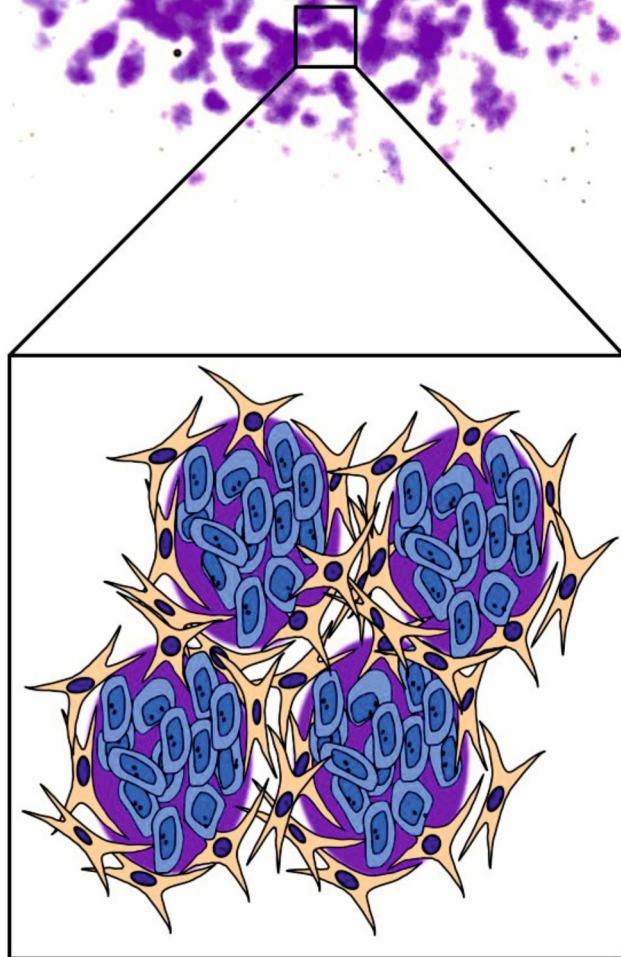
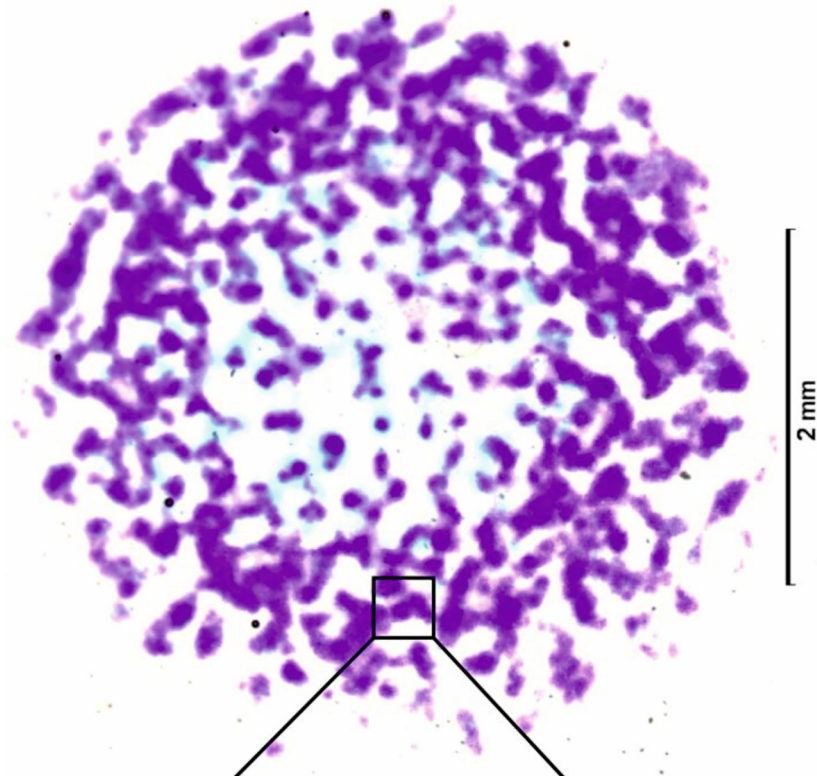


# BIOKÉMIA

2025. MÁRCIUS

XLIX. ÉVFOLYAM 1. SZÁM

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET INTERNETES FOLYÓIRATA



# BIOKÉMIA

a Magyar Biokémiai Egyesület  
internetes folyóirata

XLIX. évfolyam 1. szám  
2025. március

## Szerkesztőbizottság:

Alexa Anita, Bősze Szilvia, Erdődi Ferenc,  
Ifj. Gallyas Ferenc, Geiszt Miklós, Nyitrai  
László, Sarkadi Balázs, Székács András,  
Szondy Zsuzsa, Szűcs Mária, Vas Virág

## Főszerkesztő:

Alexa Anita (alex.aanita@ttk.hu)

## Szerkesztőségi titkár:

Vas Virág

## Rovatvezetők:

Bősze Szilvia (Hazai Tudományos  
Műhelyek)  
Gallyas Ferenc (Fórum)  
Nyitrai László (PhD disszertációk  
bemutatása, FEBS Network szemelvények)  
Sarkadi Balázs (Áttekintő közlemények)  
Szűcs Mária (Akikre büszkék vagyunk)

## Technikai szerkesztő:

Bérdi Péter

## Szerkesztőségi e-mail cím:

biokemia.szerkesztoseg@ttk.hu

## Honlap:

www.mbkegy.hu

## Felelős kiadó:

Dr. Buday László, az MBKE elnöke

## Kiadja:

Magyar Biokémiai Egyesület  
1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2.

## Az engedély száma:

III/SZI/397/1977  
HU ISSN 2060 8152 (Online)  
HU ISSN 0133-8455 (Nyomtatott)

## Bemutakozás:

A BIOKÉMIA magyar nyelvű, 1977 óta a MBKE gondozásában megjelenő, on-line folyóirat. Szerkesztőségünk a biokémia, a molekuláris biológia és a kapcsolódó tudományágak területéről jelentet meg tudományos és ismeretterjesztő cikkeket évente négy lapszámban. Emellett közlésre kerülnek tudományos esemény felhívások (elsőbbbbséget élveznek a FEBS és a MBKE által szervezett események), konferencia beszámolók, hazai díjak és elismerések nyerteseinek bemutatása, munkacsoportok bemutatása, friss PhD disszertációk rövid összefoglalói fiatal kutatók tollából. Szerkesztőségünk várja olyan kéziratok, felhívások beérkezését, melyek a MBKE tagok számára érdekesek, hasznosak lehetnek. A lapszámok nyílt hozzáférésű (open access) formában kerülnek közlésre. A tudományos cikk rovatban megjelenő kéziratok szakértői lektorálást (peer review) követően jelenhetnek meg. A korábbi évfolyamok számai a MBKE honlapján (www.mbkegy.hu) kereshető formában elérhetőek.

## Címlapkép:

Reprezentatív fénymikroszkópos felvétel egy érett (6. napos) micromass kultúráról, dimetil-metilénkékel történő festést követően. A lila színű (metakromáziás) területek negatív töltésű porteoglikánokban gazdag, porcra jellemző extracelluláris mátrixot tartalmaznak. A jobb oldali inzerten a kultúrák sejtes összetételének sémája látható. A kék színnel rajzolt, ovális kondrocitákban (és metakromáziás porc-mátrixban) gazdag területek a porc-csomókat (nodulusokat) ábrázolják, míg a közöttük található inter-noduláris területek elsősorban differenciálatlan sejteket és fibroblastokat tartalmaznak. Készítette: Matta Csaba.

## Tartalomjegyzék

### Szerkesztői rovat

3 Főszerkesztői levél

### Akikre büszkék vagyunk

- 4 Kitüntetések, díjak  
5 Matta Csaba a Nemzeti Tudósképző Akadémia Szent-Györgyi Talentum-díjasának írása: A progenitor sejtektől az érett chondrocytáig: a porcszövet kialakulásának molekuláris folyamatai  
16 Orbán Tamás: Fények a genomiális „sötét anyagban” – gondolatok a mikroRNS-ért odaítélt Nobel-díj kapcsán

### Hazai tudományos műhelyek

- 27 Apáti Ágota, Nagy András: Személyre szabott daganatsejt-vakcinák: Immunmoduláció a páciens „újra csomagolt” rákos sejtjeivel  
30 Turiák Lilla: A glikoziláció szerepe a tüdődaganatos megbetegedésekben: az „MTA-HUN-REN TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport” bemutatása

### PhD disszertációk bemutatása

- 37 Felhívás  
38 Jezsó Bálint: Hippokampális idegi őssejtek farmakológiai modellként való alkalmazása  
45 Ungvári Orsolya: Új fluoreszcens módszerek a gyógyszertranszporter Organikus Anion Transzporter Polipeptidek vizsgálatában

### Áttekintő közlemények a MBKE tagjainak tollából

- 53 Felhívás  
54 Közlemények

### MBKE Junior Section

- 57 Deák Péter, László Loretta és Réthi-Nagy-Zsuzsanna: MBKE Junior szekció 2024-es őszi féléves tevékenysége

### FEBS szemelvények (újraközlés a FEBS Network-ből)

- 61 Kun Ádám: Talking about their generation  
64 Brooke Morriswood: Facts, figures, and rhetoric

### Felhívások

- 66 A FEBS felhívása a Milánói Deklaráció támogatására egyének és szervezetek számára  
67 FEBS hírek  
69 Új rovat indul „Kreatív Biokémia” címmel  
70 Molekuláris Elettani Konferencia 2025 (Eger)  
71 FEBS Workshop: Dynamic Photobiology (Pécs)  
72 54. Membrán-Transzport Konferencia (Sümeg)  
73 Actin Assembly For Intracellular Function  
74 Signaling Workshop Visegrádon  
75 FEBS3+ Meeting Belgrade  
76 19th Central and Eastern European Proteomic Conference (Budapest)  
77 Fórum rovat

## Tisztelt Olvasóink, kedves Kollégák!



Ismét elrepült 3 hónap, és újra elküldhetjük Önöknek/Neknek a Biokémia következő számát. Most is sok érdekes téma van benne; a neuronális progenitor összejektől, a kondrogenézis transzkriptomikáján és az organikus anion transzportereken keresztül átívelünk egy lelkes proteomikai laborig, de közben még elmélkedhetünk egy kicsit az orvosi Nobel-díjjal kitüntetett mikroRNS kutatásokon, ráadásul még egy nagy presztizsű elnyert pályázat témáját is megismerhetjük. Nagyon hálásak vagyunk a szerzőinknek, mert tartják a határidőket, és érdekes, szinte tökéletesen megírt cikkeket kapunk tőlük. A tudományos cikkek magukért beszélnek, ezért én most közérdekű, az olvasók figyelmét felhívó híreket osztanék meg.

Lapunk Felhívások rovatában számos konferencia meghívó lapul. Mindenkit biztatok, hogy menjen konferenciára, hisz találkozhat sok érdekes kutatási témával, régi és új ismerősökkel, sőt a konferencia részvétellel anyagilag is támogatja a szervező egyesületet, szervezetet.

Így év elején érdemes lenne elgondolkodni azon is, vajon befizettük-e már az idei MBKE tagsági díjat, vagy már több éve is elfelejtettük? Akkor itt az alkalom, kérdezzük meg Réty Lillát ([rety.lilla@ttk.hu](mailto:rety.lilla@ttk.hu)), hogy mennyivel tartozunk, és hogyan tudunk fizetni. Az Egyesület számlaszámát a honlapon ([www.mbkegy.hu](http://www.mbkegy.hu)) is megtaláljuk a Tagság/Tagi információk fülénél.

Biztosan észrevették/észrevették, hogy a honlap most újul meg, szerkesztés és tesztelés alatt van. Érdemes olvasni az Aktualitásokat, és a Hasznos linkeknél rákattintani a FEBS, EMBO és IUBMB linkekre, hátha találunk nekünk tetsző konferenciát, továbbképzést, vagy pályázati lehetőséget szerte a nagyvilágban. Továbbá, összegyűjtöttük a legfontosabb FEBS eseményeket és határidőket, ezeket a Felhívásoknál olvashatjuk.

Végezetül, szeretnénk felhívni a tagság figyelmét a FEBS és négy másik tudományos társaság által megfogalmazott Milánói Nyilatkozatra, amely hangsúlyozza a tudomány és a tudományos kutatás fontosságát a globális problémák és kihívások megoldásában. A nyilatkozatot bárki aláírhatja és támogathatja, melynek részletei itt olvashatók: <https://www.febs.org/milan-declaration-science/>.

Zárszóként felhívom a kedves Olvasóink figyelmét a MBKE közgyűlésére, ami az egri Magyar Élettudományi Konferencia keretében kerül megrendezésre március 29-én 13 órától az Eger teremben. Az Egyesület vezetősége számít mindenki megjelenésére.

Most búcsúzom, kívánok Olvasóinknak kellemes tavaszt és jó olvasást!

Alexa Anita  
főszerkesztő

## Az MBKE tagjainak elismerései 2024. december 1. és 2025. március 1. között

**Nagy Ferencet**, a HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont főigazgatóját a Szegedért Alapítvány tudományos kuratóriuma **Szőkefalvi-Nagy Béla** díjban részesítette.

**Gratulálunk a kitüntetettnek!**

# A progenitor sejtektől az érett chondrocytáig: a porcszövet kialakulásának molekuláris folyamatai

Matta Csaba<sup>1</sup>, Harsányi Boglárka

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,  
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

## From progenitor cells to mature chondrocytes: molecular pathways driving cartilage tissue formation

### Összefoglalás

A mozgásszervi betegségek világszerte jelentős közegészségügyi problémát jelentenek, melyek hátterében gyakran a porcszövet degenerációja áll. Jelen áttekintés a porcszövet kialakulásának (kondrogenézis) molekuláris folyamatait foglalja össze, különös tekintettel a progenitor sejtekből az érett kondrocitáig vezető differenciálódási útvonalakra. Bemutatjuk a porcszövet típusait, szerkezetét, valamint a fejlődést irányító legfontosabb jelátviteli útvonalakat (BMP, TGF- $\beta$ , FGF és Wnt). Részletezzük továbbá a kondrogenézis in vitro tanulmányozására alkalmas modelleket. Saját transzkriptomikai vizsgálataink eredményeit is ismertetjük, melynek során új transzkripciós faktorokat, az ATOH8-at és az EBF1-et azonosítottuk, amelyek a porcdifferenciálódásban játszanak szerepet. Ezen transzkripciós faktorok további vizsgálata új terápiás célpontokat azonosíthat a porcregeneráció és a mozgásszervi betegségek kezelése terén. Végül, a jövőbeli kutatási irányokat tekintve, hangsúlyozzuk az egysejt-alapú multi-omikai megközelítésekben rejlő potenciált a porcszövet biológiájának mélyebb megértéséhez.

**Kulcsszavak:** porc, kondrogenézis, oszteoarthritis, transzkriptomika, RNS-szekvenálás

### Summary

Musculoskeletal disorders represent a significant global public health concern, often stemming from the degeneration of cartilage tissue. This review summarises the molecular processes underlying cartilage tissue formation (chondrogenesis) with a particular focus on the differentiation pathways from progenitor cells to mature chondrocytes. We describe the various types of cartilage tissue, their structural composition, and the principal signalling pathways that control their development. Additionally, we describe in vitro models suitable for investigating chondrogenesis. We also present the results of our own transcriptomic analyses, which have identified novel transcription factors, ATOH8 and EBF1, implicated in cartilage differentiation. Further exploration of these transcription factors may uncover new therapeutic targets for cartilage regeneration and the treatment of musculoskeletal pathologies. Looking ahead, we highlight the potential of single-cell multi-omics approaches to provide a more comprehensive understanding of cartilage tissue biology. This integrative approach may offer valuable insights into the complex regulatory networks regulating chondrogenesis and cartilage homeostasis, potentially leading to innovative strategies for addressing musculoskeletal disorders.

**Keywords:** cartilage, chondrogenesis, osteoarthritis, transcriptomics, RNA sequencing

<sup>1</sup> Matta Csaba 2024-ben a Nemzeti Tudósokképző Akadémia által alapított Szent-Györgyi Talentum-díj kitüntetésben részesült, lásd Biokémia XLVIII. évfolyam 2. szám 2024. június, 7. oldal.

## Bevezetés

A mozgásszervi betegségek, különösen az ízületi gyulladás (oszteoarthritis, OA) és a derékfájdalom növekvő gyakorisága világszerte jelentős közegészségügyi kihívást jelent [1]. Ezek a kórképek nemcsak krónikus fájdalommal, csökkent életminőséggel és rokkantsággal járnak, hanem jelentős gazdasági terhet is rónak az egészségügyi rendszerekre, a társadalom tagjait, különösen pácienseket és a hozzátartozókat pedig pszichésen is megterheli [2]. Az OA, a leggyakoribb gyulladásos degeneratív mozgásszervi rendellenesség, világszerte körülbelül 600 millió embert érint. A kórképet elsősorban az ízületi porc krónikus degenerációja jellemzi, amely kritikus szerepet játszik az ízület funkcionalitásában és az általános mobilitásban [3]. Az OA teljes gazdasági hatása (a közvetlen és közvetett költségeket is beleértve) a bruttó nemzeti össztermék akár 1–2,5%-a is lehet [4].

Az OA társadalmi-gazdasági terheinek egy jelentős része abból ered, hogy jelenleg nem állnak rendelkezésre a betegség hatékony kezelésére alkalmas betegségmódosító gyógyszerek (DMOAD). A jelenlegi terápiás lehetőségek elsősorban a tünetek, főként a fájdalom enyhítésére, és nem az alapvető patofiziológiai mechanizmusok kezelésére összpontosítanak. Az OA heterogén természete egy további jelentős problémát jelent: az ízületi gyulladás ugyanis etiológiai, biológiai, klinikai és képalkotó jellemzők alapján több fenotípusba és molekuláris endotípusba kategorizálható [5]. Új gyógyszercélpontok azonosításához a betegeket először az OA fenotípusokon és endotípusokon belül kell besorolni. Az egyes betegcsoportok specifikus és egyedi molekuláris jellemzőket hordoznak, amelyek alkalmasak a klinikai megjelenés leírására [6]. Ezt a megközelítést azonban eddig még nem alkalmazták hatékonyan a gyógyszer-fejlesztésben és az OA klinikai vizsgálatainak tervezésében. Az OA heterogén természete nem teszi lehetővé az „egy gyógyszer mindenre” stratégiát, ezért külön erőfeszítéseket kell tenni az OA terápiájának személyre szabásában.

Az új megközelítések, mint például a gén- és sejtalapú regeneratív terápiák ígéretesnek tűnnek, de a pre-klinikai modellekből az emberre történő klinikai transzláció során kihívásokkal szembesülünk. Ahogy a népesség öregszik, a mozgásszervi rendellenességek előfordulása várhatóan növekedni fog, ami szükségessé teszi az alapvető mechanizmusok mélyebb megértését a hatékony (és személyre szabott) terápiás stratégiák kifejlesztése érdekében [7].

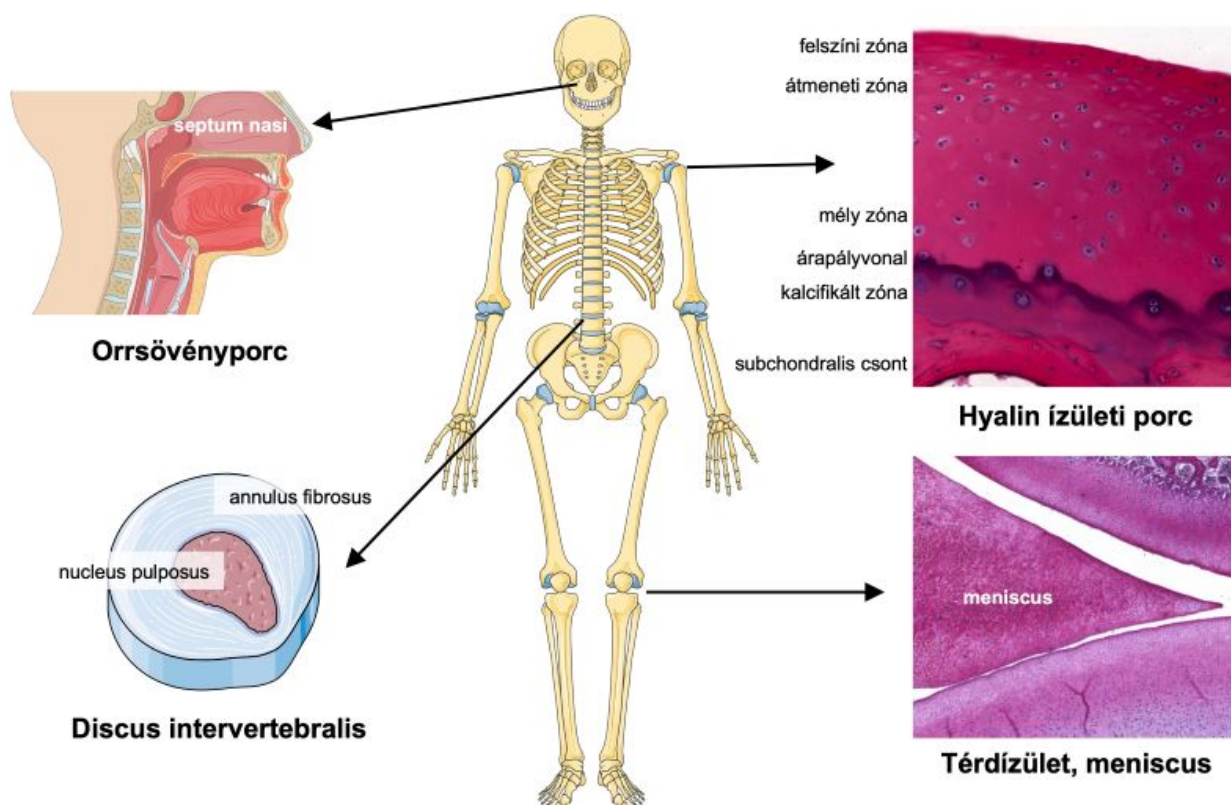
## A porcszövet

A porcszövet, köztük az ízületi porc specializált sejtjei a kondrociták, amelyek nélkülözhetetlenek a csontváz fejlődéséhez és a vázrendszer funkciójához [8]. A hagyományos nézet szerint a kondrociták specializált, mesenchymális eredetű sejtek, amelyek a porc elsődleges sejtípusaként szolgálnak. A kondrociták mellett a porcszövetben a kondrogenikus progenitorsejtek (CPC-k) ritka populációja is megtalálható [9]. A kondrociták fenotípusát a porc-specifikus extracelluláris mátrix (ECM) által biztosított helyi mikrokörnyezet határozza meg és tartja fenn [10]. A kondrociták a porcmátrixban nem egyenletesen oszlanak el, rájuk egyedi térbeli szerveződés jellemző, és funkcionális szempontból különböző alpopulációkra oszthatók.

## A porcszövet típusai és szerkezete

A porcszövet három különböző típusát különböztetjük meg: üvegporc (hialinporc), rostos porc és rugalmas (elasztikus) porc. A hialinporcra tejüvegszerű, áttetsző megjelenés jellemző, és a hosszú csontok ízületi felszínein, az orrsövényben, valamint a felső légutakban, például a

gégében és a légcsőben is megtalálható. Sima, rugalmas felületként szolgál a legtöbb diartrodialis ízület számára, hol segít elnyelni az ízület mozgása során fellépő mechanikai hatásokat [11]. A rostos porc kiválóan ellenáll a nyomóerőknek és ilyen körülmények között is megőrzi a szerkezeti integritását. Elsősorban olyan területeken fordul elő, ahol nagy nyomásnak és feszültségnek van kitéve, mint például a gerinc porckorongjai, a térdízület meniszkuszai és a szeméremcsont (os pubis) szimfizise. Az elasztikus porc a három porctípus közül a legrugalmasabb, hiszen mátrixa nagy mennyiségű elasztikus rostot tartalmaz, amelyek rugalmasságot kölcsönöznek a szövetnek. A külső fülben és az epiglottisban található meg, ahol lehetővé téve a deformációt, majd az eredeti formájába való visszatérést [11]. A következőkben a hialinporccal foglalkozunk részletesebben.



**1. ábra. Néhány jellegzetes porcszövettípus előfordulása a szervezetben.** Az ábra egyes részei a Servier Medical Art képeinek felhasználásával készültek. Servier Medical Art by Servier licenc: Creative Commons CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### Hialinporc

A kondrociták a heterogén szerkezetű extracelluláris mátrix (ECM) lakunáiban helyezkednek el [12]. A kondrociták felszínén található glikokalyxot a pericelluláris mátrix (PCM) veszi körül, amelyben a VI. típusú kollagén az uralkodó rostos komponens. Emellett nagy koncentrációban találhatók itt más makromolekulák, mint például kondronektin, decorin, laminin, valamint a szulfatált glikozaminoglikán-oldalláncokból (GAG) álló proteoglikánok (PG-k), pl. verzikán, perlekán, illetve aggregán [13]. A kondrociták izogén csoportjait a territoriális mátrix (TM) veszi körül; egy kondrocita-csoport és a hozzá tartozó TM közösen alkotja a porc szerkezeti egységét, amelyet kondronnak nevezünk. Az interterritoriális mátrix (IM) a kondronok között helyezkedik el, ahol a szulfatált PG-k koncentrációja a legalacsonyabb. A porc ECM 70–80%-a szerkezetiileg kötött víz, amely a nyomóerők által okozott deformációval szembeni ellenállás fontos komponense (1. ábra).

Az ízületi hialinporc egy speciális szövet. Az ECM összetétele és szerkezete, valamint a kondrociták fenotípusa és funkciója az ízületi porc egyes zónái (felszínes, átmeneti és mély zónák) szerint változik [14]. Mivel nem veszi körbe porchártya (perikondrium), korlátozott regenerációs képességgel rendelkezik. Az ízületi porcot érintő sérülések és betegségek gyakran vezetnek krónikus fájdalomhoz és rokkantsághoz. Az orrsövényben szintén egyedi típusú hialinporc található. Fő funkciója az orr szerkezeti alátámasztása és a légzés elősegítése az orrüreg elválasztásával, így az ízületi porctól különböző biomechanikai hatások érik. Emiatt az orrsövényporc biokémiai, szerkezeti és sejtes összetétele is eltér az ízületi porctól. Az orrsövényporcban három, kétoldali szimmetriájú zónát azonosítottak: a perifériás, az átmeneti és a centrális zónát [15]. Mivel az orrsövény porca is hialinporc, fő ECM komponense a II. típusú kollagén, amely a perifériás régiókban és a pericelluláris területeken nagy mennyiségben fordul elő [16]. A centrális zónában halmozódik fel a legnagyobb mennyiségű GAG. A perifériás zóna számos proliferatív kondrocitát tartalmaz, amelyek kicsik és laposak, és a porcfelszínre merőlegesen orientáltak. A kondrociták a legalacsonyabb sejtsűrűséget a centrális zónában érik el, ahol csak néhány gömb alakú és hipertrófiás kondrocita található, amelyek gyakran oszlopokba vagy klaszterekbe rendeződnek [15].

### **Porcfejlődés (kondrogenézis) és az azt irányító jelátviteli útvonalak**

A korai egyedfejlődés során az embrionális csontváz nagy részét porcszövet alkotja. Ezek a kondrociták az embrió különböző területeiről származó chondroprogenitor mezenchimális sejtekből (CPC-k) differenciálódnak. A végtagporcok esetében a CPC-k a paraxiális mezoderma ún. szklerotóm régiójából származnak, míg a fej porcos komponensei a dúlcél (crista neuralis) kraniális területéről származnak [17]. Az ízületi hialinporc esetében a progenitor sejtek az ún. interzónából fejlődnek, amely a leendő ízületek területén található. Kezdetben ezek a prekursor sejtek specifikus markereket expresszálnak, mint például a GDF-5, Wnt14 és CD44, ami jelzi az ízületi progenitor sejt-fenotípust, amelyek később az ízületi működéshez szükséges, specializált, állandó porcot fogják kialakítani [18].

A porcképződés kezdetén a CPC-k kondrogén csomókba (nodulusokba) tömörülnek, amit N-cadherineket és gap junction-ok közvetítenek [19]. Ez a kondenzációs lépés a kondrogenézis folyamatához szükséges diffúz növekedési faktorok lokális gradiensét is növeli [20]. Miután a sejtek nodulusokba tömörülnek, morfológiai változásokon mennek keresztül: a citoskeleton átrendeződik, és a sejtek kerekdeddé válnak [21].

A kondrogenézishez számos jelátviteli útvonal aktiválódása szükséges. A citokinek, hormonok és egyéb morfogének, például a BMP-k (bone morphogenic protein), a TGF- $\beta$  (transforming growth factor), az FGF-k (fibroblast growth factor), a Wnt, az indian és a sonic hedgehog (Ihh és Shh) ligandumok, a parathormon-szerű fehérje (PTHrP) és az inzulinszerű növekedési faktor (IGF-I) régóta ismertek a kondrogenézis szabályozásában [22]. A porc kialakulásának és fejlődésének egyik fontos tényezője a TGF- $\beta$  szupercsalád tagjai, amelyek a Smad fehérjék aktiválásán keresztül központi szerepet játszanak a kondrociták differenciálódásában és érésében. A BMP-jelátvitel döntő fontosságú a kondrogenézis szempontjából, mivel elősegíti a mezenchimasejtek kondenzációját és indukálja a porcspecifikus markerek, például a SOX9 és a II. típusú kollagén expresszióját [23]. Az FGF-jelátvitel szintén jelentős szerepet játszik a kondrociták differenciálódásában azáltal, hogy a mitogén-aktivált protein-kináz (MAPK) és a foszfoinozid-3-kináz (PI3K)/Akt útvonalakon keresztül szabályozza a sejtproliferációt és a

mátrixszintézist [23]. A porcsejtek differenciálódását, proliferációját és hipertrófiáját szabályozó Wnt jelátviteli útvonal kontextustól függően aktiválhatja a kanonikus útvonalat, amely a  $\beta$ -katenin stabilizációját és nukleáris transzlokációját foglalja magában, vagy a nem kanonikus útvonalakat, mint például a Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  útvonalat egyaránt [24].

A differenciálódó kondroprogenitor sejtek génexpressziós mintázata is dinamikus átalakulást mutat [25]. A folyamat során a SOX9 aktiválódik, amely a kondrogenézis egyik kulcsfontosságú transzkripciós faktora, és amelyet az FGF, TGF- $\beta$ , BMP és Wnt családok tagjai szabályoznak [26]. A SOX9 két másik transzkripciós faktoral, a SOX5-tel és a SOX6-tal együtt alkotja a SOX-triót, amely az ECM makromolekulák, köztük a II, VI, IX és XI. típusú kollagén, valamint az aggregán (ACAN) expresszióját szabályozza [27]. A SOX-trián kívül a RUNX2/3, a TWIST1, a Gata4/5/6, az Nkx3.2 és a MEF2C/D is fontos szerepet játszik a porc irányú differenciálódásban és a kondrocita-fenotípus fenntartásában [28].

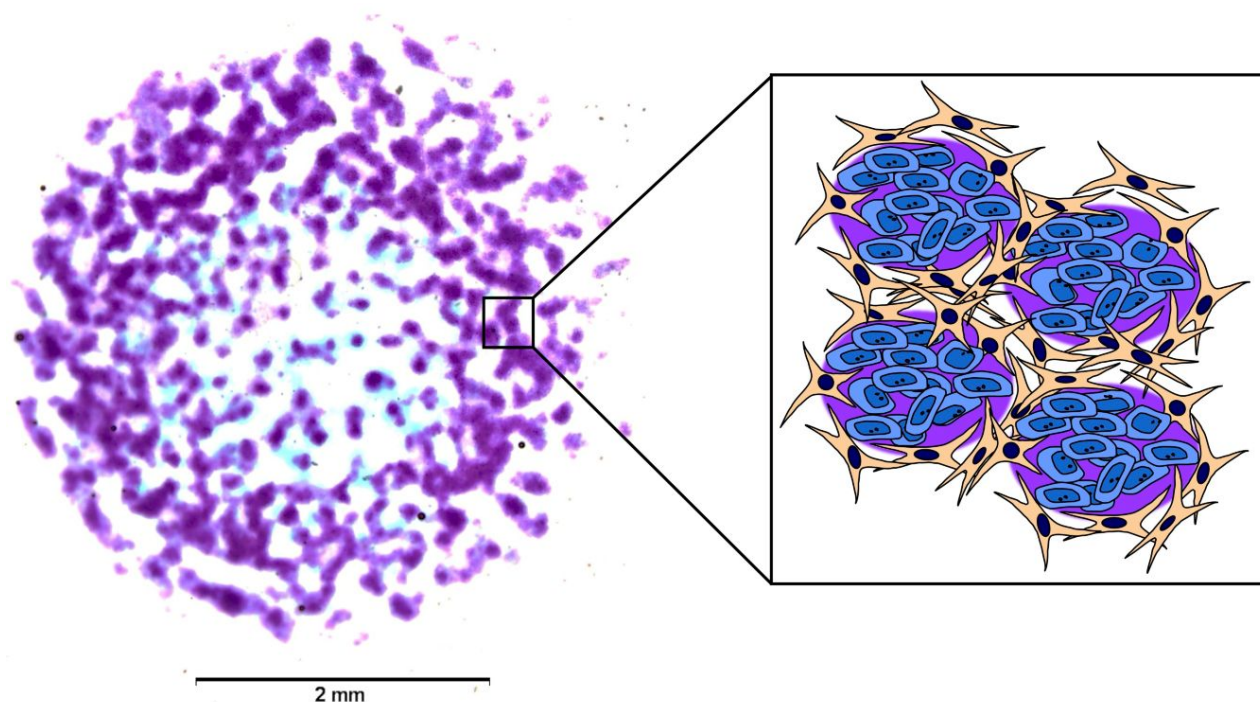
### **A porcdifferenciáció vizsgálatára alkalmas *in vitro* modellrendszerek**

A kondrogenézis *in vitro* modelljei alapvető fontosságúak a porc képződésének és homeosztázisának hátterében álló molekuláris folyamatok tanulmányozására. A széles körben alkalmazott modellek között érdemes kiemelni az embrionális csirke [29] és egér végtagtelepekből előállított micromass kultúrákat [30], illetve a humán mezenchimális őssejtekből (MSC) differenciálódó porcsejteket [31]. Ezen modellek mindegyikének megvannak a maga előnyei, és nagy mértékben hozzájárultak a kondrogenézis folyamatainak megértéséhez.

Az embrionális csirke végtagtelep-eredetű micromass kultúrákat széles körben alkalmazzák a porcképződés korai eseményeinek vizsgálatára, az onnan izolált mezenchimális sejtek (CPC-k) kifejezett kondrogenikus potenciáljának köszönhetően [32]. Ez a modell különösen hasznosnak bizonyult a jelátviteli útvonalak [33] és a transzkripciós faktorok szerepének vizsgálatára a kondrogenézis során [34]. A módszer alapelve, hogy a végtagtelep adott fejlődési stádiumú mezodermasejtjeit nagy kezdeti sűrűségben (15 M sejt/ml), kis (30–100  $\mu$ l térfogatú) cseppek („micromass”) formájában tenyésztjük. A sejtek az első néhány napban aggregálódnak és kondrogenikus csomókat képeznek, majd a 3. tenyésztési naptól kezdve kondroblasztokká és kondrocitákká differenciálódnak, amelyek nagy mennyiségű, porcra jellemző ECM-et termelnek [29]. A módszer nagy előnye, hogy lehetővé teszi a kondrogenézis időbeli mintázatának *in vitro* nyomon követését [25]. A módszer egyik hátránya, hogy a micromass-kultúrákban a hialinporc csomók formájában van jelen, amelyeket internoduláris területek szakítanak meg, ahol mezenchimasejtek, fibroblasztok és CPC-k keveréke van jelen, és a sejt-kultúrák perifériás területe nem tartalmaz porcot (2. ábra). Így a micromass-kultúrák nem tekinthetők „tisztá” porcnak, bár az uralkodó szövet a hialinporc. A módszer másik kedvezőtlen tulajdonsága, hogy a sejt-kultúrákban képződő hialinporc elsősorban átmeneti porc, amelyben a kondrociták hipertrófián mennek keresztül, lényegében a fejlődő végtagok endokondrális csontosodásának fő lépéseit ismételve [35]. Ezen kívül a micromass-kultúrákban képződött porc nem mutatja az ízületi hialinporc mátrixának egyedi szerveződését (lásd 1. ábra).

A 11 napos egérembriók végtagtelepeiből létrehozott micromass kultúrák számos előnyt kínálnak a csirke modellhez képest [30]. Az egyik elsődleges előnyük az, hogy képesek az emlősökre *in vivo* jellemző porcfejlődési folyamatokat szorosan utánózni [36]. Az egerből

származó embrionális végtagtelep-eredetű micromass kultúrák alkalmazása a genetikai manipulációk tekintetében jelent előnyt [37]. Könnyen reprodukálható és megbízható platformot biztosítanak bizonyos gének manipulálásához, amelynek révén könnyebben megérthető a fejlődési folyamatokban betöltött szerepük. Az egér micromass kultúrák alkalmazása kiterjed a porc szövet mértéke és a regeneratív orvoslás területeire is, ahol kiváló tesztelési terepet kínálnak új, innovatív eljárásokhoz. A humán MSC-kből differenciált porcsejtek olyan modellrendszerként biztosítanak, amely közvetlenül átültethető az emberi porcbiológiába és potenciálisan alkalmazható a regenerációs medicinában [31]. Az MSC-kből differenciált kondrociták fenotípusa azonban nem kellően stabil és különösen hajlamosak a hipertrófiára, valamint az így létrejött porc ECM inkább hasonlít a rostos porcszövetre [38].



**2. ábra. Reprezentatív fénymikroszkópos felvétel egy érett (6. napos) micromass kultúráról, dimetil-metilénkékkel történő festést követően.** A lila színű (metakromáziás) területek negatív töltésű proteoglikánokban gazdag, porcra jellemző extracelluláris mátrixot tartalmaznak. A jobb oldali inzerten a kultúrák sejtes összetételének sémája látható. A kék színnel rajzolt, ovális kondrocitákban (és metakromáziás porcmátrixban) gazdag területek a porccsomókat (nodulusokat) ábrázolják, míg a közöttük található internoduláris területek elsősorban differenciálatlan sejteket és fibroblastokat tartalmaznak.

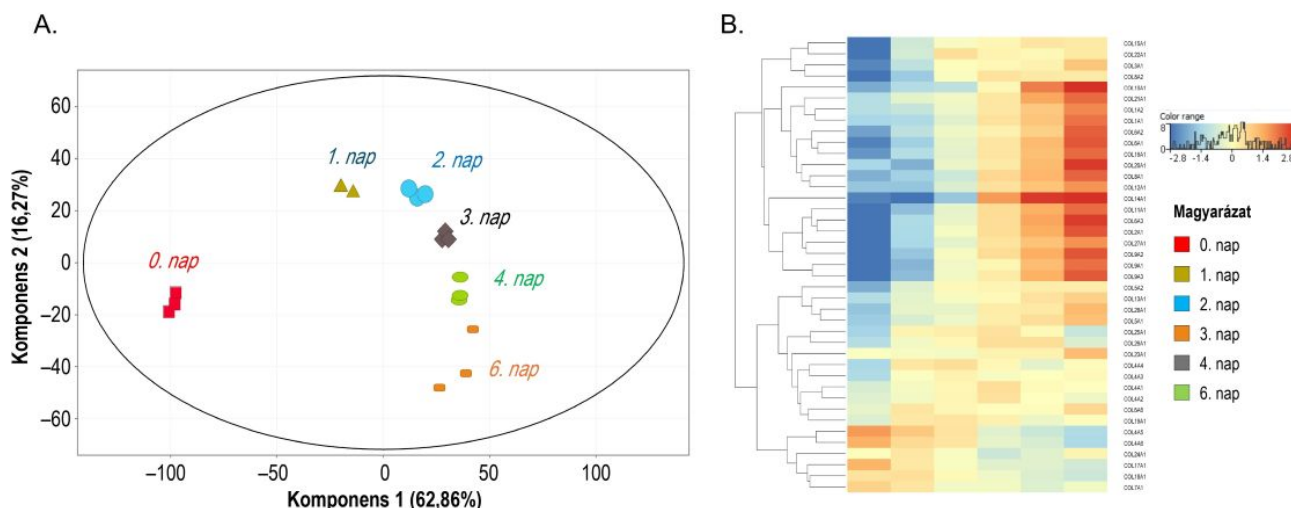
### A porcdifferenciáció átfogó transzkriptomikai elemzése

Egyik közelmúltban megjelent tanulmányunkban [25] a porcképződést irányító dinamikus génexpressziós mintázatokat vizsgáltuk. A kutatás során bulk RNS-szekvenálást (RNA-Seq) alkalmaztunk az *in vitro* kondrogenézis időbeli transzkriptomikai mintázatának feltérképezésére embrionális csirke végtagtelepekből származó porcprogenitor sejtek micromass-kultúráinak felhasználásával.

Az *in vitro* kondrogenézis során a folyamatot szabályozó transzkriptomikai változások időbeli mintázata nem teljesen tisztázott. Jelen munkánkban ezt a hiányosságot orvosoltuk. Bulk RNS-szekvenálás felhasználásával transzkriptom-profilozást végeztünk csirkeembriók végtagtelepeiből izolált progenitorsejtekből létrehozott és spontán porcosodó micromass kultúrák felhasználásával. Az RNS-szekvenáláshoz szükséges mintákat a differenciálódás korai és késői

stádiumaiból, valamint érett ízületi porcból gyűjtöttük.

Az RNS-szekvenálási adatok főkomponens-elemzése (principal component analysis, PCA) a transzkriptom időbeli változását mutatta ki a differenciálódó tenyészetekben (3. ábra). A hierarchikus klaszterezés is megerősítette a minták szegregációját elsősorban a kultúrák kora (differenciáltsági foka) szerint.



**3. ábra. Az RNS-seq adatokon végzett elemzések néhány eredménye. (A)** Főkomponens analízis (principal component analysis, PCA). Az első komponens (PC1) a variabilitás 62,86%-át, a második komponens (PC2) 16,27%-át írja le. Minden pont egy kísérleti mintát jelöl; a színek a chondrogenesis különböző időpontjait (napok) jelölik. A minták az időpontok (tenyésztési napok/differenciáltsági fok) alapján csoportosultak. **(B)** A differenciálisan expresszált kollagén alfa-héliceket kódoló géneket (DEG) mutató hő térkép (heatmap). A biológiai ismétlések közötti átlagolt expressziót használtuk a változás log<sub>2</sub> (LFC) értékek kiszámításához. Az érett porcsejtek irányába történő differenciálódás során számos kollagén esetén elsősorban upreguláció volt megfigyelhető.

A modell validitását mutatja, hogy az egyes tenyésztési napokon a 20 legerősebben expresszáldó gén között szerepeltek a kondrogenesisben és a porc ECM szintézisében szerepet játszó gének (COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL9A1, COL11A1, FN1, ACAN), citoszkeletális (ACTB, TUBA1A1, TUBB), riboszómális fehérjék és RNS-ek, a glikolízis és az energia-metabolizmus génjei (GAPDH, ENO1), valamint transzkripció faktorok (YBX1).

A szignifikánsan eltérően expresszáldó gének (differentially expressed genes, DEG) gén ontológiai (GO) hálózatbiológiai elemzésével feltártuk a kondrogenezissel kapcsolatos főbb útvonalakat. A folyamat korai szakaszában a feldúsult útvonalak között a transzkripció szabályozásával kapcsolatos kifejezéseket találtunk, míg a differenciálódás előrehaladtával a porc ECM szerveződésével és a vázrendszer fejlődésével kapcsolatos útvonalak dúsultak fel.

Az adatsorban külön megvizsgáltuk a porcsejt-fenotípus kialakításáért és fenntartásáért felelős gének és a kollagének mint fő ECM-alkotók időbeli expressziós mintázatát. A „klasszikus” hialinporcra jellemző chondrocyta markergének közül a COL2A1-nek volt a legmagasabb normalizált expressziós szintje, amely a differenciálódással párhuzamosan folyamatosan növekedett. Hasonló időbeli expressziós mintázatot figyeltük meg néhány további ECM-összetevő, például a COL1A1, COL9A1, ACAN és MATN1 esetében is. Szinte valamennyi ismert kollagéntípus (I-XXVIII, kivéve a XXIX) alfa-láncát kódoló transzkriptet kimutattunk a kultúrákban, amelyek közül a COL2A1 mutatta a legmagasabb expressziót. A COL1A1 mellett a

„kisebb” porc-specifikus kollagének (COL5A1, COL12A1, COL14A1, COL16A1 és COL27A1) mRNS-ei is magas normalizált expresszióval rendelkeztek (3. ábra).

### Új transzkripció faktorok azonosítása a kondrogenézis során

Mivel célunk új szabályozó útvonalak felfedezése volt, ezért megvizsgáltuk a transzkripció faktorok expressziós mintázatát is. Az adatsor összesen 1175 olyan gént tartalmazott, amelyről GO annotációi alapján (GO:0003700) transzkripció faktor aktivitással rendelkezett. Több olyan transzkripció faktort is azonosítottunk, amelyek eltérő módon expresszálódtak a kondrogenézis során, és szerepet játszhatnak a porcfejlődésben. Ezek közül számos olyan transzkripció faktort találtunk, amelyeket korábban nem hoztak összefüggésbe a porcképződéssel, ezek közül pedig az ATOH8 és az EBF1 különösen érdekes jelölt volt.

Az ATOH8 (Atonal bHLH Transcription Factor 8) az egyik szignifikáns DEG volt a kondrogenézis során mind a csirke modellünkben, mind humán MSC kultúrákban. Az ATOH8 expressziója a porcdifferenciálódás során fokozódik, és korábban nem volt annotálva a porcfejlődéssel kapcsolatos GO kifejezés (GO:0051216) kategóriában. Az EBF1-et (Early B Cell Factor 1) új felfedezésként ugyancsak a kondrogenikus differenciálódás szempontjából kulcsfontosságú transzkripció faktorként azonosítottuk. Az EBF1 ugyancsak differenciálisan expresszálódott mind a csirke, mind a humán porcosodó modellekben, és korábban szintén nem szerepelt a porcfejlődéssel kapcsolatos GO annotációkban.

A két transzkripció faktor kondrogenézisben való részvételét tranziens géncsendesítési kísérletekkel bizonyítottuk. Ezen kívül *in silico* jelátviteli hálózatelemzést végeztünk ezekre a génekre vonatkozóan, azonosítottuk a legfontosabb interakció partnereiket és elemeztük expressziós mintázatukat a kondrogenézis során. Ez az elemzés további bizonyítékot szolgáltatott az ATOH8 és az EBF1 porcképződésben betöltött potenciális szabályozó szerepére vonatkozóan.

### Összegzés és kitekintés

Az ATOH8 és az EBF1 mint a porcdifferenciálódásban részt vevő transzkripció faktorok azonosítása és első jellemzése fontos új tudományos eredményeket jelent: bővítik a porcképződést irányító transzkripció hálózatokról alkotott ismereteinket, új célpontokat kínálnak a porcszövet-biológia és a regeneratív medicina további fejlődéséhez, valamint kiválóan demonstrálják a transzkriptomikai megközelítések potenciálját a fejlődési folyamatok korábban ismeretlen szabályozó útvonalainak a feltárásában. Az ATOH8 és az EBF1 speciális funkcióinak és hatásmechanizmusainak további vizsgálata a porcsejtek differenciálódásában és a porc homeosztázisában elősegítheti a porc regenerációs stratégiák javítását és a porcszövetet érintő betegségek kezelését.

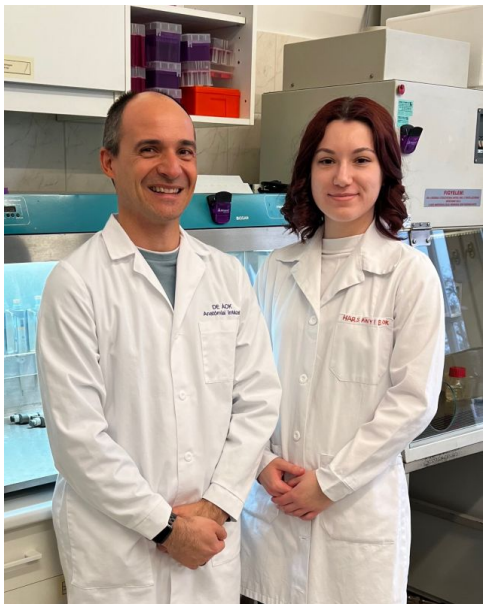
A jövő egyértelműen a nagy felbontású, egyedi sejt-alapú (single-cell) RNS-szekvenálás (scRNA-seq), proteomikai (akár szubcelluláris proteomikai) és térbeli (spatial) transzkriptomikai módszerek alkalmazása és az így nyert új eredmények felé mutat. Ezek a nagy felbontású megközelítések lehetővé teszik a korábban fel nem ismert, elkülönült sejtpopulációk azonosítását és jellemzését a porcszövetben, amelyek kulcsfontosságúak a szöveti homeosztázis fenntartásában és a patológiás elváltozásokra való reagálásban [39].

A multi-omikai megközelítések alkalmazása, amelyek egysejt-szinten integrálják a transzkriptomikát és a proteomikát, elősegítheti a kondrociták biológiájának pontosabb megértését [40, 41]. A különböző porctípusokban jelen lévő sejtpopulációk meghatározása elengedhetetlen a jövőbeli, fejlettebb porcszövet-regenerációs és szövetmérnökség stratégiákhoz. Az ízületi porc, a meniszkusz és a discus intervertebralis szöveteiben a génexpressziós vagy fehérjeexpressziós profilok alapján a kondrociták különböző alpopulációit azonosították [39]. Ezek az eredmények létfontosságúak az OA és más, porccal kapcsolatos rendellenességek potenciális biomarkereinek és terápiás célpontjainak azonosításához [42]. Ezenkívül a térbeli transzkriptomika és a szubcelluláris proteomika integrálása átfogóbb képet adhat a kondrociták viselkedéséről a saját natív mikrokörnyezetükben. A kondrocita-altípusok és a rájuk jellemző egyedi jelátviteli útvonalak térbeli eloszlásának feltérképezésével jobban megérthetjük, hogy ezek a sejtek hogyan járulnak hozzá az egészséges porc homeosztázisához és a degeneratív betegségek progressiójához.

### Irodalomjegyzék

- [1] Liu, S., Wang, B., Fan, S., Wang, Y., Zhan, Y., Ye, D. (2022) Global burden of musculoskeletal disorders and attributable factors in 204 countries and territories: a secondary analysis of the Global Burden of Disease 2019 study. *BMJ Open*, **12**: (6) e062183.
- [2] Nguyen, A.T., Aris, I.M., Snyder, B.D., Harris, M.B., Kang, J.D., Murray, M., Rodriguez, E.K., Nazarian, A. (2024) Musculoskeletal health: an ecological study assessing disease burden and research funding. *Lancet Reg Health Am*, **29**: 100661.
- [3] Salman, L.A., Ahmed, G., Dakin, S.G., Kendrick, B., Price, A. (2023) Osteoarthritis: a narrative review of molecular approaches to disease management. *Arthritis Res Ther*, **25**: (1) 27.
- [4] Leifer, V.P., Katz, J.N., Losina, E. (2022) The burden of OA-health services and economics. *Osteoarthritis Cartilage*, **30**: (1) 10-16.
- [5] Mobasheri, A., Loeser, R. (2024) Clinical phenotypes, molecular endotypes and theratypes in OA therapeutic development. *Nat Rev Rheumatol*, **20**: (9) 525-526.
- [6] Jeffries, M.A., Donica, M., Baker, L.W., Stevenson, M.E., Annan, A.C., Beth Humphrey, M., James, J.A., Sawalha, A.H. (2016) Genome-Wide DNA Methylation Study Identifies Significant Epigenomic Changes in Osteoarthritic Subchondral Bone and Similarity to Overlying Cartilage. *Arthritis Rheumatol*, **68**: (6) 1403-14.
- [7] Zhang, Y., Zhou, Y. (2024) Advances in targeted therapies for age-related osteoarthritis: A comprehensive review of current research. *Biomed Pharmacother*, **179**: 117314.
- [8] Archer, C.W., Francis-West, P. (2003) The chondrocyte. *Int J Biochem Cell Biol*, **35**: (4) 401-4.
- [9] Vinod, E., Boopalan, P., Sathishkumar, S. (2018) Reserve or Resident Progenitors in Cartilage? Comparative Analysis of Chondrocytes versus Chondroprogenitors and Their Role in Cartilage Repair. *Cartilage*, **9**: (2) 171-182.
- [10] Cancedda, R., Castagnola, P., Cancedda, F.D., Dozin, B., Quarto, R. (2000) Developmental control of chondrogenesis and osteogenesis. *Int J Dev Biol*, **44**: (6) 707-14.
- [11] Armiento, A.R., Alini, M., Stoddart, M.J. (2019) Articular fibrocartilage - Why does hialine cartilage fail to repair? *Adv Drug Deliv Rev*, **146**: 289-305.
- [12] Heinegard, D., Oldberg, A. (1989) Structure and biology of cartilage and bone matrix noncollagenous macromolecules. *FASEB J*, **3**: (9) 2042-51.
- [13] Halper, J., Kjaer, M. (2014) Basic components of connective tissues and extracellular matrix: elastin, fibrillin, fibulins, fibrinogen, fibronectin, laminin, tenascins and thrombospondins. *Adv Exp Med Biol*, **802**: 31-47.
- [14] Bhosale, A.M., Richardson, J.B. (2008) Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *Br Med Bull*, **87**: 77-95.
- [15] Popko, M., Bleys, R.L., De Groot, J.W., Huizing, E.H. (2007) Histological structure of the nasal cartilages and their perichondrial envelope. I. The septal and lobular cartilage. *Rhinology*, **45**: (2) 148-52.
- [16] Homicz, M.R., McGowan, K.B., Lottman, L.M., Beh, G., Sah, R.L., Watson, D. (2003) A compositional analysis of human nasal septal cartilage. *Arch Facial Plast Surg*, **5**: (1) 53-8.
- [17] Kobayashi, T., Kronenberg, H.M. (2021) Overview of Skeletal Development. *Methods Mol Biol*, **2230**: 3-16.
- [18] Pacifici, M., Koyama, E., Shibukawa, Y., Wu, C., Tamamura, Y., Enomoto-Iwamoto, M., Iwamoto, M. (2006) Cellular and molecular mechanisms of synovial joint and articular cartilage formation. *Ann N Y Acad Sci*, **1068**: 74-86.

- [19] Oberlender, S.A., Tuan, R.S. (1994) Expression and functional involvement of N-cadherin in embryonic limb chondrogenesis. *Development*, **120**: (1) 177-87.
- [20] Wezeman, F.H. (1998) Morphological foundations of precartilag development in mesenchyme. *Microsc Res Tech*, **43**: (2) 91-101.
- [21] Ichinose, S., Tagami, M., Muneta, T., Mukohyama, H., Sekiya, I. (2013) Comparative sequential morphological analyses during in vitro chondrogenesis and osteogenesis of mesenchymal stem cells embedded in collagen gels. *Med Mol Morphol*, **46**: (1) 24-33.
- [22] Carballo, C.B., Nakagawa, Y., Sekiya, I., Rodeo, S.A. (2017) Basic Science of Articular Cartilage. *Clin Sports Med*, **36**: (3) 413-425.
- [23] Richardson, S.M., Kalamegam, G., Pushparaj, P.N., Matta, C., Memic, A., Khademhosseini, A., Mobasheri, R., Poletti, F.L., Hoyland, J.A., Mobasheri, A. (2016) Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration. *Methods*, **99**: 69-80.
- [24] Goldring, M.B., Tsuchimochi, K., Ijiri, K. (2006) The control of chondrogenesis. *J Cell Biochem*, **97**: (1) 33-44.
- [25] Takacs, R., Vago, J., Poliska, S., Pushparaj, P.N., Ducza, L., Kovacs, P., Jin, E.J., Barrett-Jolley, R., Zakany, R., Matta, C. (2023) The temporal transcriptomic signature of cartilage formation. *Nucleic Acids Res*, **51**: (8) 3590-3617.
- [26] Lefebvre, V., Dvir-Ginzberg, M. (2017) SOX9 and the many facets of its regulation in the chondrocyte lineage. *Connect Tissue Res*, **58**: (1) 2-14.
- [27] Quintana, L., zur Nieden, N.I., Semino, C.E. (2009) Morphogenetic and regulatory mechanisms during developmental chondrogenesis: new paradigms for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev*, **15**: (1) 29-41.
- [28] Liu, C.F., Samsa, W.E., Zhou, G., Lefebvre, V. (2017) Transcriptional control of chondrocyte specification and differentiation. *Semin Cell Dev Biol*, **62**: 34-49.
- [29] Takacs, R., Juhasz, T., Katona, E., Somogyi, C., Vago, J., Hajdu, T., Barna, K.B., Nagy, P., Zakany, R., Matta, C. (2023) Isolation and Micromass Culturing of Primary Chicken Chondroprogenitor Cells for Cartilage Regeneration. *Curr Protoc*, **3**: (7) e835.
- [30] Vago, J., Somogyi, C., Takacs, R., Barna, K.B., Jin, E.J., Zakany, R., Matta, C. (2024) Isolation and Culturing of Primary Murine Chondroprogenitor Cells: A Mammalian Model of Chondrogenesis. *Curr Protoc*, **4**: (3) e1005.
- [31] Huynh, N.P.T., Zhang, B., Guilak, F. (2019) High-depth transcriptomic profiling reveals the temporal gene signature of human mesenchymal stem cells during chondrogenesis. *FASEB J*, **33**: (1) 358-372.
- [32] Ahrens, P.B., Solursh, M., Reiter, R.S. (1977) Stage-related capacity for limb chondrogenesis in cell culture. *Dev Biol*, **60**: (1) 69-82.
- [33] Bobick, B.E., Kulyk, W.M. (2004) The MEK-ERK signaling pathway is a negative regulator of cartilage-specific gene expression in embryonic limb mesenchyme. *J Biol Chem*, **279**: (6) 4588-95.
- [34] Kumar, D., Lassar, A.B. (2009) The transcriptional activity of Sox9 in chondrocytes is regulated by RhoA signaling and actin polymerization. *Mol Cell Biol*, **29**: (15) 4262-73.
- [35] Rolfe, R.A., Shea, C.A., Murphy, P. (2022) Geometric analysis of chondrogenic self-organisation of embryonic limb bud cells in micromass culture. *Cell Tissue Res*, **388**: (1) 49-62.
- [36] Akiyama, H., Chaboissier, M.C., Martin, J.F., Schedl, A., de Crombrughe, B. (2002) The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6. *Genes Dev*, **16**: (21) 2813-28.
- [37] Lewandowski, J.P., Pursell, T.A., Rabinowitz, A.H., Vokes, S.A. (2014) Manipulating gene expression and signaling activity in cultured mouse limb bud cells. *Dev Dyn*, **243**: (7) 928-36.
- [38] Weissenberger, M., Weissenberger, M.H., Gilbert, F., Groll, J., Evans, C.H., Steinert, A.F. (2020) Reduced hypertrophy in vitro after chondrogenic differentiation of adult human mesenchymal stem cells following adenoviral SOX9 gene delivery. *BMC Musculoskelet Disord*, **21**: (1) 109.
- [39] Fan, Y., Bian, X., Meng, X., Li, L., Fu, L., Zhang, Y., Wang, L., Zhang, Y., Gao, D., Guo, X., Lammi, M.J., Peng, G., Sun, S. (2024) Unveiling inflammatory and prehypertrophic cell populations as key contributors to knee cartilage degeneration in osteoarthritis using multi-omics data integration. *Ann Rheum Dis*, **83**: (7) 926-944.
- [40] Liu, X., Peng, T., Xu, M., Lin, S., Hu, B., Chu, T., Liu, B., Xu, Y., Ding, W., Li, L., Cao, C., Wu, P. (2024) Spatial multi-omics: deciphering technological landscape of integration of multi-omics and its applications. *J Hematol Oncol*, **17**: (1) 72.
- [41] Matsushita, Y., Noguchi, A., Ono, W., Ono, N. (2023) Multi-omics analysis in developmental bone biology. *Jpn Dent Sci Rev*, **59**: 412-420.
- [42] Pandey, A., Bhutani, N. (2024) Profiling joint tissues at single-cell resolution: advances and insights. *Nat Rev Rheumatol*, **20**: (1) 7-20.



A szerzőkről:

**Dr. Matta Csaba, Harsányi Boglárka:** Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

**Dr. Matta Csaba** molekuláris biológus (genetikus), PhD fokozattal és sokéves porckutatási tapasztalattal rendelkezik. Pályafutása kezdetén az *in vitro* porcképződést irányító jelátviteli útvonalakat, elsősorban a kalciumfüggő jelátviteli útvonalakat tanulmányozta. Jelenleg az „omikai” megközelítéseket alkalmazva tanulmányozza a chondroprogenitor sejtek transzkriptómját, proteómját és sejtfelszíni proteómját (surfaceome). A Chondro-omikai Kutatócsoport vezetője. 2014. és 2016. között Marie Curie Intra-European Fellowship for Career Development ösztöndíjasként Prof. Ali Mobasheri kutatócsoportjában dolgozott, a University of Surrey School of Veterinary Medicine intézetben, az Egyesült Királyságban. 2018. és 2021. között elnyerte a Magyar Tudományos Akadémia Prémium Posztdoktori Ösztöndíját. Az NKFIH Fiatal Kutatók Kiválósági Programja (pályázati szám: FK-134304) keretében kutatási támogatásban részesült 2021. és 2024. között. Az Európai Tudományos és Technológiai Együttműködés (COST Association) CA21110 – Building an Open European Network on OsteoArthritis Research (NetwOArk) program irányítóbizottsági (management committee) tagja. 2024-ben a Nemzeti Tudósképző Akadémia által alapított Szent-Györgyi Talentum-díj kitüntetésben részesült.

**Harsányi Boglárka** jelenleg 3. éves orvostanhallgató, a Nemzeti Tudósképző Akadémia (NTA) Szent-Györgyi hallgatója, valamint tagja a Sántha Kálmán Szakkollégiumnak is. Boglárka 2022-ben csatlakozott Dr. Matta Csaba kutatócsoportjához.

# Fények a „genomiális sötét anyagban” – gondolatok a mikroRNS-ért odaítélt Nobel-díj kapcsán

**Orbán Tamás**

Génreguláció Kutatócsoport, Molekuláris Élettudományi Intézet,  
HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont

## Lights in the "genomic dark matter" – reflections on the Nobel Prize for microRNA

### Összefoglaló

Sokáig azt gondoltuk, hogy az ezredforduló tájékan záruló humán genom projekt egy pontos útmutatóval szolgál majd a sejteinkben található genetikai információ pontos megértéséhez, az eredmények azonban számos meglepetéssel szolgáltak. Nemcsak hogy a vártnál jóval kevesebb fehérjekódoló gént sikerült azonosítani, de ezek ráadásul az örökítőanyag zavarba ejtően kis hányadát, a mai annotációk szerint <2%-át (intronokkal együtt is csak <5%-át) teszik ki. A fennmaradó hatalmas nukleinsav mennyiségre pusztán haszontalan „junk” DNS-ként tekinteni egyrészt a korábbi elvárásokkal szembeni csalódottságot jelentette, másrészt az evolúciós elmélet által kijelölt korlátokat is feszegette. A „genomiális sötét anyagról” hamarosan kiderült, hogy rengeteg funkcionális elemet, sokféle RNS-kódoló gént, és a mobilis genetikai elemekhez sorolható repetitív szekvenciát tartalmaz. Ennek egyik első jelei a már korábban felfedezett, de sokáig kevésbé értett mikroRNS-ek voltak, amelyek elindítottak egy másfajta genetikai és genomikai szemléletet, és rávilágítottak az örökítőanyagunkban ma is jelen lévő „RNS világ” rejtelmére. A 2024. évi orvosi-élettani Nobel-díj ez előtt is tiszteleg: **Victor Ambros** és **Gary Ruvkun** a mikroRNS-ek felfedezéséért és a poszttranszkripcionális szabályozásban betöltött szerepük feltárásáért érdemelték ki a legrangosabb tudományos elismerést. Ugyanakkor az elmúlt évtizedekben a kutatások eredményeképpen eljutottunk mikroRNS-alapú diagnosztikai és terápiás eljárásokig, amelyek kétségkívül hozzájárultak a Nobel Bizottság döntéséhez, és a korszakalkotó felfedezés díjazásához.

**Kulcsszavak:** Nobel-díj, RNS interferencia, mikroRNS, Ago fehérje, TDMD

### Summary

By its completion around the turn of the millennium, the human genome project was expected to provide an accurate guide to the genetic information in our cells, but the results came with several surprises. Not only have far fewer protein-coding genes been identified than expected, but they also represent a bewilderingly small fraction of the genome, <2% (<5% including introns) according to current annotations. To regard the remaining vast amount of nucleic acid as merely "junk" DNA was both a disappointment and a stretch of the limits imposed by evolutionary theory. The 'genomic dark matter' was soon found to contain a large number of functional elements, including various RNA coding genes, and repetitive sequences belonging to mobile genetic elements. One of the first signs of this was the discovery of microRNAs, which had previously been little understood, and which triggered a different approach to genetics and genomics, highlighting the mysteries of the "RNA world" still present in our genome. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2024 also pays tribute to this: **Victor Ambros** and **Gary Ruvkun** were awarded the most prestigious scientific honor for the discovery of microRNAs and their role in post-transcriptional regulation. However, research in recent decades has led to microRNA-based diagnostics and therapeutics, which undoubtedly contributed to the Nobel Committee's decision and the award for this groundbreaking discovery.

**Keywords:** Nobel Prize, RNA interference, microRNA, Ago protein, TDMD

### Bevezetés

A tudomány fejlődését sokszor hajlamosak vagyunk egy egyirányú, felfelé ívelő folyamatként elképzelni, ahol a hatalmas áttörések újra és újra továbblendítik a kutatók szekerét, és mindig

újabb és újabb ígéretes távlatok nyílnak meg előttük. A valóságban persze ez nem egészen így működik, hiszen a tudomány igazi története tele van kudarcokkal és zsákutcákkal is, amelyek ugyanúgy nagyon fontos részei az előrehaladásnak – ha másért nem, hát azért, hogy a többiek tudják: abba az irányba nem érdemes továbbmenni. A jelenkor tudásával visszatekintve utólag gyakran minden magától értetődőnek és meglepően egyszerűnek tűnik, de ilyenkor érdemes megpróbálni belehelyezni magunkat a tudomány akkori kontextusába, és abból a szemszögből értékelni az eredményeket. Ugyanakkor azt sem szabad elfelejteni, hogy a „mértőkövek” sokszor csak később látszanak igazán, tehát valamilyen szinten fontos a jelen tudás fényében (is) értékelni a korábbi eredményeket. Hiába, a tudomány megismerése mégiscsak szellemi erőfeszítéssel jár. A fenti gondolatok természetesen ugyanúgy igazak bármelyik tudományterületre, és a tudományos kutatás legrangosabb elismerésének számító Nobel-díj kapcsán évente legalább egyszer érdemes ilyen szemszögből is górcső alá venni a díjazottak munkásságát, az általuk tett felfedezések tudományos részleteit, izgalmas aspektusait.

A molekuláris biológiát kívülről szemlélő kutatóknak talán meglepő lehet, hogy az elmúlt két évben az orvosi-élettani Nobel-díjak az RNS biológia világára „koncentrálódtak”. A 2023-ban Karikó Katalinnak és Drew Weissmannak a mRNS-alapú vakcinák felfedezéséért (a magyar vonatkozás miatt is sokunk nagy öröme) odaítélt elismerés nyilván a technológia használatának óriási előnyére, és a Covid pandémia megfékezésében betöltött megkérdőjelezhetetlen szerepére reflektál (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/summary/>), amelyről magyarul a Biokémia is beszámolt a 2023 decemberi számban ([https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2023/2023\\_12.pdf](https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/resources/biokem/2023/2023_12.pdf)). A 2024. évi díj az RNS kutatók kellemes meglepetésére pedig ismét az RNS molekulákat állította reflektorfénybe. A tavaly kihirdetett díj keretében Victor Ambros és Gary Ruvkun a mikroRNS-ek (miRNS-ek) felfedezéséért és a génexpresszió regulációjában betöltött szerepük feltárásáért érdemelték ki ezt a rangos elismerést (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2024/summary/>). Rögtön felmerül a kérdés, hogy mi tette most ennyire központi szereplővé ezeket a szabályozó RNS-eket, annál is inkább, hiszen az RNS interferencia (RNA interference, RNAi) egyik alapfolyamatának, a kis interferáló RNS-eken (short interfering, siRNS-eken) alapuló folyamatnak a felfedezését 2006-ban egyszer már díjazták (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2006/summary/>). Ennek megértéséhez érdemes egy kicsit visszatekinteni a molekuláris genetika és a genomika területén a múlt század végén bekövetkezett robbanásszerű fejlődésre.

### Meglepetések a genomban

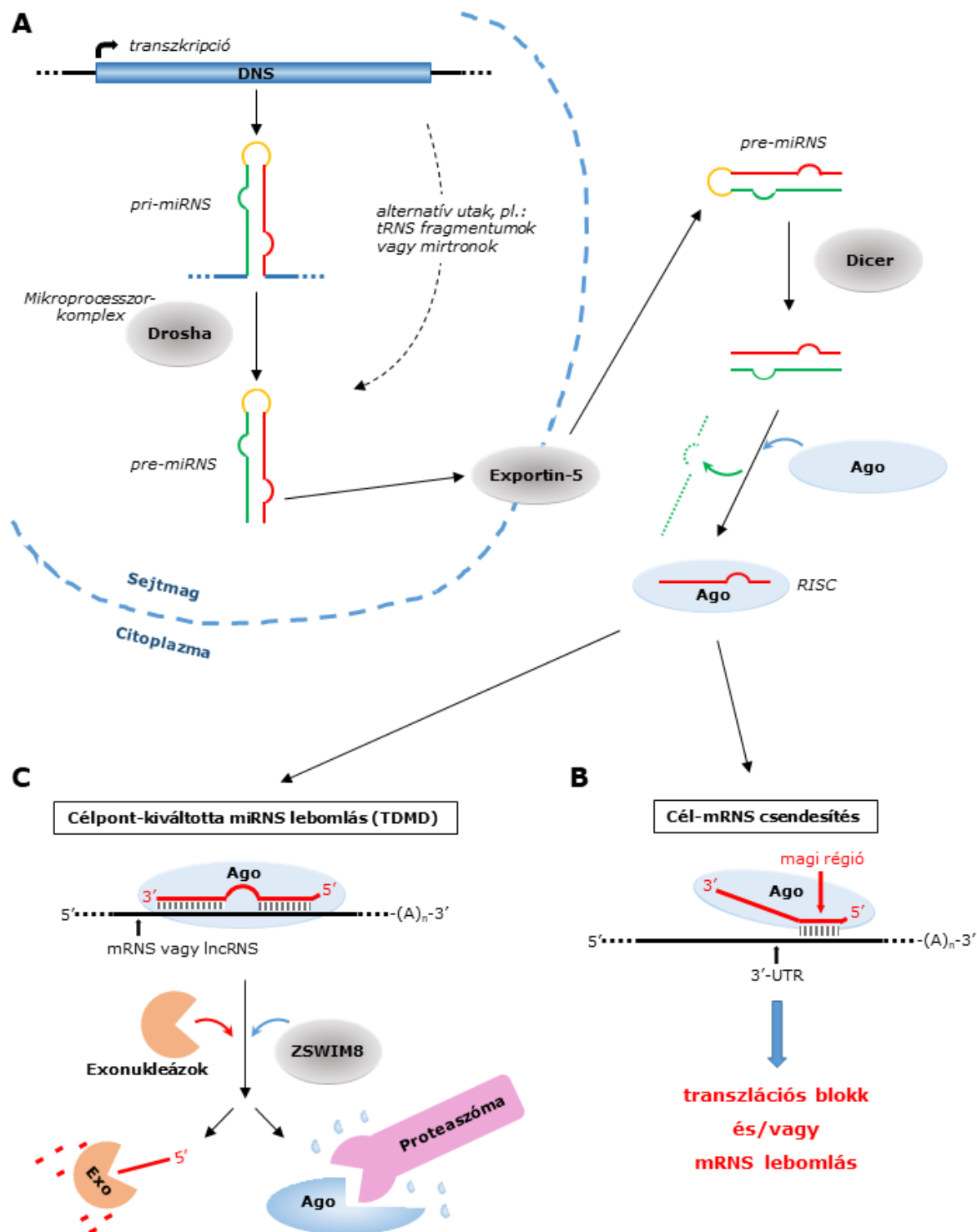
A XX. század második felére úgy tűnt, hogy a Francis Crick által megfogalmazott „centrális dogma” pontosan leírja a genetikai információ áramlását, és ezáltal a genomok működésére és összetételére is használható, „molekuláris” útmutatót biztosít [1]. Az elképzelés szerint a DNS molekula az információ elsődleges forrása, amely köztes RNS molekulákon (hírvivő RNS-eken, mRNS-eken keresztül) közvetíti azt a funkció végső végrehajtói, a fehérjék felé. Mint a biológiában mindig, már az elején voltak „kivételes” jelenségek: természetesen ismertek voltak RNS-ként funkcionáló (transzfer vagy riboszomális RNS) gének, de ezek fontos kiegészítői voltak a fehérjeszintézisnek; vagy például az RNS vírusok kapcsán felfedezett, az RNS irányából az információt „visszafele szállító” reverz transzkripció folyamata [2, 3] – de ezek alapvetően nem rengették meg a centrális dogmát, amely a fehérjekódoló gének kifejeződésének a mechanizmusát leíró, mára már rengetegszer tesztelt és bizonyított modellé vált. A technológiai

forradalomnak köszönhetően beinduló genom projektek azonban nem kevés meglepetéssel szolgáltak a genomok összetételére vonatkozóan, ugyanis a legtöbb vizsgált élőlény esetében mind a fehérjekódoló gének száma, mind azok genomot kitöltő aránya jóval a várakozások alattinak bizonyult. Az egyre pontosabb annotálások még inkább zavarba ejtőek voltak, és a genomok jelentős részét kitevő „nem-kódoló” (értsd nem fehérjekódoló) régióit – a kozmológiai kutatásokból vett analógiával – a „genomiális sötét anyag” névvel kezdték illetni [4]. Ma már tudjuk, hogy ebben az ismeretlen régióban többek között rengeteg RNS gén, illetve a mobilis genetikai elemekhez tartozó repetitív szekvencia található, és ezek funkcionális feltérképezése jelenleg is sokszor komoly kihívásokat állít a kutatók elé. Az RNS gének felfedezésének egyik első mozzanata ugyanakkor a miRNS-ek felfedezése volt – bár egy ideig a tudományos közvélemény ezzel nem igazán tudott mit kezdeni, és leginkább egyfajta érdekes kivételként tekintett rá.

Az 1990-es évek elején két ifjú kutató kezdett dolgozni a később (2002-ben) szintén Nobel-díjban részesült Robert Horvitz laboratóriumában, hogy elsajátítsák a kor modern fejlődésgenetikai kutatásainak új modellorganizmusán, a *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) fonalférgen végzett eljárásokat. A két kutató, Victor Ambros és Gary Ruvkun később külön laboratóriumokat alapítottak, ahova magukkal vitték az új technológiai platformot, de az önálló kutatási irányvonalak mellett továbbra is szoros szakmai kapcsolatban maradtak egymással. A *C. elegans* kitűnő genetikai alannak bizonyult, hiszen a számtalan mutáns fenotípus karakterizálása nagyon sok sejtélettani és fejlődésbiológiai folyamat részleteinek a feltárásához segítette hozzá a kutatókat. Egy ilyen kísérletsorozat azonban meglepő eredményt hozott. A fonalféreg fejlődését bizonyos pontokon megakasztó mutánsok analízise során sikerült a mögöttes genetikai lókuszokat „sorba állítani”, meghatározva ezzel egy olyan génkaskádót, amelynek tagjai normális működésük esetén biztosítják a megfelelő fejlődési programot. Ebben a folyamatban a *lin-4* lókusz génterméke gátolta a *lin-14* lókusz kifejeződését, és a korábbi elképzelések (a centrális dogma) alapján a kutatók feltételezték, hogy itt egy transzkripciósfaktorként működő szabályozó fehérje gátolhatja egy másik fehérje képződését. A gond csak az volt, hogy míg a *lin-14* esetében a lókuszok szekvenciális analízise során sikerült a fehérje kódolást igazolni, addig a *lin-4* régióról nem képződött „hagyományos” mRNS, sőt, a termék egy meglehetősen rövid, érett formájában mindössze 21 nukleotid hosszúságú kis RNS volt. A kutatók értetlenül álltak az eredmény felett, hiszen ez ellentmondott minden korábbi várakozásnak. Hosszas és türelmes összehasonlító elemzéssel végül sikerült azt kimutatniuk, hogy a kisméretű *lin-4* RNS több helyen is képes reverz komplementer módon kötődni a *lin-14* mRNS szekvenciájához, és ez által meggátolni róla a fehérjeképződést, vagyis a transzlációt. A kötődés érdekes módon a mRNS 3' végén elhelyezkedő, nem-kódoló régióhoz történik, és a kis RNS szekvenciájának egy jelentős része ebben nem is vesz részt (1. ábra). Ugyanakkor a jelenség reprodukálható módon, más riporterrendszerre áthelyezve is működött, így a felfedezés egy új szabályozási mechanizmusnak bizonyult. Az Ambros- és a Ruvkun-labor egyszerre, két párhuzamos közleményben jelentette meg az eredményeket, és bár ezek a rangos *Cell* tudományos folyóiratban jelentek meg [5, 6], kezdetben nem arattak osztatlan sikert. A szkepticizmus oka elsősorban az volt, hogy mivel a kutatók a *lin-4*-gyel homológ szekvenciákat csak a *C. elegans*-szal rokon fonalféreg genomokban tudtak kimutatni, így felmerült a gyanú, hogy a jelenség csak ennek az élőlénycsoportnak egy specifikus evolúciós megoldása lehet.

Jó pár év elteltével, az ezredforduló tájékán azonban Gary Ruvkun kutatócsoportjában sikerült

egy újabb kis szabályozó RNS-t (*let-7*) azonosítani, amelynek azonban már más magasabbrendű genomokban, köztük az emberi genomban is voltak homológjai [7].



**1. ábra: A miRNS-ek érése és funkciói.** (A) Az érett miRNS-ek képződésének útja a sejtmagtól a citoplazmáig. A könnyebb átláthatóság kedvéért a rajzon a főbb effektor fehérjéket tüntettük fel, a hozzájuk kapcsolódó egyéb segédfehérjéket nem. Az alternatív érési folyamatok közül csak a szövegben is tárgyalt Drosha-független útvonalakat jelöltük, a Dicer-független útvonalakat nem. Ago: Argonaute fehérje, ebből az emberi genomban 4 paralóg található (Ago1-4). (B) A miRNS-ek fő funkciója a célpont mRNS-ek transzlációjának gátlása vagy azok degradációja. Az ábrán az állati szervezetekben nagyon gyakori eset látható, amikor a miRNS és a célpontja között mindössze egy rövid szakasz mutat komplementaritást. Sokszor előfordul azonban, hogy a miRNS 3' végén is kialakul részleges bázispárosodás, ahogy az az Ambros és Ruvkun által felfedezett *lin-4* esetében is megfigyelhető. 3'-UTR: 3' nem transzlált régió (untranslated region). (C) A TMDM mechanizmusának vázlatos bemutatása. A folyamatot a miRNS és a célpont közötti kiterjedt bázispárosodás váltja ki, ez alól csak néhány centrális és legtöbbször az 5' végi nukleotid marad ki. Részletek lásd a szövegben; lncRNS: long noncoding, azaz hosszú nem-kódoló RNS.

Az eredmény ekkor már többeket is arra inspirált, hogy hasonló mechanizmusok után kutassanak: így történt, hogy 2001-ben a Science folyóirat hasábjain egyszerre három kutatócsoport (köztük Victor Ambros csoportja is) olyan eredményeket publikált, miszerint több modellorganizmus, beleértve az ember örökítőanyagában is számos rövid regulátor RNS-t lehet kimutatni, amelyeket akkor közös megegyezéssel mikroRNS-eknek (miRNS) neveztek el [8-10]. Hirtelen nagyot lendült a világ, és egymást érték a miRNS-nek képződésével és funkciójával kapcsolatos újabb és újabb eredmények. Rövidesen világossá vált, hogy evolúciós szempontból a miRNS-ek egy ősbibb folyamat, a speciális ribonukleoprotein-komplexeken alapuló RNS interferencia egyik ágát képviselik [11]. Ezeknek a fehérje-RNS komplexeknek a közös tulajdonsága, hogy a kis méretű, egyszálú RNS-ek mindig egy kitüntetett fehérjecsalád, az Argonaute (Ago) fehérjék egy képviselőjéhez kötődnek, létrehozva ezzel egy úgynevezett „csendesítési” komplexet, amelyet az angol rövidítés alapján „RISC”-nek (*RNA-Induced Silencing Complex*) neveztek el. Amíg az RNS interferencia folyamatok közül ősbibbnek tartott kis interferáló RNS-ek (siRNS-ek) az invazív genetikai elemek, elsősorban a vírusok és a transzpozonok elleni egyfajta „sejtszinű immunrendszert” képviselnek, addig a miRNS útvonal az evolúció során egy endogén szabályozási hálózattá fejlődött – ahogy azt Ambros és Ruvkun a kezdeti munkáikban igazolták [5, 6].

### A miRNS-ek képződése és funkciói – téma és variációk

Kicsit több, mint 30 év a modern tudományban hosszú idő, és ezalatt rengeteg ismeretanyag halmozódott fel az RNS interferencia folyamatairól, köztük a miRNS-ek éréséről és működéséről is. Mai tudásunk szerint a miRNS útvonal néhány gombafaj kivételével az összes eukarióta élőlényben jelen van [12], a jelen tanulmányban azonban ezen folyamatoknak elsősorban az állati szervezetekben végbemenő aspektusait mutatjuk be (1. ábra). A genomon kódolt miRNS génekről képződő elsődleges átírat (a *primary*, vagyis pri-miRNS) egy olyan speciális RNS molekula, amely egy vagy több jellegzetes, hajtűre emlékeztető másodlagos szerkezetű régiót tartalmaz: ezeket a prekursor-miRNS-eket (pre-miRNS) a sejtmagban a „Mikroprocesszor” elnevezésű fehérjekomplex részeként a Drosha endonukleáz kihalítja, majd egy speciális transzporterfehérje (Exportin-5) kijuttatja a citoplazmába. Itt egy másik RNáz fehérje, a Dicer lehalítja a pre-miRNS terminális hurokszekvenciáját, ezt követően pedig egy hosszabb érési folyamat során a rövid, kettősszálú RNS egyik lánc (a „követő szál”) eliminálódik; a másik szál (a „vezér miRNS”) pedig egy Ago fehérjével összekapcsolódva kialakítja a már korábban említett RISC-et (1A ábra). Az így létrejött csendesítési komplex további feladata, hogy folyamatosan ellenőrizze a citoplazmában található RNS-eket, leginkább a mRNS molekulákat, és ha a miRNS biztosította szekvenciális komplementaritás alapján megtörténik a felismerés, akkor a célpontokhoz kötődve meggátolja az arról történő transzlációt és/vagy elindítsa annak lebomlását (1B ábra) [13]. Ennek révén a miRNS-ek tehát főleg poszttranszkripcionális szinten szabályozzák a génexpressziós mintázatot (bár ismerünk néhány példát, amikor a komplex visszajut a sejtmagba, és ott a célpontok transzkripcióját befolyásolja [14]). Ugyanakkor, ahogy ezt már a felfedezésükkor Ambros és Ruvkun is leírták, a célszekvencia felismerésében a miRNS-nek gyakran csak egy rövid része vesz részt (az ún. magi régió, *seed region*), és részben ez is az oka annak, hogy egy miRNS-nek több célpontja is van – bár gyakran megfigyelhető, hogy a célpontok által kódolt fehérjék egy biokémiai útvonalba esnek. A célszekvenciák legtöbbször a mRNS-ek 3' nem-transzlálódó régiójában találhatóak, de nagyon gyakori, hogy egy mRNS több miRNS kötőhelyet tartalmaz (ezek lehetnek ugyanannak vagy többféle miRNS-nek a tapadási pontjai). Egy RISC önmagában sokszor nem gátolja teljesen a cél-mRNS működését, ehhez több

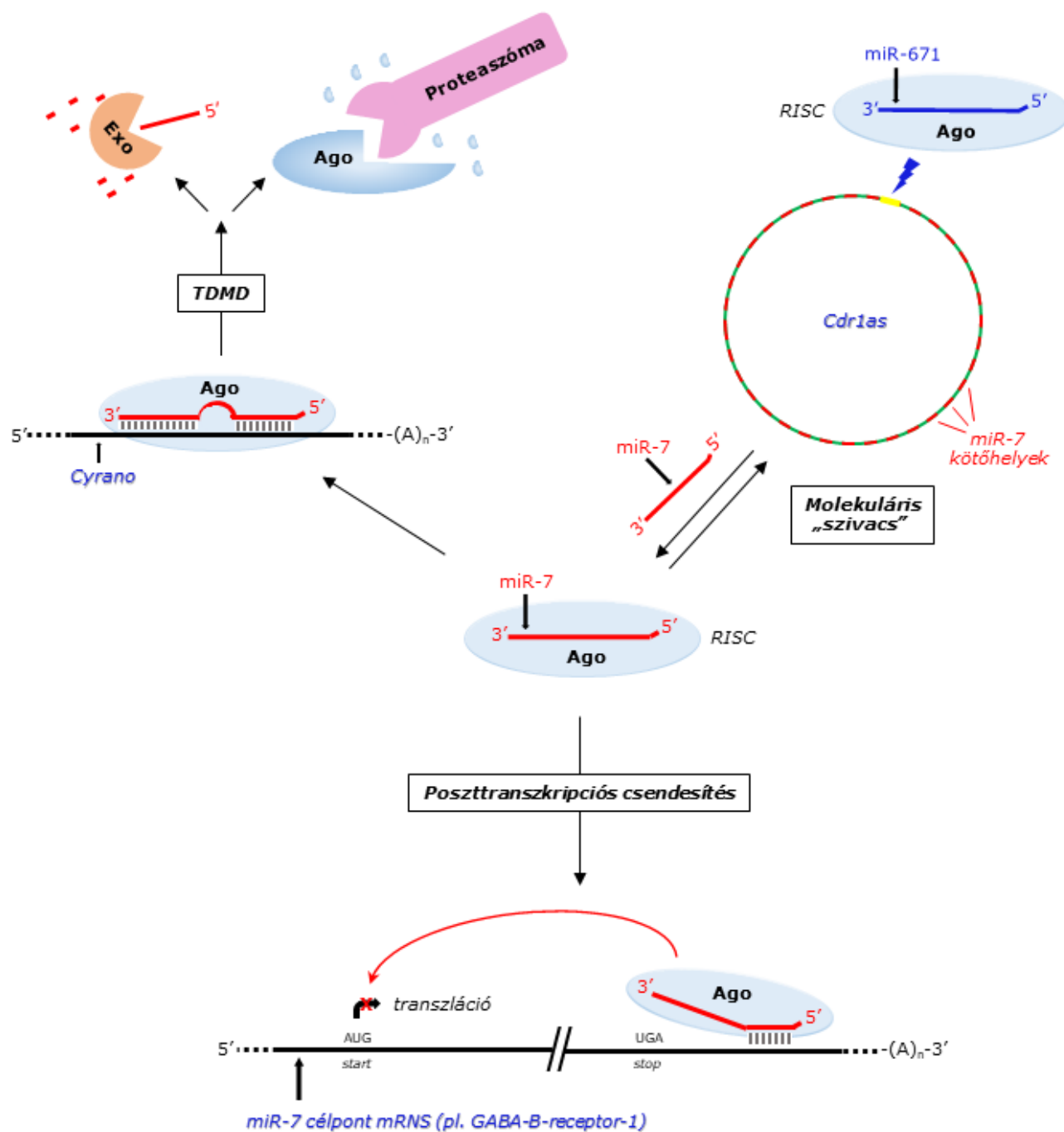
csendesítési komplex kötődése szükséges, amely így lehetővé teszi a génkifejeződés mennyiségi „finomhangolását”. A több célpont egyidejű regulációját figyelembe véve ez a jelenség így egy bonyolult poszttranszkripciószabályozási hálózat kialakulását teszi lehetővé, amely komplexitásában összemérhető a transzkripciószabályozó faktorok alkotta hálózattal [15] – nem véletlen, hogy a miRNS-eknek nagyon fontos szerepük van az egyedfejlődési mintázatok kialakításában [16].

Az elmúlt évtizedekben persze arra is fény derült, hogy a miRNS-ek eddig bemutatott „kanonikus” érési folyamata alternatív utakon is megvalósulhat. A két kitüntetett endonukleázos hasítási lépés „kiváltásának” alapján meglepően sok, Drosha- vagy Dicer-független útvonalat ismerünk, amelyek tovább növelik a szabályozási hálózat sokszínűségét [17, 18]. Az evolúció során kialakult alternatív folyamatok között szembetűnő, hogy a miRNS képződés több esetben összekapcsolódott más RNS molekulák érési folyamataival: sok esetben például tRNS-ek prekursor szekvenciáiból is keletkeznek miRNS molekulák, vagy nagyon izgalmas az ún. „mirtron” útvonal, ahol a mRNS-ek érése során kivágódó rövid intronok hasznosulnak ilyen módon [19, 20]. Az is kiderült, hogy a pre-miRNS esetében a „karválasztás” sem mindig ugyanazt az érett miRNS-t eredményezi, sőt, bizonyos sejtípusokban ugyanabból a pre-miRNS-ből meghatározott arányban egyszerre akár kétféle termék is létrejöhet [21]. Ami azonban igazán komolyan megváltoztatta a miRNS-ekről alkotott képünket, az az úgynevezett izomir-ek képződése. Kiderült ugyanis, hogy a miRNS gének terméke nem egy diszkrét kis RNS molekula, hanem egy változatos miRNS populáció, amelyben az 5′ és/vagy a 3′ végükön eltérő szekvenciákat tartalmazó kis RNS-ek találhatók. Ezek között akadnak olyanok, amelyek a Drosha vagy Dicer „félrelépésének” köszönhetően az eredeti miRNS-nél hosszabb vagy rövidebb szekvenciával rendelkeznek, de sok esetben előfordul, hogy például terminális nukleotidil-transzferázok segítségével az eredetileg formálódott miRNS a genomi szekvenciától eltérően extra adenin vagy uracil tartalmú nukleotidokkal bővül [22]. Mindennek komoly jelentősége lehet a célpontok felismerésében, hiszen az egyébként is meglehetősen rövid szekvencián, a gyakran csak a miRNS 5′ végének 2-8 nukleotid pozícióját jelentő magi régió alapuló targetálást komolyan befolyásolhatják az izomir-ek szekvenciális változatai. És ha ehhez hozzávesszük, hogy a sejtben zajló RNS szerkesztési (*RNA editing*) folyamatok kapcsán a miRNS-ek belső szekvenciáiban módosított, ún. polimorf izomir-ek is előfordulnak, akkor a kutató tényleg ledöbben az elképesztő szekvenciális variabilitás láttán... [23].

### Ki regulálja a regulátorokat?

Ezen a ponton érdemes kitérni a miRNS-ek stabilitásának a kérdésére is, vagyis hogy mi és hogyan szabályozza ezeket az apró regulátorokat. Ezzel kapcsolatban az elmúlt években egy izgalmas, de meglepő eredményre derült fény: a miRNS-ek lebomlását az általuk megcélzott RNS molekulák indíthatják el, ezért nevezték el a jelenséget célpont-kiváltotta miRNS lebomlásnak, az angol rövidítés után TDMD-nek (*Target-Directed miRNA Degradation*) [24]. A folyamat azon alapul, hogy a miRNS 5′ részén található magi régió mellett – egy rövid centrális szakasz kivételével – a 3′ részen is kiterjedt bázispárosodás lép fel a célpont RNS molekulával szemben, ami megváltoztatja az Ago-miRNS komplex szerkezetét (1C ábra). Ennek egyrészt az a következménye, hogy a miRNS 3′ vége ezzel jobban hozzáférhetővé válik bizonyos enzimek, például nukleotidil-transzferázok és exonukleázok számára, amelyek így képesek a miRNS molekula szelektív lebontására. Másrészt a megváltozott konformációjú Ago fehérjét egy ZSWIM8 nevű ubikvitin-ligáz felismeri, és a proteaszóma útvonalon elindítja a lebomlását, ami

végző soron a RISC széteséséhez vezet [25, 26]. Ezzel a mechanizmussal ugyanakkor szelektíven el lehet távolítani bizonyos izomireket a miRNS populációból, de a dolog fordítva is működhet: bizonyos izomirek (elsősorban 3' izomirek) képződésének az lehet az előnye, hogy kikerülhetik a célpont-kiváltotta degradációt.



**2. ábra: A mmu-miR-7 sorsa a sejtben – egy komplex szabályozási hálózat.** Az érett miRNS-eket az egyszerűség kedvéért a hivatalos fajmegjelölő előtag (mmu – *Mus musculus*) nélkül jelöltük. A poszttranszkripció csendesítésben számos célpont közül példaként csak egy konkrét mRNS-t tüntettünk fel; a molekuláris „szivacs” működő Cdr1as cirkuláris RNS-t nem méretarányosan ábrázoltuk. A szabályozási hálózatra vonatkozó részletes további magyarázatot lásd a szövegben.

A TDMD jelenségét kezdetben leginkább vírusokban írták le, és ezek érdekes példái voltak azon változatos mechanizmusoknak, ahogy ezek az invazív genetikai elemek „igyekeznek” átvenni az

irányítást a gazdasejt molekuláris apparátusa felett, és kiiktatni a potenciális védekezési pontokat (például a miRNS-eket). Később azonban eukarióta sejtekben is kimutatták az „endogén” TDMD jelenségét, amikor egy endogén transzkriptum képes egy adott miRNS-t eliminálni [24]. Ennek szép példája egy, az egér neuronokban leírt komplex szabályozási kör (2. ábra), ahol a mmu-miR-7 miRNS kötődik a *Cyrano* nevű hosszú nem-kódoló RNS-hez, amely képes kiváltani a TDMD-t és eliminálni ezt a nagy mennyiségben előforduló miRNS-t. Igen ám, de a mmu-miR-7 képes kötődni a *Cdr1as* elnevezésű cirkuláris RNS-hez is, amely nagyszámú (egérben 130!) kötőhellyel molekuláris „szivacsként” (*molecular sponge*) szekvesztrálja a mmu-miR-7-et, ami ezáltal elkerüli a TDMD-t. Ugyanakkor a *Cdr1as* sem „védtelen”: tartalmaz egy kötőhelyet, ahova egy másik miRNS, a mmu-miR-671 tud kötődni, ez viszont a miRNS-ek esetében ritka teljes komplementaritás miatt az Ago fehérje segítségével elhasítja a cirkuláris RNS-t. Ennek pedig az a következménye, hogy felszabadul a nagy mennyiségben tárolt mmu-miR-7, ami így a saját célpontjait is képes egy rövid ideig leszabályozni... A bonyolult szabályozási kör eredménye ennek a neuronális miRNS-nek egy rendkívül kifinomult regulációja, amelynek a funkcionális következményei még nem teljesen tisztázottak. Annyi biztos, hogy a *Cdr1as* hiányos (*knock out*) egérnek viselkedésszerű problémái vannak [27], ami megerősíti azt az elképzelést, hogy a bonyolult idegrendszeri működések mögött – ahogy igazából vártuk – komplex molekuláris hálózatok húzódnak meg; ezekben pedig úgy tűnik, hogy a miRNS-eknek is kitüntetett szerepük van.

### miRNS-ek az orvosbiológiai kutatásokban

Ahogy az eddig leírtakból is kitűnik, a miRNS-ek egy fontos szabályozási hátterét adják az eukarióta sejtek működésének, és a biológiai rendszerekben betöltött szerepükből adódóan természetesen komoly orvosbiológiai jelentőségük is van. A hagyományosan kutatott genotípus-fenotípus összefüggések kapcsán a miRNS gének mutációit kóroki tényezőként már több betegséggel kapcsolatban is igazolták. Ezek részletes ismertetése megtalálható egy közelmúltban általam publikált orvosi közleményben [28]. Felhívnam itt a figyelmet azonban arra, hogy a kutatások kezdeti irányvonala mellett (ahol a kérdés főleg az volt, hogy milyen folyamatok szabályozzák a miRNS-ek képződését *egy sejten belül*) egyre több adat látott napvilágot arról, hogy az Ago fehérjékhez kötötten vagy extracelluláris vezikulákban a miRNS-ek ki is jutnak a sejtekből, és így sokféle testfolyadékban (például vérben és vizeletben) is kimutathatók [29, 30]. Ennek óriási jelentősége van, hiszen lehetőséget nyújt nem-invazív mintavételezésre akár kutatási, akár diagnosztikai, vagy a jövőben akár terápia utánkövetési célból is. A transzportfolyamatok molekuláris részleteiről ugyan még keveset tudunk, de annyi biztos, hogy a különféle vezikulák összetétele bizonyos betegségekben vagy fiziológiás állapotokban jelentősen megváltozik, ezért feltételezhető, hogy a „csomagolás” nagyon precízen szabályozott. Ez a tudás már jelenleg is komoly segítséget jelent a biomarker-alapú diagnosztikában, de a részletek megértése jelentős előrelépés lehet a célzott terápiák fejlesztésében is [31, 32].

### Konklúzió – némi tudománytörténeti kitekintéssel

A jelen tanulmányban a 2024. évi orvosi-élettani Nobel-díj apropóján igyekeztem egy kis ízelítőt adni a miRNS-ek alkotta szabályozási hálózat bonyolultságáról, a benne kialakuló molekuláris kapcsolatok logikájáról, és ezek szerepéről az eukarióta sejtek működésének fenntartásában. Felmerülhet persze a kérdés, hogy az evolúció során miért maradt fenn egy ilyen, redundanciákat (például sok miRNS-nek ugyanaz a célpontja) is sokszor szép számmal

tartalmazó, bonyolult hálózat? A több lehetséges válasz közül talán érdemes kiemelni Victor Ambros néhány évvel korábbi véleménycikkét, amelyben amellett érvel, hogy a miRNS alapú szabályozás stabilizálhatja a génregulációs hálózatokat, és segíthet például a „transzkripció zaj” kontrollálásában [33]. Ugyanezen logika mentén az is felvethető, hogy egy ilyen robosztus hálózat külső invazív elemekkel, például vírusokkal szemben is talán kevésbé sebezhető, ami az emberiséget nemrégiben sújtó Covid-pandémia kapcsán nem is egy annyira elhanyagolható nézőpont. Persze még bőven akad felfedezni való a miRNS-ek világában is, hiszen a szűkebb szakterület művelői között még abban sincs teljes egyetértés, hogy hány miRNS gént találhatunk a humán genomban. A *miRBase* adatbázis jelenleg (2025. február vége) 1917 darab miRNS lókusz jegyez (<https://www.mirbase.org/browse/results/?organism=hsa>), ugyanakkor egy friss tanulmány ezt a számot legalább ennek a két és félszeresére teszi [34] – kérdés persze, hogy ezekből mennyi kódol funkcionálisan validálható kis RNS-t, és mennyi bizonyul esetleg degradációs terméknek vagy szekvenálási artefaktumnak. A „genomiális sötét anyag” ugyanakkor még bőven tartogathat meglepetéseket, és nem csak a miRNS-ek terén: úgy tűnik, hogy az újonnan felfedezett RNS típusok (például hosszú nem kódoló RNS-ek vagy cirkuláris RNS-ek) is szép számmal bújnak meg olyan régiókban, amelyeket korábban még csak „haszontalan szemétnek” (*junk DNA*) gondoltunk.

Visszatekintve a miRNS-ek kicsit több mint 30 évvel ezelőtti felfedezésére azt hiszem kijelenthető, hogy az egyértelmű paradigma-váltást hozott a molekuláris genetikában és a genomikában egyaránt. Elkezdtünk másként gondolkodni a génexpresszió szabályozásáról és elkezdtünk másként tekinteni az örökítőanyag szerkezetére és működésére. A lavina pedig meglódult, és az új RNS-ek megismerése beváltotta a hozzájuk fűzött reményeket, hiszen a feltárt jelenségek mára már diagnosztikai és jövőbeli terápiás eljárások alapját jelentik. Talán a tudományos érték és az újdonság mellett ez a fajta hasznosulás is hozzájárult ahhoz, hogy a Nobel Bizottság tavaly ismét egy RNS biológiához, és ismét az RNS interferenciához kötődő felfedezést díjazott. Hozzá kell azonban tenni, hogy maguk a felfedezők is elismerték: akkoriban eszük ágában sem volt új RNS regulációs mechanizmusokat vagy antiszensz terápiákat felfedezni, ők pusztán kíváncsiak voltak, hogy mi állhat egy fura jelenség hátterében [35]. És a mai rohanó, „pályázat- és közleményhajhász” világban elképzelhetetlenül hosszú időt és támogatást kaptak arra, hogy egy furcsa új modellorganizmuson tapasztalt anomáliát alaposan felgöngyölítsenek. Az eredmény és annak hatása tükrében ez mindenképp megérte a sok fáradozást – és azt gondolom, hogy ez akkor is megérte volna, ha 2024-ben nem ezért a felfedezésért adták volna az orvosi-élettani Nobel-díjat.

### Irodalomjegyzék

- [1] Crick, F. (1970) Central dogma of molecular biology, *Nature*. **227**, 561-3.
- [2] Baltimore, D. (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses, *Nature*. **226**, 1209-11.
- [3] Temin, H. M. & Mizutani, S. (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus, *Nature*. **226**, 1211-3.
- [4] Johnson, J. M., Edwards, S., Shoemaker, D. & Schadt, E. E. (2005) Dark matter in the genome: evidence of widespread transcription detected by microarray tiling experiments, *Trends Genet.* **21**, 93-102.
- [5] Lee, R. C., Feinbaum, R. L. & Ambros, V. (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*, *Cell*. **75**, 843-54.
- [6] Wightman, B., Ha, I. & Ruvkun, G. (1993) Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*, *Cell*. **75**, 855-62.
- [7] Pasquinelli, A. E., Reinhart, B. J., Slack, F., Martindale, M. Q., Kuroda, M. I., Maller, B., Hayward, D. C., Ball, E. E., Degan, B., Muller, P., Spring, J., Srinivasan, A., Fishman, M., Finnerty, J., Corbo, J., Levine, M., Leahy, P.,

- Davidson, E. & Ruvkun, G. (2000) Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA, *Nature*. **408**, 86-9.
- [8] Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W. & Tuschl, T. (2001) Identification of novel genes coding for small expressed RNAs, *Science*. **294**, 853-8.
- [9] Lau, N. C., Lim, L. P., Weinstein, E. G. & Bartel, D. P. (2001) An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*, *Science*. **294**, 858-62.
- [10] Lee, R. C. & Ambros, V. (2001) An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*, *Science*. **294**, 862-4.
- [11] Ghildiyal, M. & Zamore, P. D. (2009) Small silencing RNAs: an expanding universe, *Nat Rev Genet*. **10**, 94-108.
- [12] Moran, Y., Agron, M., Praher, D. & Technau, U. (2017) The evolutionary origin of plant and animal microRNAs, *Nat Ecol Evol*. **1**, 27.
- [13] Huntzinger, E. & Izaurralde, E. (2011) Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay, *Nat Rev Genet*. **12**, 99-110.
- [14] Sampey, G. C., Guendel, I., Das, R., Jaworski, E., Klase, Z., Narayanan, A., Kehn-Hall, K. & Kashanchi, F. (2012) Transcriptional Gene Silencing (TGS) via the RNAi Machinery in HIV-1 Infections, *Biology (Basel)*. **1**, 339-69.
- [15] Arora, S., Rana, R., Chhabra, A., Jaiswal, A. & Rani, V. (2013) miRNA-transcription factor interactions: a combinatorial regulation of gene expression, *Mol Genet Genomics*. **288**, 77-87.
- [16] Gebert, L. F. R. & MacRae, I. J. (2019) Regulation of microRNA function in animals, *Nat Rev Mol Cell Biol*. **20**, 21-37.
- [17] Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R. I. & Diederichs, S. (2009) Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation, *Nat Cell Biol*. **11**, 228-34.
- [18] Miyoshi, K., Miyoshi, T. & Siomi, H. (2010) Many ways to generate microRNA-like small RNAs: non-canonical pathways for microRNA production, *Mol Genet Genomics*. **284**, 95-103.
- [19] Ruby, J. G., Jan, C. H. & Bartel, D. P. (2007) Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing, *Nature*. **448**, 83-6.
- [20] Okamura, K., Hagen, J. W., Duan, H., Tyler, D. M. & Lai, E. C. (2007) The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*, *Cell*. **130**, 89-100.
- [21] Schamberger, A., Sarkadi, B. & Orban, T. I. (2012) Human mirtrons can express functional microRNAs simultaneously from both arms in a flanking exon-independent manner, *RNA Biol*. **9**, 1177-85.
- [22] Wagner, V., Meese, E. & Keller, A. (2024) The intricacies of isomiRs: from classification to clinical relevance, *Trends Genet*. **40**, 784-796.
- [23] Orban, T. I. (2023) One locus, several functional RNAs-emerging roles of the mechanisms responsible for the sequence variability of microRNAs, *Biol Futur*. **74**, 17-28.
- [24] Fuchs Wightman, F., Giono, L. E., Fededa, J. P. & de la Mata, M. (2018) Target RNAs Strike Back on MicroRNAs, *Front Genet*. **9**, 435.
- [25] Han, J., LaVigne, C. A., Jones, B. T., Zhang, H., Gillett, F. & Mendell, J. T. (2020) A ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA decay independently of tailing and trimming, *Science*. **370**.
- [26] Shi, C. Y., Kingston, E. R., Kleaveland, B., Lin, D. H., Stubna, M. W. & Bartel, D. P. (2020) The ZSWIM8 ubiquitin ligase mediates target-directed microRNA degradation, *Science*. **370**.
- [27] Piwecka, M., Glazar, P., Hernandez-Miranda, L. R., Memczak, S., Wolf, S. A., Rybak-Wolf, A., Filipchyk, A., Klironomos, F., Cerda Jara, C. A., Fenske, P., Trimbuch, T., Zywitzka, V., Plass, M., Schreyer, L., Ayoub, S., Kocks, C., Kuhn, R., Rosenmund, C., Birchmeier, C. & Rajewsky, N. (2017) Loss of a mammalian circular RNA locus causes miRNA deregulation and affects brain function, *Science*. **357**.
- [28] Orbán, T. I. (2024) Mikro-RNS-ek a genomban: a génexpressziós hálózat parányi finomhangolói, *LEGE ARTIS MEDICINAE*. **34**, 581-589.
- [29] Valadi, H., Ekstrom, K., Bossios, A., Sjostrand, M., Lee, J. J. & Lotvall, J. O. (2007) Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells, *Nat Cell Biol*. **9**, 654-9.
- [30] O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y. & Peng, C. (2018) Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation, *Front Endocrinol (Lausanne)*. **9**, 402.
- [31] Veziroglu, E. M. & Mias, G. I. (2020) Characterizing Extracellular Vesicles and Their Diverse RNA Contents, *Front Genet*. **11**, 700.
- [32] Avgeris, M., Panoutsopoulou, K., Papadimitriou, M. A. & Scorilas, A. (2019) Circulating exosomal miRNAs: clinical significance in human cancers, *Expert Rev Mol Diagn*. **19**, 979-995.
- [33] Ambros, V. (2019) Mathematics of microRNAs: stabilizing gene regulatory networks, *Natl Sci Rev*. **6**, 1189-1190.
- [34] Gao, F., Wang, F., Chen, Y., Deng, B., Yang, F., Cao, H., Chen, J., Chen, H., Qi, F. & Kapranov, P. (2025) The human genome encodes a multitude of novel miRNAs, *Nucleic Acids Res*. **53**.
- [35] Lee, R., Feinbaum, R. & Ambros, V. (2004) A short history of a short RNA, *Cell*. **116**, S89-S92.



**Orbán Tamás** az Eötvös Loránd Tudományegyetemen szerzett biológus, illetve párhuzamosan biológia tanár szakos diplomát, majd az Országos Onkológiai Intézetben dolgozva, Oláh Edit témavezetésével molekuláris sejtbiológiából szerzett PhD fokozatot. Posztdoktori kutatásait az Európai Molekuláris Biológiai Laboratóriumban (EMBL), Heidelbergben folytatta, ahol Elisa Izaurralde csoportjában kezdett el először RNS interferenciával, illetőleg RNS lebomlási folyamatokkal foglalkozni. Hazatérve Sarkadi Balázs intézetében kapott lehetőséget először további posztdoktori kutatásokra, majd önálló kutatócsoport létrehozására. Kutatásainak középpontjában a genom nem-kódoló elemeinek a vizsgálata áll, csoportjában ezek közül elsősorban a miRNS útvonal részleteinek, valamint a DNS transzpozonok működési mechanizmusainak a feltárásán dolgoznak. Jelenleg a HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont Molekuláris Élettudományi Intézetében a Génreguláció Kutatócsoportot vezeti, de 2025 márciusától új kutatócsoportot indít a Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai intézetében. Kutatásait az elmúlt években az MTA Poszt-Covid (PC-II-12/2022) és az ELKH-PoC-2022-014 pályázatok támogatták.

# Személyre szabott daganatsejt-vakcinák: Immunmoduláció a páciens „újra csomagolt” rákos sejtjeivel

Apáti Ágota, Nagy András  
HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont

## Antitumour vaccine 2.0: Immunomodulation with „repackaged” cancer cells

### Summary

The Research Grant Hungary program has funded a groundbreaking initiative aimed at advancing cancer immunotherapy. Launched in January under the leadership of Prof. András Nagy, the project brings together four Hungarian laboratories from the HUN-REN Research Centre for Natural Sciences, alongside international collaboration with Nagy's laboratory in Toronto (Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute, Toronto). Cancer cells evade immune detection through various mechanisms, challenging the efficacy of immunotherapies. Currently, two major immunotherapeutic strategies exist: passive immunization, which involves externally engineered immune components (e.g., CAR-T, NK, and macrophage therapies), and active immunization, which stimulates the patient's immune system to recognize cancer (e.g., cancer vaccines, immune checkpoint inhibitors, and oncolytic viruses). Both approaches have limitations, including immune-related toxicity, specificity issues, and immune evasion by tumours. Our project pioneers a novel tumour cell-based active immunization strategy inspired by hybridoma technology. Patient-derived tumour cells are fused with genetically engineered „universal package supplier” (UPS) cells, enhancing their immunogenicity through the secretion of immune-stimulatory factors, while ensuring safety and patient-compatibility. These modified tumour cells, when reintroduced, trigger an immune response, potentially eliminating cancer cells and establishing long-term immunity. Initially, the approach will be tested in mouse models, followed by preclinical development in collaboration with international research groups, including Semmelweis University and Hong Kong University.

**Keywords:** personalized cancer immunotherapy, anticancer vaccines, hybridoma technology

A Research Grant Hungary program keretében egy olyan projekt nyert támogatást, amely innovatív megközelítéssel segítheti a rák elleni küzdelmet. A projekt idén januárban indult Nagy András professzor vezetésével, és négy magyar együttműködő csatlakozott hozzá a HUN-REN Természettudományi Kutatóközpontból: Dr. Apáti Ágota (össejtkutató), Dr. Monostory Katalin (transzplantációs immunológus), Dr. Füredi András (rákkutató) és Dr. Szakács Gergely (rákkutató) által irányított laboratóriumok. A munkát segíti nemzetközi együttműködésben Nagy András torontói laboratóriuma is, ahol a genetikai módosítások széles palettája áll rendelkezésre.

A rákos sejtek különböző mechanizmusok segítségével képesek elrejtőzni az immunrendszer elől. Az immunrendszer daganatsejt specifikus, vagy akár nem specifikus aktiválásával terápiás hatást érhetünk el. Az első ilyen próbálkozás a 19. század végén történt, amikor Dr. William Coley, egy New York-i sebész, elsőként és célzottan próbálta meg kihasználni az immunrendszert a rák gyógyításában. Inaktivált baktériumokat („Coley toxinok”) injektált a daganatokba, és néhány betegnél a rák visszafejlődését figyelte meg. Ez alapozta meg azt az elképzelést, hogy az immunaktiválás segíthet a rák leküzdésében. A tudományos áttörés a 1970-80-as években

történt, amikor különböző citokinek és daganat specifikus monoklonális ellenanyagok alkalmazásával érték el az immunrendszer aktiválását a tumorsejtek ellen.

A rákot célzó immunterápiák jelenleg két fő kategóriában sorolhatók:

(1) A passzív immunizálás során a szervezeten kívül létrehozott immunrendszeri komponenseket, például antitesteket vagy immunsejteket juttatnak be a szervezetbe, hogy segítsenek a ráksejtek elleni küzdelemben. Ez a módszer nem támaszkodik a páciens saját immunrendszerének aktiválására. A passzív immunizáláson alapuló megközelítések közül a legígéretesebb a kiméra antigén receptor (CAR) T-sejt, NK-sejt és makrofág-sejt terápia.

(2) Az aktív immunizációs stratégiákkal a beteg immunrendszerét serkentik, hogy felismerje és megtámadja a rákos sejteket, hasonlóan ahhoz, ahogyan a vakcinák működnek. Ennek a megközelítésnek jó példái a rák ellenes vakcinák, az immunellenőrzőpont-gátlók, az immunrendszert erősítő citokinek és az onkolitikus vírusok, amelyek szelektíven pusztítják el a rákos sejteket, miközben immunválaszt is kiváltanak ezen sejtek ellen.

Mindkét stratégia nagyon hatékony lehet, de megvannak a korlátjaik is (1). A passzív immunizációs módszerek rövidebb hatásúak, az immunrendszerrel kapcsolatos mellékhatások léphetnek fel, mint a gyulladás, láz, citokin vihar, alacsonyabb mértékű a daganatspecifitás, illetve a CAR terápiákhoz szükséges a daganatspecifikus antigének azonosítása, ami időigényes és esetlenként problémás lehet.

Ezzel szemben az aktív immunizációs stratégiák nehézségei között találjuk a daganatok immunelkerülő tulajdonságait, az autoimmunitást, a kezelések biztonságossági aggályait, a stimuláló citokinek szisztémás hatásait, és a korlátozott ráksejt specifitást.

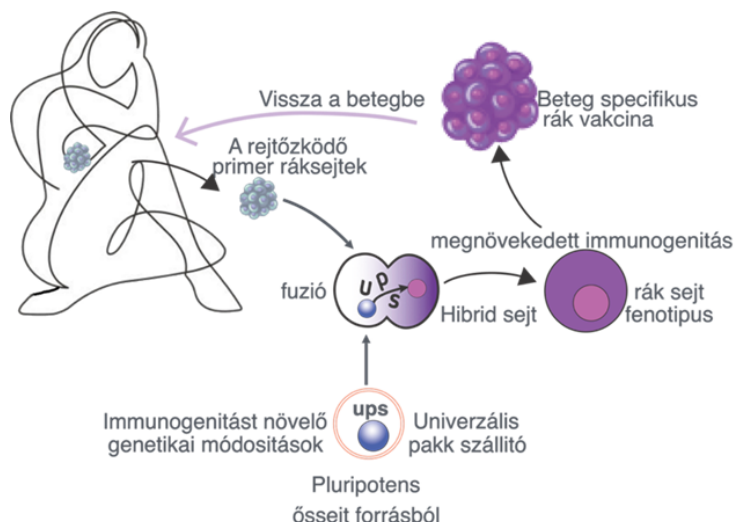
Az 5 éves projekt egy „out of the box” ötletre épül, amelyben egy személyre szabott, daganatsejt-alapú aktív immunizációs terápiát dolgozunk ki, a hibridóma előállítás elvein alapulva. A betegek izolált daganatsejtjeit az általunk előállított „univerzális csomagoló” (UPS) sejtekkel fuzionáljuk, ezzel egy lépésben lehetővé téve a daganatsejtek „újra csomagolását”. A UPS sejtek többlépéses genetikai módosításával elérhető:

1. az immunogenitás növelése: stimuláló faktorok, például interferonok és granulocita-makrofág kolóniastimuláló faktor transzgénekről történő átíródásával és szekréciójával.
2. a sejtek biztonságossá tétele: olyan „biztonsági szelepek” beépítésével, amelyek megakadályozzák, hogy a hibrid sejtek daganatot képezzenek(2).
3. a sejtek univerzális használhatósága, azaz a hibrid sejtek ne tartalmazzanak UPS eredetű hisztokompatibilitási felszíni molekulákat (3).

Így a terápiás fuzionált sejtek megőrzik a betegre jellemző sajátosságokat és a daganat specifikus antigéneket kifejezik a felszínükön, miközben hatékonyan aktiválják az immunrendszert a rákos sejtek ellen és biztonságosak.

Az elképzelésünk szerint, a hibrid sejtek in vitro felszaporítása után a beteg „újra csomagolt”, rendkívül immunogén és biztonságos ráksejtjeit visszajuttatjuk a szervezetbe. Ez a folyamat aktiválja az immunrendszert, hogy eltávolítsa az összes daganatsejtet, miközben egy erős, hosszú távú immunitást is kialakíthat, hogy megakadályozza a betegség újbóli kialakulását.

Első lépésként egér UPS sejteket hozunk létre és egér mellrák modelleket (4) használunk. Jellemezni fogjuk a hibrid sejtek immunogenitását az eredeti daganatsejtekhez képest *in vitro* és *in vivo* rendszerekben, továbbá vizsgáljuk a sejtek terápiás tulajdonságait *in vivo* egér rák modellekben. Ezzel párhuzamosan kifejlesztjük a kezelés humán modelljét, és áttérünk a preklinikai fázisra, kihasználva mind az *in vitro*, mind az *in vivo* modellekből szerzett tudást és tapasztalatot.



**1.ábra. A beteg daganatos sejtjeinek genetikai újracsomagolása és a fokozott immunitású sejtek vakcinaként való felhasználása.**

A kutatás elsősorban a HUN-REN TTK laboratóriumaiban történik, kibővítve magyar és külföldi együttműködőkkel, a torontói Nagy laboratóriumon kívül például a Semmelweis és Hongkongi Egyetem kutatócsoportjaival.

Bizakodással tölt el bennünket, résztvevő kutatókat, hogy a Kulturális és Innovációs Minisztérium, az NKFIH és a HUN-REN felismerte a projektben rejlő ígéretes lehetőségeket és jelentős támogatással segíti a projekt sikerét.

## Irodalomjegyzék

- [1] Rui, R., L. Zhou, and S. He (2023) Cancer Immunotherapies: Advances and Bottlenecks. *Frontiers in Immunology* **14**: 1212476.
- [2] Liang, Q. et al. (2018) Linking a Cell-Division Gene and a Suicide Gene to Define and Improve Cell Therapy Safety. *Nature* **563** (7733): 701–4.
- [3] Hotta, A., S. Schrepfer, and A. Nagy (2024) Genetically Engineered Hypoimmunogenic Cell Therapy. *Nature Reviews Bioengineering*: **1–20**.
- [4] Hámori, L. et al. (2020) Establishment and Characterization of a Brca1<sup>–/–</sup>, P53<sup>–/–</sup> Mouse Mammary Tumor Cell Line. *International Journal of Molecular Sciences* **21**(4): 1185.

# A glikoziláció szerepe a tüdődaganatos megbetegedésekben: az „MTA-HUN-REN TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport” bemutatása

**Turiák Lilla**

HUN-REN TTK, Szerves Kémiai Intézet  
tudományos főmunkatárs  
email: [turiak.lilla@ttk.hu](mailto:turiak.lilla@ttk.hu)

## The role of glycosylation in lung cancer: introducing the MTA HUN-REN TTK Glycan Biomarker Research Group

### Summary

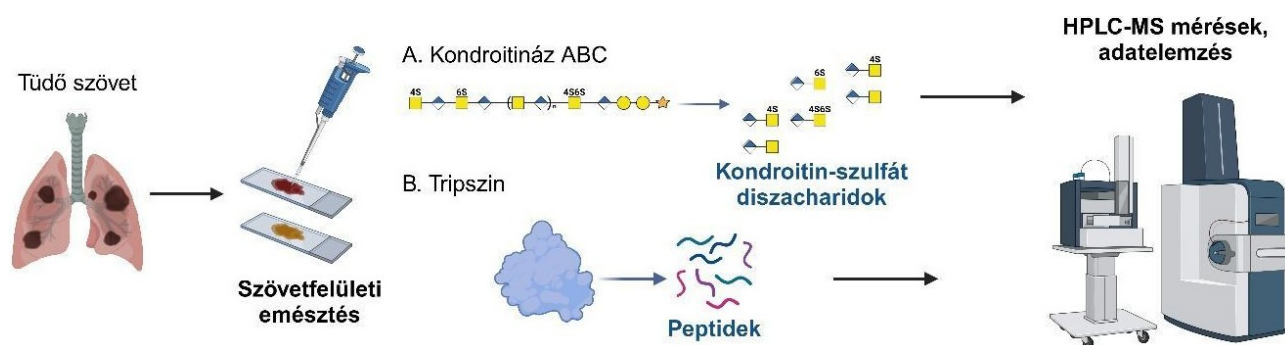
Lung cancer is the leading cause of cancer-related deaths, with 2.2 million new cases and 1.8 million deaths reported worldwide in 2020. It has multiple histological subtypes, including small-cell and non-small-cell lung cancer, with the latter further divided into adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and large-cell carcinoma. Protein glycosylation, a major post-translational modification, plays a crucial role in cell signaling and cancer-related processes such as metastasis, angiogenesis, and drug resistance. Unlike protein synthesis, glycan formation is not template-driven, leading to structural diversity and analytical challenges. The two main types, *N*-glycosylation and *O*-glycosylation, exhibit macro- and microheterogeneity, complicating their characterization. Glycosaminoglycans, including chondroitin/dermatan sulfate and heparan sulfate, are structurally diverse polysaccharides influencing key cellular interactions. To investigate these modifications, we develop sensitive HPLC-MS-based analytical methods for qualitative and quantitative analysis in lung cancer samples. Recent research has focused on analyzing formalin-fixed, paraffin-embedded lung tumor tissues. We have identified several changes in the proteomic and glycomic profiles of tumor and tumor-adjacent samples as well as between different tumor subtypes. Currently, the Glycan Biomarker Research Group is establishing workflows for studying glycosylation patterns in extracellular vesicles, contributing to a deeper understanding of cancer biology.

**Keywords:** mass spectrometry, lung cancer, glycosylation, tissue analysis, extracellular vesicles

Az MTA-HUN-REN TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport 2023 szeptemberében alakult. A csoport fő kutatási területe a fehérje-glikoziláció szerepének megismerése daganatos betegségekben, elsősorban tüdőrákban. Ennek érdekében érzékeny, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfián és tömegspektrometrián (HPLC-MS) alapuló analitikai módszereket fejlesztünk a poszttranszlációs módosulások minőségi és mennyiségi meghatározására biológiai mintákban. Az elmúlt években a vizsgálataink fókuszában a formalin-fixált paraffinba ágyazott humán daganatos szövetminták álltak. Jelenleg extracelluláris vezikulák glikozilációs mintázatainak hatékony vizsgálatára alkalmas munkafolyamatokat/analitikai platformokat fejlesztünk.

A fehérjék vizsgálatával foglalkozó tudományág a proteomika. Nagy áteresztőképességű proteomikai vizsgálatok egyik kulcstechnikája a HPLC-MS. A glikoziláció a fehérjék egyik leggyakrabban előforduló poszttranszlációs módosulása, mely nélkülözhetetlen szerepet tölt be

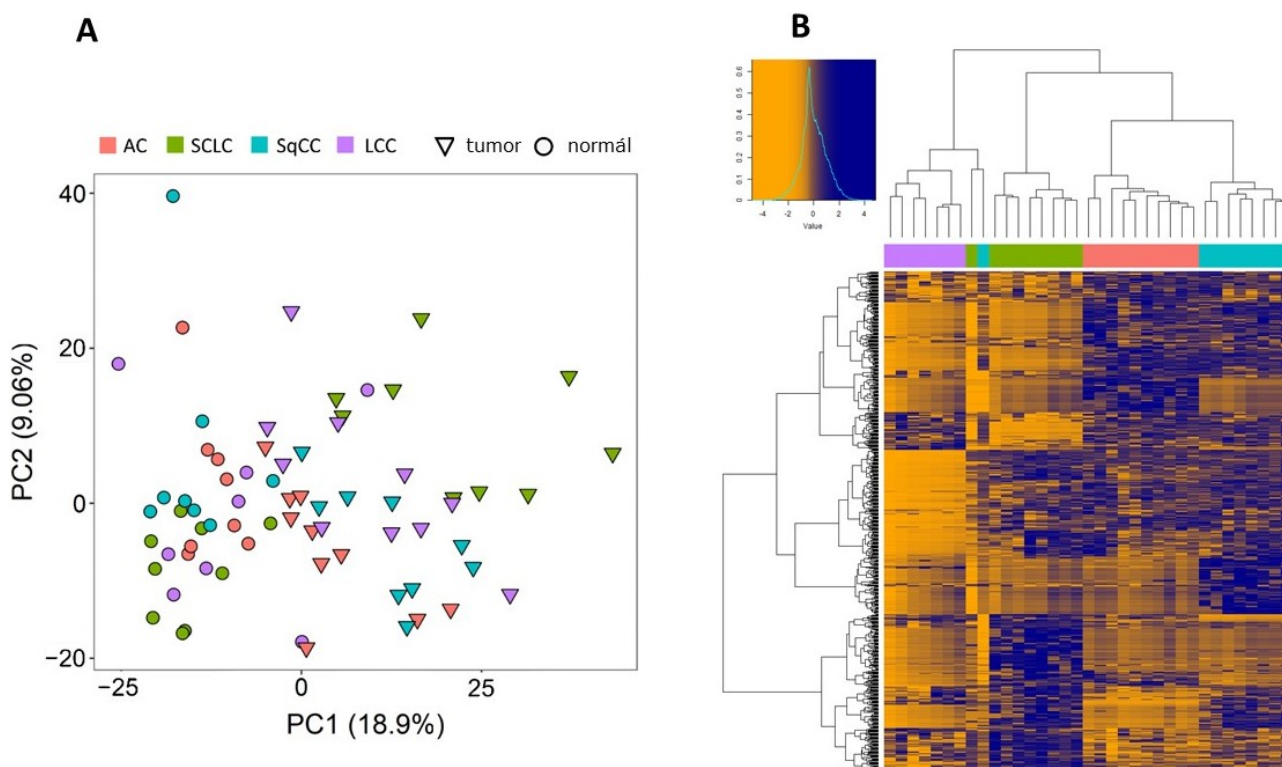
a sejtek közötti jelátviteli folyamatokban [1]. A glikánláncok felépülése azonban a fehérjékkel ellentétben nem templát vezérelt folyamat, kialakulásukat a szintézisben szerepet játszó enzimek mennyisége és aktivitása határozza meg, mely jelentős szerkezeti változatosságot és összetettséget okoz, megnehezítve analitikai vizsgálatukat [2]. A glikoziláció két legfontosabb típusa az *N*- illetve az *O*-glikoziláció. *N*-glikozikáció esetén a fehérjék meghatározott szekvencia szakaszaiban (ún. konszenzus szekvencia) található aszparaginhoz (NXS/T, X=bármilyen aminosav, kivéve prolin) csatlakozik az oligoszacharid. Emlősökben egy közös pentaszacharid magszerkezetet követően épülnek fel a különböző *N*-glikán szerkezetek, melyek három osztályba sorolhatóak: oligomannóz, komplex és hibrid. Vizsgálatuk szempontjából kihívást jelent a makro- és mikroheterogenitás. A makroheterogenitás azt jelenti, hogy nem minden konszenzus szekvenciában található aszparaginhoz kapcsolódnak cukorláncok, azaz egy potenciális *N*-glikozilációs hely nem feltétlenül betöltött. Mikroheterogenitás alatt az egy adott glikozilációs helyhez kapcsolódó lehetséges cukorszerkezetek sokszínűségét értjük. Ez utóbbi jelentős mértékben csökkenti a tömegspektrometriás detektálás érzékenységét. A fehérje-glikoziláció egy további csoportját jelentik a glükózaminoglikánok, röviden GAG-ok. A GAG-ok hosszú poliszacharid láncok, melyek ismétlődő diszacharid egységekből épülnek fel, és leggyakrabban proteoglikán vázfehérjékhez kapcsolódnak. A különböző GAG osztályokat az ismétlődő diszacharid egység szerkezete alapján különböztetjük meg, melyek közül vizsgálataink során a kondroitin/dermatán-szulfát, CS/DS (*N*-acetil-galaktózamin-glükuronsav/iduronsav) és a heparán-szulfát, HS (*N*-acetylglükózamin-hexuronsav) osztályok vizsgálatával foglalkozunk. A diszacharidok különböző pozíciókban szulfatálódhatnak, továbbá a HS osztály esetén *N*-szulfatáció és epimerizáció (glükuronsav vagy iduronsav) is lehetséges. Ezáltal a CS/DS és a HS lánc szerkezete is nagyon változatos, a szulfatáció helye és mértéke pedig jelentősen befolyásolja a GAG lánc kölcsönhatásait különböző effektorokkal pl. citokinekkal, növekedési faktorokkal [3]. Mind az *N*-glikoziláció, mind a GAG-ok szerepét vizsgálják a rákos megbetegedésekkel kapcsolatos különböző folyamatokban [4-6], mint a metasztázis képződés, angiogenezis és gyógyszerrezisztencia mechanizmusok.



1. ábra. A szövetfelületi emésztés folyamata és a vizsgált vegyülettípusok.

A tüdőrák a daganatos halálozás egyik vezető oka, 2020-ban világszerte 2,2 millió új megbetegedést és 1,8 millió halálesetet regisztráltak [7]. A tüdőráknak több szövettani típusa létezik, és a tüdőrák genetikai háttere igen összetett. Hisztológiai szempontból két fő típusa a kissejtes és nem-kissejtes tüdőrák [8], míg utóbbinak több altípusát is megkülönböztetjük, mint adenokarcinóma, laphámrák és nagysejtes karcinóma. A leggyakoribb, a betegség kialakulásáért felelős genetikai eltérések közé tartozik az EGFR, KRAS, ALK gének rendellenessége. Ezen mutációk vagy genetikai átrendeződések jelenléte befolyásolja az alkalmazott gyógyszeres terápiát [9].

Az elmúlt években főként formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) tüdődaganat biopsziák és tumor melletti normál szövetek retrospektív vizsgálatát valósítottuk meg [10-13]. Ezen szövetbiopsziák különböző molekuláris alkotóit (fehérjék, valamint CS/DS glükózaminoglikánok) jellemeztük korszerű tömegspektrometrián alapuló módszerek segítségével. A mintaelőkészítés során a fehérjék és a glükózaminoglikán láncok emésztését a szövetfelületen végeztük el (1. ábra).

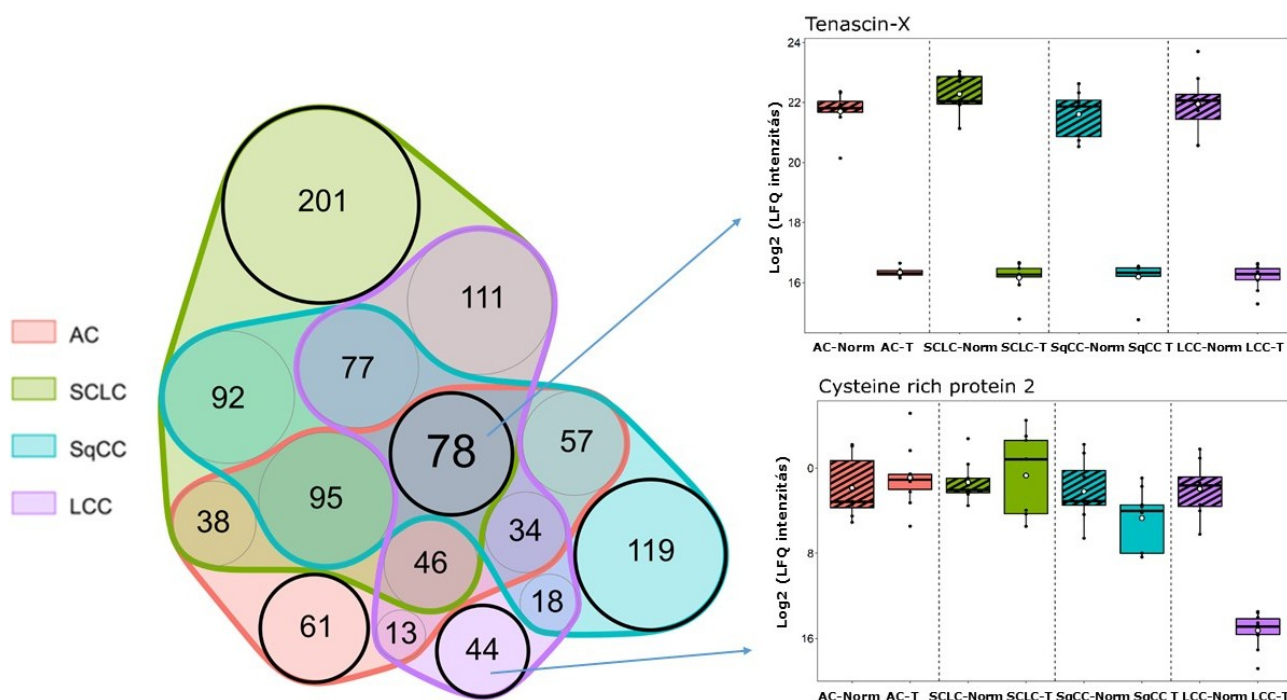


**2. ábra. Kissejtes és nem-kissejtes tüdődaganat minták proteomikai vizsgálatának eredményei. (A)** Főkomponens-elemzés a daganatos (háromszöggel jelölve) és környező normál (körrel jelölve) mintákra vonatkozóan (AC: adenokarcinóma - rózsaszínnel jelölve, SCLC: kissejtes karcinóma - zölddel jelölve, SqCC: laphám karcinóma - türkizzel jelölve, LCC: nagysejtes karcinóma - lilával jelölve) **(B)** Hierarchikus klaszterezés az 571 fehérjére, melyek eltérő expressziót mutattak a 4 vizsgált daganattípus között.

Egyik tanulmányunk során 71 FFPE szövetmintát vizsgáltunk, hogy összehasonlítsuk különböző tüdődaganat-típusok (kissejtes és nem-kissejtes: adenokarcinóma, laphámrák és nagysejtes tüdőrák) proteomikai [10] és glükózaminoglikán [11] jellemzőit. Minden egyes tüdőszövet típus esetében 8-10 tumoros és ugyanennyi tumor melletti régió proteomikai és GAG profilját határoztuk meg. A proteomikai vizsgálat során a jelölésmentes mennyiségi meghatározást követően R programnyelvben végeztünk statisztikai elemzést, a megváltozott biológiai folyamatokat géncsoport dúsulási elemzés segítségével azonosítottuk. A főkomponens-elemzés (PCA) során jelentős különbségek mutatkoztak a tumoros és a tumor melletti régiók molekuláris jellemzői között (2/A ábra), továbbá a hierarchikus klaszterezés tüdőrák típus-specifikus molekuláris változásokat mutatott (2/B ábra). Számos olyan biológiai folyamatot azonosítottunk, amelyek valamennyi vizsgált daganattípusban megváltoztak, mint például az extracelluláris mátrix lebontása, valamint az MTORC1 jelátviteli útvonal aktiválása [10].

Azonosítottunk 78 olyan fehérjét, melyek minden tüdődaganat-típust környező normál szövet összehasonlításban szignifikánsan változtak, mint például a Tenascin-X (3. ábra). Továbbá olyan fehérjéket is azonosítottunk, melyek expressziója csak egy adott tüdőrák-típus esetén változott

meg, például a Cysteine-rich protein 2 a nagysejtes karcinómában (3. ábra). Ezek a fehérjék jövőbeni, diagnosztikai és prognosztikai vizsgálatok célpontjai lehetnek.



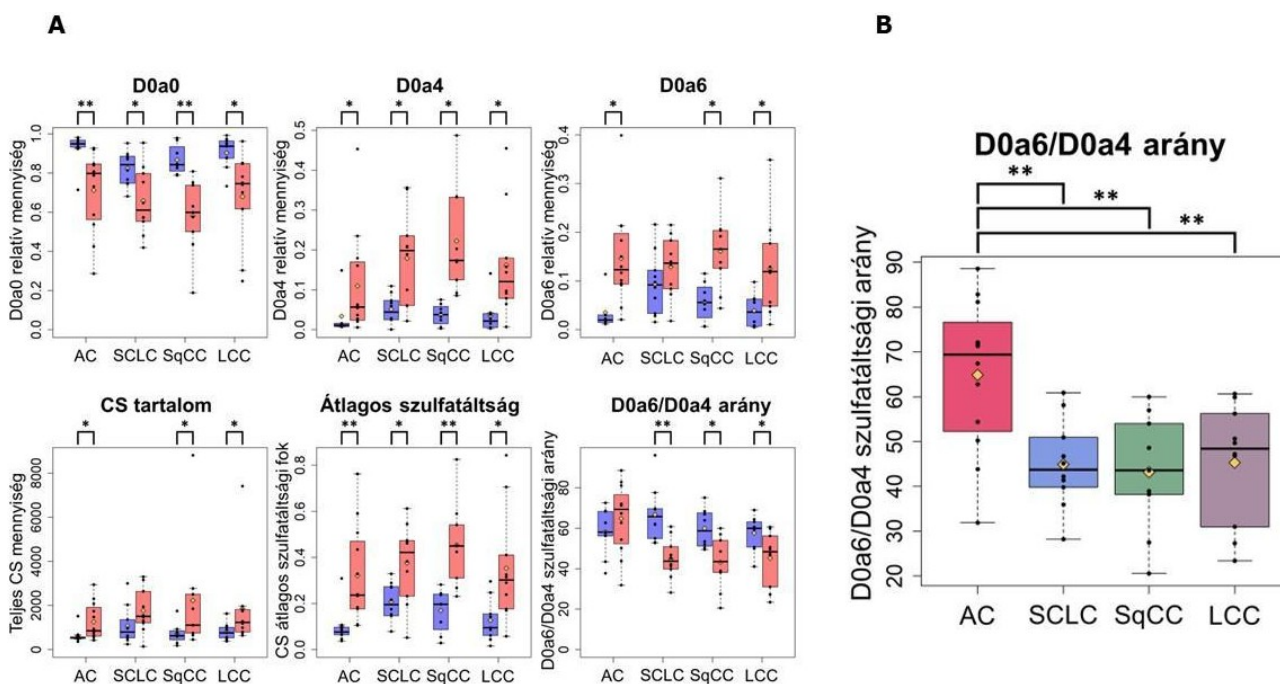
**3. ábra. Különböző mértékben expresszáldó fehérjék a különböző tüdődaganat-típusok és a környező normál szövetek között.** A Venn diagramon látható a különböző összehasonlításokban az eltérően expresszáldó fehérjék száma, míg az ábra jobb oldali részén példa fehérjék találhatók (AC: adenokarcinóma, SCLC: kissejtes karcinóma, SqCC: laphám karcinóma, LCC: nagysejtes karcinóma).

Ugyanezen kohort esetén jellemeztük a különböző tüdődaganat-típusokban a GAG-okat is [11]. Ezen vizsgálat során a heparán-szulfát (HS) és a kondroitin/dermatán-szulfát (CS/DS) diszacharidok mintaelőkészítését és HPLC-MS mérését végeztük el. Ez volt az első tanulmány, mely során a CS és HS GAG-ok szulfatációs jellemzői kerültek összehasonlításra kissejtes és különböző nem-kissejtes tüdődaganat altípusok esetén FFPE-szövetben. Eredményeink jelentős különbségeket mutattak mind a glükózaminoglikán-tartalom, mind a szulfatáció mértékének tekintetében a tumor és a tumor környező normal régiók között (4/A ábra). A különböző tüdődaganat fenotípusok között kisebb változások voltak megfigyelhetők. A korábban publikált irodalmi adatoknak megfelelően [14] a CS összmenyisége megduplázódott a tumormintákban, míg a HS össz tartalma nem változott jelentősen [11]. A szulfatáció átlagos mértéke minden vizsgált tumorfenotípusban jelentősen megnőtt, míg a CS 6-O-/4-O-szulfatáció aránya az adenokarcinómában nőtt a többi tüdődaganat fenotípushoz képest (4/B ábra). Az azonosított változások nagyobb mintaszámú kohorton történő validálásával és biológiai vizsgálatával részletesebben megérthetjük a GAG-láncok szerkezetében bekövetkező változásokat és azok szerepét a tumorok kialakulásában.

A bemutatott eredményeken túlmenően behatóan vizsgáltuk különböző genetikai eltérésekkel rendelkező, illetve ezekre nézve vad típusú tüdő adenokarcinóma szövetminták proteomikai, foszforproteomikai, N-glikoproteomikai és CS/DS jellemzőit.

Jelenlegi munkánk során a Lendület pályázat keretében tüdődaganatos (A549) és normál bronchiális epitél (BEAS-2B) sejtvonalakból izolálunk kisméretű extracelluláris vezikulákat (sEV)

és azok glikozilációs jellemzőit hasonlítjuk össze.



**4. ábra. Kissejtes és nem-kissejtes tüdődaganat minták CS/DS vizsgálatának eredményei. (A)** különböző tüdődaganat-típusok és a környező normál szövetek közötti CS/DS szulfatációs jellemzők (D0a0: nem-szulfatált CS/DS diszacharid, D0a4: egyszeresen 4-O-szulfatált CS/DS diszacharid és D0a6: egyszeresen 6-O-szulfatált CS/DS diszacharid) **(B)** 6-O szulfatált és 4-O szulfatált diszacharidok arányának változása a különböző tüdődaganat-típusok között.

Eddigi eredményeink jelentős különbségeket mutatnak a kétféle sejtvonalból izolált sEV-ek proteomikai, N-glikoproteomikai és CS/DS profiljában. Az extracelluláris vezikulákkal (EV-k) kapcsolatos kutatások az élettudományok egyik legintenzívebben vizsgált területe köszönhetően a sejtek közötti kommunikációban betöltött sokrétű szerepüknek [15]. A tumorból származó extracelluláris vezikulák (TEV) fontosságát már igazolták az extracelluláris mátrix átalakításában, a premetasztázis niche kialakításában és az áttétképződésben [16]. A folyékony biopsziák vizsgálatával lehetséges a tumorsejtek által a testfolyadékokba szekretált különböző vegyületek/képletek, mint a keringő TEV-ek elemzése. A TEV-ek rendkívül gazdag biomarker-forrást jelentenek és potenciálisan korai daganat biomarkerek vagy a terápiával szembeni rezisztencia indikátorai lehetnek. A legújabb tanulmányok is alátámasztják a plazmából izolált TEV-ek elemzésének fontosságát [17]. Azonban a TEV-ek hatékony glikoproteomikai karakterizálása még kezdeti fázisban tart [18-20]. Kutatásaink hosszútávú célja, hogy érzékeny analitikai módszereket fejlesszünk a plazmából izolált TEV-ekben található glikoproteinek N-glikoproteomikai és glükózaminoglikán szerkezeteinek jellemzésére, illetve alkalmazzuk ezeket immunellenőrzőpont-gátló terápiában részesülő tüdődaganatos betegek plazmájából izolált TEV-eken. Célunk, hogy megértsük a rezisztencia kialakulási mechanizmusában szerepet játszó molekuláris változásokat, valamint kulcsfontosságú prediktív tényezőket azonosítsunk.

## Köszönetnyilvánítás

A cikkben bemutatott munkákat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) OTKA FK 131603 pályázata és a Magyar Tudományos Akadémia Lendület pályázata támogatta. Köszönet illeti a bemutatott eredményekhez való hozzájárulásért a csoportban korábban dolgozó kollégákat, Tóth Gábort és Sugár Simon Nándort.

## Irodalomjegyzék

- [1] Steigmeyer, A. D., Lowery, S. C., Rangel-Angarita, V. & Malaker, S. A. (2025) Decoding Extracellular Protein Glycosylation in Human Health and Disease, *Annual review of analytical chemistry (Palo Alto, Calif)*.
- [2] Chau, T. H., Chernykh, A., Kawahara, R. & Thaysen-Andersen, M. (2023) Critical considerations in N-glycoproteomics, *Current opinion in chemical biology*. **73**, 102272.
- [3] Soares da Costa, D., Reis, R. L. & Pashkuleva, I. (2017) Sulfation of Glycosaminoglycans and Its Implications in Human Health and Disorders, *Annual review of biomedical engineering*. **19**, 1-26.
- [4] Kailemia, M. J., Park, D. & Lebrilla, C. B. (2017) Glycans and glycoproteins as specific biomarkers for cancer, *Analytical and bioanalytical chemistry*. **409**, 395-410.
- [5] Munkley, J., Mills, I. G. & Elliott, D. J. (2016) The role of glycans in the development and progression of prostate cancer, *Nature Reviews Urology*. **13**, 324-333.
- [6] Balbisi, M., Sugár, S. N. & Turiák, L. (2024) Protein glycosylation in lung cancer from a mass spectrometry perspective, *MASS SPECTROM REV*. **In press**.
- [7] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA: a cancer journal for clinicians*. **71**, 209-249.
- [8] Herbst, R. S., Morgensztern, D. & Boshoff, C. (2018) The biology and management of non-small cell lung cancer, *Nature*. **553**, 446-454.
- [9] Yang, S. R., Schultheis, A. M., Yu, H., Mandelker, D., Ladanyi, M. & Büttner, R. (2022) Precision medicine in non-small cell lung cancer: Current applications and future directions, *Seminars in cancer biology*. **84**, 184-198.
- [10] Sugár, S., Bugyi, F., Tóth, G., Pápay, J., Kovalszky, I., Tornóczky, T., Drahos, L. & Turiák, L. (2022) Proteomic Analysis of Lung Cancer Types-A Pilot Study, *Cancers*. **14**.
- [11] Pál, D., Tóth, G., Sugár, S., Fügedi, K. D., Szabó, D., Kovalszky, I., Papp, D., Schlosser, G., Tóth, C., Tornóczky, T., Drahos, L. & Turiák, L. (2023) Compositional Analysis of Glycosaminoglycans in Different Lung Cancer Types-A Pilot Study, *International journal of molecular sciences*. **24**.
- [12] Balbisi, M., Sugár, S., Schlosser, G., Szeitz, B., Fillinger, J., Moldvay, J., Drahos, L., Szász, A. M., Tóth, G. & Turiák, L. (2023) Inter- and intratumoral proteomics and glycosaminoglycan characterization of ALK rearranged lung adenocarcinoma tissues: a pilot study, *Scientific reports*. **13**, 6268.
- [13] Szeitz, B., Glasz, T., Herold, Z., Tóth, G., Balbisi, M., Fillinger, J., Horváth, S., Mohácsi, R., Jeong Kwon, H., Moldvay, J., Turiák, L. & Szász, A. M. (2023) Spatially Resolved Proteomic and Transcriptomic Profiling of Anaplastic Lymphoma Kinase-Rearranged Pulmonary Adenocarcinomas Reveals Key Players in Inter- and Intratumoral Heterogeneity, *International journal of molecular sciences*. **24**.
- [14] Li, G., Li, L., Joo, E. J., Son, J. W., Kim, Y. J., Kang, J. K., Lee, K. B., Zhang, F. & Linhardt, R. J. (2017) Glycosaminoglycans and glycolipids as potential biomarkers in lung cancer, *Glycoconjugate journal*. **34**, 661-669.
- [15] Couch, Y., Buzàs, E. I., Di Vizio, D., Gho, Y. S., Harrison, P., Hill, A. F., Lötvall, J., Raposo, G., Stahl, P. D., Théry, C., Witwer, K. W. & Carter, D. R. F. (2021) A brief history of nearly EV-erything - The rise and rise of extracellular vesicles, *Journal of extracellular vesicles*. **10**, e12144.
- [16] Xu, R., Rai, A., Chen, M., Suwakulsiri, W., Greening, D. W. & Simpson, R. J. (2018) Extracellular vesicles in cancer - implications for future improvements in cancer care. **15**, 617-638.
- [17] Mondal, S. K. & Whiteside, T. L. (2021) Proteomic profiles of melanoma cell-derived exosomes in plasma: discovery of potential biomarkers of melanoma progression, *Melanoma research*. **31**, 472-475.
- [18] Williams, C., Royo, F. & Aizpurua-Olaizola, O. (2018) Glycosylation of extracellular vesicles: current knowledge, tools and clinical perspectives. **7**, 1442985.
- [19] Li, Y., Wang, J., Chen, W. & Lu, H. (2023) Comprehensive review of MS-based studies on N-glycoproteome and N-glycome of extracellular vesicles, e2300065.
- [20] Kondo, K., Harada, Y., Nakano, M., Suzuki, T., Fukushige, T., Hanzawa, K., Yagi, H., Takagi, K., Mizuno, K., Miyamoto, Y., Taniguchi, N., Kato, K., Kanekura, T., Dohmae, N., Machida, K., Maruyama, I. & Inoue, H. (2022) Identification of distinct N-glycosylation patterns on extracellular vesicles from small-cell and non-small-cell lung cancer cells, *The Journal of biological chemistry*. **298**, 101950.



**A Glikán Biomarker Kutatócsoport tagjai.** Alsó sor balról jobbra: Horváth Virág Nikolett (MSc hallgató), Bugyi Fanni (PhD hallgató), Turiák Lilla (tudományos főmunkatárs, csoportvezető), Balbisi Mirjam (PhD hallgató), Rachma Dessidianti Nur Hidayat (PhD hallgató). Felső sor balról jobbra: Karvaly Krisztián Márk (BSc hallgató), Cziráki Boglárka (BSc hallgató), Virág Dávid (tudományos munkatárs), Molnár Alexandra (MSc hallgató), Pál Domonkos (PhD hallgató).

# Várjuk a 2024/2025-ben készült PhD disszertációkat bemutató összefoglalókat

**Nyitray László**  
rovatvezető

Bízunk minden, a BIOKÉMIA újságot olvasó **doktori témavezető**ben, hogy kérjék meg **doktoranduszaikat**, hogy éljenek ezzel a lehetőséggel, és írjanak egy összefoglalót a disszertációjukban bemutatott eredményeikről.

## A ROVAT CÉLJA:

A BIOKÉMIA folyóirat szerkesztőbizottságában felmerült egy külön rovat indítása, melynek keretében lehetőséget teremtünk a PhD fokozatukat a biokémia területén frissen megszerző fiatalok számára az eredményeik rövid formában történő bemutatására. A rovat elindítását az is indokolta, hogy az ugyan bárki számára élőben meghallgatható, de korlátozott nyilvánosságú doktori védések, és a szintén nem túl széles körben olvasott doktori disszertációk mellett, megjelenést biztosítsunk a BIOKÉMIA lapban a fiatal kutatók számára.

*Ugyan készül minden értekezés mellé egy tézisfüzet, de úgy gondoljuk, hogy egy pár oldalas, illusztrációkkal ellátott összefoglaló közlésével szélesebb nyilvánossághoz jutnak a tudomány jövőjét képviselő fiataljaink.*

## A kéziratokat folyamatosan várjuk!

A cikkeket a BIOKÉMIA honlapján megtalálható formai követelmények (<https://www.mbkegy.hu/apps/mbkegy/pages/index.html#!/ContentById/900>) betartásával, az újságban 2022-ben közölt korábbi összefoglalókat mintául véve kérjük megírni, azzal a változtatással, hogy a **referencia lista formátuma a FEBS Journal által alkalmazott stílust kövesse**, és kérünk szépen **angol nyelvű címet, absztraktot, és szintén angol nyelvű kulcsszavakat (4-6)** is a magyar nyelvű összefoglalóhoz.

Az elkészült cikket az alábbi címre várjuk: [nyitray@elte.hu](mailto:nyitray@elte.hu)

# Hippokampális idegi őssejtek farmakológiai modellként való alkalmazása

**Jezsó Bálint**

ELTE TTK, Biológia Doktori Iskola, Molekuláris Sejt- és Neurobiológia Program  
HUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet  
Témavezetők: Apáti Ágota, László Lajos

## Application of hippocampal neural stem cells as pharmacological model

### Összefoglaló

Három antipszichotikus hatóanyag, a haloperidol, az olanzapin és a risperidon neurális progenitor sejtekre (NPC) és az idegi differenciációra gyakorolt hatását vizsgáltuk humán indukált pluripotens őssejt (iPSC) eredetű neurális sejt kultúrákon. Vizsgáltuk az NPC-k proliferációs képességét, illetve azt, hogy a sejtek további differenciációja során milyen változások lépnek fel az egyes hatóanyagokkal összefüggésben. High-content screening mikroszkópia segítségével nyomon követtük a sejtek morfológiai változásait, illetve a differenciáció egy későbbi stádiumában immuncitokémiai és RT-qPCR mérések segítségével bizonyos markergének expressziós szintjeit. Megállapítottuk, hogy a hatóanyagok rövidtávú alkalmazása nem befolyásolta az NPC-k növekedési sajátosságait, krónikus haloperidol és olanzapin kezelése hatására azonban a differenciálódó neuronok nyúlványnövekedési paraméterei szignifikáns változásokat mutattak. E morfológiai változásokat nem kísérték jelentős változások a vizsgált marker gének tekintetében, csak risperidon hatására nőtt a MAP2 mRNS szintje, fehérje szinten azonban ez esetben sem detektáltunk különbséget.

**Kulcsszavak:** neuroleptikumok; antipszichotikumok; iPSC; idegi differenciáció; nyúlványmorfológia

### Summary

We investigated the effects of three antipsychotic drugs, haloperidol, olanzapine, and risperidone, on neural progenitor cells (NPCs) and the process of their neural differentiation using a human induced pluripotent stem cell (iPSC) based model. The proliferative capacity of NPCs and changes that occur during further neural differentiation in response to each agent were examined. The morphological changes of cells were monitored by high-content screening microscopy, and, at a later stage of differentiation, the expression level of some marker genes also was followed by immunocytochemistry and RT-qPCR measurements. We found that short-term administration of antipsychotics did not affect the growth characteristics of NPCs, whereas chronic haloperidol and olanzapine treatments showed significant changes in the morphological parameters of the neurites of differentiating neurons. However, these morphological changes were not accompanied by significant changes in the marker genes tested, only risperidone increased MAP2 mRNA levels, but no differences were detected at the protein level.

**Key words:** neuroleptics; antipsychotics; iPSC; neural differentiation; neurite morphology

### Bevezetés

Megközelítőleg 230 különböző sejttípus ismert az emberi szervezetben, amelyek lenyűgöző sokfélesége az egyedfejlődés, valamint a szöveti mintázatképző mechanizmusok során kialakuló epigenetikai mintázatra vezethető vissza. A differenciált sejtekre jellemző mintázat azonban törölhető az epigenomból, amint arra már a korai, sejtmag-átültetéssel járó kísérletek alapján is következtetni lehetett [1]. Shinya Yamanaka munkacsoportja 2006-ban szisztematikus szűrések révén sikeresen azonosította azokat a transzkripciós faktorokat, amelyek lehetővé teszik a sejtek epigenetikai újraprogramozását, így, Waddington metaforájával élve, lehetőségünk nyílik az epigenetikai táj új útvonalainak bejárására. A Yamanaka-féle faktorok

segítségével ma már bármely testi sejtünkben előállíthatunk pluripotens, azaz korlátlanul fenntartható, és bármely testi sejt kialakítására képes őssejttípust [2,3]. Ezek az ún. indukált pluripotens sejtek (iPSC) épp úgy kimeríthetetlen forrását jelenthetik a különböző terápiás megközelítéseknek, mint az *in vitro* sejt- és szövettenyészeteken alapuló modellrendszereknek. Az őssejt alapú modellek segítségével vizsgálhatjuk különböző genetikai betegségek sejt szintű patomechanizmusát, vagy bizonyos bioaktív molekulák, gyógyszerhatóanyagok a releváns, humán sejt típusra, azok progenitorjaira és differenciációjára gyakorolt hatását, tehát elméleti és klinikai jelentőségük egyaránt óriási.

Doktori értekezésem fókuszában olyan iPSC eredetű, idegi őssejteken alapuló modellek álltak, amelyek segítségével a skizofrénia, illetve egy lizoszómális tárolási betegség, a Hunter-szindróma modellezése vált lehetővé. Ugyancsak iPSC eredetű rendszerben vizsgáltuk három, a klinikumban régóta alkalmazott neuroleptikum, az elsősorban dopamin antagonistaként ismert haloperidol, valamint a dopamin és szerotonin receptorokat egyaránt gátló olanzapin és risperidon idegi differenciációra gyakorolt hatását. A következőkben ez utóbbi, farmakológiai modellből származó eredmények bemutatására fogok szorítkozni. E modell alapjául a 6/2/F azonosítóval ellátott, egészséges férfi bőrbioptizás fibroblaszt mintája, illetve az abból származó iPSC vonal szolgált. Az iPSC-k irányított differenciációja során a hippocampus *gyrus dentatus* subgranuláris zónájában élethosszig fennmaradó idegi progenitor sejteknek (NPC) megfelelő sejt típust állítottunk elő, majd azt Wnt3a és BDNF jelenlétében glutamaterg, PROX1 pozitív szemcsesejtek irányába differenciáltattuk tovább [4,5]. A választott differenciációs protokoll aktualitása abban rejlik, hogy a nevezett hatóanyagokkal kezelt, tipikusan skizofrén, vagy bipoláris spektrum zavarban érintett pácienseknél a *gyrus dentatus* éretlenségét, valamint csökkent neurogén aktivitását figyelték meg [6–11]. A klinikai adatok alapján az azonban kevésbé világos, hogy a megfigyelték magára a kórle folyamásra, vagy inkább a gyógyszeres kezelés mellékhatásaira vezethetők vissza, így fontosnak tartottuk e neuroleptikumok hatásának vizsgálatát az NPC-k proliferációs képességére, illetve a differenciálódó sejtek morfológiai és bizonyos molekuláris karaktereire nézve.

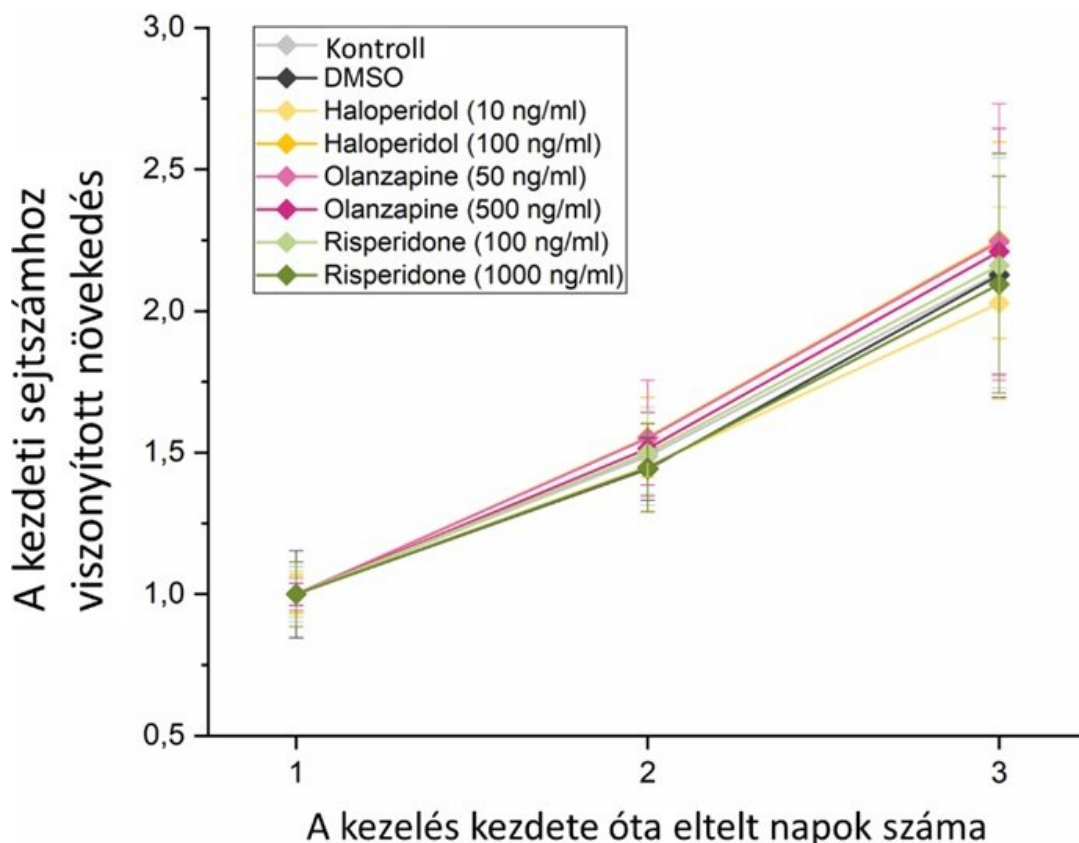
**1. táblázat.** Az alkalmazott pszichiátriai szerek kezelési koncentrációi.

| Hatóanyag   | Kezelési végkoncentráció |          |
|-------------|--------------------------|----------|
| Haloperidol | 10 ng/ml                 | 0,003 µM |
|             | 100 ng/ml                | 0,03 µM  |
| Olanzapin   | 50 ng/ml                 | 0,16 µM  |
|             | 500 ng/ml                | 1,6 µM   |
| Risperidon  | 100 ng/ml                | 0,24 µM  |
|             | 1000 ng/ml               | 2,4 µM   |
| DMSO        | 0,2 µl/ml                |          |

Mindhárom hatóanyagból két, egy alacsonyabb és egy magasabb kezelési koncentrációt alkalmaztunk (1. táblázat), amelyeket kezelés alatt álló pácienseknél mért szérumbeli koncentrációk alapján választottunk ki [12–14], szem előtt tartva, hogy a vér-agy gát miatt e koncentráció értékek akár jelentősen eltérhetnek a hippocampuszöveti állományában uralkodó tényleges koncentrációviszonyoktól. Mivel kísérletes rendszerünkben a hatóanyagok

törzsoldata DMSO-t tartalmazott, kezelési kontrollként azonos koncentrációjú DMSO kezelést alkalmaztunk.

Hippokampális sejt kultúráink a rendelkezésünkre álló transzkriptomikai adatok fényében a sejt típusra jellemző glutamát receptorok mellett mind NPC, mind pedig neuron stádiumban kifejezték a vizsgált hatóanyagok szempontjából legjelentősebb receptorokat, úgy, mint a D2 és D4 dopaminreceptorok, valamint az 5-HT<sub>2A</sub>, az 5-HT<sub>2C</sub>, az 5-HT<sub>6</sub> és az 5-HT<sub>7</sub> szerotoninreceptorok, ezirányú vizsgálatokra tehát alkalmasak.

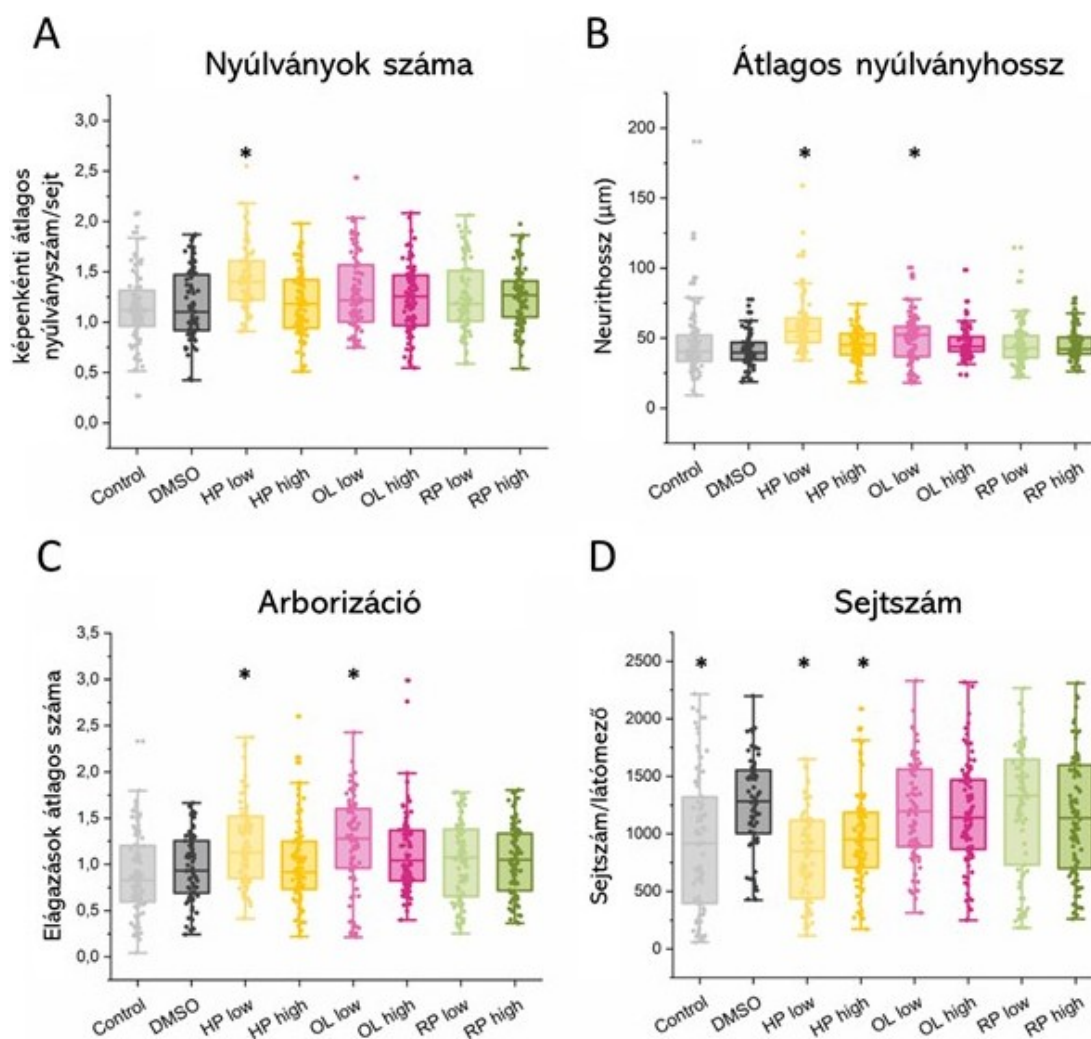


**1. ábra. Proliferációs méréseink eredményei neuroleptikum kezelt és kontroll NPC-ken.** Három napon keresztül követtük a tenyészetek növekedését DCV jelölést követően, HCS mikroszkópos rendszer segítségével. Az adatok 3 független kísérletből, kísérletenként 3 technikai párhuzamosból, és minden esetben 9-9 nem átfedő látómező elemzéséből származnak. Minden tenyészet esetében az első napon mért sejtszámmal normalizáltuk az értékeket. A diagramon az így kapott átlagok  $\pm$  standard deviancia szerepelnek. Statisztikai próbaként varianciaanalízist és post hoc Tukey tesztet alkalmaztunk, szignifikáns különbségeket nem állapítottunk meg.

### Eredmények és megvitatásuk

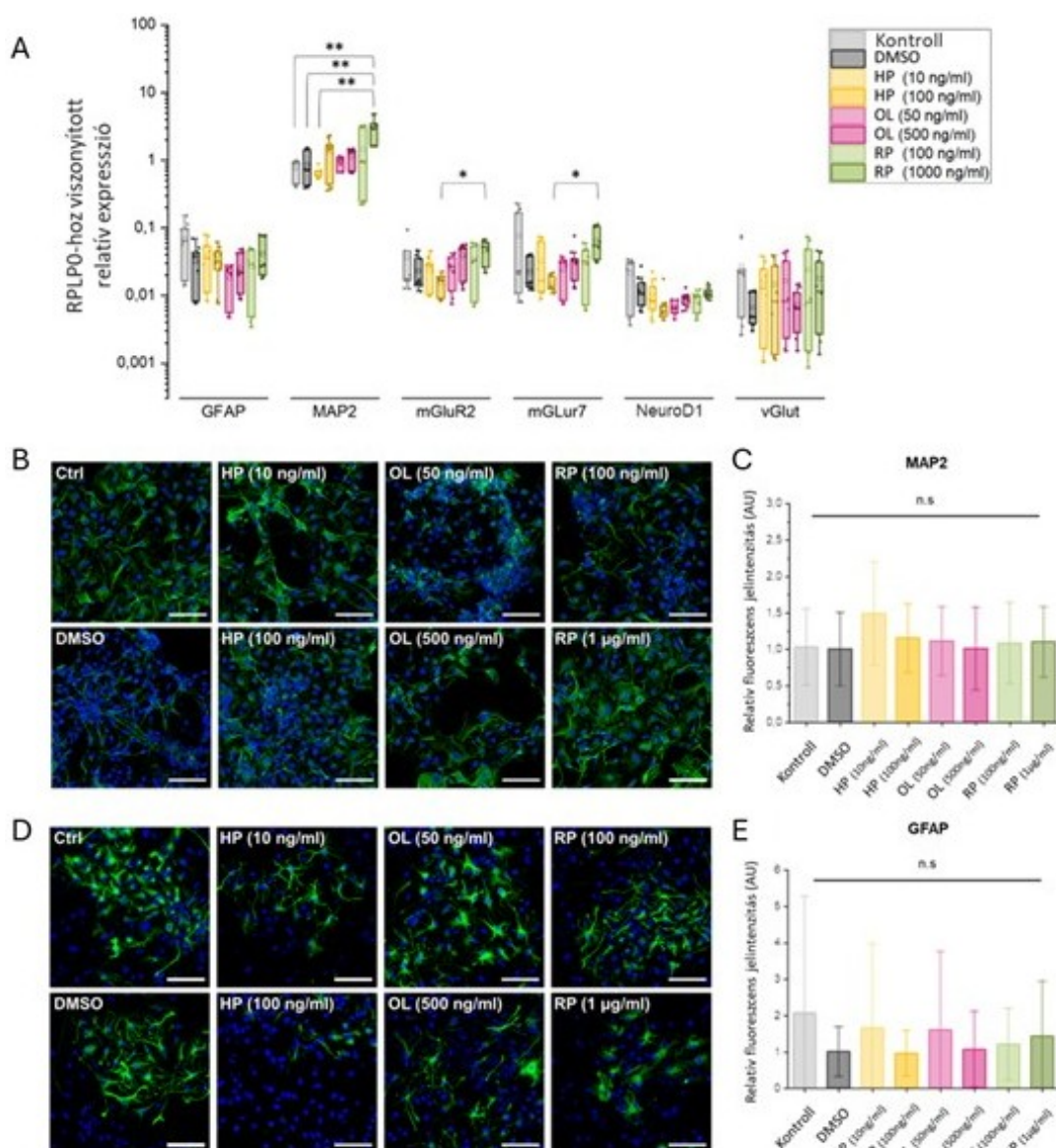
High-content screening (HCS) mikroszkópos rendszer segítségével vizsgáltuk, hogy miként hat az NPC tenyészetek növekedési ütemére a krónikus neuroleptikum kezelés. 20 000 sejtet szélesztve poli-L-ornitin- és laminin-fedett 96 lyukú szövettenyésztő lemezre, három napon keresztül követtük a sejtszám változását a hatóanyagok folyamatos jelenléte mellett, DyeCycle™ Violet (DCV) vitális fluoreszcens festék alkalmazásával. A kísérletek első napján mért sejtszám a harmadik napra minden tenyészet esetében megkétszereződött, e trendtől egyik kezelési rezsim mellett sem lépett fel szignifikáns eltérés (1. ábra), az alkalmazott koncentrációban és inkubációs idővel tehát a vizsgált hatóanyagok nem befolyásolják az NPC-k növekedési dinamikáját, toxikus hatást nem fejtenek ki.

Ezt követően a három hatóanyag neurális differenciációra gyakorolt hatását vizsgáltuk, egyrészt a sejtek morfológiai paramétereinek meghatározása, másrészt bizonyos differenciációs markerek mRNS és fehérje szintjeinek nyomon követésén keresztül. NPC tenyészteinket a PROX1 pozitív szemcsesejt irányú differenciáció 10. napján, kalcein-feltöltést követően HCS mikroszkópia segítségével vizsgáltuk, és olyan morfológiai karaktereket rögzítettünk, mint az egyes sejtekhez tartozó nyúlványok száma, a nyúlványok átlagos hossza, az egyes nyúlványokhoz tartozó elágazások átlagos száma, valamint a tenyészetben lévő sejtek száma (2. ábra). Megállapítottuk, hogy 10 ng/ml krónikus haloperidol kezelés hatására a nyúlványok száma, hossza és azok arborizáltsága egyaránt, és szignifikánsan megnőtt a csak DMSO-val kezelt tenyészetekhez képest. Érdekes módon a 100 ng/ml koncentrációjú haloperidol kezelés nem eredményezett változást e paraméterek tekintetében, ugyanakkor mindkét kezelési rezsim mellett csökkenést figyeltünk meg a kultúrák sejtszámban. Hasonló morfológiai változásokat eredményezett az alacsonyabb (50 ng/ml) koncentrációjú olanzapin kezelés az egyes nyúlványok hosszát és elágazásainak számát illetően, a tenyészetek sejtszámát azonban e kezelési rezsim nem befolyásolta.



**2. ábra. A három vizsgált neuroleptikum nyúlványmorfológiára gyakorolt hatása.** Az egyes paneleken a sejtnyúlványok **A)** átlagos száma, **B)** hossza és **C)** az arborizáció mértéke látható. Az analízist 3 független kísérletből származó sejtenyészetben végeztük el, mintánként 9-9 nem átfedő látómező alapján. A képelemző szoftver az egyes látómezőkben detektált össz-neuritszámot, összegezett neurithosszt és az összes detektált elágazás számát adja meg, amelyet az adott látómezőhöz tartozó sejtszámmal (**D** panel) normalizáltunk. A dobozdiagramon szereplő egyedi adatpontok tehát egy látómezőből származó átlagos értéket reprezentálnak. Statisztikai próbaként Kruskal-Wallis és post hoc Dunn tesztet alkalmaztunk (a csillagok a DMSO kezelt kontrolltól való szignifikáns eltérést jelölik). Rövidítések az ábrán: HP: haloperidol; OL: olanzapin, RP: risperidon.

A tenyészetek differenciációs állapotának felmérése céljából olyan molekuláris markerek expresszióját is vizsgáltuk, mint a legtöbb gliális sejttípusra jellemző GFAP, valamint a neurális sejteket jelző MAP2. Vizsgáltuk továbbá egy a neurális differenciációban fontos szerepet játszó, korai transzkripciós faktor, a NeuroD, illetve a glutamaterg működés szempontjából fontos mGluR2 és mGluR7 metabotróp receptorok és a vezikuláris glutamáttranszporter (vGLUT1) szintjét. A DMSO kezelt kontrollhoz viszonyítva csak 1 µg/ml risperidon hatására, a MAP2 mRNS szintjében figyeltünk meg szignifikáns emelkedést, ami egybevág bizonyos rágcsálómodellekből származó irodalmi adatokkal. Patkányok *gyrus dentatus*-ában már korábban megfigyelték, hogy risperidon (valamint klozapin) hatására nő a MAP2 mRNS-szintje [15]. Az általunk megfigyelt exom szintű változás immuncitokémiai jelöléseink alapján azonban nem jár együtt a fehérje relatív mennyiségének emelkedésével (3. ábra).



**3. ábra. A neurális tenyészetek molekuláris karakterizációja RT qPCR és immuncitokémiai módszerekkel.** (A) Egyes differenciációs markerek RPLP0 háztartási génhez viszonyított relatív expressziós szintjei, RT qPCR méréseink alapján. A szignifikanciát Kruskal-Wallis és post hoc Dunn teszt alkalmazásával állapítottuk meg ( $N = 3$ ,  $n = 3$ ; \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ). (B) Reprezentatív felvételek MAP2 (zöld) jelölést és Hoechst 33342 (kék) sejtmagfestést követően a 21 napos differenciálódó kultúrákról, különböző kezelési rezsimek mellett és (C) azok kvantitatív kiértékelése. (D) Reprezentatív felvételek GFAP (zöld) jelölt sejtkultúrákról, és (E) a képek elemzésével nyert átlagos fluoreszcencia értékek (lépték: 100 µm). Az adatok Shapiro-Wilk teszt alapján normál eloszlást mutatnak, így statisztikai elemzésüket ANOVA és post hoc Tukey próbával végeztük. Szignifikáns különbséget nem találtunk. Az ábrán használt rövidítések: HP: haloperidol; OL: olanzapin, RP: risperidon.

Eredményeinket összegezve elmondhatjuk, hogy a három vizsgált hatóanyag egyike sem változtatja meg drasztikusan a hippocampális szemcsesejt irányú differenciáció lefolyását, nem változik a tenyészetekben lévő neurális és gliális sejtek aránya, sem a vizsgált differenciációs markerek expressziója, azonban a haloperidol és az olanzapin koncentrációfüggő módon hatással van a sejtek nyúlványmorfológiai sajátosságaira. Hasonló morfológiai változásokat eddig klopapin (egy második generációs neuroleptikum) hatására figyeltek meg, egér primer kortikális neuronok nyúlványain. A hatásmechanizmust illetően a szerzők az 5-HT7 receptor szerepét hangsúlyozták [16], amit az általunk alkalmazott modell sejtjei is kifejeznek ugyan, de esetünkben a legjelentősebb morfológiai változások haloperidol hatására jelentkeztek, ez a hatóanyag pedig csak kis affinitással köt az 5-HT7 receptorhoz ( $K_i = 0,4 \mu\text{M}$ ) [17]. Nem valószínű tehát, hogy esetünkben ez a kitüntetett szerepet játszana. Szem előtt tartva, hogy a neuroleptikumokat széles receptorkötő profil jellemzi, sokkal valószínűbb, hogy a megfigyelt változásokat különböző receptorok aktivitásának eltérő mértékű gátlásával, kombinatorikus alapon idézik elő. A pontos útvonalak feltárása a jövőben további kutatások tárgyát fogja képezni.

### A doktori dolgozat alapjául szolgáló publikációk

- Jezsó B.\*, Kálmán S.\*, Farkas K. G., Hathy E., Vincze K., Kovács-Schoblocher Dzs., Lilienberg J., Tordai Cs., Nemoda Zs., Homolya L., Apáti Á., és Réthelyi J. M. Haloperidol, Olanzapine, and Risperidone Induce Morphological Changes in an In Vitro Model of Human Hippocampal Neurogenesis. *Biomolecules*. **2024**. 14(6), 688.
- Kobolák J.\*, Molnár K.\*, Varga E., Bock I., Jezsó B., Téglási A., S. Zhou, M. Lo Giudice, M. Hoogeveen-Westerveld, W. P. Pijnappel, P. Phanthong, Varga N., N. Kitiyanant, Freude K., H. Nakanishi, László L., P. Hyttel, és Dinnyés A. Modelling the neuropathology of lysosomal storage disorders through disease-specific human induced pluripotent stem cells. *Experimental Cell Research*. **2019**. 380(2), 216–233.
- Hathy E.\*, Szabó E., Varga N., Erdei Zs., Tordai Cs., Czehlár B., Baradits M., Jezsó B., Koller J., Nagy L., Molnár M. J., Homolya L., Nemoda Zs., Apáti Á., és Réthelyi J. M. Investigation of de novo mutations in a schizophrenia case-parent trio by induced pluripotent stem cell-based in vitro disease modeling: convergence of schizophrenia- and autism-related cellular phenotypes. *Stem Cell Research & Therapy*. **2020**. 11(1), 504.
- Tordai C.\*, Hathy E., Gyergyák H., Vincze K., Baradits M., Koller J., Póti Á., Jezsó B., Homolya L., Molnár M. J., Nagy L., Szűts D., Apáti Á., és Réthelyi J. M. Probing the biological consequences of a previously undescribed de novo mutation of ZMYND11 in a schizophrenia patient by CRISPR genome editing and induced pluripotent stem cell based in vitro disease-modeling. *Schizophrenia Research*. **2024**.

### Irodalomjegyzék

- [1] Beetschen J-C & Fischer J-L (2004) Yves Delage (1854-1920) as a forerunner of modern nuclear transfer experiments. *Int J Dev Biol* **48**, 607–612.
- [2] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K & Yamanaka S (2007) Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell* **131**, 861–872.
- [3] Takahashi K & Yamanaka S (2006) Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* **126**, 663–676.
- [4] Vőfély G, Berecz T, Szabó E, Szebényi K, Hathy E, Orbán TI, Sarkadi B, Homolya L, Marchetto MC, Réthelyi JM & Apáti Á (2018) Characterization of calcium signals in human induced pluripotent stem cell-derived dentate gyrus neuronal progenitors and mature neurons, stably expressing an advanced calcium indicator protein. *Mol Cell Neurosci* **88**, 222–230.
- [5] Yu DX, Di Giorgio FP, Yao J, Marchetto MC, Brennand K, Wright R, Mei A, Mchenry L, Lisuk D, Grasmick JM, Silberman P, Silberman G, Jappelli R & Gage FH (2014) Modeling Hippocampal Neurogenesis Using Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports* **2**, 295–310.
- [6] Walton NM, Zhou Y, Kogan JH, Shin R, Webster M, Gross AK, Heusner CL, Chen Q, Miyake S, Tajinda K, Tamura K, Miyakawa T & Matsumoto M (2012) Detection of an immature dentate gyrus feature in human schizophrenia/ bipolar patients. *Transl Psychiatry* **2**.
- [7] Tavitian A, Song W & Schipper HM (2019) Dentate Gyrus Immaturity in Schizophrenia. *Neuroscientist* **25**, 528–547.

- [8] Collo G, Mucci A, Giordano GM, Merlo Pich E & Galderisi S (2020) Negative Symptoms of Schizophrenia and Dopaminergic Transmission: Translational Models and Perspectives Opened by iPSC Techniques. *Front Neurosci* **14**, 1–14.
- [9] Jun H, Mohammed Qasim Hussaini S, Rigby MJ & Jang MH (2012) Functional role of adult hippocampal neurogenesis as a therapeutic strategy for mental disorders. *Neural Plast* **2012**.
- [10] Tobin MK, Musaraca K, Disouky A, Shetti A, Bheri A, Honer WG, Kim N, Dawe RJ, Bennett DA, Arfanakis K & Lazarov O (2019) Human Hippocampal Neurogenesis Persists in Aged Adults and Alzheimer's Disease Patients. *Cell Stem Cell* **24**, 974–982.e3.
- [11] Apple DM, Fonseca RS & Kokovay E (2017) The role of adult neurogenesis in psychiatric and cognitive disorders. *Brain Res* **1655**, 270–276.
- [12] Junutula S, Dubasi S, Reddy Padide S, Miryala G, Koppolu M, Bandaru Sheshagiri S & Eggadi V (2021) Therapeutic drug monitoring of olanzapine: Easy and reliable method for clinical correlation. *Indian J Pharmacol* **53**, 2.
- [13] Wang X, Huang J, Lu J, Li X, Tang H & Shao P (2024) Risperidone plasma level, and its correlation with CYP2D6 gene polymorphism, clinical response and side effects in chronic schizophrenia patients. *BMC Psychiatry* **24**, 41.
- [14] Ulrich S, Neuhofer S, Braun V & Meyer F (1998) Therapeutic Window of Serum Haloperidol Concentration in Acute Schizophrenia and Schizoaffective Disorder. *Pharmacopsychiatry* **31**, 163–169.
- [15] Law AJ, Hutchinson LJ, Burnet PWJ & Harrison PJ (2004) Antipsychotics increase microtubule-associated protein 2 mRNA but not spinophilin mRNA in rat hippocampus and cortex. *J Neurosci Res* **76**, 376–382.
- [16] Speranza L, Molinari M, Volpicelli F, Lacivita E, Leopoldo M, Pulcrano S, Carlo Bellenchi G, Perrone Capano C & Crispino M (2024) Modulation of neuronal morphology by antipsychotic drug: Involvement of serotonin receptor 7. *Brain Res* **1830**, 148815.
- [17] Zajdel P, Kos T, Marciniak K, Satała G, Canale V, Kamiński K, Hołuj M, Lenda T, Koralewski R, Bednarski M, Nowiński L, Wójcikowski J, Daniel WA, Nikiforuk A, Nalepa I, Chmielarz P, Kuśmierczyk J, Bojarski AJ & Popik P (2018) Novel multi-target azinesulfonamides of cyclic amine derivatives as potential antipsychotics with pro-social and pro-cognitive effects. *Eur J Med Chem* **145**, 790–804.



**Jezsó Bálint**, szakdolgozóként az ELTE Anatómiai, Sejt- és fejlődéstani tanszékén kezdte meg tudományos karrierjét, majd az ELTE doktori programjában, a HUN-REN TTK Molekuláris élettudományi intézetében kezdte meg doktori kutatásait Apáti Agota témavezetésével, ahol humán indukált pluripotens őssejtek betegség- és farmakológiai modellként való alkalmazási lehetőségeivel foglalkozott. Később tudományos segédmunkatársként dolgozott a HUN-REN TTK Anyag- és Környezetkémiai Intézetében, jelenleg pedig az ELTE Biokémia tanszékének munkatársa. Kutatómunkája során jelenleg a humán egyszálú DNS-kötő fehérjék genomai stabilitásában és sejtes stresszválaszban betöltött szerepére fókuszál.

# Új fluoreszcens módszerek a gyógyszertranszporter Organikus Anion Transzporter Polipeptidek vizsgálatában

**Ungvári Orsolya**

ELTE, Biológia Doktori Iskola, Immunológia program  
HUN-REN TTK, Molekuláris Élettudományi Intézet,  
Gyógyszerrezisztencia Kutatócsoport  
Témavezető: Laczka Csilla

## New fluorescent methods in the investigation of drug transporter Organic Anion Transporting Polypeptides

### Összefoglaló

A multispecifikus vagy gyógyszertranszporter Organikus Anion Transzporter Polipeptidek fiziológiás szubsztrátjaik mellett (bilirubin, epesók, szteroid- és tiroid hormonok) változatos molekulák kicserélődését segítik elő a sejtek extracelluláris és intracelluláris tere között. Sztatinok, vérnyomáscsökkentők, kemoterápiás szerek és antibiotikumok mellett élelmiszerekben megtalálható hatóanyagokkal is interakcióba lépnek, gyógyszer-gyógyszer, valamint élelmiszer-gyógyszer kölcsönhatásokat eredményezve. Ezek a kölcsönhatások megváltozott farmakokinetikát vagy akár nem várt toxicitást is okozhatnak, ezért új gyógyszer-molekulák fejlesztésekor legalább a hepatikus OATP-ekkel való kölcsönhatások vizsgálata javasolt nemzetközi gyógyszervizsgáló hatóságok ajánlása alapján. Az OATP-k kölcsönhatásainak felderítésére leggyakrabban radioaktív próbákat alkalmaznak, melyek költségesek, nem használhatók nagy áteresztőképességű tesztekben, és az egészségre és környezetre is ártalmasak. Munkám során új fluoreszcens próbák alkalmazhatóságát vizsgáltam, amelyek segítségével eddig ismeretlen kölcsönhatásokat derítettünk fel: piranin próba segítségével azonosítottuk krizin és kvercetin vegyületek, továbbá alternariol mikotoxin kölcsönhatását multispecifikus OATP-ekkel. Azonosítottunk egy, az OATP-k valós idejű vizsgálatára alkalmas fluorogén próbát, mely az OATP-eket kifejező sejtek belső enzimátikus hasítása révén válik fluoreszcens jelet kibocsájtó molekulává. Valamint kidolgoztuk a fluoreszcens kompetitív ellenáramlás módszerét, melynek segítségével képesek vagyunk különbséget tenni a transzportálódó szubsztrátok és nem transzportálódó inhibitor vegyületek között.

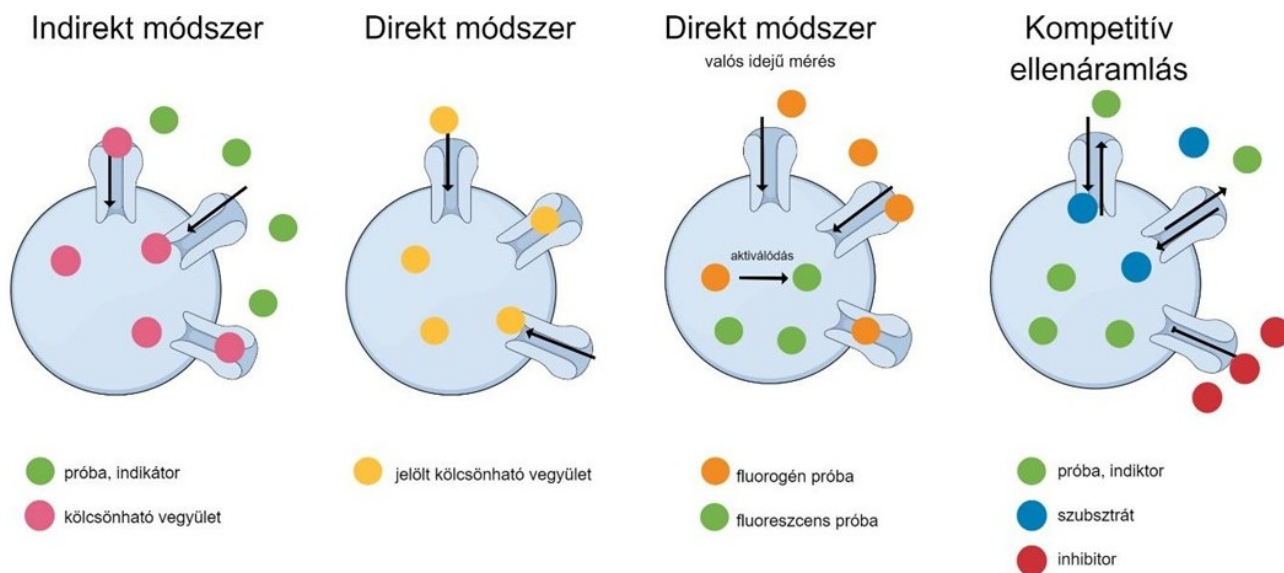
**Kulcsszavak:** OATP, fluoreszcencia, gyógyszer-gyógyszer kölcsönhatás, élelmiszer-gyógyszer kölcsönhatás, kompetitív ellenáramlás

### Summary

Besides their physiological substrates (bilirubin, bile salts, steroid and thyroid hormones), multispecific or drug transporter Organic Anion Transporter Polypeptides facilitate the exchange of diverse molecules between the extracellular and intracellular matrix of cells. In combination with statins, antihypertensives, chemotherapeutic agents and antibiotics, these transporters also interact with active alimentary compounds, resulting not only drug-drug but food-drug interactions. These interactions can lead to altered pharmacokinetics or even toxicity; hence, for the development of new drug molecules, it is recommended to test for interactions with hepatic OATPs, as advised by international drug regulatory agencies. Radioactive assays are most commonly used to detect interactions of OATPs, which are expensive, not suitable for high-throughput screening, and harmful to health and the environment. In my work, I investigated the applicability of new fluorescent probes to detect previously unknown interactions: we identified the interaction of chrysin and quercetin compounds, alternariol mycotoxin with multispecific OATPs using the piranin probe. We identified a fluorogenic probe for the real-time investigation of OATPs, which becomes a fluorescent signal-emitting molecule by enzymatic cleavage of the cells expressing multispecific OATPs. We also developed a fluorescent competitive counterflow method, which allows us to distinguish between transported substrates and nontransported inhibitors of OATPs.

**Key words:** OATP, fluorescence, drug-drug interaction, food-drug interaction, competitive counterflow

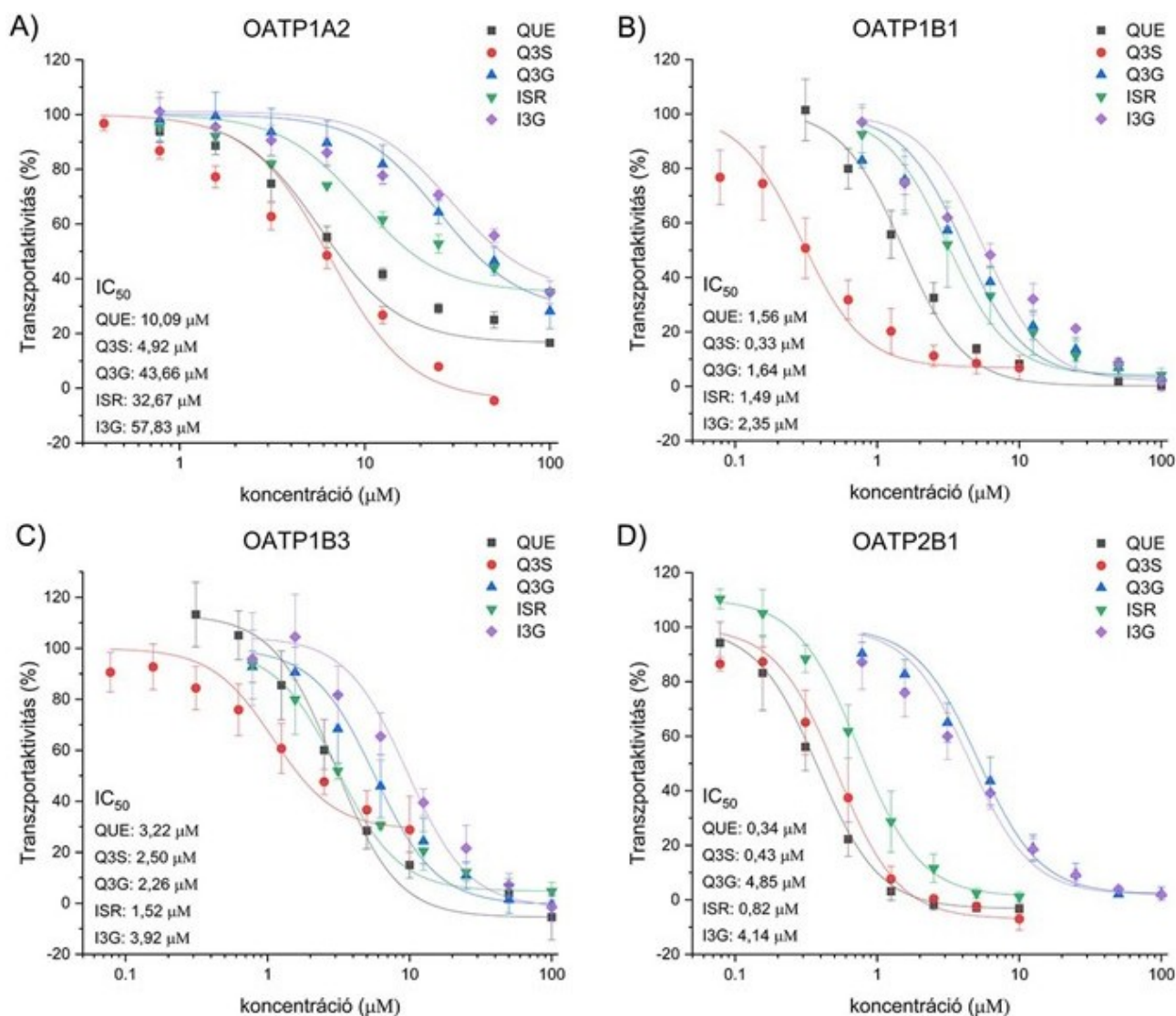
A membrántranszporterek kulcsfontosságú szerepet játszanak a sejtmembrán integritásának fenntartásában, az anyagok szállításában és a sejt-kommunikációban. Az anyagok sejtbeli felvételéért felelős másodlagosan aktív transzporterek, a Solute Carrier (SLC) szupercsaládba tartozó membránfehérjék és az anyagok leadását végző aktív ABC-transzporterek összehangolt működése alapvető a szervezet homeosztázisának megőrzésében [1]. Az SLC transzporterek közé tartozó Organikus Anion Transzporter Polipeptidek (OATP) a sejtek endotél vagy epitél felszínén kifejeződve képesek a szubsztrátjaik kicserélésére a sejt extracelluláris és intracelluláris tere között. Egy részük általánosan előfordul, míg mások szövetspecifikusan, korlátozott expresszióval rendelkeznek. Szubsztrátfelismerésük alapján megkülönböztetünk multispecifikus transzportereket, melyek fiziológiás szubsztrátjaik mellett számos exogén vegyületet, köztük gyógyszermolekulákat is felismernek és szállítanak, befolyásolva azok ADME (abszorpció, disztribúció, metabolizmus, elimináció) folyamatait [2]. Az OATP1A2 és OATP2B1 szabályozza szubsztrátjaik vér-agy gátban történő átjutását, vékonybélben történő felszívódását (OATP2B1) és vesékben történő visszaszívását (OATP1A2), míg az OATP1B1 és OATP1B3 szövetspecifikusan a hepatocitákban fejeződnek ki. A multispecifikus OATP-k működésének gátlása kölcsönható vegyületek együttes alkalmazásakor gyógyszer-gyógyszer és gyógyszer-élelmiszer kölcsönhatásokat, ezáltal megváltozott farmakokinetikát vagy akár nem várt toxicitást is eredményezhet (úgy mint miopátia vagy rabdomiolízis) [3, 4]. Ezért a gyógyszerfejlesztés korai szakaszában a hepatikus OATP1B-kkel való kölcsönhatás vizsgálata európai (European Medicines Agency, EMA), amerikai (U.S. Food and Drug Administration, FDA) és japán (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, PMDA) gyógyszerhatóságok irányelvei alapján javasolt [5].



**1. ábra. OATP transzporterek vizsgálatára használt módszerek sematikus ábrázolása.** Az indirekt módszerben a transzportált próbavegyület akkumulációjának megváltozását mérjük a vizsgálandó molekula jelenlétében. A direkt próba során magának a jelölt kölcsönható vegyületnek a transzportját tudjuk vizsgálni. Ennek egyik lehetséges változata a valós idejű nyomon követés, amikor a transzportált vegyület két jól megkülönböztethető, sejten kívüli és belüli formával is rendelkezik. A kompetitív ellenáramlási tesztben a vizsgálni kívánt vegyület és a próbaszubsztrát ugyanazon transzporter kötőhelyéért versengenek. Ha a vizsgált vegyület OATP szubsztrát, akkor koncentráció gradiens irányában transzportálódik a sejtekbe, amit intracelluláris jelcsökkenés indikál, míg egy transzporter működését gátló inhibitor vegyületet változatlan jelintenzitással detektálhatunk. Az ábra a Mind the Graph alkalmazással készült.

Az OATP-k kölcsönhatásainak vizsgálatára leggyakrabban radioaktívan jelölt szubsztrátokat (pl. ösztron-szulfát, ösztradiol-17 $\beta$ -glükuronid, bromoszulfoftalein) alkalmaznak, ám ezek drágák,

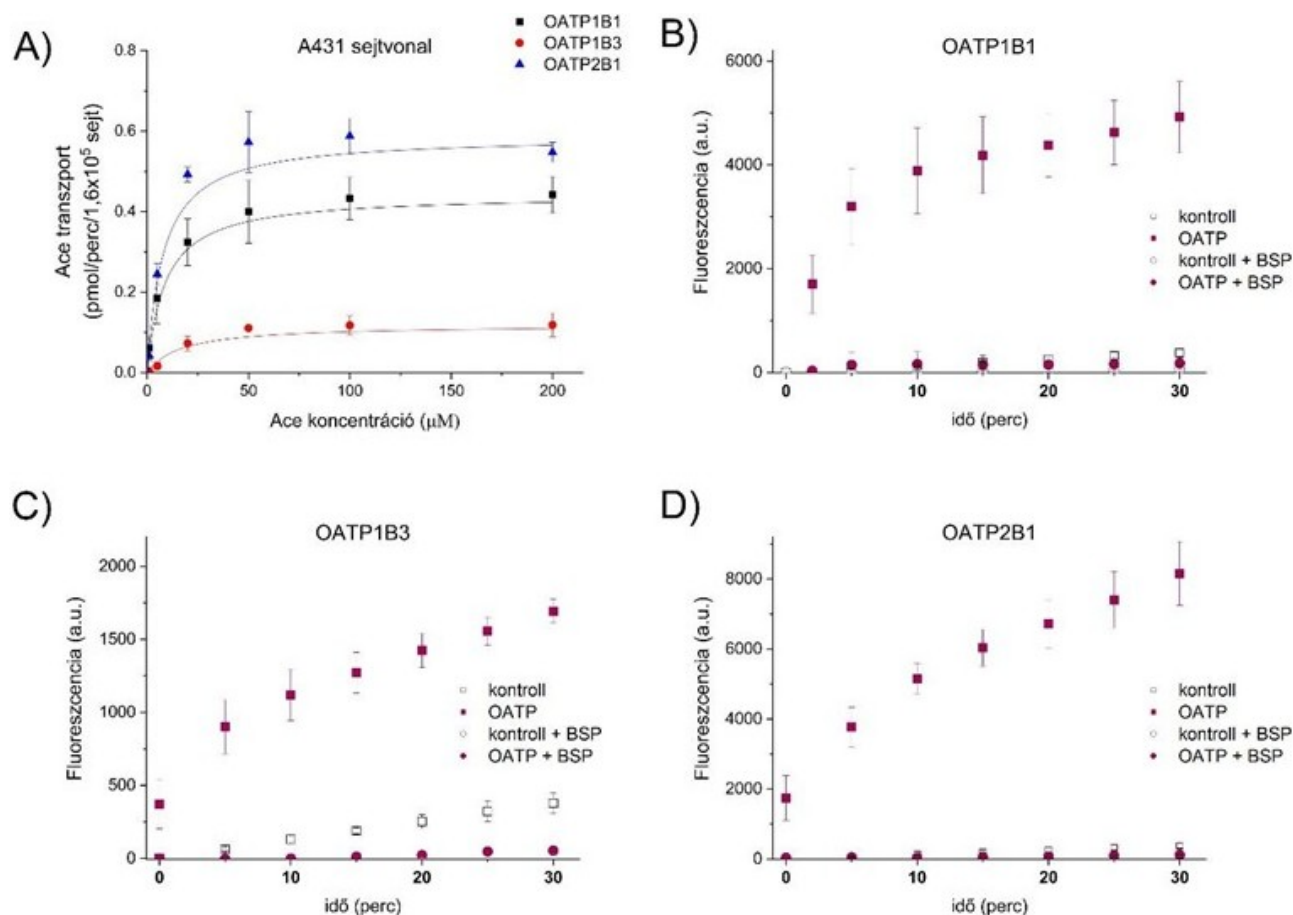
használatuk speciális szakképesítést igényel, és nem alkalmasak nagy áteresztőképességű tesztekben való használatra [6-9]. Alternatívaként fluoreszcens próbák, például fluoreszcein analógok és jelölt epesó-származékok is használhatók, amelyek érzékenyek, költséghatékonyak és biztonságosak. A hepatikus OATP-k endogén szubsztrátjait tömegspektrometriás vagy radioaktív módszerekkel is vizsgálják a klinikai fenotipizálás és gyógyszer kölcsönhatások előrejelzése céljából. A biomarkerek alkalmazása azonban kihívásokkal jár, mivel specifikusnak kell lenniük az adott transzporterre és meg kell tudniuk különböztetni egyes gátlószereket erősségük és affinitásuk alapján.



**2. ábra. Multispecifikus OATP-k kölcsönhatásai kvercetin flavonoiddal és metabolitjaival.** Kvercetin, kvercetin-3-szulfát, kvercetin-3-glükuronid, izoramnetin és izoramnetin-3-glükuronid koncentrációfüggő indirekt transzportgátlását A431 OATP1A2, OATP1B1, OATP1B3 és OATP2B1-et kifejező és kontroll sejteken vizsgáltam 96 lyukú lemezekben 0,5 μM SR101 (szulforodamin 101) (OATP1A2, 10 perc), 10 μM (OATP1B1, 15 perc) vagy 20 μM piranin (OATP1B3 30 perc, OATP2B1 15 perc) próbaszubsztrát segítségével pH 7,4 (OATP1A2) vagy pH 5,5 (OATP1B/2B1) körülmények között. A gátlást az inhibitor jelenlétében és nélküle mért fluoreszcencia értékek (a kontroll sejtek fluoreszcencia értékének levonása után) összehasonlításával számoltam ki (inhibitor nélkül mért fluoreszcencia 100%-os értékkel). A fluoreszcenciát EnSpire lemez leolvasóval mértem a következő hullámhosszokon: SR101 Ex/Em 586/605, piranin Ex/Em 460/510. Az IC<sub>50</sub> fél-maximális gátló koncentráció értékeket Hill1 nem lineáris görbeillesztéssel számoltam ki az Origin szoftver segítségével.

Az OATP-k kölcsönhatásainak felderítése ép sejtes rendszerekben történik, indirekt és direkt módszerekkel. Az indirekt transzportmérés egy vegyület gátló hatását mutatja ki egy ismert

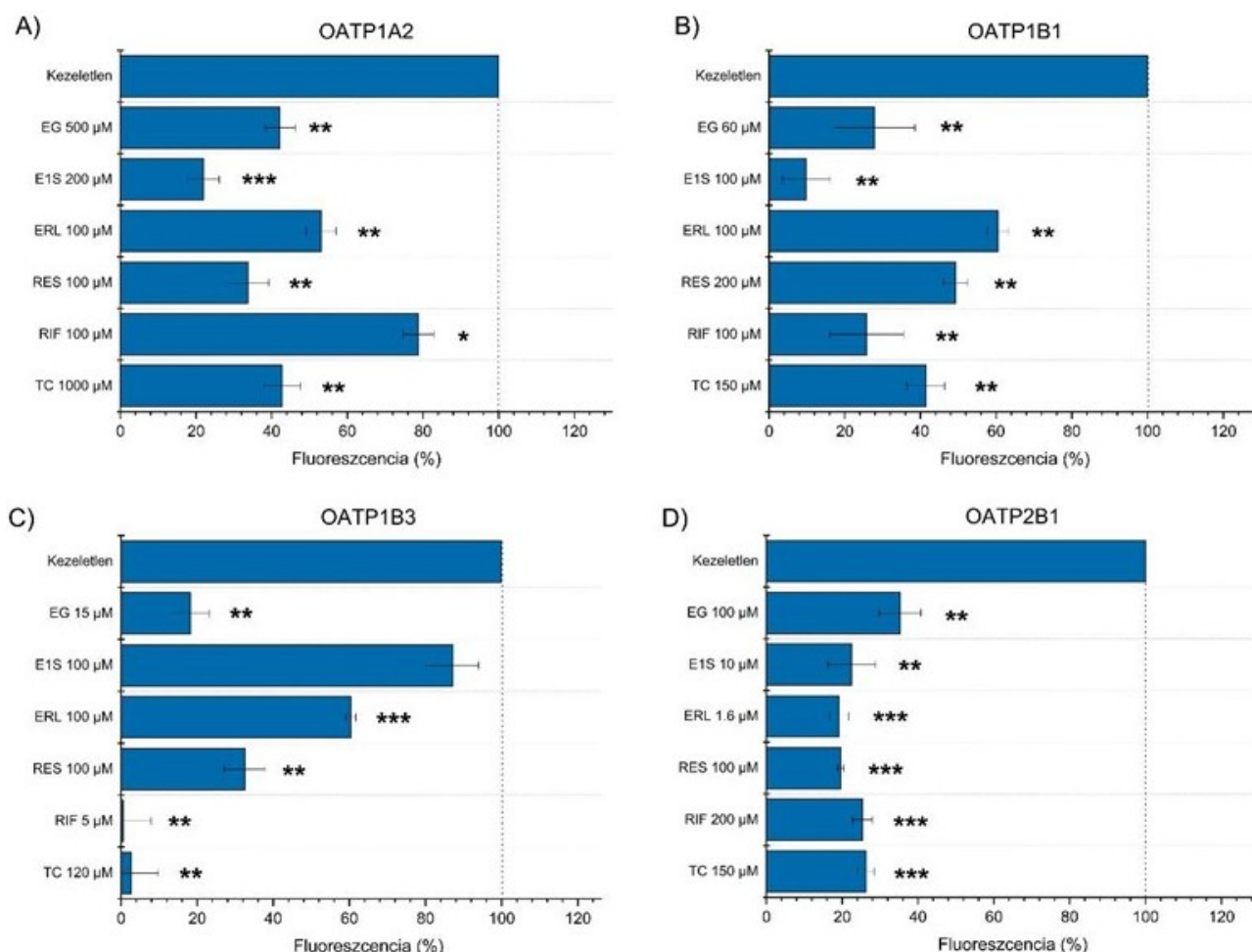
fluoreszcens próbaszubsztrát OATP transzportjára. Kutatócsoportunk korábbi felfedezései nyomán (egyéb célokra gyártott, kereskedelmi forgalomban kapható vegyületek, például a viabilitási festékek közé tartozó Live/Dead Green, Zombie Violet, Alexa Fluor 405 vagy Cascade Blue festékek, asztrocita marker szulforodamin festékek) olcsó, könnyen hozzáférhető pirén vázas vegyületek alkalmazhatóságát vizsgáltuk multispecifikus OATP-k kölcsönhatásainak kimutatására [10, 11].



**3. ábra. Ace valós idejű transzport vizsgálata a hepatikus OATP-eket kifejező A431 sejtvonalakon. (A)** Az Ace koncentrációfüggő felvétele A431-OATP sejtekben. Az A431 sejteket 5–200  $\mu\text{M}$  festékkel inkubáltam pH 5,5 pufferben 37°C-on 15 percig, majd a sejtek mosása nélkül mértem a fluoreszcenciát Ex/Em: 460/510 nm-en. A transzportaktivitást a vektorral transzfektált kontrollok és az OATP-t expresszáló sejtek fluoreszcenciája közötti különbséggént határoztam meg. A transzportált festék mennyiségét kalibrációs görbe alapján számoltam ki. **(B–D)** 20  $\mu\text{M}$  Ace valós időben mért intracelluláris feldúsulása OATP-t kifejező és kontroll A431 sejtekben 10  $\mu\text{M}$  bromoszulfoftalein (BSP) jelenlétében/nélkül. A bromoszulfoftaleint, mint ismert OATP inhibitor vegyületet alkalmaztam, ezáltal gátolva a festék transzportját a sejtekben. A fluorogén Ace-t tartalmazó felülúszó eltávolítása nélkül a sejtekben intracellulárisan növekvő fluoreszcenciát EnSpire lemez leolvasó segítségével rögzítettem, amely a lemezeket 37°C-on inkubálni képes, a fluoreszcenciát 5 percenként 30 percig mértem Ex/Em: 460/510 nm hullámhosszon.

A kísérleteinket minden esetben az adott transzportert overexpresszáló A431, MDCKII vagy HEK-293 sejtvonalon végeztük, kontrollként pedig ugyanezen sejtek vektorral transzfektált változatát használtuk, így képesek voltunk a transzporterek egyéni funkcióinak elkülönítésére. A pH indikátorként alkalmazott piranint, valamint több szulfopirén vegyületet is a multispecifikus OATP-k szubsztrátjaként azonosítottuk. Ezen próbák segítségével pedig különböző flavonoidokat (kriszin és kvercetin) és azok származékait, valamint alternariol mikotoxin kölcsönhatását mutattuk ki gyógyszertranszporter OATP-kkel. A flavonoidok nem csupán élelmiszerekben, de táplálék kiegészítőkben is gyakran felhasznált, kedvező élettani hatással rendelkező bioaktív vegyületek, melyekről korábban kimutatták, hogy antihisztaminok, kemoterápiás szerek és

vérnyomáscsökkentők felszívódását és kiürülését is képesek gátolni, míg az alternariol mikotoxin fogyasztása szennyezett növényi vagy állati eredetű táplálék formájában fejlődési rendellenességek kialakulásához, a szaporodóképesség elvesztéséhez, idegrendszeri károsodáshoz vagy akár immunszuppresszióhoz is vezethet [12-15].



**4. ábra. Multispecifikus OATP-k kompetitív ellenáramlásban mért kölcsönhatásai.** A431 OATP-eket és vektor kontrollt kifejező sejteket 96 lyukú lemezekre ültettem, majd 18–24 óra elteltével a letapadt sejteket háromszor mostam 200  $\mu$ l szobahőmérsékletű foszfáttal pufferelt sóoldattal (PBS). Ezután a lemezeket 37 °C-on inkubáltam a következők szerint: OATP1A2: 0,5  $\mu$ M SR101, pH 7,4, feltöltés a steady-state állapotig 60 perc, CCF 20 perc; OATP1B1: 10  $\mu$ M piranin, pH 5,5, feltöltés a steady-state állapotig 30 perc, CCF 20 perc; OATP1B3: 20  $\mu$ M piranin, pH 7,4, feltöltés a steady-state állapotig 45 perc, CCF 20 perc; OATP2B1: 20  $\mu$ M piranin, pH 5,5, feltöltés a steady-state állapotig 60 perc, CCF 30 perc; a vizsgált vegyületek (EG: ösztadiol-glükuronid, E1S: ösztro-n-szulfát, ERL: erlotinib, RES: rezveratrol, RIF: rifampicin, TC: taurokolát) jelenlétében vagy hiányában (kezeletlen). A reakció leállításához a felülszót eltávolítottam, és a sejteket háromszor 200  $\mu$ l jéghideg 1×PBS-sel mostam. Végül a PBS-t eltávolítottam, és 200  $\mu$ l 0,1 N NaOH-t adtam minden lyukba a pH kiegyenlítéséhez, a sejtek lizálásához. További 20 perc szobahőmérsékleten történő inkubálás után a fluoreszcenciát Ex/Em 460/510 nm-en (piranin) vagy 586/605 nm-en (SR101) mértem. Az OATP1B1 és OATP1B3 esetén eredményeim a szakirodalommal összhangban vannak. Az OATP1A2 új szubsztrátjaként azonosítottam a rezveratrolt, valamint pH 5,5 körülményt alkalmazva a rifampicin méréseim alapján az OATP2B1 szubsztrátjának adódott.

A direkt transzportmérés magának a szubsztrátnak a transzportját vizsgálja. Ez történhet valós idejű nyomon követéssel, amely olyan próbaszubsztrátot igényel, amely sejten belüli és kívüli állapota megkülönböztethető. Ilyenek a fluorogén vegyületek, amelyek sejten belüli enzimatisz átalakulással válnak detektálhatóvá, például az acetoxi oldalcsoportot tartalmazó kalcein-AM [16]. Kutatócsoportunk azonosította a 8-acetoxi-1,3,6-pirén-triszulfonátot (Ace), mint a májban kifejeződő OATP transzporterek, az OATP1B1, OATP1B3 és OATP2B1 első aktiválható próbáját. Az acetoxi módosítás elrejti a vegyület fluoreszcenciáját, a próba kizárólag transzporterek

működésével dúsul fel a sejtekben, majd intracelluláris észterázok hatására fluoreszcens molekulává, piraninná alakul [17]. Így a felülúszóban hozzáadott fluorogén vegyület nem bocsájt ki jelet, ha a vizsgált, ismeretlen vegyület kölcsönhatásba lépve a multispecifikus OATP-ekkel annak transzportját befolyásolja. Ezáltal lehetővé teszi ezen fehérjék működésének valós idejű, gyors és mosási lépések nélküli elemzését. A felfedezés nyomán egy nemzetközi szabadalmi beadvány is született.

Az elmúlt években létrehoztak egy olyan eljárást, amely segítségével nemcsak a kölcsönhatások mutathatók ki, de annak természetéről is információt nyerhetünk [18-20]. A kompetitív ellenáramlási teszt (competitive counterflow, CCF) a transzportált szubsztrátok és a nem transzportált inhibitorok megkülönböztetésére szolgál, és az SLC transzporterek cserélő funkcióján alapul. A módszer során első lépésben egy transzportert kifejező sejtben steady-state állapotot hozunk létre a próbaszubsztrát transzportjában (a be- és kiáramló festék transzportja egyensúlyban van). Miután meggyőződünk a kölcsönhatás meglétéről, második lépésként egy ismeretlen természetű vegyület hozzáadásával eldönthető, hogy az szubsztrátja vagy inhibitor-e a vizsgált transzporternek: ha szubsztrátja, akkor kicserélődik a sejten belül felhalmozódott próbaszubsztráttal, csökkentve annak intracelluláris jelét; ha viszont inhibitor, a transzporter működését felfüggesztve a próba sejten belüli jele változatlan marad. Munkám kezdetéig a CCF tesztet csak radioaktív próbákkal alkalmazták, fluoreszcens változata OATP transzporterek vizsgálatára nem létezett.

Kísérleteink során az Ace (OATP1B1, OATP2B1), a piranin (OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1) és a szulforodamin 101 (OATP1A2) segítségével vizsgáltuk egyes vegyületek kicserélődését a multispecifikus OATP-k által, a módszer jóságát szakirodalmi adatokkal validáltuk.

A kompetitív ellenáramlás módszer segítségével azonosítottuk a rifampicint (RNS-polimeráz gátló antibiotikum), mint az OATP2B1 szubsztrátját, valamint a rezveratrolt (antioxidáns polifenol vegyület) és pentamidint (FDA által jóváhagyott parazita ellenes szer), mint az OATP1A2 szubsztrátját. Ezáltal feltételezhetjük, hogy az OATP1A2 hozzájárulhat a pentamidin vér-agy gátban történő átjutásához, valamint a mellékhatásként fellépő neuro- és nefrotoxicitásához. Továbbá a CCF módszer segítségével a korábban vizsgált kölcsönható alternariol mikotoxint a májban legnagyobb mennyiségben expresszáldó OATP1B1 szubsztrátjaként is azonosítottuk, amely hozzájárulhat akut toxicitást okozó felhalmozódásához.

A multispecifikus humán OATP-k új fluoreszcens vizsgálati módszereinek megalkotásával (valós idejű nyomon követésre alkalmas fluorogén próba azonosítása, kompetitív ellenáramlás módszer) egyszerű és költséghatékony kutatási eljárásokat fejlesztettünk, ezzel lehetővé téve akár nagy molekulakönyvtárak robotizált tesztelését nagy áteresztőképességű eljárásokkal, OATP-mediálta gyógyszer- és élelmiszer kölcsönhatások előrejelzését és célzott inhibitorok tervezését.

### A disszertáció alapját képező publikációk

Ungvári, O., Király, L., Bakos, É., & Özvegy-Laczka, C. (2021). 8-acetoxytrisulfonypyrene as the first activatable fluorogenic probe for add-and-read assessment of Organic anion-transporting polypeptides, OATP1B1, OATP1B3, and OATP2B1. *The FASEB Journal*, **35**(9), e21863.

Ungvári, O., Bakos, É., Kovacsics, D., & Özvegy-Laczka, C. (2023). The fluorescencebased competitive counterflow assay developed for organic anion transporting polypeptides 1A2, 1B1, 1B3 and 2B1 identifies pentamidine as a selective OATP1A2 substrate. *The FASEB Journal*, **37**(11), e23223.

Fliszár-Nyúl, E.,\* Ungvári, O.,\* Dombi, Á., Özvegy-Laczka, C., & Poór, M. (2022). Interactions of Mycotoxin Alternariol with Cytochrome P450 Enzymes and OATP Transporters. *Metabolites*, **13**(1), 45. \*: egyenrangú szerzők

Tuerkova, A., Bongers, B. J., Norinder, U., Ungvári, O., Székely, V., Tarnovskiy, A., ... & Zdrazil, B. (2022). Identifying novel inhibitors for hepatic organic anion transporting polypeptides by machine learning-based virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **62**(24), 6323-6335.

Tuerkova, A., Ungvári, O., Laczkó-Rigó, R., Mernyák, E., Szakács, G., Özvegy-Laczka, C., & Zdrazil, B. (2021). Data-driven ensemble docking to map molecular interactions of steroid analogs with hepatic organic anion transporting polypeptides. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **61**(6), 3109-3127.

Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E., Ungvári, O., Kuffa, K., Needs, P. W., Kroon, P. A., ... & Poór, M. (2020). Inhibitory effects of quercetin and its main methyl, sulfate, and glucuronic acid conjugates on cytochrome P450 enzymes, and on OATP, BCRP and MRP2 transporters. *Nutrients*, **12**(8), 2306.

Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E., Ungvári, O., Bakos, É., Kuffa, K., Bencsik, T., ... & Poór, M. (2020). Effects of chrysin and its major conjugated metabolites chrysin-7-sulfate and chrysin-7-glucuronide on cytochrome P450 enzymes and on OATP, P-gp, BCRP, and MRP2 transporters. *Drug Metabolism and Disposition*, **48**(10), 1064-1073.

Székely, V., Patik, I., Ungvári, O., Telbisz, Á., Szakács, G., Bakos, É., & Özvegy-Laczka, C. (2020). Fluorescent probes for the dual investigation of MRP2 and OATP1B1 function and drug interactions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **151**, 105395.

## Irodalomjegyzék

- [1] International Transporter Consortium., Giacomini, K. M., Huang, S. M., Tweedie, D. J., Benet, L. Z., Brouwer, K. L., Chu, X., Dahlin, A., Evers, R., Fischer, V., Hillgren, K. M., Hoffmaster, K. A., Ishikawa, T., Keppler, D., Kim, R. B., Lee, C. A., Niemi, M., Polli, J. W., Sugiyama, Y., Swaan, P. W., Ware, J. A., Wright, S. H., Yee, S. W., Zamek-Gliszczynski, M. J. & Zhang, L. (2010) Membrane transporters in drug development, *Nat Rev Drug Discov.* **9**, 215-36.
- [2] Hagenbuch, B. & Stieger, B. (2013) The SLCO (former SLC21) superfamily of transporters, *Mol Aspects Med.* **34**, 396-412.
- [3] König, J. (2011) Uptake transporters of the human OATP family: molecular characteristics, substrates, their role in drug-drug interactions, and functional consequences of polymorphisms, *Handb Exp Pharmacol*, **1-28**.
- [4] Zechner, J., Britza, S. M., Farrington, R., Byard, R. W. & Musgrave, I. F. (2022) Flavonoid-statin interactions causing myopathy and the possible significance of OATP transport, CYP450 metabolism and mevalonate synthesis, *Life Sci.* **291**, 119975.
- [5] Liu, X. (2019) Transporter-Mediated Drug-Drug Interactions and Their Significance, *Adv Exp Med Biol.* **1141**, 241-291.
- [6] Tamai, I., Nezu, J., Uchino, H., Sai, Y., Oku, A., Shimane, M. & Tsuji, A. (2000) Molecular identification and characterization of novel members of the human organic anion transporter (OATP) family, *Biochem Biophys Res Commun.* **273**, 251-60.
- [7] Tamai, I., Nozawa, T., Koshida, M., Nezu, J., Sai, Y. & Tsuji, A. (2001) Functional characterization of human organic anion transporting polypeptide B (OATP-B) in comparison with liver-specific OATP-C, *Pharm Res.* **18**, 1262-9.
- [8] König, J., Cui, Y., Nies, A. T. & Keppler, D. (2000) Localization and genomic organization of a new hepatocellular organic anion transporting polypeptide, *J Biol Chem.* **275**, 23161-8.
- [9] Izumi, S., Nozaki, Y., Komori, T., Takenaka, O., Maeda, K., Kusuhara, H. & Sugiyama, Y. (2016) Investigation of Fluorescein Derivatives as Substrates of Organic Anion Transporting Polypeptide (OATP) 1B1 To Develop Sensitive Fluorescence-Based OATP1B1 Inhibition Assays, *Mol Pharm.* **13**, 438-48.
- [10] Patik, I., Székely, V., Nemet, O., Szepesi, A., Kucsma, N., Varady, G., Szakacs, G., Bakos, E. & Özvegy-Laczka, C. (2018) Identification of novel cell-impermeant fluorescent substrates for testing the function and drug interaction of Organic Anion-Transporting Polypeptides, OATP1B1/1B3 and 2B1, *Sci Rep.* **8**, 2630.
- [11] Bakos, E., Nemet, O., Patik, I., Kucsma, N., Varady, G., Szakacs, G. & Özvegy-Laczka, C. (2020) A novel fluorescence-based functional assay for human OATP1A2 and OATP1C1 identifies interaction between third-generation P-gp inhibitors and OATP1A2, *FEBS J.* **287**, 2468-2485.
- [12] Glaeser, H., Bailey, D. G., Dresser, G. K., Gregor, J. C., Schwarz, U. I., McGrath, J. S., Jolicœur, E., Lee, W., Leake, B. F., Tirone, R. G. & Kim, R. B. (2007) Intestinal drug transporter expression and the impact of grapefruit juice in humans, *Clin Pharmacol Ther.* **81**, 362-70.
- [13] McFeely, S. J., Wu, L., Ritchie, T. K. & Unadkat, J. (2019) Organic anion transporting polypeptide 2B1 - More than a glass-full of drug interactions, *Pharmacol Ther.* **196**, 204-215.

- [14] Glaeser, H., Bujok, K., Schmidt, I., Fromm, M. F. & Mandery, K. (2014) Organic anion transporting polypeptides and organic cation transporter 1 contribute to the cellular uptake of the flavonoid quercetin, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **387**, 883-91.
- [15] Fung, F. & Clark, R. F. (2004) Health effects of mycotoxins: a toxicological overview, *J Toxicol Clin Toxicol.* **42**, 217-34.
- [16] Hollo, Z., Homolya, L., Davis, C. W. & Sarkadi, B. (1994) Calcein accumulation as a fluorometric functional assay of the multidrug transporter, *Biochim Biophys Acta.* **1191**, 384-8.
- [17] Lavis, L. D., Chao, T. Y. & Raines, R. T. (2011) Synthesis and utility of fluorogenic acetoxymethyl ethers, *Chem Sci.* **2**, 521-530.
- [18] Harper, J. N. & Wright, S. H. (2013) Multiple mechanisms of ligand interaction with the human organic cation transporter, OCT2, *Am J Physiol Renal Physiol.* **304**, F56-67.
- [19] Schafer, A. M., Bock, T. & Meyer Zu Schwabedissen, H. E. (2018) Establishment and Validation of Competitive Counterflow as a Method To Detect Substrates of the Organic Anion Transporting Polypeptide 2B1, *Mol Pharm.* **15**, 5501-5513.
- [20] Schafer, A. M., Meyer Zu Schwabedissen, H. E., Bien-Moller, S., Hubeny, A., Vogelgesang, S., Oswald, S. & Grube, M. (2020) OATP1A2 and OATP2B1 Are Interacting with Dopamine-Receptor Agonists and Antagonists, *Mol Pharm.* **17**, 1987-1995.



**Ungvári Orsolya** PhD tanulmányait az Eötvös Loránd Tudományegyetem Biológia Doktori Iskolájában végezte Laczka Csilla PhD, DSc témavezetésével, disszertációját 2024 októberében védte meg. A disszertációhoz kapcsolódó kutatásokat a HUN-REN TTK Molekuláris Élettudományi Intézetének Gyógyszerrezisztencia kutatócsoportjában folytatta, melynek 2019 óta volt tagja. Jelenleg a Szingapúri Nemzeti Egyetem Kardiovaszkuláris Kutatóintézetének posztdoktori kutatója, ahol a transzlációs medicina területén a miokardiális infarktust követő remodelling folyamatokat vizsgálja.

# „Áttekintő közlemények az MBKE tagjainak tollából” című rovat felhívása

**Sarkadi Balázs**  
rovatvezető

A BIOKÉMIA folyóiratban hírül kívánjuk adni a MBKE tagok által írt, jelentős nemzetközi folyóiratokban megjelent angol nyelvű áttekintő (review) cikkeket. Biztosak vagyunk benne, hogy ez lehetővé tenné a hazai laboratóriumokban művelt témák jobb megismerését, anélkül, hogy a szerzőknek bármilyen külön munkát jelentene.

Az „Áttekintő közlemények az MBKE tagjainak tollából” című rovatban beküldött összefoglalók megjelenési formája: az eredeti cikk **első oldalának pdf változata** (amennyiben ezt a folyóirat engedi) és egy, a cikkhez vezető link.

A beküldés folyamatos az alábbi címre: [sarkadi@biomembrane.hu](mailto:sarkadi@biomembrane.hu)



# Áttekintő közlemények az MBKE tagjainak tollából

Eszter Szabo, Balint Nagy, Andras Czajlik et al. Mitochondrial Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes: Recent Developments on Structure and Function in Health and Disease, *Springer Nature*, **2024**

[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-58843-3\\_13](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-58843-3_13)

Mótyán JA, Tózsér J. The human retroviral-like aspartic protease 1 (ASPRV1): From in vitro studies to clinical correlations. *J Biol Chem.* **2024** Aug 2; 300(9): 107634.

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(24\)02135-5/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(24)02135-5/fulltext)

## Chapter 13

# Mitochondrial Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes: Recent Developments on Structure and Function in Health and Disease



Eszter Szabo, Balint Nagy, Andras Czajlik, Timea Komlodi,  
Oliver Ozohanics, Laszlo Tretter, and Attila Ambrus

**Abstract** The present work delves into the enigmatic world of mitochondrial alpha-keto acid dehydrogenase complexes discussing their metabolic significance, enzymatic operation, moonlighting activities, and pathological relevance with links to underlying structural features. This ubiquitous family of related but diverse multienzyme complexes is involved in carbohydrate metabolism (pyruvate dehydrogenase complex), the citric acid cycle ( $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complex), and amino acid catabolism (branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complex,  $\alpha$ -ketoadipate dehydrogenase complex); the complexes all function at strategic points and also participate in regulation in these metabolic pathways. These systems are among the largest multienzyme complexes with at times more than 100 protein chains and weights ranging up to ~10 million Daltons. Our chapter offers a wealth of up-to-date information on these multienzyme complexes for a comprehensive understanding of their significance in health and disease.

**Keywords**  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complexes · Mitochondrion · ROS · Metabolic disease · Pathogenic mutation · Pyruvate dehydrogenase complex · Alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex · Alpha-ketoadipate dehydrogenase complex · Branched-chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase complex

Eszter Szabo, Balint Nagy and Andras Czajlik contributed equally to this work.

E. Szabo · B. Nagy · A. Czajlik · T. Komlodi · O. Ozohanics · L. Tretter · A. Ambrus (✉)  
Department of Biochemistry, Semmelweis University, Budapest, Hungary  
e-mail: [szabo.eszter1@semmelweis.hu](mailto:szabo.eszter1@semmelweis.hu); [nagy.balint@semmelweis.hu](mailto:nagy.balint@semmelweis.hu); [czajlik.andras@semmelweis.hu](mailto:czajlik.andras@semmelweis.hu); [komlodi.timea@semmelweis.hu](mailto:komlodi.timea@semmelweis.hu); [ozohanics.oliver@semmelweis.hu](mailto:ozohanics.oliver@semmelweis.hu); [tretter.laszlo@semmelweis.hu](mailto:tretter.laszlo@semmelweis.hu); [ambrus.attila@semmelweis.hu](mailto:ambrus.attila@semmelweis.hu)

© The Author(s) 2024

J. R. Harris, J. Marles-Wright (eds.), *Macromolecular Protein Complexes V*,  
Subcellular Biochemistry 104, [https://doi.org/10.1007/978-3-031-58843-3\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-031-58843-3_13)

295

## JBC REVIEWS



# The human retroviral-like aspartic protease 1 (ASPRV1): From *in vitro* studies to clinical correlations

Received for publication, March 21, 2024, and in revised form, July 25, 2024 Published, Papers in Press, August 2, 2024,  
<https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107634>

János András Mótyán\* and József Tózsér

From the Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hungary

Reviewed by members of the JBC Editorial Board. Edited by Craig Cameron

The human retroviral-like aspartic protease 1 (ASPRV1) is a retroviral-like protein that was first identified in the skin due to its expression in the *stratum granulosum* layer of the epidermis. Accordingly, it is also referred to as skin-specific aspartic protease. Similar to the retroviral polyproteins, the full-length ASPRV1 also undergoes self-proteolysis, the processing of the precursor is necessary for the autoactivation of the protease domain. ASPRV1's functions are well-established at the level of the skin: it is part of the epidermal proteolytic network and has a significant contribution to skin moisturization *via* the limited proteolysis of filaggrin; it is only natural protein substrate identified so far. Filaggrin and ASPRV1 are also specific for mammals, these proteins provide unique features for the skins of these species, and the importance of filaggrin processing in hydration is proved by the fact that some ASPRV1 mutations are associated with skin diseases such as *ichthyosis*. ASPRV1 was also found to be expressed in macrophage-like neutrophil cells, indicating that its functions are not limited to the skin. In addition, differential expression of ASPRV1 was detected in many diseases, with yet unknown significance. The currently known enzymatic characteristics—that had been revealed mainly by *in vitro* studies—and correlations with pathogenic phenotypes imply potentially important functions in multiple cell types, which makes the protein a promising target of functional studies. In this review we describe the currently available knowledge and future perspective in regard to ASPRV1.

The retroviral-like aspartic protease 1 (ASPRV1) is a mammalian protein that had first been identified as a protease (PR) of the human epidermis (EC: 3.4.23.-) being specifically expressed in the granular layer of the skin. Consequently, it was originally named as skin-specific aspartic protease (SASPase) (1, 2), but it is also referred to as 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-inducible aspartic proteinase-like protein (TAPS). Both the ASPRV1 and SASPase names are approved and used widely in the scientific literature. *ASPRV1* is one of the human genes that have been domesticated from retrotransposons during vertebrate evolution. The protein expressed from this gene was defined as a retrovirus Gag-like protein as—besides its enzymatic domain—it contains a

domain that is homologous to that of the Gag structural domain of the canonical retroviral polyprotein (3–5). The evolutionary origin was demonstrated by the homology between its Gag-like and protease domains and those of the retrovirus/retrotransposon proteins, as it is described later.

The expression of human ASPRV1 protein was described in the *stratum granulosum* layer of the healthy epidermis by detecting the highest mRNA level in skin and significantly lower levels in the brain (1). Accordingly, data available in the Genotype-Tissue Expression (GTEx) Portal ([gtexportal.org](https://gtexportal.org)) and Human Protein Atlas ([proteinatlas.org](https://proteinatlas.org)) (6) databases also show high level of expression in the skin. ASPRV1 was first characterized at protein level in 2005 by Bernard *et al.* at the laboratories of L'Oreal and Galderma (1). It was found to be localized in the nucleus and cytoplasm of epidermal granular layer cells (1, 7). Later, Whittaker Hawkins *et al.* analyzed samples from patients both with and without multiple sclerosis (MS) and found that the mRNA of human ASPRV1 is highly abundant in blood neutrophils in the steady state, but not in other cell types such as B cells, monocytes, and unfractionated mononuclear cell. In addition, the mRNA level was higher in lesions of postmortem brain samples of patients with severe MS as compared to the samples obtained from normal white matters or from lesions of mild and moderate MS (8). Database information (Human Protein Atlas) also imply that the expression of ASPRV1 is not limited to the skin and is high in kidney cells and placenta. Other retroviral-like proteins are also exhibit high placental expression; such as paternally expressed gene 10 (PEG10) protein (9, 10).

## Protein name

The human ASPRV1 was first identified as a skin-specific enzyme in 2005, thus, it has primarily been named as skin-specific aspartic protease (SASPase) (1). Later, the ASPRV1 name was also introduced (11), both SASPase and ASPRV1 names are commonly used in the literature. As it is discussed below, there are three main forms of ASPRV1 having different molecular weights of 37, 28, and 14 kDa, which are still distinguished from each other by using SASPase-based names (SASP37, SASP28, and SASP14).

In order to avoid inconsistency and better reflect the common name of the gene, we recommend the unification of the nomenclature and the use of ASPRV1 rather than SASPase. The ASPRV1 name reflects the origin, and does not limit the

\* For correspondence: János András Mótyán, [motyjan.janos@med.unideb.hu](mailto:motyjan.janos@med.unideb.hu).



© 2024 THE AUTHORS. Published by Elsevier Inc on behalf of American Society for Biochemistry and Molecular Biology. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

# MBKE Junior szekció 2024-es őszi féléves tevékenysége

**Deák Péter**

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,  
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

**László Loretta**

HUN-REN, Természettudományi Kutatóközpont  
Molekuláris Élettudományi Intézet

**Réthy-Nagy Zsuzsánna**

HCEMM, Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ,  
Rák Mikrobiom Kutatócsoport

In the autumn semester of 2024, we continued our online lecture series, and organized our first „offline” event, a quiz night.

**Our online lecture series began with a presentation by Zsuzsánna Réthy-Nagy** from the Hungarian Centre of Excellence for Molecular Medicine. Zsuzsi was also the founder of the Hungarian Biochemical Society Junior Section from the very beginning. The title of her speech was **„Learning beyond the classroom and the lab”**. In her presentation, she talked about some major scholarships which can be earned in Hungary, through her personal experiences. She talked about her ERASMUS and Campus Mundi scholarships in Szeged and Barcelona, respectively. Also, she mentioned her experiences about the FEBS Young Scientist' Forum (YSF, 2022) and the FEBS Congresses (2022 and 2024), along with the available FEBS Bursaries. Next, she talked about her trip to Heidelberg, Germany, where she participated in a practice-based EMBL Advanced Course. Lastly, she talked about the SCIndicator mentor program and SCup, which is a science communication association founded by Benjamin Papp (MD).

**Tibor Pankotai was our next speaker**, and his lecture focused on exploring career paths for researchers, including biologists' options after completing a PhD. He highlighted, that transition between academia, industry, and diagnostics is smoother than expected. Balancing career, finances, and family is crucial, as he showed through his own journey. Since 2000, he has earned multiple scholarships, led research groups, and published 57 international papers. He currently works at the University of Szeged and leads HCEMM's Genome Integrity Research Group. As CEO of RenGen BioLab and OnCode Ltd., he bridges research, education, and entrepreneurship. Tibor emphasized motivation, teamwork, leadership training, and continuous self-improvement. He linked scientific careers to Maslow's hierarchy, stressing the need for stability. His key advice: embrace new opportunities, set goals, and develop essential skills. Perseverance, learning, and adaptability are vital for success.

In December 2024, we held our **first „offline” event, a quiz night**. The event was co-organised with the Hungarian Biotechnology Students Association (MaBE) in Budapest. The questions included biological and molecular biology topics, as well as general knowledge, films and music, nature, history and geography, science and technology. Based on the success of the event, we hope that this was only the beginning of a series of similar events that can further strengthen the scientific community.

A 2024-es őszi félévben is folytattuk magyar nyelvű előadás sorozatunkat: az első előadást Réthi-Nagy Zsuzsánna, a másodikat pedig Pankotai Tibor tartotta. Emellett megrendeztük első „offline” eseményünket is, amely egy kvízest volt.

**Online előadássorozatunk szeptemberi első epizódjában Dr. Réthi-Nagy Zsuzsánna előadását hallgathattuk meg,** aki a Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ (HCEMM) Rák Mikrobiom Kutatócsoportjának, valamint az MBKE Junior Section alapító tagja. Előadásának címe a **„Tanulás az iskolapadon és a laboron túl”** volt, melyben Zsuzsi saját tapasztalatain és élményein keresztül mutatott be pár tudományos ösztöndíjat és konferenciát. Az előadást a 2016-os Szegedi ERASMUS utazásával kezdte. Mint elmondta, akkora hatással voltak rá az ERASMUS során szerzett élmények és tapasztalatok, valamint Szeged városa, hogy bár Erdélyből származik és az alapszakot Kolozsváron a Babeş-Bolyai Tudományegyetemen végezte, mesterszaktól kezdve Szegeden tanult, él és immáron dolgozik is. A következő részben Zsuzsi a Barcelonai Campus Mundi ösztöndíját mutatta be. Elmesélte, hogy gyermekkorától óta vágyott már Barcelonába, különösen az FC Barcelona csapata miatt, így azonnal élt a lehetőséggel, amikor tudomást szerzett az ösztöndíjról. Természetesen tudományos céllal érkezett a katalán fővárosba, ugyanis az ösztöndíj keretében különböző mikroszkópos technikák elsajátításáról tanulhatott. Az ösztöndíj élménybeszámoló mellett Zsuzsi kitért és megosztotta élményeit a 2022-es YSF és FEBS Kongresszusról, ami Lisszabonban került megrendezésre; beszélt a FEBS által minden évben megrendezésre kerülő YSF-ről; kaphattunk egy rövid tájékoztatót a FEBS Bursary-kről, valamint a 2024-es FEBS Kongresszusról, melyről a Biokémia folyóirat tavaly szeptemberi számában írtunk bővebben. Ezt követően, Zsuzsi bemutatta az EMBL Advanced Course-on szerzett tapasztalatait és bemutatta a programot, mely 2024 szeptemberében a németországi Heidelbergben került megrendezésre. Mint elmondta, a kurzus maga technikai jellegű volt, melynek során mikroszkópiához kapcsolódó elméleti előadásokon vehettek részt és kipróbálhatták a tanultakat különböző gyakorlati feladatokon keresztül. Zsuzsi ezen kívül mesélt a magyarországi SCIndikátor tudománykommunikációs mentorprogramról, melynek célja egyetemisták és PhD hallgatók mentorálása, mely során segítik a hallgatókat előadóképességeik fejlesztésében, hogy a közösség számára lebilincselően és közérthetően tudjanak mesélni tudományos szenvedélyükről és kutatási területükről. Végezetül betekintést nyerhettünk egy tudománykommunikációval foglalkozó egyesületbe, a SCup-ba is, melyet a 2020-as SCIndikátor győztes Dr. Papp Benjamin alapított.

**Online előadássorozatunk második epizódjának kiemelkedő előadója Dr. habil Pankotai Tibor volt,** aki a kutatói életpálya különböző kimeneti lehetőségeit mutatta be. Előadásának címe **„Kutatás-diagnosztika-ipar, kutatói életpálya kimeneti lehetőségek egy kutató szemszögéből”** volt, amelyben elsősorban a biológusok karrierútjaira helyezte a hangsúlyt. Felvetette a kérdést, hogy egy kutató PhD fokozat megszerzése után milyen lehetőségek közül választhat: maradjon az akadémiai szférában kezdő posztdokként, vagy más területeken próbálja ki magát. Tibor szerint az egyes területek közötti átmenet sokkal gördülékenyebb, mint ahogyan azt gyakran feltételezik. Előadásában kiemelte a pénz, karrier és család közötti egyensúly fontosságát, amelyet saját életútján keresztül is bemutatott. 2000-től 2024-ig számos mérföldkövet ért el: diplomát szerzett, több nemzetközi ösztöndíjban részesült, kutatócsoportot alapított és habilitált. Jelenleg a Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézetének munkatársa, valamint a HCEMM Genom Integritás és DNS-hibajavítás kutatócsoport vezetője. Emellett a RenGen BioLab és az OnCode Kft. ügyvezető igazgatójaként is

tevékenykedik, így kutatóként, oktatóként és vállalkozóként egyaránt dolgozik. Eddigi pályafutása során 9 tudományos ösztöndíjat nyert el, 57 nemzetközi publikációja jelent meg, és 45 nemzetközi konferencián volt meghívott előadó.

Kutatóként és vezetőként egyaránt fontosnak tartja, hogy mindenki megtalálja a saját belső motivációját, amely hosszú távon fenntarthatóvá teszi a tudományos karriert. Célja egy nemzetközileg elismert kutatócsoport építése, amely magas színvonalú kutatásokat végez és új technológiákat fejleszt. Ehhez elengedhetetlen a csapatmunka, a problémamegoldó készség, a feladatok megfelelő delegálása és az önfejlesztés. Tibor hangsúlyozta, hogy vezetőként is folyamatosan fejlődni kell: szakmai képzések, vezetői tréningek és hatékony kommunikáció révén lehet eredményes kutatócsoportot irányítani. Előadásában Maslow szükségletpiramisára is kitért, amely alapján a tudományos életpálya az önmegvalósítás egyik formája, azonban az alsóbb szintek biztosítása elengedhetetlen a sikerhez.

Végül azt tanácsolta a fiatal kutatóknak, hogy merjenek új lehetőségeket kipróbálni, találják meg saját céljaikat, és építsék fel az ehhez szükséges eszközöket. Az előadás inspiráló üzenete, hogy a kitartás, a folyamatos tanulás és a nyitottság a változásokra elengedhetetlen a tudományos és szakmai sikerhez.

### MBKE Junior Szekció 2024-es őszi féléves előadássorozatának előadói

RÉTHI-NAGY ZSUZSÁNNA



PANKOTAI TIBOR



**Az előadások megtekinthetők a youtube csatornánkon: HBS\_junior.**



2024 decemberében megrendezésre került az **első „offline” eseményünk**, amely egy jó hangulatú **kvízest** formájában valósult meg. Az eseményt a Magyar Biotechnológus-hallgatók egyesületével (MaBE) közösen szerveztük, és az Élesztő nevű helyszínen tartottuk meg Budapesten. Az este során öt lelkes csapat mérte össze tudását, hogy elnyerje a főnyereményt, miközben baráti légkörben, egy-egy pohár sör mellett élvezhették a vetélkedést.

A kvízeszt házigazdája Deák Péter volt. A résztvevők többféle kategóriában mutathatták meg tudásukat, így mindenki megtalálhatta a számára legérdekesebb témakört. A kérdések között helyet kaptak biológiai és molekuláris biológiai témák, de emellett az általános műveltség, filmek és zene, természet, történelem és földrajz, valamint tudomány és technológia területei is szerepeltek.

Az este nemcsak a versengésről szólt: a résztvevőknek lehetőségük nyílt új kapcsolatokat építeni, szakmai és baráti beszélgetésekbe elegyedni, miközben egy kellemes közösségi élménnyel gazdagodtak. Az esemény sikeressége alapján reméljük, hogy ez csak az első volt a hasonló rendezvények sorában, amelyek tovább erősíthetik a tudományos közösséget és színesíthetik az érdeklődők mindennapjait.



Ne maradj le következő féléves előadásainkról sem, kövess minket a social media elérhetőségeinken (Facebook, Instagram, LinkedIn, Youtube)! Találkozunk március végén az egri Molekuláris Élettudományi konferencián, ahol lehetőségetek nyílik kvízünket kipróbálni!

# Talking about their generation

**Ádám Kun**

associate professor,  
Eötvös Loránd University



We are back to the lecture halls and seminar rooms of the university. In front of me, there are students from Generation Z. People born between 1997–2012. I'm Generation X. I was born in 1976. Supposedly I should not understand Generation Y, or Generation Z (born between 1996–2010) and Alpha (born between 2010 and now). They are very different. They don't want to work and only want to party. They rebel and listen to strange music\*.

Still, society mandates that I raise and educate these generations (especially Z and Alpha). How would that be possible if they are that much different? What should I do with the bunch of Gen Zs in front of me?

## **Do we need to teach them any differently?**

Do I need to take a course on how to teach Gen Z? When I was a student, we admired professors who had a captivating personality, were good orators and told us more about the wonders of biology. During my time as an educator, I found out that it is still "enough" to give an engaging and interactive lecture, be able to hold their attention for some hours and tell them more about the wonders of biology.

I was always told that in the good old times when the great professor of my department, Pál Juhász-Nagy, was still alive, there were long afternoons full of lectures, discussions, and cigarette smoke. When I was a student, there were long afternoons organized by my supervisor with lectures, discussions, and tea. Now there are institution and research group meetings, not necessarily in the afternoon, with lectures, discussions, and biscuits and coffee. Not much has changed, except smoking became less fashionable and there was a change in the available types of biscuits.

## **Frankly, I do not think that the generations are that much different.**

I grew up in front of a computer and some might claim that I have become a reasonably decent fellow. I hear it much too often that these youngsters will have serious problems as they grow up in front of a computer (tablet, mobile phone, etc. – insert as appropriate). But there is already a part of my generation that grew up in front of a computer. Granted, those computers were ZX Spectrums and Commodore 64s, and not some Alienwares or ROGs. Still, I have spent countless hours charting dungeons, trying out combinations in adventures, or just massacring enemies in a shooter. And I was sent out by my parents to get some fresh air every now and then. In high school, we discussed in depth what we have achieved within those games the night before. And for that reason we did not want to go to bed too early, which resulted in exactly the same quarrels with my parents that now I have with my kids. Nothing changed, just my role.

## **Lifework balance**

Life–work balance was always an issue. When I was a small child, someone had to bring me to and from the kindergarden, my parents had to shop (and opening hours were much more rigid

and less friendly to workers wanting to shop than to workers at the shop who wanted to go home to their families), and I was sometimes ill (during the first year of kindergarden that was most of the time) and someone had to care for me. Fast forward a few decades and we had to bring our kids to kindergarden (and to school) and someone had to fetch them. Shopping and other household chores need to be done. And sometimes I had to stay home as one of my children was sick or there was a vacation at school. And while my kids no longer need constant parental supervision (but still accept the services of dad-taxi at 2am), there are other colleagues who have small kids whom they need to take to or fetch from kindergarden or school. Somehow these responsibilities were accommodated, are accommodated and will be accommodated. Academia usually offers more flexible working hours than a factory (or a shop, as was mentioned already). We have lectures and practicals from 8am to 9pm (albeit not so frequently after 6 pm). When my kids were smaller, I could just tell administration to please not put my lectures after 4pm or earlier than 10am. Now I have lectures that last till 6pm.

The younger generation is more open about their needs or problems. Sometimes students tell me that they cannot make the exam now because of some turmoil in their personal life. Fine. They will take the exam when they feel fully prepared for it. The exam would be exactly the same. No slacking because of a broken heart!

### **Let's speak about it!**

There is one area in which the newer generations are different. I think it is more of a zeitgeist than some evolutionary transition in the human existence. We publicly speak about things that were previously considered not things up for discussion. Before there was a mentality of "shut up and do your work". Now work still has to be done, but the reason, the timeframe and the compensation needs to be transparent and negotiated up front.

### **University is about what you need and not about what you like**

There is an expectation that, after high school and having loads of subjects that a student did not like, university is all about the interesting stuff – the stuff they always wanted to learn about. And some students are put off that some subjects are not interesting to them. Not all lectures are the same, and some are more interesting than others. And there were some subjects my younger self was sure were irrelevant for me. And we were generally fed up with university after the stressful exam period (I hope they are all relaxed now). Now, I tell my students that while I was sure I would never ever need anatomy, fast-forward a few decades and as an evolutionary biologist I need to understand some papers on new fossil finds. Those papers are full of references to body parts that my professors wanted me to learn. As I was not paying enough attention then, I need to get my textbooks, a few reviews and a series of wiki pages to understand those papers. It is OK not to understand now why something is important; it is also a perfectly valid expectation that we tell the adults (!) in front of us in the lecture hall why we think the subject they will listen to is important. Their curriculum was debated for a long time. We should tell them why it is one way and not the other.

There is also quite a resentment about all the lexical information they need to know. To be honest they don't really need to know these from the top of their head. It would be perfectly enough if they are aware of a lot of things in biology and know how to loop them up when needed. But when was the last time university students remembered something they were not

required to know for an exam? This seems to be universal across generations. If something was not part of the exam, I did not study it. It is one thing to listen to it during a lecture and another to commit it to memory for the exam. But without being aware of the amazing diversity of life (from molecules, through biochemical pathways, organs, to species, communities and biomes) one cannot begin to think about biology.

### **Why should they ever put up with a boring job?**

Supposedly the new generations are so full of themselves that they do not want to work and reject boring work. They very well should! People always resented meaningless jobs. My Mom resented that she had to be at office for eight hours while she was ready in two. Colleagues taught her how to mime working. We all know the real solution would have been a two-hour workday. We also resent meaningless tasks. How delighted were you the last time administration asked for your list of publications? Something that is available from your homepage, from Scopus, Web of Knowledge (and in Hungary, we have a separate database just for our publications). Still, you need to prepare that list, now in Excel, grouped into 3-year batches (because last week it was a 2-year batch just to make it different). There are lot of meaningless tasks and there are meaningless jobs. We – the not so new generations – should also speak out and firmly say no to meaningless tasks!

### **They know how much life costs, they do not yet know how little some employers want to give them**

A few years ago, youngsters were polled on their salary expectations. The numbers were much higher than the median salary at that time. Older people thought that these youngsters were out of touch with reality. No, they were not. They already knew how much life costs. They know how much they need to pay for rent, for a meal and a cup of espresso at the canteen, or a glass of beer to chill with friends on a Friday night. So when we tell them that as PhD student they will get 140,000 HUF a month (365 Euro), which is a stipend and so it can be less than minimal wage (minimal wage for positions requiring at least secondary education is 197,106 HUF (515 Euro) net), they say no. For years now, we have more PhD positions than candidates. These new generations might be clumsy finding basic scientific information that is available from Wikipedia, but they know they need more than that to live. And they also know by now that they can get more with a master degree and fluency in English.

So, are there really no differences between the generations? There are plenty. The Boomers are old, Gen Xs are middle aged, and the rest are infuriatingly young. But were we different when we were 20? Will they be different when they become 40? I do not think so.

\*Granted, there is music I do not understand. There was such music, there is such music, and there will be such music.

# Facts, figures, and rhetorica

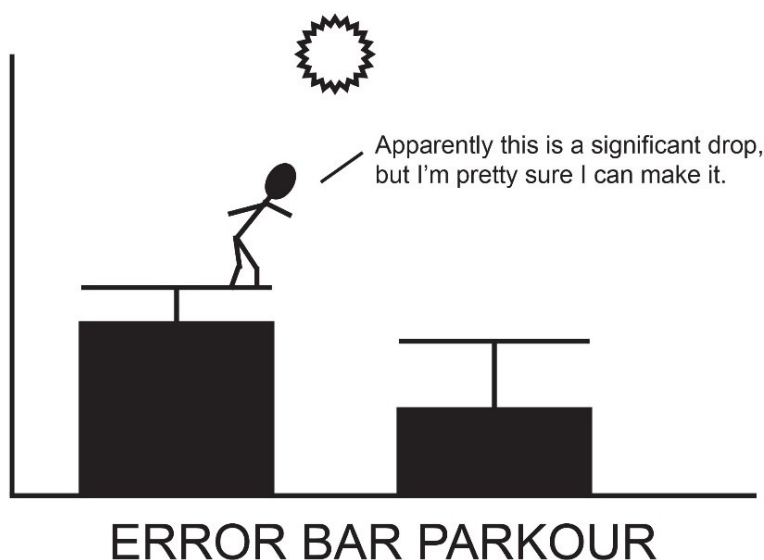
**Brooke Morriswood**

Ex-academia, now in MedComms



## What's the real purpose of scientific figures?

There's a common misconception that they're to show what we did. A picture may be worth a thousand words (and in certain journals with restrictive wordcounts, that's a saving of real value – I name no names!) but if they're purely for reportage of experimental data then that's actually no different from the breathless and overly personal accounts of research one associates with the 19th century. You know the sort – *"Imagine my astonishment the next morning when I crept down the stairs to find that both embryos were happily dividing!"* If figures are only to show what we did then they're no more than a pictorial representation of the writers' opinions, and there'd be no need to display anything except schematics, really.



Rather, figures – visual representations of experimental data – are actually there to allow the reader to independently evaluate the veracity of the authors' observations and interpretations. The authors share their data with the reader and are effectively saying, *"Here! This is what we saw, and this is what we've concluded from the experiments. Would you concur?"*

And in fact, this is one of the beauties of science – the equality of criticism. The view of the reader, any reader, is deemed equally valid if the point they raise is a pertinent one. The peer review process is there to guard against sloppy work and errors of fact, but the real court of opinion starts its proceedings once the article is published.

This is also the reason why "publication quality" is such an important – though highly subjective – descriptor of data. Good quality, publication quality, data are experimental results that are sufficiently unambiguous that only one or at most a limited number of interpretations are possible. Low quality data, low quality facts, are of a type that many interpretations are possible in addition to that put forward by the authors.

As such, figures – and by extension the entire scientific manuscript – are in fact an exercise in rhetoric. They are not there to show what facts the authors have discovered, they are there to persuade the reader(s) that the authors' conclusions are robust. Good figures will (gently) compel you to agree with the authors, or at least concur that their interpretation is a plausible (though perhaps not the exclusive) one. Bad figures are ones that try to con the reader into agreeing with the authors by concealing their shortcomings\*.

No tool is more widely employed in bad figures than statistics. Statistics have truly become the scientific sophist's weapon of choice, and we would all do well to remember Rutherford's maxim that *"If your experiment requires statistics, you ought to have done a better experiment"*. In the same way that a voiceover in movies is usually a giveaway that the makers are not confident in the clarity of their narrative, statistics are all too often an indicator that the authors do not have a strong phenotype. P-values are a fig leaf that's hung on embarrassing charts as if to say, *"The effect doesn't look like much, but the p-value is good, so it must be significant!"*

A big tip of the hat at this point goes to David Vaux, who has waged a dogged and patient campaign to get biologists in particular to see the errors in their error bars ([1,2](#)). The 2016 [statement](#) by the American Statistical Association on what p-values can and can't tell us is another step in the right direction, while the [decision](#) by the journal Basic And Applied Social Psychology to ban p-values from its articles outright should also serve as a wake-up call.

We shouldn't forget, too, that the hardest person to convince must always be ourselves. The person best equipped to evaluate data is the one who did the experiment. Once we've convinced ourselves, we can then see about convincing others.

\*If you don't understand a figure, don't blame yourself. It doesn't make you stupid – it means it's a bad figure.

Originally posted on Total Internal Reflection - [here](#).

Total Internal Reflection  
*Science seen from within*



# A FEBS felhívása a Milánói Deklaráció támogatására egyének és szervezetek számára

A Milánói Deklarációt öt vezető tudományos szervezet fogalmazta meg 2024-ben Milánóban, hogy felhívja a világ vezetőinek és döntéshozóinak figyelmét a tudomány és a kutatás kulcsfontosságú szerepére a globális kihívások megoldásában. A Nyilatkozatot már 55 Nobel-díjas tudós, közel 2000 magánszemély és több mint 80 szervezet írta alá. A részletek és az aláírás lehetősége az alábbi linken található: <https://www.febs.org/milan-declaration-science/>

## A Milánói Nyilatkozat fő céljai:

- A tudomány és kutatás támogatása, valamint a társadalom tudományba vetett bizalmának újjáépítése és növelése.
- A tudományos kutatásokba, a kutatói mobilitásba és sokszínűségbe történő befektetések jelentős növelése.
- A tudományterületek közötti párbeszéd elősegítése, új kutatási területek kialakulásának ösztönzése, és a fiatalok tudomány iránti érdeklődésének felkeltése.
- A tudományos kutatás szabadságának, a nemzetközi együttműködésnek, az átláthatóságnak, az egyenlőségnek és a tudományos kommunikációnak a széles körű támogatása.

A Milánói Nyilatkozatot az alábbi tudományos szervezetek fogalmazták meg:

- **FEBS** – Federation of European Biochemical Societies
- **IUBMB** – International Union of Biochemistry and Molecular Biology
- **AOBMB** – Federation of Asian and Oceanian Biochemists and Molecular Biologists
- **FASBMB** – Federation of African Societies of Biochemistry and Molecular Biology
- **PABMB** – Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology





- ✓ Early Registration
- ✓ Abstract Submission
- ✓ Bursary Application  
**ends in**



# Last 7 Days!



**13 March 2025**

**\*The deadline for early registration and abstract submission will not be extended.**



[2025.febscongress.org](https://2025.febscongress.org)

## FEBS hírek

### 49. FEBS Kongresszus (Isztambul, 2025. július 5–9.):

1. Az isztambuli FEBS kongresszusra az alábbi határidőkkel lehet regisztrálni:

Március 13.: early bird; Május 30.: regular; Június 27.: Late

Regisztráció: <https://2025.febscongress.org/>

2. PhD-hallgatók és fiatal kutatók utazási ösztöndíjra pályázhatnak, amely legfeljebb 825 euró összegben fedezi a részvételi díjat és a szállásköltséget: <https://2025.febscongress.org/febs-bursaries>

3. Javasolt hotelek listája: <https://2025.febscongress.org/febs2025-preferred-hotels>

### FEBS Advanced Courses:

1. Regisztrációs és pályázati lehetőségek a 2025-ben megrendezésre kerülő FEBS továbbképző kurzusokra: <https://www.febs.org/listings/advanced-courses/>

2. Pályázati lehetőség a 2026-ra tervezett FEBS-támogatott továbbképző kurzusok (Advanced Courses) szervezésének támogatására: <https://www.febs.org/news/call-for-2026-febs-advanced-courses-proposals/>

### FEBS Ösztöndíjak és Kutatási Támogatások:

**1. Summer Fellowships** (beadási határidő: 2025. április 1.): MSc és PhD hallgatók számára 6-12 hetes külföldi laboratóriumi nyári kutatómunkájuk (FEBS-tagállamban) támogatására 3.500 euró pályázható. Pályázati információk: [https://fellowships.febs.org/summer\\_2025](https://fellowships.febs.org/summer_2025)

**2. Booster Fund** (pályázható március 1. és május 2. között): Fiatal kutatók önálló kutatásának támogatása (1 évre, 25.000 euró): <https://www.febs.org/funding/booster-fund/>

**3. Excellence Award** (pályázható várhatóan május 1. és július 1. között): Fiatal, nemzetközileg elismert kutatócsoportvezetők kutatásainak támogatása (3 évre, 100.000 euró): <https://www.febs.org/funding/excellence-awards/>

**4. Egyéb támogatások:** <https://www.febs.org/funding/>

# Kreatív Biokémia

## Beharangozó

ÚJ ROVAT INDUL A BIOKÉMÁBAN:

# „Kreatív Biokémia”

*címmel*

A Biokémia folyóirat szerkesztősége örömmel fogadja közlésre az olvasók által készített, a kutatás és a felsőoktatás világával kapcsolatos karikatúrákat, rajzokat, grafikákat, nem sértő mémeket illetve az olvasóink által készített tudományos ihletettséggű művészeti alkotásokat, fényképeket.

### **Figyelem: KREATÍV ELMÉK ELŐNYBEN!**

Aki szeretné ilyen jellegű anyaggal gazdagítani a folyóirat megjelenését, küldje el kép formátumban a rovatvezetőnek, Virág Lászlónak e-mailben:

[lvirag@med.unideb.hu](mailto:lvirag@med.unideb.hu)



<https://2025.hunlifesci.hu/>



# Molekuláris Élettudományi Konferencia 2025



2025. március 28-30.  
Eger, Hotel Eger & Park



**MBKE**



**MAGE**



# Time-resolved spectroscopy meets time-resolved crystallography:

the future of dynamic photobiology

FEBS Workshop

6-8 May 2025 | Pécs, Hungary

ABSTRACT SUBMISSION &  
TRAVEL GRANT APPLICATION  
DEADLINE

31 January 2025

[dynamicphotobiology2025.febsevents.org](https://dynamicphotobiology2025.febsevents.org)

## SPEAKERS

**Magnus Andersson**

Umeå University  
Umeå Sweden

**Prokopis Andrikopoulos**

Charles University  
Vestec, Czechia

**Kenichi Ataka**

Freie Universität,  
Berlin, Germany

**Pascale Changenet-Barret**

École Polytechnique  
Palaiseau, France

**Elke De Zitter**

Institut de Biologie Structurale  
Grenoble, France

**Tatiana Domratcheva**

Lomonosov Moscow State  
University, Moscow, Russia

**Agathe Espagne**

École Normale Supérieure  
Paris, France

**Petra Fromme**

Center for Applied Structural  
Discovery-Biodesign Institute  
Tempe, USA

**Derren Heyes**

Manchester Institute of  
Biotechnology  
Manchester, UK

**Karsten Heyne**

Freie Universität  
Berlin, Germany

**Jochen Hub**

Universität des Saarlandes  
Saarbücken, Germany

**Petar Lambrev**

HUN-REN Biological Research  
Centre  
Szeged, Hungary

**Thomas Lane**

Center for Free-Electron Laser  
Science  
Hamburg, Germany

**Nicoletta Liguori**

The Institute of Photonic  
Sciences  
Barcelona, Spain

**Ulrich Lorenz**

École Polytechnique Fédérale de  
Lausanne  
Lausanne, Switzerland

**Przemyslaw Nogly**

Dioscuri Center for Structural  
Dynamics of Receptors  
Krakow, Poland

**Cristiano Viappiani**

Università di Parma  
Parma, Italy

**Junko Yano**

Lawrence Berkeley  
National Lab  
Berkeley, USA

**Briony Yorke**

University of Leeds  
Leeds, UK

## ORGANIZERS

**Sofia Jaho**

Diamond Light Source  
Harwell Science and  
Innovation Campus  
UK

**Sofia M. Kapetanaki**

University of Pécs  
Department of Biophysics  
Pécs, Hungary

**András Lukács**

University of Pécs  
Department of Biophysics  
Pécs, Hungary

**Giorgio Schirò**

Institut de Biologie Structurale  
Grenoble, France

FEBS Youth Travel Fund (YTF) grants are available to help PhD students and postdocs participate in this event



University of Pécs Medical School  
Szigeti str 12, Pécs, Hungary

Email:  
[info@dynamicphotobiology2025.febsevents.org](mailto:info@dynamicphotobiology2025.febsevents.org)



<https://www.remedicon.hu/344/54-membran-transzport-konferencia>

KÖSZÖNTŐ,

## 54. Membrán-Transzport Konferencia

soros szervezőjeként nagy tisztelettel és örömmel hívom fel a figyelmet a **2025. május 20-23.** között megrendezésre kerülő rendezvényre, amely a hagyományokhoz híven Sümegen, a Hotel Kapitányban kerül megrendezésre.

A tudományos élet szereplői által ismert és elismert multidiszciplináris jellegű Konferencia programja szerteágazó területeket ölel fel. A szekciók szervezése során kiemelt fontosságú volt a Konferencia hagyományainak megőrzése mellett a sejtmembránokkal foglalkozó területek dinamikusán változó témáinak, a jelen évtized "forrópontjainak" megjelenítése is. Így a membránokkal, jelátviteli folyamatokkal kapcsolatos szerteágazó területek mellett a membránok meghatározó biológiai és élettani folyamatairól, azok szerepéről az inter- és intracelluláris kommunikációban is szó lesz. A szekciók előadásai ismereteket nyújtanak továbbá az idegi jelátvitel, a lipid homeosztázis, a membrán újrarendeződés, a mechanoérzékelés és –transzdukció, az ioncsatornák és pumpák szerepéről fiziológiai és patológiai folyamatokban. Elhangzanak előadások a transzlációs medicina membránbiológiai vonatkozásairól és új technikák alkalmazási lehetőségeiről a molekuláris membránbiológiában. A tudományos szekciók szervezői a meghívott előadások mellett a beadott absztraktok alapján válogatott előadásokkal színesítik a programot. A szakmai program részeként kerekasztal-beszélgetést is szervezünk különböző tudományterületek képviselőinek részvételével.

A Konferencia szervezőinek küldetése a fiatal kutatók oktatása, képzése is. Emiatt a két délutáni poszterszekción bemutatott prezentációk alapján a legkiemelkedőbb fiatal kutatók lehetőséget kapnak arra, hogy rövid tudományos előadások formájában ismertessék eredményeiket a "Fiatalok Fóruma" szekció keretein belül.

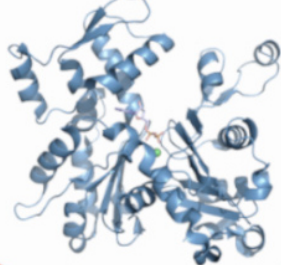
Várjuk a **biofizika, biokémia, molekuláris biológia, genetika, élettan, onkológia, immunológia, gyógyszer-tudomány, orvos- és agrártudomány képviselőit, akiknek tágabb kutatási területe kapcsolódik a membránokhoz, a transzport- és jelátviteli folyamatokhoz.** A szervezés során hangsúlyt fektetünk nemcsak a színvonalas tudományos, de a társasági programokra is. A sümegi konferenciák szellemiségét követve fontosnak tartjuk, hogy a hat szekció mellett megfelelő idő álljon rendelkezésre a tudományos diskusziókhoz, kötetlen beszélgetésekre, a poszterek megtekintésére, de az aktív pihenésre is.

Felhívjuk a fiatalok figyelmét a **Romhányi György Alapítvány Pályázati lehetőségeire**, mely absztrakt beadás esetén a részvételi díjat támogatja, valamint a **Kovács Tibor Díj pályázatra** is.

A konferencia sikerét a Hotel Kapitány helyszíne mellett a Remedicon Kft. munkatársainak kiváló szervező munkája, valamint a kiállítók és szponzorok nagylelkű támogatása biztosítja.

A szervezőbizottság nevében:

**Dr. Lontay Beáta**  
Debreceni Egyetem ÁOK  
Orvosi Vegytani Intézet



# ACTIN ASSEMBLY FOR INTRACELLULAR FUNCTION

**21-24 May 2025**  
**Szeged, HUNGARY**

<https://aaif2025-szeged.hu/>

**HUN  
REN**



**CONTACT US**





Idén júliusban ismét megrendezésre kerül az Interdisciplinary

## Signaling Workshop Visegrádon!

<http://signalingworkshop.org/>

A korábbi három workshop sikerére építkezve az a célunk, hogy egy interdiszciplináris fórumot teremtsünk, ahol az egyes területek meghatározó szakértői osztják meg tapasztalataikat, kihívásaikat és megoldási javaslatukat fiatal kutatókkal (PhD-hallgatókkal és posztdoktorokkal). Ezek az előadók ritkán szerepelnek együtt egyazon rendezvényen, így ez a workshop kiemelten hasznos lehet sok fiatal kutató számára. A találkozót emellett csoportos projektek révén is ösztönzi az innovatív gondolkodást és a jövőbeni kollaborációt.

A tudományos programot kulturális és szabadidős tevékenységek (pl. lovagi torna, katamarán hajókirándulás) egészítik ki, hogy a résztvevők kötetlen környezetben ismerkedhessenek meg egymással és csoportokban vitathassanak meg fontos tudományos kérdéseket.

Az idei workshop központi témái a gyulladással kapcsolatos betegségek és a hozzájuk tartozó szervrendszerek lesznek (pl. rák, IBD, neurodegeneratív betegségek), illetve ezek klinikai, preklinikai vagy számítási módszerekkel történő vizsgálata. Terítékre kerül a rendszerbiológia, a betegségmodellek (beleértve az organoid-alapú megközelítéseket), a mikrobiom- és gazda-mikroba kapcsolatok elemzése, hálózati modellezés, multi-omikai módszerek és a precíziós orvoslás is. Világszínvonalú tudományos szakemberek jelezték vissza részvételüket előadóként (névsorukat lásd lent).

A nyugodt helyszín, az interaktív délutáni és esti programok, valamint a lelkes szakértők együttese remek lehetőséget nyújt arra, hogy a kollaboráció, a hálózatépítés és az interdiszciplináris tanulás mellett a résztvevők közösen vizsgálják a jelátvitel és a komplex betegségek fontos kérdéseit.

Ahogy legutóbb is, most is többféle programot kínálunk azoknak a résztvevőknek, akik gyerekeikkel, családjajaikkal érkeznek.

További információk a workshop honlapján:

<http://signalingworkshop.org/>

**A szervezők 15%-os kedvezményt biztosítanak MBKE tagoknak.**

Bármilyen kérdéssel kapcsolatban fordulj bizalommal

Korcsmáros Tamáshoz (T.Korcsmaros@imperial.ac.uk).

Absztraktbeküldési határidő: 2025. március 31.

Korai regisztráció határideje: 2025. március 15.

Részletek: <https://2025.signalingworkshop.org/program.html>

### Előadók:

- \* **Albert-Laszlo Barabasi** (Harvard Medical School, USA): systems medicine, network science
- \* **Vivian Li** (The Crick Institute, UK): bowel cancer development, microbiome, pre-clinical models, organoids
- \* **Nick Powell** (Imperial College London, UK): IBD and checkpoint-inhibitor induced colitis transcriptomics mapping, therapy response modelling in preclinical and computational models
- \* **Serre-Yu Wong** (Mount Sinai, USA): host-microbe interactions, perianal fistulizing Crohn's disease
- \* **Sun-Ho Lee** (Sinai Health Toronto, CAN): microbiome, inflammatory bowel disease, GEM cohort study
- \* **Kathryn Hamilton** (University of Pennsylvania, USA): single-cell mapping of gastrointestinal diseases, RNA binding proteins, inflammatory bowel disease
- \* **Joana F Neves** (King's College London, UK): mucosal organoid models, epithelial-neuronal-immune interaction in inflammatory diseases
- \* **Falk Hildebrand** (Quadram Institute, UK): IBD microbiome, Ultra-resolution metagenomics, spatial mapping of the microbiome in IBD patients
- \* **Hyun Je Kim** (KAIST, KR): single-cell atlases of autoimmune disorders, multi-omics
- \* **Eduardo Villablanca** (Karolinska Institutet, SE): mucosal immunology, spatial mapping of inflammatory bowel disease, connection between IBD and CRC
- \* **Patrick Varga-Weisz** (University of Essex, UK): epigenomics, microbiome, gene regulation
- \* **Federica Ungaro** (San Rafael Hospital, IT): virome, drug response, cytokine signaling, fibrosis

**Tamás Korcsmaros**

Senior Lecturer in Intestinal Epithelial Biology

Lead of the NIHR Imperial BRC Organoid Facility

T.Korcsmaros@imperial.ac.uk

<http://KorcsmarosLab.org>

Department of Metabolism, Digestion and Reproduction

Hammersmith Campus

London, UK



Dear colleagues, dear friends  
We are pleased to inform you that the

## FEBS3+ Meeting BELGRADE

will be held in Hotel M, in **Belgrade, Serbia**, from **24<sup>th</sup> to 27<sup>th</sup> September 2025**.

On behalf of the Organizing Committee of **FEBS3+ Meeting BELGRADE**, the **Serbian Biochemical Society (SBS)**, and also on behalf of the **Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology (HDBMB)**, the **Hungarian Biochemical Society (HBS)**, the **Slovenian Biochemical Society (SBD)** and the **Association of Biochemists and Molecular Biologists in Bosnia and Herzegovina (ABMBBIH)**, we are pleased to invite you to participate in the upcoming scientific congress.

The congress ([www.febs3belgrade.com](http://www.febs3belgrade.com)) is planned as a regional gathering of scientists from five participating countries that work in the fields of biochemistry and molecular biology. **FEBS3+ Meeting Belgrade** is planned as a broad conference with a diversity of session topics to cover different aspects of life sciences studied in participating countries.

A Scientific Committee, with representatives from all five societies, defines the session topics:

1. Design and structure of proteins
2. Molecular basis of disease and therapy
3. Novel bioactive compounds: identification and development
4. Systems biology and bioinformatics
5. RNA biology
6. Regulation of gene expression
7. Functional food and health
8. Biochemistry and bioengineering for sustainable industry – interdisciplinary approach
9. Cellular processes and signaling
10. Molecular evolution

Hundreds of **participants** are expected to join the Congress, be introduced to innovative concepts and exchange experiences, refresh existing and establish new contacts with colleagues, in the pleasant atmosphere of Belgrade in September 2025.

We will keep you informed on all relevant details regarding your participation, including **the Preliminary program, registration, and abstract submission**, which will be available in February, through the **FEBS3+ Meeting BELGRADE** website [www.febs3belgrade.com](http://www.febs3belgrade.com) which will be launched in a few days, as well as regular promotional campaigns and our social networks.

We look forward to your participation and hope to see you in Belgrade in September 2025.

Sincerely,

Organizing Committee of the FEBS3+ Meeting Belgrade



# 19th Central and Eastern European Proteomic Conference

2025. október 14-17, Budapest

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont

## Meghívott előadók:

Isabelle Fournier (FR)

Connie Jimenez (NL)

György Markó-Varga (SE)

Christoph Messner (CH)

Péter Nagy (HU)

Stephen R. Pennington (IE)

Laszlo Prokai (US)

Roman Zubarev (SE)

Piotr Widłak (PL)

Kutatóknak a részvétel ingyenes, de regisztrációhoz kötött!

Regisztráció határideje: 2025. június 1

<http://proteomics.ttk.hu/19ceepc>

## A Fórum rovat felhívása

**Gallyas Ferenc**  
rovatvezető

A BIOKÉMIA folyóirat Fórum rovata közérdekű bejelentéseket, kutatói véleményeket, esetleges tudományos diskussziókat ad közre. Bízgatjuk ezért az MBKE tagokat és a BIOKÉMIA olvasóit, hogy éljenek a Fórum rovat lehetőségeivel! **Az írás bármilyen, a tudományos közéletet érintő vagy foglalkoztató témát érinthet, különösebb megkötések nélkül.**

*Szerkesztőségünk bátorít mindenkit, hogy véleményét, vagy témafelvető gondolatát küldje el Gallyas Ferenc rovatvezetőnek a [ferenc.gallyas@aok.pte.hu](mailto:ferenc.gallyas@aok.pte.hu) e-mail címre.*

**Tudományos cikkek**  
**Áttekintő összefoglalók**  
**PhD disszertációk bemutatása**  
**Kitüntetések, elismerések**  
**Munkacsoportok bemutatása**  
**Konferencia felhívások és beszámolók**  
**FEBS hírek**  
**Aktualitások**

**Szerkesztőségünk folyamatosan várja  
az ÚJ HÍREKET a BIOKÉMIA VILÁGÁBÓL!**



**Elérhetőségünk:**  
**[biokemia.szerkesztoseg@ttk.hu](mailto:biokemia.szerkesztoseg@ttk.hu)**