

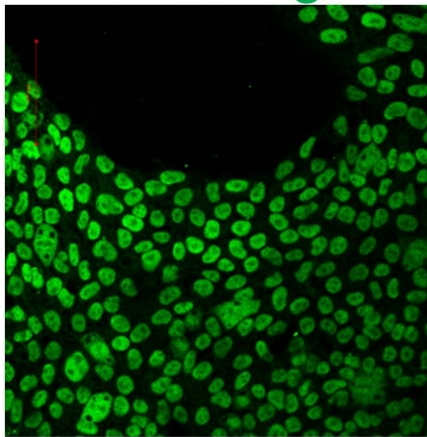
BIOKÉMIA

2025. DECEMBER

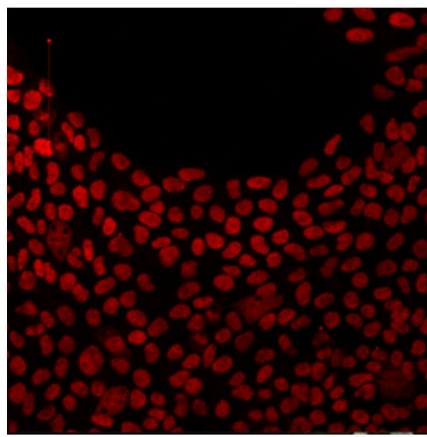
XLIX. ÉVFOLYAM 4. SZÁM

A MAGYAR BIOKÉMIAI EGYESÜLET INTERNETES FOLYÓIRATA

Nanog

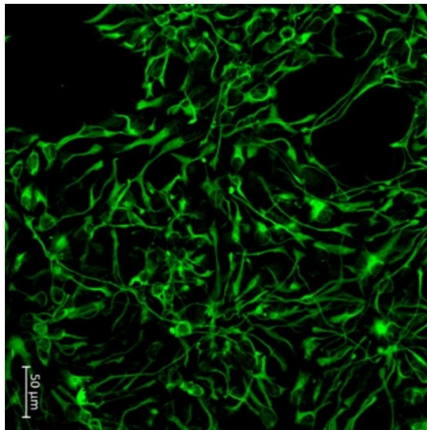


Oct4

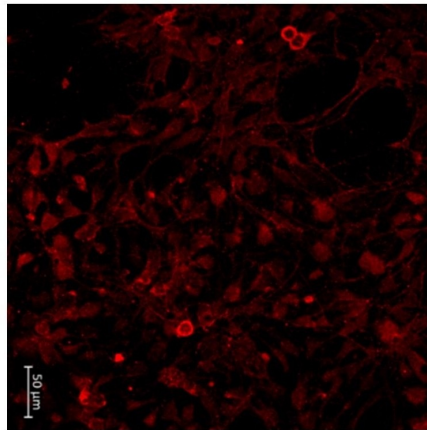


hiPSC

Nestin

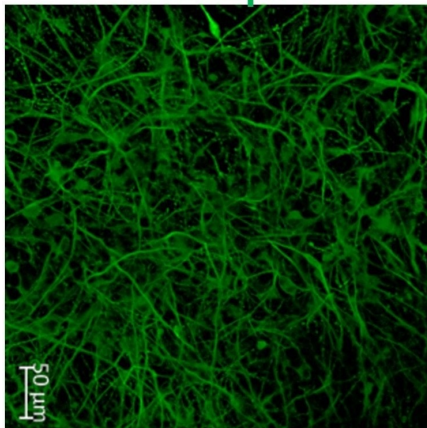


Sox2

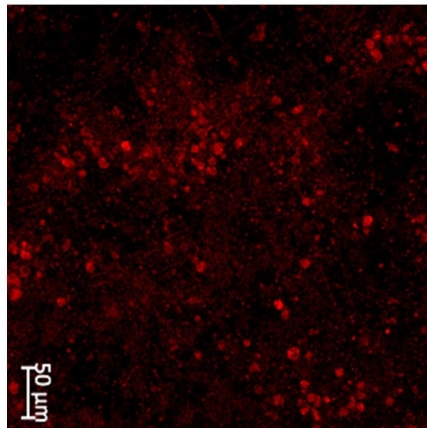


NPC

Map2



Prox1



DGCC

BIOKÉMIA

a Magyar Biokémiai Egyesület
internetes folyóirata

XLIX. évfolyam 3. szám
2025. szeptember

Szerkesztőbizottság:

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

Örökös tiszteletbeli főszerkesztő:
Szűcs Mária

Főszerkesztő:

Alexa Anita (anita.alex@gmail.com)

Szerkesztőségi titkár:

Vas Virág

Rovatvezetők:

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

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 (elsőbbbséget élveznek a FEBS és a MBKE által szervezett események), konferencia beszámolók, hazai díjak és elismerések nyertesinek 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. A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült.

Címlapkép:

Emberi indukált pluripotens őssejtek (hiPSC-k) idegi differenciációjának követése immuncitokémiai festésekkel. A differenciációs protokoll alapján pluripotens állapotból hippokampális neurális progenitor sejteket (NPC-k) és hippokampális gyrus dentatus szemcsesejt (DGGC) jellegű neuronokat hoztunk létre. A különböző differenciációs stádiumokban az adott állapotra jellemző molekuláris markerekkel karakterizáltuk a sejteket: pluripotens őssejteket Nanog és Oct4, a neuronális progenitor sejteket Nestin és Sox2, míg az érett szemcsesejteket Map2 és Prox1 festéssel jelöltük meg (Tordai Csongor, 45. o.).

Tartalomjegyzék

Szerkesztői rovat

- 3 Főszerkesztői levél
- 4 Változások a szerkesztőbizottságban

Aktualitások

- 5 Nyitray László: Beszámoló a MBKE tisztújító közgyűléséről
- 7 Az új MBKE tisztségviselők bemutatkozása

Akikre büszkék vagyunk

- 15 Sarkadi Balázs: Utazások a membrántranszporterek és az őssejtek világában

Hazai tudományos műhelyek

- 27 Bélteky Péter: Bemutatkozik a szegedi krio-elektronmikroszkópia (cryo-EM) műszerközpont

Kreatív Biokémia rovat

- 32 Juhász Tünde: Állati görbék

PhD disszertációk bemutatása

- 33 Felhívás
- 34 Bíró János Barnabás: Genetikai eszköztár bővítése a szimbiotikus nitrogénkötés működéséhez szükséges növényi gének vizsgálatához
- 42 Tordai Csongor: De novo mutációk szerepének feltárása szkizofrénia kialakulásában indukált pluripotens őssejtmodellek alkalmazásával

Áttekintő közlemények

- 52 Bácsi Attila: Regulátor T sejtek – az immunológiai békefenntartók

Kreatív Sejtbiológia rovat

- 57 Bélai Emese Krisztina és Pirty Melinda: Bemutatkozik a neurális hálózat szferoid kultúrában

Konferencia beszámolók

- 58 Korcsmáros Tamás: Jelátviteli workshop lovagi tornával Visegrádon
- 62 László Loretta, Nagy-Kanta Eszter és Deák Péter: Beszámoló a 2025 szeptemberi belgrádi FEBS3+ meetingről

Junior szekció

- 65 László Loretta, Nagy-Kanta Eszter és Réthy-Nagy Zsuzsanna: Az MBKE Junior szekció 2025-ös őszi féléves tevékenysége

Fórum rovat

- 69 Fórum rovat felhívása
- 70 Sánta Anna: Az AlphaFold: reflektorfény és a sötét oldal

Felhívások

- 76 Friss rovatunk a „Kreatív Biokémia” felhívása
- 77 PhD pozíciók az ELTE-n
- 78 9. Neuroscience Doktori Konferencia az ELTE-n
- 79 Európai Rákkutatási Társaság Éves Kongresszusa Budapesten (EARC 2026)
- 80 50. FEBS Kongresszus Hollandiában
- 81 FEBS Young Scientists’ Forum (YSF)

Tisztelt Olvasóink, kedves Kollégák!

Szeretettel köszöntöm Önöket, köszöntelek Benneteket a Biokémia folyóirat XLIX. évfolyama 4. számának olvasása alkalmából. Jövőre az évfolyamot jelölő római szám egyszámjegyre redukálódik, hiszen ötvenedik évfolyamát indítjuk el a lapnak 2026 márciusában. Nagy idő ez: sok minden történt azóta a tudományban, a hazai biokémia oktatásában és kutatásában, továbbá az MBKE és folyóiratának életében is. Szeretnénk erre méltóképpen emlékezni, ezért kérek minden olvasót, hogy tegyen javaslatot a jubileum megünneplésére a biokemia.szerkesztoseg@ttk.hu e-mail-címen.

Az egyesület életében a közelmúlt legfontosabb eseménye az új tisztségviselők megválasztása volt, amiről **Nyitrai László**, a jelölőbizottság elnöke röviden be is számol. Ezt követően fogadják szeretettel az új tisztségviselők bemutatkozását.

Ismét készültünk az **MTA 200** programhoz kapcsolódó írásokkal: a magyar tudományt meghatározó kiváló tudós, **Sarkadi Balázs** maga mesél kutatásairól, **Bácsi Attila** debreceni immunológus professzor pedig az idei orvosi Nobel-díjat kapott kutatások lényegét foglalja össze.

A **Hazai tudományos műhelyek** rovatban bemutatkozik a jövőre induló szegedi krio-elektronmikroszkópos (cryo-EM) műszerközpont.

Ismét két kiemelkedő **PhD-összefoglalót** olvashatnak Bíró János Barnabás és Tordai Csongor jóvoltából. **Kreatív Biokémia** rovatunkban megcsodálhatják Juhász Tünde „állati” görbéit, majd gyönyörködhetnek egy neuronális sferoid kultúra színes hálózatában a **Kreatív Sejtbiológia** rovatban.

Figyelmükbe ajánljuk Korcsmáros Tamás beszámolóját a visegrádi jelátviteli workshopról, valamint a fiatal biokémikusok tudósítását a szeptemberi belgrádi FEBS3+ meetingről. Emellett a **Junior szekció** képviselői ismét hírt adnak az őszi féléves tevékenységükről.

Örömmel szolgál, hogy a **Fórum** rovatba is érkezett cikk, nem is akármilyen: olvassák el Sánta Anna írását az AlphaFold erényeiről és gyengeségeiről! Nézzék meg **Felhívásainkat** is, hiszen PhD-pozíciót, idegtudományi doktori konferenciát, az EACR nemzetközi rákkutatási konferenciáját és az 50. FEBS Kongresszust is figyelmükbe ajánljuk.

Jó olvasást kívánok a Biokémia új számához, valamint

békés, szeretetteljes karácsonyi ünnepeket és boldog, sikeres új évet a szerkesztőség nevében!



Változások a szerkesztőbizottságban

Szondy Zsuzsa szerkesztőbizottsági tagságától búcsúztunk idén, aki mindig lelkes és hasznos tagja volt a Biokémia folyóirat szerkesztőségének. Nagyon köszönjük az újságnál végzett több éves munkáját!

A szerkesztőbizottság új tagját, **Fehér Tamást** köszöntjük és jó munkát kívánunk!



Fehér Tamás 2000-ben végzett a Debreceni Egyetemen általános orvosként. Tudományos diákkörösként a biofizika és sejtbiológia területén ismerkedett meg a kutatással, Matkó János vezetésével. PhD-hallgatóként az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában (SZBK) folytatta tanulmányait, ahol Pósfai György kutatócsoportjában az *Escherichia coli* genom redukcója során megváltozó mutációs folyamatokat vizsgálta. A PhD-fokozat 2007-es megszerzése után az első posztdoktori témáját is ugyan ebben a csoportban művelte, a mobilis genetikai elemek bakteriális evolúcióban betöltött szerepének feltérképezésével. Második posztdoktori munkáját Franciaországban, az Évry-i egyetemen végezte, ahol heterológ bioszintetikus útvonalak bakteriális kifejezésének gépi tanulással történő tervezésébe és laboratóriumi megvalósításába kapcsolódott be, Jean-Loup Faulon vezetésével. Hazatérése után 2015-ben saját kutatócsoportot alapított az SZBK-ban, melynek fő profilja a szintetikus biológia, a baktériumok és bakteriofágok biotechnológiai célú genom-szerkesztése, a genomi stabilitás és annak modulációja, genommanipulációs módszerek fejlesztése, és új antimikrobiális terápiák keresése.

MBKE tisztújítás 2025

Nyitray László
a Jelölő Bizottság elnöke

A 63 éves Magyar Biokémiai Egyesület november 26-án tisztújító közgyűlést tartott. Egyesületünk alapszabályának megfelelően 5 évenként kerül sor a vezetőség teljes körű megújítására. Ennek előkészítésére az MBKE Intézőbizottsága a 2025. június 24-én megtartott ülésén a választás előkészítésére Jelölő Bizottságot kért fel, azzal a feladattal, hogy a közgyűlésen minden posztra legalább egy alkalmas személyt javasoljon. A bizottság elnöke, e sorok írója (Nyitray László) Budapesten, a három tag pedig a hazai biokémiai és molekuláris biológiai kutatások vidéki „fellegváraiban” – Kiricsi Mónika Szegeden, Dombrádi Viktor Debrecenben, Rauch Tibor Pécsen – gyűjtötte össze a jelöléseket, és beszélt a potenciális jelöltekkel. Egyesületünk bármely tagja nevezhetett meg jelölteket; s örömmel írhatom, hogy sokan éltek is ezzel a jogukkal, igen sok név elhangzott, akiket tagtársaink alkalmasnak gondoltak valamelyik poszt betöltésére.

A végső jelöltlista összeállításánál a Bizottság figyelembe vette, hogy

- (i) egy adott posztot ugyanaz a személy összesen 2 cikluson keresztül töltheti be;
- (ii) a Jelölő Bizottság tagjai összeférhetetlenség miatt semmilyen posztra sem választhatók meg;
- (iii) a listán szereplők megerősítették, hogy megválasztásuk esetén vállalják a feladatot.

A demokrácia játékszabályai lehetővé teszik a többes jelölést, s ezúttal négy olyan poszt is volt a jelölőlistán, ahol végül több név került a szavazólapokra. Külön kiemelandó az alelnökjelöltek listája, ahol hat név közül kellett a tagságnak a szabályzatunkban rögzített három alelnököt megválasztani.

A legutóbbi tisztújító közgyűlésre 2020-ban online módon került sor, a mostani eseményt viszont a leköszönő Buday László elnök úr javaslatára Budapesten, a HUN-REN Természettudományi Kutatóközpontban tartottuk meg. Közgyűlésünk jelentős érdeklődés mellett zajlott: mindhárom egyetemi központból is szép számmal érkeztek kollégák. A jelenléti ívek alapján összesen 67 fő vett részt az eseményen, és mindannyian éltek szavazati jogukkal.

A közgyűlés előtt dönteni kellett a szavazás pontos menetéről. Jogi segítséget is igénybe véve az egy lapsos, egyfordulós, többségi szavazási mellett döntöttünk. Ebben a lebonyolítási rendszerben például a hatjelöltes alelnökjelölti listáról, mivel három alelnöki pozíció van, a három legtöbb szavazatot kapott jelölt nyer. Kizárólag szavazategyenlőség esetén kellett volna második fordulót elrendelni, de erre nem került sor.

A közgyűlés az alapszabályban előírt forgatókönyv szerint zajlott. A napirend elfogadása, majd a jegyzőkönyvvezető és a szavazatszámoló bizottság megválasztása után (az utóbbi elnöke Virág László, az egyik leköszönő egyesületi alelnök volt) Lontay Bea főtitkár asszony tartott beszámolót az MBKE elmúlt öt évének igen sikeres tevékenységéről. A felügyelőbizottság rövid beszámolója után – melyben az egyesület gazdálkodása csak pozitív értékelést kapott – került sor a tisztújításra. A jelölőbizottság elnöke egyenként bemutatta a jelölteket, majd következett

a szavazás. A viszonylag hosszú szavazólapok manuális értékelése eltartott egy ideig, de a résztvevők türelemmel kivárták, amíg képtelenen felszállt a fehér füst, s az elnök kihirdette a szavazás eredményét, egyúttal gratulált a megválasztottaknak.

Elsőnek az egyesület történetében a 8. **elnök** neve hangzott el: **Kovács Mihály**, az ELTE tanszékvezető egyetemi tanárát, a korábbi egyik alelnökünket választotta meg a tagság 5 évre az MBKE elnöki tisztségére. A hatjelöltes **alelnöki** listáról a három legtöbb szavazatot kapott jelölt: **Csősz Éva**, **Gallyas Ferenc** és **Keserű György** alelnökök lettek. A **főtitkár** személyében nem történt változás az előző időszakban kitűnő munkát végző **Lontay Beának** újabb 5 évre bizalmat szavazott a tagság. Az új **főtitkárhelyettes** az SZBK-ból **Lipinszky Zoltán**. Az ország négy fő régiójának egyesületi ügyeiben eljáró tartó négy **területi képviselő** közül a debreceni és a szegedi képviselő személyében történt változás. A megválasztott kollégáink: **Csikász-Nagy Attila** (Budapest), **Tar Krisztina** (Debrecen), **Bognár Zita** (Pécs) és **Török Zsolt** (Szeged). Az **Etikai Bizottsága elnökének Vértessy Beát**, a bizottság két tagjának pedig **Geiszt Miklóst** és **Tózsér Józsefet** választotta meg a tagság. Végül az **Intézőbizottság elnöke Erdődi Ferenc**, míg két tagja **Keller-Pintér Anikó** és **Szűts Dávid** lettek. A megválasztott tisztségviselők között véleményem szerint megfelelő az arány a sokat tapasztalt, az egyesület érdekében korábban is sokat dolgozó kollégák, és a fiatal generáció képviselői között, akik most először vállalnak társadalmi munkát az egyesület vezetésében.

A választási eredmények kihirdetése után az egyesület új elnöke megköszönte a bizalmat, és ígéretet tett a jelenlevőknek, hogy igyekszik az elődei sikeres munkáját folytatni, és megfelelni a jelen kihívásainak is. Egy-egy kis ajándék formájában megköszönte a leköszönő elnök és a további leköszönő vezetőségi tagok munkáját, végül külön ajándékot nyújtott át az egyesületi titkári feladatait lelkiismeretesen és kiválóan ellátó Réty Lillának. A közgyűlésen utolsóként Buday László leköszönő elnök úr is köszöntötte az újonnan megválasztott tisztségviselőket, és felajánlotta segítségét az új vezetésnek, végül utolsó aktusként a megéhezett résztvevőket meginvitálta egy kötetlen beszélgetésre lehetőség adó büfébédre.

Dolgozik a szavazatszámoló bizottság:



A tisztségviselők bemutatkozása

Elnök: Kovács Mihály

Tanszékvezető egyetemi tanár, ELTE Biokémiai Tanszék
Igazgatóhelyettes, ELTE Biológiai Intézet
Programvezető, ELTE Biológia Doktori Iskola,
Szerkezeti Biokémia Doktori Program



Kutatási terület:

motorfehérjék, fázisátmenetek, genomanyagcsere, stresszválasz

Tudományos minősítés:

PhD 2002, ELTE Szerkezeti Biokémia Doktori Program

Tudományos cím:

Habilitáció: 2008, ELTE, biológiai tudományok

MTA doktora 2012, biológiai tudományok

Tudománymetria: közlemények száma 71, Kumulatív IF 502, Hivatkozások száma 5347, H-index 34

MBKE: tagság kezdete 2001, 2011-2015 Felügyelő Bizottság, 2016-2020 főtitkár, 2020-2025 alelnök

Mindez amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Oktatás: BSc/MSc/PhD, biokémia, molekuláris biológia, fehérjetudomány, géntechnológia

Pályázati támogatás (PI): NIH, EMBO, HHMI, HFSP, MTA Lendület, Svájci Alap, EU HORIZON, EU Marie Curie, HUN-REN TKI, NKFIH, stb.

Kitüntetések: Talentum díj, Lieben díj, MTA Akadémiai díj, NIH NHLBI Director's Award stb.

Konferenciaszervezés: Biophysical Society (USA) MBKE, HMLS, European Muscle Conference, FEBS3+ stb.

Szakmai-közéleti tisztségek:

Elnök, MTA Biológiai Tudományok Osztálya, Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Bizottság Elnök (korábban), NKFIH Molekuláris Biológia zsüri

Alelnök: Csősz Éva

Egyetemi tanár,
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet



Kutatási terület:

Az elhízás és cukorbetegség multiomikai vizsgálata, az egyes csoportokra jellemző molekuláris mintázatok és fehérje hálózatok azonosítása, proteomikai és metabolomikai módszerek fejlesztése, komplex adatértelmezés

Tudományos minősítés:

PhD 2008, Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola

Tudományos cím:

MTA doktora 2021, elméleti orvostudományok

Akadémiai tagság: 2008, VIII. Biológiai Osztály

MBKE: tagság kezdete 2005, a Proteomikai szakosztály megalapítása, az egyesület konferenciáin programok, szekciók szervezése,

Tudománymetria: Közlemények száma 80, Kumulatív IF 336,221; Hivatkozások száma 2167, H-index 26

Mindez amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Konferenciák szervezése (európai és világszintű) szervezőbizottsági tagként, mint EuPA

2022 Conference Lipcse; BSPR/EuPA 2023 Conference, Newcastle upon Tyne; HUPO 2023

Congress, Busan (Korea Köztársaság); HUPO-EuPA 2024 Congress, Drezda (Németország);

EuPA 2025 Conference, Saint Malo (Franciaország); HUPO 2025 Congress, Toronto, (Kanada);

EuPA 2026 Conference, Wurzburg (Németország)

Nemzetközi szakmai tisztségek: Európai Proteomikai Társaság (EuPA) Intézőbizottságának tagja, az EuPA Conferences and Communication Committee vezetője, az ELIXIR HU Node oktatási koordinátora, az EuPA honlapjának felelőse, az EuPA Newsletter társszerkesztője, a HUPO Council és több HUPO munkacsoport aktív tagja vagyok. Amennyiben megválasztanak, szeretném a biokémia oktatással kapcsolatos kezdeményezéseket összefogni és a MBKE más egyesületekkel kialakított kapcsolatait tovább erősíteni.

Alelnök: Gallyas Ferenc

Intézetvezető egyetemi tanár
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

**Kutatási terület:**

a sejthalál mechanizmusai

Tudományos minősítés:

PhD: 1995, PTE AOK, biológiai tudományok

Tudományos cím:

MTA doktora: 2008, biológiai tudományok

Akadémiai tagság: köztestület tagja 1995-től,
MTA Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Tudományos Bizottság tagja 2017-től

Tudósnymetria: Közlemények száma: 109, Kumulatív IF: 394, Hivatkozások: 5057,
H-index: 40

MBKE : tagság kezdete 1992, 2006-2020 területi képviselő

Mindaz amit a fentiekben kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

- Felsőfokú angol nyelvtudás
- 1990-92 és 1995-97: Division of Demyelinating Diseases and Aging, National Institute of Neuroscience, NCNP, (Kodaira, Tokyo, Japan)
- 2002-04: MRC Centre of Neuronal Plasticity, Department of Anatomy, University of Bristol (Bristol, UK)
- 2017: Distinguished Service Award in Cardiovascular Science, Medicine and Surgery International Academy of Cardiovascular Sciences (IACS), Winnipeg, Canada
- 2022: Tankó Béla díj (Magyar Biokémiai Egyesület)
- 2024: Bohuslav Ostadal Award for Excellence in Cardiovascular Science (IACS)

Alelnök: Keserű György

Igazgató, Gyógyszerinnovációs Központ
HUN-REN TTK

**Kutatási terület:**

gyógyszerkutatás, kémiai biológia, molekuláris farmakológia

Tudományos minősítés:

PhD: 1994, BME, Oláh György Doktori Iskola

Tudományos cím:

MTA doktora 2003, kémia

Akadémiai tagság:

2019 levelező tag, 2025 rendes tag VII. osztály (kémia)

Tudósnymetria:

Közlemények száma 368, Kumulatív IF: 900+, Hivatkozások: 16855, H-index: 58

MBKE: tagság kezdete 2005, Gyógyszerbiokémiai szakosztály vezetése és szervezése

Mindaz amit a fentiekben kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Osszesen 11, emberi kipróbálásra került vegyület azonosításában vett részt.
21 szabadalomban szerepel feltalálónként.
Hozzájárult az antipszichotikus hatású Cariprazine felfedezéséhez (Európai Unióban, Egyesült Államokban engedélyezték)
A gyógyszerkutatásban elért eredményeiért 2014-ben Overton-Meyer díjjal tüntették ki.
2016-ban a Royal Society of Chemistry 'Fellow' tagja lett.
2023-ban az Európai Akadémia (Academia Europaea) tagjává választották.
Meghatározó szerepet vállalt a pandémiás gyógyszerellátás biztonságának megteremtésében.
Gyógyszerkutatási eredményeiért 2020-ban Gábor Dénes díjban, 2022-ben Széchenyi díjban, 2024-ben Tankó díjban részesült.

Főtitkár: Lontay Beáta

Egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Vegytani Intézet



Kutatási terület: Sejtbiológia, molekuláris biológia és biokémia.
A sejtben kórosan eltolódott poszttranszlációs módosítási mintázatokat, és az általuk kiváltott pathobiokémiai folyamatokat vizsgálja.

Tudományos minősítés:

PhD: 2005, Debreceni Egyetem, Orvostudományi Doktori Iskola
Habilitáció: 2019, Debreceni Egyetem

Tudományos cím:

MTA doktora: eljárásra bocsátva (2025), biológia

Akadémiai tagság: köztestület tag 1995-től,

MTA Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Tudományos Bizottság tagja 2017-től

Tudománymetria: Közlemények száma: 35, Kumulatív IF: 139, Hivatkozások: 938,
H-index: 19

MBKE: tagság kezdete: 1998.

2020-2025 között az MBKE főtitkára

az MBKE Vándorgyűlés szervezése (2022,2024), a HMLS konferencia szervezése (2021, 2023, 2025)

Mindaz amit a fentiekben kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Közéleti tevékenység: MTA Biológiai T. osztálya nem-akadémikus közgyűlési képviselő (2022-), MTA Területi Bizottság (2022-), MTA Molekuláris Biológiai genetikai és Sejtbiológiai TB titkár (2014-2029) és tag (2020-); Debreceni Egyetem ODT MODI titkár (2014-2016); EMBO Europhosphatase conference (2017, 2019, 2022) és FASEB protein phosphatases conference (2022) szervezése.

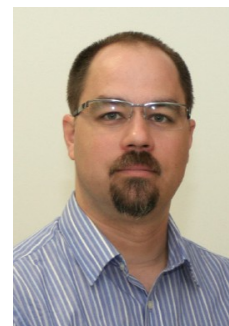
Kitüntetései: Mestertanár aranyérem (2023), Az ÁOK kiváló oktatója (2023) és dolgozója (2023);

Az év női kutatója (2017), MTA Bolyai Plakett (2013), Kovács Tibor díj (2007)

Külföldi tanulmányutak: University of Nevada, Reno (2000-2001); Duke University Cancer Research Institute (2007-2009), University of Calgary (2019)

Főtitkárhelyettes: Lipinszky Zoltán

Tudományos főmunkatárs
HUN-REN SZBK, Biokémiai Intézet

**Kutatási terület:**

A foszforiláció szerepe a sejtosztódás szabályozásában
Rekombináns fehérjék racionális tervezése, előállítása és tisztítása

Tudományos minősítés:

PhD: 2010, SZTE TTIK, Biológia Doktori Iskola

Tudománymetria: Közlemények száma: 45, Kumulatív IF: 279, Hivatkozások: 909,
H-index: 16 (Scopus), 18 (Google Scholar)

MBKE: tagság kezdete 2007.

2023-tól a FEBS Member Society Representative-jaként tevékenykedem, elősegítve a FEBS és az MBKE közötti hatékonyabb együttműködést. Rendszeresen részt veszek a FEBS Kongresszusain és az MSR meetingeken, ahol az Egyesületet képviselem, valamint közreműködöm az MBKE által (társ)szervezett hazai és nemzetközi konferenciák előkészítésében és lebonyolításában.

Mindaz amit a fentiekben kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

MTA Leendő Pályázat (2017-2022): SZBK

Bolyai Ösztöndíj (2015-2017): SZBK

FEBS Long-term Postdoctoral Fellowship (2011-2014): University of Cambridge

Junior Prima Díj (2010)

Pro Scientia Aranyérem (2005): SzTE

Nyelvtudás: angol, szerb

Budapesti területi képviselő: Csikász-Nagy Attila

Egyetemi tanár, kutatási és innovációs dékánhelyettes
Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionikai Kar

Kutatási terület:

Rendszerbiológia, bioinformatika, sejtciklus, napi-ritmus,
sejt-sejt kommunikáció

Tudományos minősítés:

PhD: 2000, BME, Oláh György Doktori Iskola

Tudományos cím:

MTA doktora 2018, biológia

Tudománymetria: Közlemények száma: 81, Kumulatív IF: 377, Hivatkozások: 3293,
H-index: 23

MBKE: tagság kezdete: 2006, 2022 óta budapesti területi képviselő

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

2021 - Ugyvezető igazgató, Cytocast Hungary Kft.

2012 - 2022 Senior Lecturer in Computational and Systems Biology, Randall Division of Cell
and Molecular Biophysics, King's College London, UK

2012 - 2015 Group Leader, Fondazione Edmund Mach, Italy

2007 - 2012 Principal Investigator, The Microsoft Research - University of Trento Centre for
Computational and Systems Biology, Italy

Debreceni területi képviselő: Tar Krisztina

Egyetemi docens
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Vegytani Intézet

Kutatási terület:

Proteaszóma komplexek szerepe a sejtek "minőségellenőrzésében":
fókuszban a neurodegeneratív Huntington-kór.

Tudományos minősítés:

PhD: 2005, Debreceni Egyetem, Molekuláris Orvostudományi Doktori Iskola

Habilitált doktor, 2023: Proteaszóma komplexek szerepe a sejtek

„minőségellenőrzésében”

Tudománymetria: Nemzetközi közlemények száma: 21, Kumulatív IF: 127.993, Hivatkozások
száma: 1426, H-index 16, i10-index: 19

MBKE tagság kezdete: 1998.

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Rektori elismerő oklevél (2023)

Oktatás: tantermi előadások és szemináriumok Orvosi kémia, Molekuláris Biológia tárgyakból,
Debreceni Egyetem, AOK; utánpótlás nevelés: PhD képzésben és TDK-ban aktív részvétel

Külföldi tapasztalat:

2002-2004, kutatógyakornok, Johns Hopkins University, Baltimore, USA

2005-2006, posztdoktor, The University of Chicago, Chicago, USA

2010-2014, posztdoktor, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, USA

Külföldi ösztöndíj:

2009 Clonet mobilitás. INRA French National Institute for Agricultural Research, Paris-Jouy en
Josas, Franciaország

2008 Artemis mobilitás. Madrid, Spanyolország

2004 Utazási Ösztöndíj FASEB Experimental biology 2004, Washington DC „Graduate Student
Highlights in Respiration Physiology”

1998 Erasmus mobilitás, University of Rennes, Rennes, Franciaország

Nyelvtudás: angol, francia felsőfokon

Pécsi területi képviselő: Bognár Zita

Egyetemi docens és tanszékvezető
PTE AOK Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet
Orvosi Biokémia Tanszék

**Kutatási terület:**

Az Amiodaron/Dezetil-amiodaron hatásainak vizsgálata különböző daganatos sejtvonalakon in vitro és in vivo

Tudományos minősítés:

PhD: 2007, PTE AOK, Multidiszciplináris Orvostudományok

Tudományos cím:

Habilitáció 2019

Tudománymetria: Közlemények száma: 63, Kumulatív IF: 92, Hivatkozások: 825, H-index: 17

MBKE: tagság kezdete: 2008, pécsi területi képviselő

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Általános orvosi és MBA diplomákkal rendelkezik. PhD hallgatóként kezdett el foglalkozni az amiodaron és metabolitja biokémiai hatásaival, leírta direkt mitokondriális, valamint iszkémia-reperfúzió modellben mutatott hatásait. Jelenleg a dezetil-amiodaron tumor ellenes hatásának vizsgálatával foglalkozik, mely témában USA, EU szabadalommal és pályázattal rendelkezik.

Oktatás: Négy tantárgy tantárgyfelőse és jelentős feladatot vállal az oktatásszervezésben, a PhD hallgatók irányításában is. Három nyelven oktat, felsőfokú szaknyelvi vizsgája van német és angol nyelvből. Az Erasmus+ program keretében többször volt vendégoktató Németországban és Ausztriában.

Konferenciák: Több ízben vett részt és számolt be eredményeiről az MBKE rendezvényein.

Szegedi területi képviselő: Török Zsolt

Csoportvezető, Molekuláris Stresszbiológia Csoport
HUN-REN SzBK, Biokémiai Intézet

**Kutatási terület:**

membrán biokémia és biofizika, molekuláris stresszbiológia, lipidomika, membrán-lipid terápia, hőszokkfehérjék

Tudományos minősítés:

PhD: 1992, Szegedi Tudományegyetem

Tudománymetria: Közlemények száma: 90, Hivatkozások: 3229, H-index: 32

MBKE: tagság kezdete: nagyon régen

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:**Ösztöndíjak:**

kétszer volt Bolyai ösztöndíja
2 év long term EMBO ösztöndíj: Utrecht University
2 év University of California, Davis

Egyéb:

több biotech spin-off vállalkozás alapítása,
sikeres gyógyszerfejlesztés, aktív ipari kapcsolatok

Az Etikai bizottság elnöke: Vértessy Beáta

Kutató professzor, egyetemi tanár
HUN-RÉN TTK Molekuláris Élettudományi Intézet
BME Alkalmazott Biotechnológiai Tanszék

**Kutatási terület:**

DNS-javítás, szerkezeti biológia

Tudományos minősítés:

PhD: 1991, ELTE

Tudományos cím:

MTA doktora: 2001, biológiai tudományok

Akadémiai tagság: 2022, MTA levelező tag, VIII. osztály

Tudománymetria: Közlemények száma >180, Kumulatív IF> 1500, Hivatkozások: >12,000, H-index: 38 (MTMT), 45 (GS)

MBKE: tagság kezdete 1994
főtitkárhelyettes: 2006-2010, főtitkár: 2010-2015

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:**FEBS tisztségek:**

FEBS Advanced Course Committee elnök és ExCom tag: 2013-2023,
FEBS Finance Committee tag: 2024-
FEBS Diplôme d'Honneur, 2024.
Academia Europaea tag

Témavezetése alatt eddig 26 diák szerzett PhD fokozatot, jelenleg 4 PhD diák témavezetője

Az Etikai bizottsági tag: Geiszt Miklós

Egyetemi tanár
Sémmelweis Egyetem, Élettani Intézet

**Kutatási terület:**

Reaktív oxigén származékok élettana

Tudományos minősítés:

PhD: 1998

Tudományos cím:

MTA doktora: 2013

Akadémiai tagság: 2022, MTA levelező tag, VIII. osztály

Tudománymetria: Közlemények száma: 78, Kumulatív IF: 426,
Hivatkozások: 5874, H-index: 37

MBKE: tagság kezdete 2003 és a BIODÉKA szerkesztő bizottságának tagja.

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

2024 A Magyar Érdemrend tisztikeresztje
2019 Huzella Tivadar Emlékérem és jutalomdíj
2012 Kiváló Tudományos Diákköri Nevelő díj
2011 MTA Lendület pályázat
2009 Magyar Felsőoktatásért emléklapok
2008 Gordon Research Conference on Nox family NADPH oxidases, vice-chair
2010 Gordon Research Conference on Nox family NADPH oxidases, chair
2023 12th International Human Peroxidase Meeting, chair

Etikai bizottsági tag: Tózsér József

Intézetvezető egyetemi tanár,
élettudományokért felelős ágazati rektorhelyettes
Debreceni Egyetem, AOK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet

**Kutatási terület:**

retrovírusok életciklusa, proteolitikus enzimek

Tudományos minősítés:

PhD: 1994, a Biológiai tudományok kandidátusa cím alapján (MTA, DOTE)

Tudományos cím:

MTA doktora: 2002, biológia

Akadémiai tagság: köztestületi tag, VIII. osztály

Tudománymetria: Közlemények száma: 180, Kumulatív IF: 571, Hivatkozások: 5848, H-index: 39

MBKE: tagság kezdete 1985

1995-2006 Intézőbizottsági tag (területi képviselő),

2015-2025 Felügyelőbizottság tagja.

Részt vett az 1993-ban Debrecenben megrendezett első nemzetközi MBKE konferencia és a 2007-es vándorgyűlés szervezésében.

A 2014-es vándorgyűlés fő szervezője volt.

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

1985 – 1988 Tudományos továbbképzési ösztöndíj, MTA

1989 – 1991 Postdoctoral Fellow, NCI-FCRDC, Frederick, Maryland, USA

1998 – 2001 Széchenyi Professzori Ösztöndíj

2002 – 2004 Széchenyi István Ösztöndíj

2013 – Magyar Érdemrend Tiszti Keresztje (polgári tagozat)

Az Intézőbizottság elnöke: Erdődi Ferenc

Professzor emiratus
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Vegytani Intézet

**Kutatási terület:**

Fehérje foszforiláció-defoszforiláció szabályozó szerepe a sejt folyamatokban: protein foszfatázok szerkezete és szabályozása.

Tudományos minősítés:

Med. biol. doktor, 1983, DOTE;

biológia tudomány kandidátusa, 1988, MTA;

Tudományos cím:

MTA doktora: 2002, biológia

Tudománymetria: Közlemények száma: 135, Kumulatív IF: 321,23, Hivatkozások: 5195, H-index: 34

MBKE: tagság kezdete 1982,

2007 MBKE Vándorgyűlés szervezése

2006-2016 Intézőbizottsági tag

2021 MBKE Intéző Bizottság választás Jelölő Bizottság elnöke

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Biochemical Journal Editorial Advisory panel tagja (2003-2010),

Biokémia folyóirat Szerkesztő Bizottság tagja (2006-),

Apáczai Csere János Díj (2016),

Tankó Béla Díj (Magyar Biokémiai Egyesület, 2019),

Máriás Antal emlékérem (Országos Tudományos Diákköri Tanács, 2023),

OTDT70 Kitűző (Országos Tudományos Diákköri Tanács, 2025).

Tanulmányutak:

University of Illinois, 1986-1988;

University of Arizona, 1991-1993, 1995, 1997, 2002, 2006;

University of Bochum, 1999;

Mie University, 1999, 2000, 2001; University of Calgary, 2002.

Intézőbizottsági tag: Keller-Pintér Anikó

Egyetemi docens
SZTE Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar, Biokémiai Intézet

Kutatási terület:

izomméret szabályozás, izomregeneráció, sejtpolarizáció,
sejtmigráció, diabetes mellitus, vázizom glükózfelvétel, fibrózis

Tudományos minősítés:

PhD: 2010, Semmelweis Egyetem, Patológiai Tudományok Doktori Iskola

Tudományos cím:

Habilitáció: 2022, SZTE, elméleti orvostudományok

Tudománymetria: Közlemények száma: 32, Kumulatív IF: 193,4, Hivatkozások: 908,
H-index: 15

MBKE: tagság kezdete 2006

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

A „Kar kiváló tudományos diákköri oktatója” díj (SZTE SZAOK): 2025, 2023, 2021, 2019

2024 Klebelsberg Kunó-díj (SZTE),

2019-2022 Bolyai János Kutatási Ösztöndíj,

2015 Nemzeti Kiválóság Díj,

2013-2014 Magyary Zoltán posztdoktori ösztöndíj

PhD képzés: SZTE Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola, törzstag (2023-),
kurzusszervezés

4 fő fokozatot szerzett, 1 fő abszolutóriumot szerzett, jelenleg 6 PhD hallgatója van

Nemzetközi szabadalmak: 3, bejelentés alatt: 1

**Intézőbizottsági tag: Szüts Dávid**

Tudományos tanácsadó, kutatócsoport-vezető
HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont,
Molekuláris Élettudományi Intézet

Kutatási terület:

DNS hibajavítás, mutagenézis, DNS replikáció,
DNS polimerázok, tumorevolúciói

Tudományos minősítés:

PhD: 1999, University of Cambridge

Tudományos cím:

MTA doktora: 2021, molekuláris biológia

Tudománymetria: Közlemények száma: 61, Kumulatív IF: 470, Hivatkozások: 1953,
H-index: 25

MBKE: tagság kezdete 2012

2018: FEBS3+ konferencia, szervezőbizottság elnöke;

2022: tisztújító jelölőbizottság tagja.

Egyéb MBKE konferenciák: szekció-szervező.

Mindaz amit a fentiekén kívül a jelölt fontosnak tart magáról elmondani:

Külföldi kutatási és oktatási tapasztalatok: 1995-2011, Cambridge/London

Tudományos közéleti tevékenység:

MTA AKT Élettudományi Szakbizottság,

MTA TÉB Élettudományi Szakbizottság,

MTA Molekuláris Biológiai, Genetikai és Sejtbiológiai Tudományos Bizottsága,

MTA közgyűlési képviselő,

TTK Enzimológiai Intézet igazgatóhelyettes, mb. igazgató,

ELTE TTK Doktori Tanács,

OTKA/NKKP zsűritag, zsűrielnök.



Utazások a membrántranszporterek és az őssejtek világában

**Sarkadi Balázs**HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont
Molekuláris Élettani Intézet

Összefoglalás

Közel ötvenöt éves tudományos kutatói pályámon a membrántranszporterek központi szerepet játszottak. Gárdos György laboratóriumából indulva, több USA- és Kanada-beli tanulmányúton a Na-Li transzporttal, a cisztás fibrózis betegséget okozó CFTR ioncsatornával, majd a sejtek térfogatszabályozásában szerepet játszó kálium és klorid transzporttal foglalkoztam. Itthon az aktív kalcium transzport, majd a multidrogy rezisztenciát okozó ABC transzporterek vizsgálata volt a legfontosabb témám. Am közben elcsábultam az őssejtek kutatására is. Az emberi őssejtek kutatása ma talán az egyik legfelkapottabb tudományterület. A biológusok a molekuláris sejtbiológia és a fejlődéstan, az orvosok a helyreállító orvoslás, a gyógyszerkutatók az új gyógyszerfelfedezések, a bulvár-média szereplői az „örök ifjúság” és az „örök élet” letéteményeseiként beszélnek az őssejtekről. Ráadásul mindez valahogy igaz is, a kezdeti túlzott remények talán mostanában kezdenek valósággá válni (az örök élet természetesen még egy kicsit odébb lesz..). Több, mint 15 évvel ezelőtt, 2008-ban Sümegen adtam elő az emberi embrionális őssejtek csodájáról, a belőlük létrehozható differenciálódó szövetekről és a funkcionális vizsgálatokról. Akkor említettem – kicsit még kételkedve – a Sinya Yamanaka által éppen felfedezett, érett emberi sejtekből létrehozott indukált pluripotens őssejteket (iPSC). Az iPSC-k megjelenésével elmúltak az etikai aggályok és a terület olyan fejlődése indulhatott meg, amely egyaránt jelenti az őssejtkutatások kiteljesedését, valamint az alkalmazások megjelenését. A sejttenyésztési és géntechnológiai módszerek folyamatos fejlődésével megjelentek az emberi őssejtekből létrehozott betegségmodellek, a háromdimenziós szervecskék (organoidok), tanulmányozásukra új mikrotechnológiák, 3D szövet-nyomtatórendszerek jöttek létre. Az Intézetünkben az Apáti Agota vezetésével végzett őssejtkutatások természetesen saját kedvenc területemen, a membrántranszporterek vizsgálatában is új lehetőségeket nyitottak. Az előadásban bemutattam, hogy az őssejtekből létrehozott emberi szövetek fejlődése és működése során hogyan vált vizsgálhatóvá szívizomtelepekben a kalciumionok mozgása vagy az ABC transzporterek szövetvédő működése.

Summary

In my nearly fifty-five-year scientific research career, membrane transporters have played a central role. Starting from György Gárdos' laboratory, on several study trips to the USA and Canada, I dealt with Na-Li transport, CFTR mutations, which causes cystic fibrosis, and then potassium and chloride transport, which play a role in cell volume regulation. At home, the investigation of active calcium transport, and then the ABC transporters which cause multidrug resistance, were my most important topics. But in the meantime, I was also seduced by stem cell research. Human stem cell research is perhaps one of the most popular scientific fields today. Biologists are interested in molecular cell biology and development, doctors in regenerative medicine, pharmaceutical researchers in new drug discoveries, and media figures talk about stem cells as the source of "eternal youth" and "eternal life". While all of this is somehow true, the initial exaggerated hopes are perhaps starting to become reality nowadays (of course, eternal life is still a little further away..). More than 15 years ago, in 2008, I gave a lecture in Sümeg about the miracle of human embryonic stem cells, the differentiating tissues that can be created from them, and the functional studies. At that time, I mentioned – still a little skeptically – the induced pluripotent stem cells (iPSCs), created from mature human cells, which had just been discovered by Shinya Yamanaka. Still, iPSCs pushed aside ethical concerns and initiated a development in the field that represents both the fulfillment of stem cell research and the emergence of applications. With the continuous development of cell culture and genetic engineering methods, disease models created from human stem cells, three-dimensional organelles (organoids), new microtechnologies and 3D printing systems have emerged for their study. The stem cell research conducted at our Institute under the leadership of Agota Apáti has opened up new opportunities in my traditionally favorite field, the study of membrane transporters. In this presentation, I described how the movement of calcium ions in myocardial colonies or the tissue-protective function of ABC transporters became possible to study during the development and function of human tissues created from stem cells.

(A cikk az 55. Sümegi Membrántranszport Konferencián, a Romhányi György díj átvételéhez kapcsolódó előadás alapján készült.)

(The article is based on the presentation given at the 55th Sümeg Membrane Transport Conference upon receiving the György Romhányi Award.)

Transzporter utazások

Az Orvosegyetem Élettani Intézetének TDK-saként Spät András laborjában sokat tanultam hormonokról és szabályozásokról, de fantáziámat a gyakorlatokon alkalmazott Ussing-féle kísérlet ragadta meg, ahol az ionok vándorlását a békabőrben követhettük elektromos mérésekkel. Olyannyira, hogy a termodinamika területére kalandozó Schubert András vegyész-fizikus barátommal megmértük a békabőr transzportjának energetikai hátterét, és hatalmas általános következtetéseket levonva igazi tudományos cikket írtunk róla (1). Látva ezt az érdeklődést Spät András elirányított a szerinte „egyetlen komoly” transzportterekkel foglalkozó hazai kutatóhoz, Gárdos Györgyhez ([lásd a cikk végén lévő írást, 25. oldal](#)).

Mivel az ő neve már a biokémia tankönyvünkben is szerepelt, ötödéves hallgatóként kértem, hogy fogadjon egy beszélgetésre. Az Országos Vérellátó Szolgálat (OVSZ) épületében Gárdos „tanár úr” szobájába nem volt egyszerű bejutni, a bezárt ajtóju Izotóp Osztály legutolsó irodájában lehetett elérni, és (főleg orvostanhallgatók esetében) nem volt igazán kellemes beszélgetőpartner. Végül is úgy sikerült az osztályára kerülnöm, hogy mindig szükség volt egy izotóp diagnosztikus orvosra, és az elődöm belépése után azonnal elvonult szülési szabadságra. Ráadásul, hat gyermeket szülve folyamatosan meghosszabbította, így 15 évig, mint „helyettes orvos”, lehettem ott állásban. Az OVSZ akkoriban kiemelkedő oktató- és kutatóközpont volt; Hollán Zsuzsa vezetésével nemzetközi híru szakemberek képviselték a hematológia, immunológia és a sejtbológia területeit.

Gárdos tanár úr alapvetően barátságos, de szigorú ember volt, a kutatási megbeszélések után a jegyzőkönyveket másolatban kellett bemutatni és átadni. Az első megadott témák után viszont már igazából szabadon kalandozhattunk a vérsejtek és a transzporterek területein (Szász Ilma és Egyed András voltak még az osztályon kutatók). Először a kalcium-függő káliumtranszport, a „Gárdos effektus” rejtelmét igyekeztem kibogozni, majd a kalciumtranszport kötötte le az érdeklődésemet. Ezek a területeken először csak hazai lapokban, majd nemzetközi szinten is sikerült közleményeket írunk (lásd 2, 3, 4).

Kiderült, hogy a kulccsal elzárt Izotóp Osztály csak az „idegenek” (pl. orvostanhallgatók, osztályos orvosok, főigazgatók) elleni védelmet szolgálta, az egész országból és világból jártak ide kutatók beszélgetni, közös munkákat tervezni, vagy éppen a műszereinket használni. A tudományos közéletbe is bekerülhettünk Gárdos tanár úr révén, akit igazából mindenki tisztelt és becsült, és a tanítványait is azonnal emberszámba vették. 1972-ben ő volt az egyik első szervezője a membrántranszport konferenciáknak (először Tihanyban, majd Sümegen). Az 1974-es budapesti FEBS konferencián is szimpóziumot szervezett, és a világhíru tudósok szinte búcsút jární jöttek az osztályra. Míg Tihanyban még szigorló orvosként és besorozott katonaként kimenő katonaruhában vettem részt, addig a FEBS-en már én is szervezőként nyüzsöghettem.

Így alakult ki az, hogy a konferenciára látogató Daniel C. Tosteson, Gárdos ajánlására meghívott a Duke University-re (Durham, North Carolina), posztdok-nak. Feleségemmel és akkor két és fél

éves Anna lányunkkal izgatottan készültünk az utazásra, de hamar kiderült, hogy ez nem lesz egyszerű dolog. Mivel kutatónak hívtak meg, én kaptam a kiutazáshoz ún. tanulmányi útlevelet, de orvos feleségem és a gyerekünk „kiutazásuk államérdeket sért” jelszóval már nem. Hollán Zsuzsa, az OVSZ akkori igazgatója (aki egyben KB tag is volt) személyesen segített abban, hogy ők is kaphassanak egy „látogató” útlevelet, de ekkor kiderült, hogy Tosteson közben a Duke-ról átment a Chicagói Egyetemre, ahol az orvosegyetem dékánja lett. Így minden szervezést újra kellett kezdeni, de végül is 1976 őszén eljutottunk Chicago-ba.

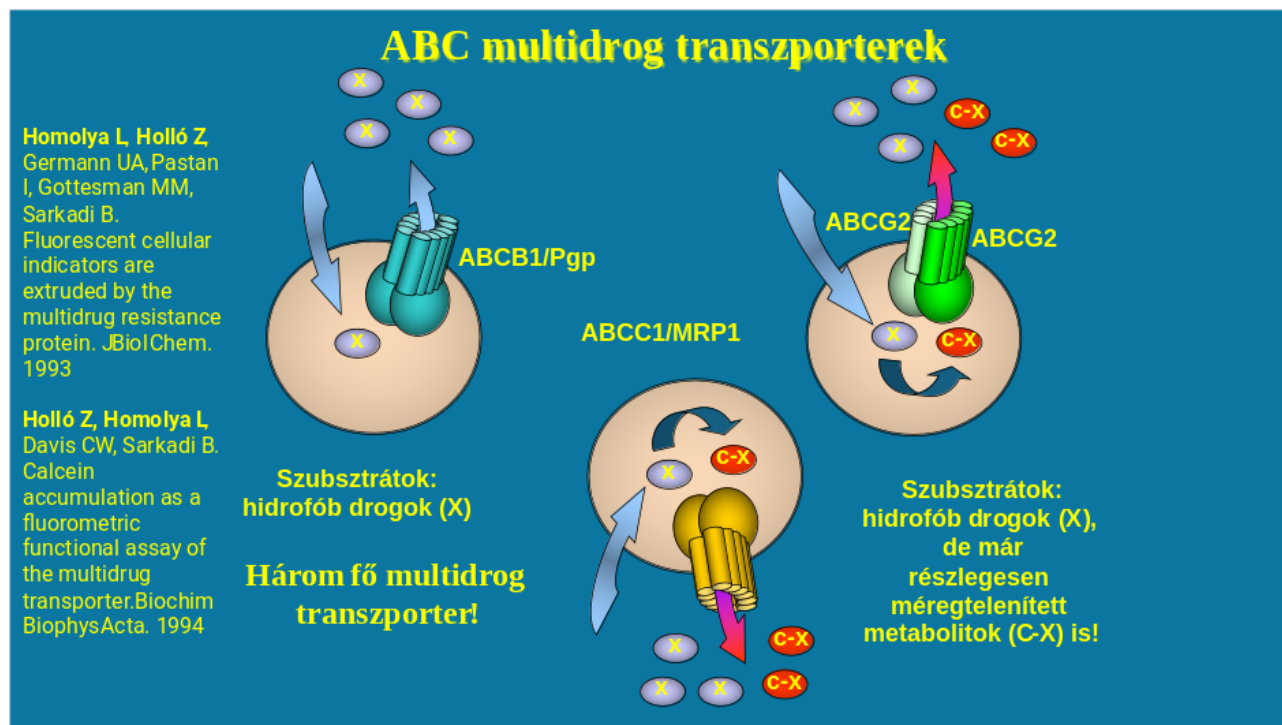
Az ottani életünkről és kalandjainkról feleségem, Kálmán Zsófia írt 1980-ban könyvet (5), amit csaknem ötvenezer példányban kapkodtak el, hiszen akkoriban Amerika Magyarországról még alig volt elérhető. A Tostesonnal folytatott közös kutatómunka fő témája az akkor sokakat izgató lítium iontranszport volt. A lítium a súlyos mániás-depresszió egyik ígéretes gyógyszere, de az emberi szervezetben a sejtekbe jutása alig volt feltérképezve. Így az erről a témáról írt közleményünk (6) jelentős idézettséget kapott. Életünket alaposan felborította, hogy Tosteson az év során elfogadta a Harvard Egyetem dékáni meghívását, így mi is megint költöztünk, most már Bostonba. A Harvard Egyetem atmoszférája még Chicago-hoz képest is új kihívás volt, az útlevelelünk viszont hamarosan lejárt. Így másfél év után hazautaztunk, mert akkoriban minden továbbmaradás „disszidálásnak” számított, komoly következményekkel az itthoni családokra és támogatókra nézve.

Az OVSZ-be, a Gárdos laborba hazatérve, egy akkor kialakult új módszerrel sikerült kifordított (inside-out) membránvezikulákat készíteni, majd azokon mérni az ATP függő kalcium transzportot (7, 8). Míg itthon még mindig erős volt az az álláspont, hogy membrántranszport igazából nem is létezik, és a sejteken belüli fehérjék kötése eredményezi az egyenlőtlen ioneloszlást, ezek a kísérletek egyértelművé tették a membránfehérjék szerepét. A munkák alapján felkérést kaptam egy review cikk megírására is (9). Az 1980-as évek elején csatlakozott a laborhoz Debrecenből Enyedi Ágnes, és a közös munkák (lásd 10,11), alapján egy egész csapat alakult ki. Ebben az időben történt meg a kalmodulin felfedezése és szabályozó szerepének feltárása, így az 1980-as évek során újabb munkatársak és hallgatók, így Magócsi Mária, Tordai Attila, Kovács Tünde és Papp Béla csatlakozásával igyekezett a csoport a plazmamembrán kalcium pumpa működését és szabályozását feltárni (lásd 12-15). Azóta a csapat tagjai itthon és külföldön is a terület kiemelkedő kutatói lettek.

Közben viszont én újabb membrántranszport kalandra indultam, ezúttal a kanadai Torontóba. Aser Rothstein, a Hospital for Sick Children kutatóintézet akkori igazgatójának meghívására 1983-86 között már, mint „visiting professor” vehettem részt ennek a fantasztikus tudományos központnak a kutatásaiban. Mi Sergio Grinstein-nel, az akkor éppen Dél-Amerikából érkezett fiatal kutatóval együtt a sejtek térfogatszabályozásának rejtjelmeit, az azokban résztvevő iontranszportokat igyekeztünk megérteni (lásd 16-17). Csak megemlítem, hogy ugyanekkor folyt itt a cisztás fibrózist okozó, CFTR fehérje mutánsainak kutatása, ami Jack Riordan és Francis Collins, és az intézet számára is világhírnevet hozott. Erről az utunkról feleségem tollából és saját fotóimmal újabb sikeres könyv született (17a).

1986-ban azután ismét vissza az OVSZ-be, a közben egész nagy csapattá alakult Gárdos laborba. A vérsejtek (így a trombociták és fehérvérsejtek) kalcium anyagcseréjének és a transzportereinek kutatása kibővült a jelátviteli és a kapcsolódó immunológia folyamatok

vizsgálatával. De én már megint új vizekre kíváncsi voltam. Kiderült, hogy a hematológiai (és egyéb) daganatok gyógyszer-rezisztenciája mögött ATP kötő transzporterek, az ún. ABC transzporterek működése áll, és ezek kutatása az orvoslás új lehetőségeit sejtette. Így 1989-ben Ric Boucher meghívására egy amerikai ABC transzporter laboratóriumban, a University of Chapel Hill kutató részlegében vállaltam vendégprofesszori állást. A rendkívül gyorsan fejlődő új területen először az ABC típusú klorid transzporter, majd az ABCB1 (MDR1) multidrog transzporter vizsgálatába sikerült bekapcsolódnom (18,19,20), együttműködve az NIH Michael Gottesman vezette rákkutató laboratóriumával.



1992-ben, ismételt visszatérésem után, az OVSZ osztályvezetőjeként Gárdos tanár úr visszavonult, és átadta a stafétabotot. A rendszerváltással Hollán Zsuzsát, mint főigazgatót, Petrányi Győző váltotta, és az intézetben a kutatás támogatása szerencsére megmaradt. Mind a kalcium, mind az ABC transzporterek kutatásának új lehetőséget adott a szomszédos Enzimológiai Intézetben, szintén az USA-ból akkoriban hazatért Várad Andrásal kialakított kiváló együttműködés, ami a (változó intézeti hátterek ellenére) a mai napig megmaradt. Ismét új hallgatókkal (Homolya László, Holló Zsolt, Bakos Éva, Welker Ervin, Pászty Katalin) továbbra is a kalciumtranszport, és egyre inkább az ABC transzporterek kerültek a kutatásaink középpontjába. Mindezt 1994-től tíz évig a Howard Hughes Medical Institute pályázatán Enyedi Ágnes és saját ösztöndíjam segítette, igazából függetlenül finanszírozva ezeket a kutatásokat. A folyamatosan érkező (és végzetten továbblépő) újabb PhD hallgatókkal (így Müller Marianna, Hegedűs Tamás, Szabó Kata, Klein Izabella, Szakács Gergely, Sinkó Emese, Kasza Ildikó, Bodó Adrienn, Kern András, Iliás Attila, Szentpétery Zsófia, Padányi Rita, Cserepes Judit, Seres László, Barry Elkind, Szeri Flóra, Cervenák Judit, Özvegy Csilla, Hegedűs Csilla, majd Zámbo Boglárka, Móznér Orsolya és Ambrus Csilla) alakult ki az amerikai barátaink által „Budapest Membrane School”-nak (kevésbé barátságosan a „Hungarian maffia”-nak) elnevezett szakmai közösség. Rendszeres beszámolók, éves tréningek és sok-sok szakmai beszélgetés, nemzetközi és hazai

grantok és kapcsolatok alakították ki ezt a színvonalas folyóiratokban publikáló (lásd 23-27) csapatot. A 2000-es évek elején indult el a módszerek gyakorlati alkalmazása is, ifj. Duda Ernő megalapította a SOLVO biotechnológia vállalkozást, ami azóta is sikeresen működik a transzporter-vizsgálatok területén.

2009. Karácsony a Diószegi úton– OVSz – OHVI - OGYK



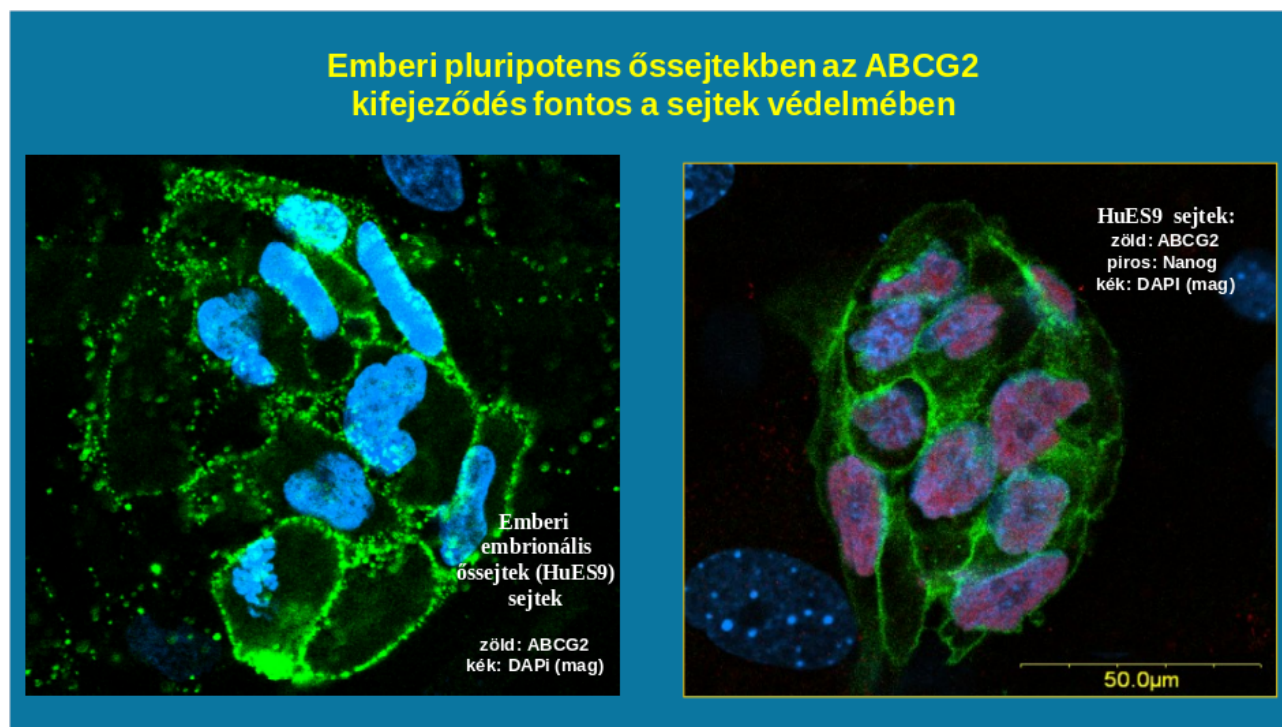
2001-től alaposan megváltozott az OVSZ helyzete és működése, a tudomány iránt egyáltalán nem érdeklődő új főigazgató és munkatársai folyamatosan igyekeztek megszabadulni ettől a nyúgtól, az átszervezések (OHVII, OGYK majd ismét OVSZ) során hiába folytatódott a nagyon eredményes kutatás, csak az elnyert jelentős külső támogatások mentették meg a csapat legalább egyes részeit. Az ABCG2 multidrog transzporter felfedezése során sikerült az evvel a transzporterrel kapcsolatos kutatásba korán bekapcsolódni, így ez ismét színvonalas közleményeket tett lehetővé (lásd 28, 29). Felkérés alapján a Physiological Reviews, majd a Nature Reviews Drug Discovery közölte az ABC transzporterekről összefoglaló cikkünket (30, 31). Az ABC transzporterekhez kapcsolódó kutatás, ma már elsősorban a korábbi csapattagok révén, továbbra is fontos és sikeres terület. A szerkezetek pontosabb megismerése után egyre izgalmasabb részleteket ismerünk meg a multidrog transzporterek működéséről és szabályozásáról.

Őssejtek és transzporterek

Az 1990-es évek végé felé új vonzalmam támadt – az akkor elérhetővé váló emberi őssejtek és a kapcsolódó transzporterek kutatásának lehetősége fogott meg. A csontvelőátültetés meghonosítása nyomán a vérképző őssejtek az OVSZ-ben fontos alkalmazási és kutatási területet jelentettek, és a köldökzsinórvér őssejtek is alkalmazhatónak bizonyultak a csontvelői őssejtek helyettesítésére, a vérképző és az immunrendszer létrehozására. Egy közösségi köldökzsinórvér őssejtbank létrehozását az OVSZ-ben (akkor éppen OHVII) el is indítottuk. Eközben, 1998-ban, először James Thomson és mtsai (32) mutatták be, hogy a korai emberi

embriókból pluripotens (mindentudó) őssejtek nyerhetők és továbbtenyészthetők. Ráadásul, ezekből az „örökéletű” sejtekből az emberi szervezet valamennyi sejt- és szövettípusa előállítható. Az *in vitro* fertilizáció során a számfeletti - elpusztításra szánt - emberi embriókból sikerült ilyen pluripotens őssejteket (ES sejteket) kinyerni, azonban ezek kutatási és gyógyítási alkalmazását komoly szakmai és etikai viták kísérték.

A dél-koreai Hwang, nagy feltűnést keltő, a Science-ben megjelent ES kísérletei (33) súlyosan etikátlannak, sőt nyilvánvaló csalásnak bizonyultak, az egyházak állásfoglalása nyomán pedig 2001-ben az USA-ban George Bush megtiltotta állami források használatát az embrionális őssejtekkel kapcsolatos kutatásokhoz. A magyar törvények ugyan nem engedik meg ilyen őssejtek létrehozását, de a már meglévő ES sejtek vizsgálata nem tiltott. 2004-ben a Harvard-HHMI kutatója, Douglas Melton, az általa privát támogatásokkal létrehozott 17 emberi ES sejt vonalat részletesen jellemezte (34), majd világszerte lehetővé tette azok kutatását a jelentkező nonprofit kutatóhelyeken. Így kaphatott meg, megfelelő etikai engedéllyel, az Apáti Ágota vezetésével megalakuló OVSZ őssejt-labor négy ilyen, fantasztikus lehetőségeket rejtő ES sejt vonalat.

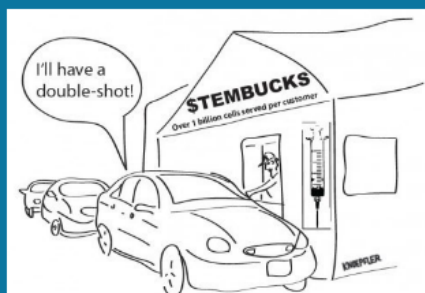


Jelentős nemzetközi grant-támogatásokkal így az OVSZ-ben (akkor már éppen OGYK-nak hívták) elindult az emberi őssejtek széleskörű kutatása. Hamarosan dobogó szívtelepeket, vagy akár idegsejteket tudtunk a humán ES sejtekből létrehozni. Ráadásul Izsvák Zsuzsával és Ivics Zoltánnal olyan közös nemzetközi projektbe kapcsolódhattunk be, amelyben az általuk „életre keltett” Csipkerózsika (Sleeping Beauty, SB) transzpozonok segítségével lehetővé vált az emberi sejtek stabil genetikai módosítása, a kívánt fehérjék termeltetése (35). A Németországból akkoriban hazatérő Orbán Tamással így sikerült olyan humán embrionális sejt vonalakat létrehozni, amelyek stabilan kifejezték a zöld fluoreszcens fehérjét (GFP), és azt is észrevettük, hogy egy speciális promóter alkalmazása esetén a GFP elsősorban a szív-telepekben jelent meg

(36). Az őssejtes munkákhoz csatlakoztak ekkoriban az Apáti labor újabb tagjai (így Varga Nóra, Erdei Zsuzsa, Szébenyi Kornália, Antalffy Géza, Péntek Adrienn, majd Berecz Tünde és sokan mások).

Mindeközben jelentős változás történt a humán pluripotens őssejtek területén. Shinya Yamanaka és munkatársai 2006-2007-ben először egér, majd humán sejtekben is kimutatták, hogy négy transzkripciósfaktor alkalmazásával érett szöveti sejtekből is létrehozhatók az ES sejtekhez hasonló őssejtek (indukált pluripotens őssejtek, iPSC, (37)). Mivel ők retrovírusokat alkalmaztak a faktorok termeltetéséhez, 2008-ban, éppen a Sümegi konferencián tartott előadásomban, még azt mondtam, hogy ez az eljárás sok buktatót rejt magában. Miközben mi azon dolgoztunk, hogy a Sleeping Beauty transzpozonnal, vírusmentesen hozzunk létre iPSC sejteket (lásd 38), Nagy András csapata Torontóban egy másik transzpozon rendszerrel (PiggyBack) hozott létre iPSC sejteket, majd a beépült genetikai konstrukciókat el is tudták távolítani. Így elsőként igazolták, hogy a reprogramozáshoz nem szükséges vírusok alkalmazása, és a használt faktorok a sejtekből eltávolíthatók (39). Evvel az áttöréssel vált világossá, hogy iPSC sejtek a faktorok időleges jelenlétével, génmódosítás nélkül is létrehozhatók. Yamanaka 2012-ben Nobel-díjat kapott, és az egyre szélesedő munkák azt igazolják, hogy az iPSC sejtek mindenben helyettesíteni tudják az ES sejteket. Míg egyes betegségmodellek létrehozása az ES sejtekből különleges feladat volt, az iPSC sejtekből, megfelelő génszerkesztéssel kiváló betegségmodellek hozhatók létre (közben a génszerkesztést forradalmasító CRISPR módszerért Charpentier és Doudna is 2020-ban Nobel-díjat kapott).

Őssejtekkel az örökélet és örökifjúság küszöbén?



Hargitai
Zsófi rajza

„Az ember ezt, ha egykor ellesi,
Vegykonyhájában szintén megteszi”

Mindebből engem – természetesen – főleg az őssejtekben vizsgálható kalcium jelek és az ABC membrán-transzporterek érdekeltek. Ehhez a transzpozonos módszer alkalmazásával fluoreszcens kalcium indikátor fehérjét sikerült az őssejtekben vagy a differenciálódó szövetekben kifejeztetni (40). Az idei sümegi előadásban olyan videókat mutattam be, amelyek

emberi őssejtekből létrehozott szívizom telepekben, vagy éppen idegsejtekből mutatták a kalcium jeleket és a stimuláló vagy gátló hatásokat. Eközben Orbán Tamás vezetésével olyan patkány-modellt is létrehoztunk, amelyben a fluoreszcens indikátor fehérjét kódoló RNS-eket az állati őssejtekbe bejuttatva, a szövetekben megjelenő kalcium jeleket tudtuk követni. Az indikátor fehérjék stabil kifejeződése új területet nyitott meg az *in vivo* mikroszkópos vizsgálatok számára (41, 42).

Az ABC transzporterek szerepe az őssejtekben kezdetben ismeretlen volt. Többlépcsős vitában sikerült igazolnunk, hogy a humán ES sejtekben a legfontosabb multidrog transzporter védőfehérje az ABCG2 (43,44), sőt mesterségesen kifejezve ez a transzporter az érett szövetekben is megvédi a sejteket a toxikus hatásoktól (45). Közben a csapat (ismét az OVSZ-ben, majd az MTA kutatóintézetében működve), számos hazai és nemzetközi együttműködésben, egyre több szövettípust és azok 3D változatait hozta létre. Réthelyi János bekapcsolódása az idegrendszeri modellek és betegségek, Földes Gábor támogatása a szív- és érrendszeri területek vizsgálatát erősítette. Nemrégiben, francia partnerekkel együttműködve, az emberi kreatin transzporter hiányában kialakuló súlyos idegrendszeri betegséget modelleztük iPS sejtekből agyi organoidok létrehozásával (46).

Jó volt részt venni, néha csak nézőként, de néha aktív szereplőként azokban a munkákban, amelyek során az emberi őssejtek a sejt-és fejlődésbiológiai és a biotechnológiai forradalom alapanyagává váltak (lásd 47). Nemrégiben én is bekapcsolódtam egy biotech cég (InnoCell) alapításába, amely éppen az őssejtekből létrehozott 3D és betegség-modelleket hasznosítja a gyógyszerfejlesztés területén. Befejezésképpen bízom benne, hogy a transzporterek és őssejtek kutatása terén még sok érdekes újdonságot láthatok, immár az „utódok” vezette csoportoktól (ha valamelyikük neve kimaradt volna a fenti szövegből, azért elnézést kérek).

Irodalomjegyzék

- [1] Sarkadi B, Schubert A. Energy consumption of active sodium transport in isolated frog skin. *Acta Biochim Biophys Acad Sci Hung.* 1972;7(4):367-76. PMID: 4546801.
- [2] Szász I, Sarkadi B, Gárdos G. Erythrocyte parameters during induced CA-2+-dependent rapid K+-efflux: optimum conditions for kinetic analysis. *Haematologia (Budap).* 1974;8(1-4):143-51. PMID: 4618229.
- [3] Sarkadi B, Szász I, Gárdos G. The use of ionophores of rapid loading of human red cells with radioactive cations for cation-pump studies. *J Membr Biol.* 1976 May;26(4):357-70. doi: 10.1007/BF01868883. PMID: 58995.
- [4] Sarkadi B, Szász I, Gerlóczy A, Gárdos G. Transport parameters and stoichiometry of active calcium ion extrusion in intact human red cells. *Biochim Biophys Acta.* 1977 Jan 4;464(1):93-107. doi: 10.1016/0005-2736(77)90373-x. PMID: 137747.
- [5] Kálmán Zsófia: Levélcímünk Chicago, Gondolat, 1977
- [6] Sarkadi B, Alifimoff JK, Gunn RB, Tosteson DC. Kinetics and stoichiometry of Na-dependent Li transport in human red blood cells. *J Gen Physiol.* 1978 Aug;72(2):249-65. doi: 10.1085/jgp.72.2.249. PMID: 690598; PMCID: PMC2228529.
- [7] Sarkadi B, Macintyre JD, Gárdos G. Kinetics of active calcium transport in inside-out red cell membrane vesicles. *FEBS Lett.* 1978 May 1;89(1):78-82. doi: 10.1016/0014-5793(78)80526-2. PMID: 658404.
- [8] Sarkadi B, Szász I, Gárdos G. Characteristics and regulation of active calcium transport in inside-out red cell membrane vesicles. *Biochim Biophys Acta.* 1980 May 23;598(2):326-38. doi: 10.1016/0005-2736(80)90010-3. PMID: 6769484.
- [9] Sarkadi B. Active calcium transport in human red cells. *Biochim Biophys Acta.* 1980 Sep 30;604(2):159-90. doi: 10.1016/0005-2736(80)90573-8. PMID: 6252968.
- [10] Sarkadi B, Enyedi A, Szász I, Gárdos G. Active calcium transport and calcium-dependent membrane phosphorylation in human peripheral blood lymphocytes. *Cell Calcium.* 1982 May;3(2):163-82. doi: 10.1016/0143-4160(82)90012-4. PMID: 6288251.

- [11] Enyedi A, Sarkadi B, Gárdos G. On the substrate specificity of the red cell calcium pump. *Biochim Biophys Acta*. 1982 Apr 23;687(1):109-12. doi: 10.1016/0005-2736(82)90177-8. PMID: 6978736.
- [12] Enyedi A, Sarkadi B, Földes-Papp Z, Monostory S, Gárdos G. Demonstration of two distinct calcium pumps in human platelet membrane vesicles. *J Biol Chem*. 1986 Jul 15;261(20):9558-63. PMID: 2424915,
- [13] Sarkadi B, Enyedi A, Penniston JT, Verma AK, Dux L, Molnár E, Gárdos G. Characterization of membrane calcium pumps by simultaneous immunoblotting and ³²P radiography. *Biochim Biophys Acta*. 1988 Mar 22;939(1):40-6. doi: 10.1016/0005-2736(88)90044-2. PMID: 2964872.
- [14] Papp B, Sarkadi B, Enyedi A, Caride AJ, Penniston JT, Gardos G. Functional domains of the in situ red cell membrane calcium pump revealed by proteolysis and monoclonal antibodies. Possible sites for regulation by calpain and acidic lipids. *J Biol Chem*. 1989 Mar 15;264(8):4577-82. PMID: 2538449.
- [15] Tordai A, Sarkadi B, Görög G, Gárdos G. Inhibition of the CD3-mediated calcium signal by protein kinase C activators in human T (Jurkat) lymphoblastoid cells. *Immunol Lett*. 1989 Jan 15;20(1):47-52. doi: 10.1016/0165-2478(89)90067-9. PMID: 2785492.
- [16] Sarkadi B, Mack E, Rothstein A. Ionic events during the volume response of human peripheral blood lymphocytes to hypotonic media. II. Volume- and time-dependent activation and inactivation of ion transport pathways. *J Gen Physiol*. 1984 Apr;83(4):513-27. doi: 10.1085/jgp.83.4.513. PMID: 6202825; PMCID: PMC2215647.
- [17] Sarkadi B, Cheung R, Mack E, Grinstein S, Gelfand EW, Rothstein A. Cation and anion transport pathways in volume regulatory response of human lymphocytes to hyposmotic media. *Am J Physiol*. 1985 May;248(5 Pt 1):C480-7. doi: 10.1152/ajpcell.1985.248.5.C480. PMID: 2581453.
- [17a] Kálmán Zsófia: Kanadában zöldebb a fű, Gondolat, 1986
- [18] Sarkadi B, Bauzon D, Huckle WR, Earp HS, Berry A, Suchindran H, Price EM, Olson JC, Boucher RC, Scarborough GA. Biochemical characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in normal and cystic fibrosis epithelial cells. *J Biol Chem*. 1992 Jan 25;267(3):2087-95. PMID: 1370488.
- [19] Johnson LG, Olsen JC, Sarkadi B, Moore KL, Swanstrom R, Boucher RC. Efficiency of gene transfer for restoration of normal airway epithelial function in cystic fibrosis. *Nat Genet*. 1992 Sep;2(1):21-5. doi: 10.1038/ng0992-21. PMID: 1284642.
- [20] Sarkadi B, Price EM, Boucher RC, Germann UA, Scarborough GA. Expression of the human multidrug resistance cDNA in insect cells generates a high activity drug-stimulated membrane ATPase. *J Biol Chem*. 1992 Mar 5;267(7):4854-8. PMID: 1347044.
- [21] Homolya L, Holló Z, Germann UA, Pastan I, Gottesman MM, Sarkadi B. Fluorescent cellular indicators are extruded by the multidrug resistance protein. *J Biol Chem*. 1993 Oct 15;268(29):21493-6. PMID: 8104940.
- [22] Holló Z, Homolya L, Davis CW, Sarkadi B. Calcein accumulation as a fluorometric functional assay of the multidrug transporter. *Biochim Biophys Acta*. 1994 May 11;1191(2):384-8. doi: 10.1016/0005-2736(94)90190-2. PMID: 7909692.
- [23] Müller M, Bakos E, Welker E, Váradi A, Germann UA, Gottesman MM, Morse BS, Roninson IB, Sarkadi B. Altered drug-stimulated ATPase activity in mutants of the human multidrug resistance protein. *J Biol Chem*. 1996 Jan 26;271(4):1877-83. doi: 10.1074/jbc.271.4.1877. PMID: 8567633
- [24] Homolya L, Holló M, Müller M, Mechetner EB, Sarkadi B. A new method for a quantitative assessment of P-glycoprotein-related multidrug resistance in tumour cells. *Br J Cancer*. 1996 Apr;73(7):849-55. doi: 10.1038/bjc.1996.151. PMID: 8611394; PMCID: PMC2074264.
- [25] Bakos E, Hegedüs T, Holló Z, Welker E, Tusnády GE, Zaman GJ, Flens MJ, Váradi A, Sarkadi B. Membrane topology and glycosylation of the human multidrug resistance-associated protein. *J Biol Chem*. 1996 May 24;271(21):12322-6. doi: 10.1074/jbc.271.21.12322. PMID: 8647833.
- [26] Szabó K, Welker E, Bakos, Müller M, Roninson I, Váradi A, Sarkadi B. Drug-stimulated nucleotide trapping in the human multidrug transporter MDR1. Cooperation of the nucleotide binding domains. *J Biol Chem*. 1998 Apr 24;273(17):10132-8. doi: 10.1074/jbc.273.17.10132. PMID: 9553060.
- [27] Bakos E, Evers R, Sinkó E, Váradi A, Borst P, Sarkadi B. Interactions of the human multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2 with organic anions. *Mol Pharmacol*. 2000 Apr;57(4):760-8. doi: 10.1124/mol.57.4.760. PMID: 10727523.
- [28] Ozvegy C, Váradi A, Sarkadi B. Characterization of drug transport, ATP hydrolysis, and nucleotide trapping by the human ABCG2 multidrug transporter. Modulation of substrate specificity by a point mutation. *J Biol Chem*. 2002 Dec 13;277(50):47980-90. doi: 10.1074/jbc.M207857200. Epub 2002 Oct 8. PMID: 12374800.
- [29] Hegedus C, Szakács G, Homolya L, Orbán TI, Telbisz A, Jani M, Sarkadi B. Ins and outs of the ABCG2 multidrug transporter: an update on in vitro functional assays. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009 Jan 31;61(1):47-56. doi: 10.1016/j.addr.2008.09.007. Epub 2008 Dec 24. PMID: 19135105.
- [30] Sarkadi B, Homolya L, Szakács G, Váradi A. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoinnity defense system. *Physiol Rev*. 2006 Oct;86(4):1179-236. doi: 10.1152/physrev.00037.2005. PMID: 17015488.

- [31] Sarkadi B, Szakács G. Understanding transport through pharmacological barriers--are we there yet? *Nat Rev Drug Discov.* 2010 Nov;9(11):897-8. doi: 10.1038/nrd3187-c1. Epub 2010 Oct 29. PMID: 21031004.
- [32] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998 Nov 6;282(5391):1145-7. doi: 10.1126/science.282.5391.1145. Erratum in: *Science* 1998 Dec 4;282(5395):1827. PMID: 9804556.
- [33] Hwang W. S., et al., Evidence of a Pluripotent Human Embryonic Stem Cell Line Derived from a Cloned Blastocyst, *Science***303**, 1669 (2004)., Hwang W. S., et al., Patient-Specific Embryonic Stem Cells Derived from Human SCNT Blastocysts, *Science***308**, 1777 (2005). Retracted – *Science* PMID: **16410485**, Retraction of Hwang *et al.*, *Science* 308 (5729) 1777-1783.
- [34] Cowan CA, Klimanskaya I, McMahon J, Atienza J, Witmyer J, Zucker JP, Wang S, Morton CC, McMahon AP, Powers D, Melton DA. Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med.* 2004 Mar 25;350(13):1353-6. doi: 10.1056/NEJMSr040330. Epub 2004 Mar 3. PMID: 14999088. , Phimister EG, Drazen JM. Two fillips for human embryonic stem cells. *N Engl J Med.* 2004 Mar 25;350(13):1351-2. doi: 10.1056/NEJMe048056. Epub 2004 Mar 3. PMID: 14999090.
- [35] Izsvák Z, Chuah MK, Vandendriessche T, Ivics Z. Efficient stable gene transfer into human cells by the Sleeping Beauty transposon vectors. *Methods.* 2009 Nov;49(3):287-97. doi: 10.1016/j.ymeth.2009.07.001. Epub 2009 Jul 15. PMID: 19615447.
- [36] Orbán TI, Apáti A, Németh A, Varga N, Krizsik V, Schamberger A, Szabó K, Erdei Z, Várady G, Karászi E, Homolya L, Németh K, Gócsa E, Miskey C, Mátés L, Ivics Z, Izsvák Z, Sarkadi B. Applying a "double-feature" promoter to identify cardiomyocytes differentiated from human embryonic stem cells following transposon-based gene delivery. *Stem Cells.* 2009 May;27(5):1077-87. doi: 10.1002/stem.45. PMID: 19415778.
- [37] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006 Aug 25;126(4):663-76. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024. Epub 2006 Aug 10. PMID: 16904174., Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell.* 2007 Nov 30;131(5):861-72. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019. PMID: 18035408.
- [38] Grabundzija I, Wang J, Sebe A, Erdei Z, Kajdi R, Devaraj A, Steinemann D, Szuhai K, Stein U, Cantz T, Schambach A, Baum C, Izsvák Z, Sarkadi B, Ivics Z. Sleeping Beauty transposon-based system for cellular reprogramming and targeted gene insertion in induced pluripotent stem cells. *Nucleic Acids Res.* 2013 Feb 1;41(3):1829-47. doi: 10.1093/nar/gks1305. Epub 2012 Dec 28. PMID: 23275558; PMCID: PMC3561994.
- [39] Woltjen K, Michael IP, Mohseni P, Desai R, Mileikovsky M, Hämläinen R, Cowling R, Wang W, Liu P, Gertsenstein M, Kaji K, Sung HK, Nagy A. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature.* 2009 Apr 9;458(7239):766-70. doi: 10.1038/nature07863. Epub 2009 Mar 1. PMID: 19252478; PMCID: PMC3758996.
- [40] Apáti Á, Pászty K, Hegedűs L, Kolacsek O, Orbán TI, Erdei Z, Szabó K, Péntek A, Enyedi Á, Sarkadi B. Characterization of calcium signals in human embryonic stem cells and in their differentiated offspring by a stably integrated calcium indicator protein. *Cell Signal.* 2013 Apr;25(4):752-9. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.12.024. Epub 2013 Jan 7. PMID: 23305950.
- [41] Szabó K, Füredi A, Kolacsek O, Pergel E, Bősze Z, Bender B, Vajdovich P, Tóvári J, Homolya L, Szakács G, Héja L, Enyedi Á, Sarkadi B, Apáti Á, Orbán TI. Generation of a Homozygous Transgenic Rat Strain Stably Expressing a Calcium Sensor Protein for Direct Examination of Calcium Signaling. *Sci Rep.* 2015 Aug 3;5:12645. doi: 10.1038/srep12645. PMID: 26234466; PMCID: PMC4522653.
- [42] Szabó K, Füredi A, Kolacsek O, Csohány R, Prókai Á, Kis-Petik K, Szabó A, Bősze Z, Bender B, Tóvári J, Enyedi Á, Orbán TI, Apáti Á, Sarkadi B. Visualization of Calcium Dynamics in Kidney Proximal Tubules. *J Am Soc Nephrol.* 2015 Nov;26(11):2731-40. doi: 10.1681/ASN.2014070705. Epub 2015 Mar 18. PMID: 25788535; PMCID: PMC4625667.
- [43] Sarkadi B, Orbán TI, Szakács G, Várady G, Schamberger A, Erdei Z, Szabó K, Homolya L, Apáti A. Evaluation of ABCG2 expression in human embryonic stem cells: crossing the same river twice? *Stem Cells.* 2010 Jan;28(1):174-6. doi: 10.1002/stem.262. PMID: 19924769.
- [44] Erdei Z, Sarkadi B, Brózik A, Szabó K, Várady G, Makó V, Péntek A, Orbán TI, Apáti Á. Dynamic ABCG2 expression in human embryonic stem cells provides the basis for stress response. *Eur Biophys J.* 2013 Mar;42(2-3):169-79. doi: 10.1007/s00249-012-0838-0. Epub 2012 Aug 1. PMID: 22851001.
- [45] Erdei Z, Schamberger A, Török G, Szabó K, Várady G, Orbán TI, Homolya L, Sarkadi B, Apáti Á. Generation of multidrug resistant human tissues by overexpression of the ABCG2 multidrug transporter in embryonic stem cells. *PLoS One.* 2018 Apr 12;13(4):e0194925. doi: 10.1371/journal.pone.0194925. PMID: 29649238; PMCID: PMC5896897.
- [46] Broca-Brisson L, Harati R, Disdier C, Mozner O, Gaston-Breton R, Maïza A, Costa N, Guyot AC, Sarkadi B, Apáti A, Skelton MR, Madrange L, Yates F, Armengaud J, Hamoudi R, Mabondzo A. Deciphering neuronal deficit and

protein profile changes in human brain organoids from patients with creatine transporter deficiency. *Elife*. 2023 Oct 13;12:RP88459. doi: 10.7554/eLife.88459. PMID: 37830910; PMCID: PMC10575631.

- [47] Apáti Á, Varga N, Berecz T, Erdei Z, Homolya L, Sarkadi B. Application of human pluripotent stem cells and pluripotent stem cell-derived cellular models for assessing drug toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2019 Jan;15(1):61-75. doi: 10.1080/17425255.2019.1558207. Epub 2018 Dec 17. PMID: 30526128.

Gárdos György munkássága

Az akadémikusok választásánál ma a Biológiai Osztályon arra kell az előadásban válaszolni a jelölteknek, hogy mi volt a legfontosabb felfedezésük, amely egyértelműen az ő nevükhöz, munkásságukhoz kötődik. Nagyon nehéz kérdés, és bizony csak kevesek képesek olyan originális felfedezést bemutatni, amely az egész világon feltűnést, elismerést keltett. Nem lett volna ez probléma Gárdos György esetében – ha egyáltalán szóba jött volna az ő akadémikussá választása. Mivel igen szerény és visszahúzó ember volt, nem nagyon vett részt az országos tudomány-(vagy bármiféle) politikában, bár itthon és világszerte ismert volt a munkássága, és a nemzetközi szakmai közéletben is aktívan részt vett, hazai dicsőségekre nem pályázott.

Gárdos György 1927-ben Budapesten született, szülei tisztviselők voltak, akiket 1944-ben a nyilasok megöltek, a rokonok Auschwitz-ban pusztultak el; a 17-éves fiú kalandosan bujkálva menekült meg. 1950-ben szerzett vegyészdiplomát a Pázmány Péter Tudományegyetemen. 1949-től 1964-ig a Budapesti Orvostudományi Egyetem Orvosi Vegytani Intézetében Straub F. Brunó mellett dolgozott, majd az Országos Vérellátó Szolgálat tudományos osztályvezetője lett, ahonnan 1992-ben ment nyugdíjba.

Saját beszámolója szerint, „Legkomolyabb visszhangja az 1954-es majd 1957-es közleményemnek van (1, 2), amelyekben egyrészt leírtam azt a módszert, mellyel vörösvérsejtek belsejébe ATP juttatható be, másrészt ... kísérleti bizonyítékát adtam annak, hogy a vörösvérsejtek aktív kationtranszportja ATP-dependens folyamat... Ugyancsak jelentős nemzetközi visszhangja van azoknak a munkáimnak, amelyek a „Gárdos-effect” néven emlegettek, az alkáli földfémeknek a K, Na transzportra gyakorolt hatását mutatták be (2, 3)”. Érdekes történet, hogy Jens Skou, aki 1997-ben a Na, K pumpa felfedezésért kapott Nobel díjat, a korabeli releváns kutatásokról azt írta, hogy „There were two papers I did not read, one was by G. Gardos from Budapest published in 1954 in a Hungarian journal, which I did not have access to.... In this Gardos showed that ATP supported the active uptake of K⁺ in red blood cells.”. Személyes tanúja voltam, hogy még 1995-ben Skou meglátogatta Gárdost, mint a később Nobel-díjjal jutalmazott felfedezés egyik aktív szereplőjét. A később KCNN4-ként azonosított kalcium-aktivált kálium csatornára vonatkozóan pedig a „Gárdos effektus”, vagy „Gárdos csatorna” ma is használt terminus (4-6).

- [1] GARDOS G. Akkumulation der Kaliumionen durch menschliche Blutkörperchen [Accumulation of potassium ions by human blood corpuscles]. *Acta Physiol Acad Sci Hung*. 1954;6(2-3):191-9. German. PMID: 13217849.
- [2] GARDOS G, STRAUB FB. Über die Rolle der Adenosintri-phosphorsäure (ATP) in der K-Permeabilität der menschlichen roten Blutkörperchen [The role of adenosine-triphosphoric acid (ATP) in the potassium permeability of human erythrocytes]. *Acta Physiol Acad Sci Hung*. 1957;12(1-3):1-8. German. PMID: 13497708.
- [3] GARDOS G. The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*. 1958 Dec;30(3):653-4. doi: 10.1016/0006-3002(58)90124-0. PMID: 13618284.
- [4] Maher AD, Kuchel PW. The Gárdos channel: a review of the Ca²⁺-activated K⁺ channel in human erythrocytes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003 Aug;35(8):1182-97. doi: 10.1016/s1357-2725(02)00310-2. Erratum in: *Int J Biochem Cell Biol*. 2003 Dec;35(12):1682. PMID: 12757756.

- [5] Klei TRL, Dalimot JJ, Beuger BM, Veldthuis M, Ichou FA, Verkuijlen PJJH, Seignette IM, Ligthart PC, Kuijpers TW, van Zwieten R, van Bruggen R. The Gardos effect drives erythrocyte senescence and leads to Lu/BCAM and CD44 adhesion molecule activation. *Blood Adv.* 2020 Dec 22;4(24):6218-6229. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003077. PMID: 33351118; PMCID: PMC7757008.
- [6] Allegrini B, Mignotet M, Rapetti-Mauss R, Borgese F, Soriani O, Guizouarn H. A new regulation mechanism for KCNN4, the Ca²⁺-dependent K⁺ channel, by molecular interactions with the Ca²⁺pump PMCA4b. *J Biol Chem.* 2025 Feb;301(2):108114. doi: 10.1016/j.jbc.2024.108114. Epub 2024 Dec 21. PMID: 39716493; PMCID: PMC11787511.

Bemutatkozik a szegedi krio-elektronmikroszkópia (cryo-EM) műszerközpont

Bélték Péter

Szegedi Tudományegyetem
Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központ
Élettelen Természettudományok Klaszter

Összefoglaló

Az elmúlt évtized egyik leglátványosabb technológiai forradalma a strukturális biológia területén a kriogén elektronmikroszkópia (cryo-EM) térnyerése volt. Míg korábban a magas felbontású szerkezetmeghatározás elsősorban röntgenkristallográfiára vagy NMR-spektroszkópiára támaszkodhatott, mára a cryo-EM összemérhető pontosságú, sőt bizonyos esetekben nagyobb felbontással rendelkező módszerré vált a komplex makromolekulák, dinamikus molekuláris szerkezetek és nagyméretű fehérje komplexek vizsgálatában. A módszer térnyerése ellenére a magyar tudományos közbeszédben a várhatónál jóval kevesebb figyelem összpontosult a krio-elektronmikroszkópiára, ami nagyrészt annak tudható be, hogy a technika nem volt elérhető Magyarországon. Ebbe a gyorsan növekvő, stratégiai fontosságú kutatási térbe illeszkedik be az a nemzeti szintű kezdeményezés, amelyben a Szegedi Tudományegyetemen épülő Krio-elektronmikroszkóp Műszerközpont - Magyarországon elsőként - meghonosítja a Cryo-EM technikát, és konvencionális elektronmikroszkópos módszerek mellett változatos megoldásokat kínál különböző tudományterületek kérdéseire a szerkezeti biológiától az anyagtudományig.

Summary

One of the most spectacular technological revolutions in the field of structural biology over the past decade has been the rise of cryogenic electron microscopy (cryo-EM). Whereas high-resolution structure determination previously relied primarily on X-ray crystallography or NMR spectroscopy, cryo-EM has now become a method with comparable accuracy and, in some cases, even higher resolution for the study of complex macromolecules, dynamic molecular assemblies, and large protein complexes. Despite the growing popularity of the method, cryo-electron microscopy has received much less attention than expected in Hungarian scientific discourse, largely because the technique was not available in Hungary. This rapidly growing, strategically important field of research is the focus of a national initiative in which the Cryo-Electron Microscopy Instrument Center, currently under construction at the University of Szeged is introducing cryo-EM technology for the first time in Hungary and, in addition to various conventional electron microscopy methods, offers a range of solutions to questions in various scientific fields, from structural biology to materials science.

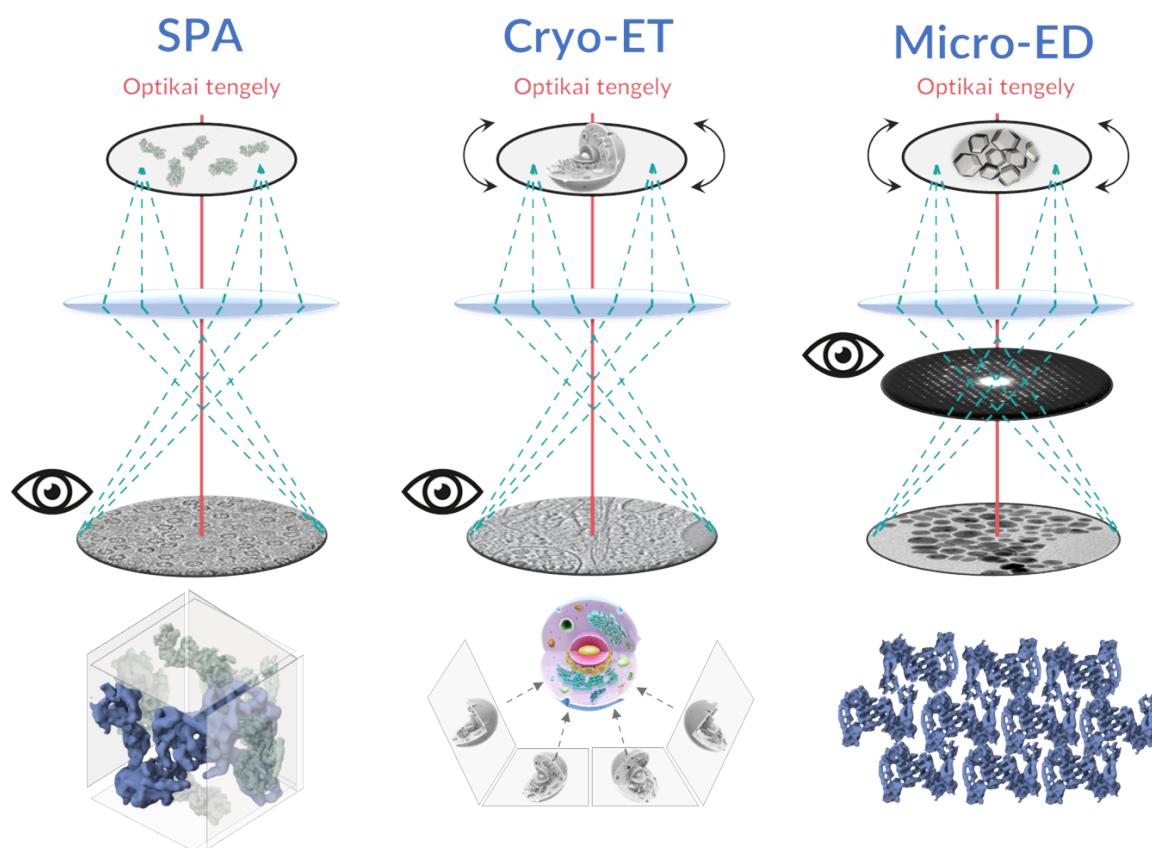
Krio-elektronmikroszkópok és mintaelőkészítés

A Szegedi Tudományegyetem Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központjához (SZTE IKIKK) tartozó Élettelen Természettudományok Klaszter ad otthont az ország első olyan műszerközpontjának, ahol a krio-elektronmikroszkópia (Cryo-EM) elérhetővé válik. Mindez rögtön két mikroszkóp segítségével valósul meg, ugyanis az épülő központ egy 100 kV gyorsítófeszültséggel működő Thermo Fisher Scientific Tundra-, illetve egy 200 kV-os, a legújabb generációs detektorral és energiaszűrővel felszerelt Thermo Fisher Scientific Glacios 2 típusú krio-elektronmikroszkópnak is otthont ad. A két mikroszkóp együttműködése a maximális hatékonyságot hivatott elősegíteni, ahol a kisebb, 100 kV-os műszer a minták előszűrését, a 200 kV-os rendszer pedig értékes mérési adatok gyűjtését és feldolgozását látja el.

A beruházás jelentőségének szemléltetéséhez érdemes említést tenni az elmúlt évtizedben történt jelentős fejlődésről a kriogén elektronmikroszkópia területén. Habár a cryo-EM története a 80-as években kezdődött és használata sokáig a sugárzásra érzékeny, biológiai minták nagyfelbontású leképezésére szorítkozott, napjainkban a módszer makromolekuláris szerkezetek atomi szintű meghatározását is lehetővé teszi. A 2010-es évek első felében

megjelentek a direkt elektron detektorok (DED), amellyel kezdetét vette az úgynevezett „felbontás forradalom” (*resolution revolution*) [1]. Ameddig a hagyományos CCD detektorokban lejátszódó elektron-fény konverzió nagy elektrondózist és lassú leképezést tett szükségessé, ezek az újgenerációs detektorok alacsony dózisa optimalizáltak, képek helyett pedig videókat készítenek, így az elektronok becsapódásából származó hőmozgás és degradáció nyomon követhető és korrigálható [2]. A DED-oknak és a rekonstrukciós műveleteket segítő hardveres és szoftveres fejlesztéseknek köszönhetően mára az atomi felbontás is elérhetővé vált, amellyel a cryo-EM a szerkezeti biológia élvonalában lévő módszerek (röntgenkristallográfia, NMR-spektroszkópia) érvényes alternatívájává nőtte ki magát, a saját előnyeivel és korlátaival.

A 3D képalkotás és szerkezetmeghatározás három fő megközelítése az egyedi részecskék analízise (*single particle analysis*, SPA), az krio-elektromtomográfia (Cryo-ET) és a mikrokristály elektrondiffrakció (Micro-ED). Ezek közül túlnyomóan a SPA képalkotás szerepel az aktuális kutatások középpontjában, mivel ez a módszer esett át a legnagyobb fejlődésen a felbontás forradalom következtében [2]. A technika alapja, hogy nagy tisztaságú, homogén mintákat fagyasztunk le, amelyekben a makromolekulák (ideális esetben) véletlenszerű orientációban helyezkednek el; ezeket egyazon struktúra különböző vetületeiként értelmezve a 2D-s leképezésekből a 3D-s szerkezet meghatározható. A SPA előnye a röntgendiffrakcióval szemben, hogy nincs szükség kristályok növesztésére, relatíve kevés anyag (μg nagyságrend) szükséges a mérésekhez, és nagyobb heterogenitás mellett is alkalmazható, például képes különbséget tenni különböző konformációk között egy mintán belül [2]. A nyers adatok jel-zaj aránya azonban a vizsgált szerkezetek méretének csökkenésével folyamatosan romlik, 50 kDa alatt a módszer korlátokba ütközhet.



1. ábra. A cryo-EM alapú háromdimenziós képalkotás fő megközelítései. SPA: single particle analysis, Cryo-ET: cryo-electron tomography, Micro-ED: microcrystal electron diffraction.

Ezek a korlátok meghaladhatók a mikrokristály elektrondiffrakció (micro-ED) segítségével, ami sajátos módon mind a SPA megközelítés, mind a röntgenkristallográfia potenciális kiegészítő módszerévé válhat és egyre nagyobb figyelemnek örvend. Ha krio-elektronmikroszkóp segítségével egykristályokat vizsgálunk és a képsík helyett a hátsó fókuszsíkot képezzük le, a röntgendiffrakciós mintázatokkal analóg elektrondiffrakciós felvételeket készíthetünk. A mintatartó döntésével különböző szögek mentén felvéve az ED mintázatok, a kristályszerkezet meghatározható. A módszer komplementaritása több dologban is megnyilvánul. A mikrokristályok elektronmikroszkópos szerkezetmeghatározása lehetőséget adhat a SPA megközelítéshez túlságosan kicsi szerveződések vizsgálatára, a röntgenkristallográfiához pedig úgy kapcsolódik, hogy sokkal kisebb kristályokat (~100 nm) vizsgálhatunk vele, így nehezen kristályosítható makromolekulák szerkezete is vizsgálható.

A krio-elektrontomográfiát (cryo-ET) jellemzően nagyobb szerkezeti heterogenitást mutató (pl. liposzómák, vezikulumok), illetve nagyobb méretű (sejtek, szövetek) minták vizsgálatára használjuk. A SPA módszerhez hasonlóan itt is különböző vetületek leképezése a cél, a motívumok egyedülállóságából fakadóan azonban egyazon területről készítünk felvételeket a minta folyamatos forgatása mellett. A cryo-ET eljárásra gyengébb (nm-es) felbontás jellemző a SPA-hoz képest, ami olyan adottságokból származik, mint az ismételt besugárzás következtében történő degradáció, illetve az a tény, hogy korlátozott a leképezhető látószögek intervalluma. A hatékony képalkotó módszer megválasztása azonban önmagában nem elég az atomi felbontás eléréséhez. A mai legmodernebb krio-elektronmikroszkópok olyan fejlett rendszerek, hogy még a „belépő szintű” modellek is képesek atomi felbontásra bizonyos körülmények között. Mivel a műszerek adottságai nem akadályozó tényezők, a tapasztalatok alapján az eredmények minőségét befolyásoló legnagyobb bizonytalanságot - a minta minőségét leszámítva - a mintaelőkészítés jelenti [3]. A biológiai kriogén mintaelőkészítés legfőbb újítása a vitrifikáció alkalmazása, amelynek során gyors fagyasztás segítségével a vizet kristályosodás nélkül, üvegszerű állapotban alakítjuk jéggé, ezzel megőrizve a biológiai minták hidratált állapotát és biztosítjuk, hogy a jég „átlátható” legyen az elektronok számára [2]. A jégkristályok mind a biológiai struktúra károsodását, mind az elektronok diffrakcióját előidézik, ezzel ellehetetlenítve a pontos képalkotást. A vitrifikáció azon megoldása, amiért Jacques Dubochet 2017-ben Nobel-díjas lett az az ún. merítő fagyasztás (*plunge freezing*) [4]. Ennek során a mintatartókra nagyon vékony rétegben (>100 nm) visszük fel a makromolekulákat tartalmazó folyadékmintát, majd azt valamilyen kriogén folyadék - rendszerint folyékony etán - segítségével vitrifikáljuk. Mivel az eljárás során számos paramétert kontrollálni kell (mintafelesleg precíz eltávolítása, páratartalom a fagyasztás előtt és közben, a folyamat lépései közötti gyors váltás stb.) ezért a fagyasztást is specializált műszerekkel végezzük. Ez Szegeden a mikroszkópok gyártója által forgalmazott legújabb generációs Thermo Fisher Scientific Vitrobot Mark IV segítségével valósul meg, amely félautomata működése egyszerű és reprodukálható mintaelőkészítést tesz lehetővé.

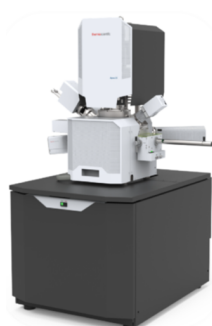
A Cryo-EM műszerekhez hasonló transzmissziós elrendezésű elektronmikroszkópok egyik fontos, mintákkal szembeni kritériuma azok vastagsága, hiszen annak növekedésével egyre nagyobb az elektronok elnyelődésének, illetve visszaszóródásának valószínűsége. Az ideális cryo-EM mintavastagság éppen elég ahhoz, hogy a vizsgált makromolekulák elmerüljenek benne; ez jellemzően <50–100 nm. Ha egy minta ennél jelentősen vastagabb, a kristályos jég kialakulása sem kerülhető el a szegmens belsejében, ezért a nagyobb szerkezetek, pl. többszáz nanométer vastag sejt minták leképezése ugyan lehetséges, de további speciális módszereket és

eszközöket tesz szükségessé. Erre az alapvetően SPA-központú laboratóriumok (mint amilyen az induláskor Szeged is) nem feltétlenül vannak felszerelve, ugyanakkor a terület folyamatosan fejlődik, és vannak olyan speciális sejtvonalak és esetek (pl. jól elterülő sejtek sejtmembránján végbemenő folyamatok), ahol a merítő fagyasztás is sikeresen alkalmazható sejtszintű tomográfias rekonstrukcióhoz [5].

A folyamatos fejlődés és szakértői odafigyelés ellenére a vitrifikációnak vannak bizonytalanságai; a jég minősége a mintaterületen nem egységes (kristályok, repedések, vastagság), a makromolekulák affinitása a különböző felületekhez erősebb lehet, mint a folyadékfázishoz (puffer-levegő határfelület, a mintatartó gridek pl. szén, réz, vagy arany alapú szerkezeti elemei) stb. Emiatt a precíz mintaelőkészítés egy iteratív folyamat, amiben a mintaelőkészítést egy előszűrő lépés követ, ahol a mintákat cryo-EM segítségével alacsonyabb nagyításon validáljuk, hogy érdemes-e az adatgyűjtő lépésre tovább vinni. Mivel egy mikroszkóp egyszerre csak az egyik feladatot képes ellátni, így szerencsétlen esetben a különböző iterációk ellenőrzésével sok időt és erőforrást fecsérelhetünk szükséges, de tudományos eredmények szempontjából eredménytelen feladatokkal, ami alatt hasznos adatgyűjtés is történhet. Ennek a bizonytalan szituációnak a feloldására az SZTE műszerközpontján két cryo-EM is elérhető lesz: az egyszerűbb, 100 kV-os Tundra az előszűrési feladatokat látja majd el, ameddig a 200 kV-os, a legújabb generációs detektorral és energiaszűrővel felszerelt Glacios 2-n már az előzetesen validált minták automatizált mérése történik majd annak érdekében, hogy a műszerek kihasználtságát optimalizáljuk.

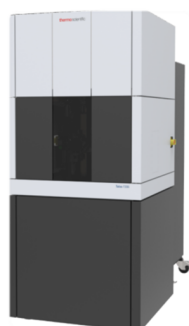
A központ egyéb elektronmikroszkópos technikái

Az épülő központ a szegedi kutatási portfóliót figyelembe véve a kriogén technikákon felül a konvencionális elektronmikroszkópos technikák tekintetében is igyekszik követni a technikai fejlődést, ezért a két krio-elektronmikroszkópon túl két további műszernek is helyet biztosít. A Talos F200i jelzésű transzmissziós elektronmikroszkóp az eddig ismertett cryo-EM műszerekkel analóg módon működik, ugyanakkor fejlett elektronoptikai rendszere és a beépített energiadisziperzív röntgenspektroszkóp (EDS) segítségével főként anyagtudományi minták atomi szintű leképezését és elemvizsgálatát segíti elő.



Apreo 2 S LoVac
+
Volumescope II

SBF-SEM



Talos F200i

Anyagtudományi
HR-TEM
S/TEM-EDS



Tundra

Cryo-EM
előszűrés



Glacios 2
+
Selectris filter és Falcon 4i DED

Nagyfelbontású Cryo-EM

2. ábra. A szegedi cryo-EM műszerközpont elektronmikroszkópjai.

Az Apreo 2 S LoVac névre keresztelt pásztázó elektronmikroszkóp azonban visszakanyarodik az élettudományok területére, ugyanis alacsonyvákuumú üzemmódja az érzékeny, biológiai/szerves minták leképezésére van optimalizálva, ezen felül beszerzésre került egy kevésbé elterjedt, de polimerbe ágyazott biológiai minták 3D-s rekonstrukciójára kiválóan alkalmazható Volumescape. A Volumescape felfogható egy mikroszkópba épített *in situ* ultramikrotómként, amely segítségével a minta felszínének leképezése után eltávolítjuk a felső réteget ~10 nm-es vastagságban, majd leképezzük az új felszínt. Ezen ciklus ismétlésével történő képkalkotást nevezzük SBF-SEM (*serial block-face imaging scanning electron microscopy*) módszernek, amely során a vizualizált rétegeket egymásra helyezve elkészíthetjük a beágyazott minták térfogati reprezentációját.

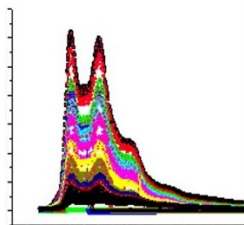
A műszerközpont kialakítása a terv szerinti ütemezésnek megfelelően halad, a mikroszkópok a 2026-os év első negyedében érkeznek Szegedre. A műszerközponttal kapcsolatos hírek a Szegedi Tudományegyetem Interdiszciplináris Kutatásfejlesztési és Innovációs Kiválósági Központ hivatalos weboldalán (<https://u-szeged.hu/ikikk>) lesznek elérhetők.

Irodalomjegyzék

- [1] Zhu KF, Yuan C, Du YM, Sun KL, Zhang XK, Vogel H, Jia XD, Gao YZ, Zhang QF, Wang DP & Zhang HW (2023) Applications and prospects of cryo-EM in drug discovery. *Mil Med Res.* **10**, 10-.
- [2] Saibil HR (2022) Cryo-EM in molecular and cellular biology. *Mol Cell.* **82**, 274–284.
- [3] Karia D, Koh AF, Yang W, Cushing VI, Basanta B, Mihaylov DB, Khavnekar S, Vyrubal O, Malínský M, Sháněl O, Doležal V, Plitzko J, Yu L, Lander GC, Aricescu AR, Greber BJ & Kotecha A (2025) Sub-3 Å resolution protein structure determination by single-particle cryo-EM at 100 keV. *Structure.* **33**, 1717-1727.e4.
- [4] Dubochet J, Frank J & Henderson R (2017) *The Nobel Prize in Chemistry 2017* Stockholm.
- [5] Szwedziak P (2025) In situ structural analysis of mammalian cells using a 200 kV electron cryomicroscope – implications for research infrastructure. *BMC Methods.* **2**, 28-.

Állati görbék

Juhász Tünde
HUN-REN TTK AKI

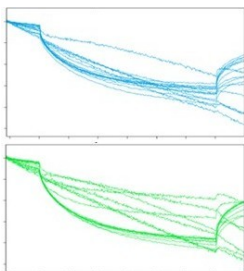


Pirin fluoreszcencia emissziós spektrumai különböző koncentrációban és körülmények között.



Egy kedvesen üldögélő erdei vörös róka? Vagy a Kis herceg rókája szivárványos pizsamában?

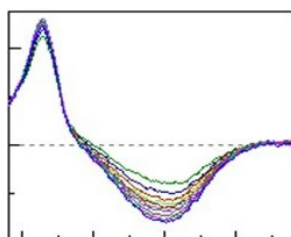
A kísérletes kutató ember fia-lánya is a természet gyermeke, sokszor azonban csak állatkísérletek során kerülhet közvetlen kapcsolatba állatokkal, azok nem túl nagy öröme. Jó hír, hogy in vitro kísérletek során békésen találkozhatunk állatokkal, megfigyelhetjük őket a fekete doboz mélyén. Íme néhány példa saját biofizikás mindennapjaimból...



Jelölt antimikrobiális peptidok MST (mikroskálás termofórezis) görbéi biliverdin jelenlétében.



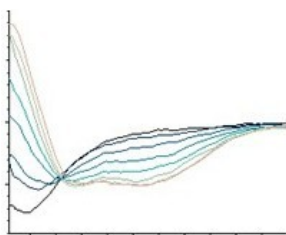
Egy pihenő gébics? Vagy egy feszesen úszó tintahal? (biológusok szisszenjenek fel bátran!)



Retinsav LD (lineáris dikroizmus) spektrumai anionos liposzóma jelenlétében az idő függvényében.



Egy békésen álldogáló gólya? Lépegető gém? Valami hosszú csőrű-nyakú madár, az biztos.



Antimikrobiális peptid CD (cirkuláris dikroizmus) spektrumai heparinos titrálás során.



Itt nincs kérdés, ez egy az óceánban önfeledten úszkáló bálna, hiszen még a fénnyek is stimmelnek.

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

Nyitray László
rovatvezető

Bíztatunk minden, a BIOKÉMIA újságot olvasó **doktori témavezetőt**, 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 téziszfüzet, 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/ContentById/900>) betartásával, az újságban korábban közölt összefoglalókat mintául véve kérjük megírni, 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

Genetikai eszköztár bővítése a szimbiotikus nitrogénkötés működéséhez szükséges növényi gének vizsgálatához

Biró János Barnabás

ELTE Biológia Doktori Iskola, Genetikai Program
HUN-REN SZBK, Növénybiológiai Intézet
témavezető: Dr. Kaló Péter

Expanding the genetic toolbox for studying plant genes essential for symbiotic nitrogen fixation

Összefoglaló

Doktori munkám során az NCR-gének szerepét vizsgáltam *Medicago truncatula* modellnövényekben célzott genomszerkesztéssel. Ezt kiegészítve, a klónozási munkák megkönnyítésére készítettem egy új, szimbiotikus mutánsok vizsgálatához ideális Golden Gate-klónozóhelyekkel ellátott vektorkészletet. Kidolgoztam egy új, egyszerűsített klónozási eljárást egy kétlépcsős Golden Gate-rendszerhez. Ez lehetővé teszi bármilyen, BsaI-alapú Golden Gate-célvektorral kompatibilis, „belépő” klón létrehozását, egyetlen univerzális vektor felhasználásával úgy, hogy a fragmentum klónozása, majd a célvektorba történő átklónozás is mindössze az Eco31I(BsaI) restrikciós enzimet és T4-ligázt igényel. Munkám során bizonyítottam, hogy az új klónozási rendszer kitűnő hatékonyság mellett kimagaslóan pontos és rugalmas.

Kulcsszavak: Golden Gate, plazmid, klónozás, DNS, szimbiotikus nitrogénkötés

Summary

During my doctoral work, I investigated the role of NCR genes in the model plant *Medicago truncatula* using targeted genome editing. In addition, to facilitate the cloning work, I developed a new vector set equipped with Golden Gate cloning sites, ideal for studying symbiotic mutants. I elaborated a new simplified fragment cloning procedure for a two-step Golden Gate system, which allows the creation of any entry clone compatible with BsaI-based Golden Gate destination vectors using a single universal cloning vector. Both fragment cloning and subcloning require only the Eco31I(BsaI) restriction enzyme and T4 ligase. In my work, I demonstrated that the new system is not only highly efficient but also remarkably precise and flexible.

Keywords: Golden Gate, plasmid, cloning, DNA, symbiotic nitrogen fixation

Doktori munkám egyik fő célja hatékony CRISPR–Cas9-alapú célzott genomszerkesztési eljárás kidolgozása *Medicago truncatula* modellnövényre. Távlati célunk a növény gyökérgümőibe bekerülő és ott nitrogénkötő szimbiota baktériumok szabályozásában kiemelkedő szerepet játszó NCR (*Nodule-specific Cysteine-Rich peptides*) -gének evolúciójának és funkciójának részletes feltárása. A növénybiológiai módszerek fejlesztése mellett a munkához kapcsolódó számos rekombináns DNS-konstrukció elkészítéséhez kidolgoztam egy egyszerűsített Golden Gate-alapú klónozási rendszert, valamint készítettem ezzel kompatibilis célvektorokat *Agrobacterium*-közvetített növénytranszformációhoz. Ebben az összefoglalóban csak az utóbbi témakörre fogok fókuszálni.

A növények genetikai transzformációját lehetővé tevő technikák közül máig legnagyobb hatású az *Agrobacterium tumefaciens* baktériumfaj által közvetített eljárás, amely az 1980-as évek második felére jól alkalmazható, alapjaiban máig változatlanul használt rendszerré fejlődött. Az ehhez használt ún. bináris transzformációs vektorrendszer máig széles körben használatban van [1–3].

A bináris vektorrendszer kiforrottságát és praktikusságát jól mutatja, hogy még a 2000-es évek közepén is döntő többségében a hagyományos restriktív endonukleáz-alapú klónozásra alkalmas bináris vektorokat használták növénytranszformációs kísérletekhez. Ezek helyét kezdték átvenni az ún. Gateway klónozó vektorok, amelyek előnye, hogy sokféle célra használhatók [3].

Napjainkban számos még univerzálisabb klónozási technika jelent meg, köztük az ún. Golden Gate-rendszer. Ez a technika lehetővé teszi a teljesen általános, tömeges klónozási feladatok elvégzését, a többlépcsős klónozást és a DNS-elemek hatékony újrahasonosítását. További előnye, hogy „varratmentes” klónozást is lehetővé tesz, és a kimagasló hatékonyság mellett rendkívül olcsó technikának is számít [4,5]. Hátránya elsősorban a sokoldalúságából adódik, ugyanis számos egymással csak részben kompatibilis Golden Gate-rendszer került kifejlesztésre, és ezek sokszor önmagukban is rendkívül komplexek, többféle enzimet és méretes vektorkönyvtárakat igényelnek.

A Golden Gate klónozási eljárás a II-es típusú restriktív endonukleázok egy külön csoportjára (TIIS – *type II shifted*) épít, melyeknél a felismerőhely és a hasítóhely egymástól kissé eltoltan (de jól definiáltan) helyezkedik el. Ennek legfontosabb következményei, hogy az egyetlen enzim emésztése által generált „ragadós” DNS végek nem feltétlenül lesznek összeillőek, és a DNS hasítása nyomán keletkező két vég közül az egyik teljes felismerő hely marad, míg a másik vég nem tartalmazza az enzimfelismerő helyet. Ezekből vezethető le a Golden Gate-reakció azon előnyös tulajdonsága a hagyományos restriktív endonukleáz-alapú klónozással szemben, hogy a hasítás és a ligálás egyidejűleg történhet.

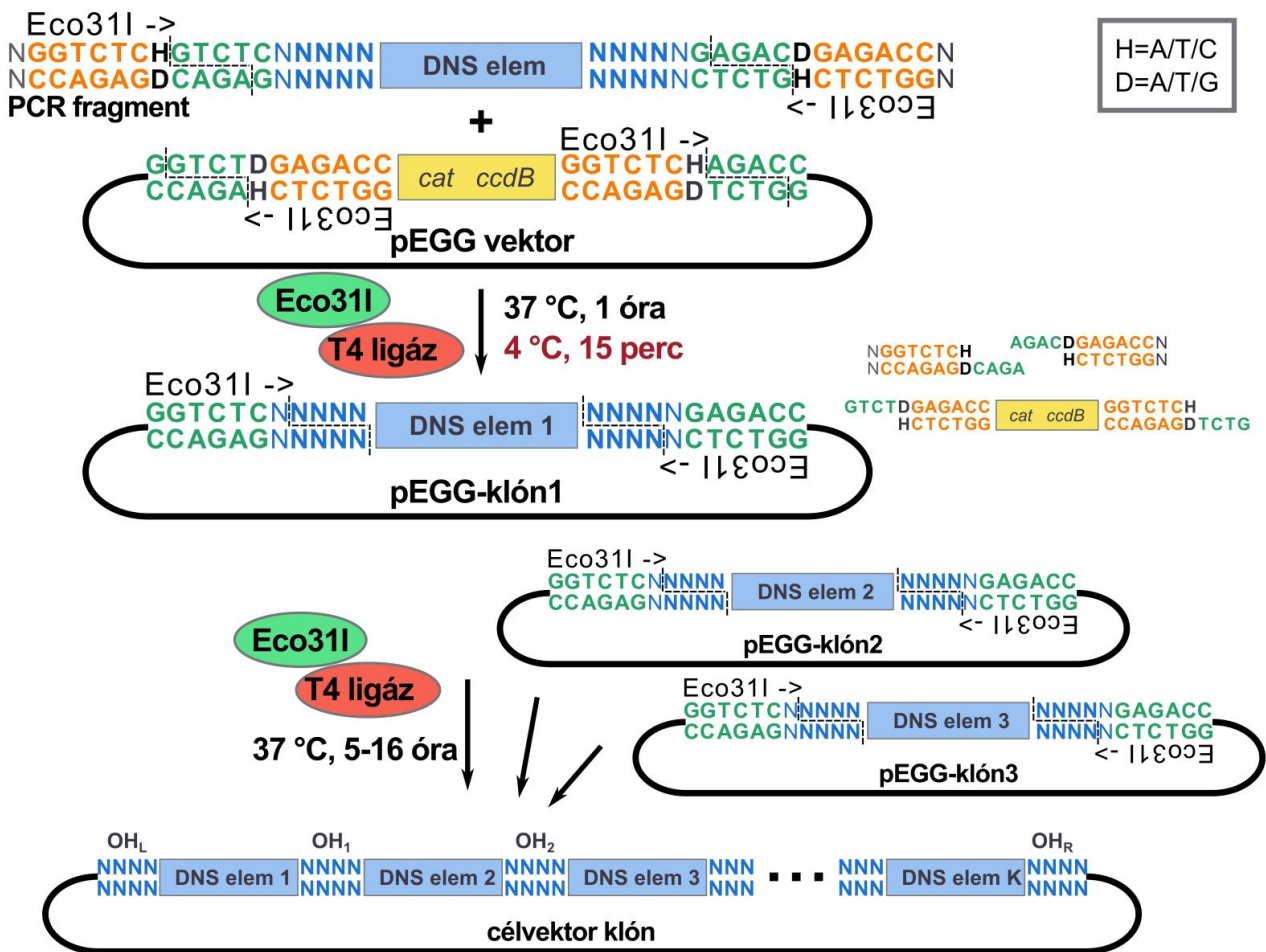
Mivel a Golden Gate-klónozás során a klónozóhelyről illetve a beillesztett inszertek végeiről eltávolítódik a klónozáshoz használt restriktív endonukleáz felismerőhelye, ezért a Gateway-rendszerrel ismert többlépcsős klónozási rendszerhez hasonló sémák megvalósítása ennél a rendszerrel nem magától értetődő. A probléma leggyakrabban egy további restriktív enzim használatával, illetve az ehhez tartozó felismerőhelyek integrálásával kezelhető. A belépőklónokból a célvektorba történő átklónozás leggyakrabban BsaI restriktív enzimet használó Golden Gate-reakcióval történik, az ezt megelőző klónozási lépés(ek)nél viszont változatos, hogy milyen enzimek, illetve eljárások kerülnek felhasználásra [5–8].

Munkám során célul tűztem ki egy olcsó, egyszerű, de mégis hatékony alternatív eljárás kidolgozását a Golden Gate belépő klónok elkészítésére. Céлом volt, hogy a teljes klónozási rendszer minimális idő és kezdeti anyagi ráfordítással átvehető legyen, szemben számos fejlett, ám rendkívül bonyolult Golden Gate-rendszerrel.

Eredmények és megvitatásuk

Alapötletem az volt, hogy megfelelő tervezés esetén a beépítendő fragmentumon és a vektorvázon kódolt Eco31I (=BsaI) -felismerőhelyek kiesése után a kompatibilis ragadósvégek ligálása egy új elcsúsztatott Eco31I-felismerőhelyet hoz létre (1. ábra), mellyel a klónozott DNS-fragmentum egy célvektorba átklónozható. Utóbbi felismerőhely ugyan megmarad a kész belépőklónon, ezért az a Golden Gate-reakció során folyamatosan ki van téve az Eco31I általi hasításoknak, ugyanakkor a rendszer maga mégsem reverzibilis, hiszen ez az új Eco31I-hely már másik 4 nukleotidnál képezi a fragmentumok ragadós végeit. Ebből következik, hogy

amelyik vektorba egyszer ligálódott a kívánt fragmentum, az már a későbbiekben nem képes visszaalakulni az eredeti üres vektorrá, mert az eredeti töltélszekvenciával már nem kompatibilisek a ragadós végei. Ennek eredményeként a reakció során időben folyamatosan csökken az üres belépő vektorok aránya, míg az inszertet hordozók aránya nő, bár utóbbi vektorok lehetnek cirkularizált és felnyitott állapotban is. A reakció során eredeti állapotukban maradt/helyreált „üres vektorok” negatív szelekcióját a belőlük ki nem vágódó toxikus *ccdB* gén teszi lehetővé. Az elv további szépsége, hogy az újonnan keletkező *Eco31I*-felismerőhely az inszert végeire tetszőlegesen tervezett 4 nukleotidnál hasít, így egyetlen belépő üres vektorral (pEGG) bármilyen (*Eco31I* kompatibilis) ragadós vég kombinációval kihasítható fragmentum klónozhatóvá válik (1. ábra).



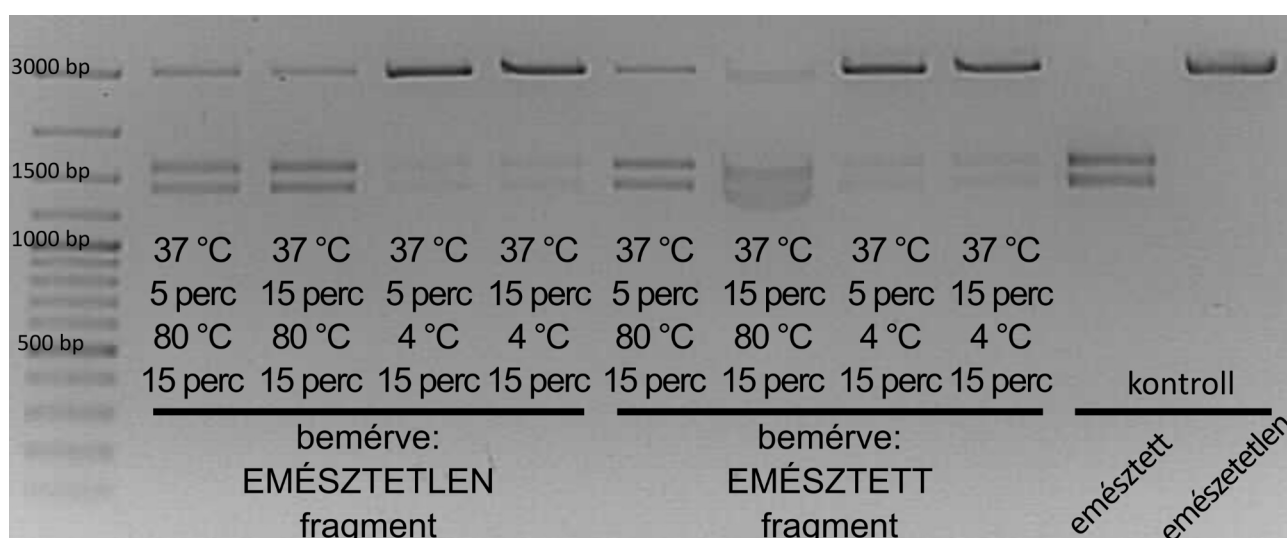
1. ábra. A pEGG-alapú PCR-termék klónozásának sematikus folyamatábrája, kiemelve *Eco31I*/*BsaI* felismerőhelyek alakulását. Az *Eco31I* hasítást követően a PCR-termék végein visszamaradó ragadósvégek az üres vektoron képződő ragadósvégekkel egyesülve új *Eco31I*/*BsaI* felismerőhelyeket hoznak létre. Az újonnan létrejött felismerőhelyekhez tartozó hasítóhelyek az inszert végeire tervezett 4-4 nukleotidnyi tetszőleges szekvenciájú DNS szakaszra esnek. Egy második Golden Gate reakció során a pEGG klónokból a célvektorokba varrat szekvenciák nélkül összeszerelhetők a kívánt konstrukciók.

Az első klónozási kísérletek bizonyították, hogy az elmélet a gyakorlatban is jól működik, ugyanis egy *mCherry*-tesztfragmentum klónozása nagyszámú telepet eredményezett, amelyek szinte kivétel nélkül mutatták az *mCherry* fehérjére jellemző vörös fluoreszcenciát.

Ezután a reakció optimalizálása érdekében különböző reakció-összetétel mellett, illetve különböző körülmények között vizsgáltam a klónozási hatékonyságot. Azt feltételeztem, hogy a *BsaI* enzim és a T4-DNS-ligáz ellentétes aktivitásának eredményeképp a reakció megállításakor

a mixben jelentős arányban lesznek jelen olyan felnyitott vektorok, melyekben már megtörtént a BsaI-helyek átalakulása, mert legalább egy ízben felvették az *mCherry* tesztfragmentot, viszont a ligálást követően újra felnyíltak. A transzformálás hatékonyságának növelése szempontjából az az ideális, ha a transzformáció előtt a reakcióelegyben a vektorok nagy része cirkuláris állapotban van. Anyag- és munkaigény-megtakarítás céljából a szokásostól eltérő módon hidegkezelést terveztem alkalmazni a vektorok cirkularizálódásának elősegítéséhez, arra építve, hogy a T4-ligáz alacsonyabb hőfokon is megőrzi az aktivitása jelentős részét, szemben az Eco31I restriktív endonukleázzal.

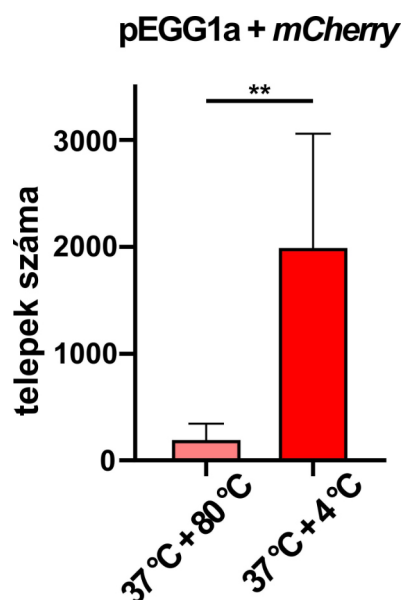
Hogy eldöntsem, vajon elegendő-e az inkubálási hőmérséklet szélsőséges eltolása ahhoz, hogy a hasítás–ligálás reakciót teljesen eltoljuk a ligálás irányába, az alábbi kísérleti rendszert állítottam össze: Egy foszfatáz-kezelt, linearizált pGEM-T Easy DNS vektort, valamint ennek az Eco31I hasított párját használtam kiindulásként. Mindkettőt azonos koncentrációban, azonos mennyiségű Golden Gate-enzimkeverékkel mértem össze. A reakciót aztán 5 perc, illetve 15 perc inkubálás után hirtelen 80 °C fokos hőkezeléssel állítottam meg, vagy pedig 4 °C fokra helyeztem 15 percre, majd a reakciók termékét agarózgélben történő elektroforézissel szeparáltam (2. ábra).



2. ábra. Hidegkezelés hatása a Golden Gate-reakcióra. A defoszforilált lineáris pGEM-T Easy vektor-DNS-t emésztetlenül vagy Eco31I-vel előemésztve Golden Gate emésztés–ligálás reakciókhoz adtam azonos mennyiségekben. A reakcióelegyek 37 °C-on 5 vagy 15 percig inkubáltam, majd 80 °C-ra vagy 4 °C-ra kerültek 15 percre. A termékeket 1 %-os agarózgélben elektroforézissel analizáltam. Megfigyelhető, hogy a reakció hirtelen hőinaktiválással való leállítás után nagyjából azonos mennyiségű emésztett és ligált termék volt jelen, míg a hidegkezelés után a termékek többsége ligált DNS volt, függetlenül a kiindulási állapottól.

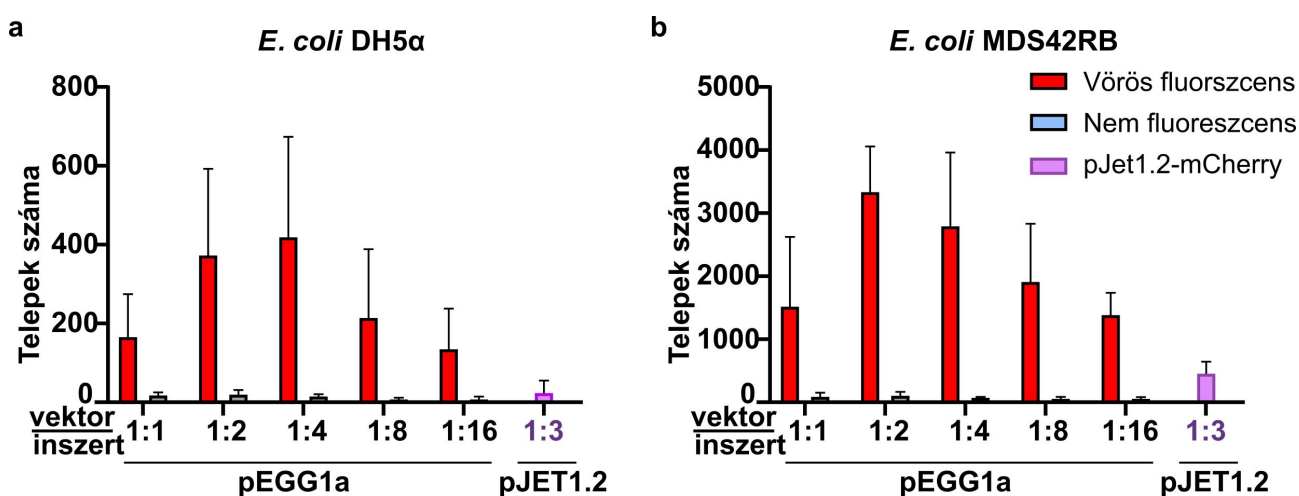
Függetlenül attól, hogy a kiindulási DNS-t hasítottuk-e Eco31I enzimmel, mindössze 5 pernyi reakció után már mindkét esetben nagyjából egyforma mértékben van jelen a hasítatlan és a hasított forma (~3000 bp, illetve ~1600 bp + ~1400 bp), ahogy ez a 80 °C hőkezeléssel hirtelen leállított reakciók esetében látható a 2. ábrán. Hasonló volt az eredmény hosszabb reakcióidő esetén is, amely azt mutatja, hogy dinamikus egyensúlyi állapot alakult ki a reakcióelegyben. Ezzel szemben, ha a 37 °C fokos inkubálást követően a mintákat 15 percre 4 °C fokra helyeztem, akkor a DNS túlnyomó többsége ligálódott és szinte csak a ~3000 bp hosszú forma volt jelen a reakcióelegyben. Az eredményekből azt a következtetést tudtuk levonni, hogy pusztán az inkubációs hőmérséklet radikális változtatása elegendő volt a kompatibilis DNS-végek nagy többségének ligáláshoz.

Az ígéretes eljárást az *mCherry*-DNS ismételt klónozása közben is teszteltem, úgy, hogy egy órás 37 °C-on történő inkubációt követően a reakció felét külön mérve hirtelen 80 °C-os hőkezeléssel megállítottam, míg a másik felét 4 °C-ra helyezve inkubáltam 15 percig a transzformáció előtt (3. ábra). Az alacsony hőfokos kezelés nagymértékben, közel egy nagyságrenddel javította a klónozási hatékonyságot.



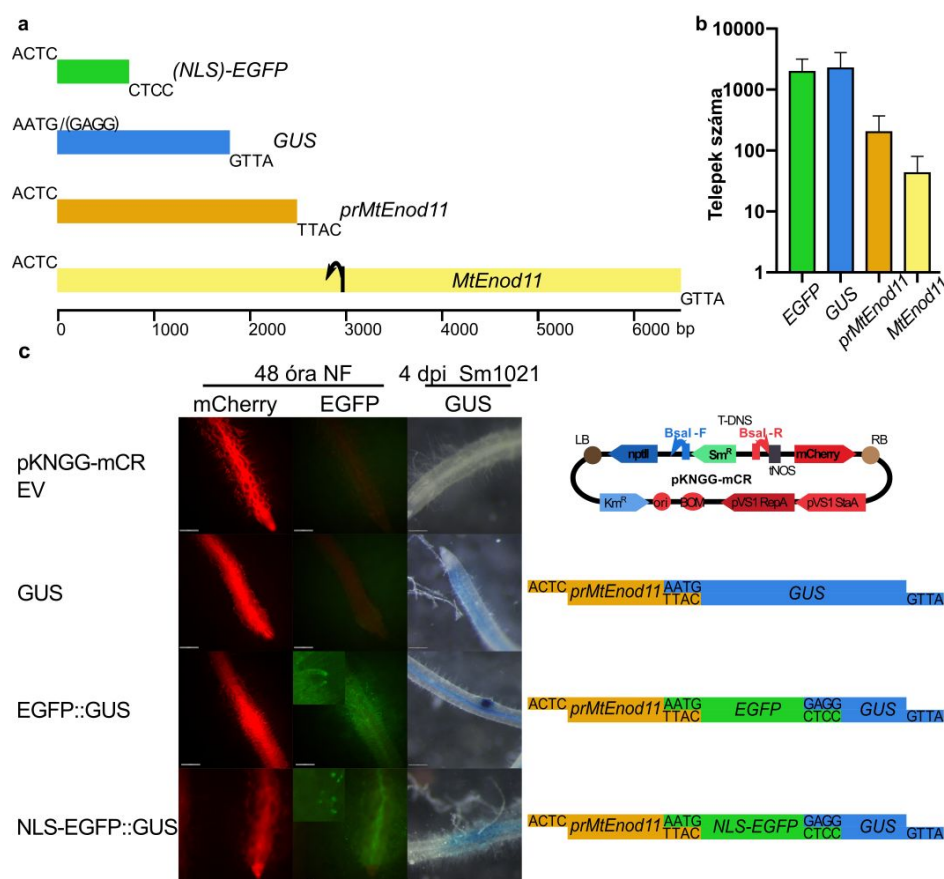
3. ábra. Hidegkezelés hatása a klónozási hatékonyságra. PCR-rel amplifikált *mCherry*-DNS *pEGG1a* vektorokba történő klónozásának hatékonysága. A Golden Gate-reakcióelegyet 37 °C-on 60 percig inkubáltam, majd az elegy felét 80 °C-ra, a másik fele 4 °C-ra helyeztem 15 percre. Az *E. coli* MDS42RB törzsbe történő transzformáció után közel tízszer több kolónia nőtt fel a hidegkezelt reakciók esetén. A szignifikanciaszinteket Welch-féle t-próbával határoztam meg (** $P \leq 0,01$).

Bemutattam, hogy klónozási hatékonyság a vektor:inszert arányt tekintve haranggörbe jellegű lefutást mutatott, melynek szélső értékeinél 1:1 illetve 1:16 arány esetén volt a legkisebb a transzformálást követően a kolóniaszám. Az optimális vektor:inszert arány valahol 1:2 és 1:4 közt lehet. Ilyen arányok esetén egységnyi vektor mintegy hétszeres mennyiségű kolóniát eredményezett, mint a kontrollként használt *pJet1.2*-vektorba történő klónozás.



4. ábra. A pEGG-alapú klónozás hatékonysága a vektor:inszert arány függvényében. Minden reakcióban 50 ng *pEGG1a* vektort volt bemérve, és az *mCherry* PCR fragment mennyisége az ábrán jelzett moláris arányoknak megfelelően volt beállítva. A reakció végeztével az elegy felét *E. coli* DH5a (a), a másik felét *E. coli* MDS42RB (b) házi készítésű kompetens sejtekbe transzformáltam. Kontrollként az *mCherry*-DNS-t *pJET1.2* vektorba ligáltam.

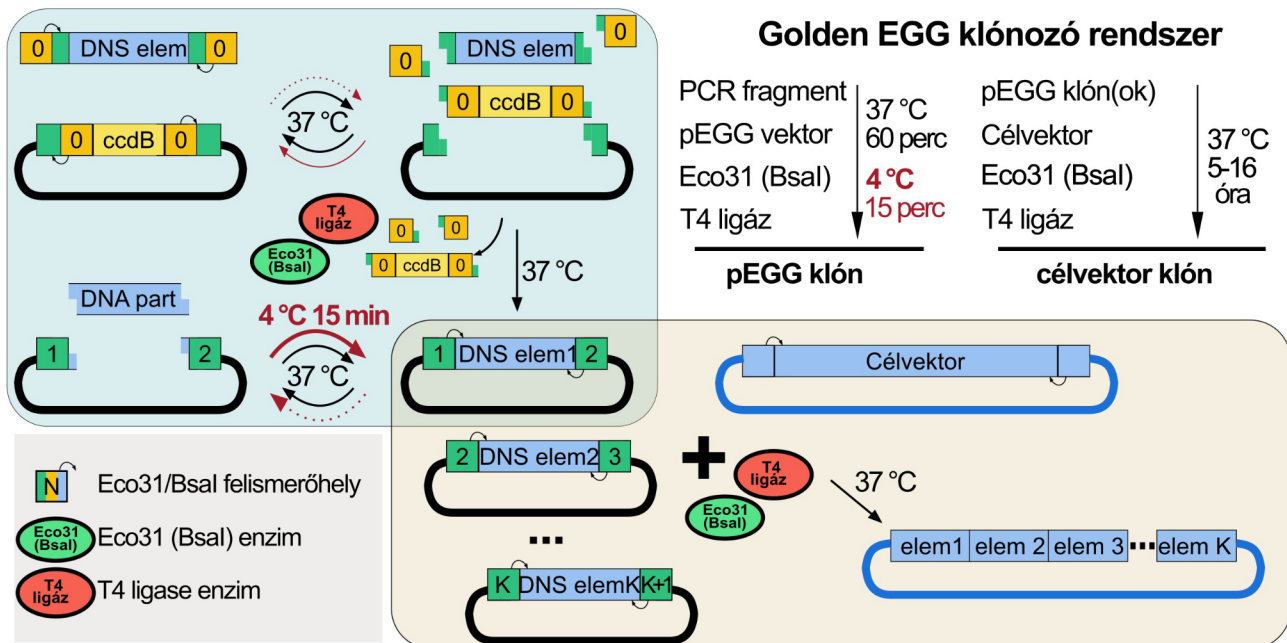
Vizsgáltam az vektorok összeszerelésének pontosságát is mintegy 40 000 kolónia fluoreszcences tulajdonságai-, illetve szűrőpróbaszerű emésztések és szekvenálások alapján. A kapott mintegy 3-4 százaléknyi hibás klón döntő többsége PCR-hibáknak betudható kisebb mutációkat tartalmazott a klónozó DNS-szakasz belső részében, de a klónozóhelyek ezekben az esetekben is hibátlanul összeszerelődtek. Az összeszerelési hibával azonosított vektorok aránya kevesebb, mint 1% volt. Ez egyben azt is jelenti, hogy az alacsony hőmérsékleten kivitelezett befejező lépés nem vezet jelentős mennyiségű hibás ligálási termékhez a nem összeillő végek esetleges stabilabb összetapadása következtében.



5. ábra. Különböző méretű PCR-termékek klónozási hatékonysága. A ~750 bp hosszú EGFP gén (zöld) a ~1800 bp hosszú GUS (*uidA*) riportergén (kék); a ~2500 bp hosszú MtEnod11 promóter (mustárszínű) valamint a ~6500 bp hosszú MtEnod11 gén (sárga), mely egy fekete nyílal jelzett belső Eco31 felismerőhelyet is tartalmaz (a). Amplifikálást követően pEGG1a-vektorba klónoztam őket, majd meghatároztam a telepszámokat (b). A pKNGG-mCR vektorba klónoztott MtEnod11::GUS, MtEnod11::EGFP::GUS és MtEnod11::NLS-EGFP::GUS konstrukciók vázlata (jobb oldalt) és kifejeződésük eredménye *M. truncatula* gyökereiben. Az MtEnod11 promóter által szabályozott riporterek kifejeződését 48 órával Nod-faktor (NF) kezelést követően fluoreszcens mikroszkóppal, illetve 4 nappal *S. meliloti* Sm1021 fertőzést követően (4 dpi) X-Gluc festéssel vizsgáltuk (c).

Végül vizsgáltam az inszert méretének a hatékonyságra gyakorolt hatását és az új klónozási eljárásnak a szekvenciában található eredendően előforduló BsaI hasítóhelyekkel szembeni toleranciáját. A tesztkísérletemben az MtEnod11 promóter aktivitásának méréséhez tervezett konstrukciókat 3 különböző mérettartományba eső fragmentumból állítottam össze: az EGFP, illetve NLS-EGFP körülbelül 750 bázispáros tartományba esett, hasonlóan a korábban használt mCherry tesztfragmentumhoz. A β-glükoronidázt kódoló szekvencia körülbelül 1800 bázispár hosszú, míg az MtEnod11 promóterből egy 2500 bázispáros szakaszt amplifikáltam. Ezek a DNS-fragmentumok a méretük alapján csak egy átlagos, egyszerű klónozás „kihívásainak” reprezentálásra voltak alkalmasak, így egy további klónozó fragmentumhoz is terveztem

primert, amely a nehezebb klónozási feladatok esetén várható hatékonyság bemutatását célozta. Utóbbi az *MtEnod11* promóter kiterjesztésével jött létre, mely magába foglalja a teljes gént, annak kódoló szakaszával és 5'-UTR régiójával együtt. Ez a ~6500 bp hosszú genomi régió, már az amplifikálás szempontjából is viszonylag nehezebb feladatnak tekinthető, de a nagy méret általában a klónozási hatékonyságot is jelentősen csökkenti. További kihívást jelent, hogy a fragmentum közepén található egy natív Eco31I felismerőhely, mely az Eco31I-alapú Golden Gate-klónozás esetén további problémát okozhat.



6. ábra. Egyszerűsített klónozási séma. A hasítóhelyek átalakulása pEGG-vektor-alapú PCR-fragmentum klónozása során, és az inszertet hordozó cirkularizált klónok felhalmozódásának elméleti mozzanatai (halványkék mező). A jobboldali sematikus rajz mutatja a klónozott DNS-elemek átklónozását tetszőleges célvektorba.

A fenti négyféle PCR-amplikont tisztítás után ezúttal is pEGG1a-vektorba klónoztam a beállított optimalizált módszerrel. A háromszori ismétlés átlaga a kisebb inszerteknél, így az *EGFP* és *GUS* esetén a korábbi *mCherry* klónozási hatékonysághoz nagyon hasonló eredményt mutatott, bár érdekes módon a *GUS* klónozási hatékonysága minimálisan meg is haladta a jóval kisebb *EGFP* klónozási hatékonyságát (5. ábra). Érdekes azonban hangsúlyozni, hogy az ilyen kísérleteknél a nagyságrendi változások tekinthetők csak jelentősebbnek, hiszen önmagában a kísérletek közti szórás is nagy lehet számos tényezőtől kifolyólag. Egyik legjelentősebb tényező maga a kompetens sejt minősége, mely akár több nagyságrenddel is befolyásolhatja az eredményt. Jelentősebb eltérést mutatott az *MtEnod11* promóter és az *MtEnod11* hosszú genomi fragmentum klónozása során a kolóniák száma. Míg az előbbi klónozás nagyjából egy nagyságrenddel kevesebb klónt eredményezett, mint az *EGFP* illetve *GUS* klónozása, utóbbinál már közel két nagyságrenddel csökkent a klónozási hatékonyság (5. ábra).

A rendszer felhasználását előmozdítandó, a széleskörben elterjedt, és korábban általunk is használt *Agrobacterium*-alapú növénytranszformációra szolgáló Gateway-alapú ún. bináris vektorok alternatíváiként többféle célvektort is készítettem. Ezekbe különböző, növényekben konstitutívan aktív fluoreszcens marker géneket – *mCherry* (pKNGG-mCR), illetve *Venus-NLS* (pKNGG-YR) – építettem be. Az előbbiben példaként összeszereltem különböző kombinációban a klónozott tesztfragmentumokat egy második Golden Gate- reakció során. A kapott DNS-

konstrukciókkal aztán *M. truncatula* gyökereket transzformáltam és ellenőriztem, hogy a markerek a várt módon detektálhatók a gyökerekben (5. ábra).

Konklúziók

Létrehoztam egy, az eredeti Golden Gate-rendszer elvétől eltérő és egyszerűsített klónozási folyamatot lehetővé tevő univerzális klónozó vektort.

Vizsgáltam az új pEGG1a vektor alapú klónozás hatékonyságát befolyásoló paramétereiket, és kimutattam, hogy 15 perces 4 °C fokos kezeléssel az Eco31I-T4-ligáz párhuzamos hasítási-ligálási reakciója hatékonyan eltolható a ligálás irányába.

Bizonyítottam, hogy a pEGG-alapú klónozási technika kiemelkedően pontos és hatékony klónozást tesz lehetővé.

Az összefoglaló alapjául szolgáló tudományos közlemény

Biró, J. B., Kecskés, K., Szegletes, Z., Güngör, B., Wang, T., Kaló, P., & Kereszt, A. (2024). Golden EGG, a simplified Golden Gate cloning system to assemble multiple fragments. *Scientific Reports*, 14(1), 25288. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77327-4>

Irodalomjegyzék

- [1] Fraley RT, Rogers SG, Horsch RB & Gelvin SB (1986) Genetic transformation in higher plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* **4**, 1–46.
- [2] Hoekema A, Hirsch PR, Hooykaas PJJ & Schilperoort RA (1983) A binary plant vector strategy based on separation of vir- and T-region of the *Agrobacterium tumefaciens* Ti-plasmid. *Nature* **303**, 179–180.
- [3] Komori T, Imayama T, Kato N, Ishida Y, Ueki J & Komari T (2007) Current Status of Binary Vectors and Superbinary Vectors. *Plant Physiol* **145**, 1155–1160.
- [4] Engler C, Kandzia R & Marillonnet S (2008) A One Pot, One Step, Precision Cloning Method with High Throughput Capability. *PLoS ONE* **3**, e3647.
- [5] Weber E, Engler C, Gruetzner R, Werner S & Marillonnet S (2011) A Modular Cloning System for Standardized Assembly of Multigene Constructs. *PLoS ONE* **6**, e16765.
- [6] Lampropoulos A, Sutikovic Z, Wenzl C, Maegele I, Lohmann JU & Forner J (2013) GreenGate - A Novel, Versatile, and Efficient Cloning System for Plant Transgenesis. *PLoS ONE* **8**, e83043.
- [7] Sarrion-Perdigones A, Falconi EE, Zandalinas SI, Juárez P, Fernández-del-Carmen A, Granell A & Orzaez D (2011) GoldenBraid: An Iterative Cloning System for Standardized Assembly of Reusable Genetic Modules. *PLoS ONE* **6**, e21622.
- [8] Sarrion-Perdigones A, Vazquez-Vilar M, Palaci J, Castelijn B, Forment J, Ziarsolo P, Blanca J, Granell A & Orzaez D (2013) GoldenBraid 2.0: A Comprehensive DNA Assembly Framework for Plant Synthetic Biology. *PLANT PHYSIOLOGY* **162**, 1618–1631.



Biró János Barnabás egyetemi tanulmányait az ELTE Természettudományi Karán végezte. BSc szakdolgozatát a Növény szerkezettani Tanszéken készítette, míg MSc szakdolgozatát a Genetikai Tanszéken *C. elegans* modellrendszerrel foglalkozva. Doktori képzését az ELTE Biológia Doktori Iskolában végezte, de kutatómunkáját külső intézményben a MATE GBI-ben, majd a HUN-REN SZBK Növénybiológiai intézetében folytatta, ahol azóta is dolgozik.

De novo mutációk szerepének feltárása szkizofrénia kialakulásában indukált pluripotens őssejt-modellek alkalmazásával

Dr. Tordai Csongor

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, Mentális Egészségtudományok Tagozat
Semmelweis Egyetem Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Molekuláris Pszichiátria Munkacsoport
HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Élettudományi Intézet, Molekuláris
Sejtbiológiai Munkacsoport, Humán Pluripotens Őssejt Laboratórium
e-mail: tordai.csongor@phd.semmelweis.hu
témavezetők: Dr. Réthelyi János, Dr. Apáti Ágota

Exploring the effects of *de novo* mutations in schizophrenia using induced pluripotent stem cells

Összefoglaló

A vizsgálatunk célja az volt, hogy feltárjuk, hogy szkizofrén betegekben azonosított *de novo* mutációk a ZMYND11 és KHSRP génekben hogyan befolyásolják a neurális fejlődést és neuronok működését. Betegekből származó indukált pluripotens őssejteket differenciáltattunk hippokampális neurális progenitorsejteké és gyrus dentatus szemcsesejteké. A mutációkat hordozó sejtek megfelelően fejlődtek, és nem mutattak látványos morfológiai eltéréseket a kontrollokhoz képest. Transzkriptomikai elemzéseink jelentős génexpressziós változásokat tártak fel a mutációt hordozó sejtvonalakban. A ZMYND11 fehérje pluripotens idegi differenciáció során döntően citoplazmatikussá vált. Funkcionális vizsgálatok alapján a hippokampális NPC-k és a neuronok képesek glutamátra reagálni, és a mutációt hordozó sejtvonalak csökkent aktivitást mutattak glutamát hatására a kontrollokhoz képest. Eredményeink arra utalnak, hogy ezek a mutációk beavatkoznak a neurális fejlődési és szinaptikus folyamatok egyensúlyába. Ez az egyensúlyzavar hozzájárulhat szkizofrénia kialakulásához, és új lehetőségeket nyit a molekuláris patomechanizmusok további vizsgálatára.

Kulcsszavak: szkizofrénia, hiPSC, neurális fejlődés, *de novo* mutáció, ZMYND11

Summary

Our study aimed to clarify how *de novo* mutations in ZMYND11 and KHSRP genes found in schizophrenic (SCZ) patients influence neural development and neuronal function. Induced pluripotent stem cells from SCZ patients were differentiated into hippocampal neural progenitor cells and dentate gyrus granule cells. These cells developed normally, without major morphological differences compared to controls. Transcriptomic analyses revealed substantial gene expression changes in mutant progenitors and neurons. During neuronal differentiation, the ZMYND11 protein becomes predominantly cytoplasmic. Functional assays showed that both progenitors and neurons respond to glutamate, and the reaction is significantly smaller in ZMYND11 mutant neurons and KHSRP mutant NPCs. Together, these results suggest that the examined mutations disrupt neurodevelopmental and synaptic processes. Such disturbances may contribute to the emergence of SCZ and offer deeper insight into its underlying cellular and molecular mechanisms.

Keywords: schizophrenia, neurodevelopment, hiPSC model, *de novo* mutations, ZMYND11

Bevezetés

A szkizofrénia (SCZ) egy krónikus betegség, amelyet hallucinációk, téveszmék és dezorganizált gondolkodás illetve viselkedés jellemez. A közelmúlt kutatásai ellenére a betegség patofiziológiája továbbra sem teljesen tisztázott, és a jelenlegi terápiás lehetőségek sok esetben nem bizonyulnak kielégítőnek. [1, 2] A klasszikus dopaminerg teória mellett régóta kutatott terület a glutamáterg jelátvitel [3] és a hippokampusz szerepe a betegség kialakulásában [4, 5]. Korábbi vizsgálatok szerint emlősökben a hippokampusz gyrus dentatus régiója az egyik olyan

agyterület, ahol a neurogenesis felnőttkorban is fennmarad. Ennek a folyamatnak a károsodása hozzájárulhat a szkizofrénia patogeneziséhez. [6] Emellett szkizofréniában megfigyelhető a hippocampusok atrófiája. [3] Ezen megfigyelések és feltételezések alapján választottuk a hippocampális sejtek vizsgálatát.

A szkizofrénia erősen öröklődő betegség komplex genetikával. Gyakori, kis hatású egybázis-polimorfizmusok és ritka, de nagy hatású egybázis-variánsok vagy kópiaszám eltérések járulnak hozzá a betegség genetikai rizikójához. [7-9] Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az esetek egy részében a *de novo* mutációk (DNM-ek) a gének kódoló régióiban jelentős mértékben hozzájárulnak a genetikai kockázathoz. [10]. Ilyen DNM-ek vizsgálata mellett döntöttünk, mivel hatásuk feltételezéseink szerint kísérletileg kimutathatóak, és az okozott változást molekuláris szinten magyarázni tudjuk.

A humán indukált pluripotens őssejtek (hiPSC-k) innovatív eszközt jelentenek a sejtszintű patofiziológiai folyamatok vizsgálatára, mivel lehetővé teszik olyan neuronok előállítását, amelyek hordozzák a beteg genetikai állományát. [11] Az így létrehozott neuronok vizsgálata közelebb vihet minket a betegségben zajló sejtszintű patofiziológiai folyamatok megértéséhez.

Disszertációm alapjául két olyan tanulmány szolgál, amelyekben két különböző, eddig nem ismert DNM-t hordozó beteget választottunk egy szkizofrénia kohorszból, és ezen egyének sejtjeiből hiPSC vonalakat létrehozva a mutációk hatását sejtszinten tanulmányoztuk [12, 13].

A kutatásokban való részvételem előtt kiválasztásra került két beteg [14], és az ő sejtjeikből valamint izogén kontroll vagy szülői kontroll sejtjeiből már létrehozták a hiPSC sejt vonalakat.

Célkitűzések

Kutatásunk célja annak vizsgálata volt, hogy szkizofrén betegekben azonosított *de novo* mutációk szerepet játszanak-e a betegség kialakulásában, és milyen sejtszintű molekuláris mechanizmusokon keresztül fejtik ki hatásukat.

Kísérleti kérdéseink voltak, hogy szkizofrén betegekből származó hiPSC-k képesek-e hippocampális neurális progenitor sejtekké (neural progenitor cell, NPC) és funkcionális gyrus dentatus szemcse sejtekké (dentate gyrus granule cell, DGGC) differenciálódni, illetve hogy ezek fejlődése, növekedése és morfológiája eltér-e az egészséges vagy izogén kontroll vonalakétól. A projekt célja továbbá feltárni a mutációt hordozó NPC-k és DGGC-k transzkriptomikai és fehérjeexpressziós sajátosságait RNS-szekvenálási és fehérjelokalizációs vizsgálatok segítségével.

Végül célunk volt megvizsgálni funkcionális tesztekkel, hogy az NPC-k és az *in vitro* előállított neuronok hogyan reagálnak neurotranszmitterekre, például glutamát hozzáadására, és hogy a válaszreakciók mértéke eltér-e a szkizofrén minták és a kontrollok között.

Módszerek

A neurális sejtek differenciálását egy irányított protokoll segítségével végeztük (1. ábra), amelyet Rusty Gage laboratóriumában (Salk Institute, USA) fejlesztettek ki [15].

A szkizofrén betegek hiPSC-it specifikus morfogéneket tartalmazó médiumban tenyésztettük, elősegítve a sejtek differenciálódását neurális irányba, létrehozva NPC-eket, majd később DGGC-khez hasonló neuronokat.

A sejtek fejlődési stádiumának jellemzéséhez immuncitokémiát alkalmaztunk.

A szkizofrén beteg- és kontroll-mintákat NPC illetve differenciált DGGC stádiumban bulk RNS-szekvenálásnak vetettük alá, hogy feltérképezzük a transzkripciós különbségeket közöttük. A differenciálisan expresszált gének elemzését a DESeq2 és Sleuth szoftverekkel végeztük, majd génontológiai (GO) elemzést végeztünk, ami megmutatta, hogy a differenciálisan expresszált gének mely funkcionális kategóriákban találhatóak és mely biológiai folyamatokban vesznek részt.

A neuronok érettségének vizsgálatához multielektroda-array (MEA) méréseket végeztünk, amelyek során az extracelluláris elektromos potenciálokot rögzítettük.

A kalciumképzés (calcium imaging) segítségével a spontán kalcium-tranzienseket és a glutamátra adott válaszreakciókat detektáltuk.

Eredmények

A kiválasztott két beteg közül az egyik, egy 26 éves férfi, aki a ZMYND11 génben hordoz egy eddig nem ismert egybázisos heterozigóta nonszensz *de novo* mutációt. A mutáció bioinformatikai elemzés alapján korai STOP kodont eredményez. PhD munkám nagy része ezen beteg sejtjeinek vizsgálata volt, így az itt közölt eredmények többsége erre az esetre vonatkozik, melyeket az Eredmények 1. alfejezetében mutatok be.

A másik kiválasztott beteg a KHSRP génben hordoz egy szintén eddig nem ismert misszensz *de novo* mutációt. Ezen beteg sejtjeinek vizsgálatát Hathy Edit doktori disszertációja [16] mutatja be részletesen. Jelen összefoglalóban csak szövegesen utalok az eredményekre az Eredmények fejezet 2. alfejezetében.

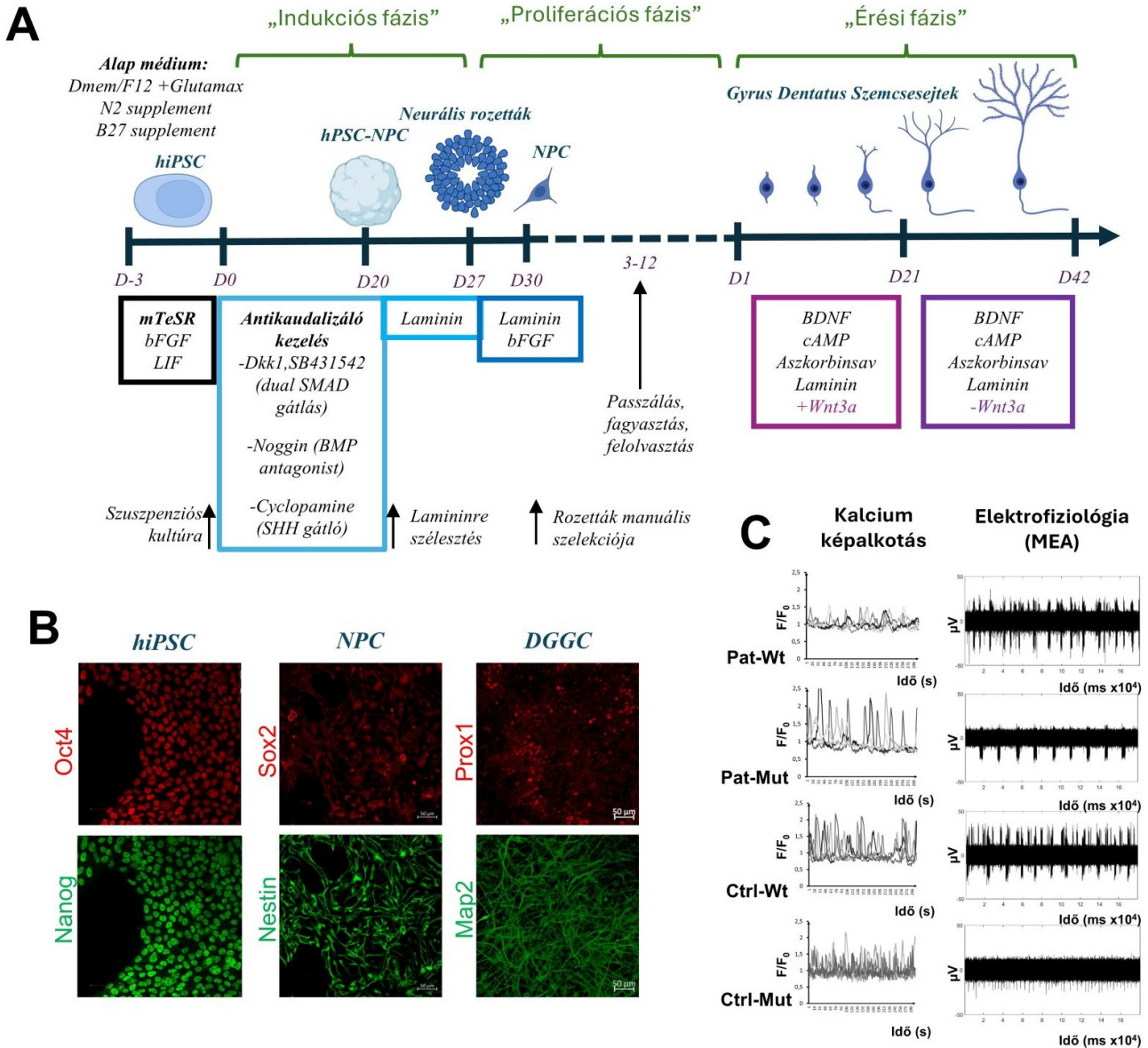
1. A ZMYND11 mutáció hatásának vizsgálata

CRISPR génmódosítás segítségével létrehoztunk izogén hiPSC-vonalakat, ahol a ZMYND11 mutációt javítottuk a betegből származó sejtekben (patient wild type, Pat-wt), és bevezettük egy genetikailag független kontroll sejtvonalba (controll mutant, Ctrl-mut). Így a beteg (Pat-mut) és kijavított (Pat-wt) sejtvonalak közötti különbségeket feltételezhetően a ZMYND11 mutáció okozza, és ezt megerősíti, ha a genetikailag független kontroll (Ctrl-wt) és ebből a mesterségesen létrehozott mutáns (Ctrl-mut) között hasonló különbségeket látunk.

1.1 hiPSC-ből származó hippokampális NPC- és DGGC-tenyészetek morfológiai jellemzése és fenotipizálása

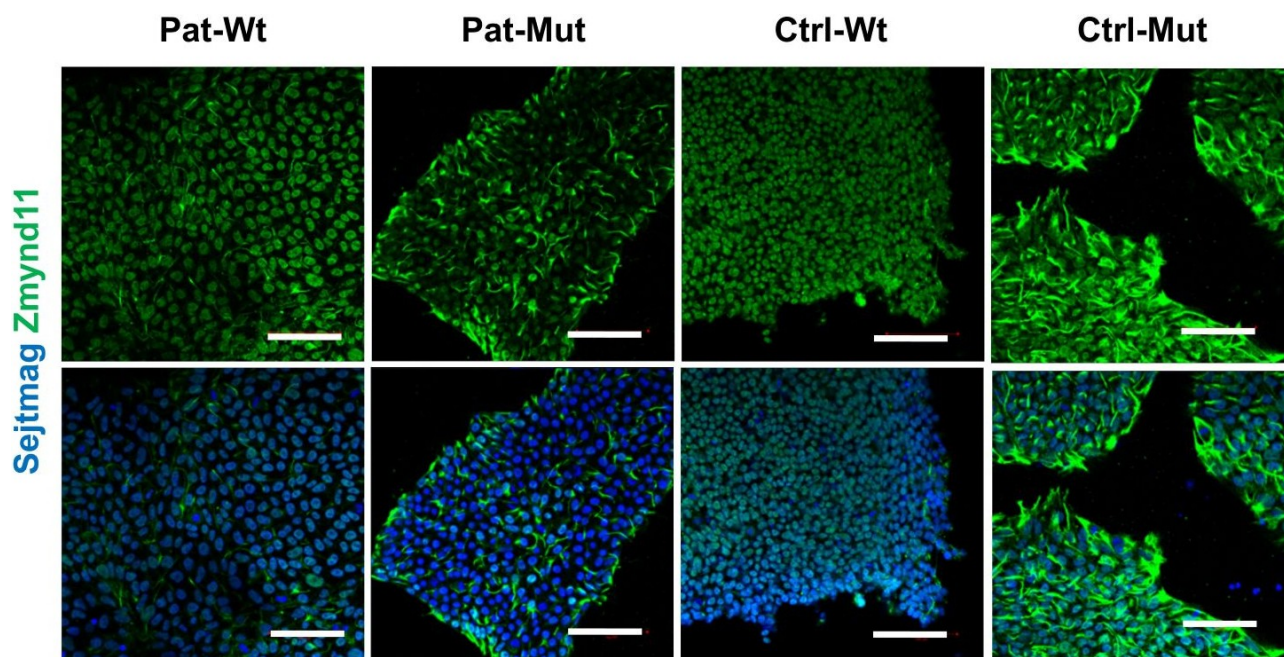
Ezeket a sejtvonalat hiPSC-ből hippokampális NPC-kké és DGGC-kké differenciáltuk irányított differenciálási protokoll által. (1.A ábra) A mutáció nem befolyásolta jelentősen a sejtek életképességét, növekedési kapacitását, illetve a tenyészetek látható morfológiai tulajdonságait. Minden sejtvonalat különböző differenciáltsági stádiumban immunfestéssel karakterizáltunk: pluripotens őssejteket Oct4 és Nanog festéssel, neurális progenitor sejteket Sox2 és Nestin

festéssel, és az érett szemcsesejteket pedig Map2 és Prox1 festéssel. Nem volt jelentős különbség a különböző markerek expressziójában a mutáns és kontroll sejtvonalak között. (1.B ábra) A neuronok funkcionalitását extracelluláris elektrofiziológiai méréssel és kalcium képalkotással igazoltuk, melyeken a spontán idegi aktivitásra jellemző jelek jelentek meg (1.C ábra).



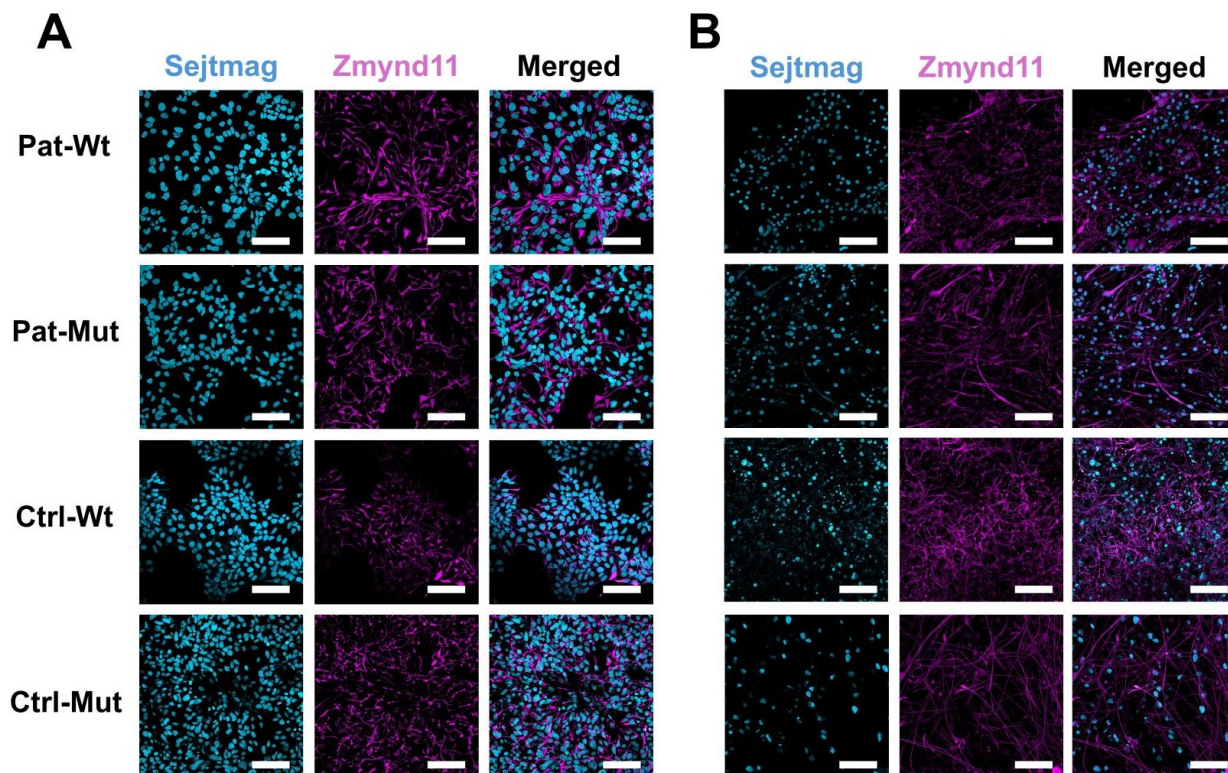
1. ábra. hPSC-k idegi differenciációja és a létrejött idegsejtek karakterizálása (A) Differenciációs protokoll a hippokampális neurális progenitor sejtek (NPC-k) és hippokampális gyrus dentatus szemcsesejt (DGGC) jellegű neuronok létrehozására. Az irányított differenciálódást a sejtenyésző közeghez adott morfogének segítségével értük el. A tenyésztőedények felületét poliornitin-laminin borította. A protokoll és az ábra Yu et al., 2014 cikkéből lett adaptálva [17]. **(B)** Reprerentatív immuncitokémiai festések a differenciáció különböző stádiumairól. **(C)** A differenciáció során létrehozott neuronok funkcionalitásának bemutatása kalciumképző és extracelluláris elektrofiziológiai méréssel (MEA). Mindegyik sejtvonal mutatott idegsejtekre jellemző aktivitást mindkét módszerrel. [12]

A Zmynd11 fehérje lokalizációját megvizsgáltuk a differenciálódás különböző stádiumaiban. Pluripotens őssejt stádiumban a ZMYND11 mutációt hordozó sejtekben eltérő volt a ZMYND11 lokalizációja, a vad típusban látható döntően nukleáris lokalizáció helyett döntően citoplazmatikus lokalizációt láttunk a mutáns sejtekben (2. ábra).



2. ábra. A Zmynd11 fehérje sejten belüli lokalizációja hiPSC-kben. Konfokális mikroszkóppal készült felvételek láthatóak monolayerben tenyésztett hiPSC tenyészetekről. Immunfestést alkalmaztunk a Zmynd11 (zöld) sejten belüli elhelyezkedésének vizsgálatára. A vad típusú sejtekben döntően nukleáris lokalizáció látható, míg a mutáns sejtvonalak fokozott citoplazmatikus és csökkent nukleáris festődést mutatnak. A sejtmagokat DAPI-val (kék) festettük. A skálavonal hossza 100 μm [12].

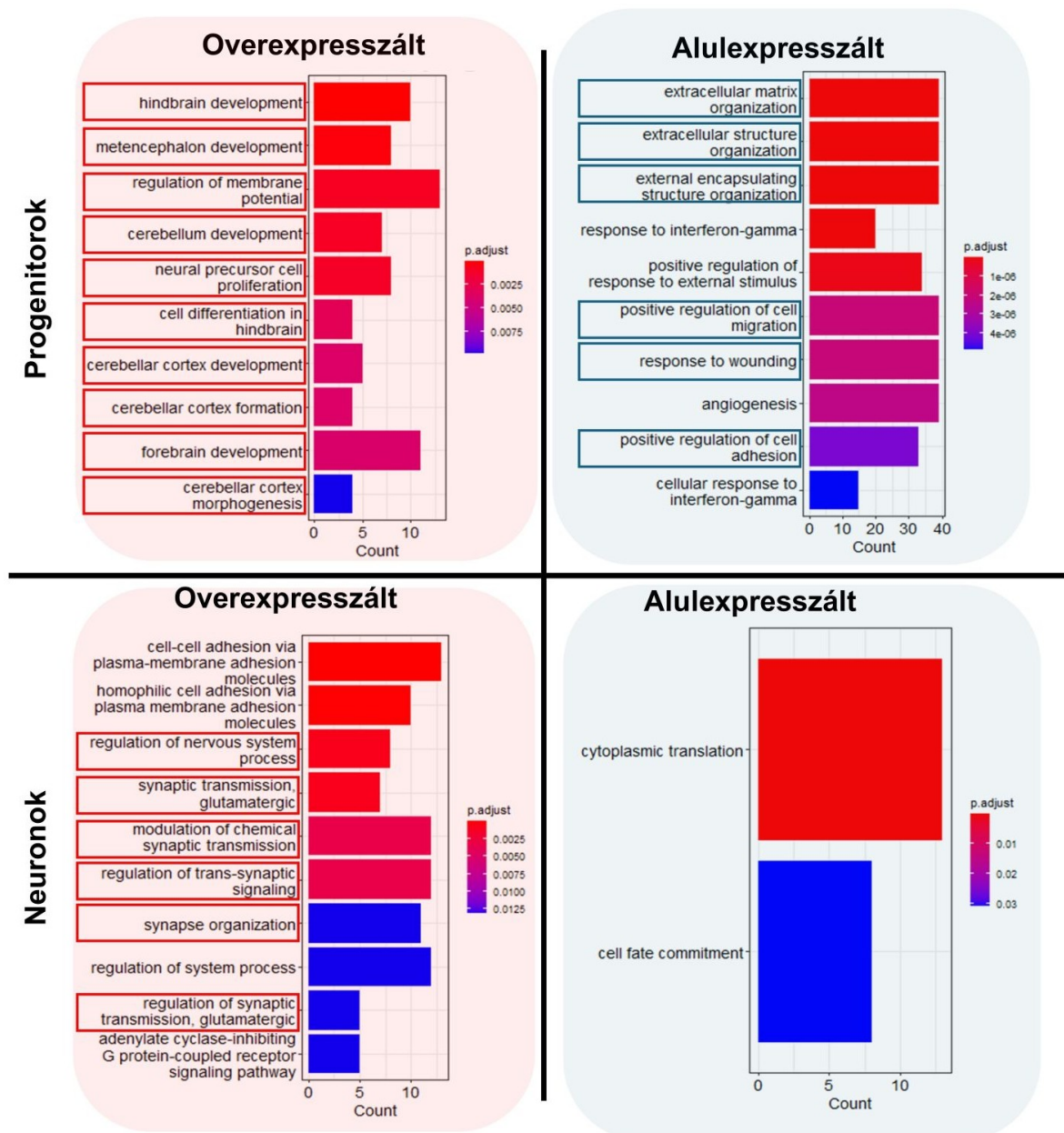
NPC-kben és DGGC-ben a Zmynd11 festés meglepő eredményt mutatott: az összes sejtvonalban döntően citoplazmatikus festődést láttunk (3.ábra).



3. ábra. A Zmynd11 fehérje sejten belüli lokalizációja NPC-kben és DGGC-ben. Konfokális mikroszkóppal készült felvételek láthatóak monolayerben tenyésztett NPC (A) és tovább differenciálódott DGGC (B) tenyészetekről. Immunfestést alkalmaztunk a Zmynd (magenta) sejten belüli elhelyezkedésének vizsgálatára. A sejtmagokat DAPI-val (kék) festettük. Mind a vad típusú, mind a ZMYND11 mutáns sejtekben a Zmynd11 fehérje döntően citoplazmatikus lokalizációban látható. A skálavonal hossza 100 μm [12].

1.2. A ZMYND11 mutáns hippokampális NPC-k és DGGC-k transzkriptomikai vizsgálata

A differenciálódott sejteken bulk RNS-szekvenálást végeztünk, majd az eredményeken szűrést végeztünk, hogy csak a mindkét genetikai háttéren megjelenő különbségeket lássuk. Jelentős különbségeket láttunk a ZMYND11 mutáns minták génexpressziójában a kontrollokhoz képest. Génontológiai elemzés alapján a mutáns NPC-kben az overexpresszált gének csoportjában felülreprezentáltak a neurális differenciálódással kapcsolatos gének. Sejtkohézióban és adhézióban szerepet játszó gének dúsultak az alulexpresszált gének között. A neuronokban az idegi aktivitással és szinaptikus jelátvitellel, kifejezetten a glutamáterg jelátvitellel kapcsolatos gének fokozott expresszóját láttuk (4. ábra). Kíváncsiak voltunk, vajon ezek a jelentős génexpressziós változások okoznak-e eltérést funkcionális szinten?

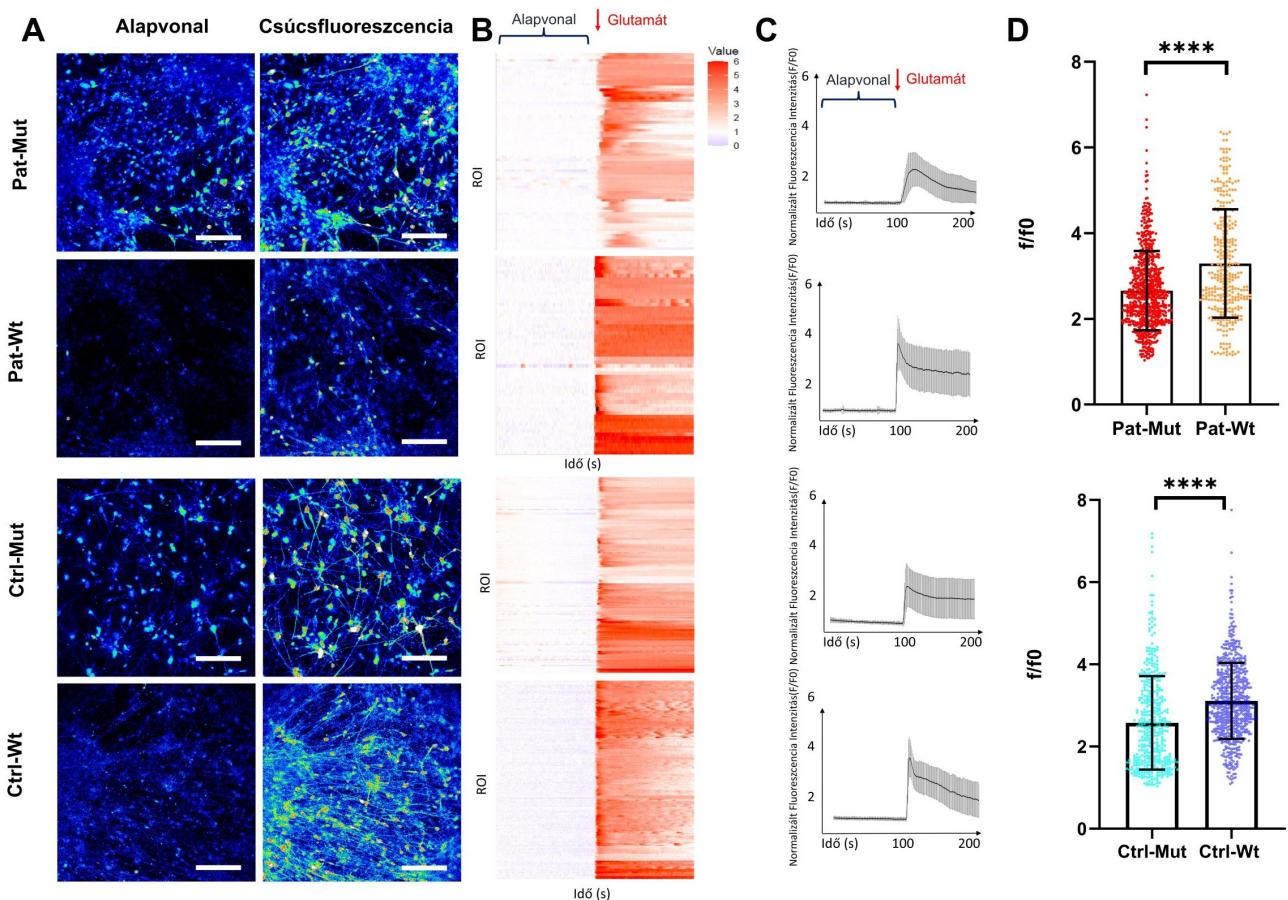


4. ábra. A neurális progenitorok és neuronok génontológiai elemzése. Az oszlopdiagramok a génontológiai dúsulási elemzés eredményeit mutatják melyben mindkét genetikai háttéren hasonlítottuk össze a ZMYND11 mutánsokat a vad típusú sejtekkel. A függőleges tengelyen a dúsult kategóriák, a vízszintes tengelyen pedig az egyes kategóriákhoz tartozó gének száma látható. Az oszlopok színei a dúsulás statisztikai szignifikanciáját jelzik, és a kategóriák ezek alapján vannak sorba rendezve. A kategóriák sorrendje a statisztikai szignifikancia alapján van felülről lefelé sorba rendezve. A neuronok alulexpresszált génjei esetében csak két statisztikailag szignifikáns kategóriát találhatók [12].

1.3. Funkcionális mérések

Kalciumképző (calcium imaging) segítségével vizsgáltuk az NPC-k és neuronok reakciókészségét glutamát hozzáadására (5. ábra). Először egy alap fluoreszcencia aktivitást mértünk, majd glutamát oldatot adtunk a médiumhoz, és ezt követően mértük a fluoreszcencia változását (5A, 5B ábra). A maximális fluoreszcencia intenzitás és alap intenzitás hányadosát tekintettük a sejtek reakciójának (5C ábra).

Kísérleteink alapján a ZMYND11 mutáns neuronok csökkent reakciókészséget mutattak glutamátra. A csökkent glutamát válasz kvantifikálható volt, és szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a mutáns sejtekben a vad típusú kontrollokhoz képest mindkét genetikai háttéren (5D ábra).



5. ábra. A glutamátra adott válasz kalcium imging elemzésének bemutatása gyrus dentatus szemcsesejt-kultúrákban. (A) Konfokális mikroszkóp felvételek Fluo-4-AM kalciumfestéssel jelölt neuronkultúrákról, amelyek a kiindulási fluoreszcenciát és a maximális jelintenzitást mutatják. Méretarány: 100 μ m. (B) Heatmapok szemléltetik az egyes sejteknek megfelelő ROI-k (region of interest) fluoreszcenciaintenzitásának időbeli változásait. (C) A felvétel során adott látótérben látható összes sejt normalizált fluoreszcenciaintenzitás (F/F0) átlaga és szórása az idő függvényében. (D) A glutamátra adott válasz kvantifikálása mérésenként 400–600 sejt alapján, 3–5 független kísérletből; a különbség Mann–Whitney U-teszt alapján statisztikailag szignifikáns ($p < 0,0001$) [12].

2 A KHSRP-mutáció hatásainak vizsgálata

A második projektben egy olyan beteg vizsgálatára került sor, aki DNME-t hordoz a KHSRP génben. Ebben a vizsgálatban eltérő kísérleti megközelítést alkalmaztunk: a betegből származó sejteket mindkét egészséges szülő sejtjeivel hasonlítottuk össze. [18] A sejtek differenciálódási képessége, növekedése és morfológiája nem mutatott jelentős eltérést a mutáns sejtekben a kontrollokhoz képest [13].

2.1. A KHSRP mutáns NPC-k transzkriptomikai eltérései

Bulk RNS-szekvenálás a KHSRP mutáns NPC-kben transzkripciók különbségeket tárt fel a szülői kontroll sejtekhez képest. A GO és útvonal-elemzések azt mutatták, hogy a különbözőképpen differenciálisan expresszált gének olyan folyamatokban dúsultak, amelyek kulcsfontosságúak a neuronok kialakulásában, az axonfejlődésben, a neurogenesisben, valamint a Wnt- és kalciumjelátviteli útvonalakban [13].

2.2. A KHSRP-mutáns NPC-k funkcionális fenotípusai kalciumképzéssel

Funkcionális vizsgálatokat kalciumképzés (calcium imaging) technika alkalmazásával végeztünk. Először teszteltük, hogy a progenitorok reagálnak-e glutamát hozzáadására, és láttuk, hogy fluoreszcencia intenzitásuk szignifikánsan növekszik. A glutamatra adott reakció mértéke a KHSRP mutációt hordozó szkizofrén betegtől származó NPC-k esetén szignifikánsan gyengébb volt, mint a genetikailag érintetlen szülőktől származó sejtek reakciója [13].

Diszkusszió

A két projekt eredményei azt mutatják, hogy a két vizsgált *de novo* mutáció a ZMYND11 és KHSRP génekben hatással vannak a neurális fejlődésre és a szinaptikus működésre hippocampális NPC-kben és DGGC-kben. Kísérletileg igazoltuk, hogy mindkét mutáció jelentős génexpressziós és neuronális aktivitásbeli eltéréseket eredményezett.

A génexpressziós eltérések hasonló géncsoportokat érintettek (neurodevelopmentális, sejtadhéziós), és a két mutáció funkcionálisan is hasonló eltérést eredményezett (csökkent reakció glutamát hatására). Annak ellenére, hogy a ZMYND11 és KHSRP gének más-más molekuláris folyamatokban játszanak közvetlen szerepet, létezhet egy közös molekuláris útvonal, amelyen ezek a genetikai eltérések hatása konvergálhat. Ennek felderítéséhez további kísérletek szükségesek.

Továbbá az általunk kimutatott funkcionális eltérések szerepet játszhattak szkizofrénia kialakulásában, azonban a csökkent glutamatra adott válasz molekuláris okát még nem ismerjük. Potenciális gyógyszeráadás pontok azonosításával kecsegtet ennek azonosítása. További, más mutációkat hordozó szkizofrén betegek vizsgálatával, és az eredmények integrálásával, a jövőben még átfogóbb képet kaphatunk a szkizofrénia mögött álló molekuláris patomechanizmusokról.

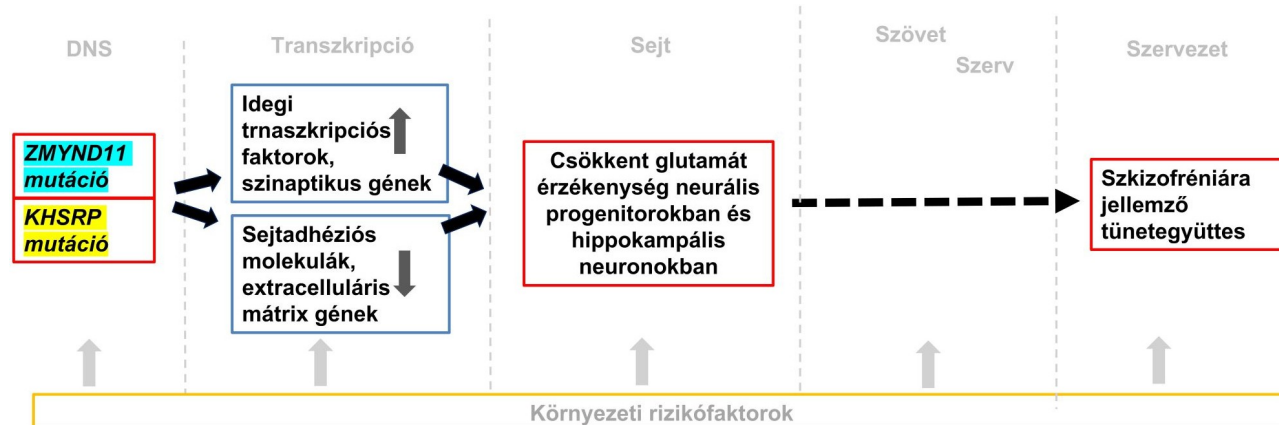
A Zmynd11 lokalizációjának változása az idegi differenciáció során számunkra meglepő eredmény volt, erre utaló korábbi eredményt az irodalomban nem találtunk. Egy rokon fehérje, a Zmynd8 esetében kimutatták, hogy fontos citoplazmatikus funkciót is ellát [19], így lehetséges, hogy a Zmynd11 esetében is ez a helyzet.

A 6. ábra egy lehetséges ok-okozati láncot vázol fel: hogyan vezethet egy DNS-szintű *de novo* mutáció a neurális fejlődés finom egyensúlyának enyhe megzavarásához és a klinikai szinten észlelhető tünetegyütteshez.

Konklúzió

De novo mutációt hordozó szkizofrén betegek hiPSC-vonalaiból sikeresen hoztunk létre hippocampális neurális progenitor sejteket és funkcionális gyrus dentatusz szemcsesejteket.

Differenciálódás, növekedés és morfológia tekintetében nem találtunk jelentős eltérést a kontrollokhöz képest.



A transzkriptomikai elemzések ugyanakkor kimutatták, hogy a KHSRP és ZMYND11-mutáció jelentős génexpressziós változásokat okoz a neurális differenciáció során. A Zmynd11 fehérje intracelluláris lokalizációja megváltozik az idegi differenciáció során. Funkcionálisan mind a ZMYND11-, mind a KHSRP-mutáns sejtek csökkent glutamátválaszt mutattak. Mindez arra utal, hogy ezek a DNM-ek a neuronális fejlődést és a szinaptikus működést mérhetően befolyásolják.

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények:

- [1] Tordai, Csongor; Hathy, Edit; Gyergyák, Hella; Vincze, Katalin; Baradits, Máté; Koller, Júlia; Póti, Ádám; Jezsó, Bálint; Homolya, László; Molnár, Mária Judit et al. 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) IF: 3,6
- [2] Hathy, Edit; Szabó, Eszter; Varga, Nóra; Erdei, Zsuzsa; Tordai, Csongor; Czehlár, Boróka; Baradits, Máté; Jezsó, Bálint; Koller, Júlia; Nagy, László et al. 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) IF: 7,1

Irodalomjegyzék

- [1] Kahn, R. S., Sommer, I. E., Murray, R. M., Meyer-Lindenberg, A., Weinberger, D. R., Cannon, T. D., O'Donovan, M., Correll, C. U., Kane, J. M., van Os, J. & Insel, T. R. (2015) Schizophrenia, *Nat Rev Dis Primers*. 1, 15067.
- [2] Jauhar, S., Johnstone, M. & McKenna, P. J. (2022) Schizophrenia, *Lancet (London, England)*. 399, 473-486.
- [3] Coyle, J. T., Basu, A. C., Benneyworth, M. A., Balu, D. T. & Konopaske, G. T. (2012) Glutamatergic synaptic dysregulation in schizophrenia: Therapeutic implications, *Handbook of experimental pharmacology*. NA, 267-295.
- [4] Nakahara, S., Matsumoto, M. & Erp, V. M. G. T. (2018) Hippocampal subregion abnormalities in schizophrenia: A systematic review of structural and physiological imaging studies, *Neuropsychopharmacology Reports*. 38, 156-166.
- [5] Lodge, D. J. & Grace, A. A. (2011) Developmental pathology, dopamine, and stress: A model for the age of onset of schizophrenia symptoms, *Schizophrenia Bulletin*. 37, 480-485.
- [6] Kang, E., Wen, Z., Song, H., Christian, K. M. & Ming, G. L. (2016) Adult Neurogenesis and Psychiatric Disorders, *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 8.
- [7] Réthelyi, J., Benkovits, J. & Bitter, I. (2013) Genes and environments in schizophrenia: The different pieces of a manifold puzzle, *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 37, 2424-2437.
- [8] Legge, S. E., Santoro, M. L., Periyasamy, S., Okewole, A., Arsalan, A. & Kowalec, K. (2021) Genetic architecture of schizophrenia: a review of major advancements, *Psychological medicine*. 51, 2168-2177.
- [9] Nakamura, M. & Takata, A. (2023) Recent developments in schizophrenia genetics: Understanding the polygenic basis of the disease, *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 77, 101-111.

- [10] Fromer, M., Pocklington, A. J., Kavanagh, D. H., Williams, H. J., Dwyer, S., Gormley, P., Georgieva, L., Rees, E., Palta, P., Ruderfer, D. M., Carrera, N., Humphreys, I., Johnson, J. S., Roussos, P., Barker, D. D., Banks, E., Milanova, V., Grant, S. G., Hannon, E., Rose, S. A., Chambert, K., Mahajan, M., Scolnick, E. M., Moran, J. L., Kirov, G., Palotie, A., McCarroll, S. A., Holmans, P., Sklar, P., Owen, M. J., Purcell, S. M. & O'Donovan, M. C. (2014) De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks, *Nature*. 506, 179-84.
- [11] Brennand, K. J., Simone, A., Jou, J., Gelboin-Burkhardt, C., Tran, N., Sangar, S., Li, Y., Mu, Y., Chen, G., Yu, D., McCarthy, S., Sebat, J. & Gage, F. H. (2011) Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells, *Nature*. 473, 221-5.
- [12] Tordai, C., Hathy, E., Gyergyak, H., Vincze, K., Baradits, M., Koller, J., Poti, A., Jezso, B., Homolya, L., Molnar, M. J., Nagy, L., Szuts, D., Apati, A. & Rethelyi, J. M. (2024) 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, *Schizophr Res*.
- [13] Hathy, E., Szabo, E., Varga, N., Erdei, Z., Tordai, C., Czehlar, B., Baradits, M., Jezso, B., Koller, J., Nagy, L., Molnar, M. J., Homolya, L., Nemoda, Z., Apati, A. & Rethelyi, J. M. (2020) 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 Res Ther*. 11, 504.
- [14] Pulay, A. J., Koller, J., Horváth, A., Balicza, P., Benkovits, J., Zahuczky, G., Barta, E., Németh, G., Urbányi, Z., Nagy, K., Molnár, J., Nagy, L. & Réthelyi, J. (2016) Functional gene clusters and pathway associations in schizophrenia: result from a whole-exome sequencing study, *European Neuropsychopharmacology*. 26, S184-NA.
- [15] Yu, D. X., Di Giorgio, F. P., Yao, J., Marchetto, M. C., Brennand, K., Wright, R., Mei, A., McHenry, L., Lisuk, D., Grasmick, J. M., Silberman, P., Silberman, G., Jappelli, R. & Gage, F. H. (2014) Modeling hippocampal neurogenesis using human pluripotent stem cells, *Stem cell reports*. 2, 295-310.
- [16] Hathy, E. M. Szkirozfrénia in vitro betegsége modellezése indukált pluripotens őssejt alapú rendszerrel in
- [17] Yu, D. X., Di Giorgio, F. P., Yao, J., Marchetto, M. C., Brennand, K. J., Wright, R., Mei, A., McHenry, L., Lisuk, D., Grasmick, J. M., Silberman, P. C., Silberman, G., Jappelli, R. & Gage, F. H. (2014) Modeling Hippocampal Neurogenesis Using Human Pluripotent Stem Cells, *Stem cell reports*. 2, 295-310.
- [18] Hathy, E., Szabo, E., Vincze, K., Haltrich, I., Kiss, E., Varga, N., Erdei, Z., Varady, G., Homolya, L., Apati, A. & Rethelyi, J. M. (2021) Generation of multiple iPSC clones from a male schizophrenia patient carrying de novo mutations in genes KHSRP, LRRC7, and KIR2DL1, and his parents, *Stem Cell Res*. 51, 102140.
- [19] Yao, N., Li, J., Liu, H., Wan, J., Liu, W. & Zhang, M. (2017) The Structure of the ZMYND8/Drebrin Complex Suggests a Cytoplasmic Sequestering Mechanism of ZMYND8 by Drebrin, *Structure (London, England : 1993)*. 25, 1657-1666.e3.



Tordai Csongor 2013-ban kezdte el általános orvosi tanulmányait a Semmelweis Egyetemen. Az elméleti tantárgyak felkeltették érdeklődését, és TDK-munkáját az Élettani Intézetben kezdte 2015-ben Mócsai Attila laboratóriumában, ahol neutrofil granulociták urát kristályokra adott gyulladáscsökkentő választ vizsgálta köszvény vonatkozásában Futosi Krisztina témavezetésével. Később a klinikai években a pszichiátria felé fordult érdeklődése, ezért még 2018-ban hallgatóként csatlakozott Réthelyi János vezette Molekuláris Pszichiátria kutatócsoporthoz, ahol szkizozfrénia biológiai hátterét kezdte kutatni. PhD képzését 2020-ban ugyanebben a témában kezdte el. A témához nélkülözhetetlen tudást a humán pluripotens őssejtekkel való kísérletezésről Apati Agóta témavezetőjétől tanulta meg, és a kísérleteket a Természettudományi Kutatóközpontban a Humán Pluripotens Őssejt-laboratóriumában végezte.

Regulátor T sejtek – az immunológiai békefenntartók



Bácsi Attila
Debreceni Egyetem, ÁOK Immunológiai Intézet

Regulatory T Cells – the Peacekeepers of the Immune System

Összefoglaló

Az idei orvosi-életteni Nobel-díjjal Mary E. Brunkow, Fred Ramsdell és Shimon Sakaguchi azon alapvető felfedezéseit ismerték el, amelyek megalapozták a regulátor T sejtek (Treg) szerepének megértését az immunológiai toleranciában. Jelen írásban bemutatom a díjazottak meghatározó eredményeit, amelyek elindították a Treg sejtekkel kapcsolatos ismeretek robbanásszerű bővülését.

Kulcsszavak: Nobel-díj, 2025, regulátor T sejtek, tolerancia, autoimmunitás, tímusz

Summary

This year's Nobel Prize in Physiology or Medicine recognized the seminal discoveries of Mary E. Brunkow, Fred Ramsdell, and Shimon Sakaguchi, which laid the foundation for our understanding of the role of regulatory T cells (Tregs) in immunological tolerance. In this article, I present the awardees' landmark findings that initiated the explosive expansion of knowledge in the field of regulatory T cell biology.

Keywords: Nobel Prize, 2025, regulatory T cells, tolerance, autoimmunity, thymus

Gershon és Kondo már 1970-ben kimutatták, hogy a T sejtek nemcsak fokozni, hanem csökkenteni is képesek az immunválaszok erősségét, és hogy ezt a gátló hatást a helper T sejtektől eltérő T sejtek közvetítik [1]. Ezt a T-sejt-populációt szuppresszor T sejteknek nevezték el, és a következő években világszerte számos kutatócsoport kezdett foglalkozni ezekkel a sejtekkel. Kezdetben azonban nem sikerült megbízható markereket azonosítani a szuppresszor T sejtek elkülönítésére más T sejtektől, a szuppresszió folyamatának molekuláris alapjai sem voltak egyértelműek, és nehézséget jelentett olyan antigén-specifikus szuppresszor T-sejtklónok előállítása, amelyek részletes sejtes és molekuláris elemzésre alkalmasak lettek volna. A klinikai immunológia sem tudott egyértelmű bizonyítékot szolgáltatni arra, hogy a szuppresszor T sejtek rendellenessége önmagában bármely immunológiai betegség elsődleges oka lenne. Mindezek következtében a szuppresszor T-sejtek kutatásának intenzitása az 1980-as évek közepére jelentősen visszaesett.

A szuppresszor T-sejtek kutatásával párhuzamosan azonban egy másik irányvonal is kibontakozott az immunológiában, amely azt vizsgálta, miként jöhet létre autoimmun betegség a természetes, sajáttal szembeni tolerancia megsértése következtében, illetve hogyan gátolható meg annak kialakulása. Ezekben a kísérletekben újszülött rágcsálók csecsemőmirigyét (tímusz) a születést követően különböző időpontokban eltávolították, majd vizsgálták ennek hatását az autoimmun folyamatok kialakulására. Nishizuka és Sakakura 1969-ben kimutatták, hogy normál egerek újszülöttkori tímuszeltávolítása a születést követő 2–4. nap között a petefészkek és más szervek autoimmun gyulladásához vezet [2]. Sakaguchi csoportjának fontos megfigyelése volt, hogy normál szingenikus állatokból származó T sejtek beoltása gátolta a betegség kialakulását, és különösen a CD4⁺ T sejtek bizonyultak hatékonynak a tímuszeltávolítás által kiváltott egér autoimmun betegségek megelőzésében [3]. Ugyanakkor, ha az autoimmunitás már kialakult, a CD4⁺ T-sejtek képesek voltak a betegséget

adoptív módon átvitelre vinni szingenikus, T-sejt-hiányos egerekbe [4]. Ezek az eredmények feltárták, hogy a normál tímusz folyamatosan termel egy autoimmunitást gátló aktivitással rendelkező CD4⁺ T-sejt populációt. Az egerekben a születés utáni korai időszakban végzett tímusztávolítás megszünteti ennek a fejlődésileg meghatározott, gátló funkciójú CD4⁺ T-sejt-populációnak a forrását. Ennek következtében a tímusztávolítás előtt már kialakult autoreaktív CD4⁺ T-sejtek spontán aktiválódhatnak, és autoimmun betegségek kialakulásához vezethetnek. Az eredmények arra is utaltak, hogy a kezeletlen, normál egerek perifériáján kétféle CD4⁺ T-sejt-populáció létezhet egymás mellett: az egyik potenciálisan autoimmun betegségek kiváltására képes, míg a másik domináns módon elnyomja ezeket a kóros immunválaszokat.

A fenti megfigyelésekből adódó következő kérdés az volt, hogy miként különíthető el a normál állatokban jelen lévő két CD4⁺ T-sejt populáció egymástól, illetve hogy az autoimmunitást gátló populáció specifikus és célzott eltávolítása képes-e megszüntetni a sajátjal szembeni toleranciát, és az egerekben a neonatális tímusztávolítással kiváltott autoimmun betegségekhez hasonló kórképet előidézni. Sakaguchi csoportja 1985-ben kimutatta, hogy ha normál BALB/c egerekből származó lép-eredetű CD4⁺ T-sejt szuszpenziókból *ex vivo* eltávolították a CD5^{high}CD4⁺ T-sejteket, majd a visszamaradó CD5^{low}CD4⁺ T-sejteket veleszületetten T-sejt-hiányos BALB/c egerekbe (nude egerek) transzferálták, akkor ezekben az állatokban a sejtek átültetését követő néhány hónapon belül spontán módon kialakuló, több szervet érintő autoimmun betegség jelent meg [5]. Egy tíz évvel később, 1995-ben publikált tanulmányban írták le, hogy a CD25⁺CD4⁺ T-sejtektől megfosztott BALB/c lép-eredetű sejtsuszpenziók beoltása BALB/c nude egerekbe hisztológiailag és szerológiailag egyaránt kimutatható autoimmun betegségek kialakulásához vezetett, nagyobb gyakorisággal és szélesebb szervspektrumban, mint az azonos sejtszámból előállított CD5^{low} T-sejtek transzferálása. A CD25 az interleukin-2 (IL-2) receptor nagy affinitású alegysége. Kis számú CD25⁺CD4⁺ T-sejt CD25⁻ T-sejtekkel együtt történő átvitele egyértelműen gátolta az autoimmunitás kialakulását [6]. A CD25⁺CD4⁺ T-sejtek megjelenése a lépben jól korrelált az tímusztávolításos modellben tett megfigyelésekkel. A CD25⁺CD4⁺ T-sejtek normál egerek perifériáján körülbelül a születést követő 3. naptól váltak kimutathatóvá, majd három héten belül elérték a felnőttkori szintet. Összességében ezek a vizsgálatok feltárták, hogy a tímusz által termelt CD25⁺CD4⁺ T-sejtek kulcsszerepet játszanak a természetes, sajátjal szembeni tolerancia fenntartásában. A tímusz folyamatosan termel funkcionálisan érett CD25⁺CD4⁺ szuppresszív T-sejteket, valamint potenciálisan patogén, autoreaktív T-sejteket is. Ezen eredmények alapján, a CD25⁺CD4⁺ szuppresszív T-sejteket regulatórikus T-sejteknek (Treg) nevezték el.

A Treg sejtekkel kapcsolatos kutatások másik mérföldköve a Foxp3 funkciójának felfedezése volt. A *Foxp3* gént 2001-ben az akkoriban a Celltech-nél dolgozó Brunkow (molekuláris genetikus), Ramsdell (immunológus) és munkatársaik azonosították, mint a betegségért felelős gént az úgynevezett *scurfy* egerekben [7]. A *scurfy* egerek súlyos lymphoproliferációt, több szervet érintő leukocita-infiltrációt és fokozott citokintermelést mutatnak. E felismerést kihasználva ugyanaz a kutatócsoport [8], valamint Ochs és munkatársai [9] kimutatták, hogy az emberi, a *scurfy* fenotípusra feltűnően hasonlító IPEX (*immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome*) szintén a *FOXP3* mutációjára vezethető vissza.

Az igazi áttörés két évvel később, 2003-ban következett be, amikor a Ramsdell- és Sakaguchi-csoportok egymást követő hónapokban közzétették eredményeiket, miszerint a *scurfy* egerek súlyos immunológiai eltérései azért alakulnak ki, mert a hibás *Foxp3* gén a CD25⁺CD4⁺ regulátor T sejtek elvesztéséhez vezet. A Sakaguchi-csoport kimutatta, hogy a *Foxp3* transzkriptek specifikusan a CD25⁺CD4⁺ T-sejtekben expresszálódnak, és hogy a *Foxp3* retrovirális transzdukciója a FoxP3⁻CD4⁺ konvencionális T-sejteknek regulátoros fenotípust kölcsönöz [10]. Ramsdell és munkatársai mindezt kiegészítették azzal, hogy míg a FoxP3-hiányos *scurfy* egerekben hiányoznak a CD25⁺CD4⁺ regulátor T-sejtek, addig a FoxP3-at túltermelő transzgenikus egerek jobban képesek kontrollálni a CTLA4-hiányra jellemző autoinflammatorikus betegséget [11]. A FoxP3 mint a Treg sejtek molekuláris azonosítójának meghatározása gyorsan forradalmasította a területet, a következő két évtizedben a kutatási aktivitás robbanásszerűen nőtt. Jelentős előrelépések történtek a Treg sejtek és a FoxP3 működésének megértésében, valamint az ezen funkciókat hasznosító potenciális terápiák kidolgozásában.

A Treg sejteknek a mai ismereteink szerint két fő típusa különítható el, amelyek differenciációja eltérő anatómiai helyeken és időpontokban történik. Az egyik típust a tímuszban kialakuló Treg sejtek (tTreg) alkotják, ezek a sejtek nagy affinitással kötik a saját antigéneket a TCR-eken keresztül, és fejlődésükhöz erős ko-stimuláció szükséges [12-14]. A másik típust a másodlagos nyirokszervekben kifejlődő Treg-ek (pTreg) képviselik, amelyek szuboptimális TCR-szignálok és gyenge ko-stimuláció esetén alakulnak ki [15, 16]. Ezek a körülmények jellemzően a szerzett immunválaszok lecsengési fázisában állnak fenn. Jelenleg úgy tűnik, hogy a tTreg sejtek elsősorban a szisztémás és szövet-specifikus autoimmunitás gátlásában játszanak szerepet, míg a pTreg sejtekek fő funkciója az immunválasz során kialakuló gyulladásos reakciók regulációja. A pTreg sejtek kulcsszerepet töltenek be a környezettel szembeni tolerancia fenntartásában a szervezet határfelületein, elősegítve a békés együttélést a nem patogén mikroorganizmusokkal és az ételantigénekkal [17], valamint az apai hisztokompatibilitási antigénekkal szembeni válaszok elnyomását a terhesség során [18]. A daganatokban a tumorinfiltráló Treg sejtek jelentős hatással vannak a betegség prognózisára és az immunterápiára adott válaszra, elsősorban az effektív antitumor immunválaszok gátlása és a T-sejt-diszfunkció elősegítése révén [19].

A Treg sejtek az immunválasz gátlására és a gyulladás csökkentésére számos, egymást kiegészítő mechanizmus révén képesek: (a) gátló hatású citokinek (TGF- β , IL-10 és IL-35) szekréciójával, (b) az effektor T sejtek anyagcseréjének megzavarásával, amely megakadályozza optimális működésüket (cAMP- és adenzin-mediált hatások a CD39/CD73 útvonalon keresztül), (c) ko-stimulátor molekulák eltávolításával az antigénprezentáló sejtekről (elsősorban CTLA-4 közvetítésével), (d) effektor T sejtek és más immunsejtek citolízisével, (e) a CD25 által közvetített, rendkívül hatékony IL-2-felvétellel, amely megvonja a konvencionális T sejtektől azt az elsődleges citokint, amely proliferációjuk fenntartásához elengedhetetlen [20]. Fontos megjegyezni, hogy az effektor T-sejtektől eltérően a regulatórikus T sejtek nem termelnek IL-2-t, ugyanakkor fejlődésükhöz és túlélésükhöz a FOXP3 transzkripció factor jelenlétén túl IL-2 is szükséges.

A Treg-funkció nem immunológiai irányba történő kiterjesztését is leírták az elmúlt évtizedekben. Ennek egyik példája az úgynevezett „szöveti Treg” sejtek csoportja, amelyeket

zsírszövetben, bőrben, tüdőben vagy steril sérülést szenvedett izomban azonosítottak [21-24]. Ezek a sejtek nemcsak a Treg sejtek klasszikus transzkripciós jellemzőit hordozzák, hanem alkalmazkodnak saját szöveti mikrokörnyezetükhöz is. A Treg sejtek által szabályozott nem immunológiai funkciók rendkívül változatosak – hajnövekedés, inzulinérzékenység, izomsejt-regeneráció, tüdőfibrózis –, és gyakran összefüggenek a gyulladás modulálásával, valamint a szöveti őssejtekkel való kölcsönhatással. A szöveti Treg sejtek elősegítik a gyulladás zavartalan lecsengését sérülést követően, a megfelelő szöveti regenerációt és a fibrózis kialakulásának elkerülését.

A stabil és robusztus szuppresszív aktivitás, illetve a proliferációs kapacitás kihasználásával az antigénspecifikus, természetes Treg sejtek *in vivo* vagy *in vitro* klonális expansiójára irányuló stratégiák alkalmasak lehetnek a sajáttal szembeni tolerancia megerősítésére vagy helyreállítására autoimmun betegségekben, valamint a nem-saját antigénekkal szembeni tolerancia indukálására szervtranszplantációban, súlyos allergiában és gyulladásos bélbetegségekben (IBD), továbbá a feto-maternal tolerancia fokozására terhesség során. Ezzel ellentétes megközelítésként a természetes Treg sejtek számának vagy funkciójának szelektív csökkentése – az effektor T sejtek megőrzése vagy fokozása mellett – ígéretes stratégiát jelenthet a daganatellenes immunitás kiváltására és erősítésére daganatos betegekben, illetve a mikrobiális immunitás fokozására krónikus fertőzések esetén [25]. A Treg sejtek működésével kapcsolatos számos kérdés ugyanakkor még mindig megválaszolatlan, és a következő évek klinikai vizsgálatai fogják eldönteni, hogy a Treg-sejteken alapuló terápiás megközelítések sokfélesége – Treg-sejt-terápia, Treg-sejt-engineering, Treg-indukáló vakcinák, CAR-Treg-sejtek és más stratégiák – valóban beteljesíti-e ígéretét a különböző betegségek kezelésében.

Irodalomjegyzék

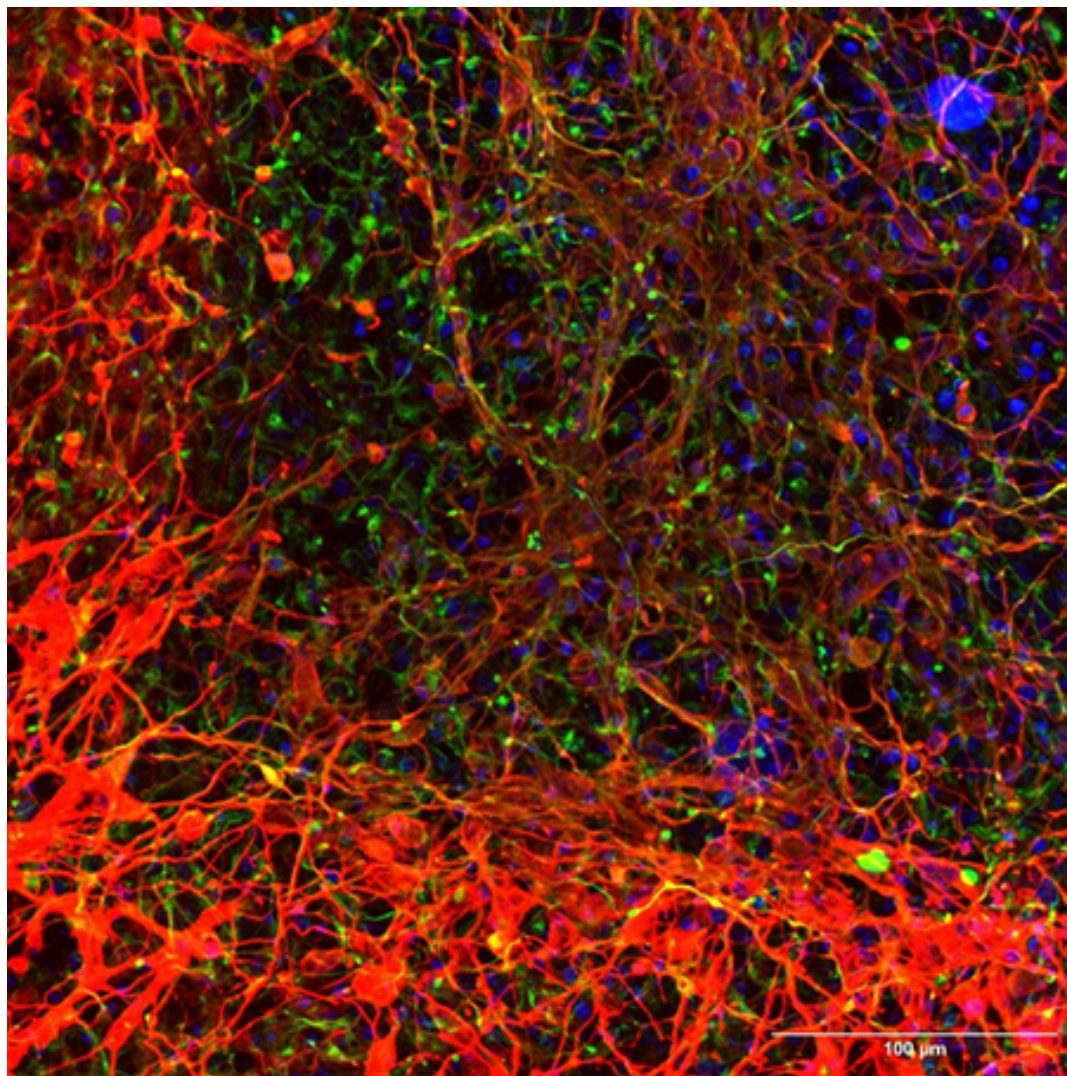
- [1] Gershon, R. K. & Kondo, K. (1970) Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes, *Immunology*. **18**, 723-37.
- [2] Nishizuka, Y. & Sakakura, T. (1969) Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice, *Science*. **166**, 753-5.
- [3] Sakaguchi, S., Takahashi, T. & Nishizuka, Y. (1982) Study on cellular events in post-thymectomy autoimmune oophoritis in mice. II. Requirement of Lyt-1 cells in normal female mice for the prevention of oophoritis, *J Exp Med*. **156**, 1577-86.
- [4] Sakaguchi, S., Takahashi, T. & Nishizuka, Y. (1982) Study on cellular events in postthymectomy autoimmune oophoritis in mice. I. Requirement of Lyt-1 effector cells for oocytes damage after adoptive transfer, *J Exp Med*. **156**, 1565-76.
- [5] Sakaguchi, S., Fukuma, K., Kuribayashi, K. & Masuda, T. (1985) Organ-specific autoimmune diseases induced in mice by elimination of T cell subset. I. Evidence for the active participation of T cells in natural self-tolerance; deficit of a T cell subset as a possible cause of autoimmune disease, *J Exp Med*. **161**, 72-87.
- [6] Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M. & Toda, M. (1995) Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases, *J Immunol*. **155**, 1151-64.
- [7] Brunkow, M. E., Jeffery, E. W., Hjerrild, K. A., Paepfer, B., Clark, L. B., Yasayko, S. A., Wilkinson, J. E., Galas, D., Ziegler, S. F. & Ramsdell, F. (2001) Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse, *Nat Genet*. **27**, 68-73.
- [8] Wildin, R. S., Ramsdell, F., Peake, J., Faravelli, F., Casanova, J. L., Buist, N., Levy-Lahad, E., Mazzella, M., Goulet, O., Perroni, L., Bricarelli, F. D., Byrne, G., McEuen, M., Proll, S., Appleby, M. & Brunkow, M. E. (2001) X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy, *Nat Genet*. **27**, 18-20.

- [9] Bennett, C. L., Christie, J., Ramsdell, F., Brunkow, M. E., Ferguson, P. J., Whitesell, L., Kelly, T. E., Saulsbury, F. T., Chance, P. F. & Ochs, H. D. (2001) The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3, *Nat Genet.* **27**, 20-1.
- [10] Hori, S., Nomura, T. & Sakaguchi, S. (2003) Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3, *Science.* **299**, 1057-61.
- [11] Khattry, R., Cox, T., Yasayko, S. A. & Ramsdell, F. (2003) An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells, *Nat Immunol.* **4**, 337-42.
- [12] Jordan, M. S., Boesteanu, A., Reed, A. J., Petrone, A. L., Hohenbeck, A. E., Lerman, M. A., Naji, A. & Caton, A. J. (2001) Thymic selection of CD4+CD25+ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide, *Nat Immunol.* **2**, 301-6.
- [13] Apostolou, I., Sarukhan, A., Klein, L. & von Boehmer, H. (2002) Origin of regulatory T cells with known specificity for antigen, *Nat Immunol.* **3**, 756-63.
- [14] Malchow, S., Leventhal, D. S., Nishi, S., Fischer, B. I., Shen, L., Paner, G. P., Amit, A. S., Kang, C., Geddes, J. E., Allison, J. P., Socci, N. D. & Savage, P. A. (2013) Aire-dependent thymic development of tumor-associated regulatory T cells, *Science.* **339**, 1219-24.
- [15] Apostolou, I. & von Boehmer, H. (2004) In vivo instruction of suppressor commitment in naive T cells, *J Exp Med.* **199**, 1401-8.
- [16] Curotto de Lafaille, M. A., Kutchukhidze, N., Shen, S., Ding, Y., Yee, H. & Lafaille, J. J. (2008) Adaptive Foxp3+ regulatory T cell-dependent and -independent control of allergic inflammation, *Immunity.* **29**, 114-26.
- [17] Haribhai, D., Williams, J. B., Jia, S., Nickerson, D., Schmitt, E. G., Edwards, B., Ziegelbauer, J., Yassai, M., Li, S. H., Relland, L. M., Wise, P. M., Chen, A., Zheng, Y. Q., Simpson, P. M., Gorski, J., Salzman, N. H., Hessner, M. J., Chatila, T. A. & Williams, C. B. (2011) A requisite role for induced regulatory T cells in tolerance based on expanding antigen receptor diversity, *Immunity.* **35**, 109-22.
- [18] Somerset, D. A., Zheng, Y., Kilby, M. D., Sansom, D. M. & Drayson, M. T. (2004) Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset, *Immunology.* **112**, 38-43.
- [19] Tay, C., Tanaka, A. & Sakaguchi, S. (2023) Tumor-infiltrating regulatory T cells as targets of cancer immunotherapy, *Cancer Cell.* **41**, 450-465.
- [20] Janssens, I. & Cools, N. (2020) Regulating the regulators: Is introduction of an antigen-specific approach in regulatory T cells the next step to treat autoimmunity?, *Cell Immunol.* **358**, 104236.
- [21] Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., Wong, J., Nayer, A., Lee, J., Goldfine, A. B., Benoist, C., Shoelson, S. & Mathis, D. (2009) Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters, *Nat Med.* **15**, 930-9.
- [22] Ali, N., Zirak, B., Rodriguez, R. S., Pauli, M. L., Truong, H. A., Lai, K., Ahn, R., Corbin, K., Lowe, M. M., Scharschmidt, T. C., Taravati, K., Tan, M. R., Ricardo-Gonzalez, R. R., Nosbaum, A., Bertolini, M., Liao, W., Nestle, F. O., Paus, R., Cotsarelis, G., Abbas, A. K. & Rosenblum, M. D. (2017) Regulatory T Cells in Skin Facilitate Epithelial Stem Cell Differentiation, *Cell.* **169**, 1119-1129 e11.
- [23] Burzyn, D., Kuswanto, W., Kolodin, D., Shadrach, J. L., Cerletti, M., Jang, Y., Sefik, E., Tan, T. G., Wagers, A. J., Benoist, C. & Mathis, D. (2013) A special population of regulatory T cells potentiates muscle repair, *Cell.* **155**, 1282-95.
- [24] Arpaia, N., Green, J. A., Moltedo, B., Arvey, A., Hemmers, S., Yuan, S., Treuting, P. M. & Rudensky, A. Y. (2015) A Distinct Function of Regulatory T Cells in Tissue Protection, *Cell.* **162**, 1078-89.
- [25] Benoist, C., Vignali, D. A. A., Flavell, R. A. & Mathis, D. (2025) The history and promise of Treg cells, *Immunity.* **58**, 2934-2939.



Dr. Bácsi Attila molekuláris biológus, a Debreceni Egyetem ÁOK Immunológiai Intézetének igazgatója és egyetemi tanára. PhD-fokozatát 2001-ben szerezte virológia témakörben, majd posztdoktori éveit Galvestonban a Texasi Orvostudományi Egyetemen töltötte; itt kezdte kutatni a pollen eredetű oxidatív stressz és a légúti allergiás gyulladás összefüggéseit. 2009 óta önálló munkacsoport-vezető, 2017-ben az MTA doktora címet is megszerezte. Tudományos munkássága mellett kiemelkedő oktatói tevékenységet végez mind a graduális, mind a posztgraduális képzésben. Eddig 10 TDK- és 26 diplomamunka témavezetője volt, irányításával pedig eddig 7 hallgató szerzett PhD-fokozatot. Aktív szakmai-közéleti szerepet vállal: a Magyar Immunológiai Társaság korábbi főtitkára, az MTA Immunológiai Osztályközi Tudományos Bizottságának társelnöke, jelenleg pedig az MTA Biológiai Tudományok Osztályának nem akadémikus közgyűlési képviselője. Rendszeresen tart tudománynépszerűsítő előadásokat olyan rendezvénysorozatok keretében, mint a Kutatók Éjszakája, az Immunológia Napja vagy a Magyar Tudomány Unnepe. Publikációs listája 132 közleményt tartalmaz (összesített IF: 583,6; hivatkozások száma: 5643; Hirsch-index: 39).

Bemutatkozik a neurális hálózat szferoid kultúrában



Készült: Visitron VisiScope Spinning Disk Confocal Microscope 40×/0.6 objektív (Cellular Imaging Laboratory, HUN-REN SzBK)

Készítette: Béla Emese Krisztina és Pirity Melinda (témavezető)
Genetikai Intézet, HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont)

A képen 25 napos humán **neurális szferoid** whole-mount festése látható. A szferoidokat és organoidokat gyakran a szervek miniatúr változatainak tekintik, velük lehetőségünk nyílik a szervhez kapcsolódó folyamatokat *in vitro*, a 2D kultúrákhoz képest jóval összetettebb módon tanulmányozni. A szferoidok és organoidok lehetővé teszik a sejtek térbeli, 3D eloszlásának modellezését, ami segít megérteni a sejtek és környezetük közötti kapcsolatot. Valamint ezekkel a modellekkel a sejtek differenciálódása és a szervfejlődés is valósághűbben vizsgálható *in vitro*. További előny, hogy ezek a 3D modellek hosszabb ideig, akár több hónapon keresztül is fenntarthatóak.

A sejtmagok kék színű DAPI jelölésűek. A NESTIN-t, mely a differenciáció korai stádiumában járó progenitor sejtek markere, zöld szín jelöli. A piros szín a TUBB3-t termelő, újonnan kialakult posztmitotikus neuronokat jelöli. Látható, hogy ebben az időpontban egyszerre fordulnak elő progenitor és posztmitotikus sejtek is. Az is jól megfigyelhető, hogy a szferoid belsejében a sejtek nem egyetlen síkban helyezkednek el, ami lehetővé teszi, hogy ebben a modellben a neuronokat a valódi szöveti környezethez hűbben vizsgáljuk.

Jelátviteli workshop lovagi tornával Visegrádon

Korcsmáros Tamás

Imperial College London, UK
e-mail: t.korcsmaros@imperial.ac.uk

Highlights from the Summer Interdisciplinary Signaling Workshop

Summary

The 4th Interdisciplinary Signaling Workshop (ISW2025) was held in July 2025 in Visegrád, Hungary, bringing together 73 participants from more than 15 countries, mostly early-career researchers from cell biology, biochemistry, microbiology, and organoid modelling research. The meeting blended cutting-edge lectures with interactive teamwork. The keynote by Albert-László Barabási introduced discussions on microbiome–inflammation links, disease mechanisms, and network-based medical approaches. Afternoon group sessions fostered collaboration across disciplines in an open, inclusive atmosphere. Among the social highlights were a medieval knight show, a catamaran race on the Danube, and a scenic outdoor barbecue and picnic dinner, all encouraging informal exchange and networking. The workshop focused on inflammatory diseases, signaling networks, and computational integration topics. ISW2025 successfully inspired new international collaborations and empowered young scientists, reinforcing its role as a vibrant hub for systems-level biomedical research.

2025 júliusában ismét megrendeztük a **4. Interdiszciplináris Jelátviteli Workshopot** (ISW2025) Visegrádon (<https://2025.signalingworkshop.org>). A rendezvényre 73 kutató érkezett az előadásokat meghallgatni, többségében fiatal kutatók (PhD-hallgatók vagy posztdoktorok) voltak, és olyan területeket képviseltek, mint a sejtbiológia, biokémia, mikrobiológia, rendszerbiológia, valamint az organoid- és organ-on-chip-modellezés. A résztvevők mintegy negyede orvosi diplomával rendelkezett, ami a személyre szabott orvoslás iránti egyre növekvő érdeklődést tükrözte.

A program célja a magas szintű tudományos előadások és az interaktív, csapatmunkák ötvözése volt. A délelőtti plenáris és meghívott előadások vezették be a napi témákat. A nyitóelőadást Barabási Albert László tartotta „From Network Medicine to the Foodome: The Dark Matter of Nutrition” címmel. A további szekciók a következő fő témák köré szerveződtek: „Mikrobiom és gyulladás”, „Betegségmodellek és mechanizmusok” és „Hálózatok az orvoslásban”. A magas színvonalú szakértői előadások a gyulladásos bélbetegségben vagy a rákban megfigyelhető gazda–mikrobiom kölcsönhatásokkal, a diéta által befolyásolt építései-válaszokkal, a sejtek közötti kommunikáció térbeli transzkriptomikai vizsgálatával és más, élvonalbeli kutatási irányokkal foglalkoztak. A több mint 15 országból érkező előadók között Barabási Albert Lászlón kívül további magyar kutatók, MBKE tagok számoltak be legújabb kutatási eredményeikről. Így előadást tartott Pál Csaba (SZBK), Juhász Szilvia (HCEMM) és Szalai Bence (Turbine). A poszterelőadók egyharmada magyar volt, és többségük külföldi intézményekben végzett munkákat osztott meg a nemzetközi és magyar résztvevőkkel.

A délutánokat csapatmunka jellemezte, ami a workshop egyik védjegye. A résztvevők multidiszciplináris csoportokban valós tudományos problémákat kaptak, amelyeket közösen dolgoztak fel, majd bemutatták eredményeiket. Ezek a szekciók, kiegészítve a poszter-

bemutatókkal, hierarchia mentes légkört teremtettek, ahol a fiatal kutatók közvetlenül dolgozhattak együtt tapasztalt vezetőkkel, elősegítve az új ötletek és együttműködések kialakulását.

A tudományos program mellett a workshop kulturális és csapatépítő eseményeket is kínált, amelyek ösztönözték az informális eszmecserét és a szakmai kapcsolatok elmélyítését. A kiemelt programok között szerepelt egy visegrádi lovagi torna, katamaránverseny a Dunán, valamint egy grillezés és piknik vacsora a festői környezetben. Ezek a kötetlen alkalmak valódi, előadásokon túli beszélgetéseket tettek lehetővé a jelátviteli, mikrobiom- és organoid-kutatások terén. Az utolsó napon pályázatíró szeminárium és a „Nők és Család a Tudományban” című kerekasztal-beszélgetés zárta a programot, hangsúlyozva a karrierfejlesztés és az esélyegyenlőség fontosságát.

A 2025-ös workshop különös hangsúlyt fektetett a gyulladással kapcsolatos betegségekre, az emberi jelátviteli hálózatok megváltozására, a mikrobiom-szerepére, az organoid- és betegségmodellek, valamint a számítógépes integráció kapcsolatára. A részvételi arány megfelelt a várakozásoknak: a résztvevők mintegy kétharmada fiatal kutató volt. Számukra utazási támogatás és gyermekprogram is rendelkezésre állt, ami lehetővé tette a kisgyermekes kutatók részvételét is.

A visszajelzések két fő eredményt emeltek ki. Egyrészt több új, interdiszciplináris kutatási együttműködés indult el, amelyek a mikrobiom- és jelátviteli kutatás határterületeit kötik össze. Másrészt a fiatal kutatók nagyobb magabiztosságról számoltak be integratív projektek tervezésében és szakmai kapcsolataik bővítésében. A helyszínt és a közösségi programokat a résztvevők különösen inspirálóknak találták.

Összességében a 2025-ös Interdiszciplináris Jelátviteli Workshop teljesítette célkitűzéseit: magas színvonalú, sokféle tudományterületet érintő közös platformot teremtett a jelátviteli, a mikrobiom vizsgálati és a betegségmodellezési kutatásokban; támogatta a fiatal kutatók fejlődését; és új együttműködések indított el, amelyek illeszkednek a transzlációs és rendszerszintű orvosbiológiai stratégiákhoz. A következő, hasonló workshop 2027 nyarán várható.







Beszámoló a 2025 szeptemberi belgrádi FEBS3+ meetingről

László Loretta

HUN-REN, Természettudományi Kutatóközpont
Molekuláris Élettudományi Intézet

Nagy-Kanta Eszter

ELTE TTK, Biokémiai tanszék,
Lendület Motorenzimológiai Kutatócsoport
PPKE ITK

Deák Péter

PTE ÁOK, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet

Highlights from the FEBS3+ Meeting held in Belgrade, in September, 2025

Summary

For those who may not know, FEBS3+ Meetings are a notable community-building event series organized by at least three FEBS Constituent Societies. It is an excellent opportunity to build and stimulate cooperation, collaboration and other relationships between (often neighbouring) countries. One of the main goals of FEBS3+ Meetings is to offer young researchers of collaborating countries the opportunity to show their work, build their network and learn about hot topics in science in a smaller conference. This year, the Hungarian Biochemical Society (HBS), together with Slovenia, Croatia and Bosnia and Herzegovina, joined the Serbian Biochemical Society in organizing the FEBS3+ Meeting: „Advances in molecular biosciences: from genes to personalized therapies”, in Belgrade. On behalf of HBS, Beáta Lontay (UD MS), HBS Secretary General, and Zoltán Lipinszki (HUN-REN BRC), HBS FEBS representative, significantly contributed to the success of the event. The program was diverse, worthy of the diversity of life sciences, which the organizers divided into 10 sections, such as: Design and structure of proteins, Bioactive compounds and metabolism, Bioinformatics, Genetics, Biotechnology, etc. In addition to the scientific programs, the HBS members participating in the conference were able to discover the wonderful city of Belgrade during an impromptu city tour. Moreover, during the evenings, the HBS representatives and the Hungarian young researchers were able to get to know each other and each others' work in a less formal manner, which further strengthened the connections within the country and the Hungarian Biochemical Society.

A Biokémia folyóirat olvasó közönségének egy része előtt talán ismeretlen világ, ezért a 2025. szeptemberi belgrádi rendezvény bemutatása előtt röviden szeretnénk bemutatni a FEBS által szervezett egyik jelentős közösségformáló rendezvénysorozatot, a FEBS3+ Meetingek sorát. Ezek a szakmai rendezvények hasonlítanak a nemzeti egyesületek által évente megrendezett biokémiai konferenciákhoz, azzal a különbséggel, hogy a FEBS3+ szervezésében minimum három FEBS tagországnak kell közösen részt vennie. Kitűnő lehetőség ez a (gyakran egymással szomszédos) országok közötti együttműködések, kollaborációk és kapcsolatok kiépítésére és élénkítésére. A konferenciát egy nemzeti éves biokémiai gyűléshez hasonló formátumban rendezik meg, magától értetődően a vendéglátó ország vállalja a szervezés oroszlánrészét, de az együttműködő biokémiai társaságok képviselői is mind részt vesznek a szakmai program összeállításában és lebonyolításában. A rendezvény kiemelt céljai között szerepel, hogy ösztöndíj pályázat útján részvételi lehetőséget biztosítson a kollaboráló országokból érkező fiatal kutatók számára.

2025-ben kivételes módon három helyszínen, Vilniusban, Prágában és Belgrádban is megrendezésre került egy-egy FEBS3+ konferencia, a litván, a cseh és a szerb biokémiai

egyesületek gondos előkészületeinek köszönhetően. A Magyar Biokémiai Egyesület tagjainak már több, mint tíz éves gyakorlata van FEBS3+ Meetingek megrendezésében: a szomszédos országokkal való együttműködés keretében a horvát és a szlovén Biokémiai Egyesületekkel együttműködésben sor került már FEBS3+ Meetingre Opatijában (2012-ben), Portorozban (2015-ben) és Siófokon (2018-ban) is. Az idei évben a Magyar Biokémiai Egyesület nagy lelkesedéssel, Szlovénia és Horvátország mellett Bosznia Hercegovinával együttesen csatlakozott a Szerb Biokémiai Egyesülethez a belgrádi konferencia szervezésében. Az MBKE képviselőjében jelentősen hozzájárult a rendezvény sikeréhez Lontay Beáta (DE ÁOK), az MBKE főtitkára, és Lipinszki Zoltán (HUN-REN SZBK), az MBKE FEBS képviselője.

Belgrádban egy gyönyörű park közepén lévő helyszín, a Hotel M adott otthont a rendezvénynek, melyre több, mint 100 vendéget vártak a szervezők. A konferencia az „Előrelépések a molekuláris biológiai tudományokban: a génektől a személyre szabott terápiáig” címet viselte. A program az élettudományok sokszínűségéhez méltó módon változatos volt, melyet a szervezők 10 szekcióra osztottak:

1. Fehérjék tervezése és szerkezete
2. Betegségek molekuláris alapjai
3. Bioaktív hatóanyagok és metabolizmus
4. Rendszerbiológia és bioinformatika
5. Genetika
6. Génexpresszió szabályozása
7. Biomarkerek és terápiás hatóanyagok fejlesztése
8. Biotechnológia
9. Sejtfolyamatok és jelátvitel
10. Molekuláris evolúció

Az MBKE és a magyar biokémiai, valamint molekuláris élettudományi kutatói közösség remek előadókkal és kiváló szakemberekkel képviseltette magát: Papp Balázs (HUN-REN SZBK & HCEMM), Csörgő Bálint (HUN-REN SZBK), Bognár Zita (PTE ÁOK), Csikász-Nagy Attila (PPKE ITK), Enyedi Balázs (SE ÁOK & HCEMM), Tantos Ágnes (HUN-REN TTK), és Pál Albert (HUN-REN SZBK) személyében, akik egytől-egyig mind remek előadásokat tartottak.

A tapasztalt kutatók mellett a fiatal generáció tagjai is lehetőséget kaptak arra, hogy bemutathassák munkájukat: László Loretta (HUN-REN TTK), Nagy-Kanta Eszter (ELTE TTK, PPKE ITK), Arshi Arshi (PTE ÁOK) rövid előadásban, Deák Péter (PTE ÁOK), Lepár Dávid (HUN-REN SZBK), és Vámos Eszter (PTE ÁOK) pedig poszter prezentáció keretében. A poszter szekció az idei FEBS3+ Meeting-en rendhagyó módon, e-posztterekkel került megrendezésre, mely jelentősen megkönnyítette a poszter szekcióra való készülést, a posztterek prezentálást és nem utolsósorban így jelentős mennyiségű papírnymtatást spóroltak meg a Földnek a szervezők. A sokszínű szakmai program mellett egy rögtönzött városnézés során a magyar csapat egy része felfedezhette Belgrád csodálatos városát. A fél napos városnézésen megtekinthették Belgrád főbb nevezetességeit: a Szent Száva-templomot, a történelmi belváros főterét, a Köztársaság teret, a Belgrádi Nemzeti Múzeumot és Nemzeti Színházat, a város történelmi sétálóutcaját a Kneza Mihailova-t, valamint körbejárhatták a parkkal körülvett Nándorfehérvári Várat is,

melynek magaslatáról csodálatos kilátás nyílt a Duna és Száva folyók találkozására, valamint Belgrád történelmi és modern városrészeire is.

A konferencia szakmai programjai után esténként spontán beszélgetések formájában a magyarországi MBKE képviselők és a fiatal kutatók jobban megismerkedhettek egymással és egymás kutatási témájával, mely tovább erősítette az országon és az Egyesületen belüli ismeretségeket.



FEBS3+ meeting Belgrádban. A képen balról jobbra az MBKE Junior szekció képviselői: Nagy-Kanta Eszter, László Loretta és Deák Péter.

Az MBKE Junior szekció 2025-ös őszi féléves tevékenysége

László Loretta

HUN-REN, Természettudományi Kutatóközpont
Molekuláris Élettudományi Intézet

Nagy-Kanta Eszter

ELTE TTK, Biokémiai tanszék,
Lendület Motorenzimológiai Kutatócsoport
PPKE ITK

Réthy-Nagy Zsuzsánna

Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ, HCEMM

Summary

Dr. Tibor Pankotai, head of the Genomic Integrity and DNA Damage Research Group at HCEMM, presented an inspiring lecture on 11 September 2025 tracing how basic research on DNA damage can be translated into cancer diagnostics and therapeutic strategies. He demonstrated how deep molecular understanding paves the way for biomarker-driven diagnostic tools, including miRNA-based profiling approaches for early tumor detection. On 6 October, a Science Communication Workshop at the ELTE Department of Biochemistry, led by Dr. Zsuzsánna Réthy-Nagy, equipped participants with practical methods for designing engaging talks and tailoring messages to diverse audiences. The workshop highlighted crucial aspects of presenter behavior and the effective use of digital tools to strengthen scientific storytelling, and concluded with an informal pizza gathering that fostered community building. Later, on 30 October, biologist and science communicator Anna Sánta gave a Halloween-themed lecture titled „The Darkest Secrets of Science,” examining ethical and financial issues in scientific publishing and discussing innovative reform initiatives such as the eLife model.

Dr. Pankotai Tibor előadása a FEBS Junior Section havi előadássorozatában

2025. szeptember 11-én került sor a Magyar Biokémiai Egyesület és a FEBS Junior Section által szervezett havi előadásra. A meghívott előadó Dr. Pankotai Tibor volt, a HCEMM (*Hungarian Centre of Excellence for Molecular Medicine*, Magyar Molekuláris Medicina Kiválósági Központ), Genom Integritás és DNS Hibajavítás Kutatócsoportjának vezetője, aki „*From DNA damage to cancer diagnostics: from a basic research project to a diagnostics and therapeutic application*” címmel tartotta meg inspiráló előadását. A rendezvény a fiatal kutatók számára különösen értékes lehetőséget kínált arra, hogy egy vezető szakember segítségével betekintést kapjanak a modern molekuláris biológia és a transzlációs medicina világába.

Az előadás során a résztvevők hallhattak arról, hogy hogyan épül fel egy kutatás útja az alapkutatótól, jelen esetben a DNS-károsodási mechanizmusok molekuláris szintű feltárásától, egészen a daganatok korai felismerését célzó diagnosztikai eljárásokig. Dr. Pankotai Tibor részletesen ismertette, milyen sejtbioológiai folyamatok irányítják a DNS-hibák felismerését és helyreállítását, és hogyan befolyásolják ezek a transzkripció szabályozást, valamint a rák kialakulásához vezető molekuláris változásokat. Az előadás egyik központi eleme az volt, hogy miként lehet az alapkutatói eredményeket biomarker-szintű megfigyelésekké alakítani, például specifikus miRNS-mintázatok azonosításával, amelyek vérminták alapján alkalmasak lehetnek a daganatok korai felismerésére.

Külön hangsúlyt kapott a HCEMM szerepe, mint olyan kutatási infrastruktúra, amely támogatja a fiatal kutatókat az alapkutatás és az alkalmazott innováció összekapcsolásában. Tibor bemutatta, hogy az intézet multidiszciplináris környezetében hogyan válik lehetővé a korszerű genomikai, sejtbiológiai és bioinformatikai módszerek integrálása, amelyek elengedhetetlenek ahhoz, hogy egy tudományos hipotézisből valódi diagnosztikai fejlesztés születhessen.

Az előadás átfogó képet adott arról, hogyan épülhet fel egy kutatási projekt útja az elméleti kérdésfeltevéstől a diagnosztikai innovációig. A résztvevők hasznos tudással és új szempontokkal gazdagodtak, amelyek hozzájárulnak saját kutatásaik továbbfejlesztéséhez.

Az előadás online megtekinthető a FEBS network weboldalán a „The FEBS Junior Section Room” alfülon keresztül, az alábbi linken: <https://network.febs.org/videos/febs-junior-section-tibor-pankotai-from-basic-research-to-a-cancer-diagnostics-application> vagy a QR kód beolvasásával.

Junior HBS

EMAIL: JUNIORSECTIONHBS@GMAIL.COM

LINKEDIN: HBS.JUNIOR

FACEBOOK: JUNIOR.HBS

INSTA: JUNIORSECTIONHBS

YOUTUBE: HBS.JUNIOR

AZ ELŐADÁSA
MEGTEKINTHETŐ
AZ ALÁBBI QR KÓD
BEOLVASÁSÁVAL

DR.PANKOTAI TIBOR

FROM BASIC RESEARCH TO
A CANCER DIAGNOSTICS APPLICATION

HUNGARIAN CENTRE OF EXCELLENCE FOR MOLECULAR MEDICINE (HCEMM)
GENOM INTEGRITÁS ÉS DNS HIBAJAVÍTÁS KUTATÓCSOPORT
CSOPORTVEZETŐ

Tudománykommunikációs Workshop

2025. október 6-án az ELTE Természettudományi Karának Biokémia Tanszékén került sor egy inspiráló tudománykommunikációs workshopra, melyet csapatunk tagja, Dr. Réthi-Nagy Zsuzsánna vezetett. Zsuzsánna biológusként és diplomás coachként, több mint kilenc év tapasztalattal a tudományos kommunikáció területén, rendkívül értékes betekintést nyújtott a résztvevőknek.

A rendezvény interaktív formában zajlott, ahol a résztvevők számos gyakorlati tanácsot kaptak arra vonatkozóan, hogyan alakíthatják előadásaikat a különböző célcsoportok igényeihez igazítva, hogy az üzenetük igazán hatékony és maradandó legyen. Zsuzsánna kitért az előadói viselkedés legfontosabb aspektusaira is: hogyan érdemes a szemkontaktust tartani, a kiállást magabiztossá tenni és a hallgatóság figyelmét fenntartani. A workshop során olyan hasznos stratégiákat ismerhettünk meg, melyek segítségével könnyebben leköthetjük a figyelmet, és világosan, érthetően adhatjuk át az információkat.

Emellett szó esett a prezentációkészítés során nélkülözhetetlen digitális eszközökről és programokról is: milyen alkalmazásokat érdemes választani előadások megalkotásához, ábrák létrehozásához, illetve mely internetes források segítik a megfelelő illusztrációk megtalálását.

A programot követően egy barátságos pizzaparti zárta az eseményt, amely lehetőséget biztosított az élmények megosztására és a kötetlen beszélgetésekre is, erősítve ezzel a közösségi élményt és az egymás közti szakmai kapcsolatokat. Ez a workshop kiváló alkalom volt mind szakmai fejlődésre, mind személyes kapcsolatok építésére a tudományos közösségben.



Tudománykommunikációs workshop (2025. október 6.) ELTE, TTK, Biokémia Tanszék. A képen Dr. Réthi-Nagy Zsuzsánna látható.

Halloweeni előadás: „A tudomány legsötétebb titkai”

Rendhagyó online előadással készültünk október 30-ára idén, Halloweeni tematikával: a publikációs válság kapcsán rémisztő adatokkal és történetekkel riogatott minket Sánta Anna, a PPKE ITK biológus doktorjelöltje, hobbi tudománykommunikátor, saját bevallása szerint lelkes „mindenkritizáló”. „A tudomány legsötétebb titkai” címmel tartott részletes előadásában a tudományos publikálás műfaját érintő etikai és pénzügyi problémákról, ragadozó folyóiratokról és az AI miatt felbukkanó kihívásokról beszélt, valamint arról, hogy milyen ezeket orvosolni próbáló, formabontó gyakorlatok bukkannak fel velük párhuzamosan, milyen trendeket és szervezeteket érdemes figyelemmel kísérni. Két weboldal, amit érdemes követni a <https://retractionwatch.com/> és a <https://pubpeer.com/>, ahol visszavont közleményeket listáznak, illetve a tudományos közösség nyíltan kommentálhatja bármelyik kutató bármelyik cikkét. A The Company of Biologists szervezet az átlátható és nyilvános bírálati rendszert, valamint a bírálók kompenzációját ajánlja, az eLife modellhez hasonlóan, amiben mintha egy bírálattal rendelkező preprint lenne minden cikk: minden bírálat, a bírálók személye és a szerzők válasza, valamint a cikk eredeti és bírálat utáni verziója is nyilvánosan hozzáférhető. Bár sajnos a szokatlan modell

miatt az eLife elvesztette impakt faktorát, de sok kutató kiáll mellette, mondván hogy a publikációs kihívásokra valahogy reagálnunk kell, és az elavult és káros gyakorlatokat ehhez hasonló innovációkkal lehet átformálni. A hátborzongatóan jó előadás ezen a hivatkozáson visszanezhető: https://www.youtube.com/watch?v=MKLXv8zh_DQ



A „Tudomány legsötétebb titkai” című előadásunk hirdetése, az előadó: Sánta Anna.

A Fórum rovat felhívása

Gallyas Ferenc
rovatvezető

Örömmel jelentem, hogy a Fórum rovatba saját véleményét is tartalmazó írás érkezett Dr. Sánta Anna PhD, Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Információs Technológiai és Bionika Kar Strukturális Biológia és Proteomika kutatócsoport tagjának tollából. Bátorítok mindenkit, hogy amennyiben a témához hozzá kíván szólni, illetve, ha bármilyen más témát fel szeretne vetni, küldje el a kéziratot a ferenc.gallyas@aok.pte.hu címre.

Az AlphaFold: reflektorfény és a sötét oldal

Sánta Anna

Pázmány Péter Katolikus Egyetem
Információs Technológiai és Bionika Kar
Struktúrális Biológia és Proteomika kutatócsoport

Az AlphaFoldot talán már be sem kell mutatni. Az algoritmus először 2018-ban jelent meg a CASP13 versenyen (egy fehérjeszerkezet predikciós módszereket versenyeztető eseményen), ahol kiemelkedő eredményt ért el, két évvel később pedig a következő iterációja, az AlphaFold2 messze leghagyott minden más ellenfelet, sokak szerint gyakorlatilag megoldotta a fehérjeszerkezet predikció több évtizedes problémáját. [1,2] Villámtempóban kapta meg érte a Nobel-díjat **John Jumper** és **Demis Hassabis**, megosztva **David Bakerrel**. Akik eddig kísérletes szerkezetmegállapítási módszerekkel foglalkoztak, azokban megjelent a félelem: akkor ennyi volt? Nincs már szükség röntgenkristallográfiára? Máris leáldozott a krio-EM éppenhogy felemelkedett csillaga? Tudjuk, hogy nem így lett, hiszen azóta telnek az évek, és továbbra is sokan dolgozunk ezeken a területeken. Az AlphaFold ugyanis nagy áttörés volt, de közel sem jelent mindenre megoldást. Mi várható a jövőben, elveszik-e a „robotok” a biokémikusok munkáját, és miért nem?

„Thinking out of the box”

Az AlphaFold kiugró sikere a viszonylag szokatlan megközelítésnek köszönhető. Korábban többféle ötlettel is próbálkoztak már mások a területen: fizikai szimulációkkal „feltekerni” a fehérjét, ami elméletben képes lenne teljesen új szerkezeteket is prediktálni, azonban óriási a számításigénye; vagy fragmens-alapú modellezéssel „összerakni” a molekulát szekvenciája alapján hasonló, ismert szerkezetű darabokból. [3] Ezen kívül a gépi tanulás sem volt már teljesen új a területen, azonban nem mindegy, mit tanítunk a gépnek. Az AlphaFold fejlesztőinek innovatív ötlete a **koevolúció** alapú algoritmus és a **többszörös illesztés** együttes, iteratív alkalmazása volt, ami abból indul ki, hogy az evolúció során a térben közel elhelyezkedő aminosavak jellemzően egyszerre mutálódnak. A fehérjét egyszerre reprezentálja egy fajokkal annotált többszörös szekvenciaillesztéssel és egy koevolúciós mátrixszal, amiben az együtt mutálódó aminosavpárokat listázza, és ezeket több iterációs lépésben egymáshoz igazítja. Az szerkezeti modul aztán ebből tekeri fel az ismeretlen szekvenciát. Az AlphaFold első változata ezután még fizikai erőterek szimulációja segítségével optimalizálta a szerkezetet. Az AlphaFold2 verzióban ez utóbbi lépést egy ún. diffúziós modellre cserélték ki, ami pedig több lehetséges szerkezeti konformációt ad, és csak egy legvégső lépésben korrigálja a sztereokémiai ütközéseket. Már az AlphaFold2 megjelenésével is ki lehetett jelenteni, hogy a szerkezetpredikció problémáját sikerült megoldani. Az AlphaFold3 pedig tovább csiszolt a módszeren, a belső architektúrája jelentősen eltérő, és nagymértékben egy generatív neurális hálóra támaszkodik. A 2. verzió még csak monomer fehérjéket tudott feldolgozni, a multimereket kezelni képes kiegészítést, az AlphaFold-Multimert később adták hozzá, a 3. iteráció pedig már nukleinsavakat és bizonyos kismolekulákat tartalmazó komplexeket is képes modellezni. [4] Úgy hangozhat, hogy ehhez már nincs mit hozzátenni, pedig még az AlphaFold3 esetében is vannak hiányosságok.

Ami nem fért a dobozba

Az AlphaFold megjelenésével természetesen azonnal a lehetséges egészségügyi és

gyógyszeripari felhasználásokra irányult a figyelem – és sajnos pontosan itt kezdtek előbukkanni a hiányosságok. A **misszensz mutációk** predikciója rendkívül fontos lenne, sokszor egyetlen aminosavcsere drasztikus hatással lehet egy fehérje szerkezetére, ezáltal súlyos elváltozásokat okozva. Az AlphaFold az ilyen szerkezeti változásokat nagyon gyengén prediktálja, és sokszor egyszerűen egy az egyben a vad típus szerkezetét adja vissza, mivel az az egyetlen hasonló szerkezet, amit a tanulóhalmazában valaha látott, és templátként használni tud. A **multimerek** predikciójában sincs élen, mivel hiába az AlphaFold-Multimer, így is a felhasználónak kell megtippelni a sztöchiometriát, és homodimer esetében például kétszer megadni ugyanazt a szekvenciát, ahelyett, hogy az algoritmus ismerné fel a dimerizációra való hajlamot. Ráadásul különösen gyengén teljesít **antitest-antigén** párok esetében, ahol a molekulák egyedi jellege miatt nem tud semmilyen templátra támaszkodni. Habár elméletileg az AlphaFold3 képes kezelni a nukleinsavakat, még olyan súlyos hibákba is belecsúszhat, hogy nem tud összerakni Watson-Crick bázispárokat: például egy **DNS-RNS hibriddel** jól meg lehet zavarni, aminek ismételten a templátok hiánya az oka. Egy közösségi média posztban írta le az érdekes tapasztalatát egy frusztrált amerikai kutató, miszerint *„adtam az AF3-nak egy komplementer DNS-RNS-t bemenetnek. Ez a buta valami sosem látott még ilyen szörnyűséget: a PDB-ben az összes transzkripciós buborék szerkezet mesterséges (úgy hozták létre, hogy nem-komplementer DNS van benne). Így pánikba esett, és feltekerte az RNS-t egy hajtűbe, G:G, G:A stb. párokkal.”* Végül, ami a szerkezeti biológia talán legforróbb témája jelenleg: a **rendezetlen fehérjék**. Az AlphaFold3 aminosavankénti értéket ad a predikció bizonytalanságára, ami jól korrelál a rendezetlenséggel: a rendezetlenebb szakaszokra alacsony pontszámot ad. Így kijelenthető, hogy valamilyen mértékben "érti" a rendezetlenség fogalmát, a rendezettség hiányaként értelmezve. Azonban pontosan emiatt maga a szerkezeti predikció már bizonytalan. Ráadásul ezeket a rendezetlen predikciókat úgy hozza létre, hogy egy kis mértékben „visszabutítja” magát az AlphaFold-Multimer v2.3-ra, mivel ha a generatív modellezésre hagyatkozna, ezeket a szakaszokat is feltekerné, nem létező rendezett szerkezeteket hallucinálva a helyükre. [4]

Kijelenthető, hogy így gyakorlatilag sajnos az AlphaFold verziók a legígéretesebb felhasználási területeken teljesítenek a leggyengébben. Ennek pedig valószínűsíthetően maga a módszer az oka: az AlphaFold elejétől fogva elsősorban nem fizikai szimulációkra, hanem a tanuló halmazára (azaz a PDB adatbázisra) és az abból tanult koevolúciós összefüggésekre épít, így nem, vagy csak limitált, közvetett módon érti ezeket az alap természeti törvényeket.

A fekete doboz

Az AlphaFolddal, különösen a 3. verzióval egészen más jellegű hiányosságokra is fel kell hívni a figyelmet. Több **etikai aggály** is megfogalmazódott ugyanis mind a fejlesztés körülményeivel, mind a publikálás módjával kapcsolatban.

A szerzők az AlphaFold3 leírását a Nature folyóiratban közzé tették 2024. május 8-án, azonban forráskód nélkül, **mindössze pszeudokódot** csatolva hozzá. Az egyetlen módja a használatának a saját, regisztrációköteles szerverük volt, ahol a felhasználók naponta limitált számú futtatást kérelmezhetnek. Ez sokak szerint, engem is beleértve, elfogadhatatlan. A szerkezetpredikció előnye pont a nagy áteresztőképesség lenne, azonban ez ilyen feltételek mellett kivitelezhetetlen, ráadásul a belső architektúra részletes ismeretének hiányában minden AlphaFold3-at használó kutatás reprodukálhatatlannak tekinthető ebből az időszakból. A Nature cikk bírálói jelezték nemtetszésüket, köztük **Roland Dunbrack** is, aki egy közösségi média

oldalán tette közzé, hogy nagyon küzdött azért, hogy meggyőzze a Nature-t a forráskód szükségességéről, ezen kívül a szerverrel kapcsolatban is voltak megjegyzései, azonban nem tudja, hallgattak-e rá, mivel a következő körre már nem hívták vissza. [5] Végül fél éves ultimátumot adtak Jumpernek és csapatának a kód közzétételére, amit ezt az időt kicentizve, november 27-én közzé is tettek. [6] Még sokan ezután sem voltak elégedettek, ugyanis habár a kód lokálisan futtathatóvá vált, így megoldva a napi limit problémáját, a betanításhoz szükséges részeit még itt sem tették közzé, ezen kívül a licenszben erősen korlátozzák és engedélyekhez kötik a felhasználás bizonyos formáit. Ez ellehetetleníti sokak munkáját, például akik esetleg a PDB egy alhalmazán, vagy épp ellenkezőleg, saját szerkezetekkel kiegészített halmazon szerették volna újratanítani az AlphaFold3-at.

És itt érkeztünk el a kényesebb témákhoz: a titkolózás oka egyértelműen a **profit iránti igény**. Az AlphaFold a Google DeepMind szárnyai alatt született, a tech óriás alprojektje, ami nyilvánvalóan for-profit módon üzemel, és nem szeretné a gigantikus gyógyszeriparnak csak úgy tálcán kínálni az eredményeit. Ez érthető és valahol dicsérendő is, hiszen a gyógyszeripari cégek valószínűleg megengedhetik maguknak a licensz vásárlását, és a DeepMind csak az ilyen bevételeknek köszönhetően lehet akkora cég, ami ilyen mértékű fejlesztéseket tud finanszírozni. Csak sajnos eközben ezzel az egyszerű mezei kutató életét aránytalanul megnehezíti. Ez számos kérdést felvet a tudományos kutatás világának igazságtalanságairól. Vajon hányan vannak a világon Nobel-díjat érő ötletekkel, akik ezt sosem tudják véghezvinni, mert nem karolja őket fel pont a világ legnagyobb tech cége? Majd ezek után ráadásul még felhasználóként sem részesülhetnek az ilyen eredményekből, mert sosem válik publikussá a teljes forráskód.

Több, **nyílt forráskódú AlphaFold3 klón** is született a megjelenését követő hónapokban, például a **Boltz-1** és a **Chai-1**. Ezek hasonlóan teljesítenek mint az AlphaFold3, ezen kívül próbálnak újat is nyújtani, például a Chai-1 lehetővé teszi a kísérletes kényszerfeltételek alkalmazását is. Kérdéses, hogy mennyire terjednek el, valóban olyan értékesek-e, amilyenek magukat mondják, vagy csak rá akarnak ugrani a „hype-vonatra” (a Chai-1 például egy kizárólag erre épülő startup fejlesztése). Az viszont már most bizonyos, hogy érintik pontosan ugyanazok a hiányosságok, amiket az első bekezdésben olvashattunk az AlphaFoldról, így aki bármelyikre átváltana, azt csak etikai vagy jogi felhasználási megfontolásból érdemes, nem a jobb predikciók reményében. [7]

A röntgenes, a hideg, és a mágneses doboz

A felsorolt hiányosságok tudatában már talán nem is meglepő, hogy a válasz a kérdésre, miszerint, végetért-e a kísérletes szerkezetmegállapítás érája: **nem**.

Sokan már temetik a **röntgenkrisztallográfiát**. Habár a klasszikus módszer valóban kevésbé van már jelen, a **röntgendiffrakcióban**, mint alap technikában nagyon sok lehetőség rejlik még, és jelenleg forradalmi újítások zajlanak a területen, például mikrofluidikai technikák bevonása által. [8] Emellett az új szerkezetek meghatározására a nagy felbontású **krio-EM** az, ami inkább a riválisává vált, már az AlphaFold előtt. A felbontás spektrum másik végén egyre népszerűbb a **SAXS**, a kisszögű röntgenszórás, avagy „a buta röntgenkrisztallográfia”, ami pedig kiváló kísérletes kiegészítése az AlphaFolddal és molekuladinamika szimulációkkal nyerhető eredményeknek. A gyakran kakuktktojásként emlegetett **NMR spektroszkópia** pedig talán most értékelődik fel igazán. Ezen módszer szerkezetmegállapításra nem a legkézenfekvőbb, és az

NMR által megállapított szerkezetek száma folyamatosan csökkenőben van, a többi módszerhez képest. Azonban pont emiatt nem tekinthető a többiek riválisának, hanem inkább azok kiváló kiegészítője lehet. Az NMR ugyanis egyedi abban, hogy nem „kimerevített” fehérjét vizsgál, hanem dinamikai jellemzőket is képes mérni, ráadásul különböző állapotokban (pl. változó hőmérséklet, ligandummal titrálás), így például egy NMR méréssel kiválóan annotálhatóak egy már ismert szerkezet szakaszai dinamikai jellemzőikkel.

Jó példa erre csoportunk egy nemrég megjelent munkája, amiben SAXS, NMR spektroszkópia és molekuladinamika szimulációk együttes alkalmazásával sikerült modellezni egy ritka szerkezeti elem, egy magányos alfa-hélix belső dinamikáját. [9] A saját disszertációm kapcsán is vizsgáltunk egy olyan rendszert, ahol a korábban említett pontmutáció-problémára láttunk egy példát: az AlphaFold3 egy a vadtypussal nagymértékben megegyező szerkezetet prediktált a pontmutánsnak, azonban NMR mérésekkel megállapítottuk, hogy a predikció pontatlan, és jelentős szerkezeti eltérések vannak a vadtypushoz képest. Emiatt szkeptikus vagyok az olyan kutatásokkal kapcsolatban, ahol AlphaFold által prediktált szerkezetmodellekkel próbálják nagy átérzékenységgel vizsgálni pontmutációk betegség asszociációit, és nem egy példát láttam ilyen projektekre az utóbbi időben. Egy tavalyi konferencián, amin részt vettem, egy Cambridge-i professzor (akit nem szeretnék megnevezni, mivel nem tudom, jelenleg a publikáció mely fázisban tart a prezentált kutatása), szintén bemutatott egy példát, ahol az általuk vizsgált fehérjének megállapították a szerkezetét NMR segítségével, majd azt összevetették a PDB adatbázisban található röntgenkristallográfiás szerkezettel és az AlphaFold3 predikciójával, és azt tapasztalták, hogy az utóbbi kettő szinte teljesen megegyezett. **Azaz, az AlphaFold csak lemásolta a PDB szerkezetet, míg az NMR tudott újat is mutatni.**

Ellenben pont ez a professzor volt az, aki dicsérte az AlphaFold3 hatékonyságát **a fehérje és peptid ligand komplexek modellezésében**. Amikor feltettem a kérdést, hogy mi az előnye az AlphaFold alkalmazásának erre, a hagyományos dokkolás szimulációkkal szemben, azt válaszolta, hogy nagy előrelépés, hogy utóbbiak kiválthatóak az AlphaFolddal. Ez az, amiben merek nem egyetérteni vele, és bárkivel aki ezt állítja. Habár az a konszenzus, hogy az AlphaFold3 valóban jól teljesít a dokkolási feladatban, akkor sem gondolom, hogy helyettesítheti a fizikai modelleken alapuló módszereket, amelyek templát alkalmazása nélkül képesek *de novo* szerkezeteket prediktálni. A két módszer számítási kapacitás igényében valószínűleg minimálisan különbözik, ellenben utóbbiak sokkal reprodukálhatóbbak, mivel ismert a mögöttük rejlő algoritmus minden részlete. Ilyen szempontból nézve úgy gondolom, az AlphaFold3 valójában visszalépésnek is tekinthető az AlphaFold korábbi verzióival szemben, mivel pontosan ezeket a fizikai modellezési alapokra épülő optimalizálási lépéseket cseréli le egy generatív modellre, ami valószínűleg ennél is inkább predikciót, „hallucinációt” is eredményezhet.

Végezetül pedig, nemhogy nem áldozott le a kísérletes szerkezetmegállapítás csillaga: még akár új módszerek kifejlesztésének is van létjogosultsága. **Shaib et al.** tavaly megjelent Nature cikkében prezentálta az **expanziós mikroszkópia** felhasználási lehetőségeit fehérjeszerkezetek vizsgálatára. [10] Mind a röntgenkristallográfia, a krio-EM és az NMR spektroszkópia speciális és igen drága felszereléseket igényel. Az expansziós mikroszkópia esetében azonban a mintaelőkészítés kivitelezhető bármilyen átlagos molekuláris biológia laborban, majd egyszerű konfokális mikroszkóppal készíthetőek el a modellezéshez használt képek. A trükk az, hogy gyakorlatilag felnagyítják a molekulát: fluoreszcens jelölő molekulákkal

borítják be, aztán egy géles közegbe helyezik, ezután felszakítják a kovalens kötéseket, majd oldat hozzáadagolásával megduzzasztják a gél. Helyes kivitelezés mellett ez a folyamat a fehérje fluoreszcens jelölőkből kirajzolódó, felnagyított képét eredményezi, ami fénymikroszkóp alatt is vizsgálható. Amennyiben elegendő molekulát sikerül lencsevégre kapni, amit leghatékonyabban egy digitális kamerával felvett videó formájában lehet kivitelezni, krio-EM képek feldolgozásához használt szoftverrel háromdimenziós szerkezet is nyerhető, akár 1-2 nm felbontással. Azonban a kétdimenziós fotók is értékesek, ugyanis mindegyik egy-egy valódi molekula pillanatnyi állapotát ábrázolja, így a fehérje által bejárt konformációs tér is feltérképezhető. A cikkben említésre került az AlphaFold is, amit egy eddig ismeretlen szerkezetű fehérje modellezésére használtak fel, hogy összehasonlítsák a róla készült képekkel, és nagymértékű egyezést figyeltek meg. Láttam spekulációkat, hogy a módszer akár Nobel-díjat is kaphatna a jövőben: el kell ismerni a kreativitását, ezen kívül azt, hogy gyengébb felszereltségű laborok számára is elérhetővé teszi a fehérjeszerkezetek vizsgálatát, amivel ironikus módon pontosan ellentétes elveket közvetít, mint amit az AlphaFolddal kapcsolatban kritizáltam.

Hova tart a jövő?

Minden hiányosság és kifogás ellenére, a végén azért el kell ismerni, hogy az AlphaFold egy történelmi előrelépés volt a szerkezeti biológia világában. A hiányosságok pedig nem tartanak örökké: az AlphaFold által lefektetett alapokra építkezve nagyon sokan már jobb eredményeket érnek el, mint az eredeti csoport. A CASP15 versenyen RNS szerkezetek predikciójában jobban teljesített az AIchemy_RNA2, [11] mint az AlphaFold3, ezzel máris megkezdve annak egyik legnagyobb hiányosságának befoltozását, azonban azóta a CASP16-on sem történt előrelépés sem ebben, sem az oligomerek predikciójában. [12] Azóta a CASP jövője bizonytalanná vált, forrásmegvonások miatt, ami megint csak az ebben az írásban már sokat tárgyalt etikátlanságokra, igazságtalanságokra hívja fel a figyelmet. [13] Ezzel szemben folyamatosan jelennek meg más izgalmas, AlphaFoldra alapuló fejlesztések is, például az AlphaFlow algoritmus, ami molekuladinamika sokaságokat generál AlphaFold segítségével, [14] vagy kötőpartnereket tervező algoritmusok. Ez utóbbi esetében maga a Google DeepMind is próbálkozik az AlphaProteo nevű projekttel, [15] azonban velük párhuzamosan jelent meg a nyílt forráskódú BindCraft, ami olyannyira versenyképesnek bizonyult a gigacéggel szemben, hogy egy évvel a preprint megjelenését követően nemrég a Nature folyóiratban jelent meg. [16,17] Így el lehet mondani: van jövő – mind az AlphaFold mellett, akár kísérletes területeken, mind az AlphaFoldra építve, vagy akár vele versengve.

Irodalomjegyzék

- [1] AlQuraishi M (2019) AlphaFold at CASP13. *Bioinformatics* **35**, 4862–4865.
- [2] Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, Tunyasuvunakool K, Bates R, Žídek A, Potapenko A, Bridgland A, Meyer C, Kohl SAA, Ballard AJ, Cowie A, Romera-Paredes B, Nikolov S, Jain R, Adler J, Back T, Petersen S, Reiman D, Clancy E, Zielinski M, Steinegger M, Pacholska M, Berghammer T, Bodenstern S, Silver D, Vinyals O, Senior AW, Kavukcuoglu K, Kohli P & Hassabis D (2021) Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* **596**, 583–589.
- [3] Kuhlman B & Bradley P (2019) Advances in protein structure prediction and design. *Nat Rev Mol Cell Biol* **20**, 681–697.
- [4] Hoffmann F (2024) AlphaFold3 and its improvements in comparison to AlphaFold2. *Medium*. https://medium.com/@falk_hoffmann/alphafold3-and-its-improvements-in-comparison-to-alphafold2-96815ffbb044
- [5] Roland Dunbrack @rolanddunbrack.bsky.social az X-en: „@pedrobeltrao As a reviewer #3 of the paper, I tried REALLY HARD to get @Nature to demand downloadable code. The editors just ghosted me. I wrote extensively

- that the server needed work but I was not given the paper to re-review so I don't know if they improved it. It's not available yet." / X (2024) X (formerly Twitter).
- [6] Abramson J, Adler J, Dunger J, Evans R, Green T, Pritzel A, Ronneberger O, Willmore L, Ballard AJ, Bambrick J, Bodenstein SW, Evans DA, Hung C-C, O'Neill M, Reiman D, Tunyasuvunakool K, Wu Z, Žemgulyte A, Arvaniti E, Beattie C, Bertolli O, Bridgland A, Cherepanov A, Congreve M, Cowen-Rivers AI, Cowie A, Figurnov M, Fuchs FB, Gladman H, Jain R, Khan YA, Low CMR, Perlin K, Potapenko A, Savy P, Singh S, Stecula A, Thillaisundaram A, Tong C, Yakneen S, Zhong ED, Zielinski M, Žídek A, Bapst V, Kohli P, Jaderberg M, Hassabis D & Jumper JM (2024) Addendum: Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature* **636**, E4–E4.
- [7] Naughton B (2024) The ABCs of AlphaFold 3, Boltz and Chai-1. *Boolean Biotech*. <https://blog.booleanbiotech.com/alphafold3-boltz-chai1>
- [8] Knoška J, Adriano L, Awel S, Beyerlein KR, Yefanov O, Oberthuer D, Peña Murillo GE, Roth N, Sarrou I, Villanueva-Perez P, Wiedorn MO, Wilde F, Bajt S, Chapman HN & Heymann M (2020) Ultracompact 3D microfluidics for time-resolved structural biology. *Nat Commun* **11**, 657.
- [9] Varga S, Péterfia BF, Dudola D, Farkas V, Jeffries CM, Permi P & Gáspári Z (2025) Dynamic interchange of local residue-residue interactions in the largely extended single alpha-helix in Drebrin. *Biochem J* **482**, 383–399.
- [10] Shaib AH, Chouaib AA, Chowdhury R, Altendorf J, Mihaylov D, Zhang C, Krah D, Imani V, Spencer RKW, Georgiev SV, Mougios N, Monga M, Reshetniak S, Mimoso T, Chen H, Fatehbasharad P, Crzan D, Saal K-A, Alawieh MM, Alawar N, Eilts J, Kang J, Soleimani A, Müller M, Pape C, Alvarez L, Trenkwalder C, Mollenhauer B, Outeiro TF, Köster S, Preobraschenski J, Becherer U, Moser T, Boyden ES, Aricescu AR, Sauer M, Opazo F & Rizzoli SO (2025) One-step nanoscale expansion microscopy reveals individual protein shapes. *Nat Biotechnol* **43**, 1539–1547.
- [11] Chen K, Zhou Y, Wang S & Xiong P (2023) RNA tertiary structure modeling with BRIQ potential in CASP15. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **91**, 1771–1778.
- [12] Home - CASP16, <https://predictioncenter.org/casp16/>
- [13] Exclusive: Famed protein structure competition nears end as NIH grant money runs out, <https://www.science.org/content/article/exclusive-famed-protein-structure-competition-nears-end-nih-grant-money-runs-out>
- [14] Jing B, Berger B & Jaakkola T (2024) AlphaFold Meets Flow Matching for Generating Protein Ensembles.
- [15] Zambaldi V, La D, Chu AE, Patani H, Danson AE, Kwan TOC, Frerix T, Schneider RG, Saxton D, Thillaisundaram A, Wu Z, Moraes I, Lange O, Papa E, Stanton G, Martin V, Singh S, Wong LH, Bates R, Kohl SA, Abramson J, Senior AW, Alguel Y, Wu MY, Aspalter IM, Bentley K, Bauer DLV, Cherepanov P, Hassabis D, Kohli P, Fergus R & Wang J (2024) De novo design of high-affinity protein binders with AlphaProteo.
- [16] Pacesa M, Nickel L, Schmidt J, Pyatova E, Schellhaas C, Kissling L, Alcaraz-Serna A, Cho Y, Ghamary KH, Vinué L, Yachnin BJ, Wollacott AM, Buckley S, Georgeon S, Goverde CA, Hatzopoulos GN, Gönczy P, Muller YD, Schwank G, Ovchinnikov S & Correia BE (2024) BindCraft: one-shot design of functional protein binders., 2024.09.30.615802.
- [17] Pacesa M, Nickel L, Schellhaas C, Schmidt J, Pyatova E, Kissling L, Barendse P, Choudhury J, Kapoor S, Alcaraz-Serna A, Cho Y, Ghamary KH, Vinué L, Yachnin BJ, Wollacott AM, Buckley S, Westphal AH, Lindhoud S, Georgeon S, Goverde CA, Hatzopoulos GN, Gönczy P, Muller YD, Schwank G, Swarts DC, Vecchio AJ, Schneider BL, Ovchinnikov S & Correia BE (2025) One-shot design of functional protein binders with BindCraft. *Nature*, 1–10.

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

OPEN PhD



ELTE
EÖTVÖS LORÁND
UNIVERSITY

positions

at the Doctoral School of Biology

Who Can Apply :

- Open to individuals with a master's degree in biology or a related field
- Passionate about pursuing in-depth research

Why Choose Us?

- Vibrant community and teamwork
- Hands-on experience and skill development
- Mentorship and collaborations with renowned scientists
- High technology, modern laboratories



Benefits :

Engage in **groundbreaking projects** spanning **nearly every field of modern biology** – from theoretical and evolutionary biology, ethology, ecology, and conservation biology, molecular and behavioral neuroscience, human biology, immunology, experimental plant science, cell biology, microbiology, molecular genetics and cell biology, structural biochemistry, taxonomy. Acquire **invaluable research experience** while enhancing your **skills for successful grant applications**.

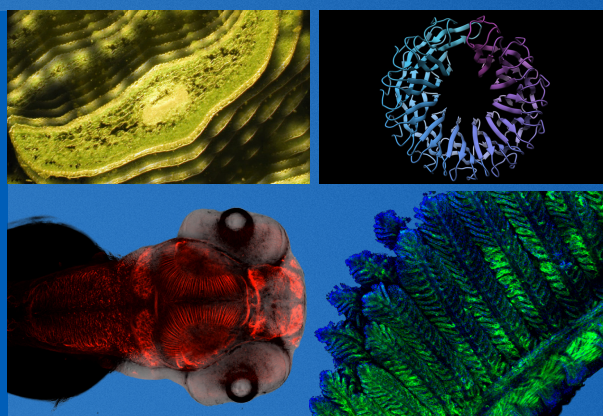


Application Deadline :

15 January, 2026

 bdi.elte.hu/en

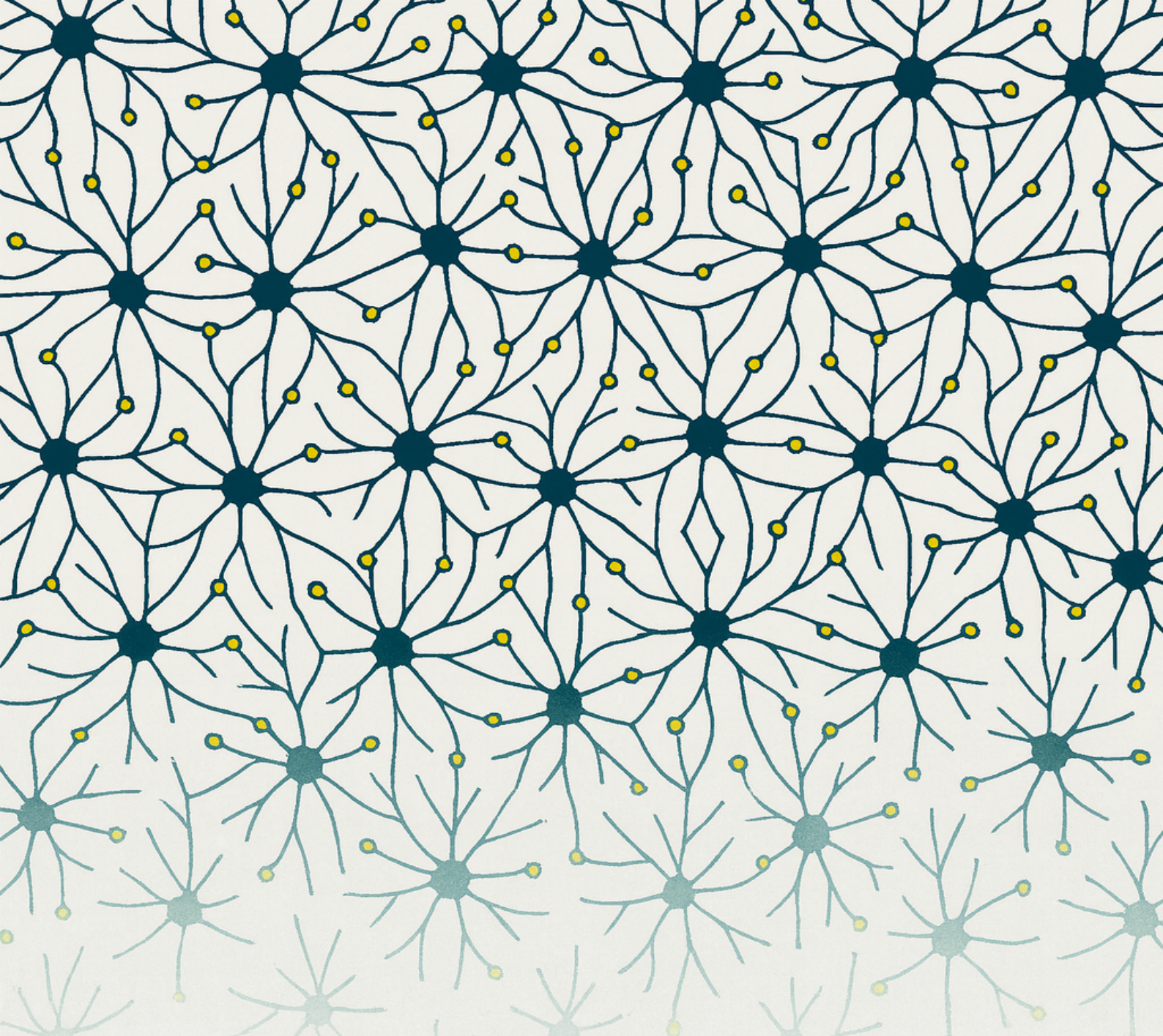
 Institute of Biology
at Eötvös Loránd
University
Budapest, Hungary



ELTE

FACULTY OF
SCIENCE

DOCTORAL SCHOOL
OF BIOLOGY



Let's connect.

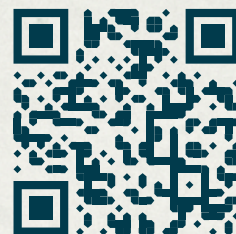


9th Hungarian Neuroscience
Doctoral Conference for
Undergraduate Students, Graduate
Students and Junior Post-Docs

28 January, 2026
Eötvös Loránd Faculty
of Natural Sciences
Eötvös Room



MAGYAR
IDEGTUDOMÁNYI
TÁRSASÁG





Invitation: Annual Congress of the European Association for Cancer Research (EACR2026)

Budapest, 08-11 June 2026

With a **dynamic** scientific programme, **world-renowned** speakers, and a range of **networking opportunities**, EACR2026 is Europe's leading cancer research conference. We are proud to invite you to [join us in June](#) to hear the latest Innovative Cancer Science!

EACR2026 is a **four-day congress** dedicated to basic, preclinical, and translational research across a wide range of topics. It will highlight the newest research in these fields and bring together the cancer research community to **inspire innovation** and **build knowledge, connections, and collaborations**.

Session topics include:

- Advances in Clinical Trial Design (liquid biopsies)
- Ageing and Cancer
- Biological Rhythms and their Impact on Cancer Therapy
- Brain Tumours
- Cancer and RNA modifications
- Cancer Immunology and Immunotherapy
- Cancer Initiation
- Cancer Prevention
- Cell Cycle Regulation
- Cell Death Mechanisms
- Chemical Biology
- Functional Genomics (Joint EACR-MOT Symposium)
- Genomic Instability
- Immune Activation beyond T Cells
- Mechanisms of Tumour Metastasis
- Novel Cancer Models (Joint EACR-EMBO Symposium)
- Plasticity and Non-Genetic Cancer Evolution
- Spatial Tumour Biology
- The Microbiome
- Tumour Ecosystems
- Tumour Innervation
- Tumour Heterogeneity at the Single Cell Level
- Tumour Macroenvironment (cachexia and metabolics)

The scientific content at EACR2026 is complemented by a **large industry exhibition**, a variety of workshops including **Meet the Expert** and **Career Development** sessions, and **keynote lectures** on cutting-edge topics. We will also showcase participants' work in our **extensive poster display**.

Abstract submissions open on **01 December 2025** – [click here for further details](#).

Registrations will open on 07 January. [Sign up](#) to be notified when tickets go live.

We hope you can join us!



Federation of European Biochemical Societies
50th FEBS Congress
<https://febscongress.org>
Maastricht, the Netherlands
2026. July 4-8

Dear colleagues,

We are delighted to invite you to the **50th FEBS Congress**, which will take place from 4th to 8th July 2026 in Maastricht, the Netherlands. This milestone edition of the FEBS Congress will be hosted by the Netherlands Society for Biochemistry and Molecular Biology (NVBMB) and promises to be a celebration of past achievements and future directions in the molecular life sciences.

The slogan for this Congress – “**Biochemistry for the next 50 years**” – reflects our forward-looking vision. As we honour the legacy of biochemistry and closely related disciplines, we also aim to inspire the next generation of discoveries that will shape our understanding of life and help address global challenges in health, sustainability, and technology.

The scientific programme at the 50th FEBS Congress will span important topics from across the molecular life sciences, and include a balance of lectures from invited experts – in the form of inspiring plenary lectures, and deeper dives into currently important research areas through more-focused symposia – as well as opportunities for delegates to present their work through short oral presentations and posters. Contributions from industry are also invited through an exhibition, and the Congress will be preceded by the FEBS Young Scientists’ Forum 2026, taking place in Wageningen as a satellite meeting to the Congress.

We are especially proud to welcome you to Maastricht – a historic city at the heart of Europe, known for its cultural richness, international character, and strong academic tradition. **On behalf of FEBS and NVBMB, we warmly invite scientists from all parts of the world and at all career stages to join us at the 50th FEBS Congress, and we look forward to welcoming you in Maastricht in July 2026!**

For more information: <https://febscongress.org/registration/>



KEY DATES

YSF/Congress registration and abstract submission opening:
1 November 2025

YSF application deadline: **Wednesday 10 December 2025, 23:59 (CET)**

Notifications of YSF award winners:
early **February 2026**

25th FEBS YSF: 2-4 July 2026

50th FEBS Congress: 4-8 July 2026

Apply to the [FEBS Young Scientists' Forum 2026](#)! An amazing opportunity for PhD students and postdocs in the molecular life sciences to present their work and network with their peers



Biochemistry for the next 50 years



We are happy to invite you to the 25th edition of the FEBS Young Scientists' Forum (YSF), taking place from **July 2nd to 4th, 2026**, in the beautiful and picturesque city of Wageningen, the **Netherlands**. In conjunction with the 50th FEBS Congress, the 25th YSF will highlight the importance of interdisciplinary collaborations in science and deliver a diverse and interesting programme.

Selected applicants are supported by FEBS grants. The YSF comprises opportunities for participants to present their own research work, take part in career skills sessions, hear and meet keynote lecturers, and enjoy a social programme. YSF participants also go on to experience the FEBS Congress, which is one of the largest gatherings in the **biosciences in Europe**. Over the days of the YSF, participants will have the opportunity to:

- Present and discuss their research with peers,
- Explore topics across diverse scientific fields,
- Attend lectures by leading scientists,
- Join workshops, including scientific and soft-skill focused themes,
- Network in a social, friendly and supportive setting.

Set in Wageningen, a city known for its contributions to life sciences and sustainability, the YSF 2026 is a unique setting for promoting interdisciplinary connections. Following the YSF, participants will continue their scientific journey at the **50th FEBS Congress in Maastricht**, one of the biggest bioscience conferences in Europe.

YSF grants will cover YSF participation, Congress registration, accommodation during both events, and most travel expenses.

The applications open on November 10 and close on December 10 2025.

For more information: <https://febscongress.org/ysf-welcome/>

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