolic Engineering with CRISPR Interference (CRISPRi). *ACS Synth Biol*, **5**: 375–85.
- [28] Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N., Sternberg, M.J.E. (2015) The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc*, **10**: 845–58.
- [29] Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T. (2018) SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*, **46**: W296–303.
- [30] Mészáros, B., Erdos, G., Dosztányi, Z. (2018) IUPred2A: context-dependent prediction of protein disorder as a function of redox state and protein binding. *Nucleic Acids Res*, **46**: W329–37.
- [31] Drozdetskiy, A., Cole, C., Procter, J., Barton, G.J. (2015) JPred4: a protein secondary structure prediction server. *Nucleic Acids Res*, **43**: W389–94.



Nagy Kinga a BME Vegyész-mérnöki és Biomérnöki Kar, Biomérnöki mesterszakon végzett 2014-ben. PhD tanulmányait a BME Oláh György Doktori Iskolában folytatta Vértessy Beáta témavezetésével 2017. június óta doktorjelölt, illetve 2018. szeptember óta tanársegéd. 2007 óta az MTA TTK Enzimológiai Intézet Genom Metabolizmus Kutatócsoport tagja. Kutatási területe a genomi uracilszint mennyiségének, szerepének és hatásainak vizsgálata. 2013-ban a Varga József Alapítvány különdíját nyerte el a BME TDK versenyen. A Kar Kiváló Hallgatója 2014-ben. 2016-ban az Oláh György Doktori Iskola PhD Konferencián Legjobb szekció elnök díjat kapott.



Vértessy G. Beáta egyetemi tanár, az MTA doktora, a BME Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszék vezetője, az MTA TTK Enzimológiai Intézet tudományos tanácsadója, az Institut de France, az Aventis Scientia Europaea és a L'Oréal-UNESCO díjazottja, Mestertanár Aranyérmes. Publikációs aktivitását >140 cikk, >6000 citáció, H-index: 32 jellemzik. Szakterülete a szerkezeti és molekuláris biológia, ahol fő területe a genomi integritás fenntartásában kulcsfontosságú dUTP-áz enzimcsalád működésének jellemzése, tumorelles kemoterápiák kutatása, a dUTP-ázok reakciómechanizmusának leírása. A DNS-beli uracil szerepének egyik felfedezője. Sikeres, rangos díjakat elnyert kutatók nevelője (16 PhD fokozat). Az általa irányított Biostruct Laboratórium nemzetközi kurzusok színtere. Az MTA Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Tudományos Bizottság elnöke, továbbá elnöke a FEBS Advanced Course Committeenek és a Fulbright Kuratóriumnak.

ALAPKUTATÁSOK NÉLKÜL NINCS ESÉLY ÚJ TERÁPIÁKRA

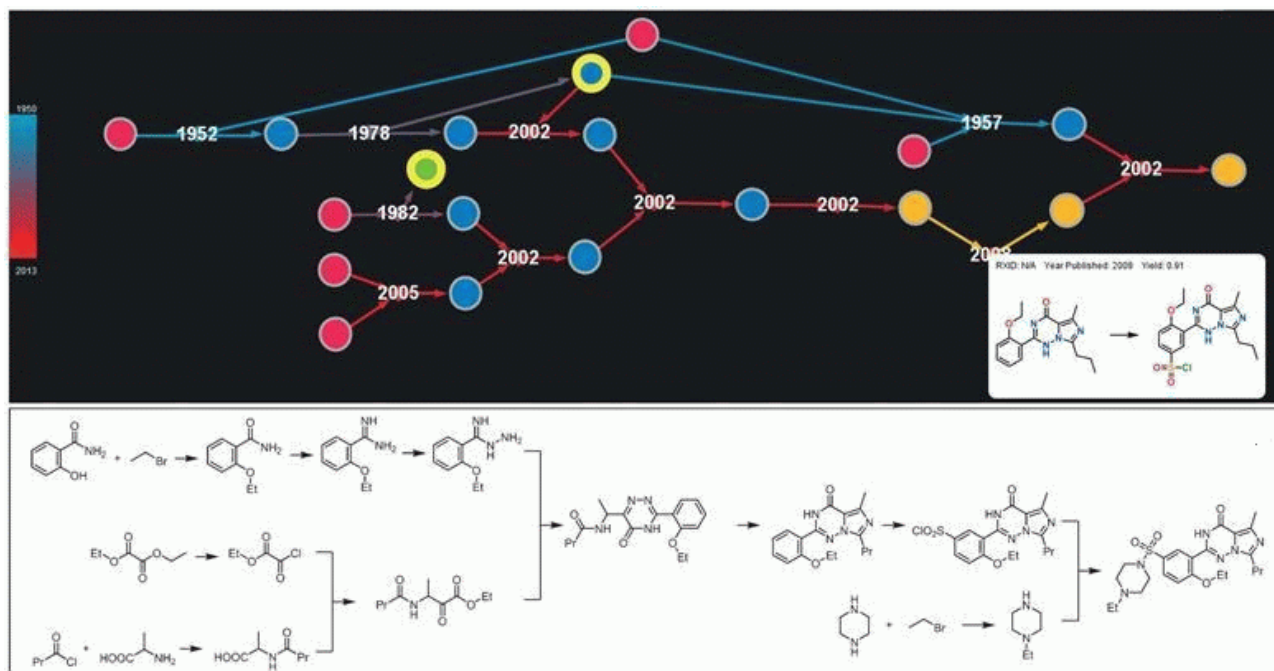
Keserű György Miklós
MTA TTK Szerves Kémiai Intézet,
Gyógyszerkémiai Kutatócsoport, Budapest

A gyógyszerkutatás csapatmunka, amelyben vegyészek, biológusok, orvosok, sőt informatikusok, közgazdászok és jogászok fognak össze abból a célból, hogy gyógymódot találjunk többek között a vezető onkológiai, kardiológiai vagy pszichiátriai betegségekre. Az elmúlt évtizedben olyan terápiás lehetőségek jelentek meg ezeken a területeken, amelyeket korábban el sem lehetett volna képzelni. Megnyílt a lehetőség az onkológiai betegségek személyre szabott terápiájára, a klasszikus kemoterápia mellett megjelent a lényegesen hatékonyabb immunoterápia, a pszichiátriában pedig új lehetőségek nyíltak a bipoláris zavarok kezelésére. A betegségek gyógyításához, az oki terápiához, de a tünetek enyhítéséhez is meg kell értenünk az emberi szervezet egészséges és kóros működését, ez pedig elképzelhetetlen orvosbiológiai alapkutatások nélkül. Hogyan találhatjuk meg azokat a fehérjéket, amelyek hibás működésükkel betegséget okozhatnak? Az emberi szervezetben ugyanis mintegy 30.000 gén található, amely becslések szerint közel 16.000 fehérjét kódol. Az orvosbiológiai alapkutatások feladata éppen az, hogy tárják fel a szervezet azon biomolekuláit, amelyeknek megváltozott működése felelőssé tehető a betegség kialakulásáért. A gyógyszerkutatási programokban pedig ezeknek a (többnyire) fehérjéknek a kóros működését igyekszünk helyreállítani, vagy megakadályozni gyógyszer-molekulák segítségével. De hogyan kereshetünk olyan molekulákat, amelyek aztán képesek a kóros működést gátolva a beteget meggyógyítani?

Erre a kérdésre kerestünk választ abban a munkában, amelyet a legfontosabb gyógyszerkutatási folyóirat, a Nature Reviews Drug Discovery címlapján közölt (<https://www.nature.com/articles/nrd.2018.116>, <https://rdcu.be/5AJF>). A magyar vezetésű nemzetközi csapat a világ vezető gyógyszercégeinek részvételével szerveződött és azt tűzte ki célul, hogy felderítse a gyógyszer-molekulák

megtalálásának új lehetőségeit. A hagyományos, kismolekulás gyógyszerkutatás többnyire olyan molekulákkal foglalkozik, amelyek általában kevesebb mint 80-100 atomból épülnek fel. A problémát azonban az okozza, hogy a szerves kémia lehetőségeit figyelembe véve elvi alapon mintegy 10^{60} számú ilyen molekula építhető fel. Ennyi molekula valójában nem állítható elő, mert a szükséges anyagmennyiség meghaladná a világegyetem tömegét, viszont az is elmondható, hogy az elmúlt közel 250 évben előállított kb. 150 millió molekula a lehetőségeknek csak elenyésző részét képezi. Ráadásul, ezeknek a molekuláknak a fele csak 143 féle alapvázat tartalmaz, vagyis az eddig előállított molekulák nagyban hasonlítanak is egymáshoz. A kutatások elsőként arra irányultak, hogy feltárják az új molekulák előállításában mutatkozó korlátok okait. Az előállított molekulákat és a hozzájuk vezető reakciókat elemezve a kutatócsoport megállapította, hogy ezek többsége olyan vegyület, amelyet ismert és robusztus reakciókkal, jó termeléssel, megvásárolható reagensekkel, néhány reakciólépésben ésszerűen, viszonylag könnyen elő lehet állítani. Ez pedig illeszkedik a gyógyszerkutatási programok időbeli és költségvetési korlátaival. Az előállított molekulák jellegét azonban a szintézisükhöz felhasznált reakciók határozzák meg, így a következő lépésben ezeket elemeztük. A vizsgálatok rámutattak arra, hogy a gyógyszerkutatás különböző fázisaiban, így a kémiai kiindulópont keresése és nagyszámú, már előállított molekula biológiai szűrése, a kiindulópontok többszemponjú optimálása és a sikeresen azonosított gyógyszerjelölt előállítása során is mindössze négy reakciótípus (alkilezés, acilezés, szén-szén kötés létrehozása és védőcsoportok használata) a meghatározó. A leginkább megdöbbentő eredményt azonban az egyes reakciófajták részletes elemzése hozta: kiderült, hogy a gyógyszerkémiaiában használt leggyakoribb 5 reakció (amid képzés, Suzuki reakció, aromás nukleofil szubsztitúció, egy védőcsoport eltávolítása aminokról és aminok reakciója elektrofilekkel) az összesen alkalmazott reakciók mintegy 60%-át teszik ki. Ezek tehát azok a reakciók, amelyek leginkább megfelelnek a gyógyszerkémiai gyakorlat feltételeinek, viszont ezekkel a reakciókkal az elvileg rendelkezésre álló molekuláknak csak egy kis része érhető el.

Hogyan bővíthetjük tehát a gyógyszerkutatás számára elérhető molekulák körét? A kutatócsoport négy eszközt látott alkalmasnak erre a célra: a mesterséges intelligencia alapú tervezést, az ésszerű és intelligens automatizálást, valamint új reakciók és technológiák hadrendbe állítását. Figyelembe véve, hogy napjainkban minden hónapban több mint százezer élettudományi cikk jelenik meg, továbbá havonta mintegy 25.000 új vegyület előállításáról számolnak be, ezt a mennyiségű információt már nem lehet a hagyományos módon feldolgozni. A mesterséges intelligencia alapú megoldások képesek a teljes adatmennyiség feldolgozására és a köztük fennálló kapcsolatok elemzésére. Ezen az elven olyan tervező szoftverek fejleszthetők, amelyekkel nemcsak egy kiválasztott molekula előállításának módja tervezhető meg, hanem a már leírt átalakítások segítségével új, eddig elő nem állított molekulákat kaphatunk.



1. ábra. Tervezett szintézis egy hatóanyag új és a korábbinál hatékonyabb előállítására. A felhasznált reakciók több mint ötven év alapkutatásának eredményei. (Forrás: Wiley-VCH.)

Ezeket a molekulákat azonban ténylegesen is elő kell állítanunk, ha pedig az erre alkalmas reakciók kellően robusztusak, akkor ezt célszerű automatizált módon, robotokkal végezni. A ma rendelkezésre álló robotokkal már nem csak a mole-

kulák előállítását, elemzését és tisztítását, hanem azok biológiai vizsgálatát is automatizálni lehet. Az ilyen integrált rendszerek képesek a sikeres reakciók feltételeinek gyors meghatározására, a gyógyszerjelöltek kezdeti optimalására, sőt új reakciók felfedezésére is.



2. ábra. iLab multifunkciós robot az AstraZeneca mölndali kutatóközpontjában. (Forrás: AstraZeneca.)

A robotok tehát nem veszik el a vegyészek és gyógyszerkutató szakemberek munkáját, hanem éppen ellenkezőleg, felszabadítják őket a tényleges kreativitást igénylő problémák megoldására. Erre pedig nagy szükség van, hiszen a gyógyszerkutatók számára elérhető molekulák számának gyarapításához legfőképpen új reakciókra és stratégiákra van szükség. Az ilyen megoldások azonban kiterjedt alapkutatásokat igényelnek a kémia és a biokémia területén. Az elmúlt években enzimeket sikerült munkára fogni, hogy segítségükkel a számunkra fontos vegyületek tisztán és környezetkímélő módon álljanak elő. A természetes enzimek átalakításával pedig olyan biokatalizátorokhoz juthatunk, amelyekkel új reakciók valósíthatók meg. Több évtizedes alapkutatások után a gyógyszerkutatók is birtokba vehették a fotokémia és az elektrokémia eredményeit, amelyek segítségével (általában UV) fénnel, illetve elektromos árammal valósíthatunk meg eddig el sem képzelhető kémiai átalakulásokat. Ezekkel

a reakciókkal új kémiai kötéseket tudunk kialakítani, amelyek pedig új molekulákhoz vezetnek. Az alap kutatásoknak köszönhetően fedeztek fel olyan új katalizátorokat, amelyekkel eddig minden reakciónak ellenálló szerkezeteket építhetünk tovább, vagy használhatunk fel az új molekulák előállításához. Mindezeknek az alap kutatási eredményeknek már megkezdődött az adaptációja a gyógyszer kutatás mindennapi gyakorlatába. Ez azonban nem magától értetődő folyamat. Nem pusztán arról van szó, hogy meg kell találnunk a ténylegesen hasznosítható eredményeket, hanem arról is, hogy le kell küzdenünk azokat a tudományos, technológiai, szervezeti és kulturális gátakat, amelyek a sikeres adaptáció útjában állnak.

Kutatócsoportunk nem pusztán felmérte a gyógyszer kémia megújítására alkalmas megoldásokat, hanem két lehetséges megoldást is kidolgozott az adaptációs folyamat gyorsítására. Az egyik megoldás középpontjában a tudományos és technológiai problémák állnak, amelyhez a gyógyszervállalatok, innovatív kisvállalkozások és a kutatóhelyek közti együttműködés erősítésére van szükség. Ezért lényegesek a nagy európai konzorciális projektek, amelyben a kutatócsoport tagjai is részt vesznek. Ezt támogatják az Európai Uniónak a versenyszféra és a kutatóhelyek közti együttműködést célzó pályázati kiírásai is, jó példa erre az Innovative Medicines Initiative (<https://www.imi.europa.eu>). Ugyanakkor azonban szervezeti és kulturális gátak leküzdéséhez a pályázati és bírálati rendszerek célzott átalakítására, az egyetemi és posztgraduális oktatás korszerűsítésére, a kutatóhelyi és vállalati teljesítményértékelési rendszerek felülvizsgálatára, valamint a motivációs eszközök feltételrendszerének és körének átgondolására is szükség van.

Cikk lelőhely:

<https://www.nature.com/articles/nrd.2018.116>, <https://rdcu.be/5AJF>

Ingyenes poszter letölthető:

<https://media.nature.com/original/nature-assets/nrd/journal/v17/n10/extref/nrd.2018.116-s1.pdf>

Video:

<https://www.linkedin.com/feed/update/urn:li:activity:6441425006454013952>

Infografika:

<https://www.linkedin.com/feed/update/urn:li:activity:6442727780324122624>

Science magazin kommentár:

<http://blogs.sciencemag.org/pipeline/archives/2018/08/28/new-reactions-and-where-theyll-come-from>



Keserű György Miklós a PhD fokozat megszerzését követően, a Sanofi-Aventis CHINOIN Gyógyszergyár egyik kémiai kutatólaboratóriumának vezetője lett. 1999-ben a Richter Gedeon Nyrt-ben a számítógépes gyógyszertervezéssel foglalkozó csoport vezetésére kapott megbízást. 2003-ban MTA doktora címet szerzett, majd a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetemen egyetemi magántanárnak nevezték ki. 2007-től 2012-ig volt a Richter originális kémiai kutatásáért felelős vezetője. 2013-2015 között az MTA Természettudományi Kutatóközpontjának volt főigazgatója, 2015-től a BME egyetemi tanára és az MTA TTK Gyógyszerkémiai Kutatócsoportjának vezetője. Összesen 10, humán fázis1 és fázis2 vizsgálatokban vizsgált vegyület azonosításában vett részt. 21 szabadalomban szerepel feltalálóként. Hozzájárult az anti-pszichotikus hatású Cariprazine felfedezéséhez, amelyet az Európai Unióban és az Egyesült Államokban is engedélyeztek. A gyógyszerkémiaiában elért eredményeiért 2014-ben Overton-Meyer díjjal tüntették ki. 2016-ban a Royal Society of Chemistry 'Fellow' tagjának választotta. Tudományos eredményeit több mint 200 folyóiratcikkben, valamint több mint 10 könyvben és könyvfejezetekben közölte, amelyekre több mint 4100 független idézetet kapott.

KÉMIAI ÉS BIOLÓGIAI PERIODICITÁS; MENGYELEJEV ÖRÖKSÉGE

Maksay Gábor
MTA TTK Szerves Kémiai Intézet,
Funkcionális Farmakológia Kutatócsoport, Budapest

A kémiai elemek periódusos rendszere mindmáig a kémia oktatásának alapvető eszköze. *Dmitrij Ivanovics Mengyelejev* orosz kémikus ismerte fel 1869-ben. De vajon átlátjuk-e egészen tudományos és kulturális jelentőségét? Mindenesetre az UNESCO az idei évet a kémiai elemek periódusos rendszerének szentelte a másfél évszázados jubileum tiszteletére (1. ábra). A *Nature* és *Science* 2019. januári számaiban több cikk is foglalkozik a jubileummal.



1. ábra. Az UNESCO emblémája a kémiai elemek periodikus rendszere éve és Mengyelejev tiszteletére. (Forrás: <https://www.iypt2019.org>.)

A tudományos kutatás igyekszik a felismeréseket és összefüggéseket rendszerbe illeszteni. *Linné* a 18. században rendszerbe foglalta a növényeket és állatokat. Miután pedig a 19. században sikerült világosan megkülönböztetni a kémiai elemeket és vegyületeket, *Mengyelejev* felismerte, hogy az elemek tulajdonságai periodikusan ismétlődnek az atomtömeg függvényében. Ennek alapján sorokba és oszlopokba rendezte az akkor ismert 63 elemet. Mások hasonló rendszereit meghaladóan, *Mengyelejev*, a periódusos rendszere alapján megjósolta új elemek létezését és tulajdonságait is. Ezeknek az elemeknek a felfedezése fényesen igazolta rendszere érvényességét. Voltak persze ellentmondónak látszó felfedezések is: pl. a nemesgázok számára új oszlopot kellett a rendszerbe illeszteni.

Mengyelejev valóban a kémia alapvető rendszerét ismerte fel. A rendszer alapvető jellegzetessége a periodicitás. Periodikusan változó paraméterek (atomsugár, ionizációs energia, elektronegativitás, elektronaffinitás, fémes jelleg) határozzák meg az elemek tulajdonságait és kémiai reaktivitását.

Sok természeti jelenség, folyamat ciklikus, meghatározott rendben és/vagy időben ismétlődik. Mengyelejev periódusos rendszere volt az első, amelyik az anyag szerkezetében és minőségében mutatott ki periodicitást. Ma már 118 elemet tartalmaz a periódusos rendszer. De a magfúzióval előállított szupernehéz elemek élettartama rendkívül kicsi és tulajdonságaik periodicitása gyengül [1]. A periódusos rendszernek számos változata van. Kisebb-nagyobb anomáliáinak értelmezése apróbb módosulásokat eredményezhet még, de gyakorlatilag véglegesnek tűnik.

Mengyelejev periódusos rendszere inspirálta Thompson, Pauli és Bohr atommodelljét fél évszázaddal később. Mai szemmel az atomszerkezet és elektronhéjainak ismeretében az atomok rendszámuk (protonok száma) alapján rendezhetők sorba és az egyes elektronhéjak telítődése után kerülnek a következő sorba. A periódusos rendszer független változója mennyiségi jellegű lépcsőzetes függvény, a függő változó pedig a minőség periodikus változása. A rendszer komplexitásában a hierarchia szintjeit az elektronhéjak (s,d,f,g,h,i) jelentik. Vegyületek (két és háromatomos molekulák, aromás szénhidrogének) rendszerezését is megpróbálták. Kevés eredménnyel, mert itt a független változó nem lineárisan változik.

A *Biokémia* olvasói feltehetően a biokémiában és biológiában megjelenő periodicitásra kíváncsiak elsősorban. Figyelemre méltó, hogy az élővilág esszenciális alkotóelemei (C, N, O, P és S), a hidrogén kivételével, egy csoportban található a periódusos rendszer jobb felső sarkában (2. ábra). A többi biológiailag releváns és különböző funkciójú elem is különálló csoportokat alkot a rendszerben, amint azt a 2. ábra elkülönülő színmintázatai mutatják. Ez a hasonló kémiai

tulajdonságok megnyilvánulása hasonló funkciókban.

| Group | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|-----|--|--|----------------------------|---|------------------------|--|-------------------------|---|----------------------------|---|------------------------------------|---|-----------------------------|--|---|---|--------------------------------------|
| Period | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Key</th> <th>Biologically relevant elements colored</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td>Major, essential, all life</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Major anions, all life</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Major cations, all life</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Essential, trace, all life</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Major biological transition metals</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Specialized uses, some life</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>May be bound, transported, reduced, and/or methylated</td> </tr> <tr> <td> </td> <td>Inert or unknown biological function</td> </tr> </tbody> </table> | | | | | | | | | | | | | | | | | | Key | Biologically relevant elements colored | | Major, essential, all life | | Major anions, all life | | Major cations, all life | | Essential, trace, all life | | Major biological transition metals | | Specialized uses, some life | | May be bound, transported, reduced, and/or methylated | | Inert or unknown biological function |
| Key | Biologically relevant elements colored | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Major, essential, all life | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Major anions, all life | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Major cations, all life | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Essential, trace, all life | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Major biological transition metals | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Specialized uses, some life | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | May be bound, transported, reduced, and/or methylated | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Inert or unknown biological function | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 H | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 He | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 3 Li | 4 Be | | | | | | | | | | | 5 B | 6 C | 7 N | 8 O | 9 F | 10 Ne | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 11 Na | 12 Mg | | | | | | | | | | | 13 Al | 14 Si | 15 P | 16 S | 17 Cl | 18 Ar | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 19 K | 20 Ca | 21 Sc | 22 Ti | 23 V | 24 Cr | 25 Mn | 26 Fe | 27 Co | 28 Ni | 29 Cu | 30 Zn | 31 Ga | 32 Ge | 33 As | 34 Se | 35 Br | 36 Kr | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 37 Rb | 38 Sr | 39 Y | 40 Zr | 41 Nb | 42 Mo | 43 Tc | 44 Ru | 45 Rh | 46 Pd | 47 Ag | 48 Cd | 49 In | 50 Sn | 51 Sb | 52 Te | 53 I | 54 Xe | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 55 Cs | 56 Ba | 71 Lu | 72 Hf | 73 Ta | 74 W | 75 Re | 76 Os | 77 Ir | 78 Pt | 79 Au | 80 Hg | 81 Tl | 82 Pb | 83 Bi | 84 Po | 85 At | 86 Rn | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 87 Fr | 88 Ra | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Lanthanoids | 57 La | 58 Ce | 59 Pr | 60 Nd | 61 Pm | 62 Sm | 63 Eu | 64 Gd | 65 Tb | 66 Dy | 67 Ho | 68 Er | 69 Tm | 70 Yb | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Actinoids | 89 Ac | 90 Th | 91 Pa | 92 U | 93 Np | 94 Pu | 95 Am | 96 Cm | 97 Bk | 98 Cf | 99 Es | 100 Fm | 101 Md | 102 No | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

2. ábra. A kémiai elemek periódusos rendszere és biokémiai relevanciája. (Forrás: <http://eawag-bbd.ethz.ch/periodic.>)

A komplex biológiai szervezetek hierarchiájában a proteinek meghatározó helyzetben vannak. Megpróbálták formalizálni a proteinek másodlagos és harmadlagos kölcsönhatásait, hogy feltekeredésüket, topológiájukat automatikusan lehessen definiálni és periódusos rendszerbe foglalni [2]. A szerkezeti proteinekben (kollagének, keratinok, selyem, sejtfal proteinek) sok periodikusan ismétlődő szekvencia található. A funkcionális fehérjékben (transzkripciós faktorok, receptorok, ioncsatornák, hisztonok, ubiquitin) pedig szerkezeti domének (pl. tetratrikopeptid, ankyrin, β -trefoil, β -propeller) ismétlődnek. Az ismétlődő domének szekvenciája nem azonos, de homológ, pl. legalább tizenöt-féle fehérje vesz fel 8-redős β -hordó szerkezetet. Bizonyos konformációk (hélix, β -redő) periodikusan ismétlődnek. A szekvenciák intra- és intermolekuláris ismétlődéséből magasabb rendű, szimmetrikus tercier és kvaterner szerkezetek jönnek létre (pl. szuperhélix, csavart csavar), pl. a WD40 domén hét-lapátos β -propellerekről szerveződik.

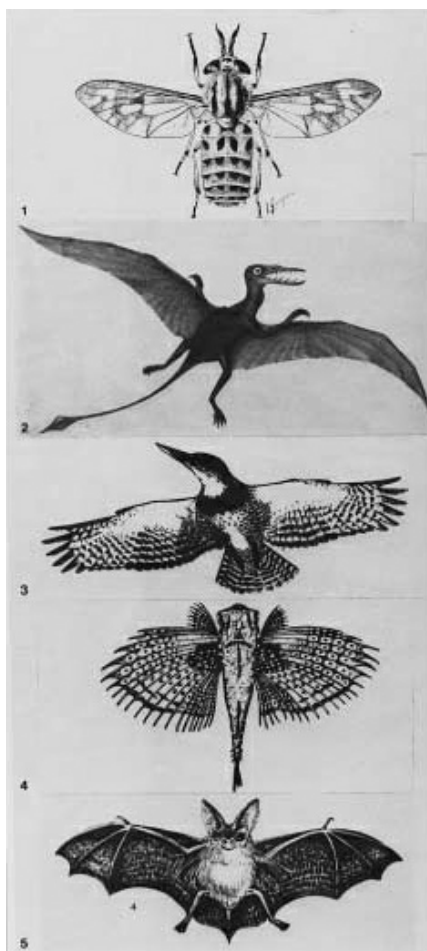
A proteinek kvaterner szerveződésének funkcionális jelentőségét számos szignoloszóma felfedezése is igazolja. Finomszerkezetük feltárása azonban még várat magára. A protein komplexek kvaterner szerveződését *Ahnert* és munkatársai [3] három alaplépésre vezették vissza: dimerizáció, ciklizáció és alegység addíció. Több száz szerkezet topográfiája és alegységeik kontaktfelületének elemzése alapján a komplexeket periódusos rendszerbe foglalták. Az egyik tengelyen különböző alegységeik száma szerepel, a másikon pedig szimmetrikus ismétlődéseik száma. Az egyes cellákban pedig sémás szerkezetük van. Azonos alegységek fej-láb kapcsolódással forgási szimmetriájú komplexeket képeznek, a fej-fej és láb-láb kapcsolódások pedig diéderes szimmetriát eredményeznek. Ez a szerkezeti periódusos rendszer már új szerkezetek predikciójára és az ismertek besorolásának korrekciójára is alkalmas [3].

Az élővilág időben periodikus anyagcsere körfolyamatokba rendezi a működéshez szükséges vegyületek előállítását és lebontását, valamint az energia termelését. Gánti Tibor *chemoton*-elmélete hidat képez a kémiai és biológiai periodicitás között [4]. A *chemoton* az élet minimálrendszere. Három autokatalitikus alrendszer tartalmaz sztöchiometrikusan csatolva. A *chemoton* önszerveződő fluid automata, amely stabil, szaporodik és evolúcióképes. Következésképpen az időbeli biológiai periodicitás a prebiotikus evolúcióból ered.

Kérdéses, hogy a biológiai periodicitás vizsgálatában mi tekinthető független és függő változónak. *Lima-de-Faria* az evolúció és rendszertan alapján vizsgálta az egyes rendszertani csoportok funkcióit, tehát a minőségi változások periodicitását [5]. A független változóban tehát megjelenik az idő is. A biológiai evolúció rekurrens jellege fenotípus, molekuláris és genom szinten jelenik meg [6] és számos ismételten megjelenő szerv és funkció igazolja; pl. a lumineszcencia, látás, regeneráció, placenta, pénisz és mentális képességek ismételten felbukkannak a törzsfajlás különböző szintjein [7]. Eltérő komplexitású *taxonok*ban, függetlenül jelenik meg placenta növényekben(!), gerinctelenekben és emlősökben. A 3. ábra mutatja, hogy hasonló szárnyakkal repül számos faj,

amelyek szervezetsége sokféle. Lima-de-Faria a rekurrens evolúcióban laza periodicitást vél felfedezni [5,7].

DNS transzpozonok morfológiai és funkcionális újdonságokat hoznak létre, nem-kódoló RNS-ek pedig szabályozzák a DNS-ek transzkripcióját. A genomban kódolt bizonyos funkciók az életkörülmények változása következtében szükségtelenné válnak és gátlódnak, másoknál újra előnyössé válhatnak és expresszálódnak. Így az evolúciónak nem kell újra és újra felfedezni és működésképtelen átmeneti formákon át stabilizálni egy-egy funkciót. Úgy tűnik, hogy az evolúció szükség esetén (időközönként) a faj fenntartásához előnyös funkciókat expresszál [7].



3. ábra. A repülés rekurrens megjelenése különböző fajoknál: rovar, pterozsaurusz, madár, repülő hal, denevér [5].

Lima-de-Faria még tovább megy és a periodikus rekurrenciát az elemek periódusos rendszerére és a feljebb említett elem-csoportosulásokra vezeti vissza [5, 7]. Okozati

összefüggést lát az ásványok kristályszerkezeti és az élővilág morfológiai szimmetriái között is [5]. Bilaterális szimmetria jellemzi a kontakt ikerkristályokat és minden gerincest. A természetben mindenhol megtalálható szimmetria az anyagszerkezet szimmetriájának megnyilvánulása. A jégkristályok hatfogású szimmetriája például a H₂O molekula szerkezetéből következik. A molekuláris mimikri alapján különböző kémiai összetételű ásványok és makromolekulák vehetnek fel hasonló szerkezetet és tölthetnek be hasonló funkciót. Bizonyos fajok szemlencséje nem fehérjéket (krisztallinokat), hanem ásványokat tartalmaz. Lima-de-Faria biológiai periódusos rendszere azonban predikciókra nem képes és számos adattal kell még alátámasztani a létjogosultságát.

De mi is a gond a biológiai periodicitás kimutatása körül? A komplex rendszerek tulajdonságait nemcsak belső kölcsönhatások, hanem környezeti kölcsönhatások is befolyásolják, pl. a geoszféra dominánsan hat a bioszférára. A cirkadián és szezonális hatások jól kimutathatók a biológia időbeni periodicitásaiban.

Az anyagszerkezet mélyén bizonyosan ott lapul a periodicitás. De a szupernehéz kémiai elemek tulajdonságaiban már gyengül, mert a tulajdonságaikat meghatározó külső elektronok egyre jobban kikerülnek az atommag vonzó hatása alól. Az atommag belső, erős kölcsönhatásai determinisztikus törvényszerűségeken nyilvánulnak meg. Egy komplex biológiai rendszer tulajdonságait azonban nemcsak belső, hanem külső kölcsönhatások (bioszféra, geoszféra és légkör) is befolyásolják. Minél jobban alárendelődnek a belső kölcsönhatások a környezeti hatásoknak, annál inkább elfedik valószínűségi törvényszerűségeik a determinisztikusakat [8].

A biológiai ismeretek rendszerezése *Linné* óta folyamatosan bővül. Mengyelejev óta pedig a rendszerezésben a periodicitást is figyelembe veszik. Már ökológiai periódusos táblázatokkal is próbálkoztak [9].

Láthattuk, hogy a periodicitás kapcsolatban áll a hierarchia, komplexitás és szimmetria fogalmaival is. Filozófiai jelentősége a tudományos ismeretek rend-

szerezése, az osztályozás. Amennyiben a szimmetria általános rendszerező elvnek is tekinthető, a biológiai periódusos rendszerekben – ha lesz valaha ilyen – a szimmetriákra fontos szerep vár.

Irodalomjegyzék

- [1] Scerri, E.R. (1998) The evolution of the periodic system. *Scientific American*, **279**: 78-83.
- [2] Taylor, R.W. (2002) A 'periodic table' for protein structures. *Nature*, **416**: 657–660.
- [3] Ahnert, S.E., Marsh, J.A., Hernández, A., Robinson, C.V. Teichmann, S.A. (2015) Principles of assembly reveal a periodic table of protein complexes. *Science*, **350**: aaa2245.
- [4] Gánti, T. (2002) On the early evolutionary origin of biological periodicity. *Cell Biology International*, **26**: 729–735.
- [5] Lima-de-Faria, A. (1997) The atomic basis of biological symmetry and periodicity. *BioSystems*, **43**: 115-135.
- [6] Maeso, I., Roy, S.W., Irimia, M. (2012) Widespread recurrent evolution of genomic features. *Genome Biol Evol*, **4**: 486-500.
- [7] Lima-De-Faria, A. (2018) Periodic tables unifying living organisms at the molecular level: The predictive power of the law of periodicity, *World Scientific Press*.
- [8] Maksay, G. *Quo vadis, tudományos megismerés?* *Magyar Tudomány*, **2015/9**: 1139-1145.
- [9] Ferraro, S.P. (2013) Ecological periodic tables: in principle and practice. *Oikos*, **122**: 1541-1553.



Maksay Gábor az ELTE-n végzett vegyész szakon. A biológiai tudomány doktora. Érdeklődési területei: bioorganikus kémia, neurobiokémia, molekuláris farmakológia és szerkezeti biológia. Az MTA Kémiai, majd Természet-tudományi Kutatóközpontjában dolgozott. Emeritus kutató professzorként nyugdíjazták.

Tompa, P. (2005) The interplay between structure and function in intrinsically unstructured proteins, FEBS Lett., 579: 3346–3354 (letöltés itt)

RENDEZETLEN FEHÉRJÉK: FUNKCIÓ (?) SZERKEZET NÉLKÜL

Tompa Péter

***MTA TTK Enzimológiai Intézet, Budapest;
Flamand Biotechnológiai Intézet es Brüsszeli Szabadegyetem, Brüsszel***

Az alábbiakban szeretném összefoglalni, hogy mi vezetett a fenti cikk megírásához, illetve mi lehet annak a titka, hogy a terület egyik alapműve lett és ilyen sok hivatkozást kapott. A történet azzal kezdődött, hogy enzimológusként a kalpain enzimet vizsgáltam, és tudatában voltam, hogy az enzimnek van egy „furcsa” inhibítora, a kalpasztatin, ami minden szempontból szokatlanul viselkedik: az oldatát például ki lehetett forralni, ami a fehérjék világában szinte példa nélküli volt (gondoljunk csak a keménytojásra). Mint sok más eredeti felismerésnél, a furcsaság okozta „kényelmetlen” érzést az ember ignorációval kompenzálja, én is úgy tettem, mintha ez nem is létezne. Az én esetemben a felismerést kiváltó (kikényszerítő) kritikus momentum az volt, hogy együttműködést alakítottunk ki a kalpain szerkezet-funkció kutatás egyik kiemelkedő személyiségével, Koichi Suzuki professzorral, akinek a meghívásra 2000-ben három hónapot töltöttem Japánban, a Tokiói Egyetemen.

Itt, míg nap közben a kalpain ügyes-bajos dolgai foglalkoztattak, egyik este arról olvastam, hogy megoldották az ecetmuslica (*D. Melanogaster*, drozi) genom szekvenciáját, és abban négy kalpain gént is találtak. Az adatbázisban keresgélve azonban azt a furcsaságot találtam, hogy a genomban egy kalpasztatin gén sincs, ami – figyelembe véve az enzim és inhibitor egymásra utaltságát – nagyon furcsán hatott. Mivel a kalpasztatin gént a drozi genomban az akkori legjobb homológia kereső módszerek segítségével sem találtam, az inhibitor

aminosav összetételi mintázatát próbáltam elemezni, ami arra a teljesen váratlan felismerésre vezetett, hogy a kalpasztatin ebből a szempontból is teljesen eltér más fehérjéktől. Mivel tudtam, hogy az inhibítor natív körülmények között is „random-coil” szerkezetet mutat, ennek összekapcsol(ód)ása a szokatlan aminosav összetétellel egyfajta megvilágosodás-élményt okozott. Azonnal elhatároztam, hogy ezzel a jelenséggel fogok foglalkozni, bár – szerencsére – nem volt még neve és gyakorlatilag irodalma sem.

Ezért Budapestre hazatérve megpróbáltam összeszedni, elolvasni és rendszerezni minden korábbi, hasonlóan furcsa fehérjére vonatkozó megfigyelést, ami közel kétezer publikációt jelentett. Gondolataimat a fehérjék „rendezetlenségéről” egy TIBS cikkben írtam meg [1], ami a terület egyik alapműve lett. Máig jól emlékszem azonban az érzésre, hogy a TIBS editor nem javasolta, hogy a cikkbe beleírjam a legfontosabb üzenetet, hogy nemcsak hogy vannak rendezetlen fehérjék, és azoknak funkciója is van, hanem hogy a funkció származhat a rendezetlen állapotból (is). A tanácsa az volt, hogy „it is not even accepted that disordered proteins exist, how could you write about what functions can arise from disorder?”. Szóval a TIBS cikk arról kellett hogy szóljon, hogy valószínűleg sok ilyen fehérje vagy fehérjerész van, és ez milyen érdekes. Amit persze sokan azzal kritizáltak, hogy OK, lehet, hogy sok olyan fehérje van, amelyik a kémcsőben ilyen furcsán viselkedik, de talán csak azért, mert kiemeljük őket a sejt kontextusából, ahol igazából rendezettek. Csakhogy a sok cikk elolvasása után tudtam, hogy ez nem így van, sok bizonyíték (pl. gyors evolúció, megfigyelhető kötési mód, szokatlan aminosav összetétel stb.) van arra, hogy a rendezetlen fehérjék a sejtben is rendezetlenek, és hogy vannak olyan funkciók (pl. entropikus lánc, különböző kötőpartnerekhez való szerkezeti adaptálódás stb.), amelyek a globuláris állapottal nem egyeztethetők össze.

Vagyis, a rendezetlenség sok fehérje natív és funkcionális állapota. Úgy éreztem, valami nagyon bennem maradt, a legfontosabb üzenetet nem mondhattam el. Muszáj volt megfogalmaznom és részletesen bemutatnom, hogy: (1) a

rendezetlenség sok fehérje vagy fehérjeszakasz natív állapota, (2) ezek a fehérjék nemcsak hogy funkcionálisak, hanem funkciójuknak a rendezetlenség fontos eleme, (3) sok speciális funkció kifejezetten a rendezetlen állapotból következik, a fehérje rendeződésével elveszik, és (4) a fehérjék funkcionális osztályozását ennek megfelelően ki kell bővíteni. Mindezt leírtam, és megkerestem a FEBS editorát, hogy mit szól hozzá... Így egy olyan cikk született, ami bizonyos szempontból fontosabb üzenetet hordoz, mint az első [2]. Sokan azóta is azért hivatkoznak rá, mert itt lett először kimondva, hogy a rendezetlenség a fehérjék funkcionális állapota, és mint olyan, vizsgálható és megérthető. Ami azután elvezetett a hagyományos szerkezet-funkció paradigmán („structural biology”) túlmutató rendezetlenség-funkció paradigma („unstructural biology”) megfogalmazásához is [3].

És akkor, hogy mi a sok hivatkozás titka? A cikk jó időben volt jó helyen, és (1) egy fontos, általános és „új” területen, ahol (2) alapvető és általános üzenet(ek)et közvetített, és (3) a terület iránt azóta is tartós érdeklődés nyilvánul meg (még ma is „divatos”). Mindezek fontosak voltak, hogy elindítsák és hosszú időn át fenn is tartsák a citációs aktivitást. Talán ilyen egyszerű. Én azóta is próbálom ezt az egyszerű receptet alkalmazni, de nem mindig sikerül...

Irodalomjegyzék

- [1] Tompa, P. (2002) Intrinsically unstructured proteins. *Trends Biochem Sci*, **10**: 527-33. Review.
- [2] Tompa, P. (2005) The interplay between structure and function in intrinsically unstructured proteins. *FEBS Lett*, **579**: 3346–3354.
- [3] Tompa, P. (2011) Unstructural biology coming of age. *Curr Opin Struct Biol*, **21**(3): 419-25. Review.



Tompa Péter az ELTE TTK vegyész szakán végzett 1983-ban, szakdolgozatát az MTA SZBK Enzimológiai Intézetében írta. PhD fokozatát 1991-ben kapta meg, majd Friedrich Péter csoportjához csatlakozott, az itt végzett, főképp a kalpain enzim szerkezet-funkció vizsgálatára irányuló kutatómunkája eredményeképp szerezte meg MTA doktori fokozatát 2006-ban. A kalpain inhibitora (kalpasztatin) működésére vonatkozó eredményeit általánosítva 2000 táján fogalmazta meg a fehérjék szerkezeti rendezetlenségének jelentőségét. A rendezetlen fehérjék (IDPk) számos új koncepciója fűződik a nevéhez, így chaperone funkciójuk, kötött állapotban megmaradó

rendezetlenségük (bolyhosság), rövid kötőmotívumaik szerepe és kötési promiszkuitásuk (moonlighting), illetve a többdoménes fehérjék harmadlagos szerveződésének (szuperharmadlagos szerkezet) általános modellje. Mintegy 200 tudományos közlemény és az IDP terület első összefoglaló kézikönyve („Structure and function of intrinsically disordered proteins”. Taylor & Francis, 2009) szerzője. Jelenleg az MTA TTK Enzimológiai Intézet tudományos tanácsadója és a Flamand Biotechnológiai Intézet (VIB) Szerkezeti Biológiai Központ (CSB) csoportvezetője. 2007-9 között az Enzimológiai Intézet igazgatóhelyettese, 2011-16 között a VIB CSB igazgatója volt. Jelenleg a Brüsszeli Szabadegyetem (VUB) biokémia professzora. A Straub-plakett (2010) és az Akadémiai Díj (2010) kitüntetettje, az Academia Europaea tagja.

KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA 2018.

I) IF>8

Billes, V., Kovács, T., Manzóger, A., Lőrincz, P., Szincsák, S., Regős, Á., Kulcsár, P.I., Korcsmáros, T., Lukácsovich, T., Hoffmann, G., Erdélyi, M., Mihály, J., Takács-Vellai, K., Sass, M., Vellai, T. (2018) Developmentally regulated autophagy is required for eye formation in *Drosophila*. *Autophagy* 14(9):1499-1519. IF: 11.100

Birkbak, N.J., Li, Y., Pathania, S., Greene-Colozzi, A., Dreze, M., Bowman-Colin, C., Sztupinszki, Z., Krzystanek, M., Diossy, M., Tung, N., Ryan, P.D., Garber, J.E., Silver, D.P., Iglehart, J.D., Wang, Z.C., Szuts, D., Szallasi, Z., Richardson, A.L. (2018) Overexpression of BLM promotes DNA damage and increased sensitivity to platinum salts in triple-negative breast and serous ovarian cancers. *Ann Oncol* 29(4):903-909. IF: 13.926

Boeynaems, S., Alberti, S., Fawzi, N.L., Mittag, T., Polymenidou, M., Rousseau, F., Schymkowitz, J., Shorter, J., Wolozin, B., Van Den Bosch, L., Tompa, P., Fuxreiter, M. (2018) Protein Phase Separation: A New Phase in Cell Biology. *Trends Cell Biol* 28(6):420-435. IF: 18.564

Chernikova, S.B., Nguyen, R.B., Truong, J.T., Mello, S.S., Stafford, J.H., Hay, M.P., Olson, A., Solow-Cordero, D.E., Wood, D.J., Henry, S., von Eyben, R., Deng, L., Gephart, M.H., Aroumougame, A., Wiese, C., Game, J.C., Győrffy, B., Brown, J.M. (2018) Dynamin impacts homology-directed repair and breast cancer response to chemotherapy. *J Clin Invest* 128(12):5307-5321. IF: 13.251

Czimmerer, Z., Daniel, B., Horvath, A., Ruckerl, D., Nagy, G., Kiss, M., Peloquin, M., Budai, M.M., Cuaranta-Monroy, I., Simandi, Z., Steiner, L., Nagy, B. Jr., Poliska, S., Banko, C., Bacso, Z., Schulman, I.G., Sauer, S., Deleuze, J.F., Allen, J.E., Benko, S., Nagy, L. (2018) The Transcription Factor STAT6 Mediates Direct Repression of Inflammatory Enhancers and Limits Activation of Alternatively Polarized Macrophages. *Immunity* 48(1):75-90. IF: 19.734

Csizmadia, T., Lőrincz, P., Hegedűs, K., Széplaki, S., Lőw, P., Juhász, G. (2018) Molecular mechanisms of developmentally programmed crinophagy in *Drosophila*. *J Cell Biol* 217(1):361-374. IF: 8.784

Daniel, B., Nagy, G., Horvath, A., Czimmerer, Z., Cuaranta-Monroy I, Poliska S, Hays TT, Sauer S, Francois-Deleuze J, Nagy L.: The IL-4/STAT6/PPAR γ signaling axis is driving the expansion of the RXR heterodimer cistrome, providing complex ligand responsiveness in macrophages. *Nucleic Acids Res.* 2018 May 18;46(9):4425-4439. IF: 11.561

Daniel, B., Nagy, G., Czimmerer, Z., Horvath, A., Hammers, D.W., Cuaranta-Monroy, I., Poliska, S., Tzerpos, P., Kolostyak, Z., Hays, T.T., Patsalos, A.,

Houtman, R., Sauer, S., Francois-Deleuze, J., Rastinejad, F., Balint, B.L., Sweeney, H.L., Nagy, L. (2018) The Nuclear Receptor PPAR γ Controls Progressive Macrophage Polarization as a Ligand-Insensitive Epigenomic Ratchet of Transcriptional Memory. *Immunity* 49(4):615-626. IF: 19.734

Emri, T., Antal, K., Riley, R., Karányi, Z., Miskei, M., Orosz, E., Baker, S.E., Wiebenga, A., de Vries, R.P., Pócsi, I. (2018) Duplications and losses of genes encoding known elements of the stress defence system of the Aspergilli contribute to the evolution of these filamentous fungi but do not directly influence their environmental stress tolerance. *Stud Mycol.* 91:23-36. IF: 11.633

Filarsky, M., Fraschka, S.A., Niederwieser, I., Brancucci, N.M.B., Carrington, E., Carrió, E., Moes, S., Jenoe, P., Bártfai, R., Voss, T.S. (2018) GDV1 induces sexual commitment of malaria parasites by antagonizing HP1-dependent gene silencing. *Science* 359 (6381):1259-1263. IF: 41.058

Fraschka, S.A., Filarsky, M., Hoo, R., Niederwieser, I., Yam, X.Y., Brancucci, N.M.B., Moring, F., Mushunje, A.T., Huang, X., Christensen, P.R., Nosten, F., Bozdech, Z., Russell, B., Moon, R.W., Marti, M., Preiser, P.R., Bártfai, R., Voss, T.S. (2018) Comparative Heterochromatin Profiling Reveals Conserved and Unique Epigenome Signatures Linked to Adaptation and Development of Malaria Parasites. *Cell Host Microbe* 23(3):407-420. IF: 17.872

Fuxreiter, M. (2018) Fold or not to fold upon binding - does it really matter? *Curr Opin Struct Biol* 54:19-25. Review. IF: 7.179

Gouw, M., Michael, S., Sámano-Sánchez, H., Kumar, M., Zeke, A., Lang, B., Bely, B., Chemes, L.B., Davey, N.E., Deng, Z., Diella, F., Gürth, C.M., Huber, A.K., Kleinsorg, S., Schlegel, L.S., Palopoli, N., Roey, K.V., Altenberg, B., Reményi, A., Dinkel, H., Gibson, T.J. (2018) The eukaryotic linear motif resource - 2018 update. *Nucleic Acids Res* 46(D1):D428-D434. IF: 11.561

Györffy, B.A., Kun, J., Török, G., Bulyáki, É., Borhegyi, Z., Gulyássy, P., Kis, V., Szocsics, P., Micsonai, A., Matkó, J., Drahos, L., Juhász, G., Kékesi, K.A., Kardos, J. (2018) Local apoptotic-like mechanisms underlie complement-mediated synaptic pruning. *Proc Natl Acad Sci USA* 115(24):6303-6308. IF: 9.504

Hegedűs, É., Kókai, E., Nánási, P., Imre, L., Halász, L., Jossé, R., Antunovics, Zs., Webb, M.R., El Hage, A., Pommier, Y., Székvölgyi, L., Dombrádi, V., Szabó, G. (2018) Endogenous single-strand DNA breaks at RNA polymerase II promoters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Res* 46(20):10649-10668. IF: 11.561

Heldt, F.S., Barr, A.R., Cooper, S., Bakal, C., Novák, B. (2018) A comprehensive model for the proliferation-quiescence decision in response to endogenous DNA damage in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 115: 2532-2537. IF: 9.504

Hotzi, B., Kosztelnik, M., Hargitai, B., Takács-Vellai, K., Barna, J., Bördén, K., Málnási-Csizmadia, A., Lippai, M., Ortutay, C., Bacquet, C., Pasparaki, A., Arányi, T., Tavernarakis, N., Vellai, T. (2018) Sex-specific regulation of aging in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 17(3):e12724. IF: 7.627

Karányi, Z., Halász, L., Acquaviva, L., Jónás, D., Hetey, S., Boros-Oláh, B., Peng, F., Chen, D., Klein, F., Géli, V., Székvölgyi, L. (2018) Nuclear dynamics of the Set1C subunit Spp1 prepares meiotic recombination sites for break formation. *J Cell Biol* 217:3398–3415. IF: 8.784

Lázár, V., Martins, A., Spohn, R., Daruka, L., Grézal, G., Fekete, G., Számel, M., Jangir, P.K., Kintses, B., Csörgő, B., Nyerges, Á., Györkei, Á., Kincses, A., Dér, A., Walter, F., Deli, M.A., Urbán, E., Hegedüs, Z., Olajos, G., Méhi, O., Bálint, B., Nagy, I., Martinek, T.A., Papp, B., Pal, C. (2018) Antibiotic-resistant bacteria show widespread collateral sensitivity to antimicrobial peptides. *Nat Microbiol* 3(6):718-731. IF: 14.174

Mészáros, B., Erdos, G., Dosztányi, Z. (2018) IUPred2A: context-dependent prediction of protein disorder as a function of redox state and protein binding. *Nucleic Acids Res* 46(W1):W329-W337. IF: 11.561

Micsonai, A., Wien, F., Bulyáki, É., Kun, J., Moussong, É., Lee, Y.H., Goto, Y., Réfrégiers, M., Kardos, J. (2018) BeStSel: a web server for accurate protein secondary structure prediction and fold recognition from the circular dichroism spectra. *Nucleic Acids Res* 46(W1):W315-W322. IF: 11.561

Miton, C.M., Jonas, S., Fischer, G., Duarte, F., Mohamed, M.F., van Loo, B., Kintses, B., Kamerlin, S.C.L., Tokuriki, N., Hyvonen, M., Hollfelder, F. (2018) Evolutionary repurposing of a sulfatase: A new Michaelis complex leads to efficient transition state charge offset. *Proc Natl Acad Sci USA* 115(31):E7293-E7302. IF: 9.504

Natan, E., Endoh, T., Haim-Vilmovsky, L., Flock, T., Chalancon, G., Hopper, J.T.S., Kintses, B., Horvath, P., Daruka, L., Fekete, G., Pál, C., Papp, B., Oszi, E., Magyar, Z., Marsh, J.A., Elcock, A.H., Babu, M.M., Robinson, C.V., Sugimoto, N., Teichmann, S.A. (2018) Cotranslational protein assembly imposes evolutionary constraints on homomeric proteins. *Nat Struct Mol Biol* 25(3): 279-288. IF: 13.333

Notebaart, R.A., Kintses, B., Feist, A.M., Papp, B. (2018) Underground metabolism: network-level perspective and biotechnological potential. *Curr Opin Biotechnol* 49:108-114. IF: 8.380

Nyerges, A., Csörgő, B., Draskovits, G., Kintses, B., Szili, P., Ferenc, G., Révész, T., Ari, E., Nagy, I., Balint, B., Vasarhelyi, B.M., Bihari, P., Számel, M., Balogh, D., Papp, H., Kalapis, D., Papp, B., Pál, C. (2018) Directed evolution of multiple

genomic loci allows the prediction of antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 115(25):E5726-E5735. IF: 9.504

Patten, D.K., Corleone, G., Győrffy, B., Perone, Y., Slaven, N., Barozzi, I., Erdős, E., Saiakhova, A., Goddard, K., Vingiani, A., Shousha, S., Pongor, L.S., Hadjiminas, D.J., Schiavon, G., Barry, P., Palmieri, C., Coombes, R.C., Scacheri, P., Pruneri, G., Magnani, L. (2018) Enhancer mapping uncovers phenotypic heterogeneity and evolution in patients with luminal breast cancer. *Nat Med* 24(9):1469-1480. IF: 32.621

Piovesan, D., Tabaro, F., Paladin, L., Necci, M., Micetic, I., Camilloni, C., Davey, N., Dosztányi, Z., Mészáros, B., Monzon, A.M., Parisi, G., Schad, E., Sormanni, P., Tompa, P., Vendruscolo, M., Vranken, W.F., Tosatto, S.C.E. (2018) MobiDB 3.0: more annotations for intrinsic disorder, conformational diversity and interactions in proteins. *Nucleic Acids Res* 46(D1):D471-D476. IF: 11.561

Rata, S., Suarez Peredo Rodriguez, M.F., Joseph, S., Peter, N., Echegaray Iturra, F., Yang, F., Madzvamuse, A., Ruppert, J.G., Samejima, K., Platani, M., Alvarez-Fernandez, M., Malumbres, M., Earnshaw, W.C., Novák, B., Hochegger, H. (2018) Two Interlinked Bistable Switches Govern Mitotic Control in Mammalian Cells. *Curr Biology* 28: 3824-3832. IF: 9.251

Rauscher, A.Á., Gyimesi, M., Kovács, M., Málnási-Csizmadia, A. (2018) Targeting Myosin by Blebbistatin Derivatives: Optimization and Pharmacological Potential. *Trends Biochem Sci* 43(9):700-713. Review. IF: 15.678

Špírek, M., Mlcoúšková, J., Belán, O., Gyimesi, M., Harami, G.M., Molnár, E., Novacek, J., Kovács, M., Krejci, L. (2018) Human RAD51 rapidly forms intrinsically dynamic nucleoprotein filaments modulated by nucleotide binding state. *Nucleic Acids Res* 46(8):3967-3980. IF: 11.561

Szabó, Á., Papin, C., Cornu, D., Che, E., Lipinszki, Z., Udvardy, A., Redeker, V., Mayor, U., Rouyer, F. (2018) Ubiquitylation dynamics of the clock cell proteome and TIMELESS during a circadian cycle. *Cell Rep* 23(8):2273-2282. IF: 8.032

Szádeczky-Kardoss, I.*, Csorba, T.*, Auber, A., Schamberger, A., Nyikó, T., Taller, J., Orbán, T.I., Burgyán, J., Silhavy, D. (2018) The nonstop decay and the RNA silencing systems operate cooperatively in plants. *Nucleic Acids Res* 46(9):4632-4648. IF: 11.561 *Közös első szerzőség

Toenhake, C.G., Fraschka, S.A., Vijayabaskar, M.S., Westhead, D.R., van Heeringen, S.J., Bártfai, R. (2018) Chromatin Accessibility-Based Characterization of the Gene Regulatory Network Underlying Plasmodium falciparum Blood-Stage Development. *Cell Host Microbe* 23(4):557-569. IF: 17.872

Tóth, E., Czene, B.C., Kulcsár, P.I., Krausz, S.L., Tálas, A., Nyeste, A., Varga, É., Huszár, K., Weinhardt, N., Ligeti, Z., Borsi, A.É., Fodor, E., Welker, E. (2018) Mb- and FnCpf1 nucleases are active in mammalian cells: activities and PAM preferences of four wild-type Cpf1 nucleases and of their altered PAM specificity variants. *Nucl Acids Res* 46(19):10272-10285. IF: 11.561

Varadi, M., De Baets, G., Vranken, W.F., Tompa, P., Pancsa, R. (2018) AmyPro: a database of proteins with validated amyloidogenic regions. *Nucleic Acids Res* 46(D1):D387-D392. IF: 11.561

Villegas, S.N., Gombos, R., Garcia-Lopez, L., Gutierrez-Perez, I., Garcia-Castillo, J., Vallejo, D.M., Da Ros, V.G., Ballesta-Illan, E., Mihaly, J., Dominguez, M. (2018) PI3K/Akt Cooperates with Oncogenic Notch by Inducing Nitric Oxide-Dependent Inflammation. *Cell Rep* 22(10):2541-2549. IF: 8.032

Zampieri, M., Szappanos, B., Buchieri, M.V., Trauner, A., Piazza, I., Picotti, P., Gagneux, S., Borrell, S., Gicquel, B., Lelievre, J., Papp, B., Sauer, U. (2018) High-throughput metabolomic analysis predicts mode of action of uncharacterized antimicrobial compounds. *Sci Translat Med* 10(429). pii: eaal3973. IF: 16.710

Zhou, Z., Mahdi, A., Tratsiakovich, Y., Zahorán, S., Kövamees, O., Nordin, F., Uribe Gonzalez, A.E., Alvarsson, M., Östenson, C.G., Andersson, D.C., Hedin, U., Hermes, E., Lundberg, J.O., Yang, J., Pernow, J. (2018) Erythrocytes From Patients With Type 2 Diabetes Induce Endothelial Dysfunction Via Arginase I. *J Am Coll Cardiol* 72(7):769-780. IF: 16.834

**KIEMELKEDŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA 2018.
II) BIOKÉMIAI SZERVEZETEK KIADVÁNYAI**

Budai, Z., Ujlaky-Nagy, L., Kis, N., Antal, M., Bankó, C., Bacsó, Z., Szondy, Z., Sarang, Z. (2018) Macrophages engulf apoptotic and primary necrotic thymocytes through similar phosphatidylserine-dependent mechanisms. *FEBS Open Bio* IF: 1.782

Csősz, É., Márkus, B., Darula, Z., Medzihradzsky-Fölkl, K., Nemes, J., Szabó, E., Tózsér, J., Kiss, C., Márton, I. (2018) Salivary proteome profiling of oral squamous cell carcinoma in a Hungarian population. *FEBS Open Bio* 8(4):556-569. IF: 1.782

Döry, M., Hatzimasoura, E., Kállai, B.M., Nagy, S.K., Jäger, K., Darula, Z., Nádai, T.V., Mészáros, T., Juez, E.L., Barnabás, B., Palme, K., Bögre, L., Ditengou, F.A., Dóczy, R. (2018) Co-evolving MAPK and PID Phosphosites Indicate an Ancient Environmental Control of PIN Auxin Transporters in Land Plants. *FEBS Lett* 592(1):89-102. IF: 2.999

Gógl, G., Biri-Kovács, B., Póti, Á.L., Vadászi, H., Szeder, B., Bodor, A., Schlosser, G., Ács, A., Turiák, L., Buday, L., Alexa, A., Nyitray, L., Reményi, A. (2018) Dynamic control of RSK complexes by phosphoswitch-based regulation. *FEBS J* 285(1):46-71. IF: 4.530

Karasik, A., Ledwitch, K.V., Arányi, T., Váradi, A., Roberts, A., Szeri, F. (2018) Boosted coupling of ATP hydrolysis to substrate transport upon cooperative estradiol-17- β -D-glucuronide binding in a Drosophila ATP binding cassette type-C transporter. *FASEB J* 32(2):669-680. IF: 5.595

Keller-Pinter, A., Szabo, K., Kocsis, T., Deak, F., Ocsovszki, I., Zvara, A., Puskas, L., Szilak, L., Dux, L. (2018) Syndecan-4 influences mammalian myoblast proliferation by modulating myostatin signalling and G1/S transition. *FEBS Lett* 592:3139-3151. IF: 2.999

Molnár, P., Marton, L., Izrael, R., Pálinkás, H.L., Vértessy, B.G. (2018) Uracil moieties in Plasmodium falciparum genomic DNA. *FEBS Open Bio* 8(11):1763-1772. IF: 1.782

Vető, B., Szabó, P., Bacquet, C., Apró, A., Hathy, E., Kiss, J., Réthelyi, J.M., Szeri, F., Szüts, D., Arányi, T. (2018) Inhibition of DNA methyltransferase leads to increased genomic 5-hydroxymethylcytosine levels in hematopoietic cells. *FEBS Open Bio* 8(4):584-592. IF: 1.782

Kedves Kollégák!

A **49. membrán-transzport konferencia** szervezőbizottságának elnökeként nagy tisztelettel és örömmel köszöntök minden kedves résztvevő kutatót!

A hagyományokhoz híven konferenciánk idén is **Sümege**n, a **Hotel Kapitányban** kerül megrendezésre, amely egy igen kellemes és inspiráló környezetet biztosít számunkra.

Az idei program összeállításánál igyekeztünk követni a konferencia hagyományait, megtartva az esemény multidiszciplináris szakmai jellegét. Az egyes szekciók során mind orvosbiológiai, mind növénybiológiai kutatások bemutatásra kerülnek, ezáltal is elősegítve a különböző szakterületek közötti kapcsolatok kialakítását, a tudományos kérdések hatékonyabb megválaszolását. Egy jelentősebb új elem a konferencia programját illetően egy metodikai szekció kialakítása, amely minden membránbiológiával foglalkozó kutató számára értékes ismereteket nyújthat és új távlatokat nyithat a kutatásaikban.

További célunk a konferenciasorozat azon hagyományának folytatása is, hogy elősegítsük a fiatal kutatók szakmai fejlődését és új kapcsolatok kialakítását. Ezért több fiatalnak is lehetőséget adunk kutatási eredményeik bemutatására, hogy hozzájárulhassanak a tematikus szekciók sikeréhez. A poszterszekciók során a kiállított posztereket értékeljük és az utolsó nap délelőttjén megrendezendő „Fiatalok fóruma” szekcióban a legkiemelkedőbb tudományos eredmények szóbeli előadás formájában is bemutatásra kerülnek.

Reményeink szerint az idei rendezvényünk hangulata, tudományos értéke minden szempontból követni fogja a konferenciasorozat több évtizedes hagyományait, amelyet igen nagymértékben elősegítenek a Remedicon Kft és a Hotel Kapitány lelkes munkatársai, valamint kiállítóink és szponzoraink nagylelkű támogatásai, akikkel remélhetően értékes kapcsolatok kialakítására is lehetőségünk nyílik.

A konferencia honlapja:

<https://www.remedicon.hu/280/49-membran-transzport-konferencia>

Kellemes, szakmai élményekben gazdag és inspiráló konferenciát kívánok!

A konferencia szervezői nevében:

*Tóth Szilvia Zita
MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont,
Növénybiológiai Intézet*

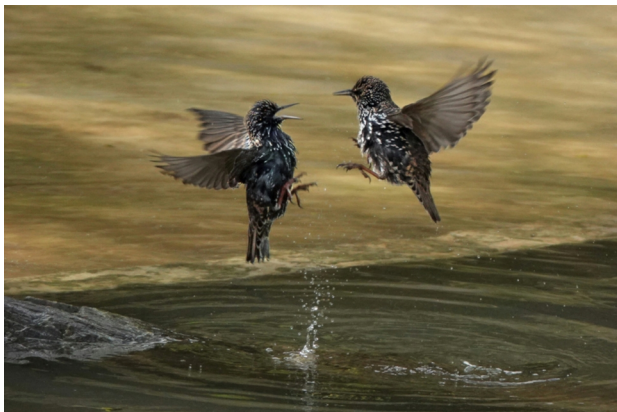
MEGLESETT PILLANATOK

Engem lenyűgöz az életnek nevezett csoda belekódolva mintegy 2 m hosszú DNS molekulába, legalábbis a mi esetünkben. Az iskolapadban ez biokémia, molekuláris biológia, élettan, etológia... Kint a természetben ugyanez egy vékonyka hajtás felbukkanása, megerősödése, fák tél utáni megelevenedése és nyújtózása a nap felé, a tavaszi rét illata, madarak éneke és szabad szárnyalása... Végtelenül sorolható lenne, mint amilyen az élet végtelennek tűnő változatossága. Jó ezt látni, megtapasztalni a természetben, s tanulni belőle. A fotózás megörökít valamit ebből. Nem pótolja az ottlét élményét, de visszaadhatja a pillanat szépségét, a természet hangulatát, alkalmanként és szerencsés esetben egy hirtelen mozdulatot, felröppenő madarak civódását, ami túl gyors ahhoz, hogy a helyszínen igazán felfogjuk. Számomra amatőr fotósként ez így lesz teljes és örömteli.



Bernáth Sándor, PhD, MBA, a LipidArt Kft. fejlesztési igazgatója, amely vállalat sikerrel fejlesztett ki, szabadalmaztatott és értékesített kognitív funkciót befolyásoló molekulákat. A biológiai tudomány kandidátusa; MBA diplomát szerzett a Brunel Egyetemen (London, UK). Címzetes egyetemi docens a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Karán. Tagja a Kinexum LLC (Harpers Ferry, WV, USA) és Morningside Pharmaceuticals Ltd (Leicester, UK) vállalatok szakértői tanácsadó testületeinek. Kutatói pályáját az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetében kezdte Dr. Vizi E. Szilveszter professzor, akadémikus kutatócsoportjában. Hét évig a Pittsburgh Egyetemen (PA, USA) kutatott és tanított. Vezérmolekulák kiválasztásától

Fázis 2. klinikai vizsgálatokig terjedően irányított gyógyszeripari fejlesztést. Felesége, Dr. Bernáthné Varga Rózsa az ENSZ Világélelmzési Programjában projektvezető konzulens. Jelenleg Rómában élnek és dolgoznak.



Civódó seregélyek.



Szalakóta fűrgé gyíkkal.



Függeszkedő nagy sándorpapagáj.



Dankasirály zsákmánnyal



Csendélet.



Hajnali kis kócsag.