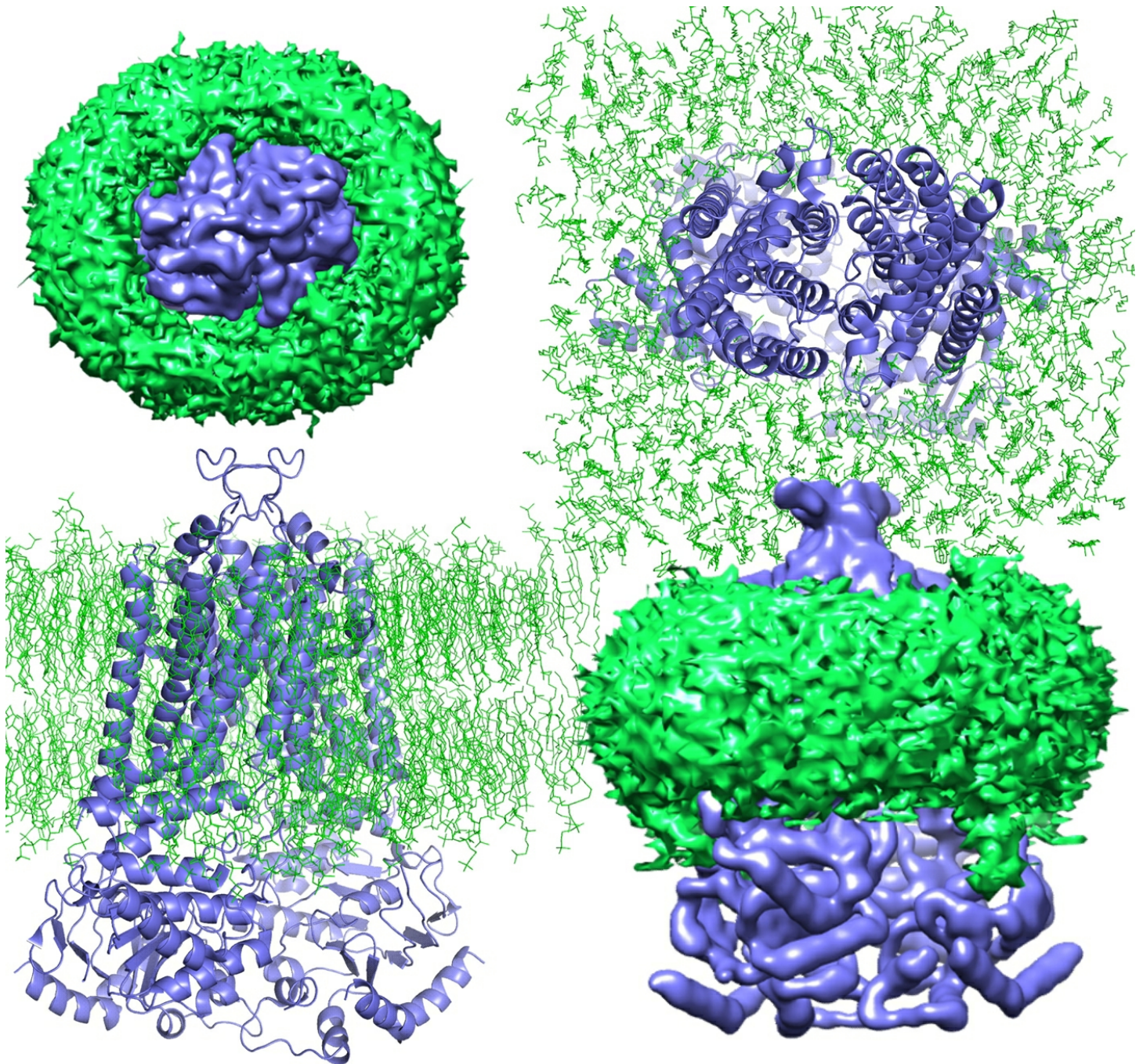


# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

XLIII. évfolyam 4. szám

2019. december



# BIOKÉMIA

A Magyar Biokémiai Egyesület internetes folyóirata

Szerkesztőbizottság:

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

Főszerkesztő:

**Szűcs Mária**

szucs.maria@brc.hu

Technikai szerkesztő:

**Bérdi Péter**

info@remekdesign.hu

**XLIII. ÉVFOLYAM 4. SZÁM**

**2019. december**

## TARTALOMJEGYZÉK

*Címlapkép: Az ABCG2 fehérje és lipid környezetének Coulomb potenciál térképe (balra fent és jobbra lent), illetve ugyanezen fehérjével lipid kettősrétegben végzett molekuláris dinamikai szimulációból egy pillanatkép (jobbra fent és balra lent, kék: ABCG2, zöld: lipidek, további részletek: <http://abcg.hegelab.org>). Készítette: Tordai Hedvig és Hegedűs Tamás.*

### **AKIKRE BÜSZKÉK VAGYUNK**

Kitüntetések, díjak ..... 4.  
Fülöp Livia: Barangolás az Alzheimer-kór kutatásban ..... 5.

### **HAZAI TUDOMÁNYOS MŰHELYEK**

Szűts Dávid: A DNS-replikáció mutagenikus következményeinek vizsgálata ..... 15.

### **REVIEW**

Mandl József: 2019-ben William Kaelin Jr., Peter Ratcliffe és Gregg Semenza Nobel-díjat kapott a hipoxia jelpálya felfedezéséért ..... 29.

### **TUDOMÁNYOS CIKK**

Horváti Kata: Peptid-konjugátumok: új típusú fegyverek a multirezisztens baktériumok ellen ..... 35.

### **KONFERENCIA HIRDETÉSEK**

Az MBKE 2020. évi vándorgyűlése, Pécs ..... 45.  
45. FEBS konferencia, Ljubljana ..... 46.

### **FEBS HÍREK**

Kiricsi Mónika, Dux László: Bemutatkozik a FEBS Oktatási Bizottságának Oktatási Nagyköveti Szervezete ..... 47.

### **FELHIVÁSOK**

A 2019. évi kiemelkedő cikkek listájának beküldése ..... 55.

### **NEKROLÓG**

In memoriam Prof. Wollemann Mária ..... 56.



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

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

Felelős kiadó Dr. Buday László

Az engedély száma III/SZI/397/1977

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

## AZ MBKE TAGJAINAK ELISMERÉSEI 2019. SZEPTEMBER 15. ÉS 2019. DECEMBER 15. KÖZÖTT

**Fülöp Livia** (Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet) a „**L'Oréal - UNESCO A nőkért és a tudományért**” kitüntetésben részesült az Alzheimer-kór kialakulásában szerepet játszó pathomechanizmusok felderítésében végzett kutatásaiért.

Tíz tehetséges, fiatal tudós munkáját ismerte el a Magyar Fejlesztési Bank a **Junior Prima Díj** magyar tudomány kategóriájával, az MBKE tagjai közül **Nyerges Ákos József** (Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet) részesült elismerésben.

Az MTA által alapított **Pungor Ernő-díjat Schlosser Gitta** (ELTE, TTK, Análitikai Kémiai Tanszék) nyerte el a peptidek és fehérjék tömegspektrometria-alapú szerkezetkutatása területén elért eredményeiért.

**Prima Primissima** díjat vehetett át magyar tudomány kategóriában **Ádám Veronika**, a Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézetének professor emeritája, az MTA rendes tagja.

**Gratulálunk a kitüntetetteknek!**

## „INDULJ EL EGY ÚTON, ÉN IS EGY MÁSIKON...” BARANGOLÁS AZ ALZHEIMER-KÓR KUTATÁSBAN

**Fülöp Livia**

**Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Orvosi Vegytani Intézet**  
**e-mail: fulop.livia@med.u-szeged.hu**



A címben szereplő moldvai csángó népdal bizonyára sok olvasó számára ismert. Generációk sora, köztük az enyém is nőtt fel a „Másfél millió lépés Magyarországon” című természetjáró sorozaton, mely éppen idén 40 éves és az Országos Kéktúra bejárását örökíti meg Rockenbauer Pál és lelkes csapata részvételével. A címválasztással utalnék az életemet nagymértékben kitöltő hobimra, ami a természetjárás, túrázás. Az áthallás szándékos, az Alzheimer-kórral (AK) kapcsolatos gyógyszerkutatásban eddig általam eltöltött 22 év is egyfajta barangolás volt, sok-sok útkereséssel, a zsákutcák felismerésével, újra tervezéssel.

Dr. Szűcs Mária főszerkesztő asszony és kolléga felkérésére készítem el ezt az összefoglalót eddigi életpályámról annak kapcsán, hogy 2019 szeptemberében elnyertem kutatótársammal, Dr. Bunford Nórával a L’Oreal-Unesco Nőkért és a Tudományért díjat. Számomra ez a díj nagy megtiszteltetés, eddigi kutatói pályám koronája. Sokan, sok helyen elmondták már, hogy nőként egyszerre boldogulni a klasszikus női szerepekben, mint a család és gyermeknevelés, illetve emellett kutatóként is, nagyfokú rugalmasságot, szervezést, és nem utolsósorban a hátszágától, amit a család biztosít, komoly támogatást igényel. Saját példám alapján azt mondhatom, hogy sikerülhet összeegyeztetni ezeket a feladatokat, kellő türelemmel és eltökéltséggel eljuthat az ember arra a szintre, ahol munkáját elismerésre méltónak tartják, miközben sikerül talán a családja életében is aktívan jelen maradnia. Így szeretek dolgozni, így gondolom érdemesnek a kutatást is vinni, megtalálni az egyensúlyt a feladatok között, és erre biztatnám fiatalabb női kutató társaimat is.

<sup>1</sup> A kép forrása: L’Oreal-Unesco Nőkért és a Tudományért.

A pályám Mezőkovácsházán, az általános iskola 7. osztályában vette kezdetét, amikor az első kémia órán ülve, csodálkozva hallgattam a számomra addig teljesen ismeretlen elemi részecskékről szóló magyarázatot. Lelkes és mind szakmailag, mind emberileg kiváló kémiatanárom, Molnár Józsefné kibontotta bennem az érdeklődést a tárgy iránt, mely végül abban az egyértelmű vágyban öltött testet, hogy én az életemben mindenképpen a kémiával szeretnék foglalkozni. E vágy által vezérelve felvételiztem a Szegedi Radnóti Miklós Kísérleti Gimnázium kémia tagozatára, ahol már a felvételiből megmaradt egy emlékezetes momentum, amikor későbbi tanárom, az ikonikus pedagógiai és szakmai képességű Meleg István tanár úr megkérdezte, hogy miért épp a kémiát szeretném tanulni. A válaszom az volt, hogy a szerves kémiánál érdekesebb dolgot én nem tudok elképzelni. Sokan, sokféle dolgot tanítottak nekem az elmúlt évtizedek során, de az biztos, hogy ehhez a gondolatomhoz mindvégig sikerült hűnek maradni, a szerves kémia iránti vonzalom és érdeklődés egész pályámat irányította.

Kézenfekvő volt tehát, hogy az akkor még József Attila, ma Szegedi Tudományegyetem vegyész szakára jelentkezek. Az egyetem elvégzése közben, 1996-ban elnyertem egy TEMPUS ösztöndíjat, mely segítségével Belgiumban, a Leuveni Katolikus Egyetemen tölthettem két szemesztert. Itt egy klasszikus szerves szintetikus kutatócsoportban sikerült megismerkednem a „spatulakémia” szépségeivel, mivel a témám funkcionális policiklusos aromás vegyületek dendrimer szerkezetekbe történő beépítése volt [1]. Ez a kutatómunka megint segített egy döntést meghozni: bár egyetemi tanulmányaim alatt komoly érdeklődést mutattam a modern szerkezetvizsgálati módszerek iránt, diplomamunkám témájaként mégis szerves szintézissel kapcsolatos feladatot kerestem. Így találtam rá későbbi főnököm és szakmai mentorom, Prof. Dr. Penke Botond csoportjára az akkor még Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézetében.

Penke professzor úr a 90-es évek elején kezdte az Alzheimer-kórral kapcsolatos

kutatási terveikhez kutatócsoportját összerakni. A téma érdekessége volt, hogy rendkívül sokoldalú kutatási tevékenységet lehetett kapcsolni hozzá. A kilencvenes években történt meg az amiloid-kaszád hipotézis megalapozása [2], a kutatók érdeklődési körébe az akkor már ismert kémiai szerkezetű béta-amiloid peptid tanulmányozása került. A peptidet sikerült izolálni amiloid plaq-qokból, felismerték annak aggregációs képességét, melyet in vitro körülmények között is megőrzött. Akkortájt definiálták először a fehérje-konformációs betegségeket, melyeknél közös mechanizmusként bizonyos fehérjék aggregáció által történő felszaporodását feltételezték és az aggregátumok neurotoxikus hatását is bizonyították.

A frissen formálódó kutatócsoportban ezért számos szintetikus vegyész, elméleti kémikus és biológus találhatott magának testreszabott kutatási feladatot. Penke Botondot nemcsak az amiloid peptid szintézise foglalkoztatta, mint megoldandó feladat, ami megfelelő tisztaságban a peptid erős aggregációs hajlama miatt komoly kihívást jelentett. Az akkor a téma forró pontjának számító trendhez kapcsolódva célul tűzte ki olyan kismolekulás peptid-típusú, illetve peptidomimetikum vegyület előállítását, mellyel a béta-amiloid aggregációja megakadályozható lenne, illetve ideális esetben a már képződött aggregátumok neurotoxikus hatása is csökkenthető lenne. Ez volt az ún. BSB-elmélet (beta-sheet breaker), mely C. Soto és mtsai nyomán került be a szakirodalomba [3]. A BSB-vegyületek szerkezetileg hasonlóak a béta-amiloid fragmenseihez, így az aggregáció során a megfelelő szekvenciariészletekhez hozzá tudnak kötődni, éppen úgy, ahogy a peptid szálai rendeződnek egymáshoz. Mivel azonban ezek a szekvenciariészletek kisebbek, az amiloid szálak további önrendeződésére gátlólag hathatnak. Az amiloid peptid aggregált formájának számítógépes modellezésén és a BSB-k kötődésének in silico vizsgálatán a kutatócsoportban számos elméleti kémikus és fizikus dolgozott. Szintetikus kémikusok állították elő a peptideket és peptidomimetikumokat, ebbe a munkába kapcsolódtam be én is 1997-től először hallgatóként, majd 1999-től doktoranduszként. Feladatom az aggregálódó béta-amiloid különböző fragmenseinek és fluoreszcens jelzett

változatainak előállítására lett [4], illetve a BSB-k tervezésében és szintézisében is részt vettem [5]. Munkámat közvetlenül Dr. Zarándi Márta docens (később egyetemi tanár) irányította, neki köszönhetem a peptid szintézis megismerését.

Penke Botond törekvése volt, hogy a kutatócsoport az általa előállított molekulák biológiai hatását is vizsgálni tudja. Ezért az országban egyedülálló módon az elméleti és szintetikus kémia profil mellé kialakított egy komoly biológiai facilitást is, mely sejtszintű vizsgálatoktól állatkísérletek kivitelezésén át képes volt egy kifejlesztett potenciális 'lead' molekuláról egy komplett preklinikai dossziét összeállítani [6]. A preklinikai biológiai vizsgálatok gerincét képezték in vitro toxicitási tesztek, in vivo hisztológiai vizsgálatok béta-amiloiddal kezelt vad típusú egér és patkány állományon, magatartásvizsgálatok széles skálája a memória és a tanulási funkciók tesztelésére nemcsak az előbbi, hanem APPxPS1-es Alzheimer-kórt modellező genetikailag módosított egértörzsön is. A kutatócsoport számos gyógyszergyárral (pl. Egis, Richter, Servier, MERZ GmbH) és külföldi kutatócsoportokkal állt kapcsolatban, Európai Unió finanszírozású pályázatok sorát (MEMOLOAD, LipiDiDiet) nyerve el.

Számomra a szintézisen túl még egy érdekes feladat kínálkozott, mellyel kihasználhattam hallgatóként a fizikai-kémiai mérési módszerek iránt tanúsított érdeklődésemet. A béta-amiloid aggregációjának in vitro körülmények között történő tanulmányozására az irodalomban számos eljárást közöltek, ezek meghonosítása, saját vegyületeink hatékonyságának in vitro tesztelése lett a feladatom. A kétezres évek elején kikísérleteztem az amiloid aggregátumok transzmissziós elektron mikroszkópiával (TEM) történő jellemzésének technikáját a Karon működő egyik elektron mikroszkóp használatával, ezzel elsőként honosítva meg Szegeden az in vitro fehérje-TEM metodikát, melynek birtokában évekig kooperáltam számos kutatócsoporttal fehérjék szerkezetvizsgálatában. Emellett festékkötési tesztek és dinamikus fényszórásmérést is alkalmaztam az aggregáció követésére. Ezzel gyakorlatilag a kutatócsoport portfóliója a tervezés-szintézistől a fizikai kémiai vizsgálatokon át a biológiai hatásosság



vizsgálataig terjedt, mely lehetővé tette saját anyagaink teljes körű karakterizálását. Az évek során két szabadalmunk született a BSB-témakörben, nekem pedig doktori dolgozatom témája lett a vegyületek szintézise és az aggregációra gyakorolt hatásuk tanulmányozása fizikai-kémiai módszerekkel. Doktori fokozatot 2005-ben szereztem elméleti orvostudományok szakterületen. Ez évtől az Orvosi Vegytani Intézetben tanársegédi állást is kaptam.

A 2010-es évek elejétől egyre inkább paradigmaváltás következett be az Alzheimer-kór gyógyítását célzó kutatások terén. Egyrészt a béta-amiloidból keletkező extracelluláris, fibrilláris aggregátumok helyett a neurotoxitásért egyre inkább az aggregáció korai fázisában keletkező oligomereket tették felelőssé, melyek intracelluláris előfordulását is bebizonyították, ezzel átfogalmazva a korábban uralkodó amiloid-kaszád hipotézist [7, 8]. Másfelől az amiloid aggregációját bármilyen módon befolyásolni tudó vegyületekből kiválasztott gyógyszerjelölt vegyületek egyike sem bizonyult klinikai vizsgálatokban megfelelően hatásosnak. Ezért elindult egy irányváltás az Alzheimer-kór kutatásában, melyhez kutatócsoportunk is csatlakozott. 2012-ben Penke Botond nyugdíjazásával én vehettem át a kutatócsoport vezetését, de Penke professzor úr továbbra is aktívan részt vesz a csoport kutatási tevékenységében, további pályázatok elnyeréséhez segítve hozzá a csoportot.

A bekövetkezett paradigmaváltás arra készítette csoportunkat, hogy új mechanizmusok azonosítása és vizsgálata felé forduljunk. A Neurodegeneratív Betegségek Kutatócsoport ma már nemcsak az Alzheimer-kórral kapcsolatos kutatásokat folytat, hanem általánosabb, több neurodegeneratív betegséget is érintő molekuláris mechanizmusokat is vizsgál. A Nemzeti Agykutatási Program (NAP) A/1. és 2. pályázatait is sikerült elnyernem, melyek keretében egyik témánk a felnőttkori neurogenesis tanulmányozása. Kutatásunk során megkíséreltük feltérképezni, hogy az APPxPS1-es transzgenikus egértörzsben, mely humán béta-amiloid peptidet termel és ezáltal amiloid lerakódások képződnek az agyában, hogyan változik az életkorral és az Alzheimer-kór patológiájára

jellemző tünetek kifejlődésével párhuzamosan a neurogenesis folyamata, milyen mértékben romlik a transzgen állat megfelelő agyterületein a neuronok újratemelődési, érési képessége az egészséges állathoz képest.

Az Alzheimer-kór kezelési stratégiájának kutatása mellett fontos irány a korai diagnózis megoldása is. Jelenlegi ismereteink alapján a kór klinikai diagnózisakor az agyi elváltozások már visszafordíthatatlan mértékűek, ezért nagyon fontos lenne olyan diagnosztika módszer kidolgozása, mellyel a korai molekuláris szintű elváltozások is detektálhatók lennének. Dr. Martinek Tamás Lendület Kutatócsoportjával együttműködve célul tűztük ki egy olyan ELISA rendszer kifejlesztését, mellyel lehetővé válhat biológiai mintákból toxikus béta-amiloid oligomerek kis koncentráció-tartományban történő kimutatása. Ehhez egy specifikus, elágazó szerkezetű, nem természetes aminosavakat is tartalmazó, foldamer-dendrimer típusú konjugátumot fejlesztettünk ki, mely méreténél és felépítésénél fogva méretszelektíven képes a béta-amiloid peptid oligomer aggregátumainak felismerésére [9]. ELISA rendszerben alkalmazva ezt a molekulát, lehetővé vált a toxikus oligomerek mennyiségi meghatározása nanomol/dm<sup>3</sup>-es nagyságrendben [10, 11].

Az Alzheimer-kór kezelésére potenciálisan alkalmas peptid-típusú vegyületek kifejlesztésekor azok hatásmechanizmusát is vizsgálva, egy új hatásmechanizmusra tettünk javaslatot. Egy specifikus fehérje, az Fe65 membránfehérje működésének pentapeptiddel történő modulálásával elérhető, hogy a már említett APPxPS1-es transzgenikus egértörzsben a béta-amiloid szintézise visszaszoruljon. Ezáltal az állat kevesebb amiloid plakkot termel, ami viselkedési, tanulási képességeinek javulását okozza. A kifejlesztett pentapeptid ígéretes kiindulási pontul szolgálhat új hatásmechanizmussal rendelkező gyógyszerjelölt fejlesztéséhez [12].

A NAP 2.0 pályázatban összekapcsoltuk a neurogenesis témáját egy új kutatási iránnyal. Ez az irány az ún. szigma-1 receptor moduláláson alapuló hatóanyag-

keresés, potenciálisan AK és más neurodegeneratív betegségek terápiájában alkalmazható gyógyszerjelölt vegyületek kifejlesztése [13]. A témával egy GINOP-pályázat keretében is foglalkozunk. A szigma-1 receptor megtalálható a központi idegrendszerben, korábban opioid receptorként klasszifikálták, majd kiderült, hogy szerkezetileg azoktól jelentősen eltérő receptor. Bebizonyosodott, hogy a „protein misfolding” során a neuronokban keletkező hibás szerkezetű fehérjék az endoplazmás retikulumban egy stresszválaszt indukálnak, ezt nevezük ER-stressznek. Az ER-stressz kialakulásakor az ER-mitochondrium határfelületen a szigma-1 receptorok nagy számban expresszálódnak, átrendeződésük, illetve a Bip-fehérjéhez történő kapcsolódásuk fontos szerepet játszik az ER-stressz szabályozásában [14]. Feltételezéseink szerint a szigma-1 receptoron agonistaként azonosított molekulák (pentazocin, PRE-084, kutamezin, az endogén dimetil-triptamin) az ER-stresszt is kedvező irányban befolyásolják, ezáltal a protein misfolding betegségekben kedvező hatást lehetne elérni ilyen molekulák alkalmazásával. Jelenleg egy molekulakönyvtár *in silico* szűrésével próbálunk azonosítani agonista és antagonistá hatású vegyületeket, melyeket *in vitro* kötődési tesztekben, illetve az ER-stresszre gyakorolt biológiai hatékonyságuk tekintetében is vizsgálunk. Ezek mellett az új molekulák neurogenesisre gyakorolt hatását is tanulmányozzuk, azon a megfigyelésen alapulva, hogy endogén neurosteroidok, melyek a szigma-1 receptorhoz kötődést mutatnak, mérhetően befolyásolják a neurogenesis folyamatát béta-amiloiddal kezelt egér modellben [15]. Reményeink szerint sikerül olyan molekulákat azonosítani, melyek szigma-1 receptor agonistaként az AK terápiájában is hasznosíthatók lesznek.

Nem lenne teljes a kép, ha kutatói munkám mellett nem beszélnék oktatói tevékenységemről. Számomra az oktatás és a kutatás egyforma fajsúllyal bír, egyetemi oktatóként az oktatás feladatát is fel kell vállalnom, melyet nagy örömmel teszek. Már hallgatóként éreztem, hogy számomra az oktatás egy örömteli tevékenység, a kutatás mellett oktatóként is el tudtam képzelni a jövőmet. Ehhez az egyetemi környezet ideális helyszín, hiszen mindkét szerep-

ben helyt kell állni. 1999-től oktatom az orvostanhallgatókat magyar nyelven orvosi kémiára, kezdetben szemináriumokat és laborgyakorlatokat tartva, 2003-tól pedig bekapcsolódva a tanszék német nyelvű oktatásába is. 2009-ben neveztek ki egyetemi adjunktusnak, 2012-ben habilitáltam német nyelven, 2014-től pedig egyetemi docensként végzem a munkámat és tartom a német hallgatóknak német nyelven az Orvosi Kémia főkéllégiumot. A hallgatókkal való kapcsolattartás, a lelkiismeretes oktatói munka sarokköve a pályámnak, eddigi tevékenységemet a német hallgatók négy alkalommal honorálták a „Kar kiváló oktatója” díjjal, mely fontos elismerés és visszajelzés számomra oktatói munkám eredményességéről. Mindemellett a hallgatók kutatásban való részvételét is támogatom, szakdolgozatok, tudományos diákköri dolgozatok és doktori dolgozatok is készülnek irányításommal, jelenleg 3 doktorandusz hallgató munkáját irányítom.

Végezetül visszakanyarodnék címbeli mottómra, az Alzheimer-kór kutatása és a természetjárás között vont párhuzamra. Az elmúlt 22 év után korántsem gondolom, hogy célhoz értem, célhoz értünk ebben a témában, erőfeszítéseinket eddig nem koronázta egyértelmű, kézzel fogható siker, ami egy oki terápiaként alkalmazható gyógyszermolekulában öltött volna testet. Dolgunk mégis a további, fáradhatatlan keresés; egy lelkes túrázó mindig talál magának új útvonalat, felfedezni valót, és ez a kutatásban sem lehet másként.

### Irodalomjegyzék

- [1] Smet, M., Shukla, R., Fülöp, L., Dehaen, W. (1998) A general synthesis of disubstituted rubicenes. *European Journal of Organic Chemistry*, **1998 (12)**: 2769-2773.
- [2] Hardy, J.A., Higgins, G.A. (1992) Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, **256 (5054)**: 184-5.
- [3] Soto, C. (2001) Protein misfolding and disease; protein refolding and therapy. *FEBS Letters*, **498(2)**: 204-207.
- [4] Fulop, L., Penke, B., Zarandi, M. (2001) Synthesis and fluorescent labeling

- of beta-amyloid peptides. *Journal of Peptide Science*, **7 (8)**: 397-401.
- [5] Fulop, L., Zarandi, M., Datki, Z., Soos, K., Penke, B. (2004) Beta-amyloid-derived pentapeptide RIIGLa inhibits Abeta(1-42) aggregation and toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **324 (1)**: 64-9.
- [6] Datki, Z., Papp, R., Zadori, D., Soos, K., Fulop, L., Juhasz, A., Laskay, G., Hetenyi, C., Mihalik, E., Zarandi, M., Penke, B. (2004) In vitro model of neurotoxicity of Abeta 1-42 and neuroprotection by a pentapeptide: irreversible events during the first hour. *Neurobiology of Disease*, **17 (3)**: 507-15.
- [7] Haass, C., Selkoe, D.J. (2007) Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **8 (2)**: 101-112.
- [8] Walsh, D.M., Selkoe, D.J. (2007) Abeta oligomers - a decade of discovery. *Journal of Neurochemistry*, **101 (5)**: 1172-84.
- [9] Fulop, L., Mandity, I.M., Juhasz, G., Szegedi, V., Hetenyi, A., Weber, E., Bozso, Z., Simon, D., Benko, M., Kiraly, Z., Martinek, T.A. (2012) A foldamer-dendrimer conjugate neutralizes synaptotoxic beta-amyloid oligomers. *PloS one*, **7 (7)**: e39485 <https://doi.org/10.1371/Journal.pone.0039485>.
- [10] Olajos, G., Bartus, E., Schuster, I., Lautner, G., Gyurcsanyi, R.E., Szogi, T., Fulop, L., Martinek, T.A. (2017) Multivalent foldamer-based affinity assay for selective recognition of Abeta oligomers. *Analytica Chimica Acta*, **960**: 131-137.
- [11] Bartus, E., Olajos, G., Schuster, I., Bozso, Z., Deli, M.A., Veszeka, S., Walter, F.R., Datki, Z., Szakonyi, Z., Martinek, T.A., Fulop, L. (2018) Structural optimization of foldamer-dendrimer conjugates as multivalent agents against the toxic effects of amyloid beta oligomers. *Molecules*, **23 (10)**: pii: E2523. doi: 10.3390/molecules 23102523.
- [12] Szogi, T., Schuster, I., Borbely, E., Gyebrovski, A., Bozso, Z., Gera, J., Rajko, R., Santha, M., Penke, B., Fulop, L. (2019) Effects of the Pentapeptide P33 on Memory and Synaptic Plasticity in APP/PS1 Transgenic

Mice: A Novel Mechanism Presenting the Protein Fe65 as a Target. *International Journal of Molecular Sciences*, **20 (12)**: pii: E3050. doi: 10.3390/ijms20123050.

- [13] Penke, B., Bogar, F., Paragi, G., Gera, J., Fulop, L. (2019) Key peptides and proteins in Alzheimer's disease. *Current Protein & Peptide Science*, **20 (6)**: 577-599.
- [14] Penke, B., Fulop, L., Szucs, M., Frecska, E. (2018) The Role of Sigma-1 receptor, an intracellular chaperone in neurodegenerative diseases. *Current Neuropharmacology*, **16 (1)**: 97-116.
- [15] Li, L., Xu, B., Zhu, Y., Chen, L., Sokabe, M., Chen, L. (2010) DHEA prevents Abeta25-35-impaired survival of newborn neurons in the dentate gyrus through a modulation of PI3K-Akt-mTOR signaling. *Neuropharmacology*, **59 (4-5)**: 323-33.

## A DNS-REPLIKÁCIÓ MUTAGENIKUS KÖVETKEZMÉNYEINEK VIZSGÁLATA A TTK ENZIMOLÓGIAI INTÉZET GENOMSTABILITÁS KUTATÓCSOPORTJÁBAN

**Szüts Dávid**  
**TTK Enzimológiai Intézet**  
**szüts.david@ttk.hu**

Szüts Dávid Nagy-Britanniában, a Cambridge-i egyetemen szerzett diplomát, és PhD tanulmányait is ott végezte *Drosophila* fejlődésgenetika területén. Az EGFR, Wnt és TGF- $\beta$  jelátviteli útvonalak kölcsönhatásainak tanulmányozását követően [1,2] a muslica embrió középbelénél általánosabb ismertségű modellrendszerre váltott, és posztdoktorként a DNS-replikációt kezdte vizsgálni humán sejtekben és sejtizátumokban. Néhány hidegszobában eltöltött év után kollégáival sikerült a DNS replikáció beindításához szükséges faktorokat izolálniuk citoszolikus extraktumok frakcionálásával, melyek közül legérdekesebb az - egy fehérje-mentes aktív frakcióban talált - humán Y RNS család volt [3]. Felismerve, hogy a kísérletekhez végzett sejtciklus-szinkronizálás DNS-töréseket okoz [4], érdeklődése a sérült DNS replikációja felé fordult, és 2004-ben csatlakozott Dr. Julian Sale kutatócsoportjához az MRC Laboratory of Molecular Biology intézetében, még mindig Cambridge-ben. Az itt megkezdett kutatásait a DNS-replikáció és a DNS-hibajavítás kapcsolatának területén azóta is töretlenül folytatja. 2008-ban önálló csoportot indított a St. Georges, University of London egyetemen, majd 2011-ben hazatért Magyarországra az MTA Enzimológiai Intézetbe, ahol egy Lendület-pályázattal építette fel a Genomstabilitás Kutatócsoportot.

### **A sérült DNS replikációja: DNS-hibaelkerülő útvonalak**

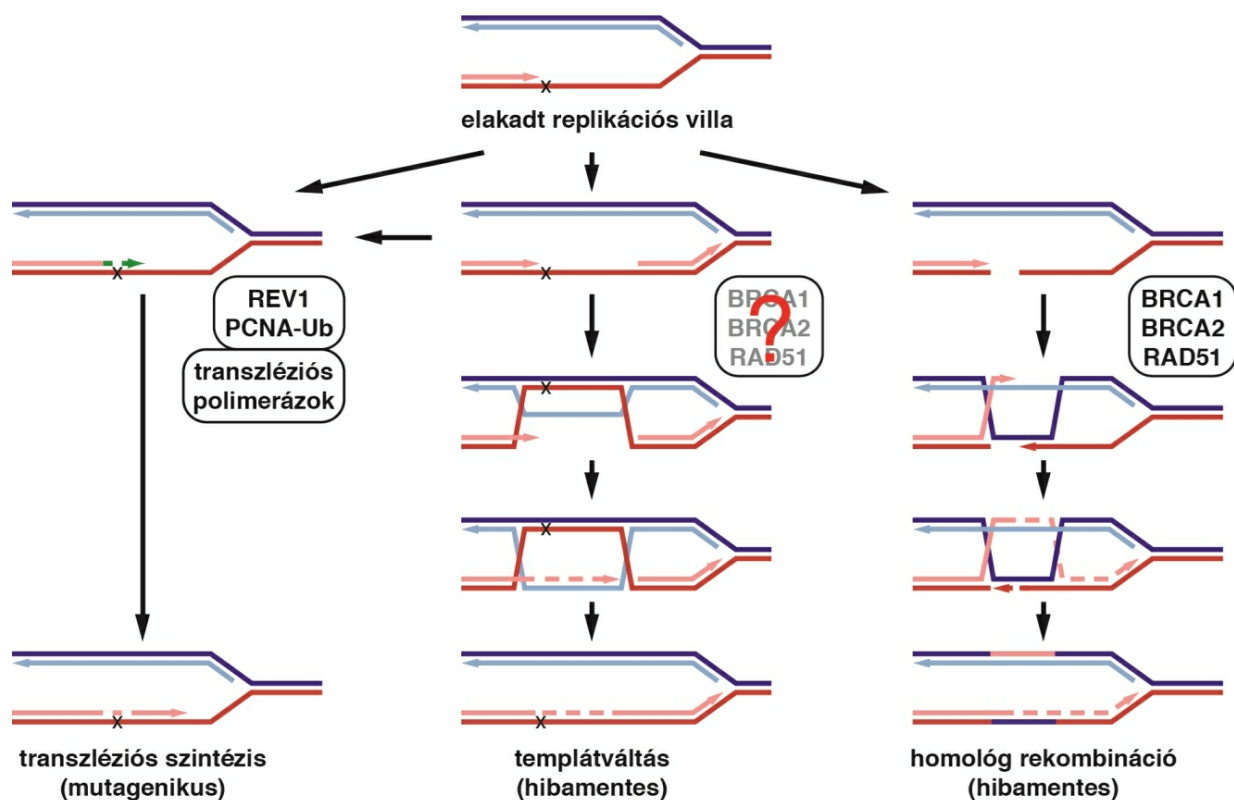
Kutatásunk egyetlen központi kérdésből indult ki: hogyan történik a sérült DNS-szakaszok replikációja? DNS-sérülésekről sokaknak elsősorban DNS-törések juthatnak eszébe, azonban a száltörés nélküli kémiai változások (bázis hidrolitikus kiesése, bázisok oxidációja, adduktok képződése) sokkal gyakoribbak. Mivel a replikáció során a két rendkívül pontos replikatív polimeráz

(pol $\delta$  és pol $\epsilon$ ) valamelyikének a genom minden nukleotidján végig kell haladni, elkerülhetetlen a polimerázok találkozása megváltozott, sérült templát szakaszokkal. A DNS sérüléseinél, melyeket összefoglalóan DNS lézióknak nevezünk, a polimerázok általában elakadnak. Alapkérdésünk tehát úgy fogalmazható át, hogy milyen mechanizmusok teszik lehetővé a replikáció továbbhaladását a replikatív polimeráz elakadása esetén?

Két alapvetően különböző megoldás létezik a problémára, melyek konzerváltak a teljes élővilágban: vagy polimeráz, vagy templátot kell váltani. Az első megoldás tehát a sérült templát használata, azaz „transzléziós DNS szintézis”. Mivel a replikatív polimerázok pontosan illeszkedő aktív centruma, illetve önmagukat ellenőrző proofreading aktivitása a legtöbb lézió esetében ezt nem teszi lehetővé, a replikáció speciális transzléziós polimerázok segítségével képes a sérült templátról másolatot készíteni. A transzléziós polimerázok többsége szerkezetileg az  $\gamma$  polimeráz családba tartozik: a pol $\eta$ , pol $\iota$ , pol $\kappa$  és a REV1 fehérje. Igen lényeges még a replikatív polimerázokkal együtt a  $\beta$  polimeráz családba tartozó pol $\zeta$ . A transzléziós szintézist bizonyos léziókon képes egyetlen polimeráz is elvégezni. Azonban gyakran két polimeráz egymásutáni beavatkozására van szükség, melynek keretében az első polimeráz a sérült szakasszal szemben illeszt be nukleotidokat, a másik pedig az így keletkezett össze nem illő primer-templát csatlakozástól folytatja a szintézist. Ez utóbbi képességgel elsősorban a pol $\zeta$  rendelkezik. Különösen komplex kérdés a transzléziós szintézis szabályozása. A transzléziós polimerázok toborzásának kétféle mechanizmusa ismert. Ezek közül egyik a PCNA replikációs fehérje monoubikvitilációja, melyet Stefan Jentsch csoportja fedezett fel a fehérje degradációt nem okozó ubikvitilációs módosítások egyik első példjaként [5]. Azonban a transzléziós polimerázok a REV1 fehérjén keresztül is képesek az elakadt replikációt jelző PCNA-hoz toborzódni, a PCNA ubikvitilációjától függetlenül. Fontos kérdés még a polimeráz szabályozott „visszacserélése”, mivel a transzléziós polimerázok alacsonyabb fidelitásuk következtében sérülésmentes templáton is mutációkat okozhatnak.



A sérült DNS replikációjának másik megoldása egy alternatív, a sérült szakasszal homológ templát használata. Ilyen templát közvetlenül rendelkezésre áll a replikációs villa mögött: a testvérkromatid újonnan szintetizált szála (világoskék az 1. ábrán).



**1. ábra. A DNS-replikáció hibaelkerülő útvonalainak sematikus rajza.** Az ábrán feltüntetett fehérjéket a szövegben mutatjuk be. PCNA-Ub: monoubikvitilált PCNA.

Ezen templát ideiglenes használata megoldást jelent a sérült szakaszon történő nem mutagenikus áthaladásra. A templátváltás többféle topológiával is elképzelhető. Bernard Strauss csoportja már 1976-ban megfigyelte a replikációs villa visszafordulását, melynek keretében a kialakuló „csirkeláb” struktúrában bázispárosodás alakul ki a két új DNS szál között, megteremtve a sérülésmentes templát felhasználásának lehetőségét [6]. Élesztőgenetikával kombinált 2-dimenziós Southern blot kísérletek azonban kimutattak X-alakú DNS struktúrákat, melyek a DNS-sérülések függvényében jönnek létre a replikációs villa mögött, a két testvérkromatidot összefogva [7]. Ezek a struktúrák a villa mögötti templátváltásra utalnak (1. ábra). A templátváltás mechanizmusa még

mindig nem pontosan ismert. Csoportunk is keresi és vizsgálja a templátváltásban részt vevő fehérjéket.

Az elakadt villák helyzetének feloldására létezik egy harmadik, drasztikusabb megoldás is: a sérült szál eltörése vagy elhasítása, a villa szétesése, majd a replikáció újraindítása az így képződött kettős szálú DNS végről (1. ábra). Ez a folyamat nagyon hasonlít a DNS kettős száltörésének homológ rekombinációs javításához. Ugyanazokat a fehérjéket is használja, melyek közül magasabb eukariótákban legfontosabb az egyszálú DNS-en nukleofilamentumot képző, és a homológ kettős szálú szekvenciával szálcserét katalizáló RAD51. Élesztőben árnyaltabb a helyzet, de gerincesek sejtjeiben eredményeink szerint a homológ rekombináció fehérjei a templátváltáshoz is szükségesek, amely igencsak megnehezíti a templátváltás és a DNS száltörés utáni rekombináció genetikai elkülönítését.

A DNS-hibaelkerülő útvonalak megismerése elsősorban a mutagenesis folyamatainak megértéséhez fontos. A sérült templátot felhasználó, sok esetben az eredeti bázisokat felismerhetetlenné tévő léziókat (pl. abázikus helyeket) másoló transzléziós szintézis szükségszerűen mutációk előállítására hajlamos. A templátváltás és a homológ rekombináció elvben nem mutagenikus, azonban a folyamatok közben képződő komplex szerkezetek helytelen feloldása DNS-törésekhez, genomi átrendeződésekhez vezethet. Munkánk egyik fő célja meghatározni a DNS-hibaelkerülő útvonalak szerepét a spontán és a környezeti hatások által indukált mutagenikus folyamatokban, beleértve a rákos daganatok kialakulását okozó szomatikus mutagenézist.

### **A mutagenesis vizsgálatának módszerei**

Érdemes röviden áttekinteni a sérült DNS replikációjának és a mutagenesis vizsgálatának fő megközelítési módjait, mivel kutatásunkban ezeket igyekszünk széleskörűen alkalmazni.

Tisztított fehérjékkel végzett biokémiai kísérletek fontos információt szolgáltatnak főleg az enzimatis aktivitással bíró fehérjék, például polimerázok és helikázok alapvető tulajdonságairól, képességeiről. Azonban mivel a replikációhoz kapcsolt folyamatokat szeretnénk vizsgálni, szükség lenne az eukarióta DNS replikáció teljes komplex folyamatának *in vitro* reprodukálására. Ez nemrég sikerült John Diffley csoportjának [8], azonban a reakcióhoz 110 különféle rekombináns fehérjére volt szükség, tehát ez nem egy praktikus háttér a hibaelkerülő útvonalak tanulmányozására. Ehelyett hipotonikus sejtlizátumokat használunk, melyek a DNS-replikációhoz szükséges összes fehérjét tartalmazzák. A replikációt az SV40 vírus nagy T antigénjével indítjuk be, amely a lizátumhoz adott SV40 replikációs origót tartalmazó plazmidokon az MCM replikációs helikázt helyettesítve indítja és vezeti a DNS-replikációt. A lizátumhoz adott plazmidra DNS-léziókat helyezünk, és a replikációs termékek szekvenciájának meghatározásával követni tudjuk a hibaelkerülő útvonalak működését. Például egy TT pirimidin dimer esetében, amely egy gyakori ultraibolya fény által okozott lézió, a helyes AA beillesztése sikeres transzléziós szintézisre utal. Emellett megfigyelhetünk mutagenikus transzléziós szintézist (pl. TA megjelenése) vagy templátváltást, melyet a plazmidon a fototermékkel szemközti szátra helyezett szekvencia másolása jelez. Eddigi eredményeink szerint a lizátumokban jól működik a transzléziós szintézis PCNA ubikvitiláció által szabályozott ága. Kísérleteink kimutatták, hogy ez a mechanizmus gyakorlatilag mutációmentesen képes másolni a ciklobutil pirimidin dimereket.

A vizsgált folyamatok komplexitása miatt kézenfekvőek a genetikai megközelítések. Csoportunk kísérletes munkája így főként a génkiütött vagy génmódosított sejtvonalak használatára épül. „Hagyományos” modellünk a csirke DT40 limfoblasztóma sejtvonal, amelyen szakterületünk kutatói már bő két évtizede hatékonyan alkalmazzák a homológia alapú génkiütést [9]. A szekvenciaspecifikus nukleázok, a CRISPR-Cas9 elterjedésével a DT40 sejtvonal a könnyű génkiütés előnyét elveszítette, azonban több hasznos tulajdonsága

(majdnem normál kariotípus, alacsony mutációs ráta, életképes DNS repair mutánsok, immunglobulin gén szomatikus hipermutációja) következtében továbbra is hasznos modellrendszer maradt a DNS-hibajavítás és a mutagenézis kutatására. A CRISPR módszer segítségével azonban ma már humán tumorsejteken, immortalizált normál humán sejteken és indukált pluripotens őssejteken is végzünk génmódosítást. A génkiütött sejtvonalak felhasználásának legelső szintje a DNS-károsító kezelésekre mutatott érzékenység mérése, mely szinergisztikus vagy episztatikus viszonyok meghatározására, a hibajavító és -elkerülő útvonalak elkülönítésére nyújt lehetőséget.

A mutagenézis vizsgálatához felmerült az igény ismert, konkrét DNS léziók átírásának követésére élő sejtekben. Ehhez még posztdokorként szerkesztettem egy replikációra képes plazmidot, amelybe a lizátumban történő kísérletekhez hasonlóan léziókat tartalmazó oligonukleotidokat ligálunk, és az így előállított konstrukciókat transzfektáljuk különféle génmódosított sejtvonalakba. A replikált plazmidokat a sejtekből visszanyerve szekvenálással tudjuk meghatározni például az ultraibolya fototermékek átírásának mechanizmusát és mutagenikus hatását, és itt is megkülönböztethető a transzléziós szintézis és a templátváltás [10].

Mindezek mellett a mutagenézis vizsgálatának legátfogóbb módszere a teljes genomban keletkező összes mutáció meghatározása lenne. Így amint az újgenerációs szekvenálás megközelítette a megfizethetőség határát, elvégeztettük első teljes genom szekvenálásainkat mutagénekkel kezelt sejtpopulációkból kitenyésztett sejtklónokon. Eleinte nem volt pontos tervünk, mihez kezdünk majd az adatokkal, de Tusnady Gábor (Enzimológiai Intézet) és Csabai István (ELTE) csoportjával együttműködve megszelídítettük az adattömeget, és sikeresen azonosítottuk a kísérlet során keletkezett mutációkat. A sejtvonalak genomszekvenálása, melyhez kidolgoztunk egy mutációdetektálási eljárást [11], forradalmasította kutatásunkat. Kiderült, hogy a mutagénnel való kezelés nélkül, spontán keletkező mutációk vizsgálata is

informatív, így az eljárás a sejteket érő környezeti hatások mutagenicitásának, illetve a DNS-javító folyamatok hiányában fellépő mutagenézisnek a vizsgálatára is kiválóan alkalmas.

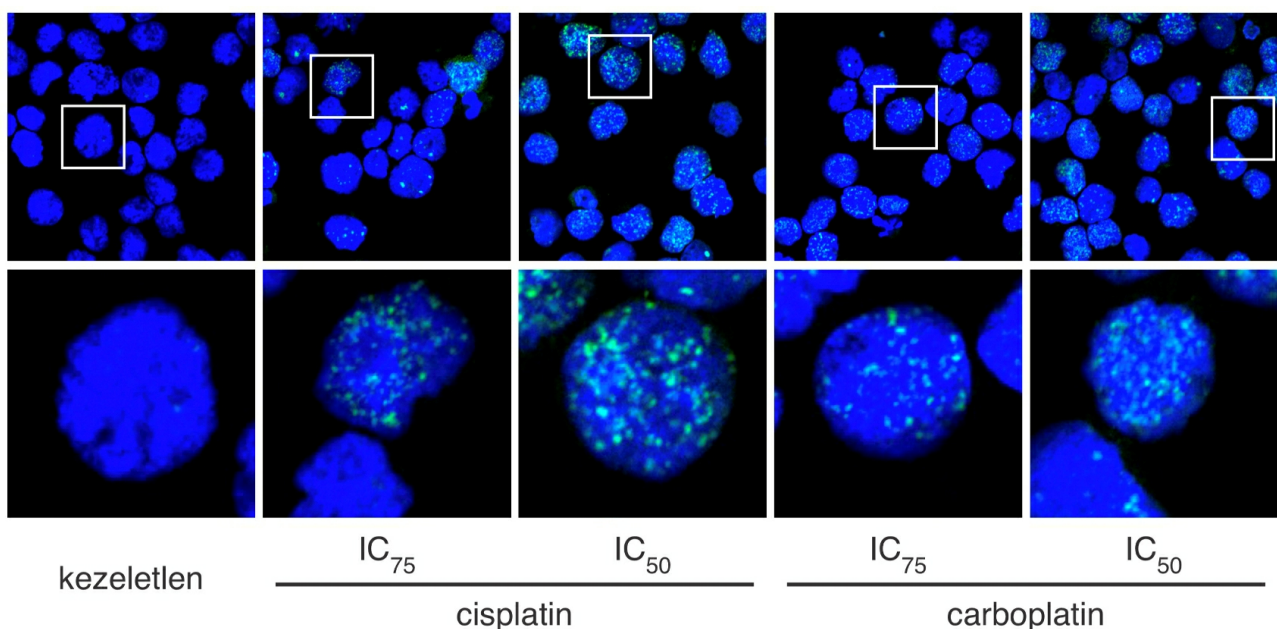
A mutációk keletkezését kísérletek nélkül is meg lehet figyelni a sejtklónokban megfelelő rákos daganatokban, mely közvetlen relevanciát biztosít a mutagenézis vizsgálatának. A publikált újgenerációs szekvenálási adatok nagy része daganatokból származik, és a kutatók komoly erőfeszítéseket tesznek a mutációk mintázatokba rendezésére, értelmezésére [12]. A tumorszekvenciák elemzése számunkra is természetes kiterjesztését jelentette a sejtvonalgenomok vizsgálatának. Publikus tumorszekvenciákat is elemzünk, valamint hazai és nemzetközi együttműködésekben célzottan válogatott tumormintákat is szekvenálunk, hogy a mutagenikus folyamatokat környezeti hatásokhoz vagy a daganatok genomi instabilitásához köthessük.

### **DNS-károsító ágensek mutagenikus hatása**

Alapvető kérdés a mutagenézis vizsgálatában, hogy különféle DNS-károsító hatások okoznak-e mutációkat, és ha igen, milyeneket. Az ultraibolya fény, különösen a rövid hullámhosszú UV-C komponense, jól ismert „fototermékeket” hoz létre a DNS-ben, amelyek szomszédos pirimidin bázisok közötti keresztkötéseket jelentenek. Kétféle fő UV fototermék létezik, a ciklobutil pirimidin dimer (CPD) és az ún. (6-4) fototermék. Shigenori Iwai (Osaka University) csoportjától kaptunk oligonukleotidokba illesztett szintetikus fototermékeket, amelyeket plazmidba ligálva *in vitro* és *in vivo* replikáció keretében is vizsgáltunk. Eredményeink szerint a transzléziós szintézis gyakran mutagén a (6-4) fototerméken, míg a CPD-ken jóval ritkábban [10,13]. A CPD átírását a polimeráz poln egyedül is hatékonyan végzi, míg a (6-4) fototermék másolásához két polimerázra van szükség, melyeknek toborzása a PCNA ubikvitilációján vagy a REV1 fehérjén keresztül is megtörténhet. Az UV sugárzás mutagén hatását genomszekvenálással is kimutattuk, és a mutációk spektruma

nagyon hasonlít a napsütötte bőrfelületeken keletkező malignus melanómák szomatikus mutációs spektrumához.

Mesterséges „környezeti hatások” szintén károsíthatják a DNS-t, melyek közül lényegesek a kemoterápiás kezelések (2. ábra). Első átfogóbb, genomszekvenáláson alapuló tanulmányunkban ugyanazt a vad típusú DT40 sejt vonalat sokféle, gyakran használt kemoterápiás szerrel kezeltük, és összehasonlítottuk az észlelt mutagenikus hatásokat [14]. Nem meglepő módon az alkiláló jellegű szerek, a ciszplatin és ciklofoszfamid okozták a legtöbb mutációt. A ciszplatin mutációs spektruma, az okozott bázisváltozások, inzerciók és deléciók támpontot adtak a mutagenikus folyamat mechanizmusának megértéséhez. Később eredményeinket humán sejt vonalon is igazolták, és megtalálták az észlelt mutációs spektrumokat ciszplatinnal kezelt betegek tumormintáiban [15]. Jelenleg további összehasonlító vizsgálatokat végzünk a kemoterápiás kezelések mutagén hatásainak területén, és reméljük, hogy eredményeink a klinikusok számára is hasznos információt nyújthatnak.



**2. ábra. A platinakezelés DNS-károsító hatása.** TK6 humán sejtek egyórás kezelést kaptak a megjelölt szerekkel, kétféle koncentrációban ( $IC_{75}$ : 75% túlélés,  $IC_{50}$ : 50% túlélés). A DNS-károsodást, elsősorban DNS-töréseket, a H2AX hiszton foszforilációja jelzi (immunfestés, zöld) a sejtmagokban (DNS-festés, DAPI, kék).

A kemoterápiák mutagenikus hatása két szempontból is lényeges. Egyrészt a beteg normál sejtjeiben keletkező mutációk újabb, az eredetitől független daganatokat indukálhatnak. Másrészt pedig a túlélő tumorsejtekben okozott mutációk gyorsíthatják a daganat evolúcióját, a rezisztencia kialakulását. Ez utóbbi hatás vizsgálatára Moldvay Judit onkológussal (Korányi Intézet) ciszplatinkezelést kapott betegből származó primer és áttétes tumorminták elemzését végeztük el. A mintákból sikerült kimutatni nagyszámú ciszplatinra jellemző mutációt. Sőt, a mutációk klonalitása alapján (azaz hogy a minta összes tumorsejtjében jelen voltak-e vagy csak egy részükben) azt is megtudtuk utólag határozni, hogy adott áttétek a kezelés előtt vagy után keletkeztek [16].

A mutagén hatást vizsgáló kísérletek eredménye nem mindig hoz rossz hírt. A célzott tumorterápiák egyik új családját képezik a poli-ADP-ribóz polimeráz (PARP) gátlószerei, melyek szelektíven pusztítják a BRCA1 vagy BRCA2 génekben mutációt hordozó tumorsejteket. Mivel a PARP inhibitorok maguk is egy DNS-hibajavító folyamatot gátolnak, feltételezhető volt, hogy a kezelés mutagenikus hatású. Azonban sejtvonalak hosszú távú kezelése, valamint egerekbe ültetett humán tumor xenograftok kezelése és genom- vagy exomszekvenálása után arra az eredményre jutottunk, hogy a PARP inhibitor kezelésnek nincs számottevő mutagenikus hatása, így ebből a szempontból is jó alternatíváját jelenti a mutagenikus platinaalapú kemoterápiának [17].

### **A hibaelkerülő útvonalak hatása a mutagenézisre**

Az említett BRCA1 és BRCA2 tumorszuppresszor gének a homológ rekombináció fehérjéit kódolják. DT40 sejtekben UV léziókat tartalmazó plazmidok segítségével megmutattuk, hogy ezen fehérjék szükségesek az alternatív templátot felhasználó replikációs hibaelkerülő útvonalhoz és ez a mechanizmus nem függ a PCNA poliubikvitilációjától [18]. A BRCA1 és BRCA2 mutáns DT40 sejtvonalakban ennek megfelelően igen megnövekedett mutációs rátát mértünk, a bázisszubsztitúciók és a deléciók száma egyaránt sokkal magasabb volt a

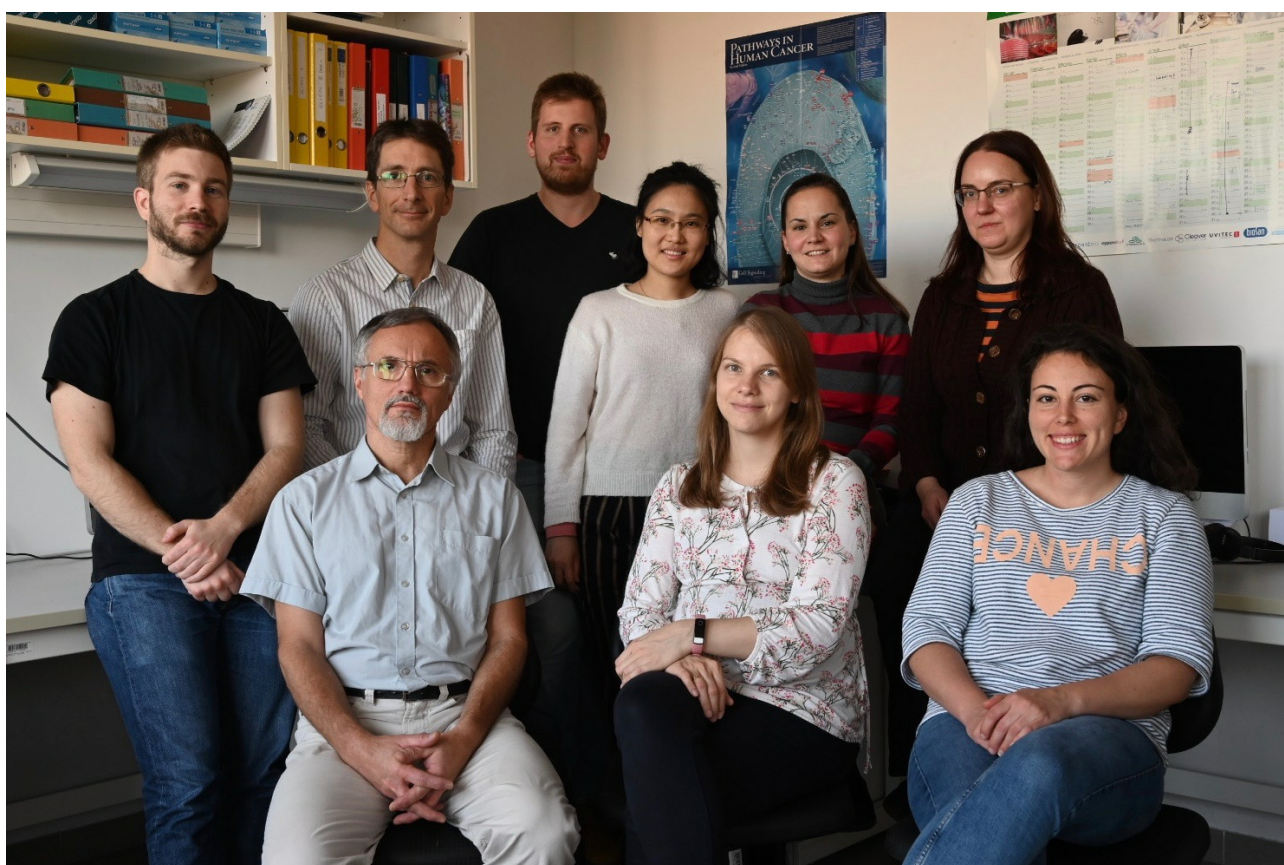
vadtípusú kontrollhoz képest [19]. Ez a tanulmányunk volt talán a második olyan cikk, amely kísérleti úton, genomszinten mutatta ki bármely DNS-hibajavító folyamat hiányának hatását – egy *C. elegans* tanulmány vizsgált előttünk más géneket hasonló módszerrel [20]. A homológ rekombinációs faktorok hiányában megnövekedett mutációs ráta valószínűleg a nem mutagén hibaelkerülő útvonalak kiesésével, és a hibára hajlamos alternatíva megnövekedett használatával magyarázható. Ez így utólag nem hangzik meglepőnek, de a homológ rekombinációról korábban alkotott általános képbe, miszerint a mechanizmus kettős szálú DNS-töréseket javít, nem illett. Eredményeink e helyett azt az elméletet támogatják, hogy a rekombinációs faktorok alapvető fontosságúak a száltörés nélküli templátváltás folyamatához. Az észlelt mutációs spektrumok nagyon hasonlítottak a BRCA mutáns daganatok mutációs mintázataira, rámutatva az izogenikus sejtvonalak hasznosságára a daganatok szomatikus mutációi kialakulásának modellezéséhez.

A homológ rekombináció folyamatában sok fehérje vesz részt, és közöttük jópárnak a génje szintén gyakran inaktiválódik daganatokban. Egy frissen megjelent átfogó tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy a különböző génhibák következtében fellépő mutációs fenotípusok milyen összefüggésben állnak a génkiütött sejtek különféle tumorterápiákra mutatott érzékenységevel, azaz mennyire használható a tumor mutációs mintázata a kezelés kiválasztásához. A genomszekvenálásokat CRISPR-Cas9 hasította genomi lokuszok amplikonszekvenálásával hasonlítottuk össze, megmutatva, hogy az észlelt genomi mutagenézis túlnyomó része valóban nem a kettős száltörések javításának következménye. A nagymennyiségű, robotizált citotoxicitási mérést Szakács Gergely (Enzimológiai Intézet) csoportjával együtt végeztük. Az eredmények jelentősen árnyalják a kezelések hatékonyságának predikcióját, és a rekombinációs folyamatok mechanizmusának megértését is segítik [21].

Egy másik, tumorokban gyakran inaktiválódott DNS-javító folyamat a mismatch repair (MMR), az össze nem illő bázispárok javítása. A MMR-hiányos daganatok



mutációszáma a legmagasabbak között van. A sok mutáció neoantigéneket eredményez a sejtek megváltozott fehérjeiben, így ezeken a daganatokon működik leghatékonyabban a mostanában terjedő immun checkpoint gátlószereken alapuló terápia. A MMR hiányának mutagén hatását is meghatároztuk sejtvonalakon, valamint újraelemedtünk sok publikált kísérletes és tumormutációs adatot. Így egy közlés előtt álló közleményben két különböző mutációs folyamatot tudunk a MMR hiányához rendelni, amelyeknek a molekuláris mechanizmusát érdemes lesz vizsgálni a jövőben.



**3. ábra. A Genomstabilitás Kutatócsoport tagjai.** Hátsó sor, balról jobbra: Póti Ádám (PhD hallgató), Dr. Szüts Dávid (csoportvezető), Gyüre Zsolt (PhD hallgató), Dr. Dan Chen (tudományos munkatárs), Dr. Szikriszt Bernadett (tudományos munkatárs), Dr. Lózsa Rita (tudományos munkatárs). Első sor: Dr. Szeltner Zoltán (tudományos főmunkatárs), Dr. Németh Eszter (tudományos munkatárs), Dr. Rusz Orsolya (résztidőben, tudományos munkatárs a Semmelweis Egyetemen).

A hibaelkerülő és hibajavító mechanizmusok vizsgálata még hosszú időre lekötheti csoportunk energiáit. A genetikai eredmények biztos támpontot adnak az egyes faktorok szerepének megállapításához, azonban a pontos

mechanizmusok meghatározásához vissza kell lépni a molekuláris szintre, fehérje-fehérje interakciók és enzimaktivitások vizsgálatával. A kísérletes és bioinformatikai megközelítések kombinációja, bár nagy kihívás, hatékony módja lehet tudományterületünk művelésének.

### Irodalomjegyzék

- [1] Szüts, D., Freeman, M., and Bienz, M. (1997) Antagonism between EGFR and Wingless signalling in the larval cuticle of *Drosophila*. *Development*, **124**: 3209-3219.
- [2] Szüts, D., Eresh, S., and Bienz, M. (1998) Functional intertwining of Dpp and EGFR signaling during *Drosophila* endoderm induction. *Genes Dev*, **12**: 2022-2035.
- [3] Christov, C. P., Gardiner, T. J., Szüts, D., and Krude, T. (2006) Functional requirement of noncoding Y RNAs for human chromosomal DNA replication. *Mol Cell Biol*, **26**: 6993-7004.
- [4] Szüts, D., and Krude, T. (2004) Cell cycle arrest at the initiation step of human chromosomal DNA replication causes DNA damage. *J Cell Sci*, **117**: 4897-4908.
- [5] Hoege, C., Pfander, B., Moldovan, G. L., Pyrowolakis, G., and Jentsch, S. (2002) RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. *Nature*, **419**: 135-141.
- [6] Higgins, N. P., Kato, K., and Strauss, B. (1976) A model for replication repair in mammalian cells. *J Mol Biol*, **101**: 417-425.
- [7]. Liberi, G., Maffioletti, G., Lucca, C., Chiolo, I., Baryshnikova, A., Cotta-Ramusino, C., Lopes, M., Pelliccioli, A., Haber, J. E., and Foiani, M. (2005) Rad51-dependent DNA structures accumulate at damaged replication forks in *sgs1* mutants defective in the yeast ortholog of BLM RecQ helicase. *Genes Dev*, **19**: 339-350.
- [8] Yeeles, J. T., Deegan, T. D., Janska, A., Early, A., and Diffley, J. F. (2015) Regulated eukaryotic DNA replication origin firing with purified proteins. *Nature*, **519**: 431-435.

- [9] Buerstedde, J. M., and Takeda, S. (1991) Increased ratio of targeted to random integration after transfection of chicken B cell lines. *Cell*, **67**: 179-188.
- [10] Szüts, D., Marcus, A. P., Himoto, M., Iwai, S., and Sale, J. E. (2008) REV1 restrains DNA polymerase zeta to ensure frame fidelity during translesion synthesis of UV photoproducts in vivo. *Nucleic Acids Res*, **36**: 6767-6780.
- [11] Pipek, O., Ribli, D., Molnár, J., Póti, A., Krzystanek, M., Bodor, A., Tusnády, G. E., Szallasi, Z., Csabai, I., and Szüts, D. (2017) Fast and accurate mutation detection in whole genome sequences of multiple isogenic samples with IsoMut. *BMC Bioinformatics*, **18**: 73.
- [12]. Helleday, T., Eshtad, S., and Nik-Zainal, S. (2014) Mechanisms underlying mutational signatures in human cancers. *Nat Rev Genet*, **15**: 585-598.
- [13] Varga, A., Marcus, A. P., Himoto, M., Iwai, S., and Szüts, D. (2012) Analysis of CPD Ultraviolet Lesion Bypass in Chicken DT40 Cells: Polymerase eta and PCNA Ubiquitylation Play Identical Roles. *PLoS One*, **7**: e52472.
- [14] Szikriszt, B., Póti, A., Pipek, O., Krzystanek, M., Kanu, N., Molnár, J., Ribli, D., Szeltner, Z., Tusnády, G. E., Csabai, I., Szallasi, Z., Swanton, C., and Szüts, D. (2016) A comprehensive survey of the mutagenic impact of common cancer cytotoxics. *Genome Biol*, **17**: 99.
- [15] Boot, A., Huang, M. N., Ng, A. W. T., Ho, S. C., Lim, J. Q., Kawakami, Y., Chayama, K., Teh, B. T., Nakagawa, H., and Rozen, S. G. (2018) In-depth characterization of the cisplatin mutational signature in human cell lines and in esophageal and liver tumors. *Genome Res*, **28**: 654-665.
- [16] Németh, E., Krzystanek, M., Reiniger, L., Ribli, D., Pipek, O., Sztupinszki, Z., Glasz, T., Csabai, I., Moldvay, J., Szallasi, Z., and Szüts, D. (2019) The genomic imprint of cancer therapies helps timing the formation of metastases. *Int J Cancer*, **145**: 694-704.
- [17] Póti, A., Berta, K., Xiao, Y., Pipek, O., Klus, G. T., Ried, T., Csabai, I., Wilcoxon, K., Mikule, K., Szallasi, Z., and Szüts, D. (2018) Long-term treatment with the PARP inhibitor niraparib does not increase the mutation

- load in cell line models and tumour xenografts. *Br J Cancer*, **119**: 1392-1400.
- [18] Gervai, J. Z., Gálicza, J., Szeltner, Z., Zámboorszky, J., and Szüts, D. (2017) A genetic study based on PCNA-ubiquitin fusions reveals no requirement for PCNA polyubiquitylation in DNA damage tolerance. *DNA Repair (Amst)*, **54**: 46-54.
- [19] Zámboorszky, J., Szikriszt, B., Gervai, J. Z., Pipek, O., Póti, A., Krzystanek, M., Ribli, D., Szalai-Gindl, J. M., Csabai, I., Szallasi, Z., Swanton, C., Richardson, A. L., and Szüts, D. (2017) Loss of BRCA1 or BRCA2 markedly increases the rate of base substitution mutagenesis and has distinct effects on genomic deletions. *Oncogene*, **36**: 746-755.
- [20] Meier, B., Cooke, S. L., Weiss, J., Bailly, A. P., Alexandrov, L. B., Marshall, J., Raine, K., Maddison, M., Anderson, E., Stratton, M. R., Gartner, A., and Campbell, P. J. (2014) *C. elegans* whole-genome sequencing reveals mutational signatures related to carcinogens and DNA repair deficiency. *Genome Res*, **24**: 1624-1636.
- [21]. Póti, A., Gyergyák, H., Németh, E., Rusz, O., Toth, S., Kovácsházi, C., Chen, D., Szikriszt, B., Spisák, S., Takeda, S., Szakács, G., Szallasi, Z., Richardson, A. L., and Szüts, D. (2019) Correlation of homologous recombination deficiency induced mutational signatures with sensitivity to PARP inhibitors and cytotoxic agents. *Genome Biol*, **20**: 240.

## **2019-BEN WILLIAM KAELIN Jr., SIR PETER RATCLIFFE ÉS GREGG SEMENZA NOBEL-DÍJAT KAPOTT A HIPOXIA JELPÁLYA FELFEDEZÉSÉÉRT<sup>1</sup>**

**Mandl József**  
**Semmelweis Egyetem**  
**Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet**

A biokémiában, molekuláris biológiában mindenki kereshet és találhat különböző rejtélyeket, izgalmakat, intellektuális örömeket.

A 2019. évi Nobel díjat olyan szabályozási rendszer felfedezéséért ítelték oda, amelynek alapvető élettani és patológiai jelentősége nehezen vitatható. A meglepetés és a furcsaság ebben a díjban nem az, hogy miért ítelték oda, hanem inkább az, hogy ez a felfedezés miért ilyen későn jött.

Az orvostudományi Nobel-díjakat sokszor nem orvosok nyerik el. Ezúttal azonban három orvos, az amerikai William Kaelin Jr., a brit Sir Peter Ratcliffe és az amerikai Gregg Semenza kapta a tudományos világ legnagyobb elismerését a molekuláris szintű szabályozások világában végzett kutatásaiért.

Minden biológia könyv úgy kezdődik, hogy az élőlények, az azokat alkotó sejtek folyamatos kapcsolatban állnak a környezetükkel, „anyagot cserélnek” vele. Az anyag/energia-csere alapjelensége, hogy oxigén jelenlétében, aerob környezetben a (táp)anyagokból nyerhető energiamennyiség jóval több, az energiatranszformáció hatékonyabb, mint nélküle. Így az aerob élőlényeknek az oxigén életfeltétele, és a környezet oxigén ellátottságának változásaihoz való folyamatos alkalmazkodás az egyik legjelentősebb követelmény. A Pasteur-effektust, az oxigénfüggő szabályozások alapjelenségét a sejtekben zajló anyagcserében a zseniális francia kutató már a XIX. században, jóval a glikolízis (a legősibb energiatranszformáció) folyamatainak részletes megismerése előtt fedezte fel.

<sup>1</sup> Az írás közzlése a Magyar Tudomány főszerkesztője engedélyével történik.

Pasteur észlelte, hogy oxigén jelenlétében kevesebb „tápanyag” kell az anyagcseréhez, mint nélküle. Számos szabályozás közvetve, vagy közvetlenül az oxigénnel függ össze a bioenergetikában, az intermedier anyagcserében és több más folyamatrendszerben. Az evolúció során ezért az oxigénellátottság a szervezet belső környezetének részévé vált. Az oxigén szállításához vörösvérsejtek, érrendszer szükséges. A sejtek az oxigén ellátottság mértékének függvényében folyamatosan rendezik át, szabályozzák fehérje szintézisüket, kisebb, vagy nagyobb mennyiségben termelik azokat a fehérjéket, amelyek a változásokhoz történő sejt- és szervezet-szintű alkalmazkodást szolgálják.

Az oxigén hiányának, a hipoxiának, mint a kóros folyamatok egyik alapjelenőségének megismerése sem sokáig váratott magára. Az oxigénellátottság csökkenése ismert betegségcsoportokkal van összefüggésben, többek között a vérszegénységgel (anémiák), a szívinfarktussal, az érpatológiával, vagy számos idegrendszeri kórképpel. Szinte hihetetlen, hogy a hipoxiához történő sejt- és szervezet-szintű alkalmazkodás molekuláris mechanizmusainak alapjai milyen sokáig maradtak ismeretlenek. A 2019. évi Nobel-díjat az eukarioták világában az eddigi legátfogóbb, alapvető élettani szabályozás molekuláris alapjainak megismeréséért végzett kutatásokért ítélték oda.

Számos molekuláris szabályozás fehérjék közötti, illetve fehérje–DNS kötődések szabályozásán alapul. Ezeket a kapcsolatokat gyakran egy kis molekula jelenléte közvetve vagy közvetlenül befolyásolja. Az oxigén ezen kis molekulák egyike. A HIF (hypoxia inducible factor) fehérje az oxigéntől függő gén kifejeződés meghatározó szabályozója. Közvetíti a „van elég/nincs elég” információt a sejt fehérje szintézisét irányító rendszeréhez. Többféle HIF van; a HIF-1 a legfontosabb a különböző HIF izoformák közül. Fontos speciális fehérjék termelődnek az oxigén ellátottságtól függően a szervezet különböző sejteiben. Vannak olyan specializált vese sejtek, amelyek például erythropoetint (EPO) képeznek. Az EPO a vörösvérsejt-képzés kulcs fehérjéje. Más sejtek VEGF (vascular endothelial growth factor) termelők, ami az érképződés legfontosabb növekedési faktora.

Mind a vörösvérsejtek, mind az erek képződése a szervezet szintű oxigénfüggő szabályozások része. A HIF felfedezéséhez elsősorban az EPO szintézisének, illetve az érképződés tanulmányozásán keresztül vezetett az út.

Közös a különböző, oxigén ellátottságtól függő, ennek mértékében képződő fehérjék szintézisének szabályozásában, hogy a HIF-1 kötődik az azokat kódoló DNS megfelelő szakaszaihoz, de ehhez be kell jutnia a fehérjét termelő sejt citoplazmájából a magjába. A HIF-1-nek két alegysége van:  $\alpha$  és  $\beta$ . HIF-1 $\beta$  bent van a magban, viszont a HIF-1 $\alpha$  a citoplazmában található. Ez a két alegység képezhet olyan dimert a sejtmagban, ami a DNS adott szakaszához kötődik. A HIF-1 $\alpha$  sorsa kétféle lehet. Oxigén jelenlétében a HIF-1 $\alpha$  megváltozik; meghatározott aminosavai – többek között prolinok – oxigénnel módosulnak, hidroxilálódnak a citoplazmában. Ennek következtében a HIF-1 $\alpha$  a hidroxilált prolinjain keresztül von Hippel-Lindau fehérjét (VHL) köt. A képződött HIF-1 $\alpha$ -VHL komplex módosul, ubikvitinálódik, majd emiatt lebomlik. (A fehérjét módosító ubikvitinációs folyamatok egyik felfedezője a karcagi származású, izraeli Avram Hersko, akinek az ezért kapott Nobel-díjáról a Magyar Tudományban már többször írtak.) Ha azonban az oxigén mennyisége nem elég a HIF-1 $\alpha$  prolinjainak hidroxilációjához, akkor a HIF-1 $\alpha$  nem bomlik le, hanem a citoplazmából a magba jut, és ott a HIF-1 $\beta$ -val társulva kötődik a DNS megfelelő szakaszaihoz. Ezzel indul az oxigén függő fehérje szintézis, többek között az EPO vagy a VEGF fehérjék termelése is. Ez az oxigén függő szabályozás működésének lényege; de az élettani és kórélettani szerepeinek és a reguláció számos más mechanizmusának felfedezése ma is tart. Jelenleg elsősorban a daganatképzésben vizsgálják a HIF rendszer különböző funkcióit. A történet folytatódik...

E szabályozás eddigi számos ága-bogának megismerése több munkacsoportban dolgozó kutató munkájának eredménye. Ezek közül emelte ki a Nobel-bizottság a három ideit nyertest. Az EPO gén kifejeződését tanulmányozta az amerikai Gregg Semenza és a brit Peter Ratcliffe: ők fedezték fel a gén oxigénfüggő kifejeződésének mechanizmusát. 1995-ben Semenza írta le a HIF-1-t. A von

Hippel Lindau kór öröklődő érdaganat. Az amerikai William Kaelin rákkutató mutatta ki, hogy ezt a betegséget a VHL gén mutációja okozza. A daganatos sejtekben nincs VHL, nincs HIF-1 $\alpha$  lebontás, ezért oxigén jelenlétében sem csökken az oxigénfüggő génkifejeződés, és akkor is lesznek új erek, ha erre semmi szükség nincsen. Kialakul az érdaganat. Ratcliffe mutatta ki a HIF-1 $\alpha$ -VHL komplex képződését és ennek alapvető szerepét a szabályozásban. A HIF-1 $\alpha$  prolin hidroxilációt Kaelin és Ratcliffe munkacsoportjai fedezték fel. Az ezt a folyamatot katalizáló prolin hidroxilázok azonosításában Ratcliffe munkacsoportja játszott döntő szerepet.

A tudomány történetében is bonyolíthatja a rejtélyeket, ha több néven ismerhetik meg ugyanazt; – az esetünkben fehérjét, és ez az azonosság – miként a kriminalisztikában is – később derül csak ki. A HIF-1 $\beta$ -t korábban a tudományos világ egy része „leánykori nevén” ARNT-nak ismerte meg. A dolgokat megérteni vágyók őszinte öröme az ARNT részben rövidítések rövidítése: Ah Receptor Nuclear Translocator. Az Ah receptor (AHR) név az aryl hydrocarbon (aromás szénhidrogén) receptor fedőneve. Az AHR többek között kis molekulású szénhidrogéneket is érzékel úgy, hogy azok hozzá kapcsolódnak. Csak akkor kötődik a DNS-hez (más szakaszaihoz, mint a HIF), ha a magban a már szénhidrogént tartalmazó AHR dimert képez az ARNT-tal. Az AHR-ARNT dimer DNS-hez történő kötődése több drog/gyógyszer metabolizmus (DM) enzim és transzporter képződését fokozza.

Az enzimológia „monogám” tudománynak indult; egy enzim, egy (illetve kisszámú) szubsztrát. Az angolszász irodalomban DM néven ismert méregtelenítő biotranszformációs enzim- (később transzporter-) rendszer lényege, hogy az abban résztvevő enzimeknek (és transzportereknek) nincs egyetlen, „igazi” szubsztrátja, hanem ugyanazok az enzimek igen sok különböző szerkezetű molekulát kötnek, alakítanak át. Éppen amiatt, hogy a DM enzimek nem specifikusak, tudunk alkalmazkodni a környezetünkben állandóan megjelenő „vegykonyhájában titkon megteszi” típusú újabb és újabb mole-



kulákhoz, mert azokat is képesek átalakítani, „méregteleníteni”. Ezt a következtetést már régen levonták, de csak az elmúlt évtizedekben ismerték fel, hogy ezeknek az enzimeknek és transzportereknek a termelését szabályozó DNS-hez kötődő fehérjék, jelentős része „árva”. Olyan receptor fehérje, amely nem rendelkezik egyetlen vagy kisszámú, hasonló szerkezetű, kis molekulásúlyú hozzá kapcsolódó ligandummal (mint például a szteroid hormonok), az „igazival”, amely kötődve a fehérjéhez (például szteroid receptorok) megváltoztatja annak szerkezetét és így többek között a más fehérjékhez vagy DNS-hez történő kötődési tulajdonságait. Az AHR esetében is csak később jöttek rá arra, hogy éppen attól igazi, mert nincs egyetlen „igazi” liganduma. (Több „árva” receptort ismerünk.) Kiderült továbbá, hogy az ARNT és a HIF-1 $\beta$  ugyanaz. Tehát az ARNT mind az AHR-rel, mind a HIF-1 $\alpha$ -val tud dimert alkotni, sőt még más fehérjékkel is. A történet folytatódik...

Ami pedig ennek a Nobel-díjnak számomra személyes vonatkozását illeti: van olyan elképzelés ( Gregg Semenza több cikke is szól róla ), hogy a HIF-hez, AHR-hez hasonló (meghatározott kémiai szerkezetet, aminosav-sorrendet tartalmazó) DNS-kötő fehérjék, - transzkripciós faktorok – a környezeti változásokhoz való alkalmazkodás eszközei. Ezen változások egyike az oxigén mennyiségének ingadozása, de ilyen például szervezetünk számára a gyógyszeresedés is. Munkacsoportunk témája sokáig a DM volt. Ez először az AHR-hez vitt el minket, majd az ezredforduló előtt az ARNT-vel kezdtünk el foglalkozni. Tragikus körülmények között, harmincévesen, 2000-ben kaliforniai autóbalesetben meghalt nagyon tehetséges, kiváló munkatársam, Braun László azért volt a UCLA-n Oliver Hankinsonnál, mert ő ARNT és Ah receptor mutánsokkal dolgozott. Mutáns sejtvonalakkal Budapesten is kísérletezhettünk. Többek között leírtuk, hogy a hipoxia-jelpálya szerepet játszik a VEGF képződés fokozásában a diabetes kitörésekor különböző szerveken spontán diabetes állatmodellben, az AHR szerepét mutattuk ki az antioxidáns C-vitamin szintézise utolsó enzimének szabályozásában, és gyógyszerkutatói célból készítettünk Hankinson különböző hepatoma mutánsaiból xenograftokat daganatképződés tanulmányozására. A

különböző jellegű környezeti hatások befolyásolhatják a hipoxia jelpályát, vagy az ahhoz hasonlókat hipotézisből indulva jutottunk el az UVB sugárzáshoz, és a bőr keratinocita sejtjeihez. Peter Ratcliffe-t – a három Nobel-díjas közül az európaikat – részben ezért is hívtam meg előadónak a 2005-ben Budapesten rendezett FEBS kongresszuson arra a szimpóziumra, amit én szerveztem. E-mail fordultával fogadta el a meghívást minden személyes ismeretség nélkül. Azt reméltem, hogy érdekelni fogja az addig nem vizsgált sugárzás, dozírozható, környezeti változás hatása a hipoxia jelpályára, az UVB sugárzás HIF-1-re és a VEGF szintézisre gyakorolt hatása keratinocitákon. Úgy éreztük, hogy szemléletileg is fontos új megfigyelésünk van. Effektusok voltak, cikketek írtunk, valamennyire idéztek is minket, de szegény Laci elment, a Hankinson-kapcsolat idővel megszakadt, és az ezen a területen közölt munkáink „igazi” visszhangok nélkül maradtak. 2005-ben a leendő Nobel-díjas besorolta az UVB HIF VEGF hatásunkat az „interesting” kategóriába; nem keltettük fel az érdeklődését.

Peter Ratcliffe-fel való kooperációnk abban volt sikeres, hogy a Margit híd budai hídfőjétől rohanva még elértünk egy Batthyány tértől induló hajót. Esti dunai hajókázással egybekötve szervezték meg a FEBS kongresszus gálavacsoráját. Ratcliffe a Rákóczi úti Metropol szállodában lakott, és kérte, hogy menjünk együtt. A Blahán, a villamos megállóban talákoztunk. Késett. A hatossal mentünk át a Margit hídon, aztán pedig futottunk. Ma már tudom, hogy a metro jobb választás lett volna. „*We made it*” kiáltott fel boldogan mosolyogva, amikor izzadtan, lihegve a hajóállomás stégjére léptünk közvetlenül a hajó indulása előtt. Azt, hogy a Nobel-díj hallatán mit mondott, nem tudom, de az is lehet, hogy ugyanezt.

*He made it* – megérdemelte.

## PEPTID-KONJUGÁTUMOK: ÚJ TÍPUSÚ FEGYVEREK A MULTIREZISZTENS BAKTÉRIUMOK ELLEN<sup>1</sup>

*Horváti Kata*  
**MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport**  
**e-mail: khorvati@elte.hu**

### Összefoglalás

A klinikai használatban lévő gyógyszerekre rezisztens patogének terjedése korunk egyik legnagyobb egészségügyi kihívását jelentik. A cikkben összefoglalom a kutatás-fejlesztés legfontosabb törekvéseit és ismertetem az antimikrobiális rezisztencia ellen irányuló kutató munkánk legújabb eredményeit.

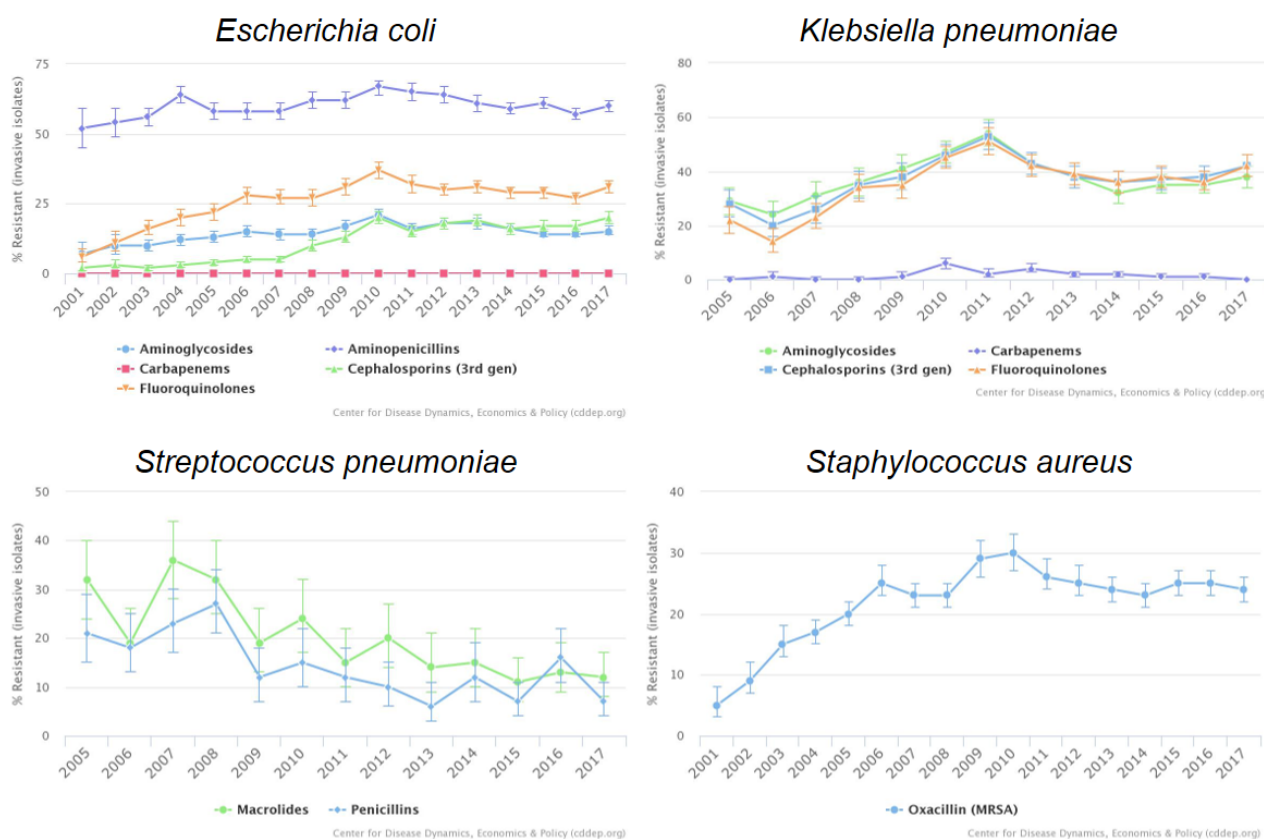
### Bevezetés

Az antimikrobiális szerekre rezisztens, illetve multirezisztens baktériumtörzsek megjelenése és terjedése egyre riasztóbb méreteket ölt és arányuk folyamatosan növekszik (1. ábra). Antimikrobiális rezisztencia természetes úton is kialakulhat a kórokozók genetikai módosulásával, de a helytelen gyógyszerhasználat miatt ez a folyamat jelentősen felgyorsult. Fontos megemlíteni, hogy a humán alkalmazás mellett az állatorvosi gyógyszerhasználat, illetve a környezet fertőtlenítésére használt szerek is nagyban hozzájárulnak a rezisztencia terjedéséhez.

Az antimikrobiális rezisztenciát 4 csoportra oszthatjuk, melyek közül az antibakteriális rezisztencia a leggyakoribb. Emellett a gombák (pl. Candidiasis), paraziták (pl. malária) és vírusok (pl. HIV) okozta megbetegedések esetén is megjelent a hatóanyag-rezisztencia. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) legfontosabb feladatai között tartja számon az antimikrobiális rezisztencia elleni küzdelmet. Jelentéseikben a leggyakrabban előforduló rezisztens baktériumok

<sup>1</sup> Horváti Kata az MTA Prémium posztdoktori kutatói program hároméves támogatását nyerte el, lásd *Biokémia XLIV. ÉVFOLYAM 3. SZÁM 2019. szeptember, 3. oldal (a szerkesztőbizottság megjegyzése).*

az *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* és *Salmonella* spp [1]. Gyakori megbetegedések, mint például a tüdőgyulladás, urológiai betegségek és posztoperatív fertőzések kezelése válik lehetetlenné a multirezisztens törzsek terjedése miatt.



**1. ábra. Antibiotikum rezisztencia Magyarországon négy kiválasztott baktérium esetében.** Forrás: The Center for Disease, Dynamics Economics & Policy. ResistanceMap: Antibiotic resistance. 2019.

A WHO külön munkacsoportokban foglalkozik a HIV, malária és tuberkulózis betegségekkel. A tuberkulózis a legtöbb halálos áldozatot (évente 1,8 millió) követelő, egyedi baktérium okozta fertőző betegség napjainkban. A 10 millió új megbetegedésből évente közel félmillió a rezisztens baktérium okozta esetek száma (2. ábra). A rezisztens törzsek 78%-a multirezisztens, tehát a kórokozó egyszerre rezisztens a két leggyakrabban alkalmazott antibakteriális szerre (Rifampicin és Isoniazid). A multirezisztens tuberkulózis (MDR-TB) kezelése hosszabb, költségesebb, jóval több mellékhatással jár és a hatékonysága is

rosszabb. Az MDR-TB esetek mindössze felénél (52%) volt eredményes a terápia [2].



**2. ábra. Multirezisztens tuberkulózis előfordulása az újonnan diagnosztizált esetek között (%).** Forrás: WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2019 – 2017 data.

A sikeres terápia érdekében szükséges, hogy újabb hatóanyagokat fejlesszünk és vonjunk be a kezelésbe (1. táblázat), viszont az újonnan kifejlesztett gyógyszerekkel szemben is gyorsan kialakulhat rezisztencia. Ez a tény nagyban visszaveti a klasszikus antibakteriális szerek gyógyszeripari fejlesztését [3].

### Kutatás-fejlesztés az antimikrobiális rezisztencia ellen

A rezisztens baktériumok ellen hatékonyan küzdhetünk: (i) védőoltásokkal, (ii) terápiás vakcinákkal és (iii) új típusú hatóanyagokkal, melyekre csak korlátozott mértékben alakul ki rezisztencia. Mindhárom csoportban találunk peptid-alapú vegyületeket. Jelenleg 150-nél több peptid-alapú vegyület van aktív klinikai fejlesztés alatt és a vegyületek közel fele elérte a fázis II. vizsgálatokat [4-5].

(i) A fertőző betegségek elleni védekezés leghatékonyabb fegyvere a védőoltás. Vannak azonban olyan baktériumok, melyek ellen jelenleg nincs védőoltás, de

gyakran megjelennek az antibiotikum rezisztens légúti megbetegedések és krónikus fertőzések kórokozójaként (pl. Staphylococcusok, *P. aeruginosa*). Fontos megemlíteni, hogy a jelenleg alkalmazott BCG védőoltás hatása sem optimális és felnőttkorban már nem véd a tuberkulózis ellen [6]. Specifikusan ezekre a törzsekre kifejlesztett vakcinákkal hatékonyan küzdhetünk a rezisztencia terjedése ellen [7].

**1. táblázat. WHO által meghatározott prioritási sorrend az antibakteriális hatóanyagok kutatás-fejlesztése számára.**

Prioritás	Baktérium	Rezisztencia
<b>Kritikus</b>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Karbapenem-rezisztens
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Karbapenem-rezisztens
	<i>Enterobacteriaceae</i>	Karbapenem-rezisztens, ESBL-termelő
<b>Magas</b>	<i>Enterococcus faecium</i>	Vankomicin-rezisztens
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Methicillin-rezisztens, Vankomicin-rezisztens
	<i>Helicobacter pylori</i> ,	Klarithromicin-rezisztens
	<i>Campylobacter spp.</i>	Fluoroquinolon-rezisztens
	<i>Salmonellae</i> ,	Fluoroquinolon-rezisztens
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cephalosporin-rezisztens, Fluoroquinolon-rezisztens	
<b>Közepes</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Penicillinre nem-érzékeny
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicillin-rezisztens
	<i>Shigella spp</i>	Fluoroquinolon-rezisztens

*Forrás: WHO (2017) Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.*

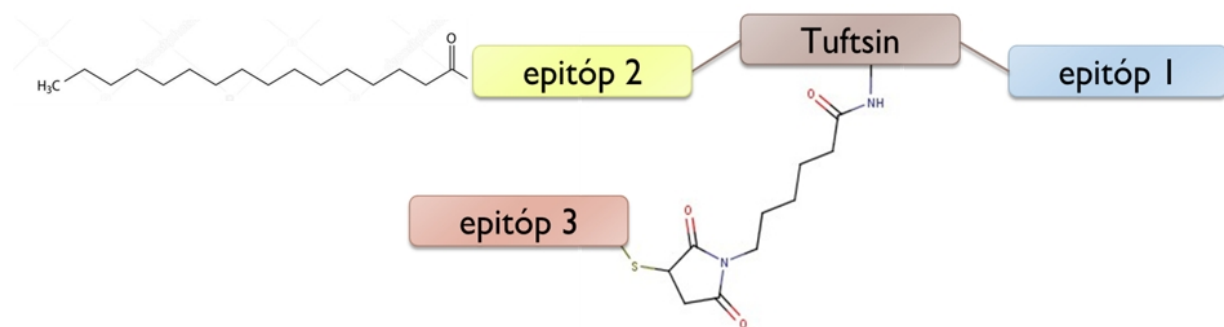
(ii) Azokban az esetekben, ahol a profilaktikus védőoltások nem alkalmazhatóak (pl. egészséges működésben is részt vevő baktériumok), illetve ahol a baktérium el tud „bújni” a gazdaszervezetben (pl. *Mycobacterium tuberculosis*), a fertőzést követő terápiás vakcinálás jó alternatívát nyújthat [6]. Az irodalomban nagyszámban találunk újonnan azonosított antigén szekvenciákat, melyeket peptidkémiai módszerek segítségével olyan formába tudunk hozni, hogy alkalmasak legyenek az immunterápiára.

### **Peptid-alapú vakcina jelöltek a tuberkulózis ellen**

A tuberkulózis kórokozója nagy antigén-diverzitást, illetve általános változékonyságot mutat (aktív-dormans állapot, normál–csökkent metaboliz-

mus, extracelluláris-intracelluláris létforma stb.), ami igen megnehezíti a betegség elleni védekezést. A tuberkulózis esetében nagy jelentőséggel bírnak azok az oltóanyag jelöltek, melyek egy preparátumban többféle immundetermináns részt is tartalmaznak, így váltva ki egy általánosabb, hatékonyabb immunválaszt a változékony kórokozó ellen.

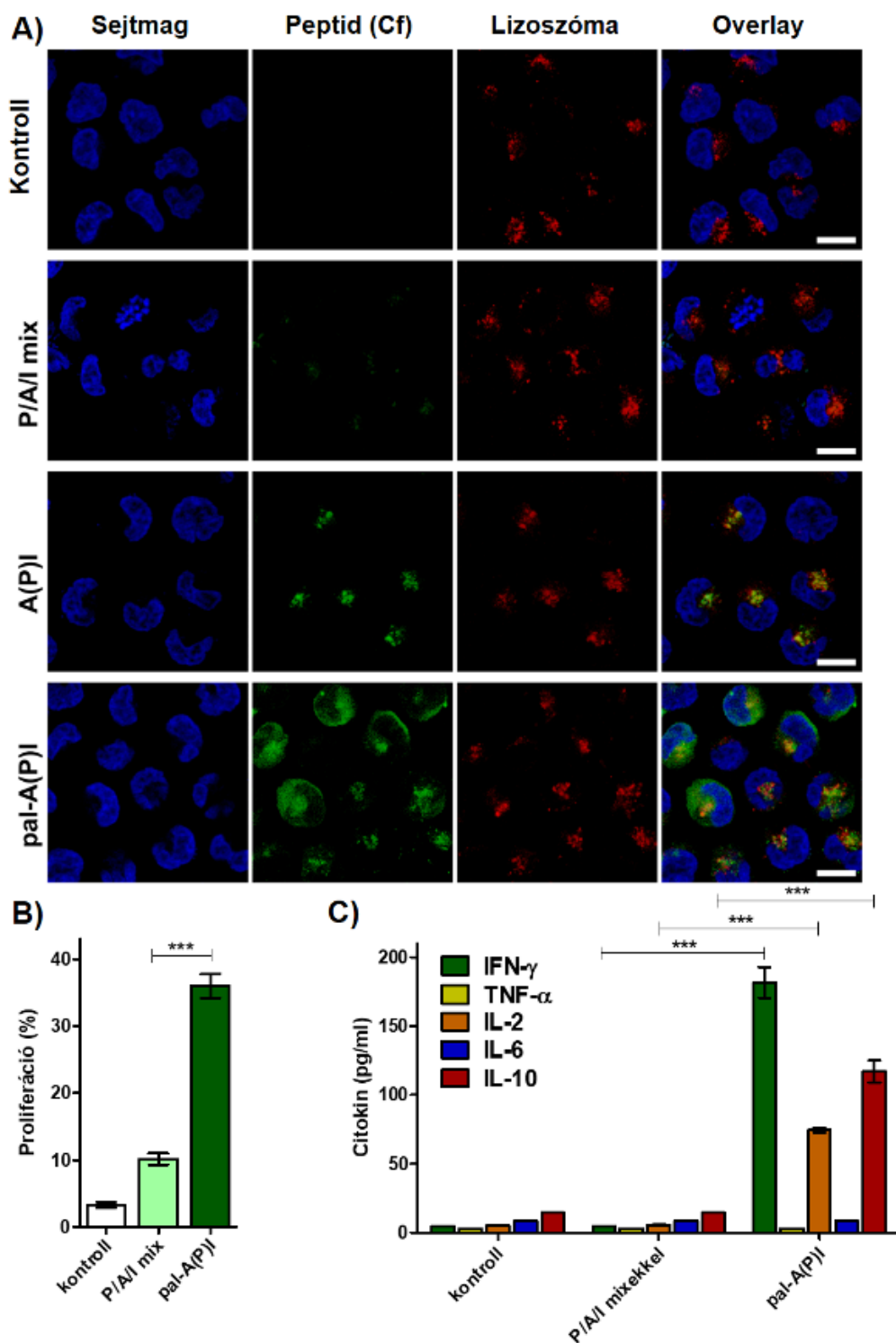
Kutatásaink arra irányulnak, hogy olyan konjugátumokat állítsunk elő, melyek egy molekulán belül 3 immundetermináns részt (T-sejt epitópot) tartalmaznak. Az epitópok a *Mycobacterium tuberculosis* által termelt immundomináns fehérjékből származtathatóak (PPE68, Ag85B és IniB) és kemoselektív ligációs technikák alkalmazásával egy peptid-hordozóhoz kapcsolódnak (3. ábra). A konjugálás célja az, hogy növelni tudjuk az epitóp peptidok sejtbejutását és immunogenitását is [9].



**3. ábra. Kutatásaink során előállított multi-epitóp konjugátumok általános szerkezete.**

Kísérleteink igazolták, hogy az alkalmazott konjugációs eljárás többszörösére növelte az epitóp peptidek sejtbejutását (4. ábra). A következőkben a konjugátumok immunogenitását vizsgálatuk. CB6F1 egereket háromszor beoltottuk (*subcutan*) a konjugátummal, illetve a megfelelő kontrollokkal, majd a lépből izolált T-sejtek proliferációs válaszát vizsgáltuk áramlási citométerrel, illetve egy gyöngy-alapú citokin esszével (LEGENDplex Mouse Th Cytokine Panel, BioLegend). Az eredmények alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy a konjugátumokkal történt immunizálást követően szignifikánsan nagyobb immunválaszt kaptunk, mint önmagukban az epitóp peptidek esetében (4. ábra). Kidolgoztunk tehát egy olyan konjugálási eljárást, melynek segítségével

növelhető az epitóp peptidek immunogenitása és ez az eljárás más korokozóhoz köthető epitópokra is alkalmazható lehet a jövőben [9].

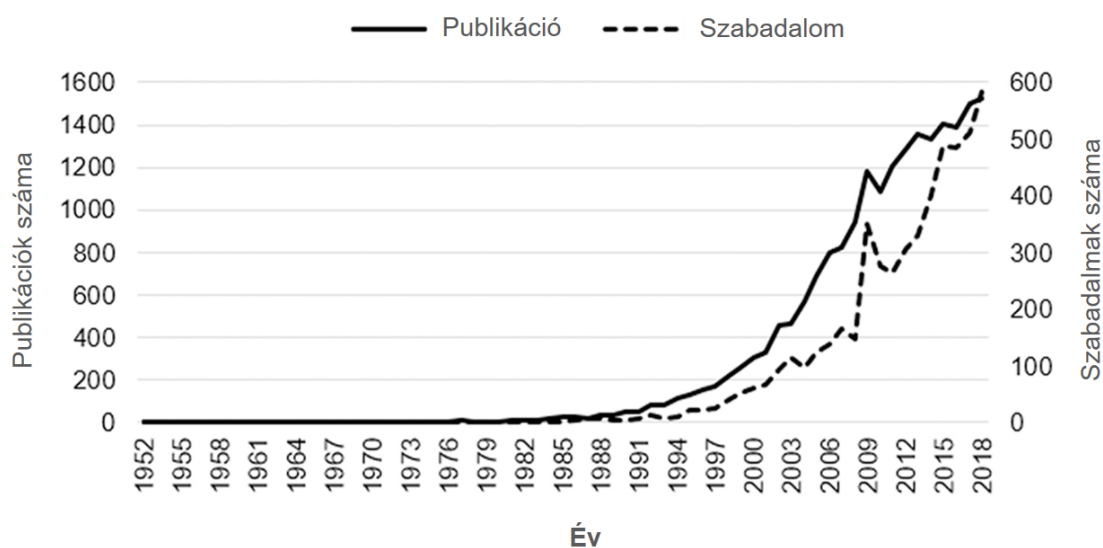


**4. ábra. Vakcina-konjugátumok sejtbejutása és immunogenitása.** Konfokális mikroszkópos felvételek az epitóp peptidek keverékével (P/A/I mix) és a konjugátummal (pal-API) kezelt MonoMac-6 sejtekről (A). Az immunizált egerek lépsejtjeinek antigén-specifikus proliferációja (B) és a sejtek citokin válasza (C).



## Antimikrobiális peptidek

A törzsfejlődés legősibb védekező mechanizmusában vesznek részt az antimikrobiális peptidek (AMP). Az AMP-k többmillió éve fejtik ki hatásukat a mikróbák ellen, rezisztencia azonban nem, vagy csak korlátozott mértékben alakul ki velük szemben. Kézenfekvő, hogy ezeket a peptid típusú vegyületeket használjuk a klinikumban a rezisztens baktériumok ellen [8]. A természetben található szekvenciák azonban nem alkalmazhatóak közvetlenül a terápiában, mert gyakran nem elég szelektívek, hemolitikus és citotoxikus mellékhatásaik vannak és gyorsan lebomlanak a szervezetben. Fontos kutatási terület ezért, hogy a természetes AMP-ket módosítsuk pl. nem-természetes aminosavak, foldamerek beépítésével, illetve formulázzuk azokat a jobb biodisztribúció elérése érdekében. A terület fontosságát jelzi, hogy jelenleg számos peptid-alapú antibakteriális vegyület vizsgálata van klinikai fázisban (5. ábra).

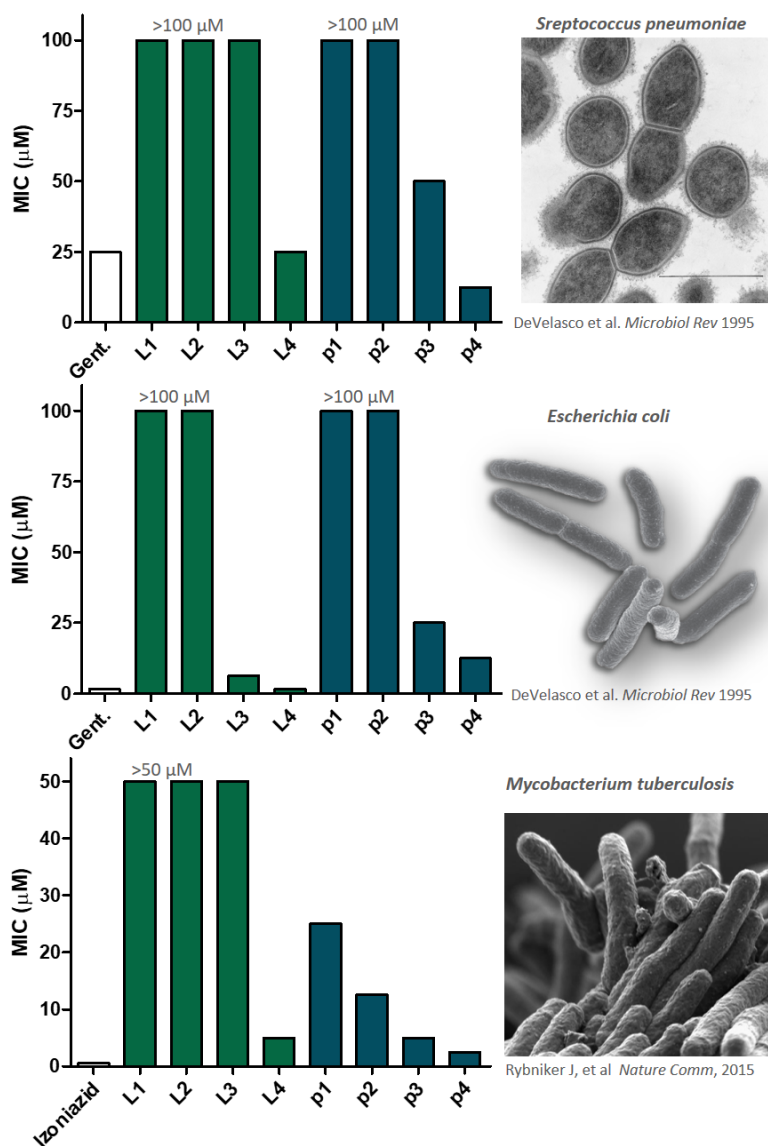


**5. ábra. Antimikrobiális peptidekkel foglalkozó publikációk és szabadalmak száma (évenkénti megjelenés).** Forrás: *Peptide Science*, **2019**: 111(5).

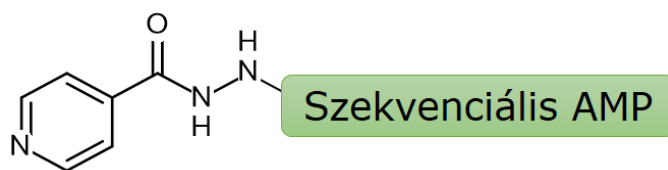
Kutatásaink során kiemelkedő antimikrobiális hatással rendelkező szekvenciális oligopeptideket fejlesztettünk, melyek hatékonyak bizonyultak Gram -, Gram + baktériumok, valamint mycobacteriumok ellen is (6. ábra).

Az újonnan fejlesztett szekvenciális oligopeptideket hordozóként is alkalmaztuk

és egy régebbi munkánkban kidolgozott szintézismódszer [10] segítségével Izoniazid hatóanyag konjugálására használtuk.



**6. ábra. Újonnan fejlesztett szekvenciális oligopeptidek antibakteriális hatása és a baktériumok mikroszkópos és elektronmikroszkópos képe. (Gent: Gentamycin, L1-p4: a peptidek kódja).**



**7. ábra. Az Izoniazid-peptid konjugátumok szerkezete.**

Így olyan peptid-konjugátumokhoz jutottunk, melyek egy molekulán belül kétféle hatásmechanizmussal rendelkeznek: az antibakteriális peptid sejtfal roncsoló hatása kombinálódik a kismolekula intracelluláris hatásával.

A vegyületeket *M. tuberculosis* baktériummal fertőzött monocita típusú sejteken, mint makrofág modellen vizsgáltuk.

Kísérleteink bizonyították, hogy míg a szabad Isoniazid hatástalan az intracelluláris baktérium ellen, az AMP-vel konjugált forma nagymértékben hatásos [11-12]. Jövőbeni terveink között szerepel ezeknek a vegyületeknek a tesztelése rezisztens és multirezisztens baktérium kultúrákon, valamint vizsgálni kívánjuk az esetlegesen kialakuló rezisztencia mechanizmusát is.

### Irodalomjegyzék

- [1] Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance 2014. World Health Organization; 2014.
- [2] Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019.
- [3] Theuretzbacher, U. et al. (2019) Analysis of the clinical antibacterial and antituberculosis pipeline. *Lancet Infect Dis*, **19 (2)**: e40-e50.
- [4] Lau, J.L., Dunn, M.K. (2018) Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions. *Bioorg Med Chem*, **26 (10)**: 2700-7.
- [5] Mok, W.W., Li, Y. (2014) Therapeutic peptides: new arsenal against drug resistant pathogens. *Curr Pharm Des*, **20 (5)**: 771-92.
- [6] Kaufmann, S.H., Hussey, G., Lambert, P.H. (2010) New vaccines for tuberculosis. *Lancet*, **375 (9731)**: 2110-9.
- [7] Jansen, K.U., Knirsch, C., Anderson, A.S. (2018) The role of vaccines in preventing bacterial antimicrobial resistance. *Nat Med*, **24 (1)**: 10-19.
- [8] Nuti, R., Goud, N.S., Saraswati, A.P., Alvala, R., Alvalam M. (2017) Antimicrobial Peptides: A promising therapeutic strategy in tackling antimicrobial resistance. *Curr Med Chem*, **24 (38)**: 4303-14.
- [9] Horváti, K., Pályi, B., Henczkó, J., Balka, G., Szabó, E., Farkas, V.,

- Biri-Kovács, B., Szeder, B., Fodor, K. (2019) A convenient synthetic method to improve immunogenicity of *Mycobacterium tuberculosis* related t-cell epitope peptides. *Vaccines*, **7 (3)**: E101.
- [10] Horváti, K., Mező, G., Szabó, N., Hudecz, F., Bősze, S. (2009) Peptide conjugates of therapeutically used antitubercular isoniazid-design, synthesis and antimycobacterial effect. *J Pept Sci*, **15 (5)**: 385-91.
- [11] Horváti, K., Bacsa, B., Kiss, E., Gyulai, G., Fodor, K., Balka, G., Rusvai, M., Szabó, E., Hudecz, F., Bősze, S. (2014) Nanoparticle encapsulated lipopeptide conjugate of antitubercular drug isoniazid: *in vitro* intracellular activity and *in vivo* efficacy in a Guinea pig model of tuberculosis. *Bioconjug Chem*, **25 (12)**: 2260-8
- [12] Horváti, K., Bacsa, B., Mlinkó, T., Szabó, N., Hudecz, F., Zsila, F., Bősze, S. (2017) Comparative analysis of internalisation, haemolytic, cytotoxic and antibacterial effect of membrane-active cationic peptides: aspects of experimental setup. *Amino Acids*, **49 (6)**: 1053-67.



**Horváti Kata** az Eötvös Loránd Tudományegyetemen végzett 1998-ban okleveles vegyészként. Doktori munkáját Bősze Szilvia témavezetésével az MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoportban végezte, melynek azóta is tagja. 2015-2018 között Bolyai János Kutatási Ösztöndíjas volt, 2019-től MTA Prémium Posztdoktori kutató. 2017-ben elnyerte az Akadémiai Ifjúsági Díjat. A 2019-ben induló BactiVax konzorcium tagja (H2020-MSCA-ITN), melynek fő kutatási célja multirezisztens bakteriumok elleni vakcinák fejlesztése.

**MEGHÍVÓ A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET  
2020. ÉVI VÁNDORGYŰLÉSÉRE  
PÉCS, 2020. AUGUSZTUS 27-30.**

*Kedves Kolléga!*

Örömmel értesítjük, hogy a Magyar Biokémiai Egyesület Pécssett, az Általános Orvostudományi Karon (Szigeti út 12.) rendezi meg 2020. évi Vándorgyűlését augusztus 27-30 között.

Ez, a nevezzük 0. bejelentésnek leginkább figyelemfelhívó szándékú. Ezért elnézést kérek azoktól a szorgalmas kollégáktól, akik már most jelentkezni akartak, hogy sajnos létfontosságú információk egyelőre nekem sem állnak rendelkezésemre. Biztosnak tűnik, hogy a konferencia hivatalos nyelve az angol részben a nem nagy számú, de létező külföldi résztvevővel szembeni udvariasság jegyében. Szintén biztos, hogy az újonnan alakult Proteomikai Szakosztály tart egy szekciót, illetve lesz lehetőség párhuzamos szekciók tartására. A program a megszokott séma szerint kerül lebonyolításra, a szekciók összeállítása a beérkezett előadás kivonatok alapján történik. A konferencián előadással, illetve poszterrel lehet részt venni. A plenáris előadók a tématerület nemzetközileg elismert szakemberei lesznek.

A Vándorgyűlés szervezésben a Diamond Congress Kft. (<http://www.diamond-congress.hu/>) lesz a segítségünkre.

A konferenciával kapcsolatos információk, regisztráció (**határidő: május 15.**) és absztraktfeltöltés (**határidő: június 15.**). A honlap remélhetőleg hamarosan rendelkezésre áll.

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

A szervező bizottság nevében baráti üdvözlettel,

*Gallyas Ferenc  
főszervező  
Pécsi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet  
[ferenc.gallyas@aok.pte.hu](mailto:ferenc.gallyas@aok.pte.hu)*

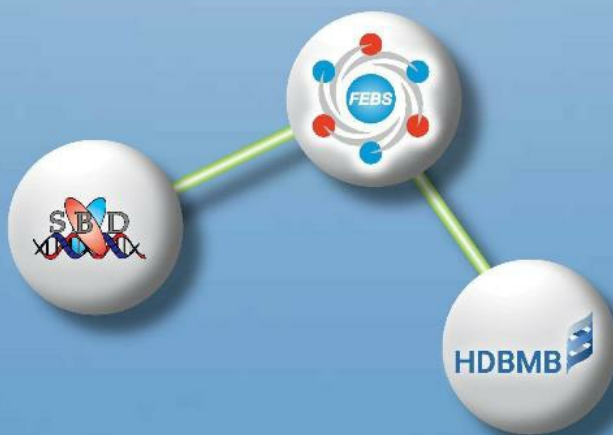


# FEBS 2020

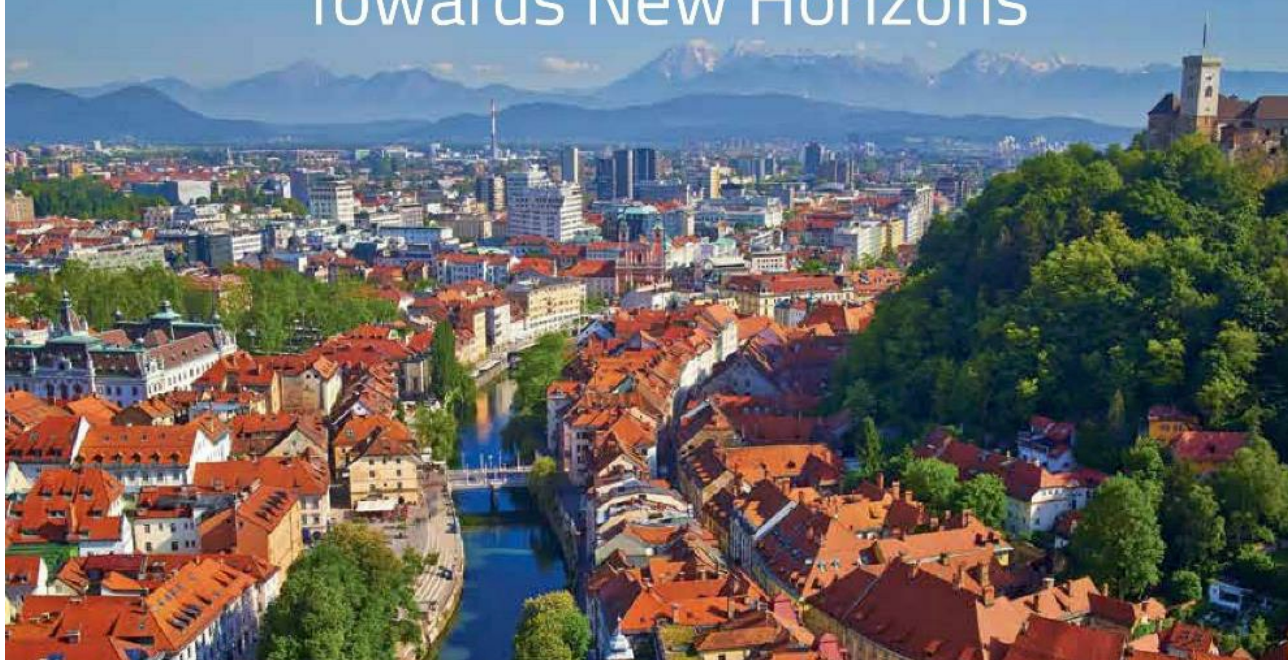
## THE 45<sup>TH</sup> FEBS CONGRESS

4-9 JULY 2020

LJUBLJANA SLOVENIA



### Molecules of Life: Towards New Horizons



**BEMUTATKOZIK AZ EURÓPAI BIOKÉMIAI EGYESÜLET  
OKTATÁSI BIZOTTSÁGÁNAK OKTATÁSI NAGYKÖVETI  
SZERVEZETE (FEBS EDUCATION COMMITTEE,  
EDUCATION AMBASSADORS)**

***Kiricsi Mónika<sup>1</sup> és Dux László<sup>2</sup>***

***<sup>1</sup> Szegedi Tudományegyetem, TTK,  
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék***

***<sup>2</sup> Szegedi Tudományegyetem, ÁOK, Biokémiai Intézet***

Minket ért az a megtiszteltetés, hogy képviselhetjük Magyarországot az Európai Biokémiai Egyesület (FEBS) Oktatási Bizottsága (Education Committee) által néhány éve kialakított Oktatási Nagyköveti Szervezetben (Education Ambassadors). Dux László a FEBS Oktatási Bizottságának tagjaként, Kiricsi Mónika a Magyar Biokémiai Egyesület (MBKE) által delegált nagykövetként vesz részt a szervezet munkájában, melynek célkitűzéseit, feladatait és tevékenységét szeretnénk most megismertetni és ennek révén elősegíteni a szervezet által megfogalmazott eredmények és tapasztalatok disszeminációját.

A FEBS Oktatási Bizottsága 2015-ben határozta el, hogy kiépít egy új szervezetet, ahová az egyes FEBS tagországok oktatási nagyköveteket delegálhatnak. A szervezetet az a cél hívta életre, hogy az Oktatási Bizottság megismerhesse az egyes európai országok speciális, főként ország-specifikus biokémiai és molekuláris biológiai (Molecular Life Sciences) oktatási problémáit. Továbbá, célul tűzték ki az azonosított oktatási problémák széles körben történő megvitatását, annak érdekében, hogy javaslatot adhassanak azok megoldásának gyakorlati lehetőségeire. A szervezetbe az európai országok Biokémiai Egyesületei delegálnak képviselőket, akik minden évben egyszer egy közös konferencia keretében vitatják meg a fontosabb kérdéseket. Jelenleg több mint 30 ország delegáltjai alkotják a nagykövetek szervezetét. A szervezet alapítója, Gül Güner Akdogan professzor asszony, a FEBS Oktatási Bizottságának akkori elnöke volt, aki felismerte a pán-európai oktatási kihívások ország-specifikus azonosításának szükségességét. A 2018-ban, az Oktatási

Bizottság éléről leköszönő elnökasszony munkáját honfitársa, a szintén török Ferhan Sagin professzor asszony folytatja. Mindketten jelentős szerepet vállaltak nem csupán a FEBS Oktatási Bizottságának tevékenységében, hanem az oktatási nagyköveti szervezet munkájának koordinálásában, a nagykövetek évenkénti konferenciájának megszervezésében. Az első nagyköveti találkozót 2016-ban tartották Prágában, melyen Magyarországról Dux László professzor vett részt a FEBS Oktatási Bizottságának tagjaként, a következő nagyköveti találkozók feladatiban, 2017-ben Párizsban, 2018-ban Zágrábban, majd 2019-ben Tbilisziben Dux László mellett, már Kiricsi Mónika oktatási nagykövet is közreműködött.

A nagyköveteket már az első találkozó alkalmával tematikus csoportokba osztották. A találkozók során ezek a tematikus csoportok specifikus oktatási témákat dolgoznak fel, majd ezekről jelentést készítenek. Gyakran a problémák analizálása, és azok megvitatása a nagyköveti találkozókra túl is folytatódik a FEBS Network internetes oldalon, ahol a nagyköveteknek kialakított csoportban aktív munka folyik az év többi részében is. Ezen a felületen nem pusztán tematikus csevegés bonyolódik, hanem a csoportok feladataihoz kapcsolódó segédanyagok fel- és letöltésére, a jelentések folyamatos módosítására is lehetőség nyílik. Ez a felület teret adott már egy közös oktatásfejlesztési uniós pályázati anyag kidolgozásához is. A FEBS Network elérhető a <https://network.febs.org> címen, magyar képviselője Kristóf Endre Károly (Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet). A Network egyik felületén (Educator) oktatással kapcsolatos segédanyagok, tematikus előadások videófelvevételei, laboratóriumi gyakorlatok leírásai és számos animáció érhető el, melyeket élettudományi területen oktató kollégák szabadon felhasználhatnak. A FEBS Network egy másik felülete a fiatal kutatókat célozza meg (Early-career scientist), mivel ez olyan speciális információkat tartalmaz, melyek elsősorban posztdoktorok, PhD hallgatók és végzés előtt álló egyetemi hallgatók számára lehetnek hasznosak. A Network felületén megtalálhatók kutatási témák, technikák ismertetései, továbbá tudományos interjúk



kiemelkedő és elismert kutatókkal (Research). A Network legtöbb tartalma nyitott mindenki számára, vannak azonban privát fórumok is, mint amilyen az Oktatási Nagykövetek csoportjáé, amelynek tartalmát csak a meghívott és engedéllyel rendelkező kollégák láthatják.

A nagykövetek konferenciáján a tematikus csoportok feladata megvitatni, és ha ez lehetséges, akkor meghatározni a molekuláris élettudományokból diplomát szerző egyénektől elvárt alapvető ismereteket és képességeket (Key knowledge & skills expected from a molecular life sciences graduate; Koordinátorok: Frank Michelangeli, Jason Perrett, Keith Elliot). Az oktatási nagykövetek egy másik csoportja azt vizsgálja, hogy melyek a bevált oktatási gyakorlatok ismérvei (Good practices on education; Koordinátorok: Jean-Luc Societ, Lucien V. de Mello, Winnie Eskild), illetve, hogy hogyan javítható az oktatási nagykövetek és a FEBS Oktatási Bizottsága által kidolgozott javaslatok kommunikációja az egyes országok szakminisztériumai felé (Promotion of Ambassadors' educational activities & communication with the ministries and stakeholders; Koordinátorok: Dux László, Gül Güner Akdogan). A negyedik munkacsoport a különféle oktatási segédanyagokkal és azok elérhetőségének javításával foglalkozik (Learning resources; Koordinátorok: Angel Herraes, Ferhan Sagin). A koordinátorok segítik az egyes csoportok munkáját előzetesen lefektetett elvek, célok és gyakorlati tapasztalatok alapján, valamint konkrét tematikus kérdések felvetésével. A munkacsoportok megállapodnak az adott témához kapcsolódó rövid- és hosszútávú célokban és feladatokban, szétosztják a részfeladatokat, és meghatározzák azok teljesítésének határidejét. Majd mindegyik csoport előadja a többi oktatási nagykövet előtt a megfogalmazott célokat és feladatokat, a munkacsoport kerekasztal beszélgetéseinek eredményét. A csoportok összetétele nem változik jelentősen, így egy adott évben a csoporttagok által kialakított elvek, eredmények az adott témakörökről a konferencia befejeztével akár éveken átívelően is érvényesülhetnek. A FEBS Oktatási Bizottsága, ezen keresztül az Oktatási Nagykövetek testülete is, szoros együttműködésben

dolgozik a FEBS Integrációs munkacsoportjával (elnöke Jerka Dumic), illetve az Advanced Course Bizottsággal is (elnöke Vértessy Beáta).

Az Oktatási Bizottság és az Oktatási Nagykövetek testülete minden évben hozzá járul a FEBS saját, illetve a FEBS/IUBMB közös konferenciák programjához, oktatási szekciók, kerekasztalok megszervezésével is. Ezeket többnyire jelentős számban hallgatják meg a nagy konferenciák - egyébként oktatás iránt kevésbé fogékony, kutatás orientált - résztvevői is, csökkentve ezzel a két szorosan egymásra épülő tevékenység indokolatlan szétválasztását, netán szembeállítását.

A nagyköveti konferenciák természetesen teret adnak önálló előadásoknak is, ahol az előadók különféle oktatási technikákkal kapcsolatos egyéni vagy országos tapasztalatokat osztanak meg. Az elmúlt évek során összefoglaló előadást hallhattunk a kiscsoportos tanulás („team-based learning”) előnyeiről és hátrányairól. Például részletesen ismertettek egy olyan kurzust, melyben a hallgatók kisebb csoportokban, esettanulmányokon keresztül, tankönyvek, nyílt adatbázisok és honlapok adatainak segítségével dolgoztak fel a tumorbiológia és kemoterápia témakörébe tartozó feladatokat. A tapasztalatok alapján megállapították, hogy a kiscsoportos feladatok előtt három vagy négy átfogó tantermi előadás elengedhetetlen a témakör alapkérdéseinek és alapvető tudásanyagának elsajátításához, valamint a kurzus végén egy közös gyakorlati foglalkozásra is szükség van az eredmények összegzéséhez, az általános következtetések levonásához. Viszont a kurzus végére a diákok képesek voltak szisztematikusan megközelíteni egy klinikai problémát, megismerni annak hátterét, véleményt formálni a felmerülő megoldási lehetőségekről és megkülönböztetni az információt a véleménytől.

Számos előadás szólt az oktatási munka értékelésének felméréséről és a visszajelzés jelentőségéről („assessment and feedback”). Több kolléga fejtette ki azon véleményét, hogy országában és intézményében semmilyen konkrét

visszajelzés nem érkezik oktatási munkájuknak arról az aspektusáról, hogy mennyire volt ez objektíven hasznos, mit kellene változtatni a nagyobb hatékonyság és az így megszerzett ismeretek alkalmazhatóságának érdekében. Más országokban viszont a hallgatók véleménye jelentősen befolyásolja, formálja az oktatói munkát és az oktatásra, mentorálásra fordított idő arányait. De több előadás érintette az alapképzésben résztvevő hallgatók kutatási tevékenységének lehetőségeit és annak szükségességét („undergraduate research”). Más országokhoz képest, a magyar tudományos diákköri munka rendszere komoly lehetőségeket biztosít a hallgatók magas színvonalú, profi kutatói munkába való bevonására. Számos prezentáció tekintette át, hogy milyen oktatási stratégiák, módok lennének a leghasznosabbak a bio-medicinális tudományterületen. Ezek a stratégiák viszont országonként rendkívül eltérőek, az anyagi lehetőségek és a hallgatói létszámok jelentős korlátot szabnak a módszerek translációjának. Egy érzékeny téma az oktatók oktatása, azaz az egyetemi oktatók továbbképzése és ennek szükségessége vagy sürgőssége. Fontos továbbá az is, hogy az új hallgatói generációk a legmodernebb technikákkal is megismerkedjenek, hiszen valószínűleg munkájuk során már ezeket alkalmazzák majd. Az oktatóknak és a hallgatóknak egyaránt lépést kell tartaniuk ezekkel az innovatív eljárásokkal, viszont ezeknek a technikáknak a hallgatói gyakorlatokba történő integrálására ritkán van lehetőség.

Kiemelt témakör számos országban, hogy milyen módon aknázható ki az internet a fiatal korosztály élettudományok iránti érdeklődésének felkeltésére. Az Egyesült Királyság Biokémiai Egyesülete pont egy ilyen kezdeményezésre hozta létre a [www.biochemistry.org](http://www.biochemistry.org) internetes oktatás segítő anyagokat felvonultató oldalt, melyet elsősorban középiskolások és fiatal egyetemisták számára indítottak. A molekuláris élettudományok területén ma már elengedhetetlen bizonyos internetes adatbázisok ismerete, azok rutinszerű használata, ezért ezen adatbázisoknak a megismertetése a BSc szintű biokémia és molekuláris biológia oktatás gyakorlatának kötelező eleme kell, hogy legyen.

Mivel a hallgatók ma már nemcsak nyomtatott könyvekből, hanem internetes forrásokból, e-book-okból tanulnak, YouTube videókat néznek, podcast-okat hallgatnak és ismereteiket gyakran nem a tantermi előadásokon sajátítják el, meg kell próbálni ezeket a lehetőségeket úgy használni és felhasználni, hogy az az oktatók érdekeit is szolgálják, és a technológia ne ellenünk, hanem mellettünk dolgozzon. Erre lehetőséget teremthetnek például a netes kurzusfórumok, ahol a hallgatók egymással is és az oktatókkal is kommunikálhatnak, továbbá minél több elektronikus oktatási anyag kidolgozása és a meglévő anyagok fejlesztése is segítheti a tananyag disszeminációját a legfiatalabb generációk felé.

A nagyköveti találkozók igen hasznosak abban a tekintetben, hogy felhívják a figyelmet a biokémia, a molekuláris élettudományok oktatásának lokális és globális problémáira, ötletet adhatnak innovatív oktatási módszerek bevezetésének körülményeiről, feltételeiről és azok megvalósítási módjáról. A szükséges változás és változtatás a biokémia, de más élettudományi területek oktatásában, kiváltképp az internetes generációk igényeihez történő adaptáció, anyagi és erkölcsi támogatás nélkül nem valósulhat meg. Ezért szükséges az európai, valamint az egyes országok oktatásirányításért felelős szerveinek (pl. EU illetékes bizottságai, oktatási minisztériumok) együttműködése az oktatás modernizálásában.

A FEBS Oktatási Bizottsága, az Oktatási Nagykövetek bevonásával, 2018-tól új lehetőséget nyitott az egyes nemzeti társaságok oktatással kapcsolatos saját rendezvényeinek anyagi támogatására. Az egyenként 1500 Eurós támogatást évente 4 ország pályázata nyerheti el, melyből fedezni lehet a rendezvény kiadásait, valamint a vendégelőadók meghívásának költségeit. Magyarországon a MBKE utoljára 2014-ben tartott oktatási workshopot a Debreceni Egyetemen egy TÁMOP pályázat keretében. Érdemes lenne megfontolni ismét egy FEBS által támogatott oktatási munkaértekezlet megszervezését a közeli jövőben. Továbbá, időszerűnek látszik a hazai oktatói gárda véleményének megismerése

is a biokémia, molekuláris biológia vagy még általánosabban, az élettudományok oktatásának jelenlegi helyzetéről, illetve továbbfejlesztési lehetőségeiről.





## **FELHÍVÁS**

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

***a 2019-ben a FEBS Letters, FEBS Journal, FEBS Open Bio, Molecular Oncology, TIBS, IUBMB Life, FASEB Journal újságokban megjelent, valamint***

***IF > 8 (a 2018/2019-es SCI szerinti) cikkek listáját.***

**Beküldési határidő:**

**2020. február 15.**

A listát Szűcs Mária főszerkesztőnek kérjük beküldeni a [szucs.maria@brc.hu](mailto:szucs.maria@brc.hu) e-mail címre.

*Ilyen az ember. Egyedüli példány.  
Nem élt belőle több és most sem él,  
s mint fán se nő egyforma két levél,  
a nagy időn se lesz hozzá hasonló....  
(Kosztolányi Dezső: Halotti beszéd)*

**In memoriam  
PROF. WOLLEMANN MÁRIA  
(1923-2019)**



2019. október 5-én, életének 97. évében elhunyt Wollemann Mária, az orvostudományok doktora, az MTA Szegedi Biológiai Központ (SZBK) Biokémiai Intézetének egykori igazgatója, emblematikus alakja, Szeged díszpolgára. Kivételes egyéniség és kutató volt, nyitott, szabad szellem.

Örök igazság, hogy aki megszületik, az előbb-utóbb meg is hal. Mégis abban bízunk, hogy Mária örökké velünk marad. Hiszen annyi életerőt sugárzott: vasárnaponként uszodába járt, még idén augusztusban is fürdött a Balatonban, tavaly is részt vett egy gyógyszergyári konferencián, a Tankó Béla életműdíj átvételekor 93 évesen előadást tartott a Magyar Biokémiai Egyesület konferenciáján, amit publikált (Wollemann M. (2016) *Biokémia*, XL/4: 5-17.) Fizikai állapota az utolsó három hónapban megromlott, de legendás szellemi aktivitása nem hagyta cserben; mentővel történő beszállítása másnapján a klinikán a *Nature* egyik lapszámát olvasta.

Egész életében a természet, az élővilág megfigyelése, megértése izgatta, ebből táplálkozott tudományos kutatómunkája is. Így vallott erről a 80. születésnapja tiszteletére megjelent kötetben: „The aim of my life is to study the Nature” (Wollemann M. (2003) *Acta Biologica Hungarica*, 54/2: 139–146). Bár orvos-egyetemre járt, a világháborús években részben Budapesten, részben Szegeden, már egyetemi éveiben elköteleződött a megismerés, a kutatás és a tudomány szeretete mellett. A szegedi egyetemen nagy hatással volt rá a Szent-Györgyi Albert rektor által képviselt szabadság és humanizmus szelleme. Kutatói pályájának egyik meghatározó szakasza volt az Országos Idegsebészeti



Intézetben töltött bő másfél évtized, ahol az agytumороk biokémiájával foglalkozott. 1968-ban meghívták a Szegeden épülő MTA Biológiai Központ Biokémiai Intézetébe csoportvezetőnek, amelyet Straub F. Brunó főigazgató irányított. A „prof” szellemiségét, vezetői stílusát nagyon imponálónak tartotta. Tőle vette át azt a szállóigét, amelyet Wollemann Mária gyakran mondott jelen sorok írójának, mint közvetlen munkatársának/tanítványának pályakezdő kutató korában: „Teher alatt nő a pálma”.

Wollemann Mária az SZBK-ban vált a hazai receptorkutatás egyik megteremtőjévé, elindította a sejtfelszíni jelfelfogó fehérjék, a receptorok neurokémiajának tanulmányozását, kezdve a béta-adrenerg receptor szívizomból, majd patkány agyból történő tisztításával. Tanulmányozta az adenilcikláz enzimék és protein kinázok működését is. A hetvenes évek végén, az endogén opioid peptidok és az opioid receptorok felfedezése után beindult világméretű érdeklődéssel egyidőben munkatársaival megkezdte az SZBK-ban azóta is folyó opioid receptor kutatást. Magyarországon az elsők között vezették be az ún. „radioreceptor assay”-t, a világon elsőként béka agyból a kappá opioid receptort homogenitásig tisztítottuk és azt felismerő monoklonális anti-testet állítottunk elő. Wollemann Mária munkáját több kitüntetéssel ismerték el, így az Akadémiai Díj 1977, Munka Érdemrend arany fokozata 1983, Magyar Köztársasági Érdemrend Tisztikeresztje (polgári fokozat) 1994, Magyar Köztársasági Érdemrend Középkeresztje 2003, Tankó Béla életműdíj 2016 és az Eötvös József-koszorú 2017 díjazottja volt.

1985-ben ugyan hivatalosan nyugdíjba ment, de a legutóbbi időnkig naponta bejárt az intézetbe, télen-nyáron, ünnepnapokon is. Cikket írt, olvasott, előadásokra járt, naprakészen követte a szakirodalmat, érdekelték az újdonságok. Tudásszomja túlmutatott a saját kutatási területén és a folyosón megállítva gyakran felhívta intézeti kollégái figyelmét egy-egy friss, vagy érdekes közleményre. Még az orvosnál várakozva is tudományos közleményt olvasott. A cikkek kicsit összegyűrve, szanaszét heverték a dolgozószobájában, de ő mindig

kiigazodott a látszólagos rendetlenségben. Nota bene, szépirodalmat is szívesen olvasott.

Több mint 130 tudományos közleménye jelent meg, ebből több mint 60 hivatalos nyugdíjba menetele után. Az általa „aranycsapat”-nak nevezett kollektívából a 90-es években több önálló munkacsoport lett, de Mária továbbra is jelen volt a mindennapjainkban és szívesen osztotta meg velünk bölcs tanácsait. Egykori munkatársaiból öten lettünk az MTA doktorai, a tágabb „receptoros” munkaközösségében mintegy negyven egyetemi doktori vagy PhD disszertáció született.

Szerette a kihívásokat, a nem-konvencionális utakat a munkájában és magánemberként egyaránt. Vele mindig történt valami rendkívüli, legendás sztorijait maga is szívesen megosztotta másokkal, akár egy rendhagyó ünnepi beszéd keretében is. Büszke volt arra, hogy a véleményét mindig kimondta. Nyitott, széles látókörű, nagy általános műveltséggel rendelkező ember volt, aki a mókában is benne volt, akár önmagát is kifigurázta. Hét idegen nyelven tudott, idéző képessége, memóriája, szellemi aktivitása lenyűgöző volt.

Büszke volt matematikus lányára, Évára és érsebész unokájára, Gerdára, valamint az idén tavasszal született dédunokájára, Vincére. Szerette a természetet, az állatokat; négy angol szettere évtizedeken át a laborélet mindennapos vendége volt. Több évtizedig szabadidejét a Szeged melletti tanyáján, a természetben töltötte. Szívesen madarászott, még szonogramokat is készített és publikált fiatalabb korában. Az emberi nagysághoz letisztultság, póztalanság társult. Egykori és mai munkatársai haláláig látogatták, támogatták.

Kedves Mária! Munkásságod, szellemiséged bennünk él, emlékedet szeretettel és kegyelettel megőrizzük!

*Szűcs Mária*



*BIOKÉMIA  
XLIII. évfolyam 4. szám 2019. december*