

## Folyamatban levő Ph.D. munkák

1.

**Témavezető:** Boros Imre, Henn László

**Doktori Iskola:** SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

**Ph.D. hallgató:** Szabó Anikó

**Témacím:** A BigH1 alternatív linker hiszton szerepe a Drosophila korai fejlődésében

**A kutatási téma leírása:** A linker hiszton fehérjék a kromatin alapvető építőegységei, melyek a magasabb rendű szerveződési szintek kialakulásához és stabilitásához elengedhetetlenek. A H1 hisztonoknak számos szövet- és fejlődési stádium-specifikus variánsa ismert, és az embriogenezis korai szakasza rendszerint egy alternatív linker hiszton igényel. Ecetmuslicában (*Drosophila melanogaster*) a BigH1, mint alternatív linker hiszton fehérje, szerepet játszik az embriogenezis kezdetén. Munkánk célja a BigH1 linker hiszton sajátos funkcióinak feltérképezése. Ennek vizsgálatára olyan mutáns *Drosophila* vonalakat hoztunk létre, melyekben a BigH1 gén kódoló szekvenciáját részben vagy teljesen a szomatikus H1 gén kódoló szakaszára cseréltük. A mutáns állatokon végzett kísérletek azt mutatják, hogy a BigH1 mobilisebb linker hisztonként szerepet játszik a korai embrionális fejlődésre jellemző gyors magi osztódásokhoz szükséges dinamikus nukleoszóma kicserélődésben az S-fázis során, miközben a szomatikus H1-nél nagyobb stabilitást biztosít a nukleoszómák számára.

2.

**Témavezető:** Boros Imre, Henn László

**Doktori Iskola:** SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

**Ph.D. hallgató:** Ábrahám Andrea

**Témacím:** Hiszton módosítások és alternatív hisztonok szerepe a differenciálódott sejtek és szövetek homeosztázisában

**A kutatási téma leírása:** A hisztonok erősen konzervált DNS-kötő fehérjék, melyek meghatározó szerepet játszanak a sejtek homeosztázisában. A kromatinstruktúra ezen fehérjék poszttranszlációs módosításain (PTM) és variánsain keresztül szabályozható. Számos betegséget hoztak már összefüggésbe a hisztonok rendellenességeivel, ezért fontos megértenünk azokat a szerteágazó funkciókat, melyeket a hiszton módosítások és variánsok betöltenek. Mi a *Drosophila melanogaster* modellorganizmust használjuk a hiszton funkciók vizsgálatához. A közelmúltban publikált információk szerint a H2A Lys119 ubikvitinációjának mértéke megnő az életkor előrehaladtával, valamint a Lys119 ubikvitinációját végző ubikvitin ligázokra mutáns állatok megnövekedett

élethosszt mutatnak. Létrehoztunk UAS-GFPH2AK119R és UAS-GFPH2Awt transzgenikus muslinca törzseket és megmértük az élethosszukat. Eredményeink alapján azok az egyedek, melyek transzgenikus GFPH2A-t termelnek túl, megnövekedett élethosszt mutatnak, azonban nincs szignifikáns különbség a pontmutáns és a nem mutáns GFPH2A-t túltermelő állatok élethosszában. Kutatásaink másik irányvonala egy különleges alternatív H4 hiszton funkciójának felderítése. Ezen célból olyan transzgenikus vonalat hoztunk létre, amelyben a His4r in situ 3xFlag-epítőppal jelöltük meg. Az epítőpjelölés lehetővé teszi számunkra a kanonikus és variáns H4 fehérjék megkülönböztetését. Jelenleg az így létrehozott transzgenikus vonal használatával vizsgáljuk a His4r lehetséges szerepét a stresszreakciókban illetve a transzkripciós memória kialakításában kromatin-immunoprecipitáció és szekvenálás segítségével.

### 3.

**Témavezető:** Lipinszki Zoltán

**Doktori Iskola:** SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

**Ph.D. hallgató:** Kármán Zoltán

**Témacím:** Az evolúciósan konzerválódott Fehérje Foszfátáz 4 (PP4) szubsztrátum-felimerő mechanizmusai

**A kutatási téma leírása:** A reverzibilis fehérje foszforiláció molekuláris kapcsolóként meghatározhatja az Eukarióta sejtben található fehérjék aktivitását, féléletidejét, sejtben belüli elhelyezkedését vagy kölcsönható partnereinek kilétét. Ezáltal olyan összetett sejtélettani folyamatok finomhangolását képes megvalósítani, mint amilyen a sejtosztódás. Míg a foszforilációt kiváltó fehérje kinázok működése jól jellemzett, a folyamatot visszafordító fehérje foszfatázokról meglepően kevés ismeretanyaggal rendelkezünk. A sejtciklus szabályozásában főként a Ser/Thr foszfo-fehérje foszfatázok (PPP) családjába tartozó enzimek vesznek részt, melyek gyakran többalegységes holoenzim komplexumokként működve ún. rövid lineáris motívumokat (SLiM) ismernek fel a módosítandó fehérjén. Ebbe a csoportba tartozik a konzerválódott, létfontosságú, de alig ismert Fehérje Foszfátáz 4 (PP4) is, amely R3 alegységét használva kötődik a szubsztrátumaihoz. Ennek mechanizmusát és az R3 által felismert SLiM-eket egyelőre nem ismerjük. Kutatásaink rámutattak, hogy az R3 alegységnek legalább két N-terminális doménje, a konzerválódott EVH1 és Smk-1 vesznek részt a szubsztrátum-kötésben. Molekuláris biológiai, genetikai és proteomikai módszerekkel azonosítottunk újabb szubsztrátumokat, melyek a fenti doménekhez specifikusan kapcsolódnak, majd biokémiai technikákkal meghatároztuk az EVH1 domén konszenzus felimerési szekvenciáit (SLiM-jeit). Jelenleg arra keressük a választ, hogy milyen mechanizmussal kötődik az EVH1 a SLiM-jeihez, hogyan ismeri fel az ismeretlen funkciójú Smk-1 domén a szubsztrátumait, illetve hogyan szabályozza a PP4 foszfatáz az újonnan azonosított sejtciklus fehérje-szubsztrátumok működését.

4.

**Témavezető:** Lipinszki Zoltán

**Doktori Iskola:** SZTE TTIK Biológia Doktori Iskola

**Ph.D. hallgató:** Réthi-Nagy Zsuzsánna

**Témacím:** Egy cisz-hatású univerzális fehérje-stabilizációs motívum azonosítása és jellemzése

**A kutatási téma leírása:** Az Eukarióta sejtek proteóm homeosztázis (proteasztaázis) megfelelő fenntartásának alapja a szabályozott fehérjebontás, melyet az ubiquitin-proteaszóma rendszer (UPR) és az autofágia közösen végeznek. Az UPR felelős a rövid féléletű fehérjék sejten belüli eltávolításáért. Ezek főként sejtciklus regulátorok vagy transzkripciós faktorok, melyek szelektív és szigorúan szabályozott lebontása létfontosságú a sejt számára. Az UPS felismeri a lebontandó fehérjékben található rövid destabilizáló, ún. degron szekvenciákat, melyet minden esetben a subsztrátum visszafordíthatatlan lebontása követ. Habár mára rengeteg fajta és különböző módon ható degront azonosítottak, gyakorlatilag semmit sem tudunk az ellentétes hatású fehérje stabilizációs motívumokról. Munkánk során azonosítottunk és jellemeztünk egy rövid fehérje szakaszt, amely stabilizációs motívumként (stabilon) működik. Ha a stabilon szekvenciát modellfehérjék C-terminálisára kapcsoljuk, minden esetben jelentős féléletidő-növekedést tapasztaltunk akkor is, ha azok szerkezetükben, sejten belüli elhelyezkedésükben és szabályozásukban is eltértek. Kimutattuk, hogy a stabilon szekvencia megóvja a modellfehérjék UPR-általi lebontását. Jelentős megfigyelés, miszerint a stabilon képes szekretált fehérjék stabilizálására is. A humán erithropoietin hormon szekretált, érett és aktív formájának mennyisége a stabilon jelenlétében nagyságrendekkel megnőtt. Végezetül igazoltuk, hogy a stabilon motívum univerzális stabilizációs szekvencia a magasabbrendű Eukariótákban.