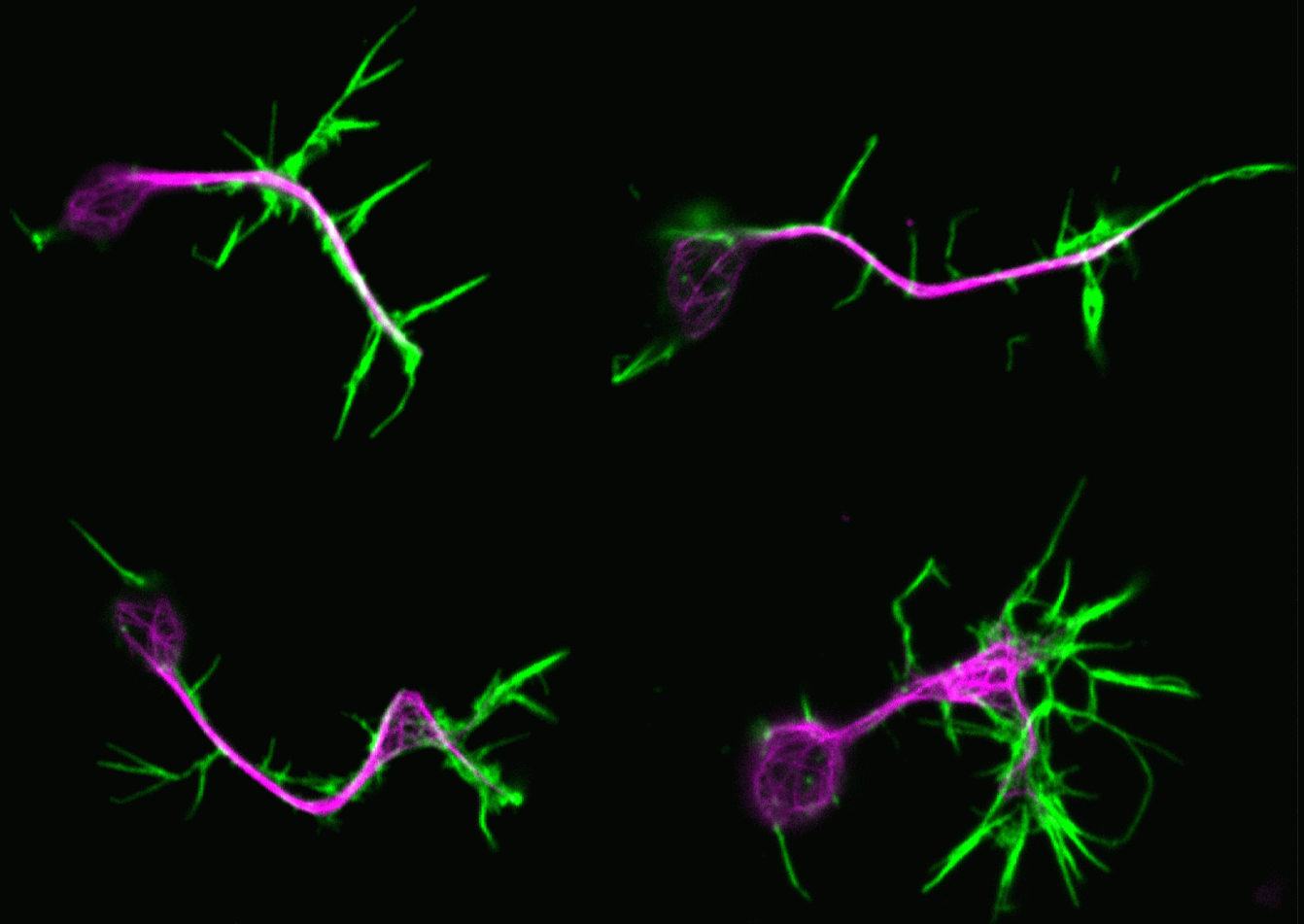


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLIII. évfolyam 2. szám

2019. június



# 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 2. SZÁM**

**2019. június**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: Drosophila embrionális primer idegsejtek aktin (zöld) és mikrotubulus (magenta) sejtváza (lásd Mihály József írását, 26. oldal).*

### **AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK**

Kitüntetések, díjak ..... 3.

### **TUDOMÁNYOS CIKK**

Györkei Ádám, Szatmári Orsolya, Villányi Zoltán: A génkifejeződés  
körkörös szabályozásától, fázisátmeneten keresztül, a genotoxikus  
hatások elleni védelemig ..... 4.

### **HAZAI Tudományos Műhelyek**

Mihály József: A sejtváza szabályozás és a miofibrillogenezis vizsgálata az  
MTA SZBK Genetikai Intézetében ..... 26.

### **VISSZATEKINTÉS AZ ELMÚLT 50 ÉV KIEMELKEDŐ CIKKEIRE**

Sarkadi Balázs: A Spät-Gárdos-Tosteson iskola tanulságai ..... 36.

### **KONFERENCIA BESZÁMOLÓK**

Molekuláris Élettudományi Konferencia 2019, Eger ..... 44.

Peptidkémiai Munkabizottság 2019. évi tudományos ülése,  
Balatonszemes ..... 51.

### **NEKROLÓG**

Búcsúzunk Medzihradszky Kálmán professzortól ..... 53.

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 2019. MÁRCIUS 15. ÉS 2019. JÚNIUS 15. KÖZÖTT

Az MTA rendes tagjává választották **Buday Lászlót**, az MBKE elnökét (MTA TTK, Enzimológiai Intézet) és **Csermely Pétert** (SE, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet). Levelező tag lett **Keserű György Miklós** (MTA TTK, Szerves Kémiai Intézet).

Szeged Város ünnepi közgyűlése **Wollemann Máriát**, az SZBK Biokémiai Intézetének egykori igazgatóját díszpolgári címmel tüntette ki, **Kondorosi Éva** akadémikus (SZBK, Növényélettani Intézet) pedig Pro Urbe díjat vehetett át.

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**

## A GÉNKIFEJEZŐDÉS KÖRKÖRÖS SZABÁLYOZÁSÁTÓL, FÁZISÁTMENETEN KERESZTÜL, A GENOTOXIKUS HATÁSOK ELLENI VÉDELEMIG

**Györkei Ádám<sup>1</sup>, Szatmári Orsolya<sup>2</sup>, Villányi Zoltán<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet,**

**<sup>2</sup>SZTE TTIK, Biokémia és Molekuláris Biológia Tanszék**

### Összefoglalás

A gének kifejeződés különböző szintjeinek működését egy sok fehérjét magába foglaló masinéria hangolja össze. Tagjai több gének kifejeződési szint szabályozásában is részt vesznek, ami megnehezíti sokoldalú szerepük megismerését. A szakirodalom sok esetben éveken át kizárólag az egyes szabályozó fehérjék elsőként felfedezett funkciójára összpontosít. Így volt ez a Ccr4-Not komplex esetében is, amely az mRNS lebontásában betöltött szerepe miatt, mint az eukarióták legfőbb deadeniláza volt ismert. Cikkünkben áttekintést adunk az utóbbi öt év Ccr4-Not komplexszel kapcsolatos felfedezéseiről. Bemutatjuk, hogy az eukarióták legfőbb deadeniláza a translációban és a fehérjekomplexek összeszerelődésében is kulcsszereplő. Ezek az új felfedezések önmagukon túlmutatva a gének kifejeződés körkörös szabályozásának középpontjába helyezik a translációt és a kotranszlációs összeszerelődési folyamatokat. Ebből kifolyólag itt vetjük fel először egy fázisátmeneten alapuló, fehérjekomplex-összeszerelődést szabályozó génexpressziós lépés létezését, amelynek jelentősége sejtünk szerint a gyors stresszválaszban rejlik. Élesztősejtek növekedésén mutatjuk be, hogy a fehérjék fázisszeparációját gátló 1,6-hexándiol ismételt UV kezelés hatására toxikus hatású, ha a sejtekben nem engedjük működni a fény által indukálódó DNS hibajavító mechanizmusokat. Kitekintésünk egy fehérjekomplex-alegységek fázisátmenetén alapuló molekuláris memória felfedezésével kecsegtet, amely különösen jelentős lehet a DNS károsító hatások elleni védekezésben, ugyanis a transzkripciótól kezdett stresszválasz, nyilvánvaló okból kifolyólag, nem biztosíthat megnyugtató védelmet a sejt számára.



## Bevezetés

A molekuláris biológia centrális dogmája évtizedek óta meghatározza azt, ahogyan a génkifejeződésről gondolkodunk. Az eukariótákban ez a folyamat a sejtmagban kezdődik a gének bekapcsolásával és a transzkripció inicializációjával, majd a citoplazmában ér véget az érett fehérjék, összeszerelt komplexek elkészültével. A folyamat, amelynek főbb lépései a transzkripció, az mRNS érés, a sejtmagi mRNS export, az mRNS szállítása és raktározása, a transláció és a fehérjék transláció utáni érése és bomlása, lelki szemeink előtt láncolatként, lineárisan jelenik meg. A tudomány, a centrális dogma alapján, a génkifejeződés különböző lépéseit és ezek szabályozását először a rendszer összefüggéseitől megfosztva, élő kontextusukból kiragadva, külön-külön írta le. A génkifejeződés különböző szintjein lévő folyamatok kölcsönhatása, a köztük fellépő visszacsatolási mechanizmusok vizsgálata csak napjainkban került előtérbe.

A transláció közvetlen szabályozó hatása a transzkripcióra már régóta bizonyított. Klasszikus példa a prokariótákban 1981-ben felfedezett attenuáció folyamata [1]. *Escherichia coli*-ban a triptofán szintézisében szerepet játszó gének policisztronos RNS-en kódoltak. Kifejeződésük szabályozása a transláció és a transzkripció közvetlen fizikai kölcsönhatásán alapszik. Mivel a prokariótáknak nincs elkülönült sejtmagjuk, bennük a transzkripció és a transláció egyidejűleg zajlik. Ha van elegendő triptofán a sejtekben, a triptofán aminosav szintézisében szerepet játszó gének előtt elhelyezkedő, triptofán kodonokat tartalmazó, attenuátor régió translációja gyorsan halad, és az átírt mRNS belső bázispárosodással olyan hurok-konformációt vesz fel, amely transzkripció terminációt okoz, így a megtermelt mRNS végül leszorítja magát az RNS polimerázt a DNS-ről. Alacsony triptofán koncentráció esetén azonban a riboszómák lassan haladnak az attenuátor régión, ekkor a naszcens mRNS másodlagos szerkezete megváltozik. Az RNS polimeráz messze megelőzi a riboszómákat az attenuátor átírása után. Ekkor közvetlenül az attenuátor régió után átírt mRNS belső bázispárosodásával kialakul egy alternatív

hurokstruktúra, mely megakadályozza a transzkripció terminációját, a polimeráz pedig tovább folytathatja a triptofán szintéziséhez szükséges fehérjéket kódoló policisztronos mRNS átírását.

Mivel az eukariótákban a transzkripció a sejtmagban, a transzláció pedig a citoplazmában, egymástól térben elválasztva zajlik, így hasonló egyszerű szabályozás a valódi sejtmagvas élőlényekben nem lehetséges. A transzkripció és a transzláció áttételesen azonban az eukariótákban is állhat fizikai kapcsolatban egymással. 2011-ben a *Cell* folyóiratban jelent meg az a munka [2], amely az RNS polimeráz II Rpb4/Rpb7 (*RNA polymerase B 4 és 7*) dimerről mutatta be, hogy a transzkripció befejeztével leválhat a polimerázzal, és bizonyos mRNS-ekhez kötődve segítheti azok transzlációját és degradációját a citoplazmában. Az Rpb4 citoplazmatikus szerepe néhány éve azonban vitatottá vált. Egy későbbi közlemény szerint az Rpb4 és az Rpb2 fúziós fehérje is képes menekíteni az Rpb4 mutánsban tapasztalható változásokat mind az mRNS szintézis, mind a transzláció és a degradáció szintjén [3] annak ellenére, hogy az ilyen fúziós fehérjével menekített mutánsban az Rpb4 fehérje elvileg nem tud leválni a polimeráz II holoenzim komplexről. Korábbi kutatásaink alapján ez az ellentmondás feloldható, amelyre a következő fejezetben térünk ki.

A transzkripció és az mRNS lebontás kapcsolatára szintén csak az utóbbi évtizedben derült fény [4]. Ha a transzkripció lelassul, az mRNS degradáció mértéke is lecsökken, míg a transzkripció gyorsulása a degradáció fokozódásával párosul. A jelenséget génexpressziós pufferhatásnak nevezzük. Ez biztosítja azt, hogy a sejtekben lévő összes mRNS mennyiség mindig állandó maradjon. Azonban a transzkripciós pufferhatás mechanizmusáról még viszonylag keveset tudunk. Azt viszonylag könnyű belátni, hogy a transzkripció során az mRNS-ekhez olyan egyéb fehérjék kötődnek (imprintálódhatnak), amelyek később hatással lehetnek az érett mRNS-ek degradációjára. Azt azonban már nehezebb elképzelni, hogyan működhet a fordított irányú hatás. Hogyan hathat vissza az mRNS degradáció a transzkripció mértékére? A Cramer

laboratórium élesztőben szisztematikusan megvizsgálta az mRNS degradációban szerepet játszó ismert szereplők kiiktatásának transzkripcióra gyakorolt hatását. Eredményeik azt mutatták, hogy az Xrn1 (*eXoribonuclease 1*) mutánsokban az mRNS degradáció mértéke lecsökken, de azt nem követi a transzkripció ráta csökkenése olyan mértékben, ahogyan azt a többi vizsgált mRNS degradációjában szerepet játszó fehérje mutációja esetén látták [5]. Mivel azt találták, hogy az Xrn1 nem keresztköthető a kromatinhoz, feltételezték, hogy hatását a transzkripcióra nem közvetlenül fejt ki. Ezzel összecseng, hogy egy globális transzkripció represszor, az Nrg1 (*Negative regulator of glucose-repressed genes 1*) expressziója megemelkedik *xrn1Δ* mutánsokban, és ez igaz két Ccr4-Not komplex mutánsra is: *ccr4Δ* (*C*arbon *c*atabolite *r*epression *4*) és a *caf1Δ* (*Ccr4 associated factor*) sejtekre, felfedve a transzkripció és az mRNS degradáció közötti szabályozás további szereplőit.

Mindezen eredmények egy komplex génexpressziót szabályozó rendszer jelenlétére utalnak. A legújabb eredmények alapján úgy tűnik, hogy a transzkripció, a transzláció és az mRNS degradáció összehangolását egy számos fehérjét és együttműködő komplexet magába foglaló masinéria tartja ellenőrzése alatt. Ennek a masinériának egyik, vizsgálatunk célkeresztjébe került képviselője a minden eukarióta sejtben megtalálható Ccr4-Not komplex.

### **Ccr4-Not komplex a génexpressziós puffereles kulcsszereplője**

A Ccr4-Not komplex az eukarióta sejtek legfőbb deadeniláza [6,7]. A komplex legfontosabb funkciójának sokáig az mRNS-ek lebontását tartották, annak ellenére, hogy a komplex Not fehérjéit a transzkripcióra gyakorolt negatív hatásuk alapján fedezték fel [8-10]. Innen ered a nevük is: *negative on TATA less* ered jelezve, hogy ezek a fehérjék a TATA box nélküli gének transzkripcióját gátolják. Kutatócsoportunk svájci együttműködő partnereinkkel közösen fényt derített arra, hogy a Ccr4-Not komplex a transzkripció és a transzláció folyamatának összehangolásában is szerepet játszik, többek között azáltal, hogy részt vesz az mRNS polimeráz II és a SAGA transzkripció komplex

kotranszlációs összeszerelésében [11,12].

A 12 alegységből álló RNS polimeráz II összeszerelődése során kimutattuk, hogy annak több alegysége, köztük az Rpb2, nagy mennyiségben megtalálható a transzlációt végző riboszómákon [11]. A jelenség magyarázata az RNS polimeráz II kotranszlációs összeszerelődése. Transzkripciós blokk esetén a polimeráz II alegységeire bomlik, a disszociált alegységek eltávoznak a magból, majd a citoplazmában újra összeszerelődnek [13, 14]. A folyamat során az Rpb1 alegység általában teljesen lebomlik, a riboszómákon új Rpb1 fehérje íródik, amely azután a többi alegységgel kotranszlációs szerelődik össze [11]. Az Rpb2-Rpb4 fúziós fehérje, habár ebben a formában nem képes disszociálódni a polimeráz holoenzim komplexről [3], mégis transzkripciós blokk esetén jelen lehet a sejtmagon kívül is. Sőt, amennyiben az Rpb4 mRNS-hez való kötődésében egyéb fehérjék is szerepet játszanak, azok az Rpb2-höz fuzionált formában, a citoplazmában ugyanúgy a szabályozott érett mRNS-ekhez toborozhatják az Rpb4-et, így az Rpb2-Rpb4 fúziós fehérje is képes lehet menekíteni az Rpb4 hiányát. Mivel a Ccr4-Not komplex kölcsönhat az Rpb4-gyel [11], hozzá hasonlóan a sejtmagban és a citoplazmában is jelen van, ezért jó jelölt arra nézve, hogy az Rpb4 citoplazmatikus funkcióiban közrejátszon. Ezt a lehetőséget két további megfigyelés is valószínűsíti. Először is a Ccr4-Not komplex Not1 alegységéről kiderült, hogy eddig nem ismert módon szintén képes az általa kötött mRNS-ek transzlációjának elősegítésére [15], a szerzők szerint ráadásul az Rpb4-által regulált mRNS-ek és a Not1-hez kötődő mRNS-ek között meglepően nagy az átfedés [15, 16]. Másodsorban pedig a Ccr4-Not komplex Not5 alegységének hiányában az Rpb4 stresszhatásra sem képes kilépni a sejtmagból [11]. A kutatásokból kiderült az is, hogy transzkripciós stressz során a Not1 a riboszómális fehérjéket kódoló mRNS-ekhez kötődik, fokozva transzlációjukat, így az átíródás hatékonyságának növelésével ellensúlyozza a lelassult transzkripció génkifejeződésre irányuló negatív hatását [15].

A *Ccr4-Not* komplexszel együtt izolálható az mRNS polimeráz II és a SAGA komplexeken kívül sok egyéb fehérjekomplex mRNS-e is [15], melyből arra következtethetünk, hogy a *Ccr4-Not* komplex általános szerepe a sztöchiometrikus arányban kifejeződő fehérjék expressziójának szabályozása. Hipotézisünk szerint ez a komplex biztosítja, hogy a fehérjekomplexek alegységeiből mindig azonos mennyiségű teljes hosszúságú fehérje íródjon át. Ezáltal az összeszereléshez szükséges aktív chaperon fehérjék felhasználása sokkal gazdaságosabbá válik, mivel a komplex alkotók egyidejű sztöchiometrikus átíródása feleslegessé teszi a szabad monomerek megkötését. A *Ccr4-Not* komplex a ma ismert legjobb jelölt arra, hogy ezt a sokszintű génexpressziót puffereelő folyamatot koordinálja, hiszen jelentőségét a transzkripció elongációban, a translációban, valamint az mRNS lebontásban számos közleményben bemutatták már [17-19]. A vizsgálatok folytatását az is indokolja, hogy kutatásaink során a *Not1* génexpressziót puffereelő hatását a transzkripció és a transláció összehangolásában, a riboszómális fehérjéket kódoló gének esetében már sikeresen bizonyítottuk [15].

### **A Not1 szerepe a proteaszóma összeszerelődésének szabályozásában**

A legújabb kutatások szerint a *Ccr4-Not* komplex nemcsak az mRNS-ek termelődését, translációját és lebomlását szabályozza, hanem meghatározza a proteaszóma integritását is [20]. Mivel a proteaszóma degradálásra váró poliubikvitinált fehérjék végső lebontását végzi, jelentős hatást gyakorol a már megtermelődött fehérjéknek az élettartamára is, így gyakorlatilag az aktív proteaszóma mennyisége határozza meg a sejtek fehérjeinek átlagos élettartamát. Kutatásainkból kiderült, hogy a proteaszóma Rpt1 és Rpt2 (*Regulatory particle triple-A 1 és 2*) fehérjéi proteotoxikus stresszhatásra *Not1* tartalmú granulumokban gyűlnek össze [20]. Riboszóma footprinting kísérletek rávilágítottak, hogy a *Not1* tartalmú granulumokban az Rpt1 és az Rpt2 translációja elakad, és csak akkor folytatódik, ha a fehérjék N-terminálisán jelen lévő hélicei kölcsönhatásba kerülnek egymással. Vizsgálataink arra engednek következtetni, hogy a kotranszlációs összeszerelődés jelentősége

kettős. A folyamat nemcsak a két fehérje szoros és oldható formában történő interakcióját teszi lehetővé, hanem szerepe lehet abban is, hogy sztöchiometrikusan azonos mennyiségű Rpt1 és Rpt2 transzlálódjon. Az Rpt1 és Rpt2 fehérjék szomszédos fehérjék a proteaszómán belül, ennek ellenére élesztő-kéthibrid kísérletben nem mutatnak kölcsönhatást, és külön termeltetve nem oldhatók [21, 22]. Véleményünk szerint e jelenségek magyarázata, hogy az Rpt1 és az Rpt2 hatékonyan kizárólag a fentiekben részletezett kotranszlációs N-terminális kölcsönhatással képesek egymással kölcsönhatásba lépni. Amennyiben ez nem történik meg, a külön-külön termelődött fehérjék olyan alternatív konformációt vesznek fel, amely kölcsönhatásukat és a proteaszómába való beépülésüket nem teszi lehetővé.

További érdekesség az Rpt1 és Rpt2 kotranszlációs összeszerelődésével kapcsolatban, hogy egyik fehérje N-terminálisa sem tartalmaz másodlagos szerkezeti elemeket, hanem csak ún. rendezetlen szerkezetű fehérje régiókat. Mivel az N-terminálisok deléciója drasztikusan lecsökkenti a *Not1* tartalmú granulomok kialakulását [20], ezeknek a régióknak funkcionális szempontból különösen nagy jelentőséget tulajdonítunk. A granulomok természete egyelőre még nem ismert, korábbi kutatási eredmények alapján azonban azt feltételezzük, hogy fázisátmenet következményeképpen jönnek létre [20]. A folyadék-folyadék fázisátmenet során bizonyos makromolekulák, általában fehérjék, egy kritikus koncentrációt elérve, cseppé szeparálódnak a citoplazmán belül, ami végső soron egy új típusú kompartmentalizációt hoz létre, egyrészt egy gélszerű folyadékfázisú cseppet, amiben nagyon magas a fázisszeparált fehérje koncentrációja, és egy másikat, a citoplazmát, amiben alacsony. A fázisszeparáció szerepét a génexpresszió szabályozásában igazán csak a legutóbbi években kezdték felismerni és intenzíven vizsgálni [23]. Vannak olyan fehérjék, amelyek bizonyos partnerek jelenlétében vagy kovalens módosítások bekövetkezése esetén önmagukban is fázisátmenetre képesek. A Dhh1 (*DEAD box helicase homolog*) fehérje például ATP jelenlétében *in vitro* folyékony cseppekké szeparálódik. A kísérletek szerint ezt a fázisátmenetet Not1

hozzáadásával fel lehet oldani.

A rendezetlen fehérjestruktúrák fázisátmenetben betöltött szerepét nemrégiben tisztázták [24]. A klasszikus nézet szerint egy fehérjének ahhoz, hogy a funkcióját megfelelően el tudja látni, meghatározott térszerkezetet kell felvennie, amelyet az elsődleges szerkezet, az aminosavak sorrendje szab meg. Az utóbbi évtizedekben egyre több bizonyíték látott napvilágot arról, hogy ez nem minden esetben van így (lásd Tompa P. *Biokémia* XLIII/1: 49-53). Bizonyos fehérjék biológiai funkciójuk ellátása során nem feltétlenül egyetlen, jól definiált szerkezetet vehetnek csak fel [25]. Kiderült az is, hogy nem elszigetelt jelenségről van szó: az eukarióta fehérjék közel fele tartalmaz kisebb-nagyobb méretű rendezetlen régiókat, melyek gyakran fontos szabályozó és jelátviteli szerepet töltenek be [26]. Dinamikusan változó szerkezetük lehetővé teszi számos ligand megkötését, fehérje-fehérje interakció kialakítását, továbbá gyakran tartalmaznak poszt-transzlációs módosításokat. Mindezen tulajdonságaiknak köszönhetően a rendezetlen fehérjék számos interakciós partnerrel rendelkeznek, ami a sejtfolyamatok szabályozásának egyik kulcselemévé teszi őket [27, 28].

Mivel az Rpt1 és Rpt2 rendezetlen N-terminálisainak deléciója esetén sem alakulnak ki Not1 granulumok, tovább erősítve a gyanút, hogy a Not1 granulumok a proteaszóma összeszerelődés hatékonyságának növelése érdekében fázisszeparációval képződnek, mely folyamatban a rendezetlen N-terminális struktúráknak alapvető jelentősége van. A proteotoxikus stresszhatásra megjelenő Not1 tartalmú granulumokat asszembliszóimáknak neveztük el [20]. Stresszhatásra néhány fehérje koncentrációja rövid idő alatt jelentősen megnövekedhet a citoplazmában. A stresszhatás elmúltával a feleslegessé vált, a stresszválaszban szerepet játszó fehérjéket valahogyan inaktiválni kell. Jelenlegi elképzeléseink szerint ez nem feltétlenül jelenti azt, hogy el kell őket távolítani vagy le kell őket bontani. Kézenfekvő megoldás a sejt részéről a megtermelt fehérjék legalább egy részét fázisszeparációval



elkülöníteni a citoplazmától, hogy újra bevethetők legyenek ismételt stresszhatás esetén. Egy ilyen típusú szabályozásnak a stressz granulomoktól és P-testektől eltérő, nemrég felfedezett módja a Not1 asszociált mRNP granulomokhoz, az általunk asszembliszómáknak nevezett struktúrákhoz köthető [20].

### **Perspektíva: fázisátmenet, mint molekuláris memória**

Arra kerestük a választ, hogy milyen mechanizmussal történhet a fehérjék fázisátmenete, mennyire általános jelenség ez a sejtek stresszre adott válasza során, és a jelenség játszhat-e szerepet a többtagú fehérjekomplexek szintézisének szabályozásában, elősegítheti-e a termelődő alegységek mennyiségének összehangolását.

Első lépésben megvizsgáltuk, hogy milyen gyakran teljesülnek elméletileg azok a feltételek, melyek kísérleteink szerint lehetővé teszik a fázisszeparációt az egymással kapcsolódni képes fehérjék esetében. Ennek érdekében kísérleteinkhez a megfelelő jelöltek kiválasztását az élesztő összes fehérjekomplexének szisztematikus bioinformatikai elemzésével kezdtük. Olyan fehérjéket kerestünk, amelyek nagy kiterjedésű rendezetlen régióval rendelkeznek az N-terminálisukon (min. 50% az első 50 aminosav esetében). A rendezetlen régiók predikcióját két független módszerrel is megerősítettük [29, 30]. Ezenfelül kiválasztottuk azokat a peptideket, amelyek potenciálisan ubikvitinálódhatnak, azaz a rendezetlen régióon belül hordoznak lizin aminosavakat. Az ubikvitinálhatóságot a jelölt fehérjék további szűkítésére használtuk. Elméletünk szerint a riboszóma-naszcentsfehérje-komplexek fázisszeparációjának további feltétele, hogy a transzláció a fehérje N-terminálisának szintézise után leálljon, vagy legalább lényegesen lelassuljon. Élesztőben 17 olyan konzervált kodonpárt azonosítottak, amelyek a transzláció időleges leállításához vezethetnek [31]. Jelöltjeink kiválasztásánál figyelembe vettük ezen kodonpárok feldúsulását is, elsősorban az mRNS-ek rendezetlen N-terminálisához közel eső régiókban. Könnyű belátni, hogy amikor sok ilyen

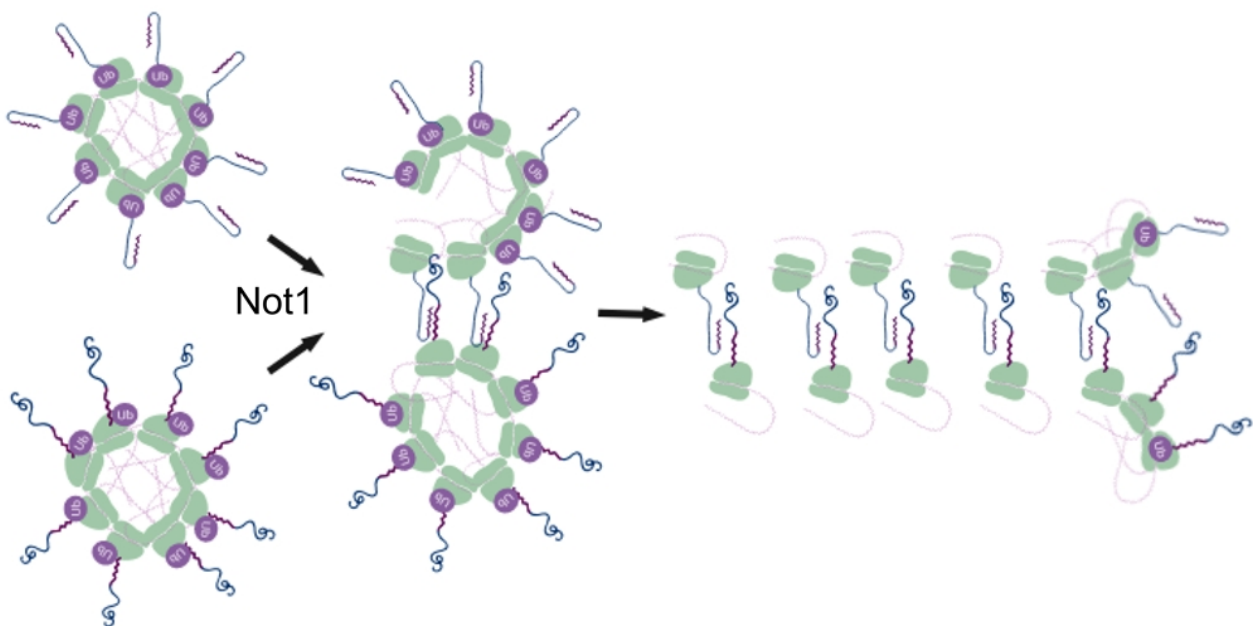


fehérje transzlálódik egyidejűleg, a ritka kodonokhoz illeszkedő ritka tRNS-ek hiánya léphet fel, ami a transzláció lassulásához vagy teljes leállításához vezethet, és ez a feltételezett riboszóma-naszcentsfehérje-komplexek fázisszeparációjának kedvezhet. Ráadásul stresszhatás esetén néhány géntermék jelentős túlsúlyba kerülhet, ebben az esetben a fázisátmenet védekezésképpen is hathat: elkülönítheti egy riboszóma-naszcentsfehérje-komplexeket tartalmazó cseppben azokat az mRNS-eket, amelyek kivonnának a forgalomból ritka tRNS-eket, és ezáltal toxikussá válnának.

A fenti szűrési módszerrel kapott fehérjéknek a sejtben betöltött szerepét ellenőriztük. A jelölt fehérjéket tartalmazó listában a környezeti stresszre adott válaszban szerepet játszó fehérjék feldúsulását tapasztaltuk. Ezek a találatok különösen érdekeltek bennünket, hiszen a gyakran visszatérő környezeti stresszhatások esetében, amilyen például a napsugárzás, alapvető jelentősége lehet a fázisátmenetnek a válaszreakció felgyorsításában. Az első stresszhatásra mindenképpen be kell indítani a teljes génexpressziós kaszkádot, vagyis egyaránt fokozni a stresszhatás elleni védekezésben szerepet játszó gének transzkripcióját és transzlációját. Ha azonban a stresszhatás elmúltával a képződött mRNS-ek lebomlás helyett fázisszeparálódnak az őket transzláló riboszómákkal oly módon, hogy a transzlációjuk megindul, de megáll abban a fázisban, amikor a riboszómák már rövid naszcens fehérjéket lógnak ki magukból, akkor egy következő stresszhatásra már csak a transzlációt kell befejezni, jóval gyorsabb stresszválaszt téve lehetővé, ami óriási evolúciós előnyökkel jár. Elméletben a transzláció folytatását egyetlen aktivált partner megjelenése is kiválthatja, de a fázisszeparált állapot feloldásának egyéb módjai is elképzelhetőek (1. ábra).

Ezzel összhangban áll egy nemrégiben megjelent közlemény, amelyben a Not4 szerepét írták le az RNS polimeráz II Rpb1 alegységének ubikvitilációjában genotoxikus stressz hatására [32]. A Not4 egy E3-RING ubiquitin ligáz domént tartalmaz [33]. Feltételezésünk szerint a rendezetlen N-terminálison jelen lévő

lizinek ubikvitinációja olyan poszt-transzlációs módosítás, amely fontos szerepet tölthet be a fázisátmenetben. A riboszómákból kilógó rendezetlen naszcens fehérje-láncok és a riboszómák rendezetlen N-terminálisainak kölcsönhatásában a monoubikvitináció is fontos szerepet kaphat (1. ábra). A riboszóma alegységek közt szintén találtunk rendezetlen N-terminálissal rendelkező fehérjéket, ami arra utal, hogy ezek a fehérjék is aktívan részt vehetnek a fázisszeparációs komplex kialakulásában. Az ubikvitinációt korábban már összefüggésbe hozták a fázisátmenettel [34].



**1. ábra. Fázisszeparált riboszóma-naszcensfehérje-komplexek feloldásának elméleti modellje kotranszlációs fehérjeösszeszerelődés során.** Az mRNS a fázisszeparált granulumok belsejében helyezkedik el, védve az RNS lebontó folyamatoktól. A riboszómák (zöld) és a belőlük kilógó naszcens fehérjeláncok (kék) monoubikvitinálódva (Ub) alakítanak granulumokat. A naszcens fehérjék rendezetlen N-terminálisai monoubikvitinálódva a granulumok felszínén várják az interakciós partner megjelenését, hogy sztöchiometrikus módon, kotranszlációs folyamatban szerelődhessenek össze.

A monoubikvitináció fázisátmenetben betöltött szerepét különösen érdekessé teszi, hogy a stresszhatás elmúltával a feleslegessé vált, a stresszválaszban szerepet játszó naszcens fehérjék gyakran poliubikvitinálódnak, lebomlanak. A képződött poliubikvitin lánc azonban későbbiekben monoubikvitin forrásként szolgálhat a riboszómák és az általuk transzlált naszcens fehérjék hatékonyabb fázisszeparációjához. A *Not4* érintettsége ebben a deubikvitinációs-monoubikvitinációs folyamatban is felmerül. A *Not4*-ről már ismeretes, hogy

monoubikvitilálja az Rps7a riboszóma alegységet [35], ennek a monoubikvitinációnak a pontos szerepe azonban még nem ismert. A naszcens fehérjeláncok ubikvitinálódását általában fehérje érési folyamatokkal hozzák összefüggésbe. Ez összecseng a mi elméletünkkel, hiszen amennyiben a monoubikvitináció hiánya gátolhatja a fázisszeparációt, a fenti kotranszlációs folyamatok, valamint a komplexek sztöchiometrikus összeszerelődése egyaránt csődöt mondhat, ami rendellenes fehérje éréshez vezethet.

>P06838 DNA repair protein RAD10

MNNTDPTSFE SILAGVAKLR KEKSGADTTG SQSLEIDASK LQQQEPQTSR RINSNQVINA FNQOKPEEWT  
 DSKATDDYNR KRPFRSTRPG KTVLVNNTQK ENPLLNHLKS TNWRYVSSTG INMIYYDYLV RGRSVLFLTL  
 TYHKLYVDYI SRRMQPLSRN ENNILIFIVD DNNSEDTLND ITKLCMFNGF TLLLAFFNEQ AAKYIEYLNL

>P35187 ATP-dependent helicase SGS1

MVTKPSHNLK REHKWLKETA TLQEDKDFVF QAIQKHIANK RPKTNSPPTT PSKDECGPGT TNFITSIPAS  
 GPTNTATKQH EVMQTLNNDT EWLSYTATSN QYADVPMVDI PASTSVVSNP RTPNGSKTHN FNTFRPHMAS  
 SLVENDSSRN LGSRNKNSV IDNSSIGKQL ENDIKLEVR LQGLLIMALK EQSKLLQKC SIIESTSLSE  
 DAKRLQLSRD IRPQLSNMSI RIDSLEKEII KAKKDGMSKD QSKGRSQVSS QDDNISSIL PSPLEYNTSS  
 RNSNLTSTTA TTVTKALAIT GAKQNITNNT GKNSNNSNN DDLIQVLDDE DDIDCDPPVI LKEGAPHSPA

>P28519 DNA repair protein RAD14

MTPEQKAKLE ANRKLAIERL RKRGISSDQ LNRIESRNEP LKTRPLAVTS GSNRDDNAAA AVHVPNHNGQ  
 PSALANTNTN TTSLYGSGV DGSKRDASVL DKRPTRIRP SIRKQDYIEY DFATMQNLNG GYINPKDKLP  
 NSDFTDQEF ESEFGSKKQK TLQDWKKEQL ERKMLYENAP PPEHISKAPK CIECHINIEM DPVLHDVFKL  
 QVCKQCSKEH PEKYALLTKT ECKEDYFLTD PELNDEDLFH RLEKPNPHSG TFARMQLFVR CEVEAFKFK  
 WGGEGLDEE WQRREEGKAH RREKKYEKKI KEMRLKTRAQ EYTNRLREKK HGKAHIIHFS DPVDGGIDED  
 GYQIQRRRCT DCGLETEEID I

**2. ábra Az UV-hatásra kialakuló stresszválaszban szerepet játszó potenciálisan fázisszeparálódó fehérjék.** A fehérjék N-terminálisai erős rendezetlenséget mutatnak (kék), valamint a transzlációt leállító kodonpárok is megtalálhatók bennük (sárga). Mindegyik fehérje rendelkezik továbbá az ubikvitinációhoz szükséges lizin aminosavakkal N-terminális rendezetlen régiókban (K).

A sugárzás okozta stresszválaszban szerepet játszó komplexek fázisszeparációjának megismerése, annak közvetlen gyakorlati jelentősége miatt, különösen fontos számunkra. Amennyiben bebizonyosodik, hogy a fázisszeparáció jelensége az élővilágban általánosan jelen lévő szabályozó mechanizmus, jogosan feltételezhetjük, hogy magasabbrendű eukariótákban is hasonló folyamatok mennek végbe. A szabályozás pontos megismerésének közvetlen humán vonatkozásai is lehetnek. Az asszembliszómák létrejötté befolyásolhatja a rákos betegek sugárterápiára adott válaszát. Magyarázatot

adhat arra, hogy egyes tumorsejtek miért válnak idővel rezisztenssé a sugárterápiával szemben, és miért tapasztalunk bizonyos esetekben a kezdeti sikerek után komoly visszaesést a kezelés hatékonyságában. Sugárterápiára rezisztens daganatsejteknel éppen a fázisszeparáció lehet az ok, ami miatt az egymást követő kezelések után rezisztencia alakul ki. Az 1,6-hexándiolról kimutatták, hogy gátolja a fehérjék fázisátmenetét [36], ami lehetőséget ad, hogy sejtvonalakon igazoljuk a jelenség szerepét a sugárkezelés következtében kialakuló rezisztenciára. Távlati terveink között szerepel vizsgálataink kiterjesztése humán tumorsejtvonalakra.

Bioinformatikai elemzéseink eredményei három jelölt fehérje kiválasztásához vezettek. A fehérjék mindegyike szerepet játszik az UV okozta stresszre adott válaszban, mRNS és fehérje szekvenciájuk pedig maradéktalanul megfelel a fentebbiekben részletezett kritériumoknak, ami erős indikációt jelentett arra, hogy fázisszeparációs szabályozás alatt állhatnak.

### **Pilóta kísérlet**

Elméletünk alátámasztása céljából az 1,6-hexándiol fázisszeparációra gyakorolt negatív hatását vizsgáltuk élesztőn ismételt stresszhatás utáni túlélési tesztben. Stresszhatásnak az UVB sugárzást választottuk, mert bioinformatikai elemzésünkben UV sugárzás elleni védelemben szerepet játszó komplexek fehérjealegységeit azonosítottunk. A kiválasztott fehérjék N-terminálisai jelentősen rendezetlen riboszóma veszteglési kodonpárokat tartalmaznak a 30. aminosavat kódoló után. Ez már lehetővé teszi, hogy a rendezetlen N-terminálisai kilógnak a riboszómából (2. ábra), mivel a 30 aminosavnál rövidebb peptidok a riboszómán belül rejtve maradnak, csak az ennél hosszabbak bújnak elő a riboszóma fehérje kijárat alagútjából [37] (2. ábra).

Exponenciális növekedésbe lépő élesztő kultúrákat UV sugárzásnak tettünk ki, majd 10 percre sötétbe helyeztük őket, hogy a stresszhatás elmúltával kialakulhassanak bennük az asszembliszómák. Az egyik mintába 5%

végkoncentrációban etanolban oldott 1,6-hexándiolt adtunk közvetlenül az UV kezelés után, hogy a feltételezett fázisszeparáció gátlásával megakadályozzuk az asszembliszómák kialakulását. A másik mintához csak az 1,6-hexándiol kezeléssel megegyező térfogatú tiszta etanolt adtunk. Tíz perc sötétben történő inkubációt követően újra UV sugárzásnak tettük ki mindkét mintát, majd spot-teszttel vizsgáltuk a kezelt mintákban lévő élesztők túlélését 10, 100, 1000 és 10000-szeres hígításban (3.A ábra). A kísérletet ugyanazon a sejt kultúrán végeztük. Kontrollként megvizsgáltuk az UV kezelést egyáltalán nem kapó, kizárólag tiszta etanollal, illetve csak 1,6-hexándiollal kezelt sejt kultúrák életképességét is. A kísérletet követő 30 °C-os inkubációt sötétben és fény jelenlétében is elvégeztük. Az előbbi esetben a spot-teszteket és a kolóniák növesztését is végig sötétben végeztük. Erre azért volt szükség, mert ismeretes, hogy egysejtűekben létezik egy látható fény által indukálható DNS hibajavító rendszer [38]. A jelenséget kihasználtuk az 1,6-hexándiol toxikus hatásának felderítésében is (3. ábra).

#### *Anyagok és módszerek*

Vad típusú élesztősejtekkel (L40) kísérleteztünk standard YPD folyékony és szilárd táptalaj felhasználásával. Minden UV besugárzás 2 percig tartott (18 mJ/cm<sup>2</sup> dózis). Exponenciális növekedésbe lépő 900 µl folyékony sejt kultúrákkal (0,4 OD<sub>600</sub>) 2 cm átmérőjű Petri csészében végeztük a kezeléseket. Az 1,6-hexándiolt (SIGMA) 5% végkoncentrációban adtuk 100 µl etanol közvetítésével. Az 1,6-hexándiollal nem kezelt sejtekhez ugyanabban az időpontban, mint amikor az 1,6-hexándiolt alkalmaztuk, 100 µl tiszta etanolt adtunk az első UV kezelés után. A második UV kezelést 10 perc sötétben történő inkubáció után végeztük. A kezeléseket szobahőn, sötét szobában végeztük, 4 egymást követő 10x-es hígítás után 5 µl-t cseppentettünk minden hígításból szilárd, előszárított táptalajra gyenge sárga fénynél. Ezután vagy sötétben, vagy világosban inkubáltuk a szilárd táptalajra cseppentett hígításokat egy napig, 30 °C-on.

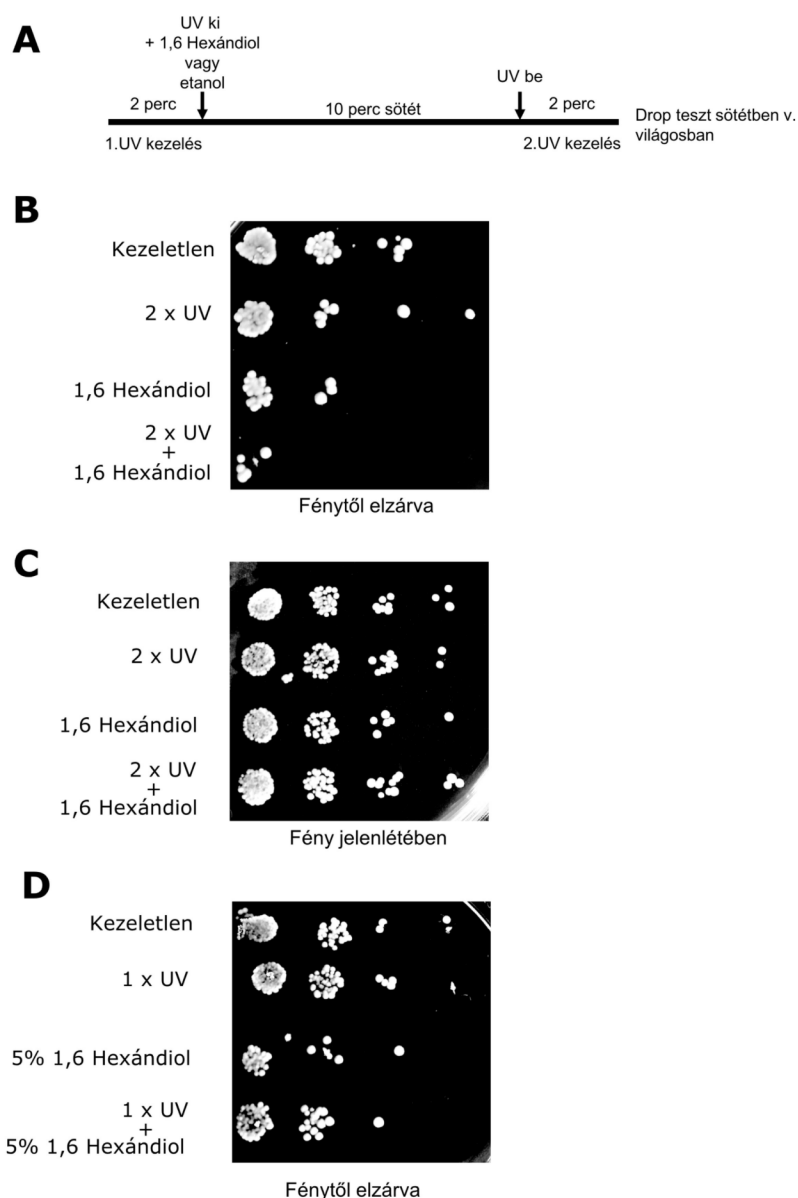
### *Eredmények*

Ismétlődő UV kezelés károsító hatását az 1,6-hexándiol fokozza, ebben az esetben a túlélők száma jelentősen lecsökken. Az 1,6-hexándiol UV kezelés nélkül is kismértékű toxikus hatással bír, de az UV károsodás mértékét az 1,6-hexándiol kezelés sokkal jelentősebben, legalább további egy nagyságrenddel fokozta (3.B ábra, különbség a 3. és 4. sor között). Ez a hatás nem volt kimutatható, ha a kísérleteket látható fényben végeztük (3.C ábra). Ismert, hogy látható fényben bekapcsol egy fény indukált DNS hibajavító rendszer [38]. Mivel fény jelenlétében a mintákban nem volt különbség az 1,6-hexándiollal kezelt és nem kezelt minták UV érzékenységében, kijelenthetjük, hogy az 1,6-hexándiol az UV által indukált DNS hibák kijavítását csak akkor befolyásolja, ha a fény indukált hibajavító rendszer nem működik. Mivel egyszeri UVB sugárzás alkalmazása esetén nincs különbség az 1,6-hexándiollal kezelt vagy nem kezelt, sötétben növesztett sejtek UV érzékenységében, úgy gondoljuk, hogy az 1,6-hexándiol kizárólag az asszembliszómák kialakulásának gátlásán keresztül fejti ki érzékenyítő hatását (3.D ábra, nincs szignifikáns különbség a sejtek számában egyetlen UV kezelés után). Ez alátámasztja feltételezésünket, hiszen úgy gondoljuk, hogy a második UV kezelés az, ahol a már előre előkészített fázisszeparált asszembliszómákkal és az ezekben tárolt, részlegesen transzlált stresszfehérjékkel rendelkező sejtek jelentős előnybe kerülhetnek azokkal a társaikkal szemben, akiknek ismételt besugárzás esetén újból meg kell termelniük a stresszfehérjéket kódoló mRNS-eket és újból elindítani a teljes transzlációs folyamatot az 1,6-hexándiol fázisszeparációt gátló hatása miatt. Mivel az 1,6-hexándiol kezelés csak a sötétben növesztett sejtek ismétlődő UV besugárzása esetén csökkentette a túlélést, úgy véljük, hogy az 1,6-hexándiol érzékenyítő hatása közvetlenül a DNS hibajavító mechanizmusok gátlásán keresztül valósul meg, és azt a látható fényben minden esetben indukálódó DNS hibajavítási kaszkád aktiválódása szupresszálja (3.A, B és C ábra).



## Konklúziók

Kísérleteink és az irodalomban fellelhető adatok egyaránt támogatják azt a kiindulási elképzelésünket, hogy létezik egy olyan, riboszóma-naszscensfehérje-komplexek fázis-szeparációján alapuló, génexpressziós szabályozási rendszer, amely rendkívül gyorsan válaszolhat a sejtek potenciális károsodását eredményező külső vagy belső stresszhatásokra. A stresszválasz felgyorsítása jelentősen javíthatja a sejtek túlélési esélyeit.



**3. ábra. Az 1,6-hexándiol és az UVB sugárzás hatása a sejtek életképességére. A)** A kísérlet menete, **B)** Az A szerinti sémával sötétben kezelt és növesztett élesztősejtek növekedése 10, 100, 1000 és 10000-szeres hígításban vizsgálva. **C)** Ugyanaz, mint B, csak a kolóniák látható fény jelenlétében fejlődtek. **D)** Az első UV kezelés után kezelt sejtek egyből lemezre kerültek, és sötétben növekedtek.

Elméletileg akár teljes génszabályozási-kaszkádok is épülhetnek fázisszeparációs szabályozásra. Könnyű ezt belátni, ha figyelembe vesszük, hogy az *Rpt1-Rpt2* kotranszlációs interakciójához hasonlatosan a partnerek jelenléte önmagában elég lehet az elakadt transzláció folytatásához és a gélszerű állapotból való kiváláshoz, más szóval a fázisszeparált állapot felolvadásához. A fázisszeparált granulumban tárolt fehérjék egy részének eltávozása azonban nem szükségszerűen okozza magának a granulumnak a teljes felolvadását. Nem zárhatjuk ki, hogy akár különböző komplexek alegységeit tartalmazó részlegesen transzlált fehérjék is tárolódhatnak egyetlen granulumon belül. Mikor újból indukálódik valamely stresszkomplex transzkripciója, a már részlegesen megtermelődött tagok fehérjéinek a riboszómákról kilógó N-terminális doménjei kapcsolódhatnak az újonnan termelődött vagy más módon aktivált partnereikkel, ami kiválthatja a transzlációs blokk feloldását. Ez esetben csak azok a riboszómák válnak ki a granulumból, amelyek a részlegesen már átírt naszcens fehérje partnert tartalmazzák. A folyamat végén az immár teljesen átírt fehérje, partneréhez kotranszlációsán kapcsolódva, elhagyhatja a riboszómát, magának a fázisszeparált kompartmentnek a megzavarása vagy megszűnése nélkül. Ilyen értelemben a fázisszeparált granulumban egy sejtmagon kívüli környezeti hatásra aktiválódó, sokféle válaszra képes entitásként működhet. Az ilyen összetett, az asszembliszómákhoz hasonló fázisszeparált kompartmentumok a környezeti hatásokra azonnal reagálni képesek, semmilyen további szignalizációt nem igénylő, robosztus, automatikusan működő, értelmező központként is felfoghatók. Az egyszerűbb felépítésű, csak egyazon komplex két különböző egymáshoz kapcsolódó alegységét tartalmazó asszembliszómák pedig megteremtik az elméleti lehetőségét a fehérjekomplex sztöchiometrikus módon történő kotranszlációs összeszerelődésének (1. ábra).

Egy bizonyos: a felvetődött lehetőségek kísérletes vizsgálata rengeteg érdekes felfedezést hozhat mindazoknak, akik kíváncsiak a fázisszeparációban részt vevő új szereplők azonosítására, a folyamat részleteinek és mechanizmusának



megismerésére és motiváltak ennek az újszerű, kevésbé ismert, de rendkívül sokoldalúan alkalmazható elméleti génexpressziós szabályozási lehetőségnek a részletesebb felderítésére.

### Köszönetnyilvánítás

Munkánk a GINOP-2.3.2-15-2016-00020 pályázat támogatásával készült. Köszönjük Dr. Bajusz Izabella lektori munkáját, és Dr. Vedelek Balázs kritikai észrevételeit a kézirattal kapcsolatban.

### Irodalomjegyzék

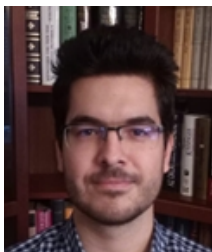
- [1] Yanofsky, C. (1981) Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature*, **289**: 751.
- [2] Harel-Sharvit, L., Eldad, N., Haimovich, G., Barkai, O., Duek, L. and Choder, M. (2010) RNA polymerase II subunits link transcription and mRNA decay to translation. *Cell*, **143**: 552–563.
- [3] Schulz, D., Pirkl, N., Lehmann, E. and Cramer, P. (2014) Rpb4 subunit functions mainly in mRNA synthesis by RNA polymerase II. *J Biol Chem*, **289**: 17446–17452.
- [4] Dori-Bachash, M., Shema, E. and Tirosh, I. (2011) Coupled evolution of transcription and mRNA degradation. *PLoS Biol*, **9**: e1001106.
- [5] Sun, M., Schwalb, B., Pirkl, N., Maier, K.C., Schenk, A., Failmezger, H., Tresch, A. and Cramer, P. (2013) Global analysis of eukaryotic mRNA degradation reveals Xrn1-dependent buffering of transcript levels. *Mol Cell*, **52**: 52–62.
- [6] Tucker, M., Valencia-Sanchez, M.A., Staples, R.R., Chen, J., Denis, C.L., et al. (2001) The transcription factor associated Ccr4 and Caf1 proteins are components of the major cytoplasmic mRNA deadenylase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell*, **104**: 377–386.
- [7] Wahle, E., Winkler, G.S. (2013) RNA decay machines: Deadenylation by the Ccr4-Not and Pan2-Pan3 complexes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1829**: 561–570.

- [8] Denis, C.L. (1984) Identification of new genes involved in the regulation of yeast alcohol dehydrogenase II. *Genetics*, **108**: 833-844.
- [9] Collart, M. A., Struhl, K. (1993). CDC39, an essential nuclear protein that negatively regulates transcription and differentially affects the constitutive and inducible HIS3 promoters. *EMBO J*, **12**: 177–186.
- [10] Collart, M. A., Struhl, K. (1994). NOT1(CDC39), NOT2(CDC36), NOT3, and NOT4 encode a global-negative regulator of transcription that differentially affects TATA-element utilization. *Genes Dev*, **8**: 525–537.
- [11] Villanyi, Z., Ribaud, V., Kassem, S., Panasenko, O. O., Pahi, Z., Gupta, I., Steinmetz, L., Boros, I., Collart, M. A. (2014). The Not5 subunit of the ccr4-not complex connects transcription and translation. *PLoS Genet*, **10**: e1004569.
- [12] Kassem, S., Villanyi, Z., Collart, M. A. (2017). Not5-dependent co-translational assembly of Ada2 and Spt20 is essential for functional integrity of SAGA. *Nucleic Acids Res*, **45**: 1186–1199.
- [13] Somesh, B. P., J. Reid, W. F. Liu, T. M. Sogaard, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, and J. Q. Svejstrup. (2005). Multiple mechanisms confining RNA polymerase II ubiquitylation to polymerases undergoing transcriptional arrest. *Cell*, **121**: 913-923.
- [14] Boulon, S., Pradet, B., Balade, C., Verheggen, D., Molle, S. Boireau, M., Georgieva, K., Azzag, M.C., Robert, Y., Ahmad, H., Neel, A.I., Lamond, E., Bertrand, E. (2010) HSP90 and its R2TP/Prefoldin-like cochaperone are involved in the cytoplasmic assembly of RNA polymerase II. *Mol Cell*, **39**: 912-924.
- [15] Gupta, I., Villanyi, Z., Kassem, S., Hughes, C., Panasenko, O. O., Steinmetz, L. M., Collart, M.A. (2016) Translational capacity of a cell is determined during transcription elongation via the Ccr4-not complex. *Cell Rep* **15**: 1782–1794.
- [16] Lotan, R., Goler Bar-On, V., Harel-Sharvit, L., Duek, L., Melamed, D., Choder, M. (2005) The RNA polymerase II subunit Rpb4p mediates decay of a specific class of mRNAs. *Genes & Dev* **19**: 3004–3016.

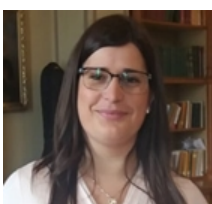
- [17] Collart, M.A. (2003) Global control of gene expression in yeast by the Ccr4-Not complex. *Gene* **313**: 1–16.
- [18] Collart, M.A., Panasenko, O.O. (2012) The Ccr4–not complex. *Gene* **492**: 42–53.
- [19] Miller, E., Reese, J.C. (2012) Ccr4-Not complex: the control freak of eukaryotic cells. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **47**: 315–333.
- [20] Panasenko, O.O., Somasekharan, S.P., Villanyi, Z., Zagatti, M., Bezrukov, F., Rashpa, R., Cornut, J., Iqbal, J., Longis, M., Carl, S.H., Peña, C., Panse, V.G., Collart, M.A. (2019) Co-translational assembly of proteasome subunits in NOT1-containing assemblyosomes. *Nat Struct Mol Biol*, **26**: 110–120.
- [21] Barrault, M. B. et al. (2012) Dual functions of the Hsm3 protein in chaperoning and scaffolding regulatory particle subunits during the proteasome assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, **109**: 1001–1010.
- [22] Fu, H., Reis, N., Lee, Y., Glickman, M. H. & Vierstra, R. D. (2001) Subunit interaction maps for the regulatory particle of the 26S proteasome and the COP9 signalosome. *EMBO J* **20**: 7096–7107.
- [23] Alberti, S. (2017) Phase separation in biology. *Curr Biol*, **27**: 1097–1102.
- [24] Posey, A.E., Holehouse, A.S., Pappu, R.V. (2018) Phase Separation of Intrinsically Disordered Proteins. *Methods Enzymol*, **611**:1–30.
- [25] Kriwacki, R.W., Hengst, L., Tennant, L., Reed, S.I. and Wright, P.E. (1996) Structural studies of p21Waf1/Cip1/Sdi1 in the free and Cdk2-bound state: conformational disorder mediates binding diversity. *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 11504–11509.
- [26] Dunker, A.K., Brown, C.J., Lawson, J.D., Iakoucheva, L.M. and Obradovic, Z. (2002) Intrinsic disorder and protein function. *Biochemistry*, **41**: 6573–6582.
- [27] Gsponer, J. and Babu, M.M. (2009) The rules of disorder or why disorder rules. *Prog Biophys Mol Biol*, **99**: 94–103.
- [28] Iakoucheva, L.M., Brown, C.J., Lawson, J.D., Obradović, Z., Dunker, A.K. (2002) Intrinsic disorder in cell-signaling and cancer-associated proteins. *J*

- Mol Biol*, **323**: 573-584.
- [29] Peng, K., Radivojac, P., Vucetic, S., Dunker, A.K. and Obradovic, Z. (2006) Length-dependent prediction of protein intrinsic disorder. *BMC Bioinformatics* **7**: 208.
- [30] Dosztányi, Z., Csizmók, V., Tompa, P. and Simon, I. (2005) The Pairwise Energy Content Estimated from Amino Acid Composition Discriminates between Folded and Intrinsically Unstructured Proteins. *J Mol Biol*, **347**: 827-839.
- [31] Ghoneim, D.H., Zhang, X., Brule, C.E., Mathews, D.H., Grayhack, E.J. (2018) Conservation of location of several specific inhibitory codon pairs in the *Saccharomyces sensu stricto* yeasts reveals translational selection. *Nucleic Acids Res*, **3**: 1164–1177.
- [32] Jiang, H., Wolgast, M., Beebe, L.M., Reese, J.C. (2019) Ccr4-Not maintains genomic integrity by controlling the ubiquitylation and degradation of arrested RNAPII. *Genes Dev*, Published in advance, doi: 10.1101/gad.322453.118.
- [33] Panasencko, O.O. (2014) The role of the E3 ligase Not4 in cotranslational quality control. *Front Genet* **5**: 141.
- [34] Dao, T.P., Kolaitis, R.M., Kim, H.J., O'Donovan, K., Martyniak, B., Colicino, E., Hehnlly, H., Taylor, J.P., Castañeda, C.A. (2018) Ubiquitin Modulates Liquid-Liquid Phase Separation of UBQLN2 via Disruption of Multivalent Interactions. *Mol Cell*, **69**: 965-978.
- [35] Panasencko, O.O., Collart, M.A. (2012) Presence of Not5 and ubiquitinated Rps7A in polysome fractions depends upon the Not4 E3 ligase. *Mol Microbiol*, **83**: 640–653.
- [36] Kroschwald, S., Maharana, S., Alberti S. (2017) Hexanediol: a chemical probe to investigate the material properties of membrane-less compartments. *Matters*, 10.19185/matters.201702000010
- [37] Fedyukina, D.V., Cavagnero, S. (2011) Protein folding at the exit tunnel. *Annu Rev Biophys*, **40**: 337–359.
- [38] Kelner, A. A. (1949) Photoreactivation of ultraviolet-irradiated *Escherichia*

Coli, with special reference to the dose-reduction principle and to ultraviolet induced mutation. *J Bacteriol*, **58**: 511-22.



**Györkei Ádám** 2011-ben az SZTE-n szerzett biológus diplomát. Ezzel egy időben kezdte meg bioinformatikusi munkáját az SZBK Evolúciós Rendszerbiológia Csoportjában, melyet azóta is végez Dr. Papp Balázs vezetése alatt. Kutatásainak középpontjában az evolúciós folyamatok állnak, melynek tükrében vizsgálta, többek között, az anyagcserehálózatok adaptív evolúcióját és az antibiotikum rezisztencia kialakulását. Jelenleg az *Escherichia coli* fehérje aggregációját befolyásoló tényezők felderítésén dolgozik.



**Szatmári Orsolya** az SZTE TTIK Biológia mesterszakán végzett 2016-ban. 2017 óta dolgozik az SZTE TTIK Biokémiai és Molekuláris Biológia tanszékén, Prof. Dr. Boros Imre Miklós kutatócsoportjában. Kutatásai középpontjában az egyes daganat típusokban bekövetkező génműködési változások állnak. Melanóma, emlőtumorok, hólyagdaganatok, vesedaganatok és leukémia vizsgálatával foglalkozik.



**Villányi Zoltán** 2004-ben a Szent István Egyetemen szerzett agrármérnök diplomát, szakdolgozatát Prof. Orosz László laboratóriumában készítette. 2008-ban az SZTE Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskolájában szerzett PhD fokozatot Prof. Szabad János tanítványaként. A Genfi Egyetem Orvostudományi Karán öt éves posztdoktori időszakot töltött 2011-től, amelyet két év adjunktusi munka követett Prof. Martine Anne Collart laboratóriumában. 2019-től az SZTE Biokémia és Molekuláris Biológia Tanszékén Prof. Boros Imre Miklós csoportjában dolgozik. Kutatásai a különböző génexpressziós lépések között fellépő szabályozó folyamatok felderítésére irányulnak.

## A SEJTVÁZ SZABÁLYOZÁS ÉS A MIOFIBRILLOGENEZIS VIZSGÁLATA AZ MTA SZBK GENETIKAI INTÉZETÉBEN

**Mihály József**  
**MTA SZBK, Genetikai Intézet**  
*mihaly.jozsef@brc.mta.hu*

Mihály József 1992-ben szerzett molekuláris biológus diplomát a szegedi József Attila Tudományegyetemen. Szakdolgozóként Szabad János laboratóriumában fertőződött meg a *Drosophila* fejlődésbiológia szeretetével és azóta is ezen a szakterületen dolgozik. PhD tanulmányait Svájcban, a Genfi Egyetem Genetika és Evolúció tanszékén végezte Dr. Francois Karch laboratóriumában, ahol a Bithorax-komplex működését tanulmányozta. Fokozatát 1998-ban kapta meg, majd az EMBO két éves posztdoktori ösztöndíjával 2000-ig az EMBL heidelbergi intézetében Dr. Marek Mlodzik laboratóriumában dolgozott, ahol a szöveti polarizálódás molekuláris mechanizmusait kezdte el vizsgálni. 2000 végén tért haza Magyarországra, nevelőintézetébe, az SZBK Genetikai Intézetébe, ahol 2003-tól önálló kutatócsoportot alapított. A csoport eredményeinek köszönhetően 2012-ben elnyerte az MTA Doktora címet. 2010 óta a Genetikai Intézet igazgatóhelyetteseként tevékenykedik. 2018-ban felkérték az OTKA Sejt és Fejlődésbiológiai paneljének vezetésére, 2019-ben pedig Magyarország EMBL Tanács delegáltja lett.

### **A kezdetek: találkozás a forminokkal**

Velünk kutatókkal gyakran megesik, hogy eredményeinket a lényegre törés és a didaktika jegyében a mellékvágányok részletezése nélkül foglaljuk össze, ami legtöbbször a történeti hűség feláldozásával is együtt jár. Én az alábbiakban mégis arra fogok törekedni, hogy amennyire lehetséges, a kronológiai sorrendet követve mutassam be, hogyan alakult ki egy kezdetben vakvágánynak tűnő kísérleti irányból egy számos izgalmas felfedezéshez vezető kutatási téma.

Kutatócsoportunk érdeklődési területe a sejtvezérlés szabályozás molekuláris mechanizmusainak a feltárása különböző fejlődésbiológiai kontextusokban, ecetmusli-

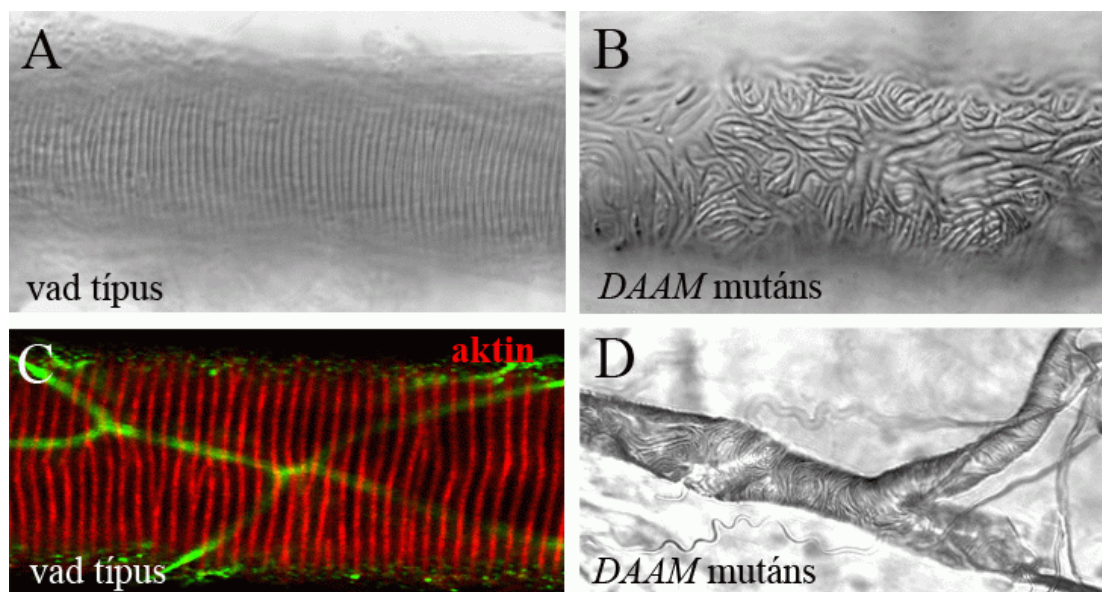
ca modellekben. A nagyszámú aktin és mikrotubulus (MT) szabályozó fehérje közül vizsgálatainkat elsősorban a formin fehérjék családjába tartozó aktin összeszerelő faktorokra fókuszáljuk, amelyek részt vesznek az MT sejtvázas szabályozásában is. Ennek a témának a gyökerei a 2000-es évek elejéig nyúlnak vissza, amikor posztdoktori kutatásaim folytatásaként a szövetek síkbeli polarizálódásáért (az angol rövidítés alapján PCP) felelős géneket akartunk azonosítani. Egyik jelöltünk a formin fehérjék családjába tartozó DAAM (Dishevelled Associated Activator of Morphogenesis) volt, amelyet a PCP jelátviteli rendszer egyik kulcsfehérjéje, a Dishevelled fehérje kötő partnereként írtak le emlős rendszerekben [1]. Meglepetésünkre és csalódottságunkra, a *Drosophila* DAAM ortológ genetikai vizsgálatával megállapítottuk, hogy ecetmuslicákban ez a formin nem vesz részt a szövetek síkbeli polarizálódásában. Mindemellett a DAAM mutánsok vizsgálata feltárta, hogy a gén egy életfontosságú fehérjét kódol, a zigotikus mutánsok a lárvális stádiumok során elpusztulnak. A DAAM mutáns lárvák vad típusú társaikhoz képest kicsik, soványak és szinte alig vánszorognak. Ezeknek a fenotípusoknak a legvalószínűbb magyarázata, és egyben történetünk szempontjából a legfontosabb megfigyelés az volt, hogy a mutáns lárváknak abnormális a trachearendszere [2]. A tracheaágak gyakran ellaposodtak, elzáródtak, megcsavarodtak, néhol összetöredezték, és nyilvánvalóan alkalmatlanok voltak a légzési funkció ellátására. Az igazi érdekességet és újdonságot azonban a trachea kutikula mintázata rejtette. A vad típus esetében a tracheacsövek belsejét olyan kutikula borítja, amely a cső hossz- tengelyére merőleges, egymással párhuzamosan, sűrűn elhelyezkedő bordákat, redőket tartalmaz (1. ábra). Ezzel szemközt a DAAM mutáns lárvák tracheájában a kutikuláris bordák lefutása sok helyen teljesen szabálytalanná válik, némely esetben szinte szurreális festményekre emlékeztető mintát mutat (1. ábra). Ennek a korábban ismeretlen fenotípusnak a megértése indított el bennünket egy hosszú utazásra a forminok és a sejtvázas szabályozás rejtelsei felé.

### **Az aktin alapú molekuláris gégecső elv felfedezése**

Vizsgálataink kezdetén a forminok elsősorban aktin sejtvázas szabályozó fehér-



jeként voltak ismertek, ezért a *DAAM* mutánsok trachea fenotípusának elemzése érdekében az aktin szerveződést vizsgáltuk meg először. Kísérleteink feltárták, hogy a *Drosophila* tracheacsövek sejtjeinek apikális felszíne alatt egymással párhuzamosan futó aktin kötegeket találunk, amelyek száma és lefutási iránya tökéletesen megegyezik a kutikula bordákéval (1. ábra). A *DAAM* mutánsokban jóval vékonyabb és rendezetlenebb aktin kötegeket figyelhetünk meg, amelyek mintáját ebben az esetben is követi a kutikula redők mintája [2]. Megfigyeléseink alapján azt a konklúziót vonhatjuk le, hogy a rovarok tracheacsöveiben egy olyan kortikális aktingyűrű rendszer alakul ki, ami a kutikula szekréció szabályozásán keresztül mechanikai stabilitást és állandó átmérőt biztosít a tubulus rendszerben, miközben a gégecső- (vagy porszívócső) szerű felépítés kellő flexibilitást is nyújt a hossz tengely mentén.



**1. ábra. *Drosophila* lárvális tracheák szerkezete.** A vad típusú tracheák (A) belső felszínét kutikula borítja, amelyen körkörös futó bordákat találunk. Ezzel szemközt a *DAAM* mutáns tracheák (B) kutikula mintája szabálytalanná válik és a trachea gyakran összelapul (D). Vad típus esetében a kutikula bordák mintájának megfelelő számú és lefutású apikális aktin kábeleket (C) láthatunk.

A fejlődő embrionális tracheákban az aktin gyűrűk távolsága kb. 500 nm, ezért ezeket konfokális mikroszkóppal is detektálni tudtuk. Munkánk publikálása után hét évvel, szuper-rezolúciós mikroszkópos módszerek segítségével felfedezték,



hogyan az idegsejtek nyúlványaiban, az axonokban és a dendritekben egyaránt, éppúgy kortikális aktingyűrűk találhatóak, mint a muslicák tracheacsöveiben [3, 4]. A neuronális aktingyűrűk periodicitása azonban csak 190 nm, ami jól magyarázza, hogy miért csak nanoszkópos módszerek segítségével lehetett őket felfedezni. Saját és más eredmények alapján a neuronális aktingyűrűk kialakulásában is szerepet játszanak a forminok, hiányukban szabálytalan átmérőjű és ellaposodó nyúlványok alakulnak ki. Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy a forminok vizsgálatával egy olyan általános mechanizmust tártunk fel, ami egy univerzálisan használható molekuláris megoldás hosszú, vékony átmérőjű tubuláris struktúrák állandó átmérőjének fenntartására a hossz tengely menti flexibilitás megőrzése mellett. Ez maga a gégecső elv, ami sejtes és szubcelluláris szinten is megvalósult az evolúció során, és ami biztosítani tudja, hogy ne töredezzon össze egy csúszó-mászó rovarlárva légcsőrendszere és ne töredezzenek össze az axonjaink a legkisebb mozdulatainkra, miközben a tubuláris struktúrák állandó átmérőjének fenntartása miatt zavartalanul folyhat bennük az anyagtranszport.

### **A forminok elősegítik az axon növekedést és a neuromuszkuláris junctionok kialakulását**

Miközben kezdetekben a DAAM tracheális funkciójának a megértésére fókuszáltunk, korán felismertük, hogy a fehérje erős felhalmozódást mutat a központi idegrendszer növekvő axonjaiban, beleértve az axonok disztális végeit, a növekedési kúpokat is. Ez indította el a mai napig is tartó neuronális sejtíváz vizsgálatainkat. Az axon növekedési kúpok aktin és MT sejtíváz elemekben egyaránt gazdag struktúrák. Jól ismert, hogy az axonok irányított növekedését az egyedfejlődés során a két citoskeletális rendszer koordinált változásai teszik lehetővé, de kutatásaink kezdetén nem ismertük a neuronális aktin összeszerelő faktorokat és keveset tudtunk az aktin-MT együttműködés részleteiről. Ezen a területen az első fontos felismerésünk az volt, hogy a kifejeződési mintával összhangban megállapítottuk, a *Drosophila* DAAM fehérje szükséges az axonok növekedéséhez az embrionális idegrendszerben [5]. Vizsgálataink arra utalnak,

hogyan ez a formin sejtes szinten elősegíti a növekedési kúpok perifériális részén képződő filopodiumok kialakulását. A filopodiumok dinamikus, aktin sejtvezeték alapú, ujjszerű kitüremkedések, amelyeknek kitüntetett szerepük van a környezetükből származó vonzó és taszító jelek érzékelésében, és így módon az axonok navigációjában. Eredményeink alapján először sikerült funkcióvesztéses, *in vivo* kísérletekkel azonosítani egy olyan aktin összeszerelő fehérjét, ami a filopodiális aktin kötegek kialakulásához járul hozzá. Később Dr. Andreas Prokop (University of Manchester) laboratóriumával együttműködve megállapítottuk, hogy a forminokon kívül, amelyek a filopodiumokban is található, nem-elágazó aktin filamentumok képződését teszik lehetővé, egy másik aktin nukleáló faktor, az Arp2/3 komplex is szükséges a filopodium képződéshez. Vizsgálataink feltárták, hogy az Arp2/3-tól függő lamellipodiális aktin háló támasztékul és templátul is szolgál a formin-függő, nem-elágazó filopodiális aktin kötegek kialakulásához, ami egy új filopodium képződési modell megalkotását tette lehetővé [6]. Bár kísérleteink kezdetben az embrionális idegsejtekre szorítkoztak, később megállapítottuk, hogy a DAAM fehérje a szöveti polaritási funkció túl axon navigációs rendszerként is működő, PCP jelátviteli rendszer sejtvezeték effektoraként működik a felnőtt agy több területén, így pl. a tanulási és memória folyamatokhoz köthető gombatest idegsejtekben [7] és a cirkadián ritmust szabályozó ún. ventrolaterális (LNV) neuronokban. Így módon ez a formin az axon növekedés általános faktorának tekinthető, ami a gerincesekben megfigyelhető kifejeződési mintája [8, 9] és funkcionális kísérletek alapján is evolúciósan konzervált funkció [10].

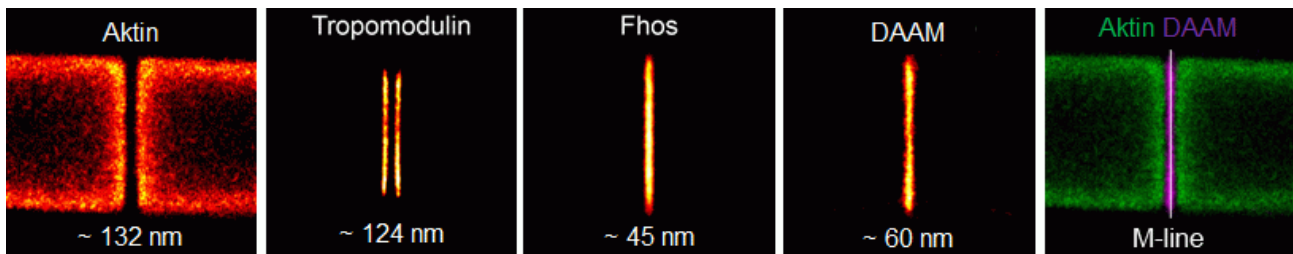
A DAAM fehérje axon növekedési kúpokban megfigyelhető lokalizációjának az alaposabb elemzése során észrevettük, hogy a fehérje gyakran nem, vagy nem csak az aktin filamentumok mentén halmozódik fel, hanem a mikrotubulusok mentén és azok növekvő végén is. Ez az alap megfigyelés irányította figyelmünket a formin-MT kölcsönhatások mélyebb elemzésére. Genetikai és sejtvezeték dinamikai kísérleteink alapján bizonyítottuk, hogy a DAAM képes a mikrotubulusokkal is kölcsönhatásba lépni, és a növekedési kúp sejtvezeték nem pusztán az

aktin átrendeződéseken, hanem az aktin-MT koordináción keresztül szabályozza [11]. Hipotézisünk szerint a forminok a MT-ok (+) végéhez kötődve kritikus szerepet játszanak az MT stabilizáció és a filopódiális aktin polimerizáció összehangolásában, ami az axon növekedés kulcslépése. A forminok MT regulációban betöltött szerepére további *in vivo* bizonyítékunk, hogy a DAAM mutáns lárvákban sérül a neuromuszkuláris véglemezek (NMJ) fejlődése, azokban a normálisnál kevesebb preszinaptikus bouton figyelhető meg és fragmentálódik az NMJ centrális MT kötege [12]. A formin-aktin kölcsönhatást szelektíven elrontó pontmutánsok vizsgálata alapján a DAAM aktin kötő képessége nem szükséges a megfelelő NMJ fejlődéshez. Összegzésképpen elmondható, hogy a forminok a neuronális sejtváz multifunkciós regulátorai. A forminok különböző idegi területeken, illetve különböző szubcelluláris kompartmentumokban különböző módon járulnak hozzá a citoskeleton szabályozáshoz: az axonokban aktin-specifikus szerepük van a kortikális aktingyűrűk kialakításával, az axon növekedési kúpokban az aktin-MT koordinációban vesznek részt, míg az NMJ-ben az MT stabilizációt segítik elő, az aktin-kötő képességüktől függetlenül.

### **A szarkomerikus vékony filamentumok összeszerelődése**

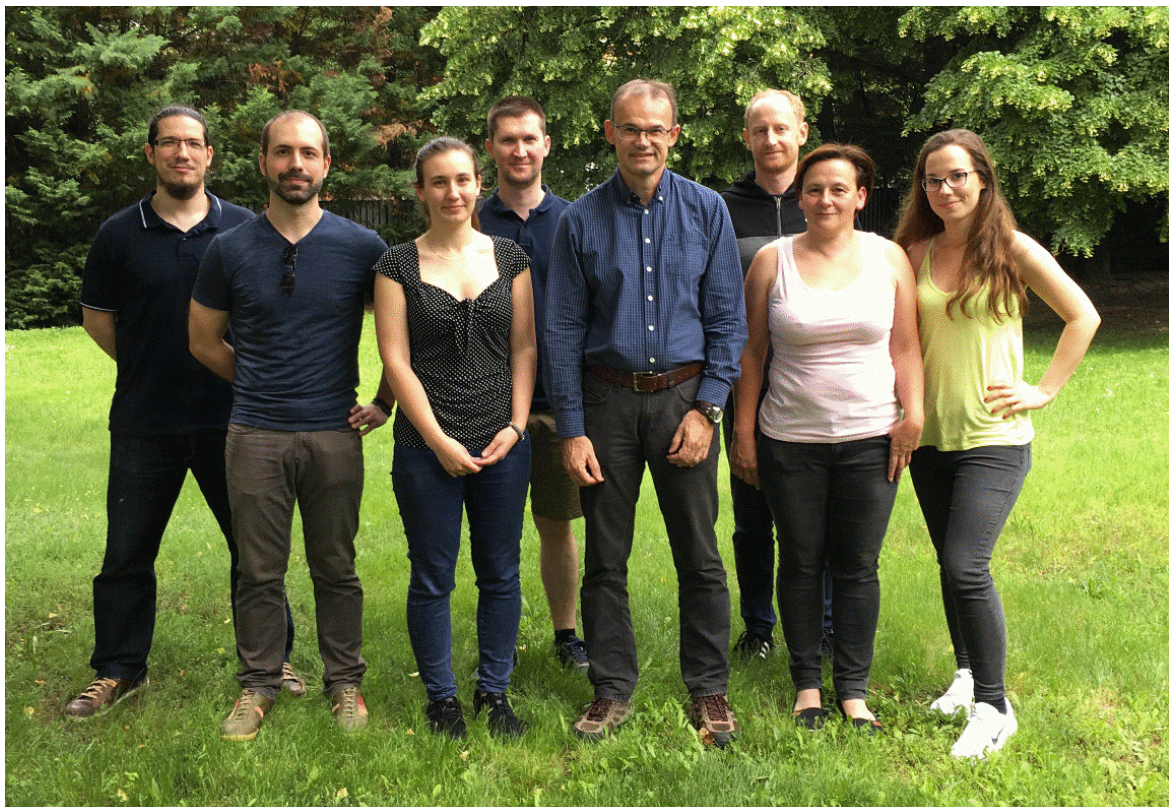
Másik kiemelt kutatási irányunk a miofibrillogenezis vizsgálata. Az előző években több kutatócsoport eredményei alapján világossá vált, hogy a forminok a fonalférgektől az emberrel bezárólag kitüntetett szerepet játszanak a szarkomerogenezisben [13-17]. Feladatuk valószínűleg komplex, de egyértelműen szükségesek az aktin alapú vékony filamentumok kialakulásához. Érdekes módon az egyébként aktin filamentum (+) vég kötő forminok az izomsejtekben a (-) vég közelében is felhalmozódnak [16-18]. A közelmúltban a rendkívül szabályos szarkomer szerkezettel rendelkező *Drosophila* indirekt repülőizmot modellrendszerül használva dSTORM szuper-rezolúciós mikroszkópos vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a DAAM és Fhos forminok az aktin (-) végektől 30-35 nm-rel távolabb helyezkednek el. Nanoszkópos rendszerünk erejét kihasználva összesen 27 izomfehérje szarkomerikus pozícióját határoztuk meg 5-10 nm-es pontossággal (2. ábra) (kézirát benyújtás előtt), ami lehetővé

tette, hogy új modellt javasoljunk a szarkomerek szerkezete és felépülése vonatkozásában, különös tekintettel az aktin (-) elongáció mechanizmusára. Ismereteink szerint ez egy páratlanul átfogó és mélységű szerkezeti analízis, ami remélhetően hosszútávon is fontos referenciaként fog szolgálni a területen.



**2. ábra. Egyedi miofibrillumok dSTORM analízise.** Az aktin filamentumok (-) végei az M-vonal két oldalán helyezkednek el, egymástól kb. 132 nm távolságban. Ezekhez a végekhez kötődik a (-) vég sapkázó Tropomodulin fehérje, míg a formin típusú Fhos és DAAM fehérjék egyértelműen távolabb lokalizálódnak, közvetlenül az M-vonal mentén.

### A csapat és az együttműködő partnerek



**3. ábra Az Aktin Sejtváz Szabályozási Csoport tagjai.** Balról jobbra: Farkas Dávid (PhD hallgató), Kaltenecker Péter (PhD hallgató), Tóth Krisztina (PhD hallgató), Dr. Földi István (tudományos munkatárs), Dr. Mihály József (csoportvezető, tudományos tanácsadó), Dr. Szikora Szilárd (tudományos munkatárs), Berente Anikó (asszisztens) és Stér Laura (asszisztens). Dr. Gombos Rita (tudományos munkatárs) és Gászó-Gerhát Gabriella (PhD hallgató) akadályoztatás miatt nem szerepel a képen.



Kutatócsoportom elindulását egy EMBO-HHMI Scientist pályázat elnyerése és a Genetikai Intézet támogatása tette lehetővé. A csoport magját néhány tehetséges fiatal kutató alkotta, Matusek Tamás, Pataki Csilla és Gombos Rita csatlakoztak hozzánk először, őket néhány évvel később Molnár Imre és Migh Ede követte, akik mindannyian nálunk szerezték meg a PhD fokozatukat. Fontos fordulópontot jelentett, hogy 2013-ban elnyertük a Nemzeti Agykutatási Program támogatását, ami lehetővé tette a csoport bővítését és stabil működtetését. Jelenleg három posztdoktor és öt PhD hallgató tevékenykedik a laboratóriumban két asszisztens és három szakdolgozó mellett (3. ábra).

Az elmúlt 16 évben számos külföldi és hazai együttműködő partnerünk volt, akik közül ki kell emelnem Dr. Nyitrai Miklós és Dr. Bugyi Beáta csoportját a Pécsi Tudományegyetemről, akikhez hosszú kapcsolat fűz bennünket az aktin dinamikai vizsgálatok kapcsán, és Dr. Erdélyi Miklós csoportját a Szegedi Tudományegyetem Optikai tanszékéről, akik nélkül a nanoszkópos eredményeink nem születhettek volna meg.

### Irodalomjegyzék

- [1] Habas, R., Kato, Y., He, X. (2001) Wnt/Frizzled activation of Rho regulates vertebrate gastrulation and requires a novel Formin homology protein Daam1. *Cell*, **107 (7)**: 843-54.
- [2] Matusek, T., Djiane, A., Jankovics, F., Brunner, D., Mlodzik, M., Mihaly, J. (2006) The Drosophila formin DAAM regulates the tracheal cuticle pattern through organizing the actin cytoskeleton. *Development*, **133 (5)**: 957-66.
- [3] D'Este, E., Kamin, D., Gottfert, F., El-Hady, A., Hell, S.W. (2015) STED Nanoscopy Reveals the Ubiquity of Subcortical Cytoskeleton Periodicity in Living Neurons. *Cell Rep*, **10 (8)**: 1246-1251.
- [4] Xu, K., Zhong, G.S., Zhuang, X.W. (2013) Actin, Spectrin, and Associated Proteins Form a Periodic Cytoskeletal Structure in Axons. *Science*, **339 (6118)**: 452-456.
- [5] Matusek, T., Gombos, R., Szecsenyi, A., Sanchez-Soriano, N., Czibula, A.,

- Pataki, C., Gedai, A., Prokop, A., Rasko, I., Mihaly, J. (2008) Formin proteins of the DAAM subfamily play a role during axon growth. *J Neurosci*, **28 (49)**: 13310-9.
- [6] Goncalves-Pimentel, C., Gombos, R., Mihaly, J., Sanchez-Soriano, N., Prokop, A. (2011) Dissecting regulatory networks of filopodia formation in a Drosophila growth cone model. *PLoS One*, **6 (3)**: e18340.
- [7] Gombos, R., Migh, E., Antal, O., Mukherjee, A., Jenny, A., Mihaly, J. (2015) The Formin DAAM Functions as Molecular Effector of the Planar Cell Polarity Pathway during Axonal Development in Drosophila. *J Neurosci*, **35 (28)**: 10154-67.
- [8] Kida, Y., Shiraishi, T., Ogura, T. (2004) Identification of chick and mouse Daam1 and Daam2 genes and their expression patterns in the central nervous system. *Brain Res Dev Brain Res*, **153 (1)**: 143-50.
- [9] Nakaya, M.A., Habas, R., Biris, K., Dunty, W.C., Jr., Kato, Y., He, X., Yamaguchi, T.P. (2004) Identification and comparative expression analyses of Daam genes in mouse and Xenopus. *Gene Expr Patterns*, **5 (1)**: 97-105.
- [10] Colombo, A., Palma, K., Armijo, L., Mione, M., Signore, I.A., Morales, C., Guerrero, N., Meynard, M.M., Perez, R., Suazo, J., Marcelain, K., Briones, L., Haartel, S., Wilson, S.W., Concha, M.L. (2013) Daam1a mediates asymmetric habenular morphogenesis by regulating dendritic and axonal outgrowth. *Development*, **140 (19)**: 3997-4007.
- [11] Szikora, S., Foldi, I., Toth, K., Migh, E., Vig, A., Bugyi, B., Maleth, J., Hegyi, P., Kaltenecker, P., Sanchez-Soriano, N., Mihaly, J. (2017) The formin DAAM is required for coordination of the actin and microtubule cytoskeleton in axonal growth cones. *J Cell Sci*, **130 (15)**: 2506-2519.
- [12] Migh, E., Gotz, T., Foldi, I., Szikora, S., Gombos, R., Darula, Z., Medzihradsky, K.F., Maleth, J., Hegyi, P., Sigrist, S., Mihaly, J. (2018) Microtubule organization in presynaptic boutons relies on the formin DAAM. *Development*, **145** : dev158519 doi: 10.1242/dev.158519.
- [13] Iskratsch, T., Lange, S., Dwyer, J., Kho, A.L., dos Remedios, C., Ehler, E. (2010) Formin follows function: a muscle-specific isoform of FHOD3 is

- regulated by CK2 phosphorylation and promotes myofibril maintenance. *J Cell Biol*, **191 (6)**: 1159-1172.
- [14] Li, D.Q., Hallett, M.A., Zhu, W.Q., Rubart, M., Liu, Y., Yang, Z.Y., Chen, H.Y., Haneline, L.S., Chan, R.J., Schwartz, R.J., Field, L.J., Atkinson, S.J., Shou, W.N.A. (2011) Dishevelled-associated activator of morphogenesis 1 (Daam1) is required for heart morphogenesis. *Development*, **138 (2)**: 303-315.
- [15] Mi-Mi, L., Votra, S., Kempfues, K., Bretscher, A., Pruyne, D. (2012) Z-line formins promote contractile lattice growth and maintenance in striated muscles of *C. elegans*. *J Cell Biol*, **198 (1)**: 87-102.
- [16] Molnar, I., Migh, E., Szikora, S., Kalmar, T., Vegh, A.G., Deak, F., Barko, S., Bugyi, B., Orfanos, Z., Kovacs, J., Juhasz, G., Varo, G., Nyitrai, M., Sparrow, J., Mihaly, J. (2014) DAAM Is Required for Thin Filament Formation and Sarcomerogenesis during Muscle Development in *Drosophila*. *Plos Genet*, **10 (2)**: e1004166.
- [17] Shwartz, A., Dhanyasi, N., Schejter, E.D., Shilo, B. (2016) The *Drosophila* formin Fhos is a primary mediator of sarcomeric thin-filament array assembly. *Elife*, **5**: e16540. DOI: 10.7554/eLife.16540.
- [18] Kan-o, M., Takeya, R., Taniguchi, K., Tanoue, Y., Tominaga, R., Sumimoto, H. (2012) Expression and subcellular localization of mammalian formin Fhod3 in the embryonic and adult heart. *PLoS One*, **7 (4)**: e34765.

*Sarkadi, B., Macintyre, J.D., Gardos, G. (1978)  
Kinetics of active calcium transport in inside-out  
red cell membrane vesicles. FEBS Lett., 89:78–82.  
(letöltés itt)*

## **A SPÄT-GÁRDOS-TOSTESON ISKOLA TANULSÁGAI**

***Sarkadi Balázs***  
***MTA TTK Enzimológiai Intézet***

A Biokémia c. folyóirat főszerkesztőjének felkérésére a fent idézett cikkünkről kellene írnom, amely 1978-ban jelent meg az aktív kalcium transzporter fehérje vizsgálatáról, kifordított vörösvérsejtmembrán vezikulákban. A közlemény az akkori viszonyok között magas idézettséget (több mint 60 hivatkozást) ért meg. A mostani írás fő célja mégis inkább a tudományos iskolák szerepének, folyamatos működésének hangsúlyozása e „vérzivataros” időkben, amelyeket éppen a Magyar Tudományos Akadémia intézetei élnek át.

1972-ben végeztem a Semmelweis Egyetemen, ahol már több éve, mint lelkes TDK-s dolgoztam Spät András laboratóriumában, az Élettani Intézetben. Ebben az egyetemi tudományos iskolában minden olyan alapvető dolgot meg lehetett (kellett) tanulni, ami a kutatói élet lényegét jelenti. Az izgalmas újdonságok keresése (munkaidő változatosan hajnaltól éjszakáig), a kísérletek pontos megtervezése és dokumentációja, együttes laborműveletek (kémcsőrázástól a mosogatásig), rendszeres beszámolók, a kudarcok és sikerek őszinte feltárása, készülés előadásokra (addig elpróbálva, ameddig kívülről nem tudtuk a teljes szöveget) jelentette mindennapjainkat. A Spät-labor belülről fantasztikus volt, de nem örvendett az Intézetben teljes népszerűségnek, így a megszületett cikkek ellenére nem volt rá esély, hogy ott kaphassak majd akár gyakornoki állást is. Ráadásul, abban az elsősorban endokrinológiai laborban, kicsit partizán módon, én a membránok működését szerettem volna vizsgálni. Megpróbáltam tehát a fellelhető, ilyen irányú hazai kutatólaborokban házalni, így jutottam el az Országos Vérellátó Szolgálatban Gárdos György „Sejtanyagcsere” osztályáig.



Gárdos „tanár úr” (akkor már professzor volt, de mindenki így szólította) barátságosan fogadott, de kicsit gyanakodva kérdezgette, hogy orvos létemre miért akarok mindenképpen kutató lenni. Végül abban állapodtunk meg, hogy ha vállalom az osztályon a betegdiagnosztikai és izotópfelelősi munkát is, akkor egy GYES-en lévő kolléganő helyetteseként felvételt nyerhetek. Szerencsémre a kolléganő hat gyermeket szült, így több mint egy évtizedig megújuló helyettesi státuszban maradhattam, elvégezve a kívánt orvosi feladatokat. Természetesen azért szabad volt kísérletezmem is, ez a lehetőség a vörösvérsejtek membránjával és funkcióival kapcsolatban nyílt meg. Az ion-transzport mechanizmusok és a kalcium ionok szerepének vizsgálata lett az a központi téma, amely azután évtizedekig megmaradt számomra nagy szerelemnek. Ugyanakkor Gárdos tanár úr, furcsa módon – Spät Andrással szöges ellentétben – nem akart irányítani, csak éppen korlátokat szabott a labormunka rendszerességével, korrektségével, dokumentációjával, a jegyzőkönyvvel és az edények tisztaságával kapcsolatban. A pipettával a kézben, a folyosón való rohangálás nagyobb bűn volt, mint bármilyen valószínűtlen biológiai téveszme terjesztése és kísérletes próbálgatása.

Az Országos Vérellátó Szolgálat (később Országos Haematológiai Intézet, majd Országos Haematológiai és Immunológiai Intézet) akkoriban az ország egyik legkitűnőbb hematológiai és immunológiai kutatóhelye volt. Sok kiváló kutató dolgozott itt, pl. Gergely János immunológus, vagy Gerendás Mihály és Elődi Zsuzsa, a véralvadás mechanizmusának remek kutatói, de itt működött Petrányi György celluláris immunológiai részlege is. Valamennyiünk főnöke a mindennel foglalkozó, egyszerre kiemelkedő (ugyan vitatott elismertségű) klinikus és kutató, a fantasztikus memóriájú, de veszélyesen autokrata igazgató, Hollán Zsuzsa volt. A tudomány és az egész intézet védelmét az ő politikai beágyazottsága biztosította (MSZMP Központi Bizottsági tag volt), ezért a kutatórészlegek vezetőinek már nem kellett politikai hitvallást tenni. Hollán Zsuzsa az egész világ kutatóival és intézeteivel kitűnő kapcsolatokat ápolt, így rengeteg ötlete volt, és nem nagyon lehetett ellentmondani neki. Gárdos tanár

úr az Osztály védelmét a szigorúan zárva tartott folyosói ajtókkal (IZOTÓP!!!) igyekezett biztosítani, az átviharzó igazgatónő vagy vendégeinek ötleteire barátságos hümmögéssel reagált, és tapintatosan megpróbált ezekből kimaradni.

A visszahúzódó, békés és mindig mindenkivel barátságos Gárdos tanár úrról csak évek múltával derült ki számomra, hogy az egész világon elismert, zseniális kutató, eredeti cikkei korszakos áttöréseket jelentettek. Mint a Szent-Györgyi- és Straub-iskola hazai kiválósága, önálló és öntörvényű tagja és folytatója, Magyarországon is széles körben elismert volt, bár a Tudományos Akadémia tagja soha nem lett. Ő készített Straub F. Brunóval még az 1950-es években először ún. vörösvérsejt „ghost”-okat, hemoglobin-mentes sejteket, amelyeket ráadásul sikerült visszazárni, azaz a membrán épségét helyreállítani [1]. Ezeket a ghost-okat felhasználva ő írta le először a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pumpa ATP-függő működését [2], majd egy másik kísérletsorozat nyomán a vörösvérsejtek kalcium-függő káliumtranszportját [3, 4]. Ezt a transzportot, amelynek ma már pontosan ismert a molekuláris háttere (a KCNN4 nevű káliumcsatorna) ma is széles körben Gárdos-effektusnak vagy Gárdos-csatornának nevezik (lásd [5]). Ráadásul Gárdos az összes, biológiai membránokkal kapcsolatos cikk különlenyomatát elkérte (neki el is küldték), és hatalmas, pontosan katalogizált gyűjteményében tárolta. Az én (szerintem izgalmas) kutatási javaslataimat általában mérsékelt lelkesedéssel fogadta, majd elővette mindazokat a cikkeket, amelyekben ezekkel kapcsolatban általában már az eredményeket is megírták.

A magyar membránbiológiai kutatások éppen az 1970-es évek elején éledtek. Ekkor szerveződött az első sümegi Membrán-Transzport konferencia, 1974-ben pedig, a budapesti FEBS kongresszuson, már kifejezetten ilyen szekció is megrendezésre került. Gárdos György természetesen minden szervezőbizottság tagja volt, de maga helyett inkább az Osztályon működő fiatalokat delegálta a szereplésekre. Így nyüzsögve keveredtem az akkori nemzetközi membránkutató nagyságok (Ernesto Carafoli, Daniel Tosteson, Joseph Hoffman, Ian Glynn,

Herrmann Passow vagy Jens Skou) beszélgetéseinek közepébe.

Persze hamar rájöttem, hogy angolul inkább csak olvasni, mint beszélni tudok (bár a FEBS-en már kisebb előadást is tartottam), és feltűnt, hogy milyen tisztelettel követik Gárdos tanár úr munkásságát. Így történhetett meg, hogy Daniel Tosteson – a hírneves Duke University professzora és rektora – Gárdos tanár úr javaslatára meghívott vendégkutatónak. 1975-ben ez először nem látszott valós lehetőségnek, de szerencsémre az „enyhülés” légköre és Hollán Zsuzsa hathatós támogatása (személyesen beszélt a belügyminiszterrel családunk útlevele ügyében) nyomán végül is feleségemmel és akkor kétéves kislányunkkal együtt elindulhattunk a nagy útra. Kisebb zavart okozott, hogy Tosteson közben elfogadta a University of Chicago rektori címét, így Észak-Karolina helyett már Chicagóba repültünk.

A kalandos utazást, zaklatott chicagói beilleszkedésünket és egyéves ottani életünk történetét feleségem, Kálmán Zsófia nagy sikert megért útikönyvében (Levélcímünk Chicago...) sokkal jobban megírta, mint arra képes lennék, de szakmailag is hatalmas volt a kihívás. Míg itthon a többnyire korszerűtlen műszereink, felszereléseink javát magunk bütyköltük, és az évente egyszer megrendelhető vegyszereket és reagenseket is „klasszikus” (néha kőkorszaki) módszerekkel állítottuk elő, az amerikai nagyegyetem Élettani Intézete és a Tosteson labor felszereltsége és működése – megrendelések beérkezése másnap, műszerek szervize órákon belül – lenyűgözött. Ám a legmeglepőbb az állandó szakmai kommunikáció, a szinte mindennapos előadások és megbeszélések, a telefonkapcsolatok intenzitása volt. No meg, hogy az egyetemen szinte minden szakmai problémának volt nemzetközi szintű szakértője. Csak – Dan Tostesonra hivatkozva – meg kellett keresni. Általában szívesen segítettek, akár módszerek, reagensek átadásával is. Így láthattam közelről a mesterséges lipid membránokban az ionofórok és transzport-fehérjék beillesztési vizsgálatait, az új atomabszorpciós mérési lehetőségeket, vagy az akkor kialakuló sejtkultúra vizsgálatokat. Én a Na-függő Li transzport kutatásába

vetettem bele magam, amely mögött Tosteson klinikai jelentőségű új felfedezéseket sejtett. Tosteson, mint az egyetem rektora szinte elérhetetlen volt a szakmai megbeszélésekre, ezekre általában csak szombat vagy vasárnap délelőtt nyílt lehetőség, de benne fantasztikus diplomatát és a tudományban széles látó embert ismertem meg. Ezekből a munkákból is születtek érdekes cikkek [6], de a szívem persze a kalcium transzport irányába húzott.

A szomszéd épületben, a Biokémiai Intézetben dolgozott Ted Steck vezetésével az a csapat, amelyik ugyancsak a membránbiológia rejtelseit kutatta, és 1970-ben a Science-ben írta le [5] azt a lehetőséget, hogy vörösvérsejtekből olyan membránvezikulák készíthetők, amelyek akár az eredeti, akár fordított irányultsággal is visszazárhatók, azaz „inside-out” vezikulák (IOV<sub>k</sub>) készíthetők. Természetesen már korábban is ismertem ezt a cikket, de a módszert első kézből itt tanulhattam meg. Ugyanekkor került a laboratóriumunkba egy fiatal skót hallgató, John Macintyre, akivel elkezdtünk ezeken a kifordított membránvezikulákon kalcium transzportot vizsgálni. A munkát megszakította, hogy Tosteson ismét munkahelyet váltott: meghívást kapott a Harvard Orvosegyetem rektori székére, amelyet el is fogadott. Így nekünk is költözni kellett. Immár a Harvard Egyetem Élettani Intézetében dolgozhattam, amely talán még a Chicagói Egyetemenél is intenzívebb, érdekesebb kutatói életet jelentett. Viszont az egy év leteltével az amerikai tartózkodásunkat hosszabbítani nem lehetett, és döntenünk kellett: vagy „disszidensek” leszünk és ezzel otthoni családunknak és minden támogatóknak súlyos gondokat okozunk, vagy utazunk haza. Mi az utóbbit választottuk.

Mikor visszatértem Budapestre, a Gárdos laboratórium otthonos világában fejeztük be azokat a munkákat, amelyek szépen igazolták, hogy az IOV<sub>k</sub> ATP jelenlétében aktív kalcium felvételre képesek, azaz az eredetileg a kalcium ionokat kifelé transzportáló pumpa most megfordítva működik. A módszereket és az eszközök jelentős részét is (ezeket bőröndömbe rejtve) hazahoztam, a munka nagyobb része végül is itthon készült el. Akkor még nem volt arra sok

példa, hogy külföldre küldhessünk cikkeket, a megjelenésben Straub F. Brunó, a FEBS Letters akkori szerkesztője is segített. Érdekes módon az 1978-ban megjelent cikkel egy időben az is kiderült, hogy az aktív kalcium transzportot a citoplazmában jelenlévő hőstabil fehérje – amely később nagy karriert futott be és a kalmodulin nevet kapta – jelentősen fokozza [8]. Enyedi Ágnessel együtt, a Gárdos laborban azután még több évig eredményesen kutattuk az aktív kalcium transzporter működését [9, 10]. Talán érdekes adalék, hogy Magyarországon az 1970-es években, de még az 1980-as évek elején is erősen tartotta magát az az iskola, amely a membránokat nem tekintette valódi működő szerkezeteknek és az iontranszport-folyamatok helyett a citoplazmikus kötődéseket vélte elsődlegesnek. Természetesen, többek között a kifordított membránvezikulák ATP-függő transzportja ezt a magyarázatot lehetetlenné tette, éppen ezért számos fórumon komoly támadások érték a munkáinkat.

Jelen rövid cikk mondanivalója talán abban foglalható össze, hogy a tudományos iskolák szerepe a kutatásban alapvető, és ha sikerül egy vagy több ilyen iskolát „kijárni”, akkor egy új világ nyílik meg a kezdő kutató előtt. Remélem, hogy a „Ne bántsd az Akadémiát” jelszó még e cikk megjelenésekor is érvényes lesz, és nem voluntarista politikusok fogják kijelölni, hogyan és mit is kutassunk.

### **Irodalomjegyzék**

- [1] Gardos, G. (1954) Accumulation of potassium ions by human blood corpuscles]. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, **6(2-3)**: 191-9. German.
- [2] Gardos, G., Straub, F.B. (1957) The role of adenosine-triphosphoric acid (ATP) in the potassium permeability of human erythrocytes. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, **12(1-3)**: 1-8. German.
- [3] Gárdos, G. (1964) Connection between membrane adenosine triphosphatase activity and potassium transport in erythrocyte ghosts. *Experientia*, **20(7)**: 387.
- [4] Gardos, G. (1958) The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, **30(3)**: 653-4.

- [5] Rapetti-Mauss, R., Picard, V., Guitton, C., Ghazal, K., Proulle, V., Badens, C., Soriani, O., Garçon, L., Guizouarn, H. (2017) Red blood cell Gardos channel (KCNN4): the essential determinant of erythrocyte dehydration in hereditary xerocytosis. *Haematologica*, **102(10)**: e415–e418.
- [6] Sarkadi, B., Alifimoff, J.K., Gunn, R.B., Tosteson, D.C. (1978) Kinetics and stoichiometry of Na-dependent Li transport in human red blood cells. *J Gen Physiol*, **72(2)**: 249-65.
- [7] Steck, T.L., Weinstein, R.S., Straus, J.H., Wallach, D.F. (1970) Inside-out red cell membrane vesicles: preparation and purification. *Science*, **168(3928)**: 255-7.
- [8] Sarkadi, B. (1980) Active calcium transport in human red cells. *Biochim Biophys Acta*, **604(2)**: 159-90. Review.
- [9] Sarkadi, B., Enyedi, A., Nyers, A., Gárdos, G. (1982) The function and regulation of the calcium pump in the erythrocyte membrane. *Ann N Y Acad Sci*, **402**: 329-48.
- [10] Enyedi, A., Sarkadi, B., Gárdos, G. (1982) On the substrate specificity of the red cell calcium pump. *Biochim Biophys Acta*, **687(1)**: 109-12.



**Sarkadi Balázs** az MTA TTK Enzimológiai Intézetének professzor emeritusa. Orvosi diplomáját a Semmelweis Orvostudományi Egyetemen 1972-ben szerezte, 1980-ban a biol. tud. kandidátusa, 1986-ban a biol. tud. doktora, 1995-ben a SE habilitált egyetemi tanára lett. 2004-ben az MTA levelező tagjává, 2010-ben rendes tagjává választotta. 1974-2014 között az Országos Haematológiai, Vértranszfúziós és Immunológiai Intézet kutatója, 1976-77 között posztdoktor a University of Chicago, Dept. Physiology, USA, 1982-84 között visiting associate professor a Hospital for Sick Children, Dept. Cell Biology, Toronto, Kanada, 1990-92 között visiting professor a University of North Carolina at Chapel Hill intézetekben. 2000-2001 között Fulbright ösztöndíjas a University of North Carolina at Chapel Hill kutatóközpontjában. 2007-2018 között kutató professzor az SE Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében. Tagja a Magyar Élettani Társaságnak, az MBKE-nek (alelnök, majd a felügyelő bizottság elnöke), az American Society of Biochemistry and Molecular Biology, az American Physiological Society és az American Association of Cancer Research társaságoknak, alelnöke az International Cell Research Organization-nak és az International Transmembrane Transporter Society (ITTS)-nek. MTA kutatási díjat kapott 1982-ben és 1986-ban, Tankó Béla díjat 1995-ben, Széchenyi Professzori Ösztöndíjat 1997-ben, Akadémiai Díjat 2003-ban, Gábor Dénes Díjat 2006-ban, Ipolyi Arnold Díjat 2010-ben. Tagja az Academia Europaea-nak, alelnöke, majd elnöke volt a FEBS-nek. Számos könyvet és folyóiratot szerkesztett, több nemzetközi konferenciát szervezett, pályázatokon jelentős hazai és nemzetközi kutatási támogatásokat nyert el. Több nemzetközi konferencián tartott plenáris, ill. szimpózium előadásokat. 28 hallgató ért el témavezetésével PhD fokozatot, elnöke volt az OTKA Élettudományi Kollégium Molekuláris Biológiai



*Bizottságának, az Egészségügyi Tudományos Tanács (ETT) számára rendszeres bíráló, az ETT Humán Reprodukciós Bizottságának alelnöke, az EMMI és az OGYÉI megbízásából magyar delegált az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) Fejlett Terápiás Bizottságában (CAT). Fő kutatási területe a biológiai membránok szerkezete és működése, a szervezet védelmében fontos szerepet játszó ún. ABC transzporterek vizsgálata. Az elmúlt években elsősorban az emberi őssejtek membránfehérjéivel, az őssejtek gyógyító felhasználásának kutatásával foglalkozik. Munkatársaival Magyarországon elsőként hoztak létre a humán embrionális őssejtek és az indukált pluripotens őssejtek tenyésztésével és sejtbiológiai vizsgálatával foglalkozó laboratóriumot, új módszereket dolgoztak ki az őssejtek nem-vírusos, stabil genetikai módosítására, valamint a szöveti differenciálódás nem-invazív követésére. Közleményeinek száma több mint 300, hivatkozásainak száma 13,700, h-indexe 63.*

**MOLEKULÁRIS ÉLETTUDOMÁNYI KONFERENCIA 2019**

Az idei év március 29. és 31. között került megrendezésre a Molekuláris Élettudományi Konferencia (Hungarian Molecular Life Sciences 2019). Az immáron sorozattá váló konferencia negyedik alkalommal is a Magyar Biokémiai Egyesület és a Magyar Genetikai Egyesület együttműködése által jöhetett létre. A helyszín a már hagyományosnak mondható, egeri Hotel Eger-Park volt, mely szokásához híven igényes körülmények között várta a rekordszámú résztvevőt. *Mihály József* (MTA SZBK) nyitóbeszédében kiemelte, hogy a résztvevő országok (12) és a kiállított poszterek (225) száma is minden korábbi csúcst megdöntött.

A szervezők a plenáris előadások megfelelő kiválasztásával ezúttal is magasra tették a tudományos mércét. Ezek sorát *Haracska Lajos* (MTA SZBK) indította, aki riasztó számokat közölt az egyes szervek malignus elváltozásainak élethosszra-vetített kockázatáról. Megismerhettük azokat a molekuláris faktorokat – köztük elsősorban a DNS-károsodás toleranciájáért felelős rendszereket - , melyek működése vagy hiánya alapvetően befolyásolja e kockázat értékét. Következőként *Lénárt Péter* (Max Planck Intézet) mutatta be kutatásait az aktinnak az oocita erősen asszimmetrikus meiozisa során játszott szerepéről. Lélegzetelállító mikroszkópos filmekben láthattuk többek közt a sejtmagi burok alatti aktin-kéreg kialakulását vagy a fluoreszcens dextrán sejtmagi-beáramlását a burok lebomlásakor. A folytatásban *Pardi Norbert* (Pennsylvania Egyetem) tartott – szokásához híven - egy rendkívül impozáns előadást a módosított mRNS-ek terápiás alkalmazásának lehetőségeiről. Meggyőző példákkal mutatta be a lipid-nanopartikulumokkal bejuttatott mRNS-el véghezvitt HIV-vakcinációt, specifikus immunglobulin-pótlást vagy tumor-asszociált lymphoedema-terápiát kísérleti állatmodelleken. Negyedikként pedig *Csanády László* (MTA-SE Lendület Ioncsatorna Kutatócsoport) beszélt a cisztikus fibrózisban kulcsszerepet játszó anioncsatorna, a CFTR vizsgálatának legújabb eredményeiről. Egyszeres aminosav-cserén átesett CFTR molekulák patch-clamp vizsgálatával demonstrálta a

csatorna két ATP-kötő helyének eltérő funkcióját és magyarázatot szolgáltatott a leggyakoribb humán CFTR-mutáció okozta súlyos kapuzási defektusra is.

A plenáris sorozaton belül külön kiemelendő az a két előadás, amelyet a Tankó Béla díj két idei díjazottja tartott. Elsőként *Vígh László* (MTA SZBK) mutatta be azokat a kulcs-kísérleteket, melyek fényt derítettek a sejtmembrán rigiditásváltozás génextpressziót befolyásoló hatásaira. Mivel a „membrán-hőmérő” központi szerepet játszik a stresszfehérje-termelés szabályozásában, ezen útvonalak ismerete és modulációja - a stresszfehérje-szint finomhangolásával - új gyógyászati lehetőségeket ígér, melyekre összefoglalóan „lipid-terápia”-ként utalt. Másodikként *Erdődi Ferenc* (Debreceni Egyetem) mutatta be személyes és szakmai életútját, mely egy párszázfős kis faluból kiindulva a DE Orvosi Vegytani Intézet egyetemi tanári pozíciójáig vezetett. Kutatásának fő tárgyait, a szerin/treonin-specifikus foszfatázokat több példával bemutatva igazolta azok központi szerepét az intracelluláris jelátvitelben a jel-terjedés sebességének és a hatás időtartamának meghatározásában.

A kiváló előadások sorozata a „reguláris” szekciókban is folytatódott. Mivel azonban ezek két teremben párhuzamos zajlottak, a beszámoló e ponttól szükségszerűen részlegessé válik, tükrözve a szerző érdeklődését, szubjektív értékelését és nem utolsósorban beszédértési képességét. Az őssejt-szekció vezér-előadásán *Nagy András* (Lunenfeld-Tanenbaum Kutatóintézet és Torontói Egyetem) világított rá a sejtterápia biztonsági szintjének adekvát meghatározására, illetve a biztonsági szint emelésének egy elegáns módjára szuicid gének megfelelő használatával. Diabétesz, hormonhiányos állapotok, illetve véralvadási zavarok potenciális terápiás lehetőségeit is bemutatta egérmodellen, bőr alá ültetett transzgenikus teratóma-vonalak segítségével. A folytatásban *Oszvald Ádám* (Semmelweis Egyetem) mutatta be, hogy a fibroblaszt-eredetű extracelluláris vezikulomok – EGF tartalmuk révén – hogyan képesek modulálni az intesztinális őssejtek differenciálódását, és kísérletes rendszerben fenntartani az azokból létrejövő organoidokat.

A második nap kezdetén a növénybiológiai szekciót választóknak sem kellett csalódniuk: *Kozma-Bognár László* (MTA SZBK) például igen szemrevaló time-lapse videókkal bizonyította a kívülállók számára is, hogy milyen látványos ciklikus mozgásokra képesek a növények. Emellett azt is bemutatta, hogyan szabályozza egy ubikvitin-proteáz a cirkádián ritmust egyes óra-fehérjék stabilitásának modulációjával. *Szabados László* (MTA SZBK) vezetésével végigjárhatunk egy olyan központi szabályozófehérje felfedezésének útját, mely a növények sóstresszben történő prolin-akkumulációját fényfüggő folyamattá teszi. *Faragó Dóra* (MTA SZBK) egy cDNS könyvtár szűrésével felfedezett fehérjét ismertetett, mely túltermelése paraquat-nak, és nem mellesleg szárazságnak is ellenállóvá képes tenni a gazdanövényt. Végül *Murvai Nikolett* (MTA TTK) ismertetett egy rendezetlen *Arabidopsis*-fehérjét, amely *Escherichia coli*-ban expresszálva az utóbbi sejtet is képes volt megvédeni a hő-stressztől. E fehérje szerkezetét *in vivo* és *in vitro* végzett NMR-ekkel vizsgálva sikerült igazolni a rendezetlen szerkezet és a védő hatás között fennálló kapcsolatot.

Az epigenetika és génexpresszió-szabályozás szekciója vezető előadásában *Ivics Zoltán* (Paul Ehrlich Intézet) hasonlította össze a Sleeping Beauty és a Piggyback transzpozonok, valamint virális vektorok target-szelektivitását. Megtudhattuk, hogy e szelektivitás nincs kőbe vésve, a Sleeping Beauty esetén például egy exonokat részlegesen elkerülő mutáns variánst izoláltak, mellyel pl. a T sejtek kiméra antigén receptorokkal való genetikai módosítása még biztonságosabbá tehető. Következőként *Jankovics Ferenc* (MTA SZBK) ismertette a piRNS-ek géncsendesítő funkcióját *Drosophila*-ban, majd bemutatta az újonnan felfedezett Sov fehérje hasonló rendeltetését. A folytatásban *Székvölgyi Lóránt* (MTA-DE Lendület Genom Architektúra és Rekombináció Kutatócsoport) magyarázta el, hogy a genomban található RNS-DNS hibrid szakaszok (R-hurkok) lehetnek hasznos és káros szereplői is a genom-integritásnak. Hogy melyik, az az R-hurok-kötő fehérjéken múlik, melyek expressziós szintje pozitív, illetve negatív korrelációt is mutathat egyes tumorfajták prognózisával, illetve kemo-terápiára való érzékenységgel. Utána pedig *Villányi Zoltán* (Genfi Egyetem és

SZTE) nyújtott betekintést az eukarióta gének transzkripciója és translációja közötti kétirányú kapcsolatra, illetve az őket összekötő központi regulátor, a CCR4-Not komplex sokrétű szerepére.

A genom-manipuláció és archeogenetika hibrid-szekcióban többek közt *Daraba Andrea* (MTA SZBK) ismertette kísérleti megfigyeléseit élesztő haploinsufficiens mutánsai kapcsán. Bemutatta, hogy laboratóriumi evolúció során az ilyen mutációk okozta rátermettség-csökkenés csaknem felét képes az élesztő kompenzálni, azonban a kompenzáló mutációk sokszor egyéb környezetekben hatnak hátrányosan a sejt életképességére. *Kulcsár Péter István* (MTA TTK, MTA SZBK és SZTE) olyan Cas enzim-variánsok kifejlesztéséről számolt be, melyek egy extra 5' guanozint tartalmazó sgRNS-el is hatékony komplexet képesek képezni. Ezek az ún. Blackjack mutánsok így az eukariótákban gyakran használt promotóterekről átírt sgRNS-ekkel is könnyen használhatókká válnak. *Szeifert Bea* (ELTE és MTA Humán Tudományok Kutatóháza) pedig VI-XII. századi, a mai Oroszország területén található ősmagyar sírokból nyert mitokondriális DNS-t célkeresztbe helyező vizsgálatait prezentálta. Megállapítása szerint a kor magyar törzseinél erősebb közép- és kelet-ázsiai kötődés mutatható ki, mint azt eddig gondolták.

A harmadik napon a DNS-hibajavítás és karcinogenezis témakörben *Bálint Éva* (MTA SZBK) lepte meg a hallgatóságot azzal a megfigyelésével, hogy a DNS polimeráz-éta ribonukleotidokat is képes DNS templáttal szemben beépíteni. Az ilyen jellegű polimeráz aktivitás mangán-ionok jelenlétében hatékonyabb és nagyobb pontosságú is, mint az enzim DNS-polimeráz aktivitása. *Harami Gábor* (MTA-ELTE Lendület Motor Enzimológiai Kutatócsoport) a bakteriális RecQ helikáz homológ rekombináció során betöltött minőségbiztosító szerepéről számolt be. Méréseik szerint a helikáz sokkal gyorsabban szétválasztja a gyengébben kölcsönható DNS-szálakat, mely mechanisztikus magyarázatot szolgáltat a RecQ részleges homológiák közötti illegitim rekombinációt akadályozó funkciójára. *Szikriszt Bernadett* (MTA TTK) előadásában a különböző platinatartalmú kemo-

terapeutikumok hatásmechanizmusát, mellékhatásait és mutációs spektrumát hasonlította össze. Kísérleteikben a BRCA1 és 2 mutáns sejtvonalakban a ciszplatin jóval magasabb mutációs rátát okozott mint izogénikus megfelelőikben. Ezzel párhuzamosan a rendszerbiológia és bioinformatika szekcióban *Hajdu-Soltész Borbála* (MTA-ELTE Lendület Bioinformatikai Csoport) tumorok driver-mutációinak azonosítási lehetőségeit prezentálta, a különböző mutagén ágensek jellemző mutáció-mintázataira támaszkodva. *Kalmár Lajos* (Cambridge Egyetem) a háziállatok béltraktusában található bakteriális flóra metagenomikai analízisét mutatta be, mely során számos új antibiotikum-rezisztencia plazmidot azonosított. Egy innovatív eljárás alkalmazásával az episzómális rezisztencia-géneket is képes volt azok gazda baktérium-törzseihez sorolni, ezzel lehetővé téve potenciális horizontális géntranszfer-események nyomkövetését.

A konferencia egyik zárószekciója a tömeg-spektrometria molekuláris biológiai alkalmazásait taglalta, biológusok számára is jól érthető és értékelhető módon. Két előadó is beszámolt a fehérje-glikoziláció változás tumor-sejtekben történő vizsgálatáról: *Sugár Simon* (MTA TTK és Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem) az N-glikozilációt, *Medzihradzky Katalin* (MTA SZBK) pedig a technikailag trükkösebb O-glikozilációt detektáló tömeg-spektrometriai eljárásokról beszélt. *Csősz Éva* (Debreceni Egyetem) trabekulektómián átesett szemészeti betegek könnymintáit elemezve keresett bizonyos műtéti szövődmények előrejelzésére alkalmas fehérje-komponenseket. Egy különösen érzékeny és szelektív módszerrel, a proximitás-extenziós esszével több komponensről is kimutatta azok mennyiségi korrelációját egyes hosszútávú szövődmények bekövetkeztével. A neurológiai betegségmodellek transzkriptomikai és tömeg-spektrometriai vizsgálatáról szóló előadásán *Juhász Gábor* (ELTE) beszélt többek közt az amiloid-béta akkumuláció során megfigyelhető mitokondriális proteom változásokról. Megtudhattuk, hogy ezek az Alzheimer-kór korai patogenezisében kulcstényezők lehetnek, vizsgálatukhoz azonban az egysejt-proteomikában, illetve a dinamikus képet adó vizsgálatok terén még



további technikai fejlesztések szükségesek.

A felsorolt szekciókkal párhuzamosan a hírek szerint kitűnő előadások hangzottak el a sejt-differenciáció és jelátvitel, a fejlődésgenetika, a fehérje struktúra és funkció, a patobiokémia, illetve az autofágia és intracelluláris transzport tématerületeinek szentelt szekciókban is, az emberi jelenlét korlátai miatt azonban a szerző ezekből most nem szemezgethet.

Óriási népszerűségnek örvendett a poszter szekció: a fiatal és örök-fiatal résztvevők éjszakába nyúlóan hallgatták egymás magyarázatait, elképzeléseit és javaslatait a legváltozatosabb tudományos témákban. A jéghegy csúcsaként hadd álljon itt a tudományos szervezőbizottság által díjazott kiváló poszterek prezentáló szerzőinek névsora:

*1. díj:*

*Rosevalentine Bosire, Debreceni Egyetem,  
Hamar Renáta, ELTE*

*2. díj:*

*Kovács Tamás, Semmelweis Egyetem,  
Kállai Brigitta, Semmelweis Egyetem*

*3. díj:*

*Fóthi Ábel, MTA TTK  
Henn László, MTA SZBK*

Mindannyiuknak gratulálok!

A konferenciát szervező és lebonyolító cég idén is a Diamond Congress Kft. volt, mely ezúttal is a korábbi években megszokott elsőrangú minőséget nyújtotta. Egyetlen kényelmetlenség, melyet több résztvevő is szóvá tett, a poszterek számára biztosított hely szűkössége volt. A tudományos fórum növekvő népszerűsége és látogatottsága ezen a területen várhatóan új megoldásokra fogja sarkallni a professzionális szervezői csapatot.

A végső szó természetesen a köszöneté: minden magyar molekuláris-biológus nevében hálás vagyok a szervezőknek, hogy időt és energiát nem kímélve idén

is ilyen magas színvonalú konferenciával lepték meg a résztvevőket. Két év múlva hasonló folytatást remélek, kívánok!

**Fehér Tamás**  
**tudományos tanácsadó**  
**MTA SZBK, Biokémiai Intézet**

*A konferencián készült fotók megtekinthetők: <http://2019.hunlifesci.hu/galeria/>*

**BESZÁMOLÓ A PEPTIDKÉMIAI MUNKABIZOTTSÁG  
2019. ÉVI TUDOMÁNYOS ÜLÉSÉRŐL**

Az MTA Szerves és Biomolekuláris Kémiai Tudományos Bizottság keretében működő Peptidkémiai Munkabizottság ez évi tudományos ülését május 27.-29. tartotta a Richter Gedeon Nyrt. üdülőjében, Balatonszemesen. A rendezvényen a munkabizottság tagjain kívül számos előadó, érdeklődő és kiállító, összesen több mint ötven fő vett részt.

Tóth Gábor elnöki megnyitója után a munkabizottság egyperces néma felállással emlékezett meg az előző héten elhunyt Medzihradszky Kálmán akadémikusról, a Peptidkémiai Munkabizottság alapító tagjáról, a magyar peptidkémia nagy egyéniségéről.

A gazdag tudományos program 9 szekciójában 32 előadás hangzott el, amelyek bemutatták a hazai peptid- és fehérjekutatás legfrissebb eredményeit. Évről-évre növekvő számú fiatal kutató tart előadást a kutatási eredményeiről. A néhány éves hagyományt követve idén is volt egy angol nyelvű szekció, melyben 4 előadás hangzott el, részben Magyarországon dolgozó külföldi hallgatók, illetve Alicia Boto Tenerife-i vendégelőadó részéről. A további szekciók a következő témaköröket ölelték fel: *Peptid szintézis I- II, Peptid szerkezet, peptid analitika, Biológiai hatások, Peptid konjugátumok I- II, Elméleti kémia I-II.*

Hétfőn este a vacsora után került sor a Peptidkémiai Munkabizottság nyilvános ülésére, ahol frissen sült pogácsa és remek borok kóstolása mellett kötetlen eszmecsere került sor. Sajnos ebben az évben az időjárás nem volt kegyes, ezúttal elmaradt a balatoni fürdőzés.

A rendezvényen 5 cég (ABL&E-JASCO Magyarország Kereskedelmi és Szolgáltató Kft., Central European Biosystem Kft., Donau Lab Kft., Gen-Lab Kft., Merck Kft.) mutatta be a termékeit kiállítás formájában és szponzori támogatással,

illetve a most is igen népszerű, a cégek által feltett kérdéseket tartalmazó totóhoz felajánlott nyereményekkel támogatta a Munkabizottsági Ülést. Köszönjük a cégek és az Alapítvány a Magyar Peptid és Fehérjekutatásért által nyújtott anyagi támogatást.

Találkozunk jövőre, ugyanitt!

*Tóth Gábor*  
elnök

*Szűcs Mária*  
titkár



**BÚCSÚZUNK MEDZIHRADEZSKY KÁLMÁNTÓL,  
A PEPTIDKÉMIKUSTÓL, AZ ELTE  
EMERITUS PROFESSZORÁTÓL, AZ ELTE DÍZSDOKTORÁTÓL,  
AZ ELTE TTK EGYKORI DÉKÁNJÁTÓL,  
AZ MTA RENDES TAGJÁTÓL**

„*Homo ludens* típus vagyok, játszó ember” mondta magáról egy interjúban beszélgetőtársának, Klinghammer Istvánnak, az ELTE volt rektorának a Tudós Klub vendégeként 2008-ban.

„Sose akartam például Nobel-díjat, ahhoz éjjel-nappal gürizni kellett volna, így viszont ráértem kaktuszozni, bort termelni, sok időmet viszi el a filatélia is. Szívesen lettem volna botanikus is, a latin növénynevek még mindig beugranak.”

David Andreu professzor - a European Peptide Society elnöke - írta részvétnyilvánító levelében, hogy az élet milyen másképp alakítja az eseményeket, mint kívánjuk, hiszen alig több mint egy éve, 2018. áprilisában köszöntöttük a 90. születésnapja alkalmából Medzihradzky Kálmánt és megrendítő, hogy most búcsúznunk kellett Tőle június 20-án, a Fiumei úti temetőben.

Medzihradzky Kálmán a Műszaki Egyetemre jelentkezett, mert, ahogy elmesélte a Tudós Klub interjúban: „az érettségi utáni nyáron, Alsóbélatelepen nyaraltunk, és ott volt egy professzor, Varga József műszaki egyetemi tanár, vegyész. Az állomásról én cipeltem a bőröndjeit hazáig, mondtam, hogy egyetemre akarok menni, ő pedig felajánlotta, hogy keressem fel őt, és ő majd segít. Hát el voltam gázosodva, hogy megyek a BME-re. Jelentkeztem, aztán két hét múlva ki volt írva, hogy nem nyert felvételt. Életem nagy csalódása. Aztán valaki mondta, hogy a bölcsészkaron, a Pázmány Péter Tudományegyetemen van valami vegyészoktatás, bejelentkeztem, azonnal fölvettek, nem tudom miért. De rettentő szerencsém volt, mert ugyanabba az évfolyamba jelentkezett be feleségem, Schweiger Hedvig ónagysága is, aki először matematikát akart



tanulni, de aztán kikötött a kémiánál”. Pályáját feleségével együtt a Pázmányon kezdte, az Eötvösön végezte, a bölcsészeten kezdve és a TTK-n végezve. Dosztojevszkij ismert mondása, miszerint az orosz írók valamennyien Gogol köpenyéből bújtak elő, Medzihradzsky professzor szerint a magyar peptidkémikusok – közvetve vagy közvetlenül – mindnyájan Bruckner Győző professzor tanítványainak tekinthetők.

Medzihradzsky Kálmán az 1949/1950-es tanévben utolsó éves vegyészként „szaktanári engedéllyel végzett önálló bűvárkodást” (a szaklaboratórium korabeli elnevezése) folytatott és hónapokig tartó kitartó munkával az IG Farben cég eljárása alapján a szikrázóan kék színű „Indigosolblau” antrakinon típusú indigófestéket állította elő. Talán ennek a festéknek köszönheti, hogy Bruckner Győző akadémikus, a szerves kémia tanszék vezetője arra kérte, hogy kapcsolódjon be a poliglutaminsavak szerkezetének feltárására irányuló vizsgálatokba. Elhagyva a színezékek világát megismerkedett a peptidkémiaiával. Medzihradzsky Kálmán kandidátusi disszertációja már az intramolekuláris transzpeptidációról szólt, majd az aminosavak, peptidek és fehérjék kémiájának, a természetes peptidek szerkezetének és biológiai hatásának nemzetközi hírű tudósává vált. Kutatásai közül a legfontosabbakat említve az emberi adrenokortikotrop hormon (ACTH) teljes szintézisét valósították meg Bajusz Sándorral és a Kisfaludy Lajossal, munkájukat Állami Díjjal (1970) is elismerték. A továbbiakban a melanocita stimuláló hormon (MSH), valamint opiát peptidek szerkezet-hatás összefüggéseinek tanulmányozásával foglalkozott. 1970-ben nagydoktori fokozatot szerzett, és ugyanebben az évben egyetemi tanárrá nevezték ki. 1982-ben az MTA levelező, 1990-ben pedig rendes tagjává választották. Medzihradzsky Kálmán az ELTE rektorhelyettese (1980-83), az ELTE TTK dékánja (1983-89), a Kémiai Tanszékcsoport (1989-93) és az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport vezetője (1990-98) volt, 1999-től professor emeritus. A Köztársasági elnök a Magyar Köztársasági Érdemrend Középkeresztjével tüntette ki (1998). Munkásságáért további számos elismerésként az Akadémiai Díj (1962), Állami Díj (1970), a Honoris Causa Pro



Scientia Aranyérem (2001), a Bruckner Győző díj (2004) és az Eötvös-díj (2005) birtokosa, az ELTE díszdoktora (2003). Rangos nemzetközi elismerésként megkapta a Csehszlovák Tudományos Akadémia Heyrovsky-érmét, 2002-ben pedig az European Peptide Society J. Rudinger díjában részesült.

Medzihradzky Kálmánt a fiumei úti sírkertben a ravatalnál az ELTE rektori vezetése, az MTA Kémiai Osztálya, a munkatársak, a barátok és a család nevében búcsúztatták. Medzihradzky Kálmán életpályáját és személyes emlékeit is felidézték: először Szalay Péter professzor az ELTE rektorhelyettese, majd az MTA Kémiai Osztályának nevében Hudecz Ferenc akadémikus beszélt a generációk számára példamutató és iskolateremtő, szuverén gondolkodású kutatóról. Perczel András az ELTE Kémiai Intézetének tanszékvezető professzora diákként és kollégaként is felidézte személyes emlékeit. A kollégák nevében Süliné-Vargha Helga nyugalmazott tudományos tanácsadó búcsúzott, felidézve a mentort, szakmai igényességével, emberségével. Mányi István építész a lágymányosi egyetemi terület létrejötte kapcsán került szakmai, majd baráti kapcsolatba Medzihradzky professzorral. A család nevében Mihály unokája beszélt, szavai felidézték az életükben folyamatosan jelenlévő, szerető Nagypát, a feledhetetlen budapesti és ábrahámhegyi emlékeket. A megrendítő, bensőséges gyászszertartást a sírnál felesége, Medzihradzky-Schweiger Hedvig mondatai zárták, aki férjétől, pótolhatatlan társától, hetven év együtt töltött idejüktől búcsúzott.

Dr. Medzihradzky Kálmán személyében egy széles látókörű, nemzetközileg elismert iskolateremtő professzortól, kutatótól, a korszerű hazai bioorganikus- és peptidkémia egyik megteremtőjétől búcsúztunk, aki tudásban, nyitottságban, igényességben, a józanész által vezérelt konszenzus elérésére való törekvésben, bölcsességben és emberségben példát mutatott számunkra, generációk számára.

Búcsúztunk *Homo ludens*, hiányod feldolgozásához felvértezve azzal a tudattal

és büszkeséggel, hogy ismerhettünk, találkozhattunk, beszélgethettünk, kaphattunk kritikát és tanácsot, humorral, emberséggel és életigenléssel.

„És olykor megcsináltam, hogy egy óra tájban, ha láttam, hogy nehéz napom lesz, azt mondtam, hogy na most egy kicsit eltűnök, és azzal kimentem a Botanikus kertbe, volt kulcsom az üvegházakhoz. Nemcsak locsoltam, hanem ültettem is, csináltam emeletes kaktuszházat. Mindenekelőtt hoztam és beültettem vagy kétezer darab kaktuszt, addig volt ott kétszáz, így lett kétezer-kétszáz, az nem akármilyen. A Botanikus Kert mellett van a SOTE-kollégium, például azzal kellett dékán koromban rengeteget harcolni, hogy a kollégiumból nagy bulik után kidobták a sörösüvegeket, és azok mind a nagy üvegház tetejére zuhantak, egyik üveg a másik után pattant el, és azokat tatarozni, ott fönn, rengeteg pénzbe került. Sokat kellett harcolni a SOTE rektorával, amíg ezeket rendbe lehetett szedni”.

**Bősze Szilvia**  
**MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport**



**1. Medzihradszky Kálmán (1928-2019).**



**2. Szalay Péter, az ELTE rektorhelyettese.**





**3. Hudecz Ferenc az MTA Kémiai Osztályának nevében búcsúzott.**



**4. Perczel András az ELTE Kémiai Intézetének tanszékvezető professzora.**



**5. Süliné-Vargha Helga a kollégák nevében vett végső búcsút.**



**6. Mányi István, a barát.**



**7. A család nevében Mihály unokája beszélt.**



**8. Medzihradzsky-Schweiger Hedvig férjétől, pótolhatatlan társától búcsúzott.**