



A BIOLÓGIA FÉL ÉVSZÁZADA A SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONTBAN

A BIOLÓGIA FÉL ÉVSZÁZADA
A SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONTBAN

A BIOLÓGIA FÉL ÉVSZÁZADA A SZEGEDI BIOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONTBAN

IMPRESSZUM

A kiadvány bármilyen módon – például fotó, fénymásolás, hangrögzítés formájában – történő másolása, sokszorosítása a kiadó írásbeli engedélyéhez kötött.

Kiadó: Szegedi Biológiai Kutatóközpont – Dr. Nagy Ferenc főigazgató

A kiadvány összeállításában közreműködtek

Főszerkesztő: Dr. Siklós László

Szerkesztők:

Dr. Erdélyi Miklós

Dr. Fehér Tamás

Dr. Horváth Péter

Dr. Tóth Szilvia Zita

Dr. Vass Imre

Dr. Zimányi László

Szerkesztősségi asszisztens: Nagy-Demcsák Anett

Kiadványszerkesztő: Dr. Bokor Dóra

Grafikai tervezés és tördelés: Szabó István

Fotók: SZBK, Halof Ferenc, Dusha Béla, Reviczky Zsolt

A 40 éves jubileum alkalmából készült kiadvány elérhető a Szegedi Biológiai Kutatóközpont honlapján.

Nyomtatás: Premier Nyomda Kft.
1222 Budapest, Nagytétényi út 7.

ISBN: 978-615-01-8678-8



TARTALOMJEGYZÉK

Köszöntő	7
Nagy Ferenc	
Emlékvázlat az SZBK alapításáról és induló éveiről	8
Venetianer Pál	
A kezdetek hatvan év távlatából	13
Závodszy Péter	
BIOFIZIKAI INTÉZET	
Neuronális plaszticitás, neurodegeneráció	20
Párducz Árpád, Patai Roland, Polgár Tamás, Siklós László	
A biológiai barrierek és a neurovaszkuláris egység	24
Deli Mária, Krizbai István	
Bakteriorodopszin	27
Dér András	
Membránok, membránfehérjék	30
Páli Tibor	
Mikrobiális biotechnológia	32
Rákhely Gábor, Kovács Kornél	
Metalloproteinek biofizikája	35
Zimányi László	
Optikai mikromanipuláció, mikrofabrikáció, mikrofluidika	37
Galajda Péter, Kelemen Lóránd, Ormos Pál	
BIOKÉMIAI INTÉZET	
A génklónozás és DNS-szekvenálás hazai úttörői	42
Venetianer Pál	
Vírusok, sejtek, citokinek – egerek és emberek	45
Duda Ernő	

Nyitás az eukarióta molekuláris biológia felé	46
Udvardy Andor	
Restrikciós endonukleázok és DNS-metiltranszferázok: a genom- és epigenom-kutatás eszközei	48
Kiss Antal	
Az extracelluláris mátrix kutatás három évtizede	49
Kiss Ibolya, Deák Ferenc	
DNS és fehérjék kölcsönhatásának vizsgálata a génműködés megértéséhez	51
Boros Imre	
Genomok szabás-varrása	53
Pósfai György	
Farkas Tibor öröksége	54
Vígh László	
G-fehérje-kapcsolt sejtmembránreceptor-fehérjék és kölcsönható ligandjaik farmakobiokémiai kutatása	57
Benyhe Sándor	
Szintetikus és rendszerbiológia, gépi tanulással támogatott egysejtanalízis	61
Fehér Tamás, Horváth Péter, Kintses Bálint, Lázár Viktória, Manczinger Máté, Nagy G. László, Pál Csaba, Papp Balázs	
GENETIKAI INTÉZET	
Sejtgenetika, DNS-hiba-javítás	66
Haracska Lajos	
Az Immunológiai Témacsoport 50 éve	70
Honti Viktor	
Az emlőssejt-genetikától az archeogenetikáig	74
Raskó István	
A Drosophila-fejlődésgenetikai csoport 50 éve	78
Mihály József	

NÖVÉNYBIOLÓGIAI INTÉZET

A fény és a biológiai óra által szabályozott jelátviteli hálózatok molekuláris alapjai a növényekben

Nagy Ferenc, Kozma-Bognár László

A fotoszintézis-kutatás öt évtizede: az alapkutatástól a megújuló energiáig

Garab Győző, Tóth Szilvia Zita, Petar H. Lambrev, Vass Imre

A szimbiotikus nitrogénkötés kutatása az SZBK indulásától

Kondorosi Éva, Maróti Gergely

Génszerkesztés és növénynemesítés a zöld világ védelmében

Dudits Dénes, Ferenc Györgyi, Nagy Bettina, Zombori Zoltán, Rádi Feríz, Ferhan Ayaydin

A stressztűrés molekuláris háttere a magasabb rendű növényekben

Szabados László, Györgyey János, Koncz Csaba

A növényi növekedés és sejtosztódás szabályozása

Fehér Attila, Magyar Zoltán

ENZIMOLÓGIAI INTÉZET

Proteolitikus enzimek az immunválaszban

Gál Péter

Egy transzporter, egy nukleáz és egy metabolit: a trió, amely a meszesedés kottájából játszik

Váradí András

KÖZPONTI LABORATÓRIUMOK

A hazai proteomika születése – tömegspektrometriás fehérjeanalízis a biológiai kutatás szolgálatában

Medzihradský F. Katalin

Izotópjelölés az SZBK-ban

Tóth Géza

KÖSZÖNTÖM A KEDVES OLVASÓT!

A Szegedi Biológiai Kutatóközpont (SZBK) 2023-ban ünnepli fennállásának 50. évfordulóját. Ezen öt évtized alatt az SZBK – a dél-alföldi régió és Szeged város emblemikus intézménye – Magyarország egyik világviszonylatban is elismert és sikeres kutatóműhelye lett. Az SZBK első laboratóriumai 1971-ben kezdték meg működésüket, majd 1973-ban – *Straub F. Brunó*, az SZBK szellemi atyja és első főigazgatója, valamint szegedi kötődésű Nobel-díjasunk, *Szent-Györgyi Albert* jelenlétében – került sor a teljesen elkészült létesítmény ünnepélyes felavatására. Az SZBK létrehozásával az alapítók célja olyan kutatási környezet kialakítása volt, amely lehetővé teszi a Magyar Tudományos Akadémia által felügyelt élettudományi alapkutatások nemzetközileg is versenyképes szintre emelését. Az SZBK tudományos küldetéséből eredő, multidiszciplináris jellegű kutatómunka négy független intézet keretein belül indult el a növénybiológia, a biokémia, a genetika és a biofizika tudományterületén. A kezdettől fogva magas színvonalú kutatói tevékenység, a pezsgő tudományos légkör és a fiatal kutatógárda dinamizmusa révén az SZBK rövid időn belül a hazai élettudományi kutatások fellegrára lett, és nemzetközileg is elismertté vált.

Az elmúlt 50 év hazai társadalmi változásai, történései és az élettudományok robbanásszerű fejlődése természetesen hatással voltak az SZBK-ban folyó munkára, de ezek felsorolása – nem beszélve értékelésükről – messze meghaladja a kiadvány kereteit. Összegzésképpen azonban megállapítható, hogy a magas szintű, nemzetközileg versenyképes kutatásokra való törekvés még a legnehezebb időkben is abszolút prioritást élvezett, és nem volt alku tárgya. A kiválóságra való törekvésnek köszönhetően az elmúlt öt évtized alatt az SZBK képes volt újra és újra megújulni, alkalmazkodni a változó környezethez és megőrizni az alapító gárda által kivívott hírnevet. A kutatómunka eredményei mellett az itt folyó szakemberképzés is jelentősen hozzájárult az SZBK nemzetközi hírnevének növeléséhez. Az elmúlt ötven év alatt több tucat, ma



Nagy Ferenc, főigazgató

már nemzetközileg vezető kutató – köztük a Lasker-díjas *Karikó Katalin*, az mRNS alapú vakcina egyik kidolgozója – kezdte tudományos pályáját az SZBK laboratóriumaiban. Az utolsó nagyobb horderejű változás, ami újabb fordulópontra jelentett nemcsak a Szegedi Biológiai Kutatóközpont, hanem a teljes akadémiai kutatóhálózat életében, 2019-ben történt. Ebben az évben a Magyar Tudományos Akadémia intézethálózatának irányítása az Eötvös Loránd Kutatási Hálózathoz (2023. augusztus 1-től Magyar Kutatási Hálózat) került. A változás alapvetően nem alakította át az SZBK-ban folyó kutatómunka „felfedező” jellegét, de a nemzetközi trendekhez igazodva a versenyképes, kiemelkedő színvonalú alapkutatás mellett fokozott figyelmet kezdtünk fordítani a kutatási eredmények társadalmi hasznosulására. Az 50 éves évforduló megünneplésére készült kiadványunkban az SZBK-beli aktuális kutatási témák kezdeteiről, fejlődéséről és műhelytitkairól kívánunk tájékoztatást nyújtani az olvasó számára.

Szeged, 2023. október

NAGY FERENC, FŐIGAZGATÓ

EMLÉKVÁZLAT AZ SZBK ALAPÍTÁSÁRÓL ÉS INDULÓ ÉVEIRŐL

Mottó: „Minden sikeres intézmény egy nagy ember gondolatainak, álmainak megtestesülése”

Ralph Waldo Emerson

Ha az SZBK sikeres intézmény – és az ötvenedik évfordulón okunk van hinni, hogy valóban az –, akkor azonosítható az a nagy ember, akinek gondolatainak, álmainak megtestesülése ez az intézmény. Ő *Straub F. Brunó*, és ezért ennek az írásnak a középpontjában ő áll. Előzetesen azonban – a mai fiatal kutatók számára – szükséges néhány szót szólni tudományunk hazai helyzetéről az alapítás idején, a múlt század hatvanas éveiben.

Noha a liszenkói áltudomány uralma nálunk (ellentétben a Szovjetunióval) nem ölt meg és nem küldött börtönbe senkit, de szakmai pályákat tett tönkre, hallgatásra vagy irányváltásra kényszerített jelentős tudósokat, és éveken át nevelt tudatlan és tájékozatlan biológusokat. Ez az uralom Hruscsov híres, 1956. februári kongresszusi beszéde után kezdett megdőlni, de teljes bukására sokáig kellett még várni. 1960-ban Liszenko még óriási felhajtással kísért nagyelőadást tarthatott a Magyar Tudományos Akadémián, párt- és állami vezetők kitüntető jelenlétében. A kevés magyar meggyőződéses liszenkoisták egyike, *Rajki Sándor* – *Györffy Barna* korrekt és szigorú elmarasztaló véleménye ellenére – 1966-ban sikerrel megvédte doktori disszertációját és később akadémikus is lett.

A különféle kísérletes biológiai diszciplínák kutatása korábban sem volt túlságosan jó helyzetben Magyarországon, de ezt még tovább rontotta a második világháború pusztítása, a Rákosi-korszak alatti teljes izoláció a nyugati tudománytól, a három emigrációs hullám, és a genetika esetében a már említett liszenkoizmus hatása.

Ezt a szomorú helyzetet jól látta az a néhány experimentális biológus, aki még a háború előtt elért eredményei révén nemzetközi hírnévnek és tekintélynek örvendett, itthon maradt, és volt befolyása a tudománypolitika alakítására. Ilyen ember volt Straub,



Alapkövetéltel (Rusznay István, 1968)

Szent-Györgyi tanítványa és munkatársa, aki a mester távozása után előbb szegedi, majd budapesti tanszékének örököse lett, és 32 évesen, ebben a „poétikusan ifjú korban” (Rejtő Jenő) választották akadémikussá.

Straub hadjárata a magyar kísérletes biológia megújításáért azzal kezdődött, hogy 1962-ben elérte a Magyar Tudományos Akadémia elnökségénél, hogy létesüljön Biológiai Osztály. Addig ugyanis a biológusok csak az Orvosi Osztályon belül képezhettek egy csoportot. Az új osztály első vezetője (a mai elnököt akkor még titkárnak hívták) Straub lett, aki ezt a funkciót 1967-ig töltötte be. Az ő vezetésével az osztályon elkészült az elnökség számára egy átfogó javaslat a biológiai alaptudományok kívánatos és szükséges fejlesztési irányairól, a biológusképzés reformjáról, és arról, hogy a meglévő bázison kívül feltétlenül szükség van egy (vagy több) új biológiai kutatóintézet (és épület) létesítésére. Ebben a javaslatban az új intézet(ek) helyeként a budapesti Hűvösvölgy szerepelt. Ezután azonban hosszú küzdelem kezdő-

dött a Straub vezette Biológiai Osztály és az állami vezetés (konkrétan: Országos Tervhivatal) között, ekkoriban ugyanis éppen uralkodott az a hazánkban olykor-olykor különböző intenzitással visszatérő decentralizációs gondolat, amely meg akarta szüntetni Budapest vízfej voltát és ragaszkodott az új fejlesztések vidékre helyezéséhez. A hatalom természetesen győzött, Straubnak választania kellett, hogy vagy nem lesz új intézet, vagy az vidéken (konkrétan: Szegeden) lesz. Ő, nyilvánvalóan helyesen, az utóbbit választotta, és 1964-ben megszületett a döntés a Szegedi Biológiai Központ létrehozásáról. 1964–66 között tervező mérnököket küldtek ki külföldi tanulmányutakra, kijelölték az új intézet helyét Újszegeden, valamint az építő vállalatot és a tervező főmérnököt (*Tarnai István*) is. 1968 április 2-án az MTA elnöke és főtárhelyettese, ünnepélyes keretek között letették az új Központ épületének alapkövét.

Ez volt tehát a „hardver”. A lényeg azonban a „szoftver”, azaz az új központ alapkoncepciója, kutatási irányai, szervezete, működési stílusa, kutatói állományának kialakítása. Ezen a téren Straub a legfontosabb munkatársával, *Láng István* főtárhelyettesével együtt, számos eredeti és szokatlan megoldással és meglepő húzással alakította ki azt a modellt, amely ma is determinálja és hazai viszonylatban egyedülállóvá teszi az SZBK-t.

Először is: az intézeti struktúrát. Noha nem így nevezték, nyilvánvaló volt, hogy az új intézmény alapvetően az ekkoriban fénykorát élő új tudománynak, a molekuláris biológiának lesz szentelve. Mivel minden tudománytörténész szerint a molekuláris biológia három őse a genetika, a biokémia és a biofizika, nem lehetett kérdés, hogy a központ három intézete ezt a három részdiszciplínát fogja kutatni. Straub azonban – zseniális előrelátással – felismerte, hogy a jövőben

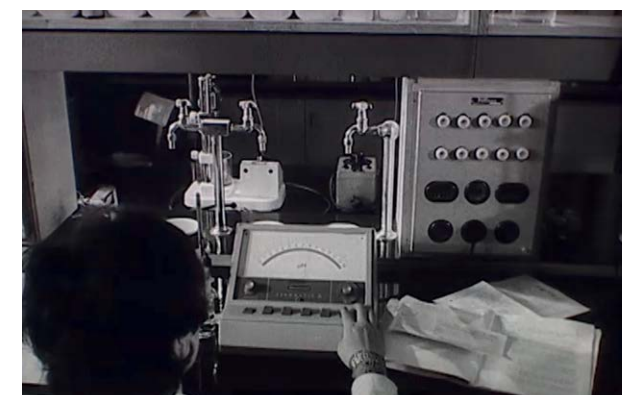


Straub F. Brunó (1914–1996)

fontossá fog válni egy akkoriban még nem létező terület, a növények molekuláris biológiája. Ezért hívott meg egy kiváló növényfiziológust, *Farkas Gábort* a negyedik új intézet, a Növényélettan (ma Növénybiológia) élére. Ennek a szokatlan döntésnek a helyessége hamarosan visszaigazolódt: az SZBK első világviszonylatban sikeres eredményei a növénybiológia területén születtek.



Az első kísérleti előkészületek



Az első tudományos mérések



Straub F. Brunó és Szent-Györgyi Albert beszélget a főigazgatói irodában az SZBK felavatási ünnepsége napján

Ami a három másik tudományágat illeti: genetikai és biokémiai intézete már volt az Akadémiának, ezekre épülhettek az új szegedi műhelyek. A biokémiát maga Straub vezette. A budapesti Genetika igazgatója Györffy Barna, a szegedi indulás előtt elhunyt, így az igazgatói megbízást a szegedi mikrobiológus-genetikus, Alföldi Lajos kapta meg. Ő követte másodikként Straubot a szegedi főigazgatói székben, és neki is fontos arculatformáló szerepe lett az új intézményben. Biofizikai intézet viszont nem volt. A létező egyetemi biofizikai tanszékekről és a biofizika vezető kutatóiról Straub véleménye (talán igazságtalanul) elég rossz volt – úgy vélte, hogy az orvosi, illetve biológusi alapképzettségű biofizikusok szükségszerűen dilettánsok. Ezért ragaszkodott ahhoz az eretnek gondolatához, hogy az új Biofizikai Intézet élére egy valódi, kiváló fizikust (*Keszthelyi Lajos*) nevezzon ki, akinek korábban semmi köze nem volt a biológiához. A következő évtizedek ezt a döntését is tökéletesen visszaigazolták, maga Keszthelyi és utóda, a szintén fizikus Ormos Pál jelentős nemzetközi visszhangot kiváltó eredményeket értek el a biofizikában. Az igazgatókkal kapcsolatban megjegyzendő még, hogy megtiltotta nekik, hogy az egyetemi tanszékeken megszokott módon minden közleményre utolsó szerzőként odaírják a nevüket. Az újszerű intézeti felépítés jelentős eleme volt a szokatlanul nagy és jó minőségű műszaki részleg, amely el tudott végezni szinte minden munkát az épületen, szervizelte a műszereket és önálló műszerfejlesztést is végzett. A Kádár-korra jellemző hiánygazdálkodásban ez az osztály olykor mintegy életmentő, a munka folytonosságát biztosító szerepet töltött be.

Ezen a ponton – a mai fiatalok kedvéért – ismét vissza kell térnünk ahhoz, hogy milyen volt a politikai helyzet a „Gründerzeit”, az alapítás idején. Noha törvény ezt nem követelte meg, univerzális szabályként gyakorlatilag állami intézmény vezetésére csak párttagot lehetett kinevezni. Ezért volt szinte példátlan, hogy a párton kívüli Straub lehetett az SZBK alapító főigazgatója és az általa kinevezett intézetigazgatók egyike sem volt párttag. E helyzet pikantériáját az is növelte, hogy a korabeli folklór Csongrádot „Pol Pot megye” néven emlegette, mert a megyét uraló Komócsin-klán politikailag balra állt a központi, kádári vonaltól. Ennek ellenére – feltehetően azért, mert a városi-megyei párt- és állami vezetést rendkívül boldoggá tette a nagyszabású új beruházás szegedi létrejötte – sem a vezetői kinevezésekbe, sem később az intézmény életébe gyakorlatilag egyáltalán nem szóltak bele. Természetesen – a kor gyakorlatának megfelelően – az intézet állandó belügyminisztériumi felügyelet alatt állt, a bepoloskázott irodáknak és a jól kiépült besúgó hálózatnak köszönhetően az „illetékes főhekus” mindenről azonnal értesült, ami az intézetben elhangzott, illetve történt, de ennek általában semmi következménye nem volt. Köszönhetően talán annak is, hogy ez a bizonyos főhekus (*Salgó László*) pályatársai döntő többségével ellentétben okos, tájékozott, a nagyvilágra nyitott ember volt, aki nyilvánvalóan szakmai érényeinek (és nem politikai múltjának) révén a rendszerváltás után, a demokratikus Magyarországon megyei, majd országos rendőrfőkapitány lehetett.

Straub és Láng eretnek személyzeti politikája nem csak az igazgatói kinevezéseknél érvényesült. 1965-től kezdve az MTA Biológiai Osztálya minden biológus évfolyamról kiválasztotta a legjobbakat, és ösztöndíjakat, illetve a végzés után állást ajánlott nekik, már az új intézmény állományában. A kiválasztás kizárólag szakmai alapon történt, a kor normáival ellentétben sem politikai tevékenység, sem származás, sem „sáros” múlt ebben nem játszott szerepet. Az ösztöndíjak válogatott külföldi vagy hazai intézményekbe szóltak. Noha az ösztöndíjasok egy része végül nem vállalta a Szegedre költözést, így is maradtak elegenden ahhoz, hogy 1971. április 3-án, a tényleges munka elkezdése idején olyan tehetséges fiatal „csikócsapat” dolgozzon az új intézetekben, amelyre sem azelőtt, sem azóta nem volt példa a magyar tudományos életben. A fiatalok témaválasztásait az intézetvezetők többsége meglehetősen liberálisan kezelte. Ez egyfelől

azzal járt, hogy elég sok „marhaságot” követtek el, sok kezdeményezés bizonyult zsákutcának, másfelől azonban a legtehetségesebbeknek (pl. *Kondorosi Ádám*, *Maliga Pál*, *Hajdú János*) magyar viszonylatban példátlan gyorsasággal sikerült nemzetközi sikereket elérniük. Ebben még egy fontos tényező segítette őket, ami szintén Straubnak köszönhető: ő harcolta ki, hogy az Egyesült Nemzetek Fejlesztési Alapja (UNDP) 1973. január 1-jétől 5 évre 1,3 millió dolláros támogatásban részesítse a Szegedi Biológiai Központot. Ennek az összegnek egyharmadát műszerbeszerzésre, egyharmadát külföldi szakértő tanácsadók meghívására, a fennmaradó harmadot pedig szegedi kutatók külföldi utaztatására lehetett fordítani. E támogatásnak volt köszönhető a Nemzetközi Továbbképző Program (International Training Course, ITC) létrejötte, amelynek keretében több évtized alatt 53 ország több száz fiatal kutatója kapott továbbképzést, illetve végezhetett kutatómunkát az SZBK-ban. E fiatalok közül később sokan vezető pozíciókat töltöttek be hazájuk tudományos életében (és mellékesen: számos nemzetközi házasság is létrejött).

Straub személyzeti politikájának része volt a Szent György-nap intézményének bevezetése. Ennek alapja az a népi hagyomány, amely szerint ezen a napon (április 24.) a pásztorok átszereződhetnek más gazdához. Ma már, amikor a fiatal kutatók többségét a „principal investigator” pályázati pénzből fizetik, ennek nem volna jelentősége, de a rendszerváltás előtt gyakorlatilag mindenkit az intézmény költségvetéséből fizettek, vagyis az intézeti hierarchia be volt betonozva. A Szent György-nap azt jelentette, hogy április 24-én bármelyik fiatal kutató főnököt válthatott, azaz ha egy másik csoport vezetője hajlandó volt őt befogadni, akkor – bérével együtt – átkerülhetett ebbe a csoportba. Magyarul: nem csak a főnökök szelektálhattak a fiatalok közül, hanem fordítva, a fiatalok is válogathattak a főnökök közül. Straub másik újítása, hogy a fiatal házaspáros kutatók folyamatos munkáját megkönnyítendő, pótmamaszolgálat szerveződött, lehetővé téve, hogy a beteg gyermekek mellett ne kelljen otthon maradniuk a kutató anyáknak. A fiatal kutatók látóköreinek bővítésére bevezette a nem szakmai szemináriumokat, ahol könyvekről, filozófiai irányzatokról és a kultúra más területeiről szóló előadásokat tartottak.

Ügyszintén példátlan volt a hetvenes évek Magyarországon az, hogy az SZBK könyvtárának olvasóterme szabadpolcos rendszerben működött, vagyis éjjel-nappal nyitva volt, és az intézet kutatói oda bármikor be-



Venetianer Pál

ülve, személyzet és adminisztráció nélkül leemelhették a kívánt könyvet vagy folyóiratot a polcra helyben olvasásra. Az már csak hab volt a tortán – szintén az országban példátlanul –, hogy a szabadon hozzáférhető újságok között ott volt a *Newsweek* és az *International Herald Tribune* is. Ennek a liberalizmusnak (akkor ez még nem volt szitokszó) jelentős hatása volt a szomszédos „baráti” országokra is. Egyfelől a fiatal kutatók imádtak ide jönni. Hiszen például a Szovjetunióból érkezők itt láthatták először a *Nature* és a *Science* eredeti példányait (a szovjet tudományos intézetek könyvtáraiban csak e folyóiratok cenzúrázott reprintjei voltak hozzáférhetőek). A szovjet vendégeket az is sokkolta, amikor meglátták Straubot tálcával a kezében sorban állni a menzán (a Szovjetunióban – akár a katonai létesítmények tisztai kávéházaiban – az akadémikusok a plebsztől szigorúan elkülönítve étkeztek). Másfelől viszont a tudománypolitikai hatóságok egyre nagyobb gyanakvással és ellenérzéssel méregették az SZBK-t, és a nyolcvanas évek második felében az NDK-ból már nem is engedtek ide kutatókat.

Ezen a ponton e sorok írója úgy érzi, hogy teljesítette feladatát, képet adott az SZBK alapításáról

és induló éveiről. Úgy vélem azonban, hogy a meg-tisztelő felkérést azért kaptam, mert egyike vagyok azon kevés (egy kézen megszámolható) „alapító atyának”, akik még ötven év után is itt rontják a le-vegőt (Thomas Huxley: „Hatvan év fölött a tudós több kárt okoz, mint hasznot”). Ez talán feljogosít arra, hogy befejezőként néhány sort szenteljek „az én SZBK-m”-nak.

Amikor – 1971 tavaszán – az SZBK főépülete első felének átadására sor került és megindulhatott itt a munka, én és két ugyancsak Budapestről érkező munkatársam és jó barátom, *Duda Ernő és Udvardy Andor* az új épület leendő állatházában jutottunk ide-iglenes legényszálláshoz (lakást csak később kaptunk, akkor jöttek utánunk a családjaik). Az ekkor itt töltött néhány hónap emlékezetesen szép élményem, nemcsak a nagy pingpongcsaták és tiszai fürdőzések miatt, hanem főképpen azért, mert úgy éreztük magunkat, mint a karácsonyfa alatt boldog izgalommal ajándék-csomagokat bontogató gyermekek. A naponta beérkező új műszerek és laboratóriumi felszerelések addig általunk soha nem tapasztalt bősége szinte extatikus örömet okozott. A példátlan gazdagság élménye – hála az UNDP támogatásának – még évekig eltartott, de persze nem maradt állandó. A hét bő esztendő után eljöttek a sovány tehének esztendei is, és visszaemlé-kezve szomorúan regisztrálom, hogy főigazgatóságom három éve (1994–1996) volt minden valószínűség szerint az SZBK legszegényebb, legnagyobb gondok-kal viaskodó életszakasza. Ennek ellenére az elmúlt 50 év minden itt töltött napján örömmel léptem be a szeretett épületbe. Biztosan elfogult vélemény, mégis megkockáztatom: az SZBK hazánkban páratlanul jó légkörű és hangulatú intézmény volt az elmúlt 50 év során, és ma is az. Ezt az állítást megkísérlem néhány ténnyel is alátámasztani.

A szervezeti felépítésbe beépített konfliktusforrás (egyfelől a főigazgató egyszemélyi felelős vezetése, másfelől az igazgatótanács demokratikus joga ennek ellent mondani) ellenére ez soha nem vezetett valós szembenálláshoz (az egyetlen kivétel – a hetvenes években – inkább a pszichopatológia tárgykörébe tartozik). A vezetőváltások (főigazgatói és igazgatói) mindig konszenzussal, konfliktusok nélkül mentek végbe, a funkciótól megváló vezetőket soha semmi-féle sérelem nem érte utódaik részéről. És a kutatói kollektíva egésze? Hát ott nyilván – mint a világ bármely hasonló intézményében – voltak és vannak konfliktusok, féltékenységek, megbántott hiúságok,

de legjobb tudomásom szerint ezek soha, egyik in-tézetben sem teremtettek tartósan rossz légkört, és nem okoztak az intézet külső megítélésére is ható, észlelhető botrányt.

Ezt az emlékező írást Straubbal kezdtem, vele is szeretném befejezni. Szerb Antal egyszer, amikor rajtakapta magát azon, hogy szó szerint megismétli egy régebbi írása mondatait, azzal mentegetődzött, hogy megállapította: „...ha az ember egyszer valamit jól megfogalmazott, akkor igen nehéz attól eltérni és változtatni”. Nos, én úgy érzem, hogy azokat a mon-datokat, amelyeket 1996-ban, az SZBK aulájában ma is álló Straub-dombormű felavatása alkalmából mon-dtam, most is megismételhetem.

Az SZBK-ban ma dolgozó fiatal kutatók, a jövő reményeisei közül azok – és ők az igazán fontosak –, akikben valódi hivatástudat munkál, akik a tudo-mánynak akarják szentelni életüket, hitem és remé-nyeim szerint azért is dolgoznak itt, mert értékelik és becsülik az intézmény szellemiségét. Ez a szellemi-ség sok mindent jelent. Jelenti elsősorban az érték és a teljesítmény megkövetelését és feltétlen tiszteletét. Jelenti a szorgalom, az eredeti és önálló gondolkodás megbecsülését, akkor is, ha azt a másik ember mutatja fel. Jelenti a vélemények és nézetek demokráciáját, azt, hogy a tudományos igazság nem attól függ, ki mondja. Jelenti annak tudatát, hogy a tudomány ér-téke önmagában – a megismerésben – rejlik. Jelenti a jelen magyar közélet korrump világában kivételesnek számító tisztakezűséget. Aki ezt megtalálni véli az SZBK-ban, annak tudnia kell, hogy mindezt nagyrészt egyetlen embernek, Straub F. Brunónak köszönheti. Az ő legfontosabb példamutatását egy Saint-Exupéry-regényből vett idézettel szeretném jellemezni. Így szól: „Ha hajót akarsz építeni, akkor első lépésként ne munkásokat, fát és eszközöket gyűjts, hanem menj el az emberekhez és ébreszd fel bennük a vágyat a végtelen tenger iránt. Ha ez megvan, az emberek összehordják a fát, megtalálják az eszközöket – így már érdemes hajót építeni.”

Mint az eddigiekből nyilvánvaló, ő természetesen gyűjtötte a „munkásokat, fát és eszközöket” is, de a legfontosabb mégis csak az, hogy mindenkiben, aki volt olyan szerencsés, hogy vele dolgozhatott, fel tudta kelteni a vágyat a végtelen tenger – a tudományos megismerés – iránt. Az ő szívükben mindig ott fog élni Straub felejthetetlen alakja.

VENETIANER PÁL

A KEZDETEK HATVAN ÉV TÁVLATÁBÓL

Mottó: Laudamus veteres, sed nostris utimus annis, mos tamen est aequo dignus uterque coli.

Ovidiusz

A ki hat évtizeden át, a kezdetektől máig láthatta és megélhette az SZBK múltját és jelenét, az Ovidiusz tanácsa szerint „méltán dicsérheti a múltat, miközben vígan éli a jelent”. Ennek az írásnak az a szándéka, hogy az elmúlt hat évtized tanúja, aki jelen volt az SZBK egyik anyaintézményében, megmutassa, miként látta azt az időt, és azt, amit ebből emlékezeté-ben megőrzött és érdekesnek gondol, megmentse a feledéstől. Talán azért is érdekes lehet egy ilyen visszaemlékezés, mert történelmi időket ível át ez a hat évtized, mind az ország, mind a hazai, mind a nemzetközi tudomány – és különösen az élet-tudományok – vonatkozásában. Azért is érdemes felidézni a már-már történelmi távlatba vesző idő-ket, mert manapság beszélgetve fiatal és középkorú kollégáimmal, meglepetve tapasztalom, hogy szinte fogalmuk sincs arról, milyenek voltak a politikai és társadalmi körülmények akkor, amikor az SZBK létesítésének gondolata megfogalmazódott, és arról sem, hogy viszonylagos elszigeteltségben és szigorú politikai kontroll mellett miként jött mégis létre egy nemzetközileg versenyképes és a fejlett világ rendjébe illeszkedő tudományos sziget Szegeden. Sokan a mai Enzimológiai Intézetben azt sem tud-ják, ki volt *Straub F. Brunó*, ahogy azt sem, hogy a II. világháború után egy ideig nem létezett modern biológiai kutatást folytató intézmény a Szovjetunió dominálta Magyarországon. Hogy mindez meg-születhetett, kellett valaki, aki még ismerte a világ másik felében fennmaradt normákat, akinek volt elképzelése, hogy merre tart a világ, és elegendő befolyása ahhoz, hogy mindezt megvalósítsa. Ez volt *Straub F. Brunó*, a világlátott Szent-Györgyi tanítvány, aki szerencsés és szerencsétlen események folytán a harmincas éveiben, cselekvőképessége teljében került helyzetbe.



Ajtai Miklós, a Minisztertanács elnökhelyettese és a Tudomány-politikai Bizottság elnöke 1972-ben látogatást tett a Karolina úton, hogy megismerje az SZBK szervezésével kapcsolatos felkészülést. A képen balról *Sugár István* (fizikus diplomamun-kás, jelenleg az USA-ban dolgozik), középen *Závodszy Péter* tudományos munkatárs (az érdekesség kedvéért később a Nemzeti Tudománypolitikai Tanács, a korábbi TPB mai meg-felelőjének tagja) és jobbról Ajtai Miklós látható az újonnan beszerzett kétsugaras infravörös spektrofotométer előtt

Kettős gyökérből nőtt ki az SZBK, mert a koncepció ötletgazdája és a program végrehajtója, Straub F. Brunó az 1960-as, '70-es években két budapesti iskolának is vezetője és meghatározó személyisége volt: a SOTE Orvosi Vegytani Intézetének és az MTA Biokémiai Intézetének. *Venetianer Pál*, az SZBK későbbi főigazgatója az Orvosi Vegytani Intézetből jött, és onnan látta, élte meg a kezdeteket, míg én az MTA Biokémiai Intézetében lehettem Straub közvetlen környezetében, így tanúja voltam az előkészítő pró-bálkozásoknak és eseményeknek. Gyakorta együtt ebédelve, módomb volt beszélgetni a „Proffal” tudo-mányról, tudományszervezésről, az élet apró dolga-iról. Így szinte napi felbontásban láthattam, miként lett egy modern, molekuláris szemléletű biológiai

kutatóközpont létesítésének gondolatából javaslat, a javaslatból program és a programból a tettek útján megvalósult SZBK.

STRAUB ÉS AZ MTA BIOKÉMIAI INTÉZETE AZ 1960-AS ÉVEKBEN

A kutatóközpont története elválaszthatatlan Straub F. Brunó személyétől, világ- és tudományfelfogásától. Straub az én életembe 1962-ben lépett be. Talán érdekes felidézni, miként láttam őt és a magyar biológiai tudomány állapotát abban az időben. Ekkor végeztem Debrecenben fizikusként, az akkori Kossuth Lajos Tudományegyetemen. Már ebben az időben éreztem, hogy a fizikának van keresnivalója az élet-tudományokban, és így friss diplomával ilyen irányba kacsingattam. Az MTA Biokémiai Intézetében (ma ez az Enzimológiai Intézet) éppen fizikust kerestek: Straub F. Brunónak, az Intézet igazgatójának az volt a meggyőződése, hogy a fizikai elvek és módszerek bevonása az élettudományokba lesz az elkövetkezendő évek vezető trendje. A Straubbal való beszélgetés meghatározó volt egész további életemre nézve. Straub nem vizsgáztatott, hanem partnerként beszélgetett a zöldfülű kutatójelölttel. Lenyűgöző személyiség volt. Ha belépett valahová, nem lehetett nem észrevenni, ha sztentori hangján megszólalt, nem lehetett nem rá figyelni. Egyértelmű volt számomra, hogy ennek az embernek a környezetében szeretnék dolgozni. Így kerültem 1962. július 1-jével a Karolina útra, s bár az Intézet neve és affiliációja azóta többször változott, a mai napig itt tevékenykedem, ezt tekintem második otthonomnak. Innen figyelhettem, miként alakult a gondolatból működő valósággá a Szegedi Biológiai Központ.

Ezt a folyamatot a SOTE Orvosi Vegytani Intézetből nézvést Venetianer Pál, a hiteles tanú szerepében részletesen leírta, ezért én csak a „Karolina úti” nézőpontot és néhány személyes emlékemet idézem fel.

Straub modern molekuláris személetű biológiában gondolkozott, s ebben a fizikának, a fizikusi szemléletnek és eszközrendszernek komoly szerepet szánt. Az én felvételem a Karolina útra is ennek volt egy eleme. Bár később a budapesti Biokémiai Intézet (MTA) lett az SZBK tagintézménye – SZBK Enzimológiai Intézetére változtatott névvel –, valójában ez volt a SOTE Orvosi Vegytani Intézetével együtt az anyaintézet, amelyből az SZBK kinőtt. Érdemes ezért feleleveníteni, miként

nézett ki és miként működött ez az intézet az SZBK előtti időszakban és a szerveződés idején, az 1960-as években. A visszatekintés azért is érdekes, mert a későbbi SZBK működési elvei számos elemet továbbvittek abból a rendszerből, amelyet Straub a Karolina úton meghonosított.

Az Intézet tematikája egységes koncepcióra épült: a fehérjék, enzimek működésének megértésére szerkezeti alapon. Bátran mondhatom, hogy ez volt a világon az első egységes fehérjekutató intézet. Ezt a tematikát az idő igazolta a hatvanas években. Ez a megközelítés az alapító igazgató, *Szörényi Imre* öröksége volt, akit 1950-ben hívott haza Kijevből az MTA akkori elnöke, *Rusznay István*, *Gerő Ernő* erős támogatásával. Ebben az időszakban – ez volt a Szovjetunióban a Liszenko-, Magyarországon a Rajki-korszak – a magyar biológiai tudomány politikai nyomásra leszakadt a fejlett világ tendenciáiról. Straub komoly bátorsága kellett ennek a figyelmen kívül hagyásához az SZBK szervezésénél.

1962-ben már Straub volt az igazgató. Az Intézet csoportrendszerben működött. *Szabolcsi Gert-rúd*, *Elődi Pál*, *Dévényi Tibor* és *Keleti Tamás* voltak a csoportvezetők, mind párttagok. Straub F. Brunó, az igazgató nem volt párttag. Személyi és utazási ügyekben a személyzetisnek, *Biszkú Etelkának* (*Biszkú Béla* testvérének) volt meghatározó szava, a párttitkár, Keleti Tamás és a szakszervezeti bizalmi, Cseke Emília laboráns mellett. A gazdasági és szervezeti ügyek a „főcsővezetőinek” aposztrofált csoportvezetői értekezleteken és a pártgyűléseken dőltek el. Mivel mindenki költségvetési forrásból működött, nem volt közömbös az ott hozott döntés. Straub a csoportvezetőket „örökölte” és a tematikához nem nyúlt, de a szemléletet, a mentalitást jelenléte erősen befolyásolta. Fontos és tanulságos megemlíteni, hogy Straubnak nem volt kutatócsoportja az Intézetben, de az elvi irányítást a kezében tartotta, tudományos kérdésekkel bármikor lehetett hozzá fordulni; a napi ügyek intézését az igazgatóhelyettesre, Szabolcsi Gertrúdra hagyta. Bevezette a munkabeszámolókat és a cikkviták rendszerét: minden közlésre szánt anyagot megvitatott az intézeti közösség.

1962-ben *Elődi Pál* csoportjába, a Fizikai-kémiai Csoportba kerültem. Pali művelt, kritikus és a világra akkoriban szokatlanul széles kitekintéssel bíró kutató volt – biológus, aki szintén a fizika felé történő nyitásban látta az élettudomány fejlődésének lehetőségét. Laboránsunk alaposan igénybe vett az alantasabb

munkákban, és szemmel láthatóan élvezte, hogy mindent jobban tud a diplomás embernél – kivéve talán a helyesírást, mert írásbeliségén (rendelések, jegyzőkönyv) sokat derültem. Nyolc általánost végzett, de párttitkár-helyettesként igen nagy volt az önbizalma, s az első években csaknem elriasztott a pályától és az Intézettől. Azért álltam a sarat, és Biszkú Etelka személyzetisünk velem szemben mutatott kezdeti ellenérzéseit is kompenzálta Straub hangsúlyos pártfogása. Szakmai beszélgetéseink során meglepett, hogy például a statisztikus fizikai problémák esetében is milyen releváns kérdéseket tett fel, és milyen világosan látta mindig a lényegét. Ezek a beszélgetések is hozzájárultak az 1964-ben – a kor publikációs korlátozásaira jellemzően orosz nyelven, a Doklady Akademii Nauk kiadványban – megjelentetett „Fluktuációs fit” koncepcióhoz. Voltak jó elemei ennek az időszaknak, köztük a szellemi közeg – *Friedrich Péter*, *Polgár László*, *Südi János*, *Sajgó Mihály*, akiket mind Straub rekrutált (egyikük sem volt párttag).

Nem lehet az SZBK és az „Enzimológia” történetéről írni *Friedrich Péter* hangsúlyos említése nélkül. Őt is Straub menekítette ki vidéki, segédorvosi száműzetéséből. Abban az időben polgári származása miatt nem maradhatott Budapesten kutatóként. Később 16 éven át volt az SZBK Enzimológiai Intézetének igazgatója. Megőrizte a straubi hagyatékot, az értékrendet. Igazgatósága alatt az Intézet virágzott, békesség volt, és kreatív kutatómunka folyt a falak között. Eredeti, frappáns humorával színt vitt a mindennapokba és a szegedi igazgatói értekezletekbe. Egyszer arról kérdeztem: „Hogy lehet, hogy Te mindenkinek megmondod a véleményedet, és mégsem haragszik rád senki?” „Tudod, viccesen mondom. Azt hiszik, hogy viccelek, pedig nem.”

Straub szárnyai alatt *Polgár László* is menedéket talált a Karolina úton. A '60-as években ő hozta létre az első „mesterséges” enzimet. *Sajgó Mihály* lett az SZBK első állami díjasa 1973-ban (a Magyar Népköztársaság Állami Díja – a szerk.). *Patthy László* a fehérjeevolúció mechanizmusának és az exon-shuffling szabályának feltárásával (1985) szerzett nemzetközi hírnevet az SZBK-nak. Mindez jól mutatja, hogy Straubnak jó szeme volt az ígéretes tehetségek kiválasztásához, és szerencsére volt megfelelő bátorsága, tekintélye és befolyása is ahhoz, hogy elképzeléseit a politikai ellenszélben is megvalósítsa. Ez a felsorolás azt is igazolja, hogy nemcsak

az „Enzimológia” profitált az SZBK-tagságból, de a budapesti Intézet is hozzájárult az SZBK nemzetközi presztízsének felépítéséhez.

A HATVANAS ÉVEK SZELLEME

Érdekes korszak volt ez a tudományban, különösen a fehérjetudományban, amit akkor még nem neveztek így. A fehérjék szerkezetével és működésével kapcsolatban új fejezetet nyitott, amikor 1958-ban *John Kendrew* meghatározta a mioglobint, majd 1960-ban *Max F. Perutz* a hemoglobint szerkezetét. Ez izgalomba hozta az egész tudományos világot – beleértve a fizikusokat is –, és hatással volt az akkor bontakozó új magyar biológiai kutatóközpont koncepciójára is. 1965-ben született kormány szintű döntés a későbbi SZBK létrehozásáról.

A Karolina úti intézet életére is pezsdítő hatást gyakorolt az SZBK szervezésének időszaka. Megindult a kutatók toborzása és kiképzése. *Szalontai Balázs* is nálunk kezdte kutatói pályafutását, s lett az SZBK törzsgárdájának tagja. Ekkor került az intézetünkbe *Patthy László*, aki amerikai és szegedi kitérő után az „Enzimológia” meghatározó személyisége lett. A Straub által 1973-ban megszerzett, 1,3 millió dolláros UNDP-támogatásból nálunk is megújult a műszeres infrastruktúra.

Engem – fizikus lévén – Straub elsősorban a Biofizikai Intézet tervezésébe és szervezésének előkészítésébe vont be. A hatvanas években járunk, amikor a fehérjék térszerkezetének röntgenkristallográfiás meghatározása új fejezetet nyitott a szerkezeti biokémiában. Érthető és természetes, hogy az intézet egyik fő profiljának Straub ezt a területet szánta. Az volt a szándéka, hogy engem Londonba küld tanulmányútra, a Birkbeck College-ba, *John Bernal* környezetébe, hogy ott sajátítsam el a fehérje-röntgenkristallográfia tudományát. Itt dolgozott ekkor többek között Max Perutz, a friss Nobel-díjas. Az akkori politikai viszonyok között a tervezett tanulmányút nem valósulhatott meg: a Külügyminisztérium nem adott kiutazási engedélyt, a kommunista *Bernal* meghívólevele ellenére sem. Így kerültem azután Leningrádba 1964-ben, a Nagymolekulájú Vegyületek Intézetébe, *Bresler* (a hidrofób effektus első leírója) és *Volkenstein* laboratóriumába. Ez intellektuális szempontból jó hely volt, sokat tanultam, s megtanultam oroszul is, de a röntgenkristallográfiás tanulmányok ekkor elmaradtak.

Hazatértem után ismerttetett össze Straub *Keszthelyi Lajossal*, aki akkor az MTA Központi Fizikai Kutatóintézetében (KFKI) dolgozott, és akit a szegedi Biofizikai Intézet leendő igazgatójának szemelt ki. Rendszeresen sokat beszélgettünk és tervezgettünk a majdani intézet tudományos és műszaki kialakításáról. Ezek a beszélgetések nagyon tanulságosak voltak számomra. Akkor néhány éve már egy biokémikus közösségben éltem a mindennapjaimat, így beszéltem mind a fizikusok, mind a biokémikusok nyelvét, és igyekeztem Keszthelyi Lajost is bevezetni ebbe a kultúrába, ugyanakkor rám frissítően hatott az ő egyszerűen világos és logikus „fizikusi” gondolkodásmódja.

Érdekes kordokumentum az MTA–NSF-egyezmény története. Straub, kitűnő amerikai kapcsolatait felhasználva, 1967-ben előkészített egy tudományos csereegyezményt a National Science Foundationnel (NSF). Már éppen indulófélben volt Washingtonba a szerződés aláírására, amikor bementem a szobájába. Gondterhelten ült. „Mi a baj professzor úr?” – kérdeztem. Elém dobott egy levelet: „Olvassa!” A levélben az állt, hogy a Magyar Tudományos Akadémia és a magyar tudományos közösség tiltakozik az USA agresszív, imperialista vietnámpolitikája ellen, és nem kívánja megkötni az MTA–NSF-csereegyezményt. Aláírás: Straub F. Brúnó, az MTA alelnöke. „A külügyminisztériumból küldték, teljesen hülyék” – mondta, kérdő tekintetemre. „Elküldtem. Maga ezt nem érti” – tette hozzá.

Két évre rá enyhült helyzet, és 1970-ben Washingtonban aláírásra került az NSF–MTA-egyezmény, amit *Philip Handler*, az NSF elnöke és *Straub F. Brúnó*, az



Philip Handler, az NSF elnöke (jobbról) és *Straub F. Brúnó*, az MTA alelnöke (balról) aláírja a NSF-MTA egyezményt (Washington, 1970. november 30.)

MTA alelnöke írt alá. Másfél évvel később, 1972-ben, a Straub közbenjárására elnyert MTA–NSF-ösztöndíjjal mehettem Pasadena-ba, hogy a California Institute of Technology-ban (Caltech) *Richard E. Dickerson* mellett dolgozhassak, és ha némi késéssel is, de megkezdjem röntgenkristallográfiás tanulmányaimat. Nagyon igyekeztem mindent megismerni, és főként a műszeres infrastruktúrára figyeltem. Dickerson (Caltech) és *Joseph Kraut* (University of California, La Jolla) segítségével elkészítettük egy korszerű fehérje-röntgenkristallográfiás laboratórium berendezési és beruházási tervét. Közben Dickerson járt Budapesten, s visszatérve ezt mondta Straubról: „impressive personality”. Lelkesen tértem haza 1973-ban azzal, hogy megyek Szegedre az SZBK-ba, és munkához látok. Straub azzal fogadott, hogy változott a helyzet, és nem Keszthelyi Lajos, hanem *Garay András* lesz a Biofizikai Intézet igazgatója. Nem lesz röntgendiffrakciós laboratórium sem, mivel az erre félretett keretet egy spinpolarizátor építésére fordítják. A dolognak annyi haszna azért volt, hogy amikor Oleg Pticyin barátomnak ezt elmeséltem, azonnal kapott a kész terveken, így Puscsinóban, a Fehérje Intézetben valósult meg a Szegedre tervezett laboratórium. Én pedig maradtam Budapesten, és ott lettem az SZBK kutatója.

Intézetünk egy ideig az SZBK Biokémiai Intézetének Enzimológiai Részlege néven szerepelt, majd 1978-tól 2009-ig az SZBK ötödik, Enzimológiai Intézete név alatt működöttünk – ezen időszak vége felé már az én igazgatóságom alatt. Nekem jó emlékeim vannak erről az időről, ami Dudits Dénes, majd Ormos Pál főigazgatóságával esett egybe. Elkülönített költségvetésünk és mérlegünk volt, s ott segítettük egymást, ahol lehetett. Használtuk egymás műszeres infrastruktúráját, és Budapesten is kialakítottunk egy vendégszobát, hogy a szegedi kutatókat elhelyezhessük. Részt vettem az igazgatósági értekezleteken, megosztva az információkat, és közösen léptünk fel egymás ügyeiben. Az SZBK-napokra – a Straub-napok elődjére – minden évben teljes létszámban és fegyverzetben vonultunk ki. Kölcsonösen hasznos volt egymás munkájának alaposabb megismerése. Én mindmáig eljáró a Straub-napokra és sajnálattal tapasztalom, hogy Intézetünk részéről egyre csökken a részvétel.

2009-ben külső, adminisztratív nyomásra újra önállóak lettünk. A magam részéről ennek nem örültem. Ez sem tartott sokáig: 2012-ben egyesül-

tünk az MTA Központi Kémiai Kutatóintézetével (KKKI), Természettudományi Kutatóközpont (TTK) név alatt, elveszítve anyagi és adminisztratív szuverenitásunkat, bár ezért kárpótol az új épület és a jó munkakörülmények. 2019-től 2023 augusztusáig az Eötvös Loránd Kutatási Hálózathoz (ELKH) tartoztunk. Engem *Buday László* követett az igazgatói székhelyben, majd miután Buday a TTK főigazgatója lett, 2022-től *Hunyady László* vette át az Enzimológiai Intézet igazgatói posztját. 2023 augusztusától Molekuláris Élettudományi Intézet néven működünk az ELKH-ból lett Magyar Kutatási Hálózathoz tartozó Természettudományi Kutatóközpont (TTK) részeként.

Bár hektikusnak tűnik – legalábbis szervezeti keret és elnevezés tekintetében – ez a fél évszázad, szerencsére a változások a tartalmat kevésbé érintették. Az új impulzusok inkább élénkítő hatással voltak az Intézet működésére.

Én 1972 és 2009 között csaknem négy évtizedet töltöttem az SZBK kötelékében, ami meghatározó volt a szakmai életemben, mind tudományos, mind adminisztratív értelemben. Az SZBK-t ma is a sajátomnak érzem, vannak ott – sajnos csökkenő számban – régi barátaim és gyarapodó számban újak. Örömmel szemlélem a folytonosságot és a megújulást mind a tartalom, mind a keretek tekintetében.

Egy írásnak, különösen, ha az 60 év emlékeit idézi fel, kell, hogy legyen tanulsága. A tanulságokkal általában óvatos vagyok, de most talán mégis megkockázatom. Az SZBK létrejöttének és sorsa alakulásának története megerősít abban a meggyőződésben,



Závodszy Péter

hogy egy intézmény minőségét vezetőjének emberi és szakmai minősége meghatározza. S a történetből azt is látom, hogy tudással, szilárdsággal, kitartással és okos kompromisszumokkal minden körülmények között mód van a hasznos alkotásra.

ZÁVODSZKY PÉTER

BIOFIZIKAI INTÉZET

6726 SZEGED, TEMESVÁRI KRT. 62.
6701 SZEGED, PF. 521.



NEURONÁLIS PLASZTICITÁS, NEURODEGENERÁCIÓ

Az SZBK Biofizikai Intézetében tevékenykedő Neuronális Plaszticitás Kutatócsoport elődje már a Szegedi Biológiai Központ megnyitása előtt megalakult, és évekig a József Attila Tudományegyetem Természettudományi Karának Elektronmikroszkópos Laboratóriumaként működött az Ady téri épületben. A kutatási profil kialakításában Csillik Bertalan és Fehér Ottó professzorok játszottak fontos szerepet, az ő irányításuk alatt indultak el az Állatélettani Intézetben Joó Ferenc, Halász Norbert és Párducz Árpád vezetésével az agyi működés alapvető biológiai folyamatainak megismerésére irányuló vizsgálatok. A Neurobiológiai Csoport kutatói létszámának növekedésével és egyes speciális szakterületi ismeretek bővülésével a csoport munkája tematizálódott, így ma már önálló kutatócsoportok folytatják a különbözőféle részterületek – úgymint az agyba irányuló transzportfolyamatok vagy a neuronális plaszticitás – vizsgálatát.

AZ INGERÜLETÁTVIVŐ ANYAG FELSZABADULÁSÁNAK MECHANIZMUSÁVAL, VALAMINT AZ IDEGRENDSZERI PLASZTICITÁS SEJT- ÉS MOLEKULÁRIS SZINTŰ ALAPJAIVAL FOGLALKOZÓ VIZSGÁLATOK

A macska felső nyaki szimpatikus ganglionjának kolinerg szinapszisait morfológiai és biokémiai módszerekkel tanulmányozva lényeges volt annak a lehetőségnek a felismerése, hogy a membránlipidek fontos alkotórészeként ismert kolin intenzív aktivitás esetén prekuzorként részt vehet az acetilkolin szintézisében. Kimutatták, hogy ingerlést követően a preszinaptikus idegvégződésbe bejutó kalciumionokat a mitokondriumok veszik fel, és ezt a hagyományos citokémiai módszereken túl röntgensugár-mikroanalízissel is igazolták (1. ábra).

Később ezeket a vizsgálatokat egy klasszikus kolinerg rendszeren, a *Torpedo marmorata* (márványos zsibbasztórája) elektromos szervén folytatták. A kí-

sérleti körülmények optimalizálásával és a vizsgálati módszerek (elektrofiziológia, hagyományos és gyors-fagyasztásos fixálás, fagyasztva törés) kombinálásával sikerült az ingerületátvivő anyag felszabadulását kísérő ultrastrukturális változásokat milliszekundumos időfelbontással detektálni. Az elektromos ingert követően először az intramembrán-részecskék száma növekszik, és csak néhány milliszekundum után jelennek meg az exocitózisra utaló változások. Az ilyen körülmények között végzett, nagy felbontású elemanalízis azt mutatta, hogy az ingert követően nagy mennyiségű kalciumion áramlik be az idegvégződésbe. További vizsgálataik alapján felvetették, hogy a szinaptikus vezikulák fontos szerepet játszhatnak az idegvégződés homeosztázisának fenntartásában, mivel az ilyenkor bejutó ionokat a szinaptikus vezikulák veszik fel és ürítik ki az extracelluláris térbe.

Az 1990-es évek elején kezdődtek azok a vizsgálatok, amelyek a nemi hormonok idegrendszerre gyakorolt hatásának tanulmányozására irányultak. Kimutatták, hogy az emlős agy több területén (*nucleus arcuatus*, *nucleus periventricularis anteroventralis*) ezek a hormonok (elsősorban az ösztrogén) fontos és specifikus szerepet játszanak a szinaptikus kapcsolatok kialakulásában, illetve azok plasztikus változásaiban. Patkánykísérletben feltárták, hogy ovariectomizált állatokban 17 β -ösztadiol-kezelés hatására csökken a GABA-erg axoszomatikus szinapszisok száma a *nucleus arcuatus* területén. Későbbi vizsgálataik azt is igazolták, hogy ez a jelenség intakt nőstény állatokban is megfigyelhető, azaz a 4 napos ösztroz ciklus alatt az ösztrogén plazmaszintjének változásával párhuzamosan változnak a szinaptikus kapcsolatok.

A GABA-erg szinapszisok számának csökkenése a proösztroz nap délutánján és az azt követő napon mutatható ki, és a metösztroz napon tér vissza a proösztroz reggelén mért értékre. Az ingerlő hatású denrittüske-szinapszisok ellentétes módon változnak, számuk nő. Ezek a morfológiai megfigyelések jól korrelálthatók az elektrofiziológiai adatokkal, amelyek ilyen körülmények között fokozott elektromos aktivitást tükröznek.

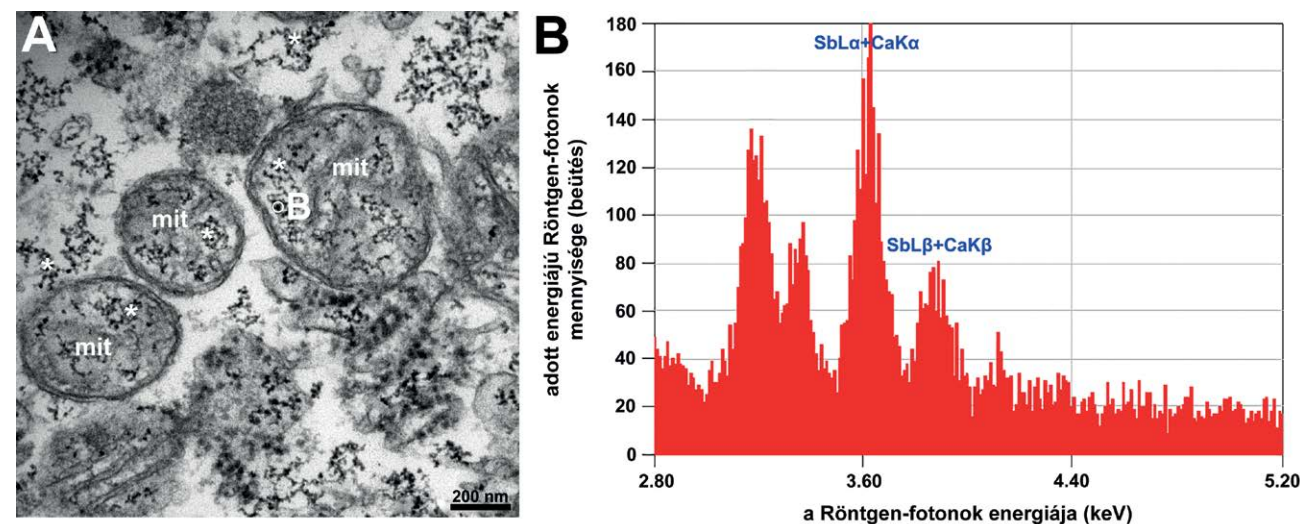
A KALCIUMHÁZTARTÁS SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA A NEURONÁLIS PLASZTICITÁS ÉS DEGENERÁCIÓ KONTINUUMÁBAN

Ma már általánosan elfogadott tény, hogy más sejtekhez hasonlóan az idegsejtek esetében is az intracelluláris kalciumszint és/vagy kalciumeloszlás változásaival

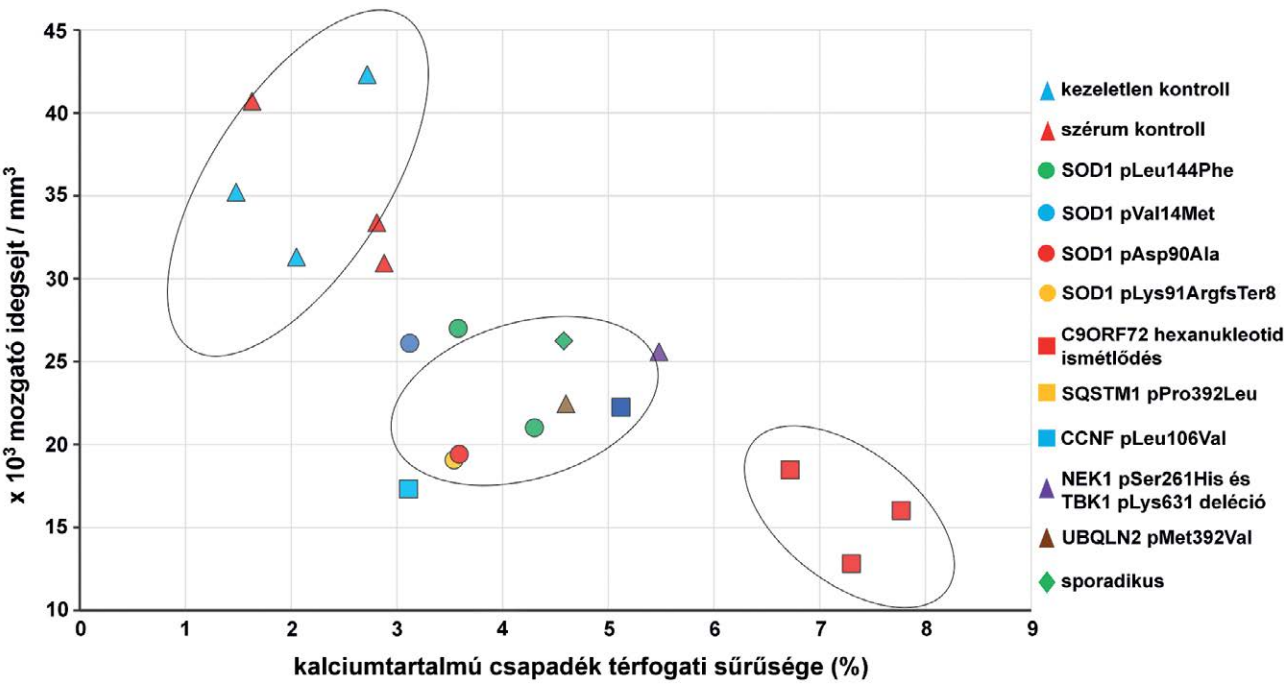
hozhatók kapcsolatba a fejlődés fő állomásai – az idegsejtek születése, érése és halála –, és emellett az olyan alapvető folyamataik is, mint a környezethez való szüntelen alkalmazkodás (azaz a plaszticitás), a reverzibilis sérülések vagy az irreverzibilis károsodás és így tovább. Az intracelluláris fiziológias (nyugalmi) kalciumszint bármilyen irányba történő, tartós vagy nagymértékű eltolódása – szélsőséges esetben – a sejtek fiziológias reakcióra való képességének elvesztését eredményezheti, és így akut neuronális sérülésekhez vagy neurodegeneratív kórképek kialakulásához vezethet.

A kalciumionok tanulási folyamatokban betöltött szerepének vizsgálatát a csoport kutatói a szinaptikus plaszticitás egy komplex *in vitro* modelljében, a szinaptikus jelátvitel „hosszú távú megerősítés” (long term potentiation; LTP) kísérleti paradigmájában végezték el. A hippocampus CA1-es régiójára fókuszáló kísérletekben elektrofiziológiai, farmakológiai, elektronmikroszkópos és mikroanalitikai módszerek kombinálásával igazolták, hogy az elemi emléknym kialakulásához többlet-kalciumionoknak kell beáramlania a szinapszis posztzinaptikus kompartmentjébe úgy, hogy a beáramlás speciális, ún. NMDA-receptorokon keresztül történjen.

Az utóbbi évek öröndetes tendenciája az átlagéletkor növekedése. A várható élettartam kitolódásának egyik paradox következményeként ugyanakkor emelkedik azoknak a betegségeknek az előfordulási gyakorisága, amelyek kialakulásának fő rizikófaktorai az előrehaladott életkor. Ilyenek az idegrendszer degeneratív elváltozásai, amelyek a tünetek jelentkezésétől kezdve fokozatosan gyűrűk le a szervezet ellenállását. Ezek közül a legismertebbek az Alzheimer- és a Parkinson-kór, de ezek mellett még számos egyéb, kevésbé gyakori degeneratív elváltozás létezik. Nem véletlen tehát – és nem csak anyagi okok miatt igaz –, hogy az orvosi biológiai kutatások súlypontja az idegrendszer degeneratív betegségeinek tanulmányozására helyeződik át. Ezen a téren a csoport választása már évekkel ezelőtt a mozgató idegrendszer degeneratív mechanizmusainak tanulmányozására, konkrétan az amiotrófiás laterálszklerózis (ALS) kutatására esett. A döntés – elméleti aspektusból – azon a megfigyelésen alapult, hogy a neurodegeneratív betegségek pusztító mechanizmusainak hasonlósága miatt egy-egy kiválasztott betegség kutatása révén általánosan is érvényes, más betegségekben is felhasználható ismeretanyaghoz juthatunk, vagyis



1. ÁBRA. Az idegsejtekben elektronmikroszkópos módszerekkel a kalcium – a citoplazmában és a sejtorganelumokban, így például a mitokondriumokban [mit] – láthatóvá tehető elektronenz csapadék [*] formájában (A). Ennek igazolására a csapadék energiadiszipatív röntgen-mikroanalízisével kimutatható a kalciumra és a vele csapadékot alkotó antimonra jellemző, karakterisztikus energiájú röntgenfotonok jelenléte (B)



2. ÁBRA. A Neuronális Plaszticitás Kutatócsoport által kifejlesztett passzív transzfer modellben a donor ALS-betegek szérumát egerekbe injektálva a szérum a mozgató idegsejtek kalciumtartalmának (vízszintes tengely) növekedését indukálja, aminek nagysága korrelál a túlélő mozgató idegsejtek számának (függőleges tengely) csökkenésével

a kutatási irány szűkebb meghatározása nem korlátozza az eredmények alkalmazhatóságát. Gyakorlati, orvostikai szempontból ez az a betegség, amiben a degenerálódó idegsejtek legalább egy része etikailag megkérdőjelezhető emberi agyi biopszia nélkül is tanulmányozható, sőt hasonló állati mintákon kapott eredményekkel összevethető. Ebből következően hasonlóság esetén az agyi és gerincvelői eredetű állati minták vizsgálatainak eredményei a humán folyamatokra is extrapolálhatók. A csoport kutatói világelsőként mutatták ki humán mintákban, hogy az idegsejt degenerációja és a megnövekedett intracelluláris kalciumszint között korreláció áll fenn. Ezeket az eredményeket azóta az ALS több – részben transzgenikus, megvásárolható, részben saját fejlesztésű – állatmodelljén is megerősítették (2. ábra).

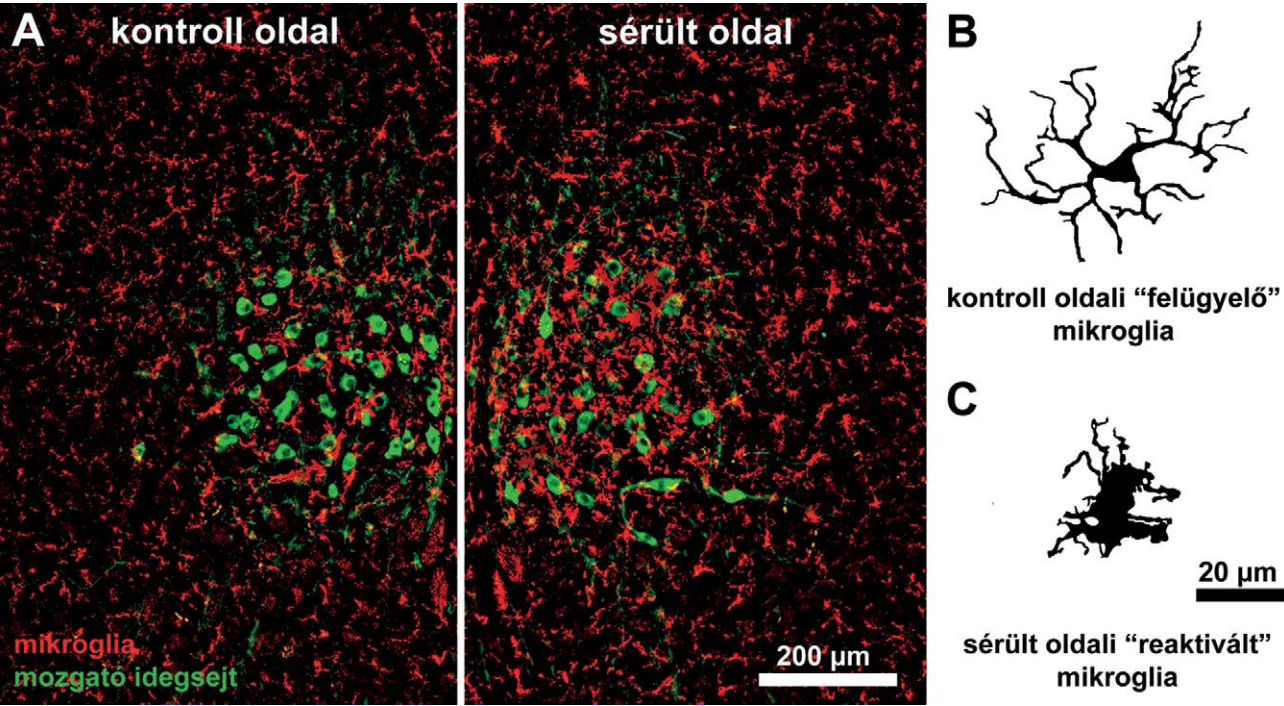
GYAKORLATI ORIENTÁCIÓ, TERVEZETT KUTATÁSI-FEJLESZTÉSI IRÁNYOK

A csoport kutatásainak súlypontja az utóbbi években folyamatosan a gyakorlati alkalmazások irányába tevődik át. Azon általánossá vált felismerés nyomán, hogy

„az idegsejtek nem magukban pusztulnak el”, a csoport kiterjesztette érdeklődését a neuronok környezetében lévő idegsejttípusok (asztrociták, mikroglia) vizsgálatára, és a közöttük folyó kommunikáció tanulmányozására (3. ábra).

A molekuláris technológiák mellett a kutatócsoport fő metodikai repertoárja a fény- és elektronmikroszkópos morфомetria, amit – a csoport legújabb generációjának köszönhetően – folyamatosan bővítünk olyan informatikai módszerekkel, mint a mélytanulás vagy a mesterséges intelligencia alkalmazása. Újabban ezek gyógyászati alkalmazásokban történő felhasználására is kísérletet tettünk. A csoport műszeres és emberi erőforrás-állománya a biológiai elektronmikroszkópiai kutatás terén ma Magyarországon egyedülálló, amit az is igazol, hogy az egyik legnagyobb elektronmikroszkóp-forgalmazó cég (Jeol Ltd.) a csoport elektronmikroszkópos eredményeit – a kutatók hozzájárulásával – promóciós anyagként használja.

PÁRDU CZ ÁRPÁD, PATAI ROLAND, POLGÁR TAMÁS, SIKLÓS LÁSZLÓ



3. ÁBRA. A központi idegrendszerben fiziológias körülmények között (kontroll oldal) a mozgató idegsejteket (zöld) a mikroglia (piros) finom eloszlásban veszik körül (A); ez utóbbiak morfológiáját kicsi sejttest és finom, törékeny nyúlványok jellemzik (B). Sérülés hatására a mikroglia sejtek aktiválódnak (sérült oldal), ami a területi lefedettségük növekedésén kívül jellegzetes morfológiai változásban is megnyilvánul: méretük csökken, nyúlványrendszerük visszahúzódik, zömökebb formát vesznek fel (C)

A BIOLÓGIAI BARRIEREK ÉS A NEUROVASZKULÁRIS EGYSÉG

Az idegrendszer és az idegrendszeri betegségek vizsgálata során egyre több adat utalt arra, hogy az agyi érhalózat – különösen az agyi kapillárisok és az általuk alkotott vér-agy gát – kiemelkedő szerepet játszanak nemcsak az agy fiziológiás működésében, hanem a kóros agyi folyamatokban is.

A csoport munkájának kezdetén Joó Ferencnek és munkatársainak elektronmikroszkópos módszerekkel sikerült kimutatniuk az adenilát-cikláz jelenlétét az agyi hajszálerekben, de a biokémiai vizsgálatokhoz – a különféle receptoroknak, ezek szerepének és érzékenységének kimutatásához – megfelelő mennyiségű és minőségű hajszálér-preparátumra volt szükség. Ezért a ’70-es évek elején Joó Ferenc és Irina Karnushina megfelelő mikromódszert dolgoztak ki olyan, viszonylag tiszta hajszálér-preparátum előállítására, amely hosszú időn keresztül a vér és az agy között fennálló szabályozott transzport – röviden a vér-agy gát – nemzetközileg elismert *in vitro* modelljéül szolgált. Különösen értékesek a csoport hisztamin, cAMP és cGMP szerepének tisztázására irányuló kutatásai, valamint az agyi iszkémia patogenezisére vonatkozó eredményei.

Később, az 1990-es évek elején, az agyi endotélsejtek tenyésztésének bevezetésével, egy „tiszta preparátumon”, sejt- és molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával lehetővé vált ezen sejtek receptorainak és jeltovábbítási folyamatainak precíz feltérképezése is. Kísérleteikkel feltárták a glutamátrecetorok és számos proteinkináz enzim (proteinkináz C, kalcium-/kalmodulinfüggő proteinkináz II, Src-kináz, Axl) jelentőségét az agyi endotélsejtek működésében.

Az *in vitro* vér-agy gát modell továbbfejlesztése az endotélsejteknek más sejtípusokkal történő együttes tenyésztését igényelte. Deli Mária és munkatársai a 2000-es évek közepén elsőként írtak le és jellemezték egy olyan új modellt, amely agyi mikroerekből származó endotélsejtek, periciták és gliasejtek fel-

használásával készült, és az alapkutatói kérdések megválaszolása mellett gyógyszerjelölt-molekulák és a vér-agy gát sejt kölcsönhatásainak vizsgálatára, valamint ezeknek az agyba való bejuttathatóságának tesztelésére is alkalmas (1A ábra).

A modell felhasználásával többek között az agyi endotélsejtek közötti szoros kapcsolatok molekuláris szintű működésébe is sikerült betekintést nyerni. A sejtek kapcsolatát biztosító fehérjék lebontási mechanizmusainak tisztázása mellett az is kiderült, hogy ezek a fehérjék fontos szerepet töltenek be a jeltovábbító folyamatokban. A vér-agy gát modellen és egyes betegségek állatmodelljein végzett vizsgálatok arra is rámutattak, hogy számos központi idegrendszeri patológias folyamat során – amelyek például az Alzheimer-kór, a prionbetegség, az agyi iszkémia és a gyulladásos folyamatok velejárói – a vér-agy gát sérül, ami negatívan befolyásolja ezeknek a betegségeknek a lefolyását: romlik az agyi endotélsejtek idegrendszert tápláló és védő működése, a barrierfunkció és a szállítófehérjék aktivitása is.

Annak érdekében, hogy a modell minél jobban tükrözze az *in vivo* viszonyokat, Dér András csoportjával együttműködve az elmúlt évtizedben kifejlesztettek egy dinamikus vér-agy gát modellt, amelyben a keringő tápfolyadék biztosítja a barriertulajdonságokat jelentősen javító nyíróerőt (1B ábra). A modell széles körű és egyszerű használhatósága érdekében a teljes rendszert egy mikrofluidikai chipbe integrálták. Ez lehetővé teszi a sejtszintű változások nyomon követését mikroszkóp segítségével, valamint a transzport- és a barriertulajdonságok mérését. A chipeszközben létrehozott modell kiválóan alkalmas a központi idegrendszeri támadáspontú gyógyszerek agyba való bejutásának vizsgálatára. E modellrendszereket felhasználva mutatták ki számos, a gyógyításban alkalmazott hatóanyag – úgymint a dokozaheksaénsav, az edavaron, a szimvasztatin és a pitavasztatin – vér-agy gát funkciókra kifejtett védőhatását.

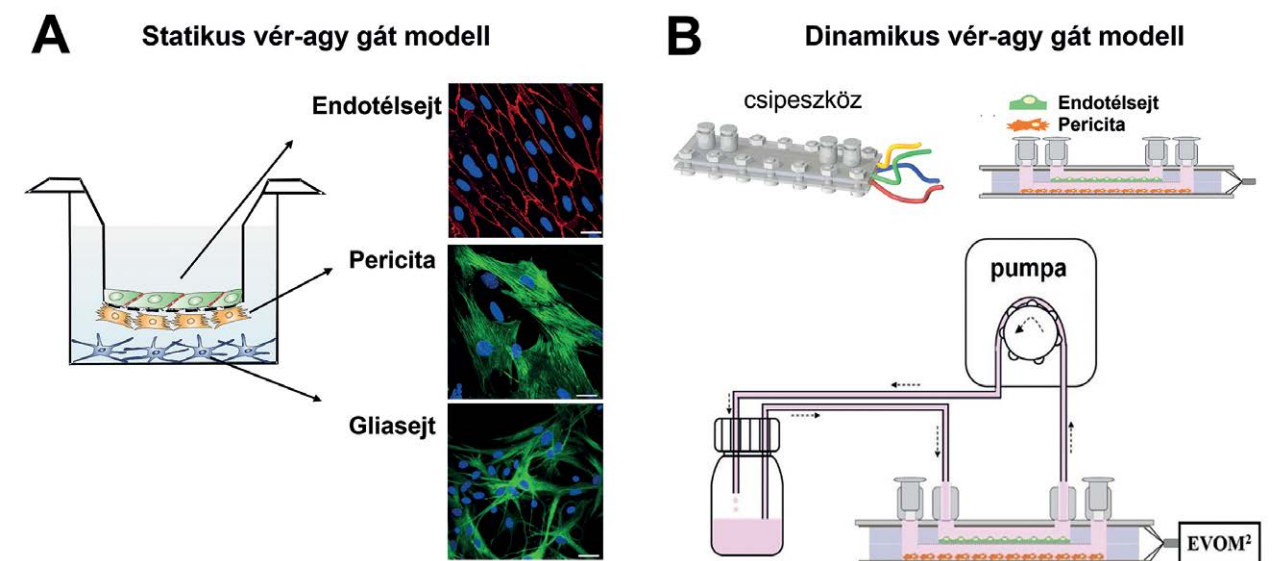
Felismerve annak a jelentőségét, hogy a humán sejteken alapuló modellrendszerek sokkal nagyobb transzlációs potenciállal rendelkeznek, jelenleg olyan mikrofluidikai modellek kifejlesztésén dolgoznak, amelyek alapját humán indukált pluripotens őssejtekből differenciáltott endotélsejtek, periciták és asztrociták képezik. A fejlesztések további iránya agyi organoidokon alapuló modellrendszer létrehozása. Az utóbbi időben vizsgálataikat kiterjesztették a tüdő, a bélrendszer és a szaruhártya hámsejt alapú biológiai gátmodelljeire is.

Nagyon ígéretesek azok a kutatások, amelyek célja olyan mechanizmusok keresése, amelyek révén hatékonyan lehet gyógyszer-molekulákat a központi idegrendszerbe bejuttatni. Az eddig feltárt lehetőségek közül említést érdemel a szoros kapcsolatok modulálása alkil-glicerol, illetve klaudin-5 támadáspontú peptidek segítségével, valamint olyan nanorészecskék előállítása, amelyek specifikus célzólíandók (biotin, alanin, leucin, aszkorbinsav, glükopiranoz, glutation, ApoE, PepH3) segítségével szignifikánsan fokozzák a nanopartikulumok és ezáltal a beléjük csomagolt hatóanyagok vér-agy gáton való átjutását.

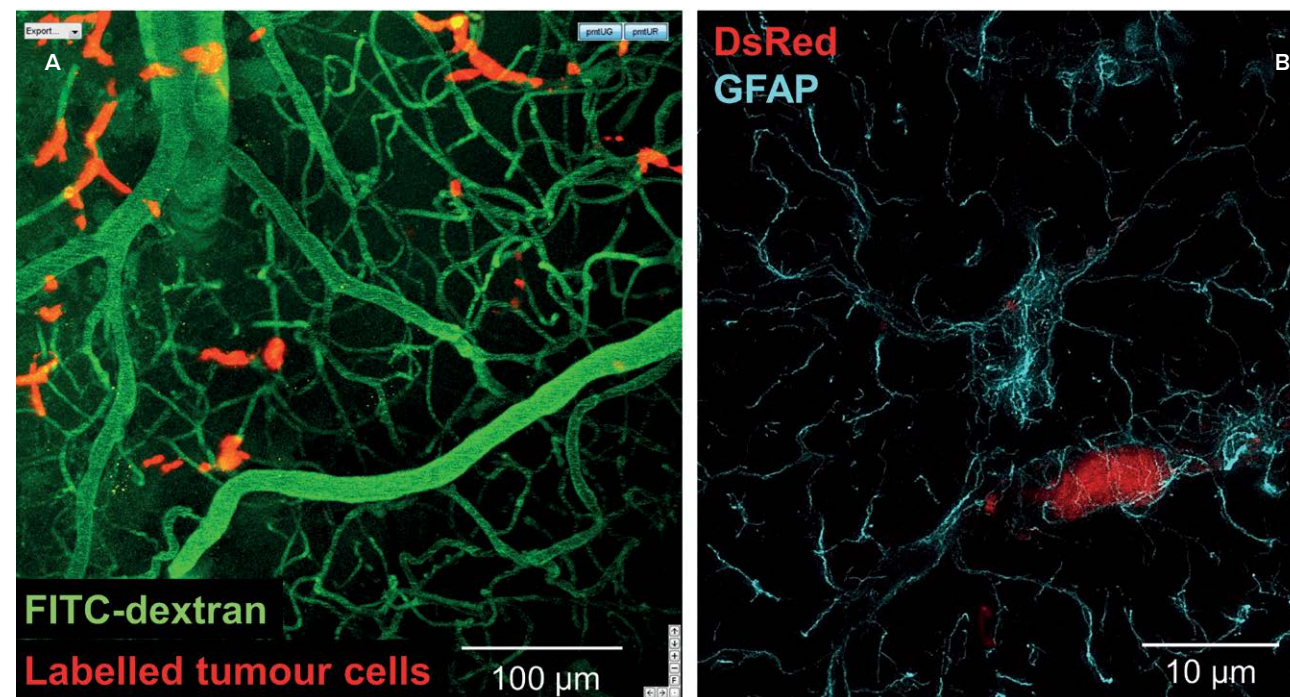
A kétezres évek elején egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy az agyi kapillárisok és az idegszövet egy funkcionális egységet alkot. Így született meg a neurovaszkuláris egység fogalma, amely egyrészt magában foglalja a vér-agy gát funkcióit, más-

részt aktív szerepet játszik a központi idegrendszer aktivitásfüggő vérrellátásának szabályozásában (neurovaszkuláris kapcsolás). Az elmúlt 15 évben a Krizbai István vezette csoport kutatásainak egyik fő célpontja annak vizsgálata, hogy milyen szerepet játszik a neurovaszkuláris egység a rosszindulatú daganatok agyi metasztatizálásának kialakulásában. Mivel a központi idegrendszer nem rendelkezik klasszikus nyirokkeringéssel, ezért a metasztatikus sejtek csak a neurovaszkuláris egységen keresztül juthatnak be a központi idegrendszerbe. Vizsgálataik során felfedezték, hogy a metasztatikus sejtek nemcsak a szoros kapcsolatok károsításával – tehát az endotélsejtek között –, hanem transzcellulárisan, az endotélsejteken keresztül is be tudnak vándorolni az agyba. Feltártak több jelátvivő útvonalat is, amelyek szoros összefüggésben állnak a metasztatizáló tumorsejtek vér-agy gáton keresztüli átvándorlásával – ilyen többek között a Rho-kináz vagy a periciták által szekretált IGF2 által mediált útvonal. Nagy előrelépést jelentett a kétfoton-mikroszkóp beszerzése, amely lehetővé tette az agyi áttétképződés megfigyelését élő állatokban (2. ábra). E mikroszkópos technika segítségével határozták meg az átvándorlás dinamikáját, illetve írták le az átvándorláshoz társuló kapillárisváltozásokat is.

Az elmúlt évtizedben előtérbe került annak vizsgálata, milyen szerepet tölt be a neurovaszkuláris



1. ÁBRA. A vér-agy gát három sejtípus együtt tenyésztésével létrehozott statikus modellje tenyésztőbetétben (A) és dinamikus modellje chipeszközben, folyadékkeringetéssel (B)



2. ÁBRA. (A) Kétfoton-mikroszkópos felvétel egy élő állat agyából (az érhálózat zöld színnel jelölve). (B) Asztrociták (kék) és periciták (piros) STED-mikroszkópos képe

egység a gyulladásal járó központi idegrendszeri betegségekben. E kutatások során a csoport felfedezte, hogy az agyi endotélsejtek mintázatfelismerő receptorokat expresszálnak, amelyek a veleszületett immunrendszer részei. Kimutatták, hogy e receptorok aktiválása a vér-agy gát permeabilitásának fokozódásához vezet. Leírták továbbá, hogy az agyi endotélsejtekben és a pericitákban a mintázatfelismerő receptoroknak egy olyan családja is jelen van, amely az ún. inflammaszómák fontos komponense.

További munkáik során feltárták az inflammaszóma-aktiváció útjait és jelentőségét a neurovaszkuláris egység működésében. A gyulladásos folyamatok vizsgálata vezetett a neurovaszkuláris öregedés és a vaszkuláris regeneráció kutatásának irányába. E munka során céljuk a neurovaszkuláris öregedés egysejtszintű vizsgálata és új, sejt alapú terápiás lehetőségek keresése.

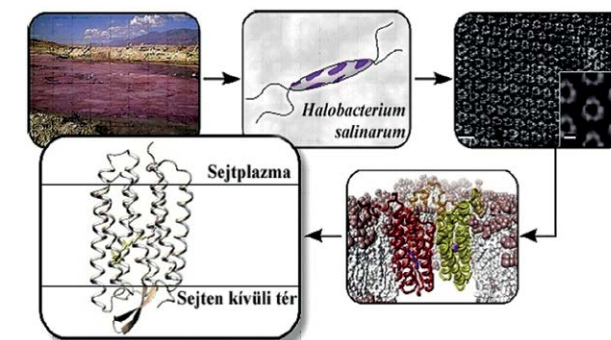
DELI MÁRIA, KRIZBAI ISTVÁN

BAKTÉRIORODOPSZIN

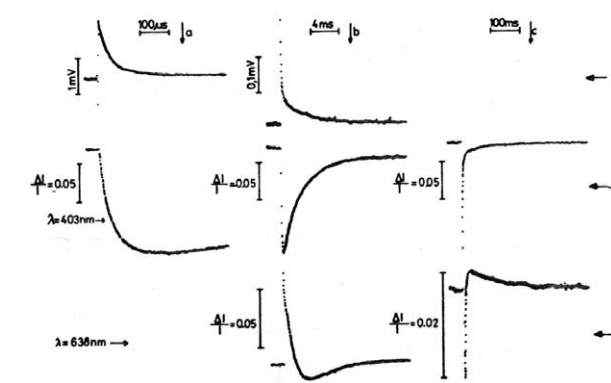
A bakteriorodopszin-kutatás története az SZBK-ban csaknem egyidős a Biofizikai Intézettel, amelynek évtizedeken keresztül emblemikus kutatási témája volt. A bakteriorodopszint (bR) 1968-ban fedezte fel Walther Stoeckenius a San Franciscó-i UCSF egyetemen, az egyik legősibb ma élő egysejtű, a sótűrő *Halobacterium salinarum* morfológiai vizsgálata során. A sejtmembrán elektronmikroszkópos felvételein szokatlan, szabályos felépítésű domének mutatkoztak, amelyekről hamarosan kiderült, hogy egy addig ismeretlen retinálfehérje bíbor színű, kétdimenziós kristályai (1. ábra).

Mivel az új fehérje meglepő hasonlóságot mutatott a látópigmentként működő rodopszinokkal, bakteriorodopszinnak nevezték el. Funkciójának vizsgálatakor kiderült, hogy elsődleges fiziológiai szerepe nem a fényérzékelés, hanem – a biológiai energiaátalakítás fontos láncszemeként – a protonok membránon keresztüli aktív transzportja, vagyis a protonpumpálás. A bR sokkal egyszerűbb felépítésű, mint az addig ismert protonpumpáló rendszerek, és gyakorlatilag egymaga elvégzi a fotoszintézis elsődleges folyamatait. A dolog bioenergetikai jelentőségét felismerve a világ vezető biofizikai laboratóriumában az 1970-es évek elején szinte egyszerre kezdődött meg a bR tüzetesebb kutatása.

Szegeden az első lényeges eredmények már az 1970-es évek második felében megszülettek: sikerült új módszert kidolgozni a bR elektromos jeleinek vizsgálatára, később pedig ennek segítségével kimutatni, hogy a kék fénnel történő megvilágítás képes blokkolni a protontranszportot (Dancsházy Zsolt, Karvaly Béla, Ormos Pál). A bR-kutatás világviszonylatban is hőskorát élte: ebben az időben határozták meg a bR aminosavsorrendjét, valamint a fehérje 7 Å felbontású térszerkezetét. Ezzel egy csapásra a bR lett a legjobban jellemzett ionpumpáló membránfehérje. 1979-ben a Biofizikai Intézet igazgatója, Keszthelyi Lajos vette át a csoport irányítását, és rövid időn belül fontos felfedezést tett a bR-molekulák elektromos térrel történő orientációjára vonatkozóan. Erre alapozva – Ormos Pállal közösen – a korábbiaktól



1. ÁBRA. A bakteriorodopszin (bR) felfedezése képekben – a Holt-tenger vizétől a molekulaszervezetig



2. ÁBRA. A bR elektromos és abszorpciós kinetikai jelei

gyökeresen eltérő módszert dolgoztak ki a fehérjén belüli töltésmozgások időbeli követésére (2. ábra). Az új módszer az elektromos jeleken kívül a bR működését kísérő optikai változások követését is lehetővé tette, az így elért tudományos eredmények pedig jelentős nemzetközi visszhangot váltottak ki, és egyben fordulópontot is hoztak a szegedi bR-kutatás történetébe.

A Bioenergetika Csoport munkatársai közül egyre többen kapcsolódtak be eredményesen a bR-kutatásba, így a '80-as évek első felére nemzetközi elismertségnek örvendő kutatóműhely alakult ki Szegeden. Ezt a folyamatot katalizálta, hogy Keszthelyi Lajos és munkatársai számos nemzetközi konferenciát szerveztek ebben az időszakban. Nagy

siker volt például az 1980-ban megrendezett *Selected Methods of Biophysics* c. nemzetközi iskola (szponzor: UNESCO-ICRO) és az 1981-ben megrendezett *International Workshop on Protein Dynamics* (szponzor: NSF). Az 1980-as iskola sikerére való tekintettel 1982-ben hasonló rendezvényt szerveztek, majd 1985-ben *International Conference on Retinal Proteins* címmel megrendezték a rodopszinok tudományterületének konferenciáját. Ez – hagyományt teremtve – elindította a máig rendszeresen megrendezésre kerülő ICRP-sorozatot, a tudományterület legfontosabb nemzetközi fórumát, amelyet minden második évben szerveznek meg európai, amerikai és ázsiai helyszíneket váltogatva. 2000-ben újra az SZBK-ba hozták ezt a konferenciát, és hozzá kapcsolódóan egy NATO *Advanced Research Workshop*ot is rendeztek, amelynek legfontosabb témája a retinálfehérjék bioelektronikai alkalmazása volt.

A konferenciák szervezésén és látogatásán kívül a vezető külföldi laboratóriumokkal kialakított együttműködéseknek is meghatározó szerepük volt a szegedi bR-csoport sikerességében. A '80-as évek elején elnyert MTA-NSF pályázat több mint egy évtizeden keresztül biztosította a kutatócsere lehetőségét a szegedi labor és két USA-beli vezető egyetem, a University of Illinois, Urbana-Champaign és a University of California, San Francisco egy-egy kutatócsoportja között. Urbanában a fehérjedinamika tudományágának meghatározó egyéniségétől, *Hans Frauenfeldertől* tanulhattak a fiatal szegedi kutatók, és ennek nyomán szép eredményeket értek el (*Ormos Pál, Dancsházy Zsolt, Zimányi László, Czégé József és Váró György*), San Franciscóban pedig a bakteriorodopszin „atyjával”, *Walther Stoeckenius*szal dolgozhattak együtt (*Dancsházy Zsolt, Ormos Pál, Szundi István, Barabás Klára, Pósfai János, Groma Géza és Dér András*). Stoeckenius professzor nyugdíjba vonulása után korábbi munkatársa, *Roberto Bogomolni* is fogadott szegedi látogatókat (*Száraz Sándort és Tóth-Boconádi Rudolfot*) Santa Cruz-i laboratóriumában. Több kutató egyéni meghívást is kapott hosszabb-rövidebb időre, így jött létre kooperáció például a frankfurti Max Planck Biofizikai Intézettel, ahol az *Ernst Bamberg* által vezetett – és az alternatív elektrofiziológiai módszereiről híressé vált – intézetben Dér András és Ormos Pál jártak tanulmányúton számos alkalommal. Az 1980-as évek végétől a bR-kutatás középpontja San Franciscó-ból mindinkább a szintén kaliforniai Irvine-ba helyeződött át. Az itteni bR-labor vezetője, *Lányi János* előszeretettel hívott meg

magyar munkatársakat (így Zimányi Lászlót, Váró Györgyöt és Keszthelyi Lajost), akikkel együtt számos nagyhatású tudományos eredményt publikáltak több mint egy évtizeden keresztül.

E visszaemlékezés keretében nincs mód a bR-csoport munkatársai által több mint 40 év alatt elért tudományos eredmények részletes elemzésére, de a legfontosabb témák rövid felsorolására kísérletet teszek.

MÓDSZERTANI FEJLESZTÉSEK

A szegedi bR-csoport munkatársai eleinte főként módszertani újításokkal jeleskedtek, amelyekhez Keszthelyi Lajos és Ormos Pál 1980-ban megjelent cikke adta meg az alaphangot. *Váró György* és munkatársai – *Nagy Károly* korábbi eredményeit továbbfejlesztve – olyan módszert dolgoztak ki, amelynek segítségével a vízmolekuláknak a bR protontranszportjában betöltött szerepét lehetett tanulmányozni. A szárított, orientált bR-tartalmú mintákon *Groma Géza* és munkatársai a fehérje működését kísérő elektromos jeleket detektáltak pikoszekundumos (10^{-12} s) felbontással, az egyetem Optikai Tanszékén létrehozott ultrarövid impulzusú lézerrendszer segítségével (a lézerrendszer kidolgozása *Szabó Gábor*, az SZTE későbbi rektora nevéhez fűződik). Ez a '80-as évek közepe táján gyorsasági világrekordnak számított – az eredményeket a *Nature* folyóirat hasábjain közölték.

Dér András és munkatársai a Keszthelyi–Ormos-módszert fejlesztették tovább úgy, hogy az eredeti méréstechnika leegyszerűsödött, és a módszer alkalmazhatóságának határai nagymértékben kitolódtak. Az új eljárás („gél módszer”) más ionpumpáló membránfehérjék vizsgálatára is alkalmasnak bizonyult, és külföldön is egyre népszerűbbé vált. A gél módszert – a molekulák orientációs fokának mágneses térrel történő javítása révén – sikerült odáig fejleszteni, hogy alkalmas legyen a bR-molekulán belüli töltésmozgások háromdimenziós követésére is (*Dér András, Ormos Pál és Keszthelyi Lajos*) (3. ábra).

Az új módszerek fejlesztése nemcsak kísérleti, hanem komoly elméleti munkát is jelentett, hiszen a mért jeleket értelmezni kellett, ami távolról sem volt egyszerű feladat. Az elektromos jelek elméleti interpretációjának kidolgozásában elsősorban *Keszthelyi Lajos, Ormos Pál, Dér András, Groma Géza és Oroszi László* vett részt, a bR működéséről ugyancsak lényeges információt hordozó abszorpciókinetikai

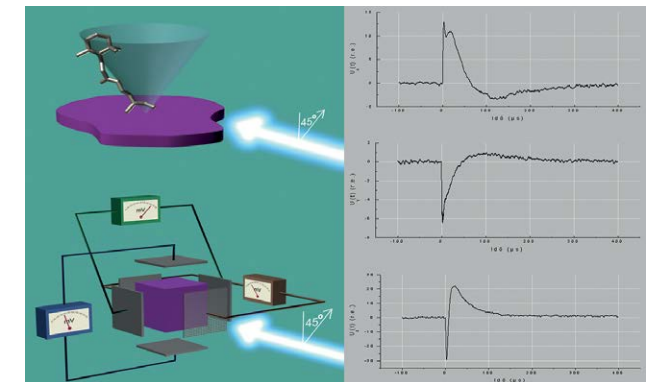
jelek értelmezése terén pedig elsősorban *Zimányi László, Váró György, Tokaji Zsolt és Dancsházy Zsolt* alkotott maradandót.

FEMTOBIOLÓGIA

Az utóbbi évtizedek fejleménye, hogy az ultrarövid impulzusú lézerek megjelenésével lehetővé vált a biológiai rendszerekben a femtoszekundumos (10^{-15} s) időskálán lezajló jelenségek tényleges időbeli vizsgálata is. A kialakulóban lévő tudományterület – amelyet sokan „femtobiológiának” hívnak – egyik első számú kísérleti objektuma a bR. A kutatásokban – az ELI-ALPS Lézeres Kutatóintézet egyedülálló adottságait felhasználva – természetesen a szegedi bR-csoport tagjai is részt vesznek (*Groma Géza, Zimányi László, valamint Petar H. Lambrev és Garab Győző* az SZBK Növénybiológiai Intézetéből).

TECHNIKAI ALKALMAZÁSOK

Egy másik, gyorsan fejlődő tudományterület, ahol a bR meghatározó szerepet játszik, a biológiai anyagok lehetséges technikai alkalmazásait kutató bioelektronika. A bR a környezeti paraméterek tág határai között igen stabil: a szárított bR-filmek normális körülmények között évtizedekig megőrzik funkcionalitásukat. Emiatt, valamint kedvező optikai és elektromos tulajdonságainak köszönhetően a bR ma sok bioelektronikai alkalmazás első számú anyaga. Az ebben rejlő lehetőségeket munkatársaink idejekorán felismerték, és részt vettek például egy ultragyors fotodióda kifejlesztésében (*Groma Géza és Váró György*). *Dér András* és munkatársai vetették fel, hogy a bR-tartalmú filmeket integrált optikai áram-



3. ÁBRA. A bR-molekulán belüli töltésmozgások háromdimenziós mérése – a mérési elv sémája és a detektált jelek

körök aktív (kapcsoló-) elemeként lehetne használni. Megmutatták, hogy a bR versenyképes a hasonló célra jelenleg használt szilárd anyagokkal, sőt kapcsolási sebesség tekintetében felül is múlja azokat. Nemrégiben szubpikoszekundumos integrált optikai kapcsolást demonstráltak bR-film mint aktív elem segítségével. E kísérleteket az SZTE Optikai Tanszéke, illetve a berlini Humboldt Egyetem munkatársaival közösen végezték (*Osvay Károly, Heiner Zsuzsanna, Merő Márk*). Megmutatták továbbá, hogyan lehet hasznosítani a bR kedvező optikai tulajdonságait integrált optikai elven működő bioszenzorokban. Az eredmények elérésében nemzetközi pályázati támogatások (Phare, NATO) nyújtottak segítséget (SZBK-résztvevők: *Dér András, Fábán László, Heiner Zsuzsanna, Ormos Pál, Valkai Sándor, Mathesz Anna, Krekic Szilvia, Zimányi László*).

DÉR ANDRÁS

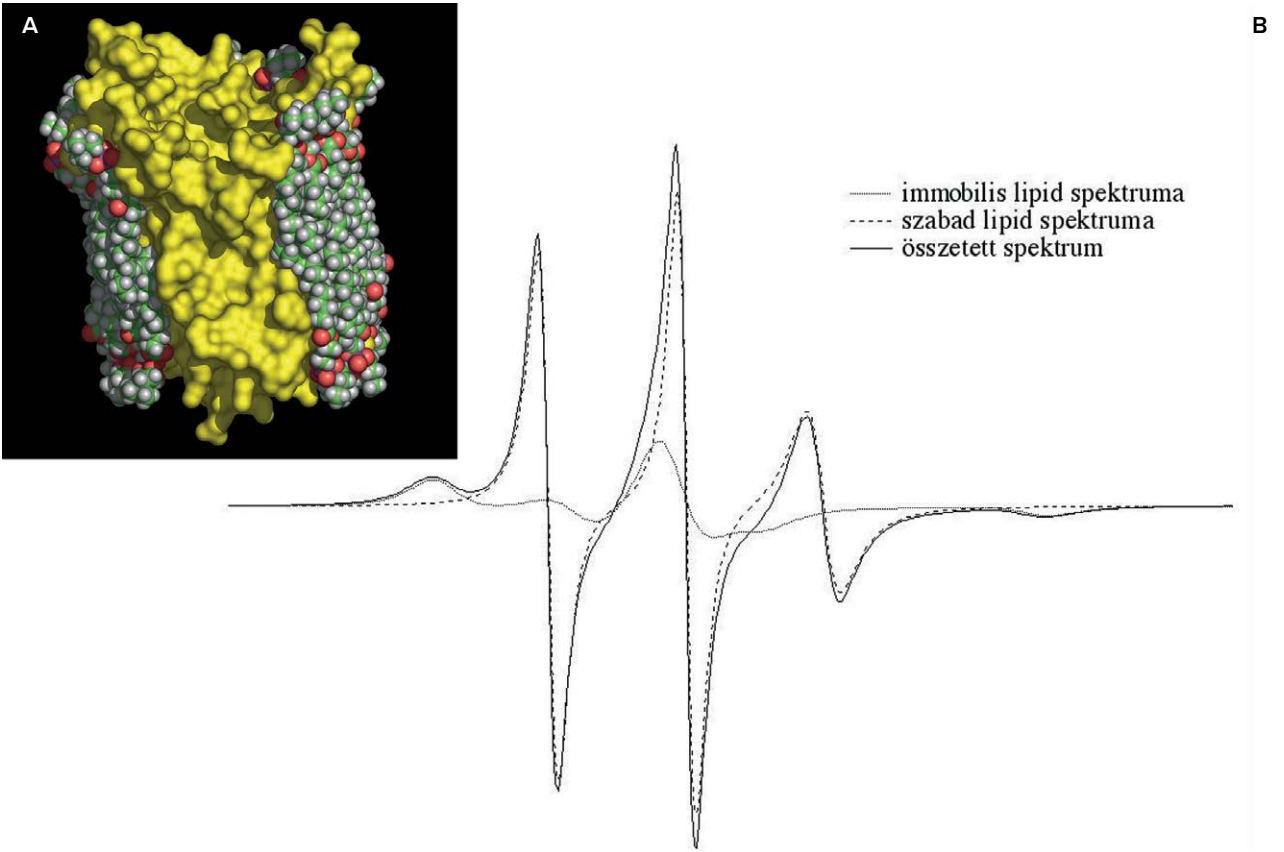
MEMBRÁNOK, MEMBRÁNFEHÉRJÉK

A biológiai barrierék legfontosabb összetevői a biomembránok, amelyek feladata nemcsak az elszigetelés, hanem az elválasztott térrészek közötti szabályozott anyag- és információáramlás biztosítása is. Az életfolyamatok jelentős része ezekhez a lipid-fehérje szerveződésekhez kapcsolódik.

BIOMEMBRÁNOK MOLEKULÁRIS DINAMIKÁJA – FIZIKAI NÉZŐPONT

A biomembránok működésének megértéséhez szükséges a fizikusi megközelítés is: fel kell tárni az építőkövek (lipidek) és a funkcionális egységek (membránfehérjék) szerkezet-funkció kapcsolatának és dinamikájának törvényszerűségeit. A Biofizikai Intézet „membrános csapata” az SZBK első évtizedében szerveződött, és eleinte

Horváth László, majd 1999-től Páli Tibor irányításával bio- és modellmembránok, valamint kiválasztott membránfehérjék kutatása lett a fő profilja. A szakirodalomban az 1970-es években számoltak be először arról, hogy egy biomembránban a spinjelzett lipidek elektron-paramágneses rezonancia- (EPR-) spektruma két komponensből áll: a „mobilis” komponens megfelel a fehérje nélküli membránnak, míg az „immobilis” komponens a fehérjetartalomtól függ és hasonlít egy merev biomembrán spektrumára (1. ábra). A téma nemzetközi kutatásában a csoport a kezdetektől részt vett, és úttörő szerepe volt abban, hogy a dinamikus „lipid-fehérje kölcsönhatás” fogalma elterjedt, módszertana kiteljesedett. Az ezredforduló után a csoport vezetőjének és göttingeni partnerének, Derek Marshnak EPR-spektroszkópia és molekulamodellzés kombiná-



1. ÁBRA. (A) Egy integráns membránfehérje térkitöltő modellje a határfelületi, immobilis lipidekkel. (B) Egy membránfehérjét és spinjelzett lipideket is tartalmazó membrán összetett EPR-spektruma és annak komponensei

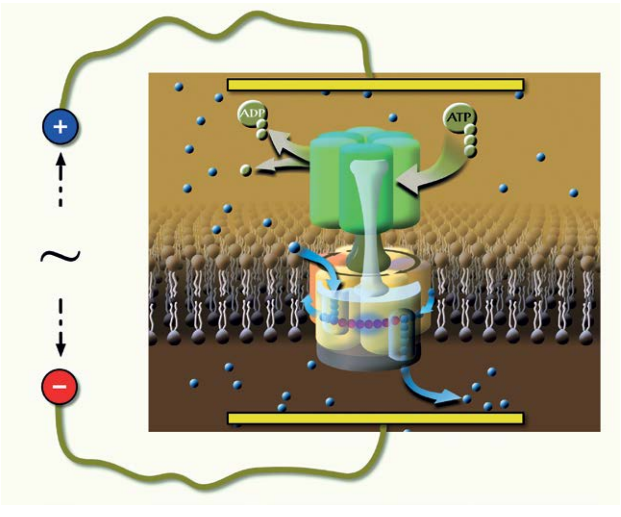
lásával sikerült igazolnia, hogy az immobilis lipidek a membránfehérjéket körülvevő határfelületi lipidekkel azonosak (1. ábra). A mai nevén Membrán Biofizika Kutatócsoport jelentős külföldi és hazai kapcsolati hálójával rendelkezik, részben a lipid-fehérje kölcsönhatás témájában végzett kutatásainak köszönhetően.

A LEGSOKOLDALÚBB PROTONSZÁLLÍTÓ MOLEKULÁRIS MOTOR: A VAKUOLÁRIS PROTON-ATPÁZ (V-ATPÁZ)

Az élő sejtekben az ionok nem egyenletesen oszlanak el. A proton vonatkozásában ez például abban nyilvánul meg, hogy a sejtek belső kamráinak közege és sok szövetben a sejtek közötti tér közege is savasabb, mint a sejt belsejében lévő citoplazma. Ezt a sejtek működéséhez szükséges körülményt egy membránfehérje-komplex, a V-ATPáz biztosítja, amely egy protonokat (hidrogénionokat) pumpáló molekuláris forgómotorként képzelhető el. A V-ATPáz az ATP hasításából nyert kémiai energiát a „rotor” domén megforgatására használja, ami a „kar” és a „rotor” közötti határfelületen protonszállítást eredményez a membránon keresztül (2. ábra). A molekuláris motorok működése és szabályozása a biofizika egyik legfontosabb témaköre napjainkban is, ami a Membrán Biofizika Kutatócsoport egyik fő témája. A V-ATPáznak orvosi jelentősége is van, mert szerepet játszik több betegségben. Nemzetközi kutatások részeként a kutatócsoport igazolta, hogy a V-ATPáz rotorjának c-alegysége az általuk felfedezett *Ductin* fehérjecsaldhoz tartozik, és a *Ductin* fehérjék membránszerkezetéről számos közleményt jelentettek meg az 1990-es évektől kezdve. Legújabbban elsőként igazolták, hogy az oszcilláló elektromos tér befolyásolja a V-ATPáz működését, mégpedig a gerjesztés hullámformájától is függő módon, és erre alapozva elsőként mérték meg a rotor forgási sebességét natív enzimben (2. ábra). Ezeknek az eredményeknek jelentős hazai és nemzetközi visszhangja volt szakmai körökben és a közmédiában is.

UNIKÁLIS MEMBRÁN-BIOFIZIKAI MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE

Az akkor még újdonságnak számító Raman- és EPR-spektroszkópiát már a Biofizikai Intézet alapításakor beválasztották az alkalmazandó vizsgálati módszerek közé. A később FTIR technikával is kiegészített vibrációs spektroszkópiai kutatásokat Szalontai Balázs irányította



2. ÁBRA. A V-ATPáz fehérjekomplex-enzimben a katalitikus és a transzmembrán protonszállítási funkciót a c-gyűrű és a hozzá kötött alegységek (együttesen: rotor) forgása kapcsolja össze. A Membrán Biofizika Kutatócsoport elsőként határozta meg a természetes membránkörnyezetében lévő natív enzim forgási sebességét, oszcilláló elektromos tér alkalmazásával

csaknem öt évtizeden át, míg az EPR-spektroszkópiát Horváth László honosította meg, akitől Páli Tibor vette át az EPR labort és jelenleg is vezeti azt. A csoport fő módszere továbbra is ez a technika, mert számos előnye van. Példaként, a spinjelzők EPR-spektrumának illesztésével meghatározható azok rotációs és translációs dinamikája, mégpedig a biomembránok szempontjából optimális időskálán. A '90-es években Páli Tibor ún. nemlineáris spinjelző EPR-módszereket fejlesztett ki membrán- és membránfehérje-szerkezeti adatok mérésére. A kutatócsoport metodikai palettája az ezredforduló táján fluoreszcencia-spektroszkópiával és az SZBK-ban elsőként telepített differenciapásztázó kalorimetriával és modellező munkaállomással bővült, 2018 óta pedig mi üzemeltetjük Közép- és Kelet-Európa legjobban felszerelt EPR-készülékét. A membránfehérjék szerkezetbiológiájának ismert nehézségeit úgy hidaljuk át, hogy a natív membránfehérjéket természetes membránkörnyezetükben vetjük alá szerkezeti méréseknek, és az így nyert adatokat számítógépes szerkezeti modellek kidolgozásában használjuk fel. Jelenlegi módszerfejlesztésünk elsősorban az impulzusos EPR-módszerekre és többdimenziós, kombinált EPR-fluoreszcencia-spektroszkópiára irányul. A csoport sok olyan hazai és külföldi kutatási együttműködésben vesz részt, amelyekben az általunk használt egyedi módszerek a legeredményesebbek.

PÁLI TIBOR

MIKROBIÁLIS BIOTECHNOLÓGIA

A Mikrobiális Biotechnológia Csoport elsősorban környezetvédelmi projektekre koncentrált, amelyek keretében gáznemű alternatív energiahordozók – biohidrogén, biogáz – képződésének molekuláris mechanizmusát és gazdaságos termeltetésének lehetőségeit kutatja. Emellett különféle környezetszennyező anyagok lebontásának molekuláris hátterét tárják fel, a lebontás hatékonyságát intenzifikálják.

BIOHIDROGÉN

A hidrogénre (H₂) ma már világszerte úgy tekintenek, mint olyan energiahordozóra, amely képes lesz a fenntartható fejlődés érdekében kiváltani a fosszilis energiahordozókat. Ha a H₂-t megújuló forrásokból állítjuk elő, használata megszabadíthat bennünket a globális felmelegedés okozta környezeti katasztrófáktól. Primer energiaforrásként bőségesen elegendő a hozzánk érkező napenergia. A biológiai H₂-termelés kulcsenzime a hidrogenáz.

Az SZBK Biofizikai Intézetében a hidrogenázok kutatása 1978-ban kezdődött. Ekkor kezdett el együtt dolgozni a fizikus *Bagyinka Csaba* és a biológus *Kovács Kornél*. Csábító volt a gondolat, hogy az egyszerű reakciót katalizáló enzim megismerésével az enzimek működésének általános modelljét is vizsgálhatják. Az ismert hidrogenáz enzimek zöme az aktív centrumában fématomokat tartalmaz. Az élő szervezetben a fématomokat körülvevő különleges és bonyolult elrendeződésű fehérjemolekula, illetve a fehérje és a fématomok közötti kölcsönhatás ruházza fel a molekulába rendeződött metalloenzimeket azzal a képességgel, hogy a H₂-gyártás vagy -bontás elemi lépéseit katalizálni tudják. A kutatócsoport egy fotoszintetizáló baktériumot, a *Thiocapsa roseopersicinát*, illetve a benne talált hidrogenázokat választotta vizsgálati tárgyául.

Több SZBK-n belüli és nemzetközi együttműködés eredményeként kiderült, hogy a *T. roseopersicina* nem csak egyféle hidrogenázt tartalmaz. A hidrogenázok molekuláris biológiai vizsgálata akkor gyorsult fel,

amikor *Rákhely Gábor* 1994-ben csatlakozott a csoporthoz, amelynek 2012-től a vezetője is lett.

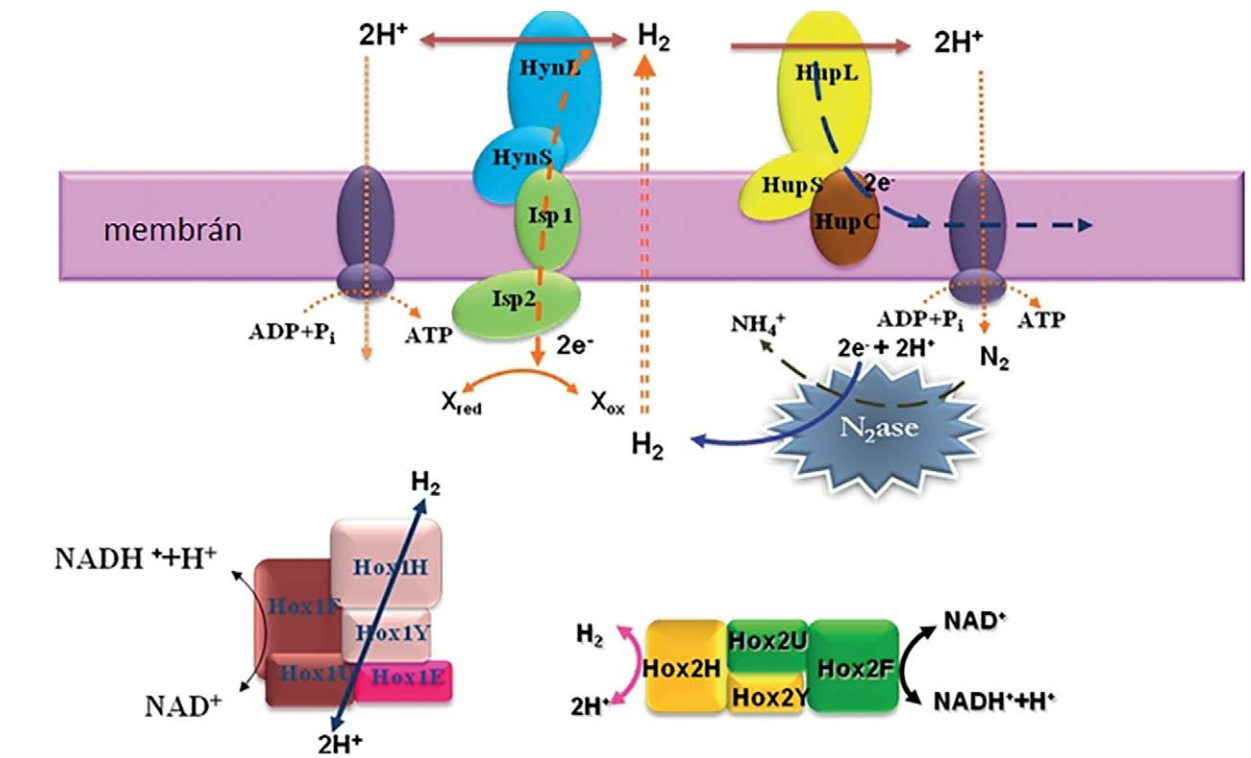
A kutatások eredményeként 2010-re kiderült, hogy a *Thiocapsa* baktériumban összesen 5-féle hidrogenázt kódoló géncsalád van, ezek közül legalább négyről aktív fehérje szintetizálódik (1. ábra).

A redox metalloenzimek meglehetősen bonyolult molekuláris mechanizmus szerint épülnek össze. Az egyes elemi lépéseket kisegítő fehérjék végzik. A sokszereplős molekuláris történések további alapkutatói kérdéseket vetnek fel, amelyek egy része messze túlmutat a biohidrogén-termelésen. Komoly eredménynek számított, hogy a fehérjemolekulán belüli protonmozgás útvonalát sikerült felderíteni. A baktérium kénanyagcseréje, valamint a tartalék tápanyagok és a hidrogéntermelés közötti kapcsolat megismerése újabb lehetőségeket kínál egy kiváló hidrogéntermelő baktériumtörzs létrehozására. A fototróf *Thiocapsa* mellett a csoport másféle eredetű hidrogenázokat is vizsgálni kezdett. Így kerültek az érdeklődés körébe a termofil, illetve hipertermofil mikrobák. A (hiper-) termofil mikrobákban nyilvánvalóan hőstabil enzimeknek kellett kialakulniuk, ezért tanulmányozásuk az enzimek stabilitásának kérdésköréhez vezethet közelebb. Az alapkutatói izgalmas kérdései, a fehérjék szerkezetét stabilizáló molekuláris mechanizmusok megismerésén túl a gyakorlati felhasználás szempontjából is meghatározó jelentőségűek az ilyen irányú kutatások.

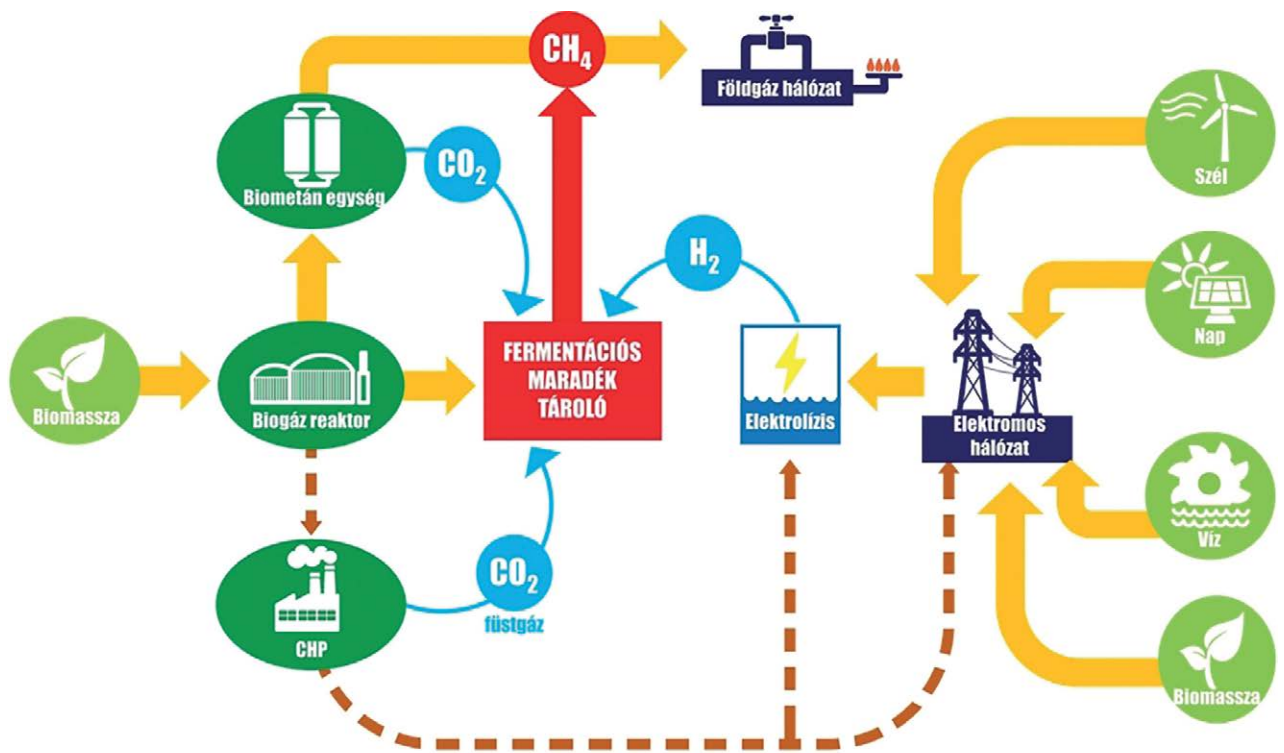
BIOGÁZ

Még az 1980-as években egy, a hidrogén-anyagcsere kutatása közben tett véletlen megfigyelés terelte a csoport figyelmét a biogáztermelés biotechnológiájával kapcsolatos témákra. A biogáz szerves anyagok anaerob erjedése során képződő, megújuló energiahordozó.

A kutatások célja olyan fermentációs rendszerek kifejlesztése, amelyek hatékonysága meghaladja a „hagyományos” eljárásokban használt biotechnológiai megoldásokat. Ehhez szükség van a fermentációban szerepet játszó baktériumközösségek



1. ÁBRA. A *T. roseopersicina* aktív hidrogenázainak és nitrogénáz enzimének celluláris lokalizációja



2. ÁBRA. A megújuló „zöld áram” átalakítása biometánná: a megújuló elektromos áramból elektrolízissel H₂-t és O₂-t nyerünk. A H₂-vel a biogázban vagy a levegőben lévő CO₂-t a biogáz mikrobaközösségének metanogén mikrobái CH₄-gyé alakítják

alapos megismerésére, a különféle mikrobák közötti kapcsolatok feltárására. Az eredmények azt mutatták, hogy több olyan pont van a rendszerben, amelyek döntően befolyásolják a fermentáció hatékonyságát, gazdaságosságát.

Az egyik ilyen szűk keresztmetszet éppen a biogáz-termelő baktériumok számára rendelkezésre álló H_2 mennyisége. Az régóta ismert, hogy a biogáztermelés folyamatában H_2 -termelő mikrobák is közreműködnek, és a metántermelő (metanogén) mikroorganizmusoknak szükségük van redukálószerre. A csoport tagjai kimutatták, hogyan szabályozható a hidrogén-termelő és -felhasználó törzsek közötti, nagyon érzékeny egyensúlyi állapot. Újabban a komplex mikrobaközösségek összetételét és működését metagenomikai és metatranszkriptomikai módszerekkel vizsgálják. Kevert anaerob mikrobaközösségek felhasználásával eljárást dolgoztak ki a rendszertelenül termelődő „zöld áram” biotechnológiai úton történő metánná alakítására; a megújuló energia ebben a formában egyszerűbben és olcsóbban tárolható, szállítható (2. ábra).

BIOREMEDIÁCIÓ

Az intenzív és egyre inkább fokozódó ipari termelés, valamint a hétköznapi tevékenységek következtében környezetünkben folyamatosan növekszik a veszélyes

anyagok kibocsátása. Az olajszármazékokból eredő környezetszennyezés megújulónak számít, hiszen a közlekedésből, a szállításból folyamatosan kerül a környezetünkbe szénhidrogén. A mikrobák – elképesztő alkalmazkodóképességük révén – akár a mérgező vegyületekhez is képesek adaptálódni és azokat lebontani. Ezek a mikrobák dominánsan a szennyező anyag környezetében találhatók meg, de sok esetben (pl. valamilyen tápkomponens hiánya miatt) nem szaporodnak, hanem átmennek egy alvó állapotba – ezek az ún. viable but not culturable baktériumok. Ebből az állapotból különféle anyagokkal feléleszthetőek, például a *Micrococcus luteus* egy bizonyos Rpf (resuscitation promoting factor) fehérjével. Kutatócsoportunk egyrészt egy mesterséges dízelolaj-keverék, másrészt a MÁV területéről származó és igen nehezen bontható motorolaj-szennyeződések felhasználásával igazolta, hogy a környezeti minták bioremediációja Rpf faktor hozzáadásával stimulálható, és ilyen módon az alvó olajbontó baktériumok jelentős része tenyésztethetővé válik.

Emellett megvizsgáltuk egy katonai reptér szénhidrogénnel szennyezett talajvizének mikroflóráját is, és az adott anaerob körülmények között elektron-akceptorokkal sikeresen serkentettük a szénhidrogének lebontását.

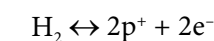
RÁKHELY GÁBOR, KOVÁCS KORNÉL

METALLOPROTEINEK BIOFIZIKÁJA

A metalloproteinek fématomokat, fémionokat (pl. vas, réz, nikkel, mangán) vagy ezeket tartalmazó kémiai csoportokat magukban foglaló fehérjék. A fémionok kofaktorként szolgálhatnak katalitikus aktivitásokhoz, segíthetnek stabilizálni a fehérje szerkezetét, részt vehetnek kis molekulák (pl. oxigén) szállításában vagy elektrontranszfer- (redox-) reakciókban. A redoxfehérjék a redukált és az oxidált állapotok váltogatásával fontos szerepet játszanak az élő rendszer energetikai folyamataiban.

Fémtartalmú fehérjéket a Biofizikai Intézet alapítása óta vizsgálják az intézet kutatói. A '70-es évek végén Kovács Kornél és Bagyinka Csaba kezdtek el a fotoszintetizáló kénbaktérium (*Thiocapsa roseopersicina*) vas- és nikkelatomokat tartalmazó hidrogenáz enzimének vizsgálatát, majd további, ebből a baktériumból izolált redoxfehérjék (pl. a HiPIP és több citokróm) tanulmányozását. Saját algoritmus kifejlesztésével Bagyinka Csaba és munkatársai meghatározták a *Thiocapsa roseopersicina* citokróm c4 fehérjéjének aminosav-szekvenciáját, ami az akkoriban tömegspektroszkópiai módszerrel meghatározott egyik leghosszabb fehérjeszekvencia volt.

A hidrogenáz enzim, ami alacsonyabb rendű élőlényekben (prokariótákban, archeákban stb.) fordul elő, egy igen egyszerű reakciót katalizál:

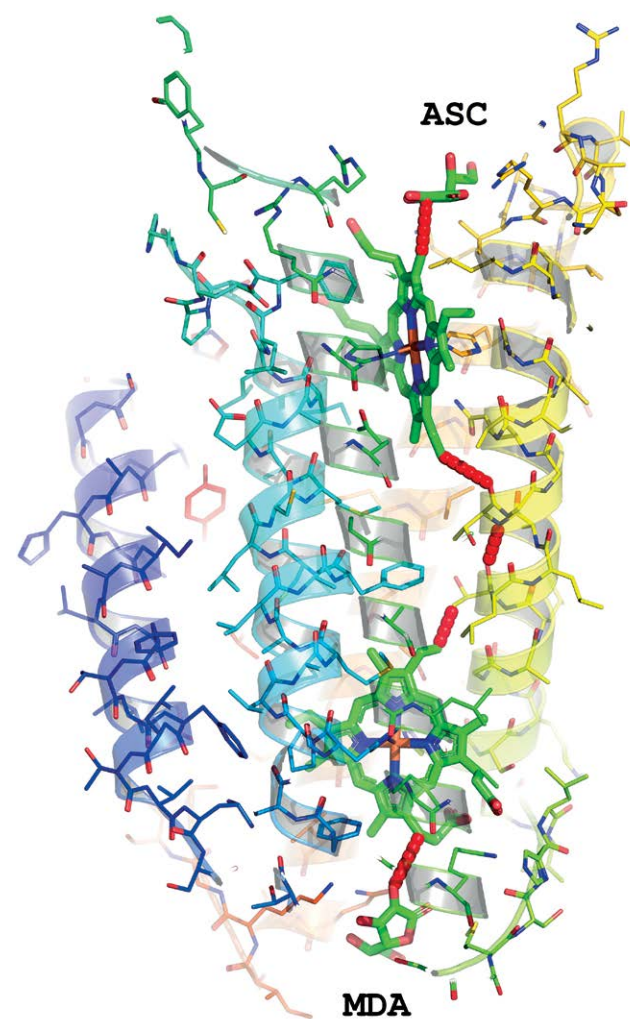


azaz a hidrogéngázt bontja el elektronokra és protonokra, illetve mint minden katalizátor, fordítva is működik, tehát protonokból és elektronokból hidrogéngázt tud szintetizálni. A hidrogenáz megismerésének az alapkutatáson túl az adhat jelentőséget, hogy az enzim a jövőben fontos szerepet játszhat biotechnológiai alapú üzemanyagcellák katalitikus komponenseként. A hidrogenázok szerkezetét kutatóink különféle spektroszkópiai módszerekkel igyekeztek feltérképezni. PIXE-PAGE módszerrel megállapították a hidrogenázban a Fe:Ni arányt. A Bagyinka Csaba által kifejlesztett röntgenspektroszkópiai módszerrel elsőként mutatták ki, hogy a Ni atom elektronszerkezete nem

vesz közvetlenül részt a katalitikus folyamatban, de egy, a közelében elhelyezkedő vasatom igen. Az enzim működésének tanulmányozása arra a következtetésre vezetett, hogy a hidrogenáz önmagában képes auto-katalitikus reakcióra. Tiszta enzim esetében erre sokáig a hidrogenáz reakciója volt az egyetlen ismert példa.

A citokróмок olyan, egy vagy több hem kofaktort tartalmazó fehérjék, amelyek tipikusan elektrontranszport-reakciókban vesznek részt. A citokróмок a baktériumoktól az emberig minden élő szervezetben megtalálhatók, a sejteken belül a legváltozatosabb helyeken fordulnak elő, és a biokémiai folyamatok legkülönbözőbb szintjein van élettani jelentőségük. A legegyszerűbb példa a mitokondriális légzési elektrontranszport-lánokban részt vevő globuláris, két kovalens kötéssel kötött – tehát c típusú – hemet tartalmazó citokróm c fehérje. Zimányi László és munkatársai azt vizsgálták, hogy a fehérje felszínének különböző pontjaira rögzített, fényindukált elektrondonor molekuláról milyen sebességgel ugrik át a hemre, majd onnan vissza a gerjesztett elektron. Kinetikai spektroszkópiai mérések és modellszámítások alapján arra a következtetésre jutottak, hogy ebben a dinamikus rendszerben és ebben a fehérjében nincs kitüntetett irány vagy tartomány, az elektrontranszfer sebessége döntően az elektrondonor és a hem pillanatnyi távolságától függ. A donorral való jelöléshez pontmutáns fehérjéket kellett előállítani heterológ módon, azaz *Escherichia coli* baktériumban. Ennek során kiderült, hogy az általában enzimatikusan érlelt citokróm c – amikor is a hem kovalens bekötését egy másik enzim, a baktériumba szintén bevitt hem liáz katalizálja – bizonyos körülmények között spontán is képes holoenzimmé válni. Megmutatták, hogy a hem liáz fehérje N-terminálisának 67 aminosavból álló, összefüggő szakasza valószínűleg rendezetlen, és ennek fontos szerepe lehet a katalízis során, a szabad hemmel való kölcsönhatásban.

Bérczi Alajos több évtizeden át tanulmányozta a transzmembrán elektrontranszportot végző, aszkorbátot (C-vitamint) mint elektrondonort felhasználó citokróm b561 fehérjecsaládot. Felfedezte az egér



1. ÁBRA. Az egér eredetű citokróm b561_D1 fehérje homológiaszerkezeti modellje és a transzmembrán elektrontranszfer legvalószínűbb útvonala (piros) az aszkorbáttól a monodehidro-aszkorbátig, a fehérje belsejében

eredetű lizoszomális és a növényi tonoplaszt fehérjét, és számos különböző – növényi, állati és humán – szövetben kifejeződő fehérjét állított elő heterológ expresszióval, többek között az egerből származó és a humán tumorszupresszor citokróm b561 fehérjéket. Meghatározta az expresszált fehérjék legfontosabb spektrális és fizikokémiai paramétereit, illetve ligandumokhoz való affinitásukat, hozzájárulva ezzel feltételezett élettani szerepük megismeréséhez. A kísérleti adatok és a néhány éve megjelent két, atomi felbontású szerkezet ismeretében Zimányi Lászlóval közösen homológiamodellezték a fehérjék szerkezetét és elektrontranszport-tulajdonságait, kimutatva, hogy a fehérje belsejében, a két hem kofaktor között lejátszódó transzmembrán elektrontranszfer egyetlen szerkezeti feltétele a fehérje kellő „tömörsege” (1. ábra).

A szintén a *Thiocapsa roseopersicina* baktériumban található flavocitokróm c fehérje flavin kofaktorának fluoreszcencia-kinetikáját (és a flavin kofaktor oldatbeli kinetikáját is) Groma Géza és munkatársai mérték meg 100 femtoszekundumos (10^{-13} s) felbontásban. Érzékeny módszerük alkalmas volt arra, hogy a kofaktorok oldatbeli konformációit, illetve kötött formájukban a fehérjekörnyezettel való kölcsönhatásukat is kimutassák. Saját fejlesztésű, két kísérleti módszert – a fluoreszcencia-felkonvertálás és az időkorrelált egyfoton-számlálás módszerét – ötvöző femtobiológiai munkaállomásuk az ELI-ALPS Lézeres Kutatóintézzel való közvetlen együttműködés „előszobájának” is tekinthető.

ZIMÁNYI LÁSZLÓ

OPTIKAI MIKROMANIPULÁCIÓ, MIKROFABRIKÁCIÓ, MIKROFLUIDIKA

Az élet mikroméreteken zajló jelenségeinek megismerése évszázadok óta a biológiai kutatások egyik legfontosabb célja. A mikroszkópos technikák fejlődése egyre pontosabb megfigyeléseket tett lehetővé a sejtek és a sejtalkotók szintjén. Az 1990-es években két olyan új technika is fellendülésnek indult, amelyek nemcsak a passzív megfigyelést, de a precíz beavatkozásokat is lehetővé tették ezen a méretskálán. Lézercsipesszel egyes sejtek is „megfoghatók”, a sejtek környezetét pedig mikrofluidikai eszközökkel, csipekkel lehet precízen beállítani vagy változtatni.

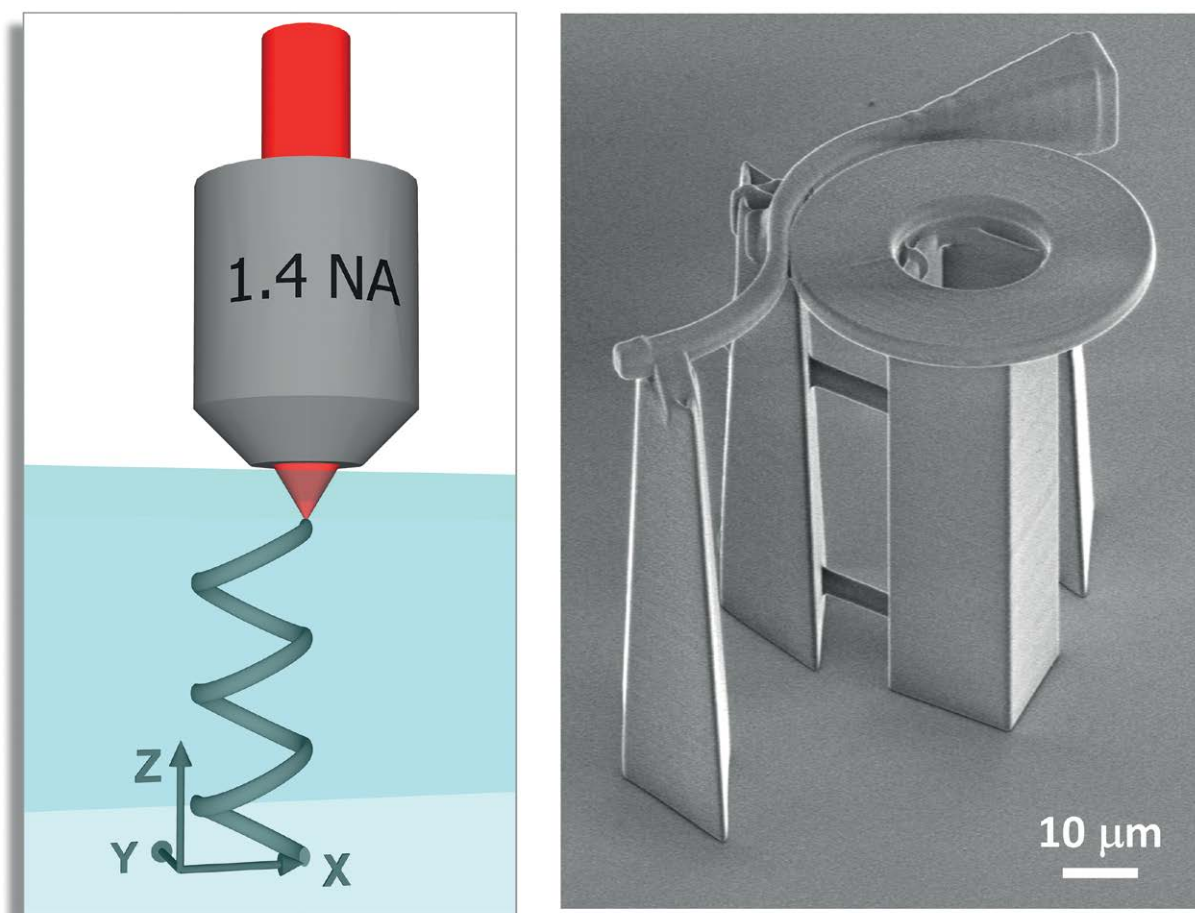
A Biofizikai Intézetben már az 1990-es évek második felében megjelentek ezek a technikák: Ormos Pál kutatócsoportja ekkor szerzett be egy optikai csipeszt, és indított el egy új laboratóriumot erre a műszerre alapozva. A kezdeti kísérletek során azt tapasztalták, hogy bizonyos mikroméretű részecskék forogtak a lézercsipeszben. Úgy gondolták, hogy ennek a csapdázó lézer fénynyomása és a részecskék alakja az oka. Erre alapozva hatékony, fény által hajtott propellereket terveztek, de ezek elkészítése a milliméter századrészének megfelelő méretben nem tűnt egyszerűnek. Ekkor találtak rá az irodalomban a fotopolimerizáció módszerére, amelynek lényege, hogy fókuszált lézerrésszel folyékony fotogyantába 3 dimenziós vonalakat lehet rajzolni, így egészen komplex mikrostruktúrákat lehet készíteni. Akkor még csak e technika demonstrációjával lehetett találkozni: egyszerű spirálokat készítettek el így. Ormos Pál és Galajda Péter viszont a fotopolimerizációt mikroszkopikus, fénnel hajtott propellerek, fogaskerekek és ezekből összeállított egyszerű gépek gyártására használták (1. ábra), ami akkoriban széles körű sajtóvisszhangot váltott ki. Az ezredforduló táján volt olyan közleményük, amely szerepelt a *Science* folyóirat Editor's Choice rovatában, kiemelték a *Nature*-ben, a *Physics Today*-ben, és olyan magazinokban és újságokban is méltatták, mint a *Discovery Magazine*, a *Business Week*, a *Welt am*

Sonntag és a *Time Magazine*. A csoport tagjai a BBC rádió számára interjút is adtak. Később ugyanők ezeket a technikákat rendkívül széles körben alkalmazták – így például egyedi DNS-szálak csavarásával megmérték e molekulák torziós tulajdonságait, és fénnel hajtott mozgó mikrorobotokat készítettek.

Egy igen érdekes kísérletsorozatban Ormos Pál, Kelemen Lóránd és diákjaik fotopolimerizációval propellereket készítettek, amelyek az úszó baktériumok forgó flagellumainak fizikai modelljét jelentették. Két optikai csipesszel két forgó propellert egymáshoz közelítettek. A köztük lévő távolság csökkenésével a propellerek forgása fokozatosan egymáshoz szinkronizálódott a kialakuló hidrodinamikai kölcsönhatások miatt. Hasonló jelenség állhat a bakteriális flagellumok kötegekbe rendeződése, illetve a sejtek csillóinak együttes mozgása hátterében.

Kelemen Lóránd és csoportja mikrocsonnába integrált, kizárólag optikai elven működő fehérjedetektort is épített (1. ábra). Ebben az esetben a kihívás az volt, hogy a detektort úgy kellett a mérendő folyadékot szállító csatornába polimerizálni (egy üvegpalackban összerakott hajómodellhez hasonlóan), hogy később egy optikai szálból a mérőfényt nagy biztonsággal bele lehessen csatolni. A módszerrel sikeresen tudtak fehérjéket specifikusan, jelölésmentes módon kimutatni oldatban.

Az apró csatornák és kamrák rendszerére épülő mikrofluidikai technikák alkalmazásával a folyadékok mikroméreteken precízen manipulálhatók, így például a sejtek mikrokörnyezetét is tetszés szerint befolyásolhatjuk. Kutatóink fotopolimerizált szerkezetek és a mikrofluidika kombinációjával vizsgálták rákos sejtek felületen való mozgását. Érdekes eredmény volt, hogy kemoattraktánsok hatására a sejtek – akár saját integritásukat is feláldozva – átjutnak az 1 mikrométernél is keskenyebb nyílásokon. Speciális sejtmanipulációs eszközöket is készítettek, például egy olyan szerkezetet, amelyhez egyetlen sejtet tapasztottak, és azt az optikai csipesz segítségével

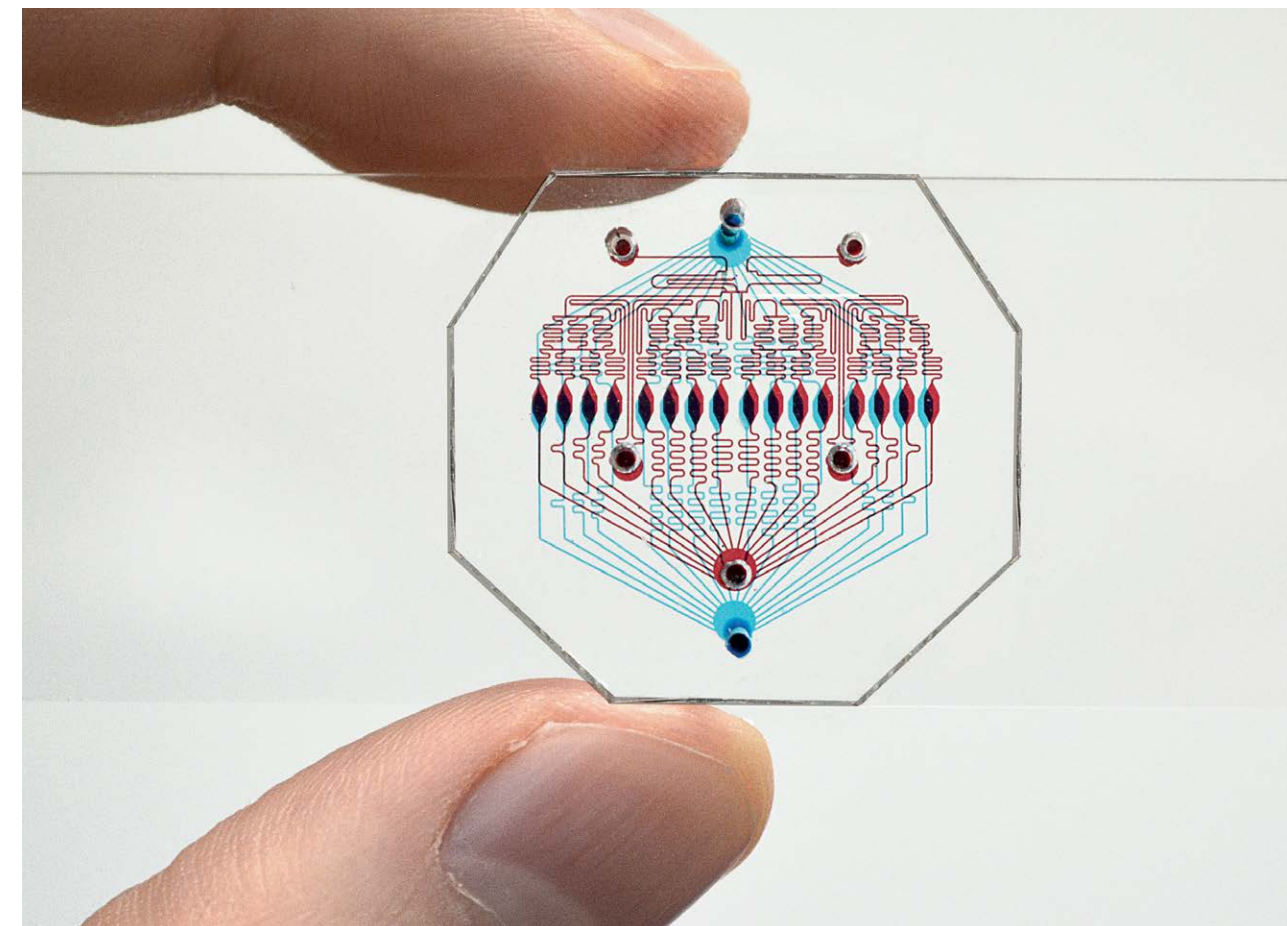


1. ÁBRA. A lézeres polimerizáció illusztrációja (bal) és az optikai elven működő fehérjedetektor elektronmikroszkópos képe (jobb)

tetszőlegesen forgathatták. Így a sejtet több irányból is meg lehetett figyelni, és a rögzített képekből nagyon pontos, 3 dimenziós modellt lehetett alkotni a sejtről. Az optikai csipessel mozgatott mikroeszközök pontos pozíció- és erőmérő képességét egyedi sejtek jellemzésére is felhasználták. Az Intézetben nagy hagyományokkal rendelkező vér-agy gát kutatásokhoz hozzájárulva, Kelemen Lóránd és munkatársai az agyi endotélsejtek egyik fontos tulajdonságának, a sejtmembrán rugalmasságának megméréséhez olyan mikroszerkezeteket készítettek, amelyeket négyfókuszos optikai csipessel lehet mozgatni. A sejt felszínét e szerkezettel letapogatva, a deformációhoz szükséges erőből meg lehetett határozni a sejtmembrán rugalmassági állandóját. Bizonyos ligandumokkal bevont gyógyszerhordozó nanorészecskék könnyebben tapadnak meg a kapilláriserek falát alkotó endotélsejtek felszínén, ami segíti a hatóanyag bejutását a sejtekbe vagy a központi idegrendszerbe. Ezen ligandumok sejthez való tapadásának erősségét is meg tudták mérni úgy, hogy az előzőhöz hasonló

mikroszerkezeteket vontak be a ligandumokkal, majd azokat függőleges falra növesztett sejtek felszínéhez nyomták, és végül elhúzták a felszíntől. A mérések szerint a ligandumok 10–15 pN-os erővel tapadnak a sejtek felszínéhez.

Mikrostruktúrák nem csak optikai csipessel kombinálva alkalmasak sejtek csapdázására. Galajda Péter csoportja több olyan mikrofluidikai csipet is készített (2. ábra), amelyekben speciális alakú „zsebek” szolgálnak a különböző sejtek – például baktériumok, algák, élesztőgombák – tartós csapdázására. Ezek az eszközök a sejtciklus és a sejtosztódás részletes megfigyelésére is kiválóan használhatók. A kamrákból és csatornákból álló mikrofluidikai rendszerek kisebb baktériumpopulációk élőhelyeként, mesterséges (szintetikus) ökoszisztémaként is funkcionálhatnak a laboratóriumi kísérletekben. Megfelelően tervezett csipekkel megvizsgálták például, hogy az élőhely geometriai tulajdonságai hogyan hatnak a különféle baktériumok egymással való versengésére. Kimutatták, hogy az egységes homogén élőhely helyett sokkal



2. ÁBRA. Színes oldatokkal feltöltött mikrofluidikai csip

inkább a felszabdalt, inhomogén struktúra kedvez a kooperáló baktériumtörzseknek vagy a kevésbé kompetitív, de hatékonyan migráló fajoknak. Fel-tárták továbbá, hogy olyan környezetben, ahol nem egyenletes az antibiotikumok eloszlása, a baktériumok térbeli struktúrába rendeződése olyan mutációk kialakulását segíti, amelyek rezisztens baktériumok gyors megjelenéséhez vezetnek.

A Biofizikai Intézetben a Biofotonika és a Biomikrofluidika Kutatócsoporton kívül a Biomolekuláris Elektronika Kutatócsoport és a Biológiai Barrierék Kutatócsoport is intenzíven alkalmazza a mikrofluidikai módszereket. Kifejlesztettek egy mikrofluidikai vér-agy gát modellt, amellyel rendkívül hatékonyan tanulmányozható a különféle molekulák és nanorészecskék vér-agy gáton való átjutása. Ez a modell a korábbiaknál pontosabb, mivel az agyi hajszálerekhez hasonlóan e rendszerekben is áramlik

a tápfolyadék, ami az *in vivo* szövetkörnyezethez nagyon hasonló struktúrát eredményez.

Látható, hogy az új kísérleti módszerek és technikák meghonosítása több új kutatási irányvonal megjelenését is magával hozta, ez pedig számos együttműködést eredményezett az SZBK keretein belül és azon kívül is. Jelenleg az SZBK mind a négy intézetében alkalmazzák e technikákat, és használják az ehhez szükséges tisztalabort és műszerparkot. A csiplaboratóriumi rendszerek, a személyre szabott gyógyítás és a „point-of-care” diagnosztika koncepciói egyre nagyobb jelentőséggel bírnak az alkalmazott kutatásokban. Ezekhez nélkülözhetetlen a mikrofluidikai és a mikromanipulációs technikák alkalmazása és továbbfejlesztése, tehát az ilyen irányú kutatómunka továbbra is nagy fontossággal bír.

GALAJDA PÉTER, KELEMEN LÓRÁND, ORMOS PÁL

BIOKÉMIAI INTÉZET

6726 SZEGED, TEMESVÁRI KRT. 62.
6701 SZEGED, PF. 521.



A GÉNKLÓNOZÁS ÉS DNS-SZEKVENÁLÁS HAZAI ÚTTÖRŐI

Az SZBK alapításakor a Biokémiai Intézet szegedi részlegében (ekkor még az MTA Budapesten működő Biokémiai Intézetének – a későbbi Enzimológiai Intézetnek – az egyik alegysége volt a szegedi biokémia) három csoport indult: a Dénes Géza által vezetett Anyagcsere-szabályozás, a Wolleman Mária által vezetett Membránlipid és az általam vezetett Nukleinsav Csoport.

Én két munkatársammal, Duda Ernővel és Udvardy Andorral jöttem Budapestről Szegedre, rájuk támaszkodva indítottam el az itteni munkát. A csoporthoz formailag tartozott még két senior kutató (Tomasz Jenő és Zabos Péter), de ők szakmailag önállóak voltak, és Zabos hamarosan külföldre távozott, Tomasz pedig átszereződött a Biofizikai Intézetbe.

Kutatásaink indító alapgondolatát egy 1967-ben, Sol Spiegelmantól hallott kiváló előadásból merítettem. A számomra akkor reveláló új információ az volt, hogy egy exponenciálisan növekvő baktériumkultúrában olyan intenzíven zajlik a riboszómák szintézise, hogy a riboszomális RNS-t kódoló génen az elvileg lehetséges maximális intenzitással kell a transzkripciónak folynia (azaz: minden más génnél intenzívebben), és még így sem elég egy gén ehhez: a kódoló génnek tehát több példányban kell jelen lennie.

Azt a célt tűztük ki tehát, hogy tanulmányozzuk a riboszomális RNS-transzkripciót, tisztázzuk, hogy milyen DNS-szerkezeti elem(ek)nek köszönhető ez a különleges intenzitás, és kell-e ehhez specifikus egyéb faktor. Ehhez kíváncsiak voltunk volna a kérdéses gén(ek) izolálását, egy tiszta *in vitro* rendszer előállítását.

MÓDSZERFEJLESZTÉS, ÚJ FELFEDEZÉSEK

Elsősorban Udvardynak köszönhetően kidolgoztunk egy kromatográfiás módszert az ismert, de kevésbé használt BD-cellulóz hordozón az egyes, illetve kettős

szálú DNS és RNS elválasztására, és elsősorban ennek segítségével jelentősen feldúsítottuk előbb az rRNS-t kódoló DNS-szálat, majd ennek komplementerét. Elmondhattuk tehát, hogy majdnem teljesen megtisztítottunk rRNS-géneket, de ezt egyrészt rendkívül kis mennyiségben tettük, másrészt realizálnunk kellett, hogy az így nyert, töredezett DNS-preparátum teljesen alkalmatlan *in vitro* kísérletek végzésére. Ekkor csatlakozott a csoportunkhoz Sümegi János. Sümegi és Udvardy nem az izolált, töredezett génen, hanem az intakt bakteriális DNS-en végzett kísérletekkel sikerrel határozták meg az rRNS gén(ek) két fontos tulajdonságát. Egyrészt, hogy e gén(ek) promotere(i) az átírást végző RNS-polimeráz enzimmel extrém erős komplexet képeznek és ez a tulajdonság felhasználható a feldúsításukra, másrészt hogy e gén(ek)nek több – a kísérletek szerint 4 – promoterük van. (Később kiderült, hogy valójában csak két promoterrel rendelkeznek, a másik két promoter egy szintén általunk vizsgált szomszédos géné).

Ekkor fedezték fel azt az új technológiát, amit népszerűen „génsebészeti”, pontosabban „*in vitro* rekombinációs DNS-módszernek” neveznek. Az úttörő, 1972-ben publikált PNAS-cikk nyomán, amelyben leírták az EcoRI restriktív endonukleáz tulajdonságait, realizáltuk, hogy elvileg kezünkbe került az a módszer, amely lehetővé fogja tenni a génizolálást ép kettős szálú struktúrában.

A „MAGYAR TRÜKK”

Ekkor két új taggal gyarapodott a csoportunk, Sain Bélával és Kiss Antallal. Sain azt a feladatot kapta, hogy reprodukálja az EcoRI enzim tisztítását, Kiss pedig azt, hogy vizsgálja meg, vajon az SZBK-ban használt más baktériumokban – elsőként a Genetikai Intézetben vizsgált *Rhizobium meliloti* fajban –, jelen van-e restriktív endonukleáz. Nagy öröm volt Kiss Antal első pozitív kísérlete, amelyet azonban hamarosan csalódás követett, mert az eredmény nem volt

reprodukálható. A kiváló kutató, Kiss Antal viszont ebbe nem nyugodott bele. Megállapította, hogy az első pozitív eredmény nyilván átszennyeződésnek volt köszönhető, és abból a kultúrából, amelynek vizsgálata a pozitív eredményt adta, sikeresen izolálta az átszennyező idegen baktériumot, amit Ivánovics György professzor *Bacillus sphaericus*ként azonosított. Ebből izoláltuk a csoportunk által felfedezett, új restriktív endonukleáz, a BspRI-et. A későbbiekben ebből a felfedezésből eredt csoportunk fő kutatási témája, a restriktív-modifikációs enzimek és az ezeket kódoló gének vizsgálata. A Kiss Antal által kidolgozott új módszerrel, amely „magyar trükk”-ként vonult be a szakirodalomba, elsőként klónoztunk egy modifikációs metiláz gént, majd csoportunk új tagjával, Pósfai Györggyel meghatároztuk a gén teljes szekvenciáját (ez volt a világon az első szekvenált citozin-metiláz gén). Később a Nobel-díjas molekuláris biológussal, Richard John Robertsszel együttműködve, Pósfai és Kiss a teljes BsuRI restriktív-modifikációs rendszert kódoló DNS-szekvenciát is meghatározták. Csoportunknak a ’80-as években fontos bevételt jelentett, hogy kereskedelmi célból is foglalkoztunk restriktív endonukleázok előállításával. Ezzel kapcsolatos, hogy amikor intézetigazgató, majd főigazgató lettem, már nem volt időm és energiám színvonalas kísérleti munka végzésére, de az enzimpreparálásban továbbra is részt vettem. Ennek során asszisztensnőm két alkalommal is figyelmeztetett arra, hogy egy ismert enzim tisztítása során megváltozott a DNS-emésztési mintázat. Mivel korábban már volt ilyen tapasztalatunk, ismét átszennyezésre gyanakodtunk, és valóban, Orosz András közreműködésével két új enzimet fedeztünk fel (BepI és Bcefl). Ennél is érdekesebb volt a harmadik eset. Restriktív enzimekkel kapcsolatban kooperációnk volt a jénai (NDK) Manfred Hartmannal, aki egyszer azzal kérészt meg, hogy szintén kontamináció eredményeként ő is kimutatott egy új restriktív enzimaktivitást, és megkért, hogy állapítsuk meg ennek a hasítási specifitását. Én ezt akkor olyan feladatnak tekintettem, amit egyedül is meg tudok oldani a főigazgatói teendőim mellett, és elvégeztem a meghatározást. Nagy örömömre kiderült, hogy valóban új enzimről van szó, amelynek hasítási specifitása GAAGAG. Írtam Manfrednek, hogy küldje el a tisztítás leírását, hogy publikálhassuk az eredményt, mire szomorúan válaszolt, hogy a törzs elpusztult, és sem újraéleszteni, sem megtalálni nem tudták. Így

természetesen nem is publikálhattuk. Az érdekesség az, hogy ilyen enzimet még a következő évtizedben sem fedeztek fel.

GÉNKLÓNOZÁS ELSŐKÉNT MAGYARORSZÁGON ÉS A KELETI BLOKKBAN

Visszatérve a riboszomális génekre, 1975-ben részt vettem Koppenhágában egy ezzel a témával foglalkozó szimpóziumon, ahol Joel B. Kirschbaum bemutatót egy transzdukáló lambda-fágot, amely hordozott egy *E. coli* eredetű riboszomális RNS-gént. Ezt a fagot elkértem, és ezzel új munkatársunk, Kiss Ibolya megismételte Sümegi korábbi transzkripciós kísérleteit, most már sokkal pontosabb és megbízhatóbb eredményekkel. Ebből a fágból kiindulva végeztük el azután Kiss Antallal és Sain Bélával az első hazai klónozási kísérletet, aminek eredményeként létrehoztunk egy rekombináns plazmidot, amely hordozta az rrnB gént. Ez volt hazánkban, sőt az egész keleti blokkban az első génklónozási eredmény, aminek következtében csoportunk valóságos nemzetközi továbbképző centrummá vált a génsebészeti technológia területén. Kiss Ibolya gyönyörű elektronmikroszkópos felvételekkel igazolta, hogy valóban egy rRNS-gént izoláltunk. Itt ismét egy új munkatárs kapcsolódott be a kutatásba, Csordás-Tóth Éva. Ő alkalmazta hazánkban először a DNS-szekvenálási metodikát, meghatározván a gén promotere régiójának szekvenciáját. Ezután született a legtöbbet idézett és tankönyvi adattá vált eredményünk: Kiss Antallal és Sain Bélával megállapítottuk, hogy az *E. coli* genomjában hét riboszomális RNS-t kódoló gén van.

Ekkoriban két kimagaslóan tehetséges biológus diákkörös dolgozott a csoportunkban, Boros Imre és Koncz Csaba. Sajnos végzésükkor csak egyiküket tudtam felvenni, ez Boros volt, Koncz a genetikára került, majd Németországban futott be nagy karriert. Borossal végeztük el azt a munkát, amely egész pályám során a legizgalmasabb intellektuális feladat volt, mert az ifjúkoromban kedvelt, nehéz logikai rejtvényekre emlékeztetett: mind a hét rRNS-gén fizikai térképének együttes meghatározását.

Attól kezdve, hogy az első sikeres klónozási kísérletet elvégeztük, meg-megújuló kísérleteket tettem arra, hogy az illetékes döntéshozók figyelmét felhívjam az új technika óriási potenciális gyakorlati jelentőségére, és a saját ilyen irányú munkánkhoz nagyobb támogatást szerezzek. Sajnos csak akkor

sikerült elérni valamit, amikor már késő volt... 1979-ben kaptunk megbízást az MTA főtitkárától, *Márta Ferenctől*, hogy egy kiemelt támogatású projekt keretében oldjunk meg az ipar számára egy gyakorlati hasznát ígérő feladatot. Bár én szerettem volna valami új, eddig az iparban még nem használt, fontos fehérje termelésére szerződni, erre nem volt fogadókészség – az ipart csak olyan, már addig is termelt fehérje érdekelte, amire tömegigény mutatkozott, ezért az inzulint választották. Ez tudományosan akkor már biztosan nem jelentett újdonságot, mert tudható volt, hogy az USA-ban már kiváló erők foglalkoznak ezzel, és valóban, 1982-ben már meg is jelent a világpiacra a génszészeti úton előállított humán inzulin. Ennek ellenére elvállaltuk a feladatot, noha a csoporton belül is sokan elleneztek. A teljesítés nehezebb volt a vártnál, részben azért, mert az ígért extra támogatás is akadozott az 1982-ben bekövetkezett gazdasági válság és az emiatt nehezített nyugati import miatt. Persze mi is követtünk el stratégiai hibákat. 1981-re patkányból sikerült előállítanunk egy cDNS-klónt, amely tartalmazta az inzulint kódoló szekvencia egy részét, tehát volt egy alkalmas hibridizációs próbánk, de a humán gén izolálása sokáig nem sikerült. Végül *Fehér Zsigmond* kollégánk, aki korábban vendég-

ként nálunk dolgozott, a debreceni klinikáról hozott egy friss emberi inzulinómát, amiből Csordás-Tóth Éva kitisztította az inzulin mRNS-ét, majd ennek segítségével Török István talált egy olyan transzformált baktériumot, amely tartalmazta az emberi inzulingén egy fragmentumát. Így már sikerült a teljes proinzulint kódoló génszakaszt előállítani, amit Boros Imre illesztett be egy erős riboszomális RNS-promoter mögé, hogy kifejeződjön. 1984-ben, a Straub születésnapjának tiszteletére megrendezett Straub-napi ünnepségen, némileg teátrális mozdulattal húztam elő a köpenyem zsebéből a Petri-csészét, amelyben ott volt az emberi proinzulint szintetizáló rekombináns *E. coli*-kolónia. Ezután elsősorban *Lukacsovich Tamás* munkája eredményeként sikerült a génkifejeződést oly mértékben javítanunk, hogy a baktérium összes fehérjetartalmának 25 százaléka proinzulin legyen. Ennek inzulinná konvertálására az Enzimológiai Intézet egy csoportja szerződött, ám a feladat teljesítésére már nem került sor, mert az egész program aktualitását veszítette. Így az a négy elfogadott szabadalmunk, ami ebből a munkából született, soha nem került alkalmazásra.

VENETIANER PÁL

VÍRUSOK, SEJTEK, CITOKINEK – EGEREK ÉS EMBEREK

A '70-es évek második felének egyik forró témája a fehérjék szintézist követő érési folyamata volt. Ennek vizsgálatára ideálisnak tűnt az állati sejtek tenyésztésében szaporodó vírusok vizsgálata. A módszertani különbözőség vezetett a *Venetianer*-csoporttól való fokozatos szétválásunkhoz. A sikeres inzulinprojekt folytatásaként *Tóth Miklóssal* megoldottuk egy sor emberi citokin (tumornekrózis faktor /TNF/, béta-interferon /IFN- β /, interleukin-1 és -6) génjének klónozását, a fehérje kifejeztetését és homogenitáshoz való tisztítását. A TNF meghatározó szerepet játszik a tumorelles, a védő és a kóros gyulladásos folyamatokban. Előállítása (a *Beutler*-csoport után másodikként) révén egy sor hazai és külföldi laboratórium igényét el tudtuk látni: olyan sejtvonalakat állítottunk elő, amelyekkel kvantitatívan lehetett mérni gyulladásgátló-, illetve tumorelles gyógyszerjelöltek hatását, az *unfolded protein response*-t és egyéb sejt-stressz hatásokat. *Gyuris Jenő*vel elsők között publikáltuk, hogy a sejtmagból izolált transzkripció faktorok az eukarióta sejtekben található konszenzusszekvenciákhoz hasonló, azokkal egyező elemeket ismernek fel a DNS-vírusok szabályozó régióiban is. *Fejér Györggyel* írt cikkünk tárta fel, miért vezethetett egy korai, adenovírus alapú génterápiás kísérlet egy fiatal halálához (ami hosszú évekre – közel két évtizedre – visszavetette az ilyen kísérleteket). A vírusok burka hatásosan juttatja be a vírusgenomot a sejtekbe. Rekonstruált membránokkal és liposzómákkal megpróbáltuk utánózni a természetes folyamatot. Az eredmény egy (kis impakt faktorú, kevésbé idézett) cikk lett, amelyben *Karikó Katival* és *Kondorosi Évával* írtuk le, hogyan lehet egy lipid-nanovezikulummal nukleinsavat bejuttatni a sejtekbe (35 évvel a BioNTech vakcina előtt). Az országban az elsők között vettünk részt EU-konzorciumban (FP4) *Madarász Emíliával* (KOKI). A pályázat keretében a TNF egyedfejlődésre kifejtett hatásait vizsgáltuk (*Gregoris Kollias* vezette a konzorciumot), és leírtuk, hogy a (gyulladás során keletkező) TNF gátolja a károsodott szív regenerációját, a progenitor sejtek és az őssejtek differenciálódását. Szintén Madarász Emíliával olyan neuronális őssejteket állítottunk elő, amelyek agyi

integrációját követni lehetett fluoreszcens markereik segítségével. E sejtek gerincvelősérült kísérleti állatok idegi regenerálódására kifejtett hatását *Nógrádi Antallal* (SZTE) vizsgáltuk. A nizzai egyetemmel (*Prof. Francois Cuzin, Minoo Rassoulzadegan*) való kollaborációnk eredményeként az elsők között állítottunk elő szabályos szöveti szerkezetet mutató organoidokat immortalizált Sertoli-sejtekből, TNF hatására – jóval megelőzve az organoidkutások megindulását. Egy másik EU-konzorcium tagjaként (*Klaus Osterrieder* vezetésével) részt vettünk egy nagy gazdasági jelentőségű herpeszvírus, a baromfi Marek-féle vírusa ellen kifejlesztett vakcina előállításában. A TNF és receptorának kölcsönhatását kutatva fedeztük fel a membránkötött ligand (mTNF) által indított jelfolyamatot, amit reverz szignálnak neveztünk el. Ez a jelfolyamat az mTNF és a TNF-receptor oldható vagy transzmembrán formája közötti kölcsönhatás eredményeként indul be, és meghatározó szerepe van a TNF-et neutralizáló monoklonális gyógyszerek hatásos működésében. Emellett a daganatos betegségek kialakulásában is szerepet játszik, így potenciális terápiai célpont, amit állatkísérletben igazoltunk. A sors kivételes ajándékának tartom, hogy a csoportban olyan emberekkel dolgozhattam együtt, mint *Karikó Kati*, *Kondorosi Éva* vagy *Gyuris Jenő*, aki kidolgozta a yeast two hybrid módszert és később nagy bostoni biotech cégek tudományos vezetője lett; *Polyák Nelli*, aki ma már az Amerikai Orvosi Akadémia tagja; *Izsvák Zsuzsa* és *Ivics Zoltán*, a mobil genetikai elemek legelismerőbb kutatói (USA, majd Németország); *Arya Biragyn*, az NIH National Institute on Aging vezető kutatója. *Tóth Miklós* (New York), *Zeki Topcu* (Izmir), *Beniczky Sándor* (Aarhus) és *Cendsuren Ojunsuren* (becenevén Ojuna, Ulánbátor) egyetemi tanárok lettek. Külön büszkességgel tölt el az a tény, hogy Szeged, Pécs, Debrecen és Budapest tucatnyi intézetében és klinikáin dolgoznak olyan szakemberek, akik *Kusz Erzsébet* laboránsunktól tanulták meg az állati sejtek tenyésztésének és genetikai átalakításának fortélyait.

DUDA ERNŐ

NYITÁS AZ EUKARIÓTA MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA FELÉ

Az 1970-es évek végén, a tudományos világ-trendnek megfelelően a Biokémiai Intézet Nukleinsav Csoportjában is egyre sürgetőbb igény lett, hogy a korábban prokarióta rendszereken végzett molekuláris biológiai kutatásokat a bonyolultabb eukarióta rendszerekre is kiterjesszük. Ennek az új témakörnek az indítására kaptam megbízást mesteremtől, *Venetianer Páltól*. A kutatási téma kiválasztásában a Genetikai Intézetben folyó, magas színvonalú *Drosophila*-genetikai vizsgálatok inspiráltak, amelyek során az akkori kollégák részletesen jellemeztek egy olyan deléciós hősoikkgén-mutációt, ami a hősokk puffok méretének drasztikus csökkenését eredményezte. A mutáció molekuláris analíziséhez a *Drosophila*-genomot reprezentáló génbank készítésére volt szükség – ez a feladat akkor hazánkban még teljesen újszerű, számos buktatót hordozó kihívás volt. A sikeres *Drosophila*-génbank-konstrukció segítségével a deléciós hősokkgént klónoztuk, és DNS-szekvenálással a deléciónak pontos helyét is meghatároztuk. A hősokkgén vizsgálatát amerikai tanulmányi utam során is folytattam. A hősokkválasz szabályozásában szerepet játszó promoter-enhanszer szakaszok kromatinstuktúrájának vizsgálatával azonosítottunk és részletesen jellemeztünk egy olyan új kromatinszerkezeti elemet, amely a hősokkgén enhanszerének hatását lehatárolja (boundary element). Részletesen vizsgáltuk a transzkripció kísérő topológiai változások kompenzálásában kulcsfontosságú topoizomeráz II enzim lokalizációját a hősokkgén kromatinstuktúrájában, valamint az enzim lokalizációjának változásait a transzkripció különböző szakaszaiban.

Amerikai tanulmányutamról hazatérve tudatosan új kutatási terület indítását tűztem ki célul. A transzkripció szabályozása olyan forró téma volt, hogy hazai viszonyok között sikeres, magas színvonalú művelése elég reménytelennek tűnt. Ezért olyan témát kerestem, amely intellektuálisan kielégítő, de még nem ennyire kompetitív. Az 1980-as évek



1. ÁBRA. Az extraproteasomális és proteasomális ubikvitinreceptorok egyensúlyának megbomlása súlyos genetikai defektusokhoz vagy akár letalitáshoz is vezet *Drosophila melanogaster*-ben (Lipinszki Z, Pál M, Nagy O, Deák P, Hunyadi-Gulyás E, Udvardy A. *FEBS J*; 2011;278:4833–4844)

legelején vált ismertté, hogy az eukarióta sejteken belül a fehérjék szabályozott lebontását egy speciális posztszintetikus módosítás, a bontásra szánt fehérje ubikvitilációja előzi meg. A bontást végző enzimet, annak szerkezetét és működését akkor még nem ismerték. *Drosophila*-embriók extraktumában sikerült ezt a szabályozott fehérjebontást *in vitro* reprodukálni (1. ábra), ami lehetővé tette, hogy elsőként homogenitásig tisztítsuk a 26S proteasómának nevezett proteolitikus enzimkomplext. Meghatároztuk ennek az óriási komplexnek az alegységszerkezetét, azono-

sítottuk a komplex ubikvitinfelismerő/-kötő alegységet, majd klónoztuk ezen alegységet, és analizáltuk funkcionális elemeit. A 26S proteasóma alegységeinek kétdimenziós gélelektroforetikus elválasztását követően a Max Planck Institute of Biochemistry kutatóival kooperálva tömegspektrográfias technikával sikerült az alegységek aminosavsorrendjét meghatározni. Az alegységek ellen általunk előállított monoklonális ellenanyagok lehetővé tették, hogy nyomon kövessük azokat a strukturális változásokat, amelyek a 26S proteasóma összeszerelődését és a proteolitikus folyamatot kísérik. A p37A alegység elleni monoklonális ellenanyag felhasználásával, elektronmikroszkópos technikával ezen alegységnek a 26S proteasómán belüli lokalizációját is sikerült meghatároznunk (2. ábra).

A 26S proteasóma funkcióját *Carl Mann*-nal és munkacsoportjával kollaborációban vizsgáltuk, akik azonosítottak két olyan élesztőmutánst, amelyek súlyosbítni tudták a cdc28 ciklindependens kináz hőmérsékletfüggő mutációját. A kettős mutánsok genetikai interakció révén már permisszív hőmérsékleten is letálisak voltak, a letalitást a mitotikus ciklinek lebontásának gátlása okozta. Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a két mutáció a 26S proteasóma regulátor komplexumának két alegységét érintette. Eredményeink elsőként bizonyították, hogy a mitotikus ciklinek M-fázisbeli szabályozott lebontásáért kizárólag a 26S proteasóma felelős. A *Nature* folyóiratban megjelent cikkünket a lap News and Views rovata ismertette.

A tudományos publikációkon túlmutatóan csoportom tevékenységének fontos eredménye, hogy sikerült két kiváló fiatal kutatót, *Haracska Lajost* és *Lipinszki*



2. ÁBRA. A 26S proteasóma p37A alegységének elektronmikroszkópos lokalizációja a proteasóma regulátor szubkomplexének bázisán, kolloidális arany szemcsékkel konjugált ubikvitin-aldehid segítségével kimutatva (Hölzl H, Kapelari B, Kellermann J, Seemüller E, Sümegi M, Udvardy A és *mtsai*. *J Cell Biol*. 2000;150:119–130)

Zoltánt tudományos pályájukon elindítani, akik kiemelkedő nyugati laboratóriumokban is bizonyítani tudták képességeiket és képzettségüket.

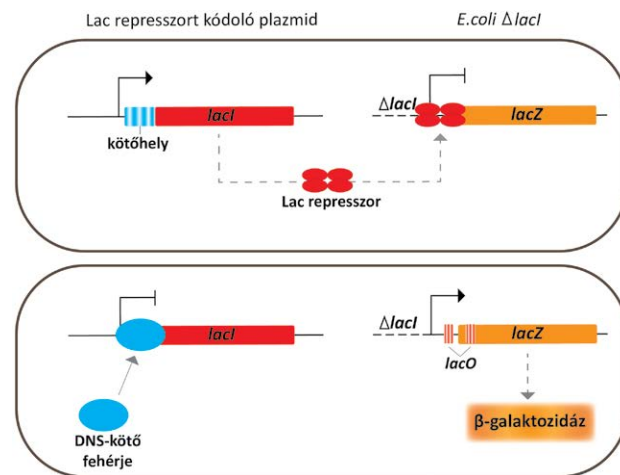
UDVARDY ANDOR

RESTRIKCIÓS ENDONUKLEÁZOK ÉS DNS-METILTRANSFERÁZOK: A GENOM- ÉS EPIGENOM-KUTATÁS ESZKÖZEI

A DNS-fehérje Kölcsönhatások Csoport kutatási területének eredete a *Venetianer Pál* vezette Nukleinsav Csoportba nyúlik vissza. Születésében döntő volt az a sikerélmény, amit egy restriktív endonukleáz (BspRI) felfedezése és egy DNS-metiltransferáz (MTáz) gének klónozására alkalmas szelekciós módszer kidolgozása jelentett. Ezzel a módszerrel klónoztuk három DNS-MTáz (M.BspRI, M.SPR, M.BsuRI) génjét. A gének szekvenálását, amely akkor még (Maxam–Gilbert-módszerrel!) nehéz feladat volt, a friss diplomával a csoportba került *Pósfai György* végezte. Az így kapott 3 aminosav-szekvencia volt az első szerkezeti információ a citozin C5-MTázok fontos enzimszámára vonatkozóan. Amerikai tanulmányutam során (1983–1986), *Richard Roberts* csoportjában az itthon elkezdett munkát folytatva, sikerült az említett szelekciós módszerrel egy teljes restriktív-modifikációs rendszert (BsuRI) klónozni. Azóta szinte mindenki ezt a módszert használja restriktív-modifikációs rendszerek klónozására.

A DNS-fehérje Kölcsönhatások Csoport önálló egységként 1987 óta létezik. Kezdetben munkánk gerincét restriktív endonukleázok – és kiemelten DNS-MTázok – szekvenciaspecifikitásának vizsgálata jelentette. A specifikitást elsősorban hasonló szekvenciát felismerő enzimek génjeinek klónozásával, a specifikus DNS-felismerés *in vitro* és *in vivo* vizsgálatával, valamint a szekvenciaspecifikitást befolyásoló mutációk izolálásával próbáltuk megérteni. Kimutattuk, hogy egyes DNS-MTázok DNS-kisérke kölcsönhatásokat is használnak a szubsztárfelismeréshez – ez az eredményünk módosította az addig elfogadott enzimmodellt. Elsőként állítottunk elő olyan DNS-MTáz-változatokat, amelyekben a mutáció hatására megváltozott az enzim specifikitása.

Az utóbbi időben egyre nagyobb figyelem fordul az emlősök génműködésének epigenetikai – és ezen belül DNS-metiláció általi – szabályozására. Arra



1. ÁBRA. Az I-Block módszer működésének elve

gondolva, hogy DNS-MTázokkal szerzett tapasztalatunk hasznosítható lesz az új területen, témaváltást kezdtünk, így fő kutatási területünk az *in vivo*, célzott DNS-metiláció lett. Munkánk célja az irányított DNS-metiláció módszereinek javítása, különösen a specifikitás növelése. Kimutattuk, hogy a specifikitás növelésére javasolt egyik stratégia téves értelmezésen alapszik, és nem alkalmas a kívánt cél elérésére. Európai uniós konzorciumi együttműködések keretében több, célzott DNS-metilációt alkalmazó kutatásban is részt vettünk.

A célzott DNS-metiláció körülményeinek vizsgálata során kidolgoztunk egy *E. coli*-ban működő, egyszerű módszert (I-Block) specifikus DNS-fehérje kötés kimutatására. A módszer az *E. coli* lac operon működésén alapul: a DNS-fehérje kötés a Lac represszor gén (*lacI*) átíródásának gátlása és az ennek hatására bekövetkező β-galaktoszidáz enzimaktivitás növekedése révén mutatja ki (1. ábra).

KISS ANTAL

AZ EXTRACELLULÁRIS MÁTRIX KUTATÁS HÁROM ÉVTIZEDE

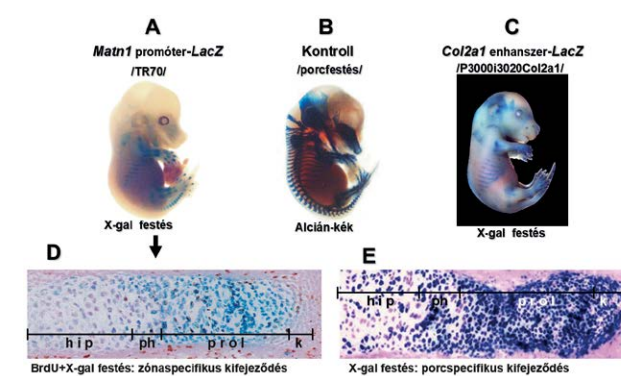
A Nukleinsav Csoportban szerzett sokoldalú tudás kitűnő alapot nyújtott egy új és érdekes témának, az extracelluláris mátrix (ECM) kutatásának a megkezdésére 1983-ban, *Paul Goetinck* laboratóriumában (University of Connecticut, USA), majd 1985-től a téma itthoni folytatására – így alakult meg az Extracelluláris Mátrix Molekuláris Biológiai Csoport. Bár az ECM alapvető fontosságú, sőt egyes szövetek (pl. porc) tulajdonságait döntően megszabja, makromolekuláiról akkor még alig voltak ismereteink. Ezért nagy kihívást jelentett és jelentős mérföldkőnek számított, amikor sikerült klóntárakat létrehozni és porcférféket kódoló géneket izolálni. A csirke porc link protein (Crtl1) és a porc mátrix protein (CMP), későbbi nevén matrilin-1 (Matn1), cDNS- és genomi klónjainak elektronmikroszkópos (EM) vizsgálatával és szekvenciaanalízisével feltártuk a fehérjemodulokat, a gének szerkezetét, valamint evolúciójukban az exon splicing, duplikáció és shuffling mechanizmusok szerepét. Kiderült, és mára tankönyvi adattá vált, hogy a létfontosságú Crtl1 ismétlődő doménje

hialuronsavhoz, míg Ig doménje az aggregán homológ doménjéhez kötődik, ezzel stabilizálva a porc rugalmasságáért felelős aggregán-hialuronán aggregátumokat.

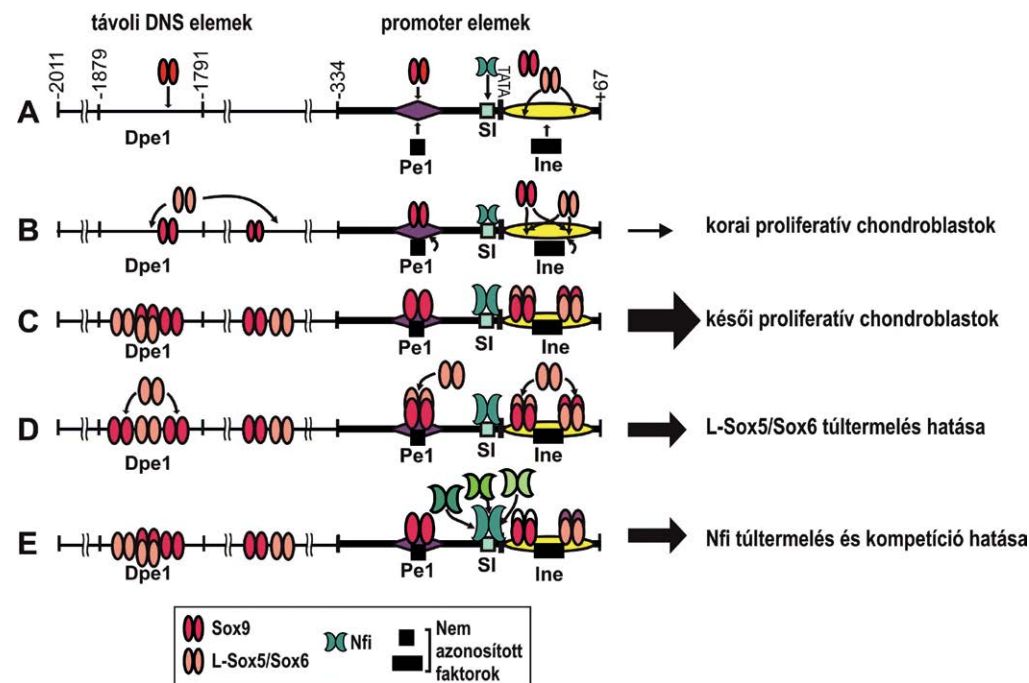
Később a matrilin-2 génjének (*Matn2*) klónozásával felfedeztük, hogy a matrilin-2 valójában egy új multiadheziós fehérjecsaldót alkotnak, amit *Mats Paulsson* csoportja (University of Cologne) 4 tagúra bővített. E proteinek az EGF és a vWFA domének számában különböznek egymástól, oligomerjeik hálózatokat képeznek. A matrilin-1 aggregánhoz és kollagénekhez, a matrilin-2 pedig kollagénekhez, fibronectinhez és a bazális membránhoz kötődik. A matrilin-2 tehát hidat képeznek a különböző szupramolekuláris ECM-hálózatok között.

A *Matn1* gén egyedülálló sajátossága, hogy porcspecifikus, de kifejeződése csak proliferatív differenciálódási stádiumú porcsejtekre korlátozódik sejtkultúrában és a növekedési korongban egyaránt (1. ábra). E különleges, sejtosztódáshoz kötött regulációnak a megértése akkora kihívás volt, hogy az erre irányuló kutatásokból *Szabó Piroska*, *Rauch Tibor*, *Otgonchimeg Rentsendorj*, *Nagy Andrea* és *Szénási Tibor* PhD-disszertációt, *Altanchimeg Rentsendorj* pedig kandidátusi dolgozatot írt. *Karcagi Ildikó*, *Kénesi Erzsébet* és *Molnár Anna* segítségével pedig transzgenikus állatmodellt is kifejlesztettünk a porcképződés tesztelésére. Ehhez a sejtkultúrákban térképezett reguláló régiók és DNS-elemek működését transzgenikus egerekben ellenőriztük. Végül az *in vitro* és *in vivo* kötődő transzkripciós faktorokat változatos módszerekkel (pl. footprint, ChIP) azonosítottuk. Igazoltuk, hogy a fejlődési stádiumtól függő szabályozásért a TATA körüli, evolúciósan konzervált DNS-elemekhez kötődő, porcspecifikus Sox és Nfi faktorok bonyolult, dózisfüggő összjátéka felelős (2. ábra). Emellett az ún. enhanszer elemek és korai fejlődési stádiumban a Hmgb1 protein is elősegítik a Sox faktorok kötődését és a transzaktivációt.

Bár a matrilin-2 termelődését minden vizsgált sejt-típusban kimutattuk, a gén kiütése egerekben mégsem bizonyult letálisnak *Mátés Lajos* és *Aszódi Attila* (Max Planck Institute, Martinsried) kísérleteiben, való-



1. ÁBRA. A *Matn1* promotor szűkített porcspecifikus kifejeződése transzgenikus egerekben. A *Matn1* gén promotere nem működik a 14,5 napos egérembriók minden porcsejtjében (A), ami a kontroll embriókban alciánkékkel festődik (B), csak a növekedési korong proliferatív (prol) és prehipertróf (ph) zónájában aktiválja a LacZ riportert (C), korábbi fejlődési stádiumokban (k) nem (D). Ezzel szemben a II. kollagén gén (*Col2a1*) promotere és enhanszere minden porcsejtben aktív, és nagyfokú LacZ-expressziót eredményez a növekedési korong minden zónájában (E).



2. ÁBRA. A *Matn1* promoter működésének modellje. **(A)** A *Matn1* promoter egyedi jellemzője, hogy a konzervált DNS-elemek (Pe1, SI és Ine) különleges elrendezésben koncentrálnak a TATA motívum körül. Emiatt az L-Sox5/Sox6 transzkripció faktorok kötődése a Pe1, Ine és Dpe1 DNS-elemekhez, illetve az Nfi faktorok kötődése az SI silencer elemhez dóziszfüggően modulálja a Sox9 transzaktiváló hatását **(B-E)**. Mindez differenciálódási stádiumtól függő génexpressziót eredményez a porcsejtekben, ami a legmagasabb szintet a késői proliferatív chondroblastokban éri el (ld. nyíl vastagsága) **(C)**, a későbbi fejlődési stádiumokban pedig az L-Sox5/Sox6 és az Nfi faktorok túltermelésének gátló hatása miatt csökken **(D-E)**

színűleg kompenzációs mechanizmusok miatt. Ezért volt jelentős felfedezés a *Matn2* hepatocelluláris karcinómában, illetve izomregenerációban betöltött szerepének igazolása, *Kovalszky Ilona* (Semmelweis Egyetem), *Dux László* (Szegedi Tudományegyetem) és *Puskás László* (SZBK) csoportjaival közösen. Hepatocelluláris karcinoma esetén a matrilin-2 a jelátvitelt módosítva tumorsuppresszorként funkcionál, amit az bizonyított, hogy a *Matn2*-hiányos egerek májtumor-indukciója-kor nőtt a tumorok száma és mérete, ezáltal alkalmas állatmodellként szolgált gyógyszerjelöltek tesztelésére. A gén izomzatban betöltött szerepét igazolta, hogy *Mátés Lajos*, *Korpos Éva* és *Zvara Ágnes* kísérleteiben enyhe izomdisztrófia alakult ki és késett az izomdifferenciáció *Matn2*-génkiütött egerek izomregenerációja során és *Matn2*-csendesített mioblasztok kultúrában is, mivel a matrilin-2 hiánya csökkentette a Trf3 és a miogén reguláló faktorok expressziós szintjét. A matrilin-2 tehát – valószínűleg a TGF- β jelátviteli úton át – kulcsszerepet játszik annak a szabályozási kaszkádnak a modulálásában, ami elindítja a terminális izomdifferenciációt. Más kutatók is leírták, hogy *Matn2* gén hiányában defektusok mutathatók ki a perifériás idegsérülések regenerációja és a sebgyógyulás során,

aláhúzával ezzel, hogy a matrilin-2 fontos szerepet tölt be a szöveti sérülések helyreállításában.

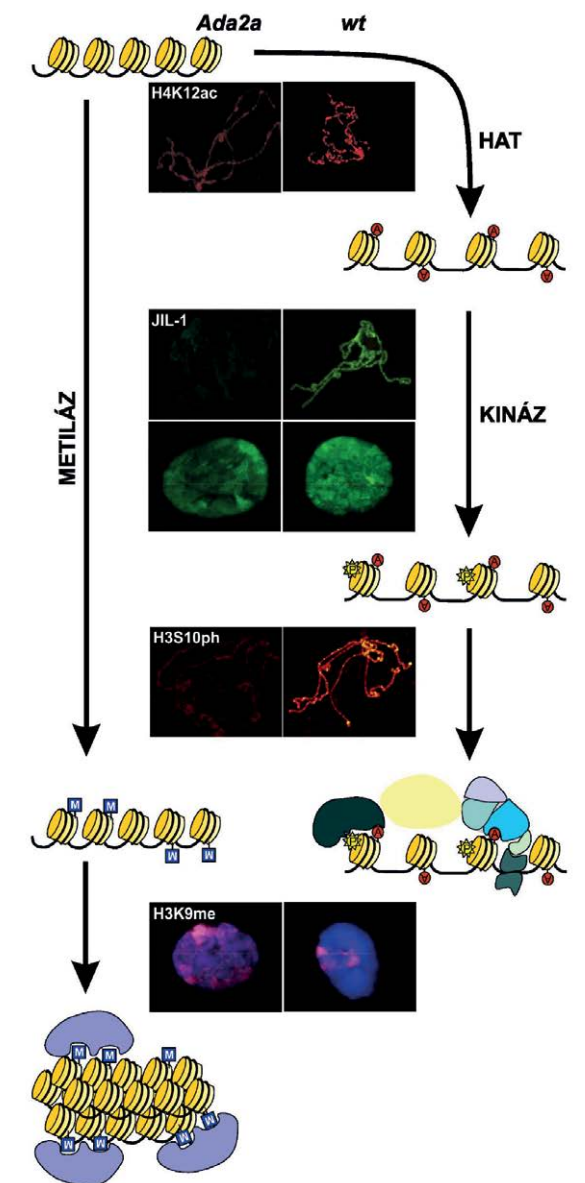
Összefoglalva tehát, új multiadhéziós fehérjéket fedeztünk fel, és igazoltuk szerepüket a porc és más szövetek ECM-szerveződésében, differenciálódásában, regenerációjában és regulációs folyamataik modulálásában. Élveztük a sokoldalú kutatást partnereinkkel, *Hajo Delius* (EMBL) tanítását DNS EM-re, *Módis László* (Debreceni Egyetem) tanítását hisztológiára, a transzgenikus egérkísérleteket *Bösze Zsuzsával* és *Aszódi Attilával*, az agancskutatást *Orosz László* csoportjával (Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet, Gödöllő), a komputer- és ChIP-analízist *Barta Endrével* (MBK, Gödöllő), illetve *Bálint Lászlóval* (Debreceni Egyetem). Hálával tartozunk *Benoit de Crombrughe* és *Veronique Lefebvre* (USA) értékes kísérleti anyagaiért és tanácsaiért. Büszkék vagyunk tehetséges PhD- és ITC- (International Training Course) hallgatóinkra, akik itthon és külföldön egyaránt megállták helyüket. *Barta Endre*, *Korpos Éva*, *Szabó Piroska* és *Mátés Lajos* később is segítettek munkánkat. Köszönjük kitűnő munkatársaink és asszisztenseink (főként *Simon Ferencné* és *Kravjár Ildikó*) lelkes, kitartó és színvonalas munkáját.

KISS IBOLYA, DEÁK FERENC

DNS ÉS FEHÉRJÉK KÖLCSÖNHATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A GÉN MŰKÖDÉS MEGÉRTÉSÉHEZ

A mikor az SZBK falai épültek, a gimnáziumi tananyagban már része volt a genetikai információt hordozó DNS-molekula és a kódszótár, ami – tekintve, hogy az utóbbit alig egy évtizeddel korábban írták le – nem is olyan természetes. Nekem ezek az ismeretek olyan csodálatosnak tűntek, hogy olvasva *Straub F. Brunó* egy cikkét a létrejövő új intézetről az Élet és Tudományban, elhatároztam: DNS-kutató leszek – ott! Ezért jöttem az ország északi részéből a szegedi egyetemre, majd onnan a Biokémiai Intézet Nukleinsav Csoportjába. Akkoriban a csoport elsődleges tudományos célja annak kiderítése volt, hogyan biztosítja a DNS-szerkezet az egyes gének egymástól igen jelentős mértékben eltérő intenzitású transzkripcióját. Ma is ez áll tudományos érdeklődésem fókuszában. A válaszhoz a promoter régiók azonosítása és a szekvenciák RNS-t szintetizáló enzimmel mutatott kapcsolatának jellemzése vezetett el, a *Venetianer Pál* által irányított csoportban. Az *Escherichia coli* baktérium legerősebb promoterei közé tartozó riboszomális RNS-gének transzkripciószabályozóit felhasználtuk idegen fehérjék hatékony előállítására is. Ez – a kor adta sajátosságoknak megfelelően – itthon a cukorbetegeknek szánt inzulin (az USA-ban az AIDS elleni gyógyszerfejlesztést segítő HIV-proteáz) baktériumsejtben történő előállítását jelentette.

A DNS és a fehérjék közötti kapcsolat felderítése – lényegét tekintve – a DNS-szerkezetben rejlő információrétegek feltárását jelenti. A tudomány haladásával ez egyre összetettebb rendszerekben vált vizsgálhatóvá. Munkacsoportomban (Kromatin Csoport) külföldi munkáim folytatásaként leírtuk a retrovírusok (HTLV és BLV) transzkripcióját szabályozó fehérjék hatását, majd a kromatin szerveződése (azaz a DNS és fehérjék tízei közötti kapcsolatok) által meghatározott törvényszerűségeket vizsgáltuk. *Ecetmuslica* (*Drosophila melanogaster*) modell



1. ÁBRA. Az ATAC acetiltranszferáz-komplex működése elősegíti a hisztonok foszforilációját, ami a kromatinszerkezet fellazulásához vezet, és a génműködésnek nyit utat (jobb oldalon). Az ATAC működése hiányában (bal oldalon) a hisztonmetiltranszferáz működése válik meghatározóvá, ami a kromatin génműködést akadályozó összetömörödéséhez vezet. A középső rész vad típusú (wt) és ATAC-mutáns (*Ada2a*) állatok specifikus ellenanyagokkal festett kromoszómáin és sejtmagjain mutatja a létrejött hisztonmódosításokat

használatával a hiszton-acetiltranszferáz komplexek variációinak létét bizonyítottuk és funkcióikat jellemeztük. A SAGA és ATAC komplexek jellemzésével az epigenetikai szabályozás olyan bonyolult lépéseit írtuk le, amely során egy adott hiszton módosítása (acetiláció) egy másik módosulás létrejöttéhez (foszforiláció) vezet, hogy ezáltal a kromatin dekondenzációjára és transzkripcióra nyíljon lehetőség – vagy épp ellenkezőleg, e módosulások elmaradása esetén egy harmadik módosulástípus (metiláció) történik, ami zárt kromatinszerkezetet és transzkripciógátlást okoz (1. ábra). Egy közel-múltbeli munkánkban egy egyed génműködésének kezdetéig nyúltunk vissza: arra adunk magyarázatot, hogyan biztosítja egy specifikus hiszton a gyors kromatinátrendeződések feltételét a muslica egyedi létének kezdetén, amikor az embrió saját genomja aktiválódik.

A DNS-fehérje kapcsolatokról *E. coli*-, retrovírus- és *Drosophila*-rendszerek vizsgálatával szerzett ismereteink természetesen számos együttműködésben, valamint az egyetemi és a posztgraduális képzés különböző lépcsőin is hasznosultak. A valamikori Nukleinsav Csoport munkatársai – legfőképpen *Venetianer Pál* és *Udvardy Andor* – meghatározó szerepet játszottak a molekuláris biológia egyetemi oktatásának elindításában a Szegedi Tudományegyetemen, amiben én magam az erre létrehozott tanszék vezetőjeként vettem részt. Az SZBK fiatal kutatói közül nagyon sokan szereztek meghatározó ismereteket ebben az oktatásban. Közülük sokan – csakúgy, mint a csoportomban fokozatot szerzett fiatal kutatók többsége is – ma az SZBK vagy más neves hazai, illetve külföldi labor eredményes munkatársai.

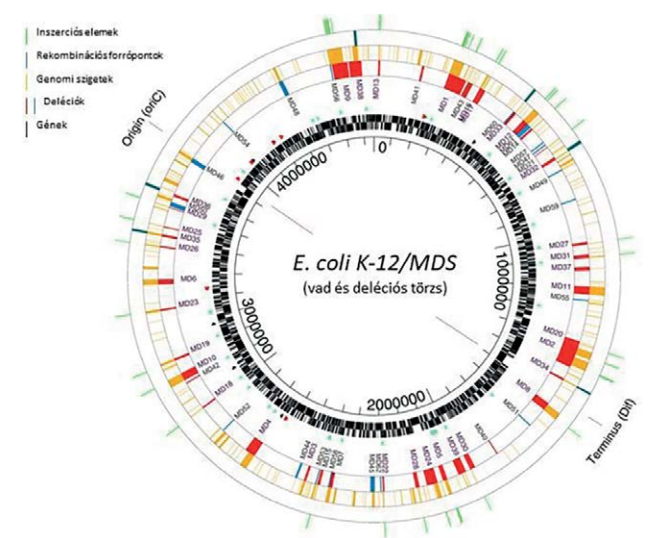
BOROS IMRE

GENOMOK SZABÁS-VARRÁSA

A Genommérnöki Csoport 1995-ben alakult, a Howard Hughes Medical Institute ösztöndíja segítségével. Előzménye a csoportvezető, *Pósfai György* USA-beli (University of Wisconsin) posztdoktori, baktériumgenomokkal kapcsolatos munkája volt. A '90-es évek elején itt *Fred Blattner* csoportja az elsők között fogott bele egy nagyszabású, inspiráló szekvenálási munkába, a mind a kutatásban, mind a biotechnológiai alkalmazásokban nagy jelentőséggel bíró *E. coli* baktérium teljes genomjának meghatározásába. Előretekintve ésszerű feltételezés volt, hogy a kezdeti nehézségek, az „úttörés” után a technikák fejlődésével mikrobiális genomszekvenciák tömege válik majd elérhetővé, ezt követően pedig azok módosítása, tetszés szerinti átszerkesztése lesz a következő kihívás.

Ennek megfelelően a Genommérnöki Csoport célja olyan módszerek kidolgozása volt, amelyekkel a szekvencia ismeretében tervezetten lehet átalakítani az *E. coli* és más baktériumok genomját. A csoport által ehhez kifejlesztett moduláris plazmidokat leíró, valamint a felhasználásukkal végrehajtott, homológ rekombináción alapuló allélcsere bemutató közleményeket (*Journal of Bacteriology*, *Nucleic Acids Research*) húsz év elteltével is idézik. Ugyancsak kidolgozásra került egy, az *E. coli* genomjában tetszőleges, precíz deléciót létrehozni képes, sorozatosan alkalmazható eljárás. Módszereinkkel – kollaborációban – a Blattner-laboratórium genomszekvenálásainak hatékony kivitelezéséhez is hozzájárultunk. A patogén *E. coli* O157H7 és a klónozó gazda DH10B törzs genomját bemutató közlemények (*Nature*, *Journal of Bacteriology*) kiemelten nagy idézettségűek.

A csoport legnagyobb hatású munkája az *E. coli* genetikai áramvonalasítása, és a különféle alkalmazásokhoz történő átalakítása (1. ábra). Összehasonlító genomikai módszerekkel meghatároztuk, mely gének szükségtelenek laboratóriumi és ipari körülmények között, majd ezeket szisztematikusan elimináltuk. Továbbá célzott génkiejtésekkel csökkentettük a sejt mutációs rátáját, korrekciókat végeztünk a metabolizmusán, növeltük a transzformálhatóságát, elimináltuk a genom instabilitását okozó mobilis genetikai



1. ÁBRA. A vad típusú *E. coli* K-12 törzs genomjának térképe a génkészlet egyszerűsítése során eliminált szakaszokkal (Pósfai és mtsai, *Science* 2006;312:1044–1046)

elemeket, valamint rekombináns fehérjék termeléséhez megdupláztuk a ritka tRNS-gének számát. Összességében száznál is több módosítást végeztünk az *E. coli*-genomon. Mutánsparkunk segítségével tisztáztuk a járulékos genom, a mobilis genetikai elemek, valamint a kulcsfontosságú riboszomális operonok genomevolúcióban játszott szerepének egyes kérdéseit.

Az *E. coli* baktériumon végzett genomredukciós munkánk trendet teremtett, azóta számos baktérium-genomon végeztek hasonló átalakítást. A gyakorlati alkalmazás szempontjából törzseink közül a leghasznosabbnak az eredeti, vad törzs génjeinek 14 százalékát nélkülöző és különféle egyéb módosításokat hordozó MDS42 törzs bizonyult. Gyors növekedésű, kis mutációs rátájú, stabil klónozó gazdaként sok laboratóriumban használják. Az univerzális genetikai kód átalakítására irányuló, úttörő munkákban is kiindulási törzsként szolgált.

A csoportban PhD-fokozatot szerzett munkatársak közül *Fehér Tamás* és *Csörgő Bálint* ma csoportvezetők az SZBK-ban.

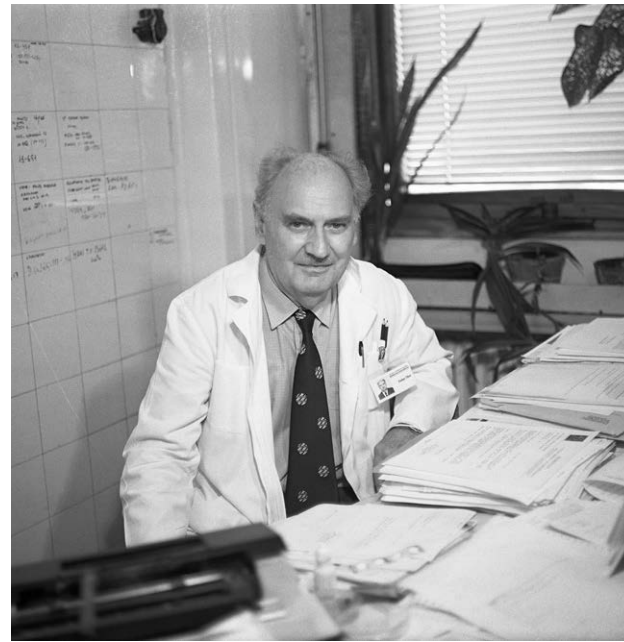
PÓSFAI GYÖRGY

FARKAS TIBOR ÖRÖKSÉGE

Farkas Tibor ott ült a hatodik emeleti izotóp-szárnybéli dolgozószobájában, és szaloncukorral falatozott erős paprikával, amikor 1973-ban vegyészhallgatóként tudományos diákkörösnek jelentkeztem nála az akkortájt felavatott Szegedi Biológiai Központban. Hihetetlen volt a közvetlensége és a szerénysége, különösen az akkori szegedi egyetemről jött diákok számára. Tibor mindennel és majdnem mindenkiel szemben nyitott volt: az őszintén érdeklődőkkel szívesen és határtalan türelemmel osztotta meg a gondolatait. Akárcsak ő maga, okfejtése is játékosan egyszerű és világos volt. Mi, egykori tanítványok (két évvel később a szintén vegyész feleségem, Horváth Ibolya is a csoporthoz csatlakozhatott) kiváltságosnak érezhettük magunkat, hogy vele dolgozhatunk, hiszen egy nagyon eredeti, iskolateremtő kutató elmével hozott össze bennünket a sors. De példaképet kaphattunk tőle emberségből és tisztességből is. Tibor mindig optimista volt! Élete utolsó percéig dolgozott.

Farkas Tibor fő kutatási területe, a sejtmembránok szintjén történő termoadaptáció története az 1950-es évek második felére, a Tihanyi Biológiai Intézetbe nyúlik vissza. A hatvanas évek elején kollégáival leírták, hogy a Balatonban élő alacsonyabb rendű rákok képesek lipidjeik fizikai állapotát (olvadáspontját) hallatlan érzékenységgel hozzáigazítani a környezet változó hőmérsékletéhez. A sors fintora, hogy Michael Sinensky az *E. coli*-val kapcsolatban csak jó tíz évvel később tette közzé hasonló megfigyeléseit, ám a jelenséget őutána és azóta nevezik „homeoviszkozus adaptáció” elvének, amely ma már az élővilág széles körében bizonyított.

Farkas Tibort a '70-es évek elején Straub F. Bruno csoportalapítással bízta meg az SZBK Biokémiai Intézetében. Így indult el a lipid alapú membrán- és stresszkutatás az Szegedi Biológiai Központban. Csoportunk a '70-es évek közepétől tételesen vizsgálta a membránszintű stresszadaptációs folyamatok mi-
benlétét. Tibor szinte megjósolta a klímakatasztrófa eljövételét, a szélsőséges hőmérsékleti viszonyok élő szervezetekre gyakorolt hatásai vizsgálatának elméleti és gyakorlati fontosságát. A növényi protoplasztok



Farkas Tibor (1929–2003)

spinjelölésén alapuló membránfluiditás mérési technika (aminek a kidolgozásában Horváth Ibolyán és rajtam kívül Dudits Dénesnek és a néhai biofizikus Horváth Lászlónak is komoly szerepe volt) akkortájt sokak figyelmét felkeltette. Elsőként bizonyítottuk, hogy csak a nagy hidegadaptációs képességgel bíró búzacsíranövények képesek a sejt felszíni membránjaik fluiditásának adaptív finomszabályozására. Eljárást dolgoztunk ki a növényi membránok összetételének hidegtűrést fokozó módosítására, ami 15 országban kapott szabadalmi oltalmat.

Egy évtizednyi „növényi kalandozás” után Tibor később még visszatért a halakhoz (mi pedig Ibolyával 1986-ban megalapíthattuk a Molekuláris Stresszbiológia Csoportot). A módszeresen válogatott, mérsékelt égövi, arktikus és szubtrópusi szervezetekből származó minták összehasonlító elemzésével Tibor és csoportja (a csoportban készítette diplomamunkáját Karikó Katalin is 1978-tól) bizonyították a homeoviszkozus adaptáció egyetemes érvényességét. Ezek a munkái alapozták meg USA-beli akadémiai (1989), majd később hazai MTA-tagságát (1990).

Az általam nyugdíjazásomig (2021) vezetett Molekuláris Stresszbiológia Csoport máig azt vizsgálja, hogy a hőmérséklet és más stresszhatások miként indítják be a sejtvédekezés mechanizmusait a legkülönbözőbb szervezetekben. Hogyan kapcsolódnak egymáshoz a különféle adaptációs mechanizmusok, miként alakul át „jellé” a hőmérsékleti (illetve egyéb) stressz, amely például módosítja egy meglévő deszaturáz enzim aktivitását vagy parancsot küld a legkülönbözőbb sejtvédő faktorok (pl. az ún. stresszféherjék vagy dajkaféherjék) szintézisére. Összefoglalva: miképpen jön létre a celluláris adaptáció és a rezisztencia.

A Debreceni Egyetemen Joó Ferenc fizikai kémikus barátommal kooperálva, világviszonylatban elsőként vezettünk be egy új módszert, a „sejtmembránok katalitikus hidrogénezését”, amely a legkülönbözőbb sejtes modellek esetében egyaránt hatékonyan alkalmazható, és lehetővé tette a membránlipid-telítettség, illetve -fluiditás *in situ*, *in vivo* programozott módosítását izoterm körülmények között. Bebizonyítottuk, hogy algákban a hidegadaptációban kulcsfontosságú deszaturáz enzimek génjei közvetlenül a membránok rigidizációjának „parancsára” aktiválódnak. Az e megállapítást elsőként megfogalmazó, a PNAS folyóiratban közzétett publikációnkat (1993) a Nature egy „News and Views” rovatbeli közleményben is méltatta (ezekért az eredményeinkért Joó Ferencsel 1998-ban Széchenyi-díjat kaptunk).

A hidrogénezési technika bevezetése a membrán- és stresszbiológiába szinte vég nélküli kutatási lehetőségeket és rendkívül izgalmas témafelvetéseket nyitott számunkra Ibolyával a világban (King's College, London; Curie Egyetem, Párizs; University of Texas, Austin; National Institute for Basic Biology, Okazaki, Japán; University of California, Santa Cruz).

A membránfüggő stresszválaszra irányuló kutatásaink elvezettek az ún. „membrán-termoszenzor” hipotézis megalkotásához.

Az 1986-ban alakult Molekuláris Stresszbiológia Csoport (amelyet két éve már Török Zsolt kollégám vezet) máig sikerrel tanulmányozza a membránok lipidmátrixához köthető stresszérzékelés és -szignalizáció folyamatait, a molekuláris chaperon tulajdonságú stresszféherjék működését, valamint a stresszféherjék, a membránok és a lipidek összehangolt, hálózatos szerepét a stressztűrésben, illetve a legkülönbözőbb betegségekben. Elsőként írtuk le és értelmeztük bizonyos stresszféherjék (esetenként lipidfüggő) membránasszociációját, hangsúlyozva a membránkötött stresszféherjék biofizikai, sejtelettani és klinikai szerepét, illetve fontosságát.

A membránszenzor-hipotézisen alapuló, ún. stresszféherje-koindukciós képességgel bíró gyógyszerjelölt molekulák citoprotektív hatásmechanizmusát feltáró, Nature Medicine-beli közleményünk (1997) a Business Week egy terjedelmes cikkben reagált. A membrán támadáspontú kismolekulákkal máig sikerrel végzett gyógyszerkutatás-fejlesztési munkáink („membránlipid-terápia”) a legkorszerűbb lipidomikai és ultraszenzitív mikroszkópiás technikákra épülnek. A stresszféherje (HSP) alapú gyógyszerkutatás és -fejlesztés mára számos rangos kutatóhely és gyógyszergyár témája lett. Ez irányú munkásságunk fontos részeként hoztuk létre kollégáimmal a LipidArt Kft.-t, amelynek egyik gyógyszerfejlesztése 2018-ban sikeres exittel végződött. Az általunk elsőként leírt HSP-koinduktor hidroxilaminok egyikével (arimoclomol) nemrég sikerrel zárult egy II/III. fázisú humán klinikai kipróbálás Dániában egy ritka betegségben (Niemann-Pick lipidtárolási betegség).

Csoportunk technológiáinak egyik kulcselemét képezi az „egymolekula követésére alkalmas mikroszkópia”. Ez a biológiai membránok mikroheterogén struktúráját is figyelembe venni képes „csúcstechnológia” lehetővé tette az élő sejtek membránjai topológiájának és dinamikájának minden eddiginél részletesebb jellemzését, a patológias membránváltozások hiperfinom tér- és időbeli felismerését. Ez a módszer (mindenekelőtt Török Zsolt és Gombos Imre kollégáim közreműködésével) tágabb értelemben lehetőséget biztosított a legkülönbözőbb membránfüggő jelenségek mélyebb megértéséhez, azok eddig feltáratlan részleteinek tisztázásához.

Az utóbbi évtizedben – elsősorban a tömegspektrometriai fejlesztéseknek köszönhetően – a sejtek és szövetek teljes lipidkészletét, „lipidom”-ját tanulmányozó lipidomika tudományága is robbanásszerű fejlődésnek indult. A lipidek meglepő változatosságának megértéséhez elengedhetetlen a lipidomika integrálása az ún. „omikai” – rendszerszemléletű – irányzatok közé. Csoportunk 2014-től – Magyarországon elsőként – vezette be a lipidomikát, amiben Balogh Gábor és Péter Mária kollégáimnak volt kiemelkedő szerepe. Mérőrendszerünk – egy robotizált chip alapú, komplex mintabeviteli készülékkel kiegészítve – nagy áteresztőképességű, gyors és a legszigorúbb követelményeket is kielégítő lipidomikai vizsgálatokat tesz lehetővé.

Az egymolekula követésére alkalmas mikroszkópia, a lipidomika, valamint a sejt- és molekuláris biológia területén szerzett ismereteink kombinációja csoportunkban új távlatokat nyitott az akár egysejtszintű stresszérzékelés



Molekuláris Stresszbiológia Csoport (2016)

és stressztűrési mechanizmusának megértésében. Külön is hangsúlyoznám itt *Glatz Attila* kollégám szerepét, akinek munkásságának kiemelkedő eredménye a „mikroemlős” *S. pombe* hasadó élesztőmodel bevezetése.

Ugyancsak nagy érték a csoport számára, hogy *Sántha Miklós* nyugdíjba vonulása után *Tóth Melinda* csatlakozott hozzánk, és vezetésével a humán betegségek modellezésére kifejlesztett, genetikailag módosított egértörzseken is vizsgálhatjuk a stresszfehérjék szerepét a legkülönbözőbb krónikus betegségekben.

Végezetül, hogy *Farkas Tibor* örökségére visszagondolva mire is vagyok a legbüszkébb? Mindenekelőtt a nagyszerű kollégáimra (*Horváth Ibolya, Török Zsolt, Glatz Attila, Balogh Gábor, Péter Mária, Tóth Melinda, Gombos Imre, Hunya Ákos* kutatótársaimra, továbbá *Tombác Zsuzsa, Barta Éva, Bogdán Gabi, Zukics Erika* néhai és jelenlegi asszisztensekre), valamint a csoportunkban PhD-fokozatot szerzett és szerte a világban dolgozó fiatalokra, akik nélkül „nem jöhetett volna létre ez a vállalkozás”. Velük egy nagyszerű „csapat” szerveződött, egy közösen jókat beszélgetni, kirándulni szerető baráti társaság.

Straub F. Brunó halálakor – *Farkas Tibor, Venetianer Pál* és az intézet szeniorjainak javaslatára –, 1997-ben létrehoztuk a *Straub Örökség Alapítványt*, aminek azóta is a kuratóriumi elnöke vagyok. Az Alapítvány egyik legsikeresebb és legismertebb kezdeményezése – a Szegedi Tudományegyetem jelentős támogatásával és közreműködésével – a nyaranta szervezett kéthetes, bentlakásos Középiskolás Élettudományi Kutatótábor (KÉK). Az eddig 15 alkalommal megszervezett KÉK táborban (a szervezésért külön köszönet jár *Karcagi Ildikónak*) itthonról és a határainkon túlról több száz középiskolás diák ismerkedhetett meg az SZBK-val, a Szegedi Tudományegyetemmel, a kutatással és persze egymással. Az Alapítvány *Farkas Tibor* halála (2006) óta, az ő emlékére és munkásságának tiszteletére minden évben pályázatot hirdet a *Farkas Tibor-plakett* elnyerésére. A díjat a legjobb lipid- és/vagy membránkutató fiatal kaphatja, aki „munkásságát” a *Straub*-napok keretében előadásban is bemutatja az SZBK hallgatóságának.

VÍGH LÁSZLÓ

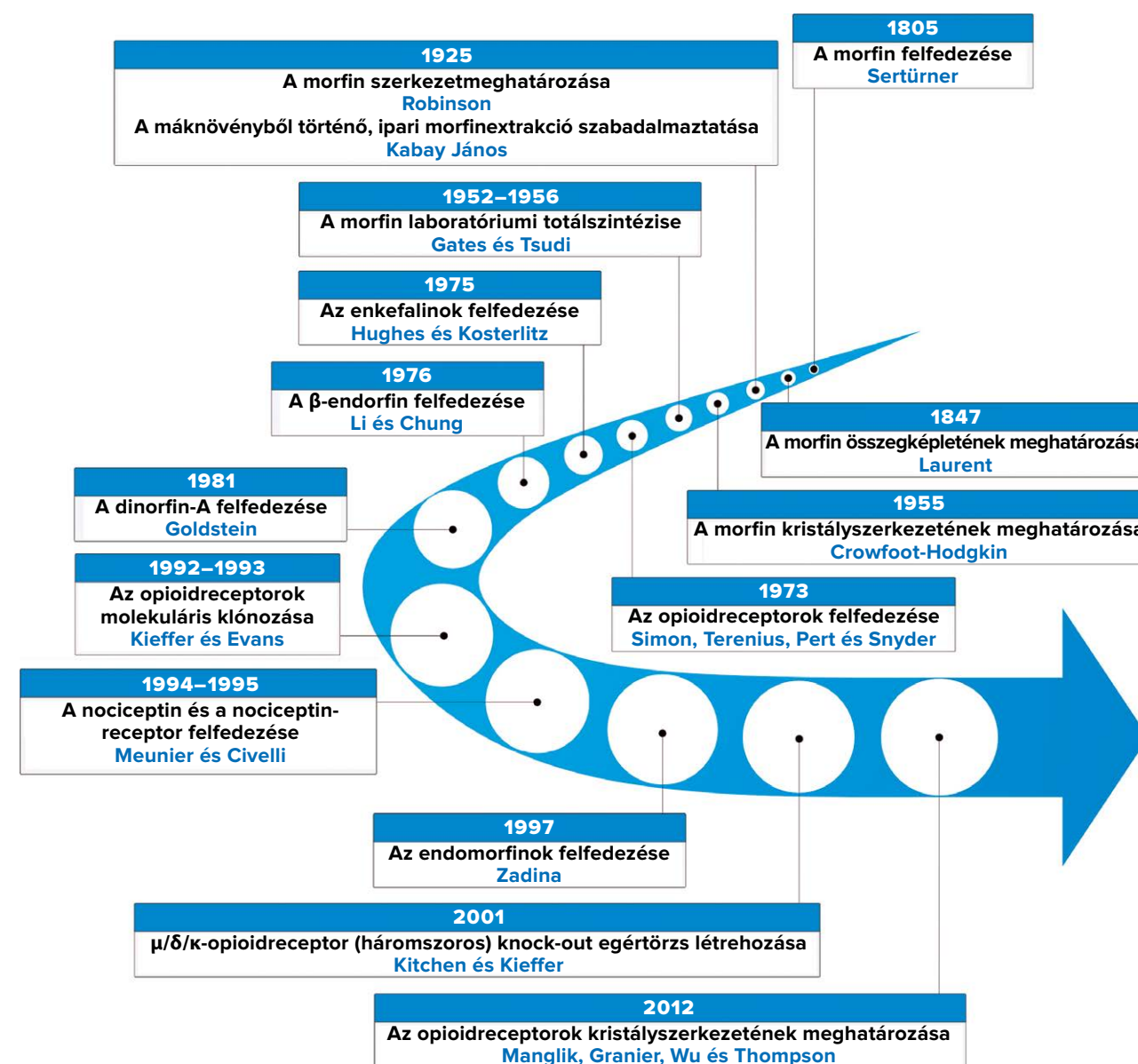
G-FEHÉRJE-KAPCSOLT SEJTMEMBRÁNRECEPTOR-FEHÉRJÉK ÉS KÖLCSÖNHATÓ LIGANDJAİK FARMAKOBIOKÉMIAI KUTATÁSA

Eukarióta élőlényekben a sejtmembránok integráns fehérjéinek egyik legjelentősebb csoportja a heptahelikális szerkezetű G-protein-kapcsolt receptorcsalád (GPCR), amelybe az emberi genomban kódolt fehérjék mintegy 3 százaléka tartozik. A receptorok tudományos vizsgálata egyben a gyógyszerkutatás és -fejlesztés fontos területét is jelenti, mivel a forgalmazott gyógyszerek közel fele közvetve vagy közvetlenül ezeken a fehérjéken keresztül fejti ki hatását. A Biokémiai Intézet laboratóriumaiban évtizedek óta folynak a heterogén opioid- és kannabinoidreceptorok megismerésére és befolyásolhatóságára irányuló kutatások.

Az egyes emberi közösségeket, így a fiatal korosztályt is veszélyeztető kábítószeres hatóanyagok és a szervezetre gyakorolt hatásuk sokfélék. A legismertebb drogok közül az eredetileg a mákfélékben előforduló opiátok és a kendernövényből származó kannabisz hatásait specifikus receptoraik közvetítik. Az ópiumszármazékoknak és a kannabinoidok használatának történelmi múltja és jelene is számottevő. A mákgubóból kivont ópiumalkaloidok közül a morfin a közepes-erős fájdalomcsillapítók, a kodein köhögéscsillapítók, a papaverin mint simaizomgörcsoldó vált hatékony gyógyszerre és ma is szerves része a farmakoterápiának. Az erős és nehezen gyógyítható drogfüggőséget, illetve túladagolás miatt gyakran halált okozó opioidvegyületek közül jelenleg nem elsősorban az illegális utcai heroin, hanem inkább a fájdalomcsillapításra használt szintetikus opiát típusú gyógyszerek (pl. fentanil, tramadol) okozhatják a halált. Az opiátkriszise miatt, ami jelenleg elsősorban az Egyesült Államokat sújtja. A változatos megjelenésű kannabiszdrogok (fű, hasis, marihuána, tetrahidro-kannabinol: THC) jelenkori megítélése ellentmondásos, és országonként is eltéréseket mutat.

Kutatóközpontunk megalakulása időben egybeesett az opioidreceptorok felfedezésével (1. ábra). *Wollemann Mária* professzor asszony akkoriban úgy vélte, hogy a receptor-ligand kölcsönhatások és a transzmembrán jelátviteli folyamatok biokémiájának kutatása perspektivikus lehet a Biokémiai Intézetben. E területen végzett kutatásával az Opioid Receptor Csoport négy munkatársa szerezte meg a tudományok doktora, illetve az MTA doktora címet: *Borsodi Anna, Maderspach Katalin, Szűcs Mária és Benyhe Sándor*. Egyetemi doktori, illetve PhD-fokozatot 32 kutató kapott az opioidlaboratóriumban végzett és publikált munkái nyomán, köztük grúz, bolgár, kazah, török, pakisztáni, iráni, lengyel, román és ausztrál kollégák is. Többen közülük eredményes tudományos tevékenységet mutattak a múltban, illetve sikeresen alkotnak napjainkban is: *Simon József, Mariana Belcheva, Abdulkali Agbas, Mariana Spetea, Husein Avni Öktem, Monory Krisztina, Varga Éva, Dauren Biyashev, Márki Árpád, Fábrián Gabriella, Szatmári Ildikó, Ioja Enikő, Özge Gündüz, Resat Cinar, Páldy Eszter, Engin Bojnik, Tóth Fanni, Zádor Ferenc és Szűcs Edina*. Jelenleg *Ötvös Ferenc* tudományos főmunkatárs dolgozik a csoport utolsó mohikánjaként: múltbeli és jelenlegi kutatási területei az opioidligandok tervezése, kémiai szintézise és radiojelölése, a receptorfehérjék molekulamodellzése, továbbá a ligandkötődés (dokkolás) számítógépes szimulációja.

Az Opioid Receptor Csoport munkatársai az SZBK Radioizotópos Munkacsoportjával szoros együttműködésben vizsgálták a négyféle opioidreceptor-típus ligandkötő sajátosságait, javarészből intézeti fejlesztésű, nagy moláris aktivitású, tríciumjelzett, szelektív radioligandokkal (pl. [³H]naloxonnal, [³H]dihidromorfinnal, [³H]oximorfonnal), és számos eredeti triciált opioidpeptid-analóggal az enkefalinoktól a dinorfinokon át az endomorfintetrapeptidekig.



1. ÁBRA. A morfin- és az opioidreceptor-kutatás jelentősebb mérföldkövei (Zádor Ferenc)

A csoportnak sikerült a sejtmembránok lipid kettősrétegébe integrálódott opiátreceptor-fehérjéket kíméletes detergenskezelésekkel kivonni, majd az így szolubilizált protein megőrzött ligandkötő képességét és regulációs tulajdonságait jellemezni. Hasonlóan fontos eredménye a csoportnak, hogy elsőként sikerült a digitoninextrakcióval szolubilizált kappa-opioidreceptorok (KOPr) homogenitáshoz történő tisztítása szefaróz gélhordozóhoz kötött, dinorfin₍₁₋₁₁₎ aktív komponensű affinitáskromatográfia és gélelektroforézis alkalmazásával, kecskebeka (*Rana esculenta*) agyszövetéből.

A receptorok biokémiai jellemzése és tisztítása együtt haladt számos nagy szelektivitású, morfinvázas

és oligopeptid szerkezetű, eredeti opioidligand kifejlesztésével, amelyek közül az ígéretesebb molekulák radiojelzése is megtörtént az Izotóp Laboratóriumban. Az új, eredeti fejlesztésű, receptorspecifikus ligandok között található a receptorokhoz irreverzibilisen – akár kovalens kölcsönhatások révén – kapcsolódó, úgynevezett affinitásjelölő analógok (ilyenek pl. a D-Ala²-D-Leu⁵-enkefalin-klórmetilketon, az oximorfazon, a morfinreceptorra specifikus Tyr-D-Ala-Gly-(Me)₃Phe-klórmetilketon), továbbá a melfalánszubsztitúciót tartalmazó opioid-oligopeptid-származékok.

A természetes opioidpeptid-szekvenciák közül a csoport részletesen kutatta a proenkefalin- (PENK-)

prekurzor-poliipeptid C-terminálisán található heptapeptid-enkefalin kópiát, a Met⁵-enkefalin-Arg⁶-Phe⁷ (MERF) ligandot, továbbá a még mindig vitatott eredetű endomorfinek-tetrapeptideket és azok változatos szintetikus analógjait is.

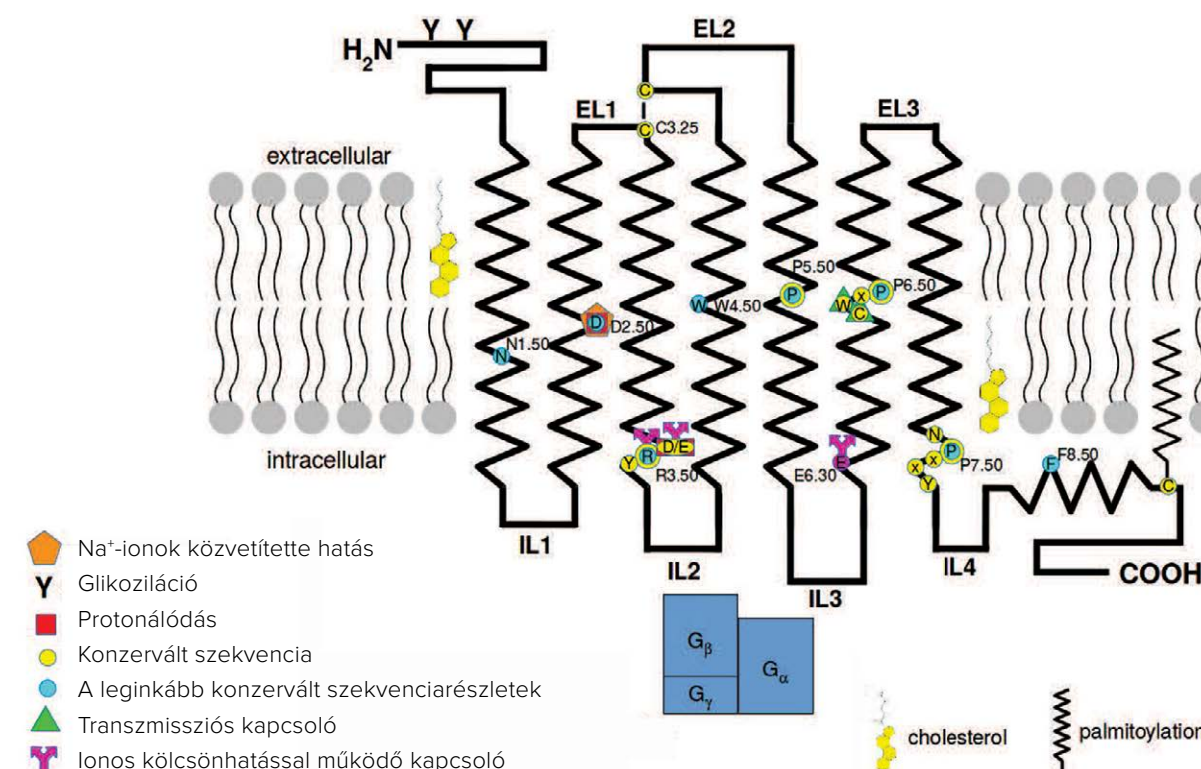
Kombinatorikus peptidkötőanyagokból azonosított szintetikus oligopeptid-analógok szisztematikus receptorkötődési és szignáltranszdukciós vizsgálatainak eredményeként a csoport egyebek között nociceptinreceptor- (NOPr-) antagonistá N-acetilált hexapeptideket, inverz agonista MOP-receptor-tetrapeptideket, valamint parciális agonista NOPr-specifikus ligandanalógokat fejlesztett ki és jellemzett részletesen biokémiai és farmakológiai módszerekkel.

A csoport bioinformatikai háttérű, összehasonlító evolúciós adatelemzéseket is végzett az opioidprekurzor-poliipeptid aminosav-szekvenciái területén, amelyek eredményeként számos, filogenetikai szempontból különleges opioidpeptid-variánst azonosítottunk különféle gerinces állatfajokban. Ezen munkáink közül a laboratóriumi vizsgálatokban kiterjedten használt afrikai karmos béka (*Xenopus laevis*) cDNS-vizsgálatai révén azonosított és klónozott

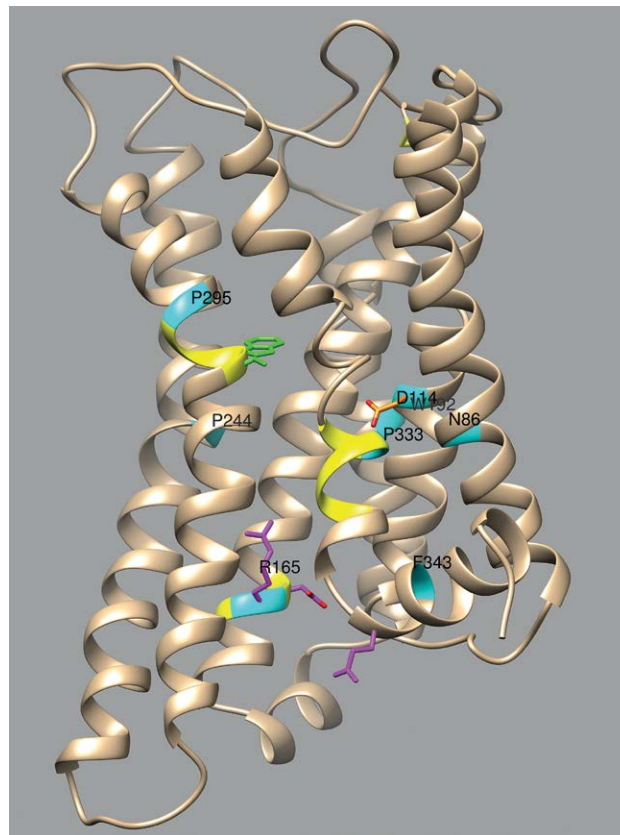
xendorfin peptidok felfedezése, azok kémiai szintézise és részletes receptor-biokémiai („receptorológiai”) jellemzése emelkedik ki.

Török és mexikói együttműködések eredményeként a csoport jelentős ismereteket gyűjtött az opioidreceptorok epilepsziában betöltött szerepéről, egyrészt a görcskeltő kainsavval végzett indukció alkalmazásával, állatmodellekben, másrészt epilepsziás betegek *post mortem* agyi mintáinak kísérletes vizsgálatai révén. Lengyel, olasz és hazai kooperációs kutatásaink során jellemeztük az opioidreceptorok alapvető szerepét a neuropátiás fájdalmak egér-, illetve patkánymodelljeiben.

A csoport kifejlesztett kettős támadáspontú hibrid – más néven bivalens – ligandokat is, amelyek közül a N/OFQ-RYYRIK hibrid peptid és a kannabinoid rimonabant/opioid peptid hibrid molekula a legjelentősebbek. Az opioidreceptor-laboratórium érdeklődése a legutóbbi évtizedben a CB1 és CB2 típusú kannabinoidreceptorok kutatása irányába is elmozdult. A csoport kutatói közel húsz cikket publikáltak ebben a témában. Ezek a tanulmányok is szorosan kapcsolódnak a humán betegségek biológiai



2. ÁBRA. Megőrzött szerkezeti jellemzők a GPCR fehérjék szupercsaládjában: sematikus ábrázolás (Ötvös Ferenc)



3. ÁBRA. A morfin receptorának (μ -receptor, MOPr) 3D modellje (Ötvös Ferenc)

hátterének vizsgálatához, köztük például a migrén, a depresszió, a szkizofrénia patofiziológiájának jobb megértéséhez.

A Szegedi Tudományegyetem Neurológiai Klinikájával együttműködésben a csoport bekapcsolódott a triptofán esszenciális aminosav metabolizmusának – ez az úgynevezett kinurenin útvonal – tanulmányozásába, amely során az opioidreceptor-kutató laboratórium elsősorban a kannabinoidreceptorok és az endokannabinoid rendszer komponenseinek szerepét vizsgálja. Olasz partnerekkel kooperációban felfedeztük, hogy léteznek olyan természetes peptidmolekulák, amelyek kinurénsav-motívumokat tartalmaznak, ugyanakkor számottevő opioidreceptor-agonista sajátságot is magukban hordoznak.

A kutatóközpont alapításának és indulásának ötvenedik évfordulója évében az opioidreceptor-laboratórium kísérletes munkája sajnos befejeződött, a csoport maradványának jelenlegi munkája számítógépes modellezésre korlátozódik (2. és 3. ábra), amelyben két PhD-hallgató vesz részt témavezetőjük irányításával.

BENYHE SÁNDOR

SZINTETIKUS ÉS RENDSZERBIOLÓGIA, GÉPI TANULÁSSAL TÁMOGATOTT EGYSEJTANALÍZIS

Az SZBK Biokémiai Intézete a kétezres években fontos profilszélesítésen ment át, látókörbé emelve a szintetikus biológiát, az evolúciobiológiát és a rendszerbiológiát is. A csoportok által művelt témák egy része ma is besorolható a klasszikus biokémia területére, úgymint DNS-fehérje kölcsönhatások vagy receptor-ligand interakciók vizsgálata, a legnagyobb húzóerőt azonban a rendszerszintű, nagy áteresztőképességű tesztek, illetve a számítógépes mélytanulást alkalmazó témák fejtik ki. A Szintetikus és Rendszerbiológiai Egység csoportjainak érdeme elvitathatatlan abban, hogy az utóbbi évtizedben a Biokémiai Intézet a Központ legdinamikusabb fejlődést produkáló intézetévé válhatott. Az Intézet vezető szerepe publikációs teljesítményben, kutatói létszámban és az elnyert pályázati támogatások összegében is tetten érhető. A Biokémiai Intézet Szintetikus és Rendszerbiológiai Egysége alapvetően három nagy területre – az evolúciobiológiára, a rendszerimmunológiára és a mesterséges intelligenciával támogatott, fejlett mikroszkópiát alkalmazó egysejttanalízisre – fókuszál.

EVOLÚCIÓBIOLÓGIA

A géntérképezési eljárások automatizálásának és az internetes adatbázisok megjelenésének köszönhetően hatalmas mennyiségű molekuláris információ vált elérhetővé a biológusok számára. Különösen sokat köszönhet e tudományos forradalomnak az evolúciobiológia, hiszen a molekuláris adatok felhasználásával ma már teljes genomok elemzésére és összehasonlítására is lehetőség nyílik. Ezzel mélyebb betekintést nyerhetünk olyan klasszikus problémákba, mint az adaptív és a neutrális evolúció viszonya vagy az új gének születése. Az evolúciós mintázatok vizsgálata a genetikai elemek funkciójáról is felvilágosítást adhat.

A Lendület Kísérleti Evolúciobiológiai Csoport Pál Csaba vezetésével az evolúciós folyamatok megértésén

dolgozik a laboratóriumi evolúció, a számítógépes rendszerbiológia és a genommérnökség eszközeivel. A genom jellegzetességeinek evolúciós megértéséhez nélkülözhetetlen a génműködés formális leírása és általánosságban a genotípus-fenotípus összefüggés realisztikus modellezése. Ezen igény kielégítését szolgálhatja a rendszerbiológiai módszerek bevezetése az evolúciobiológia tudományterületére. Pál Csaba laboratóriumában négy fő kutatási irány nevesíthető: evolúciós genommérnökség, az élesztőevolúció rendszerbiológiai vizsgálata, evolúciós gyógyszerkölcsönhatások feltérképezése, valamint antimikrobiális rezisztomkutatás (1. ábra).

A Kintses Bálint vezette Transzlációs Mikrobiológia Laboratórium kiemelt érdeklődési területe a baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának kialakulása. Ma már széles körben elfogadott, hogy a bakteriális genomok között gyakori a gének „utazása”, azaz a horizontális génátvitel. Mivel ez a mechanizmus döntő szerepet játszik a rezisztenciagének terjedésében, e baktériumevolúciós folyamatok laboratóriumi modellezésével előre jelezhető a klinikumban alkalmazott, sőt a fejlesztés alatt álló új antibiotikumokkal szembeni rezisztencia megjelenésének valószínűsége. Napjainkban, amikor a legnagyobb globális járványügyi problémát az antibiotikum-rezisztens baktériumok okozta infekciók jelentik, e kutatási terület komoly gyakorlati jelentőséggel bír. Hasonlóan fontos kutatási irány az antibiotikumok legígéretesebb alternatívájaként számon tartott bakteriofág-terápia, azaz a baktériumokat fertőző vírusok gyógyászati alkalmazásának előmozdítása a járványdinamikai elemzés, a teljes genomszekvenálás és a bioinformatikai modellezés ötvözésére épülő fágbank létrehozásával.

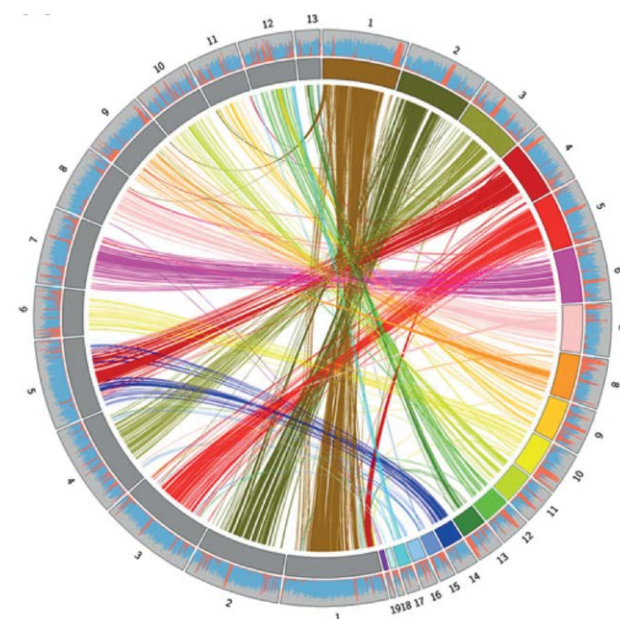
Papp Balázs Lendület Számítógépes Rendszerbiológiai Csoportja a molekuláris hálózatok és genomok evolúcióját vizsgálja számítógépes és nagyléptékű kísérletes módszerek ötvözésével. A fő kutatási irányok

egyike az anyagcsere evolúciójának jobb megismerése két alapvető kérdéskör vizsgálata által. Nevezetesen: hogyan jönnek létre új anyagcsereutak, és milyen általános elvek mentén változnak a metabolitok koncentrációi az evolúció során? Az uralkodó nézet szerint új enzimelekciók a meglévő enzimek mellékreakcióiból alakulnak ki. A kutatócsoport a teljes anyagcserehálózat szintjén vizsgálja, hogy a mellékreakciók hogyan képesek hozzájárulni új tápanyag-molekulák lebontásához és iparilag fontos vegyületek termeléséhez. Egy teljesen új kutatási irányt képvisel a különböző fajok metabolomjának, azaz a metabolitszintek összességének az összehasonlítása. A csoport célja, hogy a metabolitok evolúciós vizsgálatával következtessen arra, vajon az emberi szervezetben mely metabolitok járulnak leginkább hozzá az egészséges anyagcsere-működéshez. Az ilyen metabolitok diagnosztikai jelentősége kiemelkedő lehet. Ehhez témájában szorosan kapcsolódik a *Fehér Tamás* vezette Bakteriális Sejtélettan és Optimalizáció Laborban folyó anyagcsere-mérnöki génszerkesztés. Az anyagcsere-mérnökség általában élő sejtek anyagcsere-hálózatának átprogramozását jelenti, kijelölt vegyületek termelése, lebontása vagy átalakítása céljából. A csoport leginkább olyan új genetikai módszerek kidolgozására törekszik, amelyekkel egyszerűsíthetők az anyagcsere-mérnökség kísérletes lépései. Kutatásaik a munkafolyamat több lépését is célozzák, köztük az exogén

gének módosítását, a gének és operonok klónozását, a génexpresszió-szabályozást, a diverzitásnövelést, a szelekciót, a szűrést és a genetikai változékonyság modulációját. Emellett a csoport olyan molekuláris genetikai eszközöket is fejleszt és használ, amelyekkel jobban megismerhetők a mikrobiális sejtek, és precíz manipulációjuk is valósággá válik. Ez utóbbi célja a biotechnológia és a szintetikus biológia területén hasznosítható baktériumtörzsek kifejlesztése.

Lázár Viktória Antibiotikum Hatások Rendszerbiológiája Kutatócsoportja szintén az antibiotikum-rezisztencia elleni küzdelem előmozdításán dolgozik. Céljuk olyan gyógyszer-kombinációk azonosítása, amelyek az antibiotikum-rezisztenciát kialakító gének közvetlen költségét kihasználva nagyságrendekkel hatékonyabban pusztítják a rezisztens kórokozókat, mint a bél mikroflórájának tagjait. Emellett olyan gyógyszer-kombinációk kialakításával is kísérleteznek, amelyek akár az antibiotikum-rezisztencia visszafordítására is alkalmasak lehetnek.

A *Nagy G. László* által vezetett Lendület Gomba Genomika és Evolúció Csoport érdeklődésének középpontjában a genomevolúció általános szabályszerűségei, a komplexitás időbeli változása és a gombák egyedfejlődése, valamint ezek biotechnológiai alkalmazásai állnak. A gombák a modern biotechnológiában legáltalánosabban használt mikrobák, amelyekben az évszázadra visszatekintő kutatás el-



2. ÁBRA. Az *Agaricus bisporus* (kétspórás „termesztett” csiperke) genomját grafikusán ábrázoló circos plot. A Gomba Genomika és Evolúció Kutatócsoport tagjai is részesei voltak annak a kezdeményezésnek, amely során a csiperkefajok genomját első alkalommal szekvenálták, valamint annotálták a növényi sejtfa lebontásáért felelős enzimeket kódoló génjeit (Morin és mtsai, *PNAS* 109:17501)

lenére hatalmas kiaknázatlan potenciál rejlik. Kutatásaik során a gombák morfogenezisést és a komplex növényi poliszacharidokat (pl. lignocellulóz) bontó enzimeiket szabályozó regulációs hálózatokat térképezik, modern -omikai, genetikai, filogenetikai és bioinformatikai módszereket ötvözve. Céljuk, hogy megértsék a gombák soksejtű növekedésének evolúciós

eredetét, azonosítsák az abban szerepet játszó géneket, illetve a nem génjellegű genomi régiókat. Az így kapott tudás jelentős újításokat hozhat a bioüzemanyaggyártásban és a gomba-biotechnológiában (2. ábra).

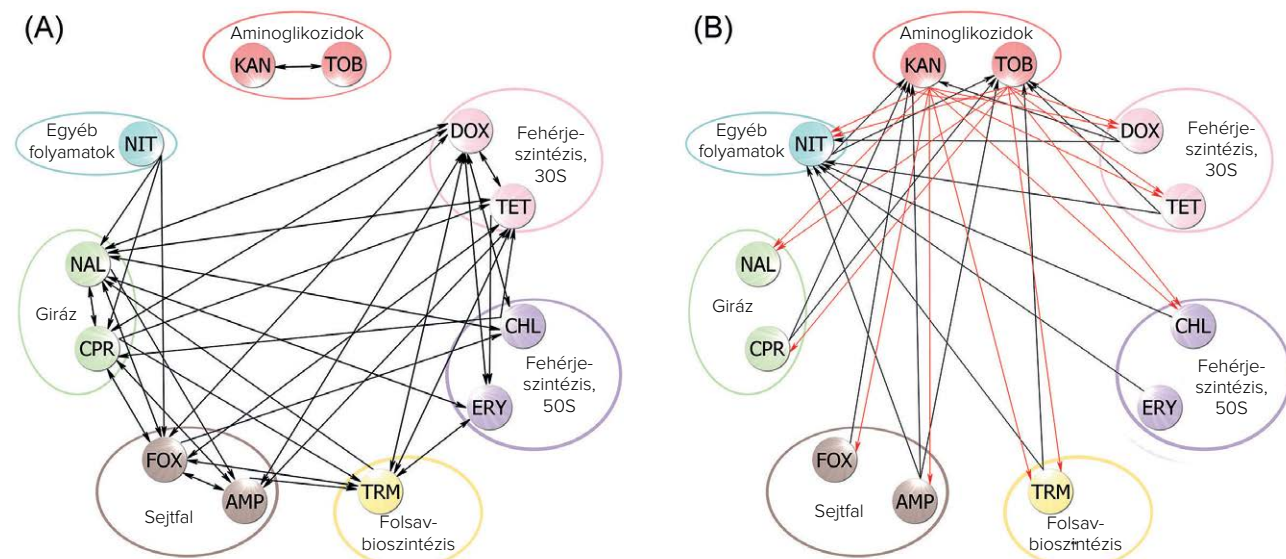
RENDSZERIMMUNOLÓGIA

A *Manczinger Máté* által vezetett Rendszerimmunológiai Kutatócsoport célja, hogy feltárja az adaptív immunfelismerés általános törvényszerűségeit, és ezáltal hozzájáruljon ahhoz, hogy jobban megérthessük a kórokozók és a tumorokkal szemben kialakuló immunfolyamatokat. A csoport kiemelten fókuszál a humán leukocita antigén- (HLA-) molekulákra, és annak megértésére, hogy az egyes HLA-variánsok milyen szerepet játszanak egy-egy betegség kialakulásában, illetve hogyan csökkentik egy-egy betegség kialakulásának az esélyét. Vizsgálják továbbá a peptidek immunogenitását befolyásoló tényezőket, a tumorelles immunitást és a neoantigének szerepét, valamint a T-sejtek pozitív szelekcióját és ennek hatását az adaptív immunfelismerésre.

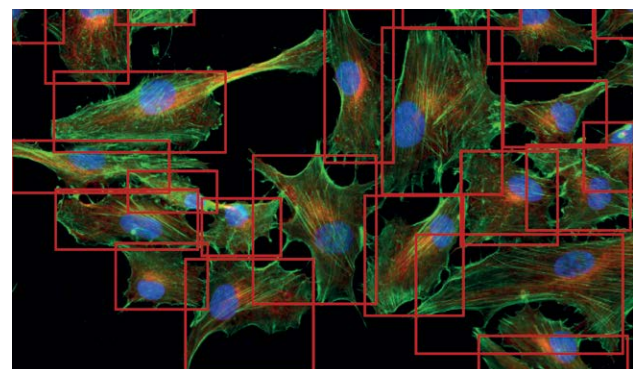
MIKROSKÓPOS SEJTVIZSGÁLAT, EGYEDI SEJTEK JELLEMZÉSE

A fent bemutatott kutatásokhoz elengedhetetlen, hogy képesek legyünk nagyszámú sejt (bakteriális, állati vagy emberi sejtek) gyors és pontos mikroszkópos vizsgálatára. A kutatás léptékét nagymértékben növelhetjük, ha a rendkívül nagy számú mikroszkópos kép kiértékelését automatizáljuk. A Lendület Mikroszkópos Képfeldolgozó és Gépi Tanulási Csoport *Horváth Péter* vezetésével olyan egyedülálló mikroszkópos rendszereket és új típusú, mélytanuláson (deep learning) alapuló képanalízis-technikákat fejleszt, amelyek nemcsak az itt folyó kutatások kapacitását és pontosságát növelik, hanem az élő szövetmintában lévő sejtek és a sejten belüli struktúrák azonosítását és nyomon követését, valamint a különböző sejtípusok robotizált kinyerését is lehetővé teszik, egy-egy izolált sejt részletes biokémiai vizsgálata céljából. Az így kapott eredmények a különféle betegségek kóreltánának jobb megértése mellett a személyre szabott orvoslásban is hasznosíthatóak (3. ábra).

FEHÉR TAMÁS, HORVÁTH PÉTER, KINTSES BÁLINT, LÁZÁR VIKTÓRIA, MANCZINGER MÁTÉ, NAGY G. LÁSZLÓ, PÁL CSABA, PAPP BALÁZS



1. ÁBRA. 12 vizsgált antibiotikum keresztrezisztencia (A) és kollaterális szenzitivitás (B) hálózata. Minden nyíl egy-egy keresztrezisztenciát (A) vagy kollaterális szenzitivitást (B) jelöl, ahol a nyíl kezdőpontja az adott törzs evolúciója során alkalmazott antibiotikum-szelekciót jelöli, a nyíl végpontja pedig azt az antibiotikumot, amelyikkel szemben ennek során rezisztencia (A) vagy fokozott érzékenység (B) alakult ki (Lázár és mtsai, *Nat. Comm.* 5:4352; Lázár és mtsai, *Mol. Syst. Biol.* 9:700)



3. ÁBRA. Humán tumoros sejtek automatikus detektálása mesterséges intelligencia felhasználásával. Mélytanuló algoritmus segítségével képesek vagyunk egysejtszinten detektálni és szegmentálni humán tumoros sejteket, majd morfológiai és intenzitásbeli tulajdonságok alapján osztályozhatjuk az egyes sejteket

GENETIKAI INTÉZET

6726 SZEGED, TEMESVÁRI KRT. 62.
6701 SZEGED, PF. 521.

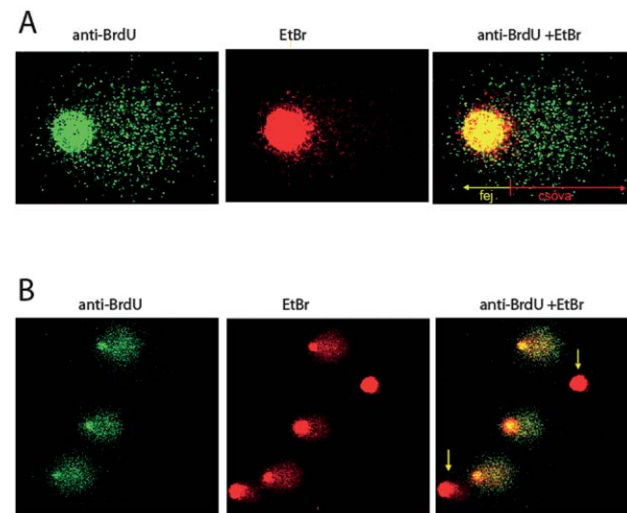


SEJTGENETIKA, DNS-HIBA-JAVÍTÁS

Az 1960-as évek végén nagy tudományos szenzációt jelentett, amikor *Henry Harris* és *Boris Ephrussi* kutatócsoportjai egymástól függetlenül sikeresen állítottak elő osztódó, életképes sejthibrideket, két különböző fajból származó, *in vitro* tenyésztett emlőssejtből, inaktivált Sendai-vírus segítségével. Máshol, *Puck* és *Evans* laborjában izolálták az első, auxotróf emlőssejteket, ami a sejthibridizációval kombinálva megnyitotta az utat a humán kromoszómaterképezés előtt. *Henry Harris* és a magyar származású *George Klein* a sejthibridek segítségével bizonyította a karcinogenezisben jelentős szerepet játszó tumorszupresszorok létét, majd a szomatikus sejtgenetika vezetett a karcinogenezisben meghatározó szerepet betöltő három géncsalád, a szupresszorok, az onkogének és a DNS-javítás géneinek felfedezéséhez és molekuláris jellemzésükhöz.

Az SZBK alapító atyái nem véletlenül találták fontosnak, hogy az ezen a területen akkor még hiányos hazai szomatikussejt-genetikai kutatások a szegedi kutatóintézetben is elinduljanak. A Genetikai Intézetben a növényi szomatikussejt-kutatást *Dudits Dénes* és *Maliga Pál* indította el, az emlőssejt-genetikai labort pedig *Raskó István* vezette. A Raskó-csoport kezdetben a sejthibridek kromoszómavesztését vizsgálta és gének replikációs idejének meghatározását végezte, majd *Burg Kornél* és *Raskó István* cambridge-i tanulmányútja után a DNS-javítás és a sejt differenciálódás jellegzetességeit kutatta, differenciálódásra képes F9 teratokarcinóma-sejteken. A differenciálódás hormonális vonatkozásai terén a *Venetiáner Anikó* által vezetett csoport ért el komoly sikereket.

Hadlaczkó Gyula kutatásainak eredményeként nemzetközi viszonylatban is az elsők között sikerült centromér alapú mesterséges kromoszómát előállítani. Sikereik nyomán kanadai cég alakult, és az SZBK nemzetközi szabadalmi bevételekhez jutott. Kutatásai tudományos részletei az SZBK 40 éves kötetében olvashatók (116–122. oldal). *Hadlaczkó Gyula* – számos tudományos elismerése mellett –



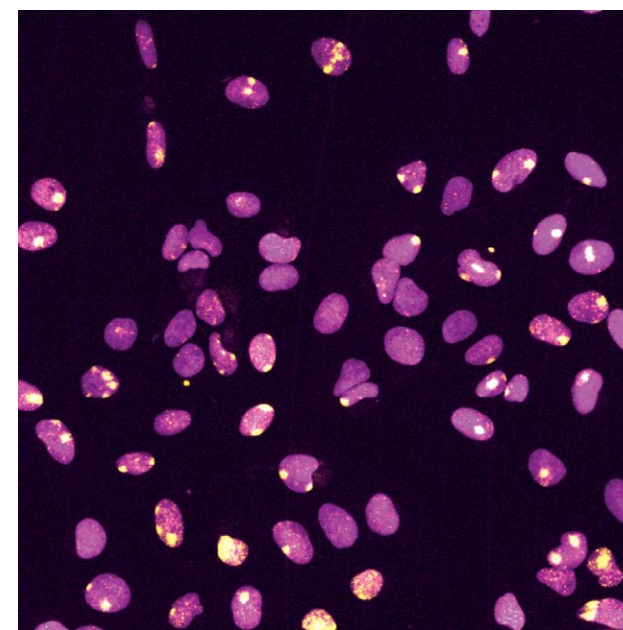
1. ÁBRA. Humán kolorektális karcinóma eredetű HCT116 sejtek UV-C-besugárzás utáni alkalikus BrdU comet assay vizsgálata. Az S-fázisú sejtek töredezett DNS-ből álló csővéja BrdU jelöléssel meghatározható (zöld sejtek). Etidium-bromiddal festjük a minta összes sejtjét (piros). Az egymásra illesztett, kettősen festett képeken sárga színnel jelennek meg az S-fázisú sejtek; a nyílal jelölt, csak pirosan festődő sejtek a sejtciklus S-fázison kívüli szakaszában vannak. A sejteket 63x-os (A) és 20x-os (B) objektívvel fotóztuk

ezért a felfedezéséért Széchenyi-díjban részesült. Tragikus halála miatt ez a produktív kutatási terület a Genetikai Intézetben megszűnt.

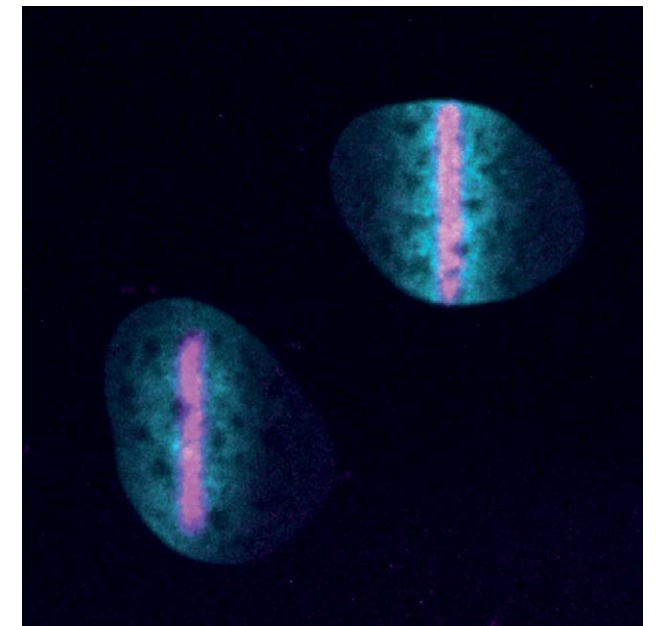
A DNS-javítás kutatásának, valamint a sejt differenciálódás vizsgálatában egyedülálló lehetőségeket biztosító őssejt-technológia alkalmazásának nagy lendületet adott a Raskó István hívására külföldről haza- és visszacsábított *Haracska Lajos*, *Unk Ildikó* és *Pirity Melinda*, akik jelenleg is a Genetikai Intézetben, a Genom Instabilitás és Karcinogenezis Témacsoport keretein belül tevékenykednek. A témacsoport a genomszintű változások kialakulását, illetve a DNS-hiba-javításért felelős rendszerek működését vizsgálja. Később az Intézethez további kutatócsoportok csatlakoztak *Mátés Lajos*, *Burkovics Péter* és *Timinszky Gyula* vezetésével. Ennek megfelelően a Genom Instabilitás és Karcinogenezis Témacsoport több kutatócsoportra tagolódik.

MUTAGENEZIS ÉS KARCINOGENEZIS KUTATÓCSOPORT

A *Haracska Lajos* vezette Mutagenesis és Karcinogenesis Kutatócsoport fő kutatási irányvonala a DNS-hiba-javításban részt vevő mechanizmusok tanulmányozása (1. ábra). A klinikai kutatásokban vizsgált tumormintákban számos esetben mutatták ki a DNS-hiba-javító gének mutációit, rávilágítva a DNS-hiba-javítás és a daganatok kialakulásának szoros kapcsolatára. A csoport számos új, a DNS-hiba-javításban és a genomstabilitás fenntartásában szerepet játszó gént azonosított – köztük például a humán *Ape2*, *SHPRH*, *HLTF* és *SPARTAN* géneket –, amelyekről kiderült, hogy a daganatok kialakulásának hátterében álló mutagenesis sebességét meghatározó molekuláris folyamatok kulcsszereplői. A kutatócsoport úttörő szerepet vállalt a tumorevolúció és a sejtheterogenitás kutatásához szükséges molekuláris diagnosztikai eszköztár kifejlesztésében, lehetővé téve az esetleges tumorképződésre hajlamosító, hordozott mutációk azonosítását, illetve a már kialakult daganatok molekuláris hátterének feltérképezését diagnosztikai és személyre szabott terápiás céllal. A csoport – elsősorban új generációs DNS-szekvenálási technikákra építve – kidolgozta a mutációk sejt kultúrákban és különféle szövettípusokban történő vizsgálatát, egészen az egyedi sejtek szintjéig. Vizsgálják számos tumorszupresszor gén és onkogén (pl. a *BRCA1/2*



2. ÁBRA. A PARP1 enzim (zöld) a lézerindukált DNS-károsodás helyén poli-ADP-ribózt (piros) képez



3. ÁBRA. Mikropórusokon keresztül ultraibolya (UV-) fénnel besugárzott sejtekben a károsodott DNS helyén poli-ADP-ribóz (zöld) képződik a sejtmagokban (piros)

gének) mutációinak hatását a daganatok kialakulására, valamint fehérje-fehérje interakciók olyan inhibitorait kutatják, amelyek a DNS-hiba-javítás egyes útvonalainak gátlásával megakadályozhatják a daganatok progresszióját és gyógyszerrezisztens metasztázisok kialakulását.

LENDÜLET DNS KÁROSODÁS ÉS SEJTMAGI DINAMIKA KUTATÓCSOPORT

A Lendület DNS Károsodás és Sejtmagi Dinamika Kutatócsoport 2017-ben indult *Timinszky Gyula* vezetésével. A kutatócsoport fókuszában az ADP-riboziláció mint poszttranszlációs módosítás áll, ami szabályozhatja a fehérjék aktivitását, más fehérjékkel való kapcsolódását, sejtben belüli lokalizációját (2. ábra). A legintenzívebb ADP-riboziláció a DNS-károsodás során detektálható: a poli(ADP-ribóz)-polimeráz-1 (PARP1) a DNS-szálltöréseket felismerve aktiválódik, önmagát és más fehérjéket ADP-ribozilál, és ezzel jelet ad a DNS-hiba-javító útvonalak elindításához (3. ábra). Emellett az ADP-riboziláció számos más folyamatban is részt vesz a sejtek életében: befolyásolja a sejtek osztódását, túlélését vagy épp ellenkezőleg, a sejtciklusból való kilépését, apoptózist. Bizonyos génmutációt hordozó daganatok kiemelten érzékenyek a PARP1-gátló szerekre, ezek esetében klinikai alkalmazásuk jóváhagyása megtörtént. A munkacsoport

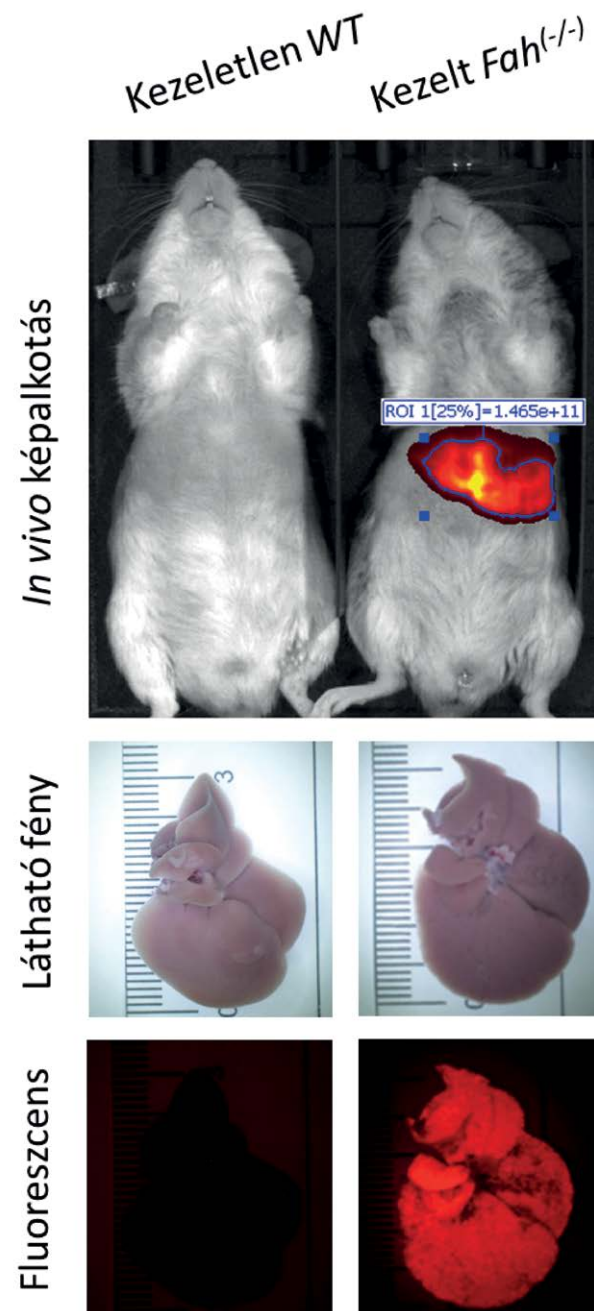
célja olyan további fehérjék azonosítása, amelyek mutációi érzékenyítik a daganatsejteket a PARP1-gátló vegyületekre. A mögöttes molekuláris mechanizmusok feltérképezése segíthet megérteni a PARP1 szerepét az alapvető sejtbiológiai folyamatokban, valamint hozzájárulhat a PARP-gátlók klinikai alkalmazhatóságának kiszélesítéséhez.

DNS REPARÁCIÓ CSOPORT

Az *Unk Ildikó* vezette DNS Reparáció Csoport a pék-élesztő (*Saccharomyces cerevisiae*) modellorganizmust használva azokat az evolúció során rendkívül konzervált folyamatokat kutatja, amelyek a mutációk kialakításáért felelősek, illetve a mutációk kialakulását gátolják. Ezen ellentétes hatású folyamatok egyensúlya meghatározó jelentőségű a genom stabilitására, és végső soron a sejt túlélésére nézve. A csoport egyik legfontosabb eredménye, hogy egy, a DNS-hibák átírására specializálódott DNS-polimerázzal (Pol eta) kimutatták, hogy RNS szintézisére is képes, és elősegíti a gének hatékony transzkripcióját. Kísérleteik alapján a kétféle szintetikus aktivitást – azaz a DNS-, illetve RNS-polimerizáció közötti átkapcsolást – az enzim a katalitikus fémion lecserélésével éri el. Eredményeik a transzkripciót és a replikációt összekötő újabb kapcsolatot, és egy új enzimaktivitást szabályozó mechanizmust tártak fel.

REPLIKÁCIÓ ÉS GENOM STABILITÁS KUTATÓCSOPORT

A *Burkovics Péter* vezette Replikáció és Genom Stabilitás Kutatócsoport érdeklődésének középpontjában a DNS átírását gátló, stabil másodlagos struktúrák, az ún. G4-szerkezetek replikációjának mechanizmusa áll. Mivel ezek a szerkezetek az élet egyik legalapvetőbb folyamatát gátolják, azt hihetnénk, hogy az evolúció során számuk csökken. Ezzel szemben az evolúció előrehaladtával a G4-szerkezetet formálni képes DNS-régiók száma drámaian nő (az emberi genomnak már mintegy 4,5 százaléka ilyen), ami azt jelzi, hogy nagyon fontos szerepük van a sejtek működésében, és nem a mennyiségük csökkent le, hanem replikációjuk mechanizmusa fejlődött erőteljesen. Fontossága ellenére nagyon kevés információval rendelkezünk a G4-szerkezetek replikációjának mechanizmusáról. Ismerünk ugyan DNS-helikázokat, amelyek *in vitro* képesek kibontani a G4-szerkezeteket, de a replikáció



4. ÁBRA. A *Sleeping Beauty* transzpozon alapú génterápiás kezelés sikerességének nyomon követése I. típusú tirozinémiás (*Fah^{-/-}*) egérmodellben. A *Fah* terápiás gén májszövetbe való célzott bejuttatását az mCherry vizualizációs markergén egyidejű, genetikailag kapcsolt bevitelével nyomjeleztük. Az *in vivo* képalkotás (IVIS Lumina III, PerkinElmer) és a fluoreszcens sztereomikroszkópos vizsgálat egyaránt jelzi a kezelt állat májának mCherry-pozitivitását, azaz a génterápiás beavatkozás sikerességét három hónappal a kezelést követően

többi résztvevője még felfedezésre vár. Nem ismert, hogy melyik DNS-polimeráz végzi a szintézist, vagy mi hangolja össze a replikatív komplex és a DNS-helikáz működését.

A kutatócsoport fő eredménye, hogy azonosított egy fehérjét, amely képes a DNS-helikázok és a replikációs komplex működésének összehangolására. Ennek a fehérjének a további részletes vizsgálatával feltárhatók a G4-szerkezetek replikációját végző mechanizmusok.

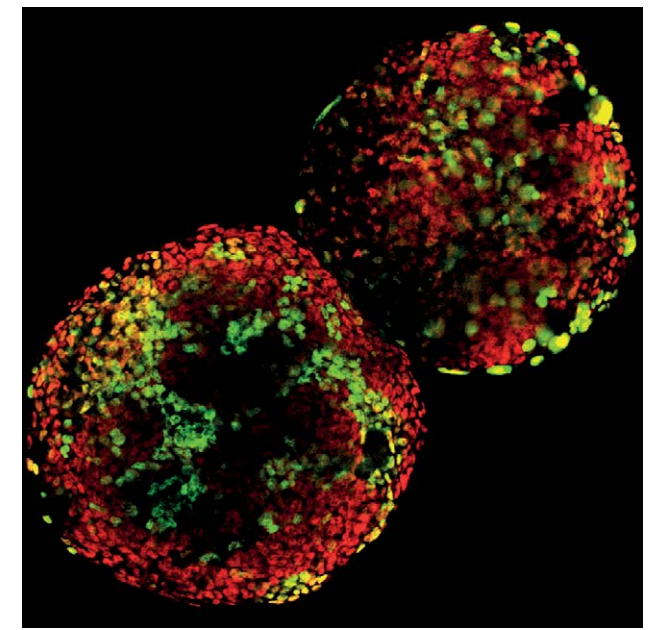
TUMOR GENOM KUTATÓCSOPORT

A *Mátés Lajos* által vezetett Tumor Genom Kutatócsoport az orvosi biológiai kutatások két ága, a génterápiás eljárások fejlesztése és a rákkutatás iránt elkötelezett. A génterápia során a betegség által érintett szerv vagy szövet sejtjeit genetikailag módosítják oly módon, hogy a betegséget kiváltó mutáns gén jó kópiáját juttatják be a sejtekbe, amely így képes a normál funkciót ellátni. Jelenleg számos, a *Sleeping Beauty* és a *piggyBac* DNS-transzpozon-rendszer alkalmazására épülő génterápiás eljárás klinikai vizsgálata van folyamatban világszerte. A kutatócsoport e két DNS-transzpozonnal végrehajtott terápiás génbevitel jellemzésén dolgozik egér betegségmodellen (4. ábra).

A rákkutatás területén a kutatócsoport a LINE1 (L1) retrotranszpozonokat, azoknak a daganatképződés és -progresszió folyamatában betöltött szerepét vizsgálja. Ismereteink szerint az L1 retrotranszpozonok az egyedüli, retrotranspozícióra képes mobilis genetikai elemek az emberi genomban. Az egészséges körülmények között szomatikusan inaktív L1 elemek a tumoros folyamatok során újraaktiválódhatnak, és ún. tumor driver mutációkat alakíthatnak ki. A kutatócsoport a szomatikus L1 regulációt vizsgálja egészséges és daganatos szövetekben, emlősszövet-tenyészetek és egérmodell felhasználásával. Kifejlesztettek egy, a szomatikus L1 aktivitás megbízható mérésére alkalmas technológiai platformot is, lehetővé téve ezzel egy olyan új, rákkeltő vegyianyagcsoport kimutatását és szűrését, amely genotoxikus hatását az L1 retrotranszpozonok aktiválásán keresztül fejti ki.

EMBRIONÁLIS ÉS INDUKÁLT PLURIPOTENS ÖSSEJT CSOPORT

A *Pirity Melinda* vezette Embrionális és Indukált Pluripotens Össejt Csoport a kromatinszintű gén-szabályozást és az ezzel összefüggő betegségek kialakulását vizsgálja egér- és humán őssejtvonalakon. A csoport kutatásai elsősorban a szívbetegségekre és a neurológiai elváltozásokra irányulnak. A kutató-



5. ÁBRA. Egér-össejtekből képzett szferoidok (RYBP: piros; endoderma GATA4-gyel jelölve: zöld)

sok egyik fókuszában a zárt kromoszómaszerkezet epigenetikai fenntartásáért felelős, ún. nemkanonikus Polikomb Represszív Komplex 1 (ncPRC1) neurális és szív irányú differenciálódásban betöltött szerepének vizsgálata áll. Az ncPRC1-ek több fehérjéből álló komplexek: felépítésük összetett, és mindegyiknek esszenciális tagja a Ring1- és YY1-kötő fehérje (RYBP) vagy ennek homológja, a YY1-asszociált fehérje (YAF2). Az RYBP és YAF2 közötti funkcionális különbségek meghatározása mellett a csoport elsőként mutatott rá az *Rybp* szív- és idegrendszeri fejlődésben betöltött szerepére.

A csoport másik fő témája a humán szomatikus sejtek újraprogramozása, amelynek eredményeként számos humán indukált pluripotens (iPS) sejtvonalat is előállítottak, például a szív ioncsatorna-betegségeinek modellezésére és potenciális terápiás alkalmazások kifejlesztésére. Előtérbe kerültek a humán szferoid és organoid alapú kultúrákon végzett vizsgálatok is, amelyekkel a csíralemezek (endo-, ekto-, mezoderma) és a szervek kialakulását lehet háromdimenziós környezetben modellezni, valamint a neurológiai betegségek kialakulását lehet nyomon követni (5. ábra). A jelenlegi munka az iPS sejtek nagyobb léptékű előállítására is összpontosít, amely lehetőséget adna egyénre szabott preklinikai gyógyszereszközökre.

AZ IMMUNOLÓGIAI TÉMACSOPORT 50 ÉVE

A Genetikai Intézetben a kezdetektől fogva folytak immunológiai kutatások. *Fachet József, Andó István, Fodor András és Gál András* alkották a kezdő csapatot, amely Immunogenetikai Csoportként az immunfolyamatokban részt vevő sejtek működésével, valamint a sejt közvetítette és a humorális immunválasz genetikai szabályozásának kapcsolatával foglalkozott. Mivel a szervátültetések egy jelentős részét ekkor (az 1970-es években) már a szegedi klinikán végezték, a csoport fő kutatási területe a transzplantációs immunitás volt. Úttörő felfedezésnek számított – amelyből 1978-ban *Nature*-cikk is született –, hogy egyszerű antigének (pl. az oxazolon) egyszerre váltanak ki sejt közvetítette immunválaszt és ellenanyag-termelést. Ezek az eredmények elsőként világítottak rá a sejt és a humorális immunválasz közös szabályozására.

Miközben *Fachet József Ábel Györggyel és Erdei Jánossal* gombákból származó poliszacharidok tumor-ellenes hatását vizsgálta, *Andó István* UNESCO-ösztöndíjasként Angliába utazott. Az Imperial Cancer Research Fund Tumormmunológiai Intézetében a T- és B-sejtek specificitását meghatározó receptorokat kódoló gének vizsgálata mellett az akkor rendkívül modernnek számító hibridómatechnika alkalmazását is elsajátította.

Fachet József távozása után *Andó a Raskó István* által vezetett Emlősejt Genetikai Csoporthoz csatlakozott, ahol kamatoztatta a hibridómatechnikával kapcsolatos szaktudását: emberi fehérvérsejtekre jellemző markermolekulák azonosításába fogott. Egy finnországi tanulmányút során – amelynek eredménye egy újabb *Nature*-közlemény lett – *Andó* meglepő felfedezést tett: kísérleteiből kiderült, hogy a korábbi feltételezésekkel ellentétben egyes T-sejtek a csecsemőmirigyen kívül is képesek differenciálódni.

E sikeres évek után *Andó István* önálló laboratóriumot alapított, amelyhez *Monostori Éva*, később pedig *Kurucz Éva* és *Vilmos Péter* is csatlakozott. Célként tűzték ki a velőcsőzáródási rendellenességek születés előtti diagnosztizálására alkalmas, prenatális

diagnosztikai rendszer fejlesztését, amely a magzat-vízben és az anyai szérumban már a terhesség korai szakaszában megemelkedő fehérje, a magzati máj által termelt alfa-fötóprotein (AFP) szintjének detektálásán alapult. A munka eredménye egy olyan ELISA-kit kifejlesztése lett, amely a diagnosztikai felhasználáson kívül analitikai tisztaságú AFP-izolálására is alkalmas volt. *Kurucz Évának* sikerült a módszer igazságügyi orvostani célokra történő adaptációja is, így lehetővé vált a magzat terhére elkövetett bűncselekmények felderítése a tetthelyen kimutatott AFP alapján. *Vilmos Péter* munkája pedig rámutatott, hogy a hibridómatechnikával előállított ellenanyagok alkalmasak háziállatok vérsejtjeinek tipizálására, sőt felhasználásukkal sikerült egy sejt felszíni HIV-receptor olyan mutációját is azonosítani, amely rezisztenssé teszi a sejtet a vírussal szemben.

A hibridómatechnikában megszerzett szakértelem nemcsak számos hazai és nemzetközi együttműködési lehetőséget biztosított a csoport számára, de a kutatócsoport távolabbi jövőjét is megalapozta. A hibridómamódszer meghonosításáért, valamint sikeres alkalmazásáért *Andó István* és *Monostori Éva* megosztott Akadémiai Díjban részesültek.

Andó István kutatócsoportja – az emlős-immunrendszerrel genetikailag könnyebben megközelíthető kísérleti modellt keresve – a 2000-es évek elején kezdett az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) vérsejtjei felé fordulni. *Andó István* a jól bevált hibridómatechnika alkalmazásával specifikus monoklonális ellenanyag-panelt hozott létre az ecetmuslica vérsejtjeinek jellemzéséhez, majd a Stockholmi Egyetem Wenner Gren Intézetében, *Dan Hultmark* laboratóriumában fejlesztette tovább az immunológiai eszköztárat. A vérsejtekre jellemző molekulák azonosításán túl ennek a munkának a gyümölcse lett az a felismerés, hogy a Relish transzkripció faktor fő funkciója egyes antimikrobiális faktorokat kódoló gének aktiválása. A *Dan Hultmark*kal kiépített együttműködés hosszú távúnak bizonyult, és meghatározó volt a labor életében. A svédországi tanulmányutak számos fiatal számára – így számomra is – a tudományos fejlődés és

a nemzetközi közösségbe való integráció lehetőségét jelentették az elkövetkező évtizedekben.

Mindeközben *Monostori Éva* kivált a csoportból, és 1998-ban megalakította önálló munkacsoportját, a Limfocita Szigáltranszdukciós Laboratóriumot. A kezdeti csapat tagja volt *Hegedűs Zoltán, Violeta Chitu* és *Dmytro Demidenko*, akik mind a csoportban szerezték meg PhD-fokozatukat. A csoport 22 éves fennállása alatt 12 PhD-hallgató végzett a csoportban, akik közül többen jelenleg is az intézet kutatói, köztük *Fajka-Boja Roberta, Czibula Ágnes, Szebeni Gábor* és *Szabó Enikő*. A 2000-es évek elejéig főként a T-sejt-receptor zéta-láncának a T-sejt-aktiválásban betöltött szerepe állt a kutatás fókuszában. Emellett a kutatócsoport másik fontos célja volt a CD45 tirozin-foszfataz (egy transzmembrán-receptor) T-sejt-jelátviteli folyamatokban játszott szerepének a megértése, illetve a receptor esetleges ligandjának azonosítása. A vizsgálatok során felmerült, hogy a CD45 ligandja egy immunsuppresszív laktózkötő lektin, a galektin-1 fehérje lehet. Bár ez a feltevés nem igazolódott, a kutatócsoport a későbbiekben számos felfedezést tett a galektin-1 immunsuppresszív szerepével kapcsolatosan.

Monostori Éva a csoport 2020-ban történt megszűnéséig az immunválasz molekuláris mechanizmusa mellett tanulmányozta a tumorfejlődés és az immunválasz összefüggését, a mezenchimális őssejtek immunsuppresszív aktivitását, valamint ezen sejtek terápiás alkalmazhatóságát súlyos porchiány esetén. Kutyák genetikailag öröklődő, könyökdiszpláziát okozó betegségét sikeresen gyógyították mezenchimális őssejtek segítségével. A csoport szoros együttműködést alakított ki *Uher Ferenccel* (aki jelenleg a Dél-pesti Centrumkórház kutató professzora), *Martinek Tamással* (az SZTE ÁOK Orvosi Vegytani Intézetének intézetvezető professzora), illetve *Kovács Lászlóval* (az SZTE ÁOK Reumatológiai és Immunológiai Intézet intézetvezető professzora).

Én 2007-ben csatlakoztam *Andó István* csoportjához tudományos segédmunkatársként. A csoport ekkor már komoly nemzetközi hírnévnek örvendett az ecetmuslica vérsejtjeinek azonosítására létrehozott monoklonális ellenanyagoknak köszönhetően. Az ellenanyagok célmolekuláját több esetben is sikerült azonosítani, ami rávilágított ezeknek a fehérjéknek az immunrendszer működésében betöltött szerepére. Ezzel a módszerrel sikerült azonosítani a NimC1 fagocitózisreceptort, amelyről kiderült, hogy több



Andó István kutatócsoportja 2006-ban. Balról jobbra: *Váczi Balázs, Zsámboki János, Márkus Róbert, Kurucz Éva, Laurinyecz Barbara, Kovalcsik Olga, Csorba Kinga, Tápai Szilvia, Andó István*

hozzá hasonló fehérjével együtt egy olyan fehérjecsaládot alkot, amelynek számos tagja az ecetmuslica immunitásának fontos komponense. Az *Andó István* által vezetett munka tudományos és iskolateremtő hatását először *Straub-plakettel*, majd a Magyar Köztársasági Érdemrend tisztikeresztjével ismerték el. Az *Andó-csoport* által előállított, vérsejt-típus-specifikus ellenanyagokat a világ minden *Drosophila*-vérsejtekkel foglalkozó laboratóriumában rutinszerűen használják.

A kutatócsoport-hoz való csatlakozásom után fő feladatomban az volt, hogy a *Gyurkovics Henrik* és *Gausz János* csoportjában elsajátított klasszikus genetikai és fejlődésbiológiai szemléletmódot integráljam az Immunológia Csoport profiljába, és így az immunológiai módszertant genetikai kísérletekkel egészítsük ki. *Csordás Gáborral* – akinek témavezetését *Andó Istvánnal* közösen láttuk el – azon dolgoztunk, hogy az immunológiai markerek használatával megsejtett vérsejt-leszármazási útvonalakat direkt kísérletekkel is igazoljuk. Az ecetmuslica nyújtotta eszköztárat kihasználva egy olyan modern transzgenikus sejt vonaljelölő rendszert adaptáltunk a vérsejtekre, amellyel lehetővé vált az embrió vérsejtjeinek az állat teljes élete során történő követése. Kísérleti eredményeinkből két fontos következtetést vonhattunk le. Egyrészt kiderült, hogy az ecetmuslica lárvájának központi nyirokszerve – a korábbi hipotézissel ellentétben – nem játszik kitüntetett szerepet a parazita darázs elleni immunválaszban: a lárv minden vérsejt-kompartmentumát

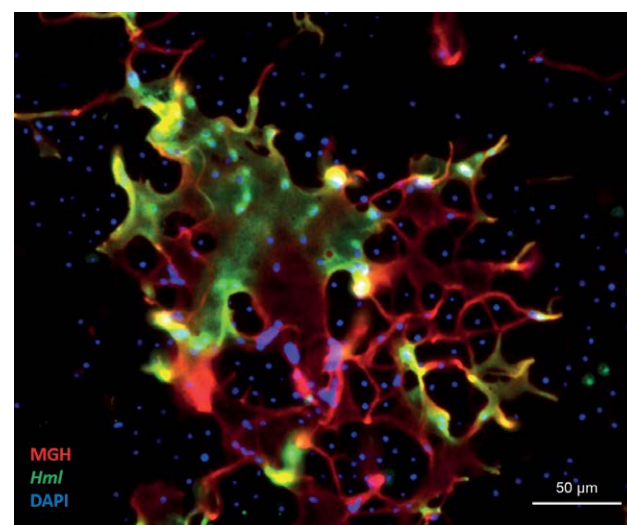


1. ÁBRA. Tokképző sejtek (piros) az élő lárvában. A tokképző sejtek kizárólag immunindukció után jelennek meg; vizualizálásukat az élő állatban kifejeződő transzgenikus riportergén teszi lehetővé

mozgósítja a betolakodó ellen, speciális tokképző sejteket hozva létre (1. ábra). Ez csak részben volt új felfedezés – Márkus Róbert korábbi kísérletei már indirekt módon rávilágítottak, hogy a központi nyirokszerv szerepe nem elengedhetetlen a tokképző sejtek képződéséhez. A sejtvonalljelölés segítségével tett másik, jelentősebb felfedezésünk az volt, hogy a korábban véglegesen differenciálódottnak hitt fagocitáló sejtek valójában nagyon is plasztikusak: a parazita támadása esetén képesek néhány órán belül tokképző sejtekké alakulni. Ez az eredményünk először meglepte a tudományos közösséget, később viszont nemcsak hogy egyre-másra jelentek meg a témával foglalkozó cikkek, de az is kiderült, hogy a transzdifferenciálódás – azaz a már funkcióval rendelkező sejtek átalakulása más funkciójú sejtekké – általános jelenség, így az emlősök vérésejtjei esetében is megfigyelhető.

Ahogy időközben érdeklődésem egyre inkább a vérésejtképző kompartmentumokban zajló szabályozás felé fordult, Andó István csoportja a gazdaságilag fontos házi méh immunitásával, illetve más muslica-fajok vérésejtjeinek funkcióival és differenciálódásával kezdett foglalkozni. Az utóbbi témában megjelent első közlemény rávilágított, hogy a tokképzés mechanizmusa sok *Drosophila*-faj esetében jócskán eltér attól, ahogyan azt az ecetmuslicában az elmúlt évtizedek során megfigyelték. Számos egyéb eltérés mellett a legfontosabb talán az, hogy ezekben a tanulmányozott fajokban a tok képzéséért sokmagvú, nyúlványos óriássejtek felelősek, amelyek fagocitáló sejtekből jönnek létre azok összeolvadásával (2. ábra). Az óriássejtek morfológiájának és működésének precíz leírásában jelentős részt vállalt Márkus Róbert, Lerner Zita, Cinege Gyöngyi és Magyar Lilla.

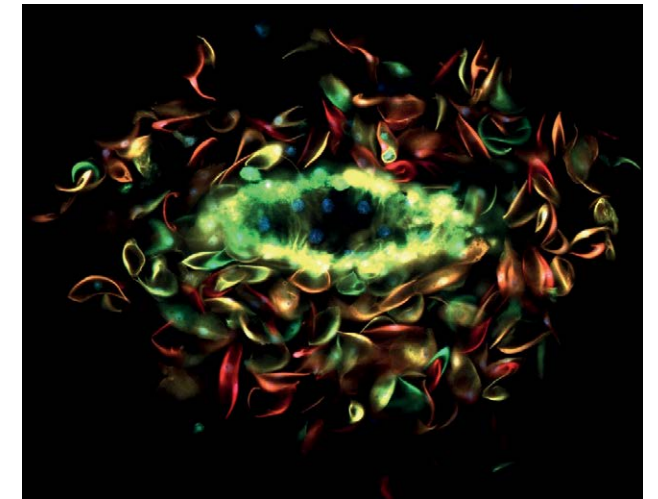
A csoportból való kiválásom után a Veszületett Immunitás Csoportként tovább működő kutatócsoport vezetését Kurucz Éva vette át, Andó István pedig emeritus professzorként támogatja munkájukat. A kutatócsoport jelenleg nemzetközi együttműködések keretében a legmodernebb transzkriptomikai, illetve elektronmikroszkópos módszerekkel tanulmányozza a sokmagvú óriássejtek differenciálódását és funkcióját. A csoport legújabb eredményei rávilágítottak arra a meglepő tényre, hogy az evolúció során a védekezésben részt vevő egyes faktorok horizontális gén-transzferrel, baktériumokból kerülhettek át bizonyos muslicafajok genomjába.



2. ÁBRA. A *Drosophila ananassae*-lárva darázs-fertőzést követően differenciálódó sokmagvú óriássejtje (zöld színnel a vérésejteket jelölő transzgén kifejeződése, pirossal a sejtek specifikus ellenanyagfestése, kék színnel a sejtmagok láthatók)

Az általam vezetett *Drosophila* Vérésejt Differenciálódás Csoport a modern eszközök adta lehetőségekkel élve egyre inkább az *in vivo* vérésejtmarkerek alkalmazása felé fordult. Horváth Péterrel (SZBK Biokémiai Intézet) való együttműködésünk révén, az *in vivo* vizualizációt gépi tanuláson alapuló képanalízissel kombinálva, lehetővé vált a vérésejtek differenciálódásának nagy áteresztőképességű, valós idejű vizsgálata. Jelenleg az egyes differenciálódási állapotok transzkriptomikai elemzésével nyert információ feldolgozásán és az egyes vérésejtípusokon belül elkülöníthető alpopulációk szerepének a megismerésén dolgozunk (3. ábra). Emellett az elmúlt évek során az ecetmuslica lárvájának központi nyirokszervében történő vérésejtképzés új szabályozó faktorait azonosítottuk, amelyek működésének megismerése a nagyfokú evolúciós konzerváltságnak köszönhetően hozzájárulhat az emlősök – így az ember – véréjtképző niche-eiben zajló szabályozási folyamatok megértéséhez is.

Az Immunológiai Témacsoport jelenleg legfrissebb kutatócsoportja a Czimmerer Zsolt által vezetett Makrofág Polarizáció Csoport, amely nemcsak új kutatási témát – a makrofágok mikrokörnyezetre adott komplex válaszána vizsgálatát –, hanem modern transzkriptomikai és epigenomikai vizsgálati módszereket is hozott az Intézetbe. Ezeknek a technikáknak a meghonosítása a jövőben nagyban hozzájárulhat az



3. ÁBRA. Az ecetmuslica vérésejtjeinek sokfélesége. A képen a lárva *in vivo* kifejeződésű transzgenikus markerekkel jelölt vérésejtjei (piros és zöld) veszik körül a parazitoid darázs petéjét (kék színnel a sejtmagok láthatók)

Immunológiai Témacsoport naprakészen tartásához, illetve sikereihez. Az emlősök és a *Drosophila* vérésejtjeinek egymást kiegészítő vizsgálata hosszú távon egy olyan átfogó kép kialakítását segítheti, amely közelebb visz a vérésejtek differenciálódásának és működésének pontosabb megismeréséhez.

HONTI VIKTOR

AZ EMLŐSSEJT-GENETIKÁTÓL AZ ARCHEOGENETIKÁIG

A szomatikus emlőssejt-genetikai kutatások az SZBK Genetikai Intézetének megalakulásával, hazai hagyományok nélkül indultak Szegeden. A csoport rajtam kívül *Venetianer Anikó*, *Burg Kornél* és *Dallmann László* kutatókból, valamint *Póór Gabriella* és *Dudás Mária* asszisztensekből állt. Megkezdődött a „zsákban futás” a nyugati tudományos folyóiratokban publikálható eredményekért.

Később *Veres Gábor*, *Zákány József*, *Czibula Ágnes*, *Morócz Mónika*, *Sinkó Ildikó*, *Zvara Ágnes* és *Sántha Miklós* kutatók csatlakoztak a csoporthoz, és dolgoztak velünk hosszabb-rövidebb ideig.

Az 1970-es évek közepétől *Venetianer Anikó* önálló témacsoportot vezetett. Munkájuk első periódusában különféle emlőssejtek és sejthibridek glükokortikoid-hormon iránti érzékenységet, valamint a hormont kötő receptorok számát vizsgálták. Vizsgálataikba hepatómasejteket is bevontak: a hosszú ideig tenyésztett sejtkultúrákban, illetve a dexametazonra rezisztens sejtekben ezek génkifejeződési mintázatának változásait tanulmányozták a sejtdifferenciálódás során. *Venetianer Anikó* egy *Nature*-közleményben számolt be arról a megfigyelésükről, hogy a differenciálódási képességüket elvesztett, dexametazonra rezisztens hepatómasejteket megszűnik a közepes méretű mikrofilamentumok felépítéséhez szükséges fehérjeszintézis, ami azt jelenti, hogy ezek a mikrofilamentumok nem szükségesek a sejtek alapvető funkcióihoz (pl. a sejtosztódáshoz vagy a sejtnövekedéshez), csak a sejtdifferenciálódással összefüggő speciális működésekhez köthetők.

Az általam vezetett témacsoport az 1970-es években az emlőssejtek DNS-ében bekövetkező és a sejtek utódaiba is átöröklődő elváltozásokkal, a mutációkkal kezdett foglalkozni. Megállapítottuk, hogy a sejthibridekben spontán módon létrejövő kromoszómavesztés, amely csak a hibrid sejtet alkotó egyik szülő kromoszómáit érinti, különféle mutagén hatású anyagokkal felgyorsítható, az anyag természetétől függően más-más sebességre. Kidolgoztunk

egy olyan sejtgenetikai módszert, amelynek lényege, hogy amennyiben az osztódó sejteket a sejtciklus S-fázisában mutagén hatású bróm-dezoxi-uridinnel kezeljük, a vegyület a kezelés pillanatában replikálódó génben mutációt okoz azáltal, hogy beépül az újonnan szintetizálódó DNS-be. Ezzel a módszerrel lehetővé vált bizonyos gének S-fázisos replikációs idejének meghatározása.

A csoport tevékenysége a későbbiekben kiterjedt a mutáció kialakulását kivédő DNS-javító rendszer vizsgálatára. Megállapítottuk, hogy a differenciálódott egérsejtekben jelentősen visszaszorul az ultraibolya (UV) besugárzás által okozott DNS-károsodások kijavítása a nem differenciálódott populációval összehasonlítva. A sejtek kromoszómáinak a fehérjék és a DNS szoros kapcsolatával létrejött heterokromatikus régiójában található, hosszú DNS-szakasz UV-sugárzással kiváltott károsodásának javítása egyes sejtvonalakban igen aktívnak mutatkozott, míg másokban – köztük rákos sejtekben is – a DNS-javítás ezen a szakaszon nem működött.

A csoportom jelentős szerepet vállalt a humán molekuláris genetikai alapú diagnosztikai módszerek hazai elterjesztésében. Egyrészt a SZOTE Gyermekklinikájának szakembereivel együttműködve létrehoztunk egy klinikai molekuláris genetikai laboratóriumot, amely a legkülönbébb genetikai betegségek molekuláris biológiai alapú diagnosztikájára volt hivatott, másfelől együttműködést alakítottunk ki a Neurológiai és a Pszichiátriai Klinika orvosaival is.

A genetikai betegségek molekuláris biológiai vizsgálatát a cisztás fibrózissal kezdtük, majd az izomdisztrófiákkal folytattuk. A szerológiai vizsgálatok kiegészítéseként molekuláris biológiai módszereket alkalmaztunk a vesetranszplantáció donor-recipiens párijainak jellemzésére, valamint a HLA-régió DNS-polimorfizmusainak kimutatásával vizsgáltuk a juvenilis rheumatoid arthritis és a cöliákia kialakulására való hajlamot. Meghatároztuk a Huntington-kór hazai mutációs jellegzetességeit, és megállapítottuk,



Munkácsy Mihály: Honfoglalás

hogy az ilyen betegek limfocitái UV-fénnyel történő besugárzás után fokozott apoptózishajlamot mutatnak. Az 1990-es években feltártuk az Alzheimer-kórra hajlamosító apolipoprotein E allélek hazai megoszlását, és összefüggést találtunk az apolipoprotein E4-szint és az időskori vaszkuláris demenciák előfordulási gyakorisága között. Comet assay technika alkalmazásával kimutattuk, hogy az egészséges kontrollokkal összehasonlítva az Alzheimer-kórban szenvedő betegek limfocitáiban gyakoribbak az oxidatív DNS-károsodások.

ÚJ UTAKON: VISSZA A MÚLTBA

A '90-es évek végén a csoportom fontos témaváltásba kezdett. Szerencsés vagyok, hogy részese lehettem a magyarországi archeogenetikai kutatások megindításának. Hazánkban mi voltunk az elsők, akik referált, nemzetközi tudományos folyóiratban közleményeket jelentettünk meg e témában.

A történet egy emlékezetes délutánon kezdődött, amikor *Keszthelyi Lajos* akadémikussal, a Szegedi Biológiai Központ akkori főigazgatójával egy frissen megjelent publikáció kapcsán arról beszélgettünk, hogy a mitokondriális DNS segítségével miként lehetne többet megtudni a honfoglaló magyarok genetikájáról. Már akkor világos volt, hogy ezt a kérdést csak a honfoglalás korából származó csontok vizsgálatával lehetne megválaszolni. Ő biztosított a támogatásáról, hogy az induláshoz pályázati támogatást kaphassunk. A pályázat elnyerése után ki kellett dolgoznunk egy olyan módszert, amely alkalmas a régészeti anyagokban megőrzött DNS kinyerésére. A feladatot *Kalmár Tibor* és *Bachrati Csanád* oldotta meg: dextran blue

kezelést követő etanolos precipitációval sikerrel izoláltak archaikus DNS-t 1200 éves csontokból. Ezután az archeogenetikai kutatómunka két vonalon indult el. Egyrészt megkeresett a szegedi Móra Ferenc Múzeum régésze, *Horváth Ferenc*, hogy végezzük el az általuk feltárt, feltételezhetően kun leletanyag genetikai vizsgálatát, másrészt az MTA Régészeti Intézetével elnyert közös pályázattal egy teljesen új, fiatal csoport alakult *Bogácsi-Szabó Erika*, *Csányi Bernadett* és *Tömöry Gyöngyvér* csatlakozásával. Ezzel megkezdtük a régészekkel való közös munkát. Csányi Bernadett és Tömöry Gyöngyvér a honfoglalás kori DNS-t, Bogácsi-Szabó Erika a kun leleteket, *Priskin Katalin* az állati leletek DNS-ét jellemezte. Lelkes munkájuk a honfoglalás kori Kárpát-medence lakóinak első genetikai jellemzéséről, egy feltételezett kun vezér, a honfoglalók lovai és egy hatezer éves őstulok-állkapocsból kinyert DNS vizsgálatáról nemzetközileg elismert tudományos eredményeket és értékes PhD-dolgozatokat „termelt.”

A honfoglalás kori mintákat a Szegedi Tudományegyetem Embertani Tanszékéről *Marcsik Antóniától*, illetve az MTA Régészeti Intézetéből kaptuk, ahonnan egy antropológus és egy fiatal régész, *Mende Balázs* és *Langó Péter* is bekapcsolódott a kutatómunkába. Később a Régészeti Intézetben is megnyílt az archeogenetikai laboratórium, ahol kezdetben a Szegeden kiképzett munkatársak végezték a genetikai munkát.

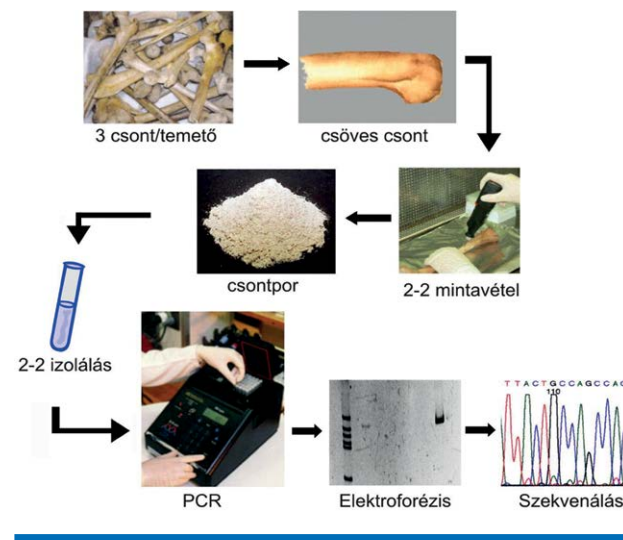
A régészekkel együttműködve bizonyítottan honfoglalás kori csontokat fogtuk vattatóra, hogy meghatározzuk a Kárpát-medencébe érkező korai magyar populáció genetikai jellegzetességeit a mitokondriális (anyai eredetű) és az Y kromoszómához köthető (tehát

apai eredetű) DNS vizsgálata alapján (1. ábra). Fontos tudományos kérdésekre kívántunk ezzel választ kapni, úgymint: mennyire volt genetikailag egységes a honfoglaló magyarság akkor, amikor hazánk területére érkezett? Milyen arányban tartalmazott a honfoglaló magyarok génállománya ázsiai, illetve európai típusú genetikai elemeket? Emellett a ma élő magyar és székely népesség genetikai jellegzetességeivel való összehasonlítást is fontosnak tartottuk, ezért vizsgálatainkat ma élő magyar és székely emberek DNS-vizsgálatára is kiterjesztettük.

Tudni kell, hogy a Kárpát-medence többnyire savas talajközegéből előkerülő maradványokból általában csekély mennyiségű és rossz minőségű DNS izolálható, amelynek jellemzője az erős töredezettség, az oxidatív és hidrolitikus bázismódosulások, valamint a talajból és a biológiai anyag degradációjából származó, kapcsolódó vegyületek jelenléte.

A honfoglalás kori leletanyag a régészeti mellékletek alapján két csoportra osztható. Az egyik csoportba azok a csontmaradványok kerültek, amelyeket a korra jellemző lovas temetkezéssel, gazdag régészeti leletanyaggal temettek el. A másik csoportot a X–XI. századból származó, szegényes régészeti leletanyagú, ún. köznépi sírokból előkerült csontleletek adták. Vizsgálatainkkal megállapítottuk, hogy a gazdag leletanyagú sírok csontleletei olyan mitokondriális haplocsoportokba tartoznak, amelyek Ázsiában gyakoribbak. Az összes vizsgált csontlelet 23 százaléka ázsiai típusú mitokondriális csoportokhoz tartozott. A köznépi temetőkből származó, valamint a ma élő magyar és székely lakosság köréből vett minták ezzel szemben csak mintegy 5 százalékban hordoztak ázsiai eredetű anyai vonalakat. A ma élő magyar, illetve székely populációból nyert minták halmaza és a köznépi temetőkből származó minták tehát az európai népcsoportokkal, míg a gazdag leletanyagú honfoglalás kori sírok mintái az ázsiai populációkkal mutatnak genetikai rokonságot. Ezek alapján az eredmények alapján azt valószínűsítettük, hogy a honfoglalók létszáma kicsi lehetett a Kárpát-medence „törzslakosaihoz” képest, hiszen a ma élő lakoságnak csak töredéke mutat ázsiai eredetű anyai örökséget.

Az apai ági genetikai rokonság meghatározása a régészeti leletanyagból sokkal nagyobb nehézségekbe ütközött, mint a mitokondriális DNS vizsgálata. Bár csak néhány gazdag leletanyagú sírban fellelt férfi csontjából tudtunk értékelhető DNS-t kinyerni, azt megállapíthattuk, hogy a minták egy olyan, az Y kro-



1. ÁBRA. Az archeogenetikai mintafeldolgozás menete

moszómához köthető bélyeget hordoznak, amely nagy gyakorisággal csak azoknak a ma élő uráli népeknek a férfi lakossága körében fordul elő, akiket a történészek és a néprajzkutatók a magyarság ősi rokonainak tekintenek. Érdekes módon, a ma élő magyar és székely férfiak genetikai állományából ez a bélyeg hiányzik, illetőleg csak nagyon ritkán fordul elő.

Sajnos további kutatási támogatás hiányában csoportom a nyugdíjba vonulásom után felbomlott, a kutatók ekkortól más területek felé fordultak és értek el szép sikereket. A szerencse azonban mellénk szegődött, és a szegedi archeogenetikai kutatás mégis folytatódott! A Szegedi Tudományegyetem Genetika Tanszékén Török Tibor és Neparáczki Endre vezetésével, Maróti Zoltán zseniális bioinformatikusi közreműködésével folytatják az archeogenetikai munkát, így a hazai archeogenetika következő fejezetét már ők jegyzik. Szerencsém van, hogy tanácsaimmal továbbra is segíthetem a munkájukat, így társszerzője lehettem a kornak megfelelő modern technológiát – új generációs szekvenálást (NGS) – alkalmazó közleményeiknek, amelyek a honfoglalás kori elit és köznépi leletanyag teljes mitokondriális genomjának (mitogenom), Y kromoszómához köthető genetikai állományának, valamint a leletek teljes genomjának jellemzésével, továbbá avar és hun kori minták teljes genomanalízisével és populációeredetével foglalkoznak.

Az új eredményeket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a X–XI. századi temetők leletanyagából genetikai alapon első generációs bevándorlók, natív őslakók és tőlük származó, második generációs kevert egyének

azonosíthatók. A bevándorlók a Kárpát-medence törzslakosaihoz képest kis létszámú és genetikai eredetüket tekintve heterogén csoportot képeztek. A honfoglalók genomját számos populációval történt keveredés alakította. Meghatározó hányaduk a mai Észak-Kazahsztán Ural és Altáj közötti területéről származó, ázsiai genetikai komponenst hordozott tiszta (ők a honfoglaló elithez tartozhattak) vagy kevert formában, és a mansik őseivel közös evolúciós történetet mutat. A mansik és a honfoglalók közös ősei egyetlen proto-ugor populációhoz tartoztak, amely a mezovszkaja és az ősi nganaszan populációk bronzkori keveredéséből ered.

A honfoglalók ázsiai genetikai komponense 50 százalékban mansi, 35 százalékban korai szarmata és 15 százalékban hszüungnu származást mutat. A szarmata keveredés i.e. 643–431-ben, az ázsiai hun keveredés 217–315-ben történhetett.

Mivel a mansik már nem hordoznak ilyen genetikai örökséget, a honfoglalóktól i.e. 643–431-ben, a korai vaskorban válhattak el, és izolációjukban megőrizték a proto-ugor genetikai komponenst.

A honfoglalás előtti időszakból származó avar kori minták különböző genetikai eredetű populációkból származnak. Az elit minták zsuanszuan rokonságot, ősi kelet-ázsiai genetikai mintázatot mutatnak, míg a minták másik része valószínűleg a pont-kaspi sztyeppe vidékéről eredő, alán és hun keveredéssel bekerült, eredetileg iráni genetikai komponenseket hordoz.

Az archeogenetikai kutatások értékét és jelentőségét jelzi, hogy a terület meghatározó kutatója, Svante Pääbo 2022-ben a kihalt hominidák genomjának feltárásáért és a humán evolúció kutatásában elért felfedezéseiért orvosi Nobel-díjat kapott.

RASKÓ ISTVÁN

A DROSOPHILA-FEJLŐDÉSGENETIKAI CSOPORT 50 ÉVE

A Genetikai Intézet *Drosophila*-fejlődésgenetikai Témacsoportjának elődje Rovargenetikai Csoport néven 1971-ben alakult, az SZBK első kutatócsoportjai között. Az alapítók, *Bencze Gábor*, *Fekete Éva*, *Fodor András*, *Gausz János*, *Kiss István*, *Maróy Péter*, *Szabad János* és *Szidonya János* eleinte klasszikus rovarfajokon (csótány, vándorsáska, bodobács) kísérleteztek, és juvenilhormon, illetve vedlési hormon (ekdizon) alapú rovarirtó szerek kifejlesztésén dolgoztak. Ezek a fajok azonban alkalmatlanok voltak a hormonok hatásmechanizmusának molekuláris szintű vizsgálatára, így a csoport Szidonya János javaslatára (aki még harkovi egyetemi éve alatt ismerkedett meg a *Drosophila*-genetika alapjaival) a közönséges ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) vizsgálatával kezdett el foglalkozni.

Ebben a modellrendszerben már abban az időben is kiemelkedően jó genetikai eszköztár állt a kutatók rendelkezésére, ami a muslicagenetikuskok letisztult gondolkodásmódjával párosulva nagy hatással volt a fiatal csapat fejlődésére. A csoport tudományos színvonalának emelésében nagy szerepe volt a Szegedre hívott külföldi kutatóknak is. Közülük is kiemelkedett *James Fristrom*, a Kaliforniai Egyetem (Berkeley) professzora, aki fél évet töltött a csoporttal az ENSZ Fejlesztési Programja (United Nations Developmental Program, UNDP) segítségével, és nagy szerepe volt a csoport tudományos profiljának kialakításában. Hasonlóan szemléletformáló szerepe volt *Jeanette Holden*nek, aki akkoriban a bázeli Biocentrum posztdoktora volt, és *Gausz János* hívására hónapokat töltött az SZBK-ban. A nemzetközi szintű képzés mellett a csoport tagjai a '70-es, '80-as évek során vezető külföldi laboratóriumokban tettek többéves tanulmányutakat, ahonnan kompetitív tudással, kiterjedt kapcsolati hálóval és gyakran új kutatási témákkal tértek haza. A csoport nemzetközi (el)ismertségéhez nagymértékben hozzájárult az a *Drosophila*-fejlődésgenetikai konferencia is, amelyet 1978-ban szerveztek az SZBK-ban, és amelyen a korszak szinte minden neves európai *Drosophila*-



Az 1985-ben Balatonszéplakon megrendezett Európai *Drosophila* Konferencia szervezőgárdája. Balról jobbra, hátsó sor: Gausz János, Erdélyi Miklós, Helge Taubert, Maróy Péter, Török István, Kiss István, Abdel Fattah Awad, Gyurkovics Henrik, Farkas Gabriella; első sor: Szabad János, Szidonya János, Deák Péter, Berényi Mária

kutatója részt vett (*M. Ashburner*, *D. Ish-Horowicz*, *P. Lawrence*, *P. Schedl*, *A. Tissieres*, *I. Zhimulev*, a későbbi Nobel-díjas *C. Nüsslein-Volhard* és *E. Wieschaus* és még sokan mások). Azt mondhatjuk, hogy innentől Szeged és a *Drosophila*-genetika kapcsolata véglegesen (de legalábbis a mai napig) egybeforrt egymással.

Az alapítók csapata a '80-as évektől kezdődően fokozatosan az önállósodás útjára lépett. A független csoportok számos tehetséges fiatal kutatót vontak be a kutatásaikba, közülük többen (*Gyurkovics Henrik*, *Erdélyi Miklós*, *Sipos László*, *Ádám Géza*, *Mihály József*, *Honti Viktor*) később maguk is önálló csoportot alapítottak, és az Intézet megbecsült kutatóivá váltak. Rajtuk kívül előbb *Vilmos Péter*, majd 2015-ben *Juhász Gábor* csatlakozott vezető kutatóként a muslica-fejlődésgenetikusok közösségéhez. A fiatalabb generációk megjelenésével párhuzamosan az alapító tagok közül többen is elhagyták az Intézetet és a Szegedi Tudományegyetemen folytatták munkájukat: *Maróy Péter* 1990-től a Genetikai Tanszék, *Szabad János* 1993-

tól az Orvosi Biológiai Intézet, *Fekete Éva* 2004-től az Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék professzora lett, *Gausz János* pedig 2010-beli nyugdíjazása után – 2021-ben bekövetkezett haláláig – folytatta oktatási tevékenységét a Genetikai Tanszéken. „Nagy öregjeink” közül *Szidonya János* hosszú, súlyos betegség után 2022-ben távozott közülünk, míg *Maróy* tanár úr, *Kiss Pista* és *Szabad János* nyugdíjasokként máig szívesen idézik fel, és remélhetőleg még hosszú ideig őrzik az iskolateremtők emlékeit.

Az alapítástól eltelt két emberöltő óta a *Drosophila*-fejlődésgenetikai témacsoport érdeklődésének középpontjában az egyedfejlődés (1. ábra), illetve az alapvető életfolyamatok genetikai szabályozásának kutatása áll. A *Drosophila*-modell kiváló választásnak bizonyult, mert általánosan elfogadott nézet, hogy a magasabb rendű organizmusok életfolyamatainak vizsgálatára a muslica az egyik legjobb modellszervezet: az itt megszerzett ismeretek könnyen általánosíthatók és átvihetők más organizmusokra, köztük akár az emberre is. A *Drosophila*-fejlődésgenetikai csoport számos alapvető tudományos kérdés jobb megértéséhez járult hozzá. Az alábbiakban ezeket a kutatási témákat tekintjük át, elsősorban a vezető kutatók és a legfontosabb eredmények köré csoportosítva azokat.

Maróy Péter több évtizeden keresztül a rovargenetikai csoport klasszikus témájával, a hormonok – és azok közül is főként az ekdizon – hatásmechanizmusával foglalkozott. A kezdeti vizsgálatoknak nagy lökést adott az általa kifejlesztett radioimmun ekdizonmeghatározási módszer, ami az első közé tartozott a világon. A módszerfejlesztéssel párhuzamosan több érdekes mutánst is izoláltak, amelyek géntermékei részt vesznek az ekdizon hatásának közvetítésében. Ilyenek például a Broad-Complexet (BR-C) érintő npr mutáns és a hormontermelésben hibás ún. Dts



1. ÁBRA. Ecetmuslica embriójának háti oldala. A piros és zöld színek szelvényenkénti sávokban kifejeződő sejtvázelemeket jelölnek; a sejthatárokat fehér szín jelzi

mutációk. Bár az ekdizon érzékeléséhez szükséges receptorkomplex génjeit végül mások azonosították, a csoport elsőként igazolta, hogy az ekdizonreceptor génje maga is az ekdizon által indukált gének közé tartozik, és ez a pozitív visszacsatolási mechanizmus fontos szerepet játszik a vedlési hormon működés-módjában.

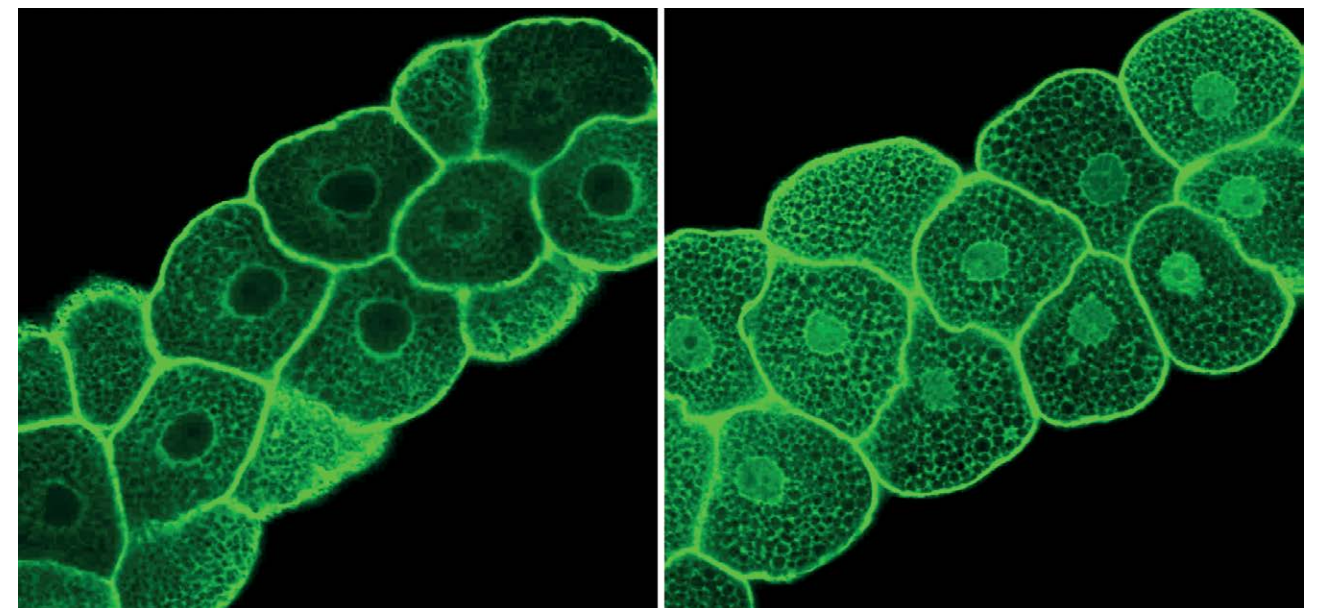
Kiss István csoportjának korai munkái szintén a már említett npr-mutáció genetikai vizsgálatához köthetők. Ők fedezték fel, hogy a mutáció az X kromoszóma 2B5 régiójában egy ekdizon által indukált puffba (aktív transzkripció helyre) lokalizálódik, ami később elvezetett a BR-C klónozásához. A csoport talán legnagyobb nemzetközi hatású munkája a '80-as évek végén indult, amikor *Török Tibor* vezetésével egy 2. kromoszómás P-elem-inszerciós mutánsgyűjteményt hoztak létre. Ez a mutánsgyűjtemény a *Drosophila* Genom Projekt (BDGP) integráns része lett, és világszerte sok tucatnyi fontos fejlődési gén klónozását segítette elő, számottevően hozzájárulva a nemzetközi *Drosophila*-közösség munkájához és a szegedi „drozis” műhely ismertségéhez. Az egyik érdekes P-elem-inszerciós mutáció a *Drosophila* importin- $\alpha 2$ fehérjéjét azonosította, ami a sejtmagba irányuló transzportfolyamatok egyik kulcseleme. Különös módon a sejtmagi import másik fontos elemének, az importin- β -nak a klónozása is Szegeden történt, de ez már *Szabad János* laboratóriumához köthető. János svájci és amerikai posztdoktori útjai alatt úttörő jellegű munkákat publikált többek között a regeneráció, a kompartmentalizáció és a genetikai mozaikok analízise terén, majd önálló kutatócsoportjában az anyai hatás és a korai embriogenezis „genetikai boncolása” vált a fő témává, domináns nősténysteril (*Fs*) mutánsok vizsgálatával. A csoport korai munkái közül kiemelkedik a *torso*⁴⁰²¹ jellemzése, ami nemcsak az embrionális testtengelyek kialakulásának jobb megértését tette lehetővé, hanem a tirozinkináz-receptor közvetítette jelátviteli utak jellemzéséhez is rendkívül hasznos eszköznél bizonyult. Később sorban klónozták a *Ketel*, a *Laborc*, a *Tomaj*, a *Kavar* és a *Horka* gének *Fs* alléljait, amelyek segítségével izgalmas sejtbiológiai és kromoszóma-mechanikai kérdéseket tanulmányoztak, és számos színvonalas közleményt publikáltak.

Az alapítók közül *Gausz János* korai munkáiból kiemelkedik a hsp70 hősokkfehérjét kódoló lokusz telítési mutagenézise, majd az ún. pozícióeffektus-variegációt befolyásoló mutánsok azonosítása *Günther*

Reuterrel (Halle) együttműködésben. Ezek a munkák is nagymértékben hozzájárultak a '90-es évektől kezdődő „bithorax korszakhoz”, amely során Gausz János Gyurkovics Henrikkel és két külföldi partner, Francois Karch (Genf) és Paul Schedl (Princeton) csoportjával együttműködve kiemelkedő eredményeket ért el a homeotikus génkomplexek kromatinszintű/epigenetikai szabályozása terén. Felfedezték és jellemezték az első kromatinhatároló elemet; leírták a GAGA-faktort, ami az első olyan fehérje, amit egyértelműen a nukleosómák átrendeződéséhez lehetett kötni; és olyan génszabályozó elemeket azonosítottak a bithorax-komplexben (Bx-C), amelyek a távoli promoterek és enhanszerek kapcsolódását teszik lehetővé. A csoport ugyan a 2000-es évek elején háromfelé vált, de Gyurkovics Henrik és tanítványa, Sipos László csoportja is folytatta a Bx-C kromatinszintű szabályozásának vizsgálatát. Ebben az időszakban már főleg az ún. PRE-k (Polycomb Response Element) vizsgálatára fókuszáltak, és fejlett helyspecifikus mutagenesis-

módszerek segítségével végezték el a *bxd* PRE részletes funkcionális jellemzését.

Erdélyi Miklós a Szabad János laboratóriumában megszerzett PhD-fokozat és a heidelbergi EMBL (European Molecular Biology Laboratory) kutatóintézetben eltöltött posztdoktori évek után a '90-es évek végén alapított önálló kutatócsoportot. A csoport érdeklődésének középpontjában a testi és az ivarsejtek elkülönüléséhez szükséges faktorok, illetve az ivarsejtek fejlődését irányító gének vizsgálata állt. Több nagy léptékű genetikai kísérletet is elvégeztek, és elsőként azonosították az ivarsejtképződés számos kritikus elemét. Ezek között megtaláljuk a membrántranszport-folyamatokat szabályozó Rab11 fehérjét, az aktin sejtváza és a sejtmembrán kapcsolatát biztosító Moesin fehérjét, az ivarsejt morfogén lokalizációját szabályozó Poirót, és a génszabályozás kromatinszintjén ható Small ovary és Su(var)2-10 fehérjéket. Eredményeik jelentősen hozzájárultak az ivarsejt-meghatározás bonyolult genetikai szabályozó hálózatának jobb megértéséhez.



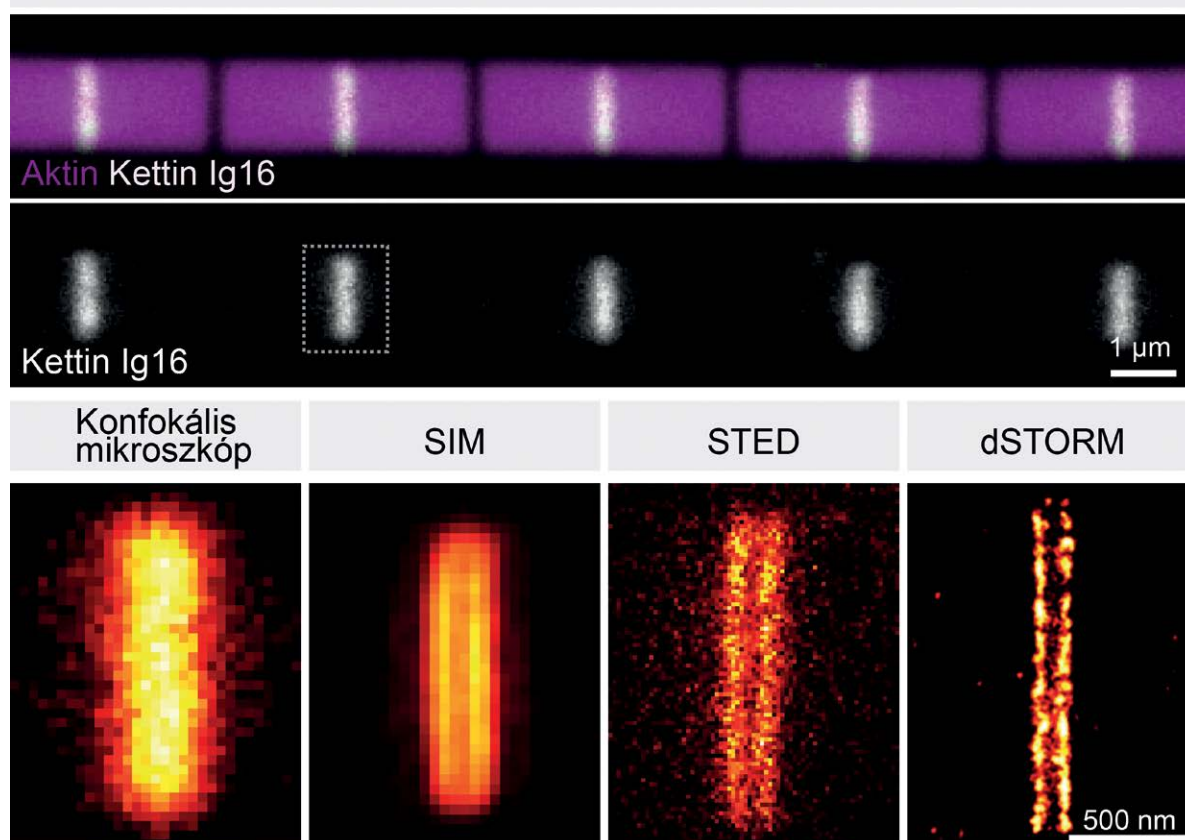
3. ÁBRA. A citoskeletális Moesin fehérje eloszlását zöld szín jelöli a *Drosophila*-lárva nyálmirigysejtjeiben. Normál körülmények között (bal oldali kép) a fehérje a sejtek membránján halmozódik, illetve a citoplazmában is megtalálható és gyűrűt képez a sejtmagok körül. A jobb oldali képen hő sokkolt lárva nyálmirigye látható, amelyeknek sejtmagjaiban a Moesin a hő sokk hatására felhalmozódott.

Mihály József szintén Szabad János műhelyében kapcsolódott be a muslica-fejlődésgenetikai kutatásokba, majd Francois Karch laboratóriumában végezte a PhD-munkáját, és egy heidelbergi posztdoktori út után a 2000-es évek elején alapított új csoportot. Kutatásaik eleinte az aktin sejtváza szabályozó, formin típusú fehérjék funkcionális jellemzésére irányultak: felfedezték a kortikális aktinyűrűket és azonosították az aktin-mikrotubulus koordináció szabályozásának egyik kulcselemét az axonnövekedési kúpban. Érdeklődésük később egyre inkább a szarkomernövekedés mechanizmusainak jobb megértése felé fordult, és egy nanoszkópos (2. ábra) fehérjelokalizációs atlasz létrehozása után egy minden korábbinál részletesebb Z-korong- és H-zóna-modellre tettek javaslatot. Az intézetben folyó sejtvázkutatások másik érdekes ágát Ádám Géza kutatásai reprezentálták, aki a csaknem minden komplex szöveti felépítésű állatra jellemző bal-jobb (BJ) aszimmetria molekuláris alapjait vizsgálta. Stephane Noselli (Nizza) csoportjával együttműködve megállapították, hogy a BJ-aszimmetria kialakulásában az egész állatvilágban központi szerepet játszik a Miozin31DF fehérje, amit ők eredetileg muslicában írtak le. A *Myo31DF*-mutánsok segítségével további fontos molekuláris szereplőket azonosítottak, és egy izgalmas kutatási területen értek el nemzetközi szintű sikereket Ádám Géza 2011-ben bekövetkezett, tragikus hirtelenséggű haláláig.

A sejtváza témaköréhez köthető harmadik laboratórium 2015-ben indult Vilmos Péter irányításával. Bár a csoportvezető pályája kezdetén immunológiával foglalkozott, a Kaliforniai Egyetemen (Irvine) eltöltött posztdoktori éve alatt már a *Drosophila*-embrió testtájainak kialakulását vizsgálta. Hazatérve Erdélyi Miklós laboratóriumához csatlakozott, ahol a Moesin fehérje kapcsán azt a váratlan megfigyelést tették, hogy ez a citoplazmatikusnak gondolt protein az ivarsejtek magjában is felhalmozódik (3. ábra). Ez az eredmény adott lökést egy új csoport indulásának, amely később igazolta a Moesin és az aktin sejtmagi jelenlétének élettani jelentőségét. Arra is fényt derítettek, hogy a Moesin aktív transzporttal kerül be a sejtmagba, ahol részt vesz a transzkripcióban, az mRNS-ek exportjában, és a riboszóma-biogenezisben is, míg az aktin sejtmagi felhalmozódásáról elsőként mutatták ki, hogy az redundáns módon, több importin segítségével valósul meg.

Juhász Gábor az ELTE Állatszervezettani Tanszékének több évtizedes autofágia-kutatási hagyományát folytatva kapott PhD-fokozatot a *Drosophila*-autofág (*Atg*) gének vizsgálatából. A munkájához szükséges molekuláris genetikai módszerek elsajátításában Maróczy Péter és Erdélyi Miklós szegedi csoportjai is nagy szerepet játszottak. Gábor a Minnesotai Egyetemen szerzett posztdoktori tapasztalatokat, majd egy Wellcome Trust csoportalapítói pályázattal hazatérve

A Kettin Ig16 miofibrilláris lokalizációja



2. ÁBRA. A különféle superrezolúciós módszerek laterális felbontásának összehasonlítása (felül). A Kettin Ig16 epitóp a miofibrillumok Z-lemezében lokalizálódik (alul). A Z-lemezben lévő Kettin Ig16-jel egyetlen sávként jelenik meg a konfokális mikroszkópos képeken, ez azonban két különálló sávra bontható fel a különféle superfelbontású módszerekkel – ilyen például a SIM, a STED vagy a dSTORM

itthon folytatta tovább az autofágia kutatását. 2015-ben csatlakozott az SZBK Genetikai Intézetéhez egy haladó MTA Lendület pályázat révén, amelyet 2023-ban ismét elnyert, immáron a különféle lizoszomális lebontó útvonalak tanulmányozására. Ahogy a nagy elismertségű pályázatok is jelzik, Juhász Gábor kiemelkedően sikeres pályát tudhat maga mögött, csoportjának munkáját több tucat fontos publikáció fémjelzi, és nemzetközileg is vezető kutatónak számít a szakterületén.

A *Drosophila*-fejlődésgenetikai témacsoport alkalmazott kutatási pályázatok keretében is hasznosítja

kutatási tapasztalatait. Kiemelkedően sikeres példája ennek, hogy a limfoblasztos leukémia *Drosophila*-modelljének felhasználásával a humán betegség kezelésére alkalmas gyógyszerjelölt-molekulákat azonosítottak, amelyek klinikai kipróbálása folyamatban van. A témacsoport második és harmadik generációs csoportvezetőinek elkötelezettségét látva minden remény megvan arra, hogy az SZBK alapítása óta működő tudományos iskola a jövőben is a Genetikai Intézet meghatározó szellemi műhelye maradjon.

MIHÁLY JÓZSEF

NÖVÉNYBIOLÓGIAI INTÉZET

6726 SZEGED, TEMESVÁRI KRT. 62.

6701 SZEGED, PF. 521.



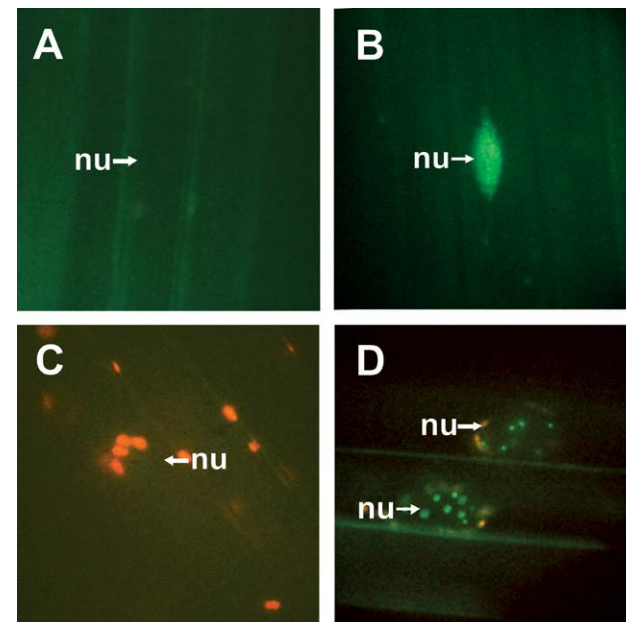
A FÉNY ÉS A BIOLÓGIAI ÓRA ÁLTAL SZABÁLYOZOTT JELÁTVITELI HÁLÓZATOK MOLEKULÁRIS ALAPJAI A NÖVÉNYEK BEN

A FÉNY MINT A NÖVÉNYEK EGYEDFEJLŐDÉSÉT IRÁNYÍTÓ KÖRNYEZETI JEL

A fény szabályozó jellé történő átalakulásának első lépése az abszorpció, amelyben különböző hullámhossz-tartományok detektálására specializálódott fényérzékelő fehérjék, a fotoreceptorok vesznek részt. Kutatási eredményeink főként a vörös/távoli vörös fényt érzékelő fitokróm, illetve az UV-B tartományban működő UVR8 receptorok funkciójának megértéséhez szolgáltattak jelentős új ismereteket. A fitokrómok (phyA-phyE) egyedülálló fényérzékelésének alapja a biológiailag inaktív (vörös fényt elnyelő) és az aktív (távoli vörös fényt elnyelő) konformációs változatok vörös, illetve távoli vörös fény hatására bekövetkező, reverzibilis átalakulása. Ez a konformációváltozás jelenti az elsődleges jelet, amely 2500–3000 gén kifejeződésének gátlása vagy serkentése által végső soron a fényfüggő növényi életfolyamatokat irányítja. Kimutattuk, hogy a sötétben a citoplazmában elhelyezkedő inaktív fitokrómreceptorok a fény elnyelését követően a sejtmagba importálódnak, ahol ún. sejtmagi testeket formálnak (1. ábra). E komplexek alkotórészeit vizsgálva kimutattuk, hogy a fitokrómok mellett tranziensen tartalmazzák a receptorok aktív formájával kölcsönhatásba lépni képes PIF transzkripciósfaktorokat. További vizsgálatokkal tisztáztuk, hogy a PIF típusú transzkripciósfaktorok fény hatására és fitokrómfüggő módon gyorsan degradálódnak. Bizonyítottuk, hogy a PIF típusú transzkripciósfaktorok a fotomorfogenezist negatívan szabályozzák, de ugyanakkor fontos szerepet játszanak a csíranövények fénytől független fejlődésében is. Összességében ezek a következtetések radikálisan átalakították a fitokrómok általi szabályozásról alkotott elképzeléseket, és mára általánosan elfogadottá vált, hogy a fitokrómok aktív formájának gyors sejtmagi

importja, majd ezt követően a negatív regulátorok inaktivációja a fotomorfogenezis nagyon korai és meghatározó történései.

Az utóbbi évek kutatásai során felderítettük azokat a főbb másodlagos fehérjemódosulásokat is, amelyek a fitokrómok és a PIF fehérjék működésének kisebb léptékű finomszabályozását teszik lehetővé. Kimutattuk, hogy a phyB specifikus foszforilációja csökkenti az aktív forma életidejét, míg a SUMO fehérje kapcsolása a PIF faktorokkal való kölcsönhatás befolyásolásán keresztül csökkenti a receptor aktivitását. Igazoltuk, hogy a PIF3 fehérje SUMO általi módosítása a DNS-kötő affinitás csökkentésével gátolja a transzkripciósfaktor funkcióját.



1. ÁBRA. A fitokrómok fényindukált sejtmagi importja. A phyA (A, B) és phyB (C, D) receptorokat zöld fluoreszcens fehérjével (GFP) jelöltük meg, és *Arabidopsis* növényekben fejlettük ki. A növényeket sötétben neveltük (A, C), majd vörös fényel kezelve indukáltuk a receptorok sejtmagi importját (nu: sejtmag)

Újszerű megközelítéseket alkalmazva igazoltuk, hogy a kis intenzitású UV-B sugárzás a látható fényhez hasonlóan környezeti ingerként is szabályozhatja a növények növekedését és fejlődését. Csoportunk jelentős mértékben hozzájárult az UV-B fény elnyelésére specializálódott UVR8 receptor azonosításához, a receptort az UV-B által regulált génekkel összekötő jelátviteli komponensek jellemzéséhez, és a célgénnek összehangolt szabályozása eredményeképpen kialakuló, a nagy intenzitású UV-B sugárzást kivédő mechanizmus leírásához.

AZ IDŐ MINT A NÖVÉNYEK EGYEDFEJLŐDÉSÉT IRÁNYÍTÓ KÖRNYEZETI JEL

Az eukarióta szervezetekben működő biológiai (vagy cirkadián) óra valójában egy olyan genetikai hálózat, amelyet számos egymást szabályozó gén alkot. A gének közötti kölcsönhatások eredményeként kifejeződésük nagyjából 24 órás ritmust mutat. Ez az alaposzilláció – mint egyfajta karmester – számos életfolyamat megjelenését szabályozza olyan módon, hogy azok az arra legmegfelelőbb napszakban történjenek. Kísérleteink során a növényi cirkadián óra újabb, még ismeretlen komponensei után kutatunk, illetve az óra és a növények számára jelentős egyéb jelátviteli rendszerek közötti kölcsönhatásokat tanulmányozzuk. Ezen belül külön hangsúlyt fektetünk a fotoreceptorfüggő fényjelátvitel és az óra kapcsolatára, mivel a fény a legfontosabb környezeti tényező, amely naponta a valós időhöz állítja a cirkadián órát.

Kimutattuk, hogy az óra ritmikusan szabályozza valamennyi fitokróm és kriptokróm fotoreceptor ki-

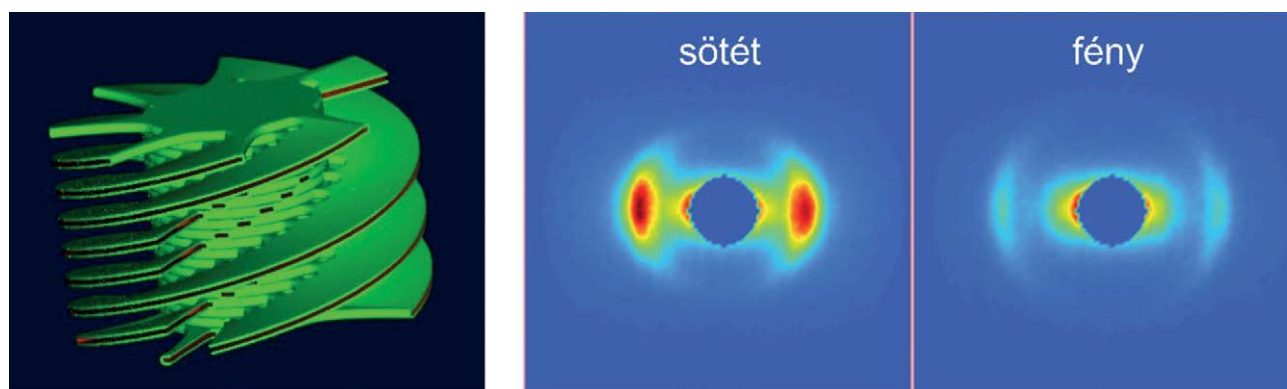
fejeződését, egyfajta visszacsatolás formájában. Ez azt jelenti, hogy az óra modulálja a fénybemeneti jelek hatékonyságát, ami hozzájárul az oszcillátor stabilabb és nagy amplitúdójú működéséhez.

Elsőként sikerült kimutatnunk, hogy a kis intenzitású UV-B fény a látható fényhez hasonlóan hatásos az óra beállításában. Igazoltuk, hogy a közreműködésünkkel felfedezett UVR8 receptor alapvetően szükséges az UV-B fény beállító hatásához, amely adataink szerint elsősorban az óragének transzkripcióindukcióján keresztül történik.

Genetikai szűréssel azonosítottunk egy kis GTPáz fehérjét (LIP1), amelynek működése szükséges ahhoz, hogy az óra érzékelhesse a fény intenzitásának változásait. Azonosítottuk az oszcillátor azon komponensét, amelyen keresztül a LIP1 fehérje szabályozza az óra működését. Kimutattuk, hogy a cirkadián funkciója mellett a LIP1 szerepet játszik a fotomorfogenezis, a só indukálta stresszválaszok és a fényfüggő endoreduplikáció szabályozásában is.

Igazoltuk, hogy a HY5 transzkripciósfaktor, amely a fotomorfogenezis egyik központi komponense és valamennyi fotoreceptortól induló jelátviteli út része, közvetlenül kötődik egyes óragének promotéréhez és szabályozza azok transzkripcióját. Bizonyítottuk továbbá, hogy a HY5 fehérje mennyiségét a fény minősége alapvetően meghatározza, ami arra utal, hogy a HY5 szerepet játszik abban a folyamatban, ami képessé teszi az órát nemcsak a fény mennyiségének, hanem minőségének érzékelésére is.

NAGY FERENC, KOZMA-BOGNÁR LÁSZLÓ



3. ÁBRA. Tilakoidmembránok háromdimenziós alakzatának sematikus modellje és a gránum szerkezeti plaszticitását illusztráló, kisszögű neutronszórás-profilok

A töltések irányrendezett mozgásának következtében protonmotoros erő keletkezik a vezikuláris szerkezetű tilakoidmembrán belső és külső vizes fázisa között, amely az ATP-szintézis során hasznosul. A fotoszintézis „fényreakcióit” követően sokkal lassúbb biokémiai, ún. „sötétreakciók” során szintetizálódnak a cukrok CO_2 , ATP és NADPH felhasználásával. A fotoszintézis rendkívül jól szervezett, de nagyfokú plaszticitással jellemezhető molekuláris gépezetének szerkezeti és funkcionális paramétereit élettani és külső tényezők egyaránt jelentős mértékben befolyásolják. Ezek a széles tartományban működő adaptációs folyamatok a teljes sejt, illetve a növény bonyolult molekuláris biológiai és élettani szabályozó mechanizmusaival összhangban működnek.

Mindezen mechanizmusok feltárása sokoldalú megközelítést, tudást és változatos módszereket igényel, ezért a világszerte nagy erővel folyó fotoszintézis-kutatások alapvetően interdiszciplináris jellegűek. Ennek megfelelően ez a kutatási terület fizikusok, molekuláris biológusok, ökológusok, mikrobiológusok és agrár szakemberek hatékony együttműködését igényli. Az SZBK-ban az elmúlt öt évtizedben folytatott fotoszintézis-kutatások is ezt a mintázatot követték és követik ma is.

AZ SZBK FOTOSZINTÉZIS-KUTATÁSAINAK SIKERTÖRTÉNETEI

A fotoszintézis-kutatásokat az SZBK-ban Faludi-Dániel Ágnes (1927–1985) alapozta meg. Ágnes csoportjában Horváth Gábor (1944–2000) és Droppa Magdolna biológusok, illetve Mustárdy László (1945–2022) elektronmikroszkópos szakember mellett két pályakezdő fizikus,

Demeter Sándor és Garab Győző is lehetőséget kapott. Később valamennyien – a fotoszintézis tárgykörében maradván – megszerezték a tudományok (MTA) doktora címet, csakúgy, mint a később csatlakozott, projekteket vezető fizikus, vegyész, biológus, illetve biofizikus kollégák: Vass Imre, Hideg Éva, Gombos Zoltán (1955–2019), valamint Tóth Szilvia Zita és Petar H. Lambrev.

A fotoszintézis-kutatócsoportok közvetlen szakmai sikerei közül az alábbiak kíváncsognak kiemelésre: C4-es növények mezofil és hüvelyparenchima-kloroplasztizai tilakoidmembránjainak szerkezeti és funkcionális jellemzése, a gránumos tilakoidmembránok 3D szerkezetének és szerkezeti plaszticitásának feltárása (3. ábra), a fénybegyűjtő komplexek királis makroszerveződésének és termo-optikai átrendeződéseinek felfedezése, a PSII termolumineszcenciás sajátosságainak elméleti értelmezése, fotoszintetikus herbicidek termodinamikai jellemzése, a PSII fénygátlása és az oxidatív stressz molekuláris mechanizmusainak tisztázása, reaktív oxigénmolekulák (ROS) újszerű detektálási módszereinek kidolgozása, abiotikus stresszhatások jellemzése, az aszkorbát (C-vitamin) elektrondonor és szabályzó szerepének feltárása, egyes lipidek és karotinoidok szerkezeti és élettani szerepének tisztázása, különféle fotoprotektív kioltási mechanizmusok azonosítása, algák hidrogéntermelésének élettana; valamint növényfenomikai módszerek kidolgozása és anizotróp szerkezetek kimutatására alkalmas lézerpásztázó mikroszkóp létrehozása és biológiai alkalmazásai.

Aktív részvétel a nemzetközi tudományos életben.

A munkacsoportok vezetői a hazai és a nemzetközi tudományos közéletben is meghatározó szerepet játszottak,

illetve játszanak. Ezt bizonyítják széles körű hazai együttműködések, egyetemi oktatói és témavezetői tevékenységük, továbbá hazai konferenciák sora. Nemzetközi konferenciák rendezésében is jelentősen közreműködtek; kiemelendő a *US-Hungarian Photosynthesis Conference* (Szeged, 1984; Providence, USA, 1986) és a *XIth International Congress on Photosynthesis Research* (Budapest 1998); de itt említendő az ESF (European Science Foundation), az EBSA (European Biophysical Societies Association), az ISPR (International Society of Photosynthesis Research) és az EU Centre of Excellence szervezetek támogatásával rendezett nemzetközi iskolák és munkaértekezletek is.

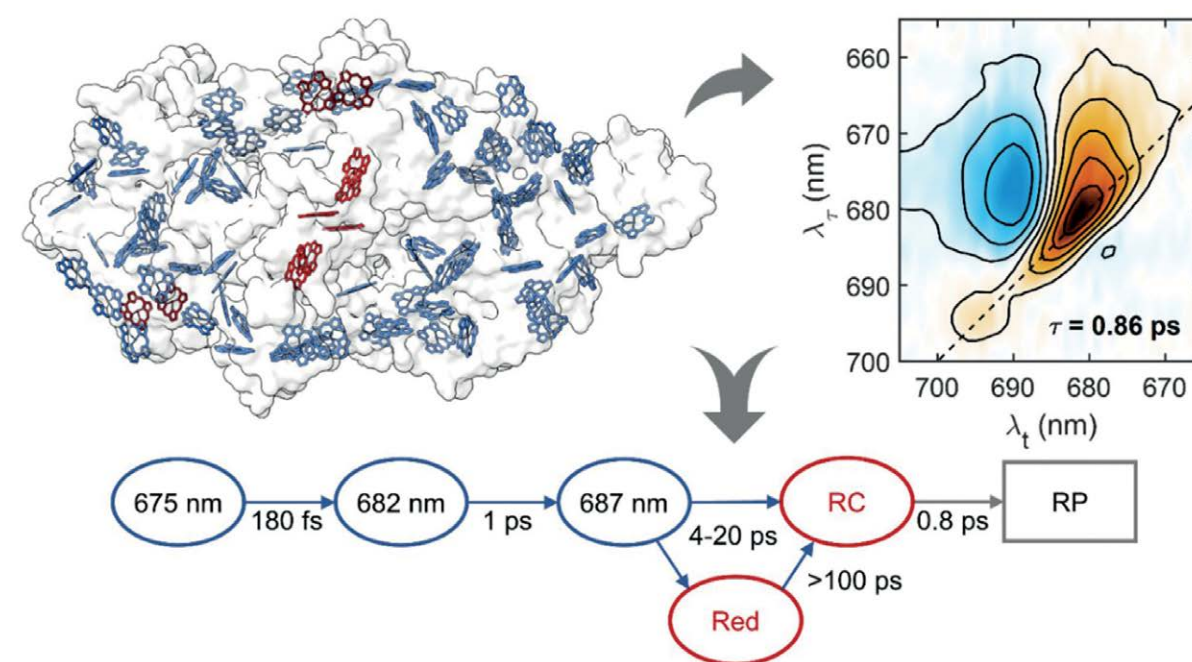
Mindemellett a kutatócsoportok monográfiákat és folyóirat-különszámokat szerkesztettek; részt vettek hazai és nemzetközi szakmai társaságok és testületek vezetésében (MBFT – Magyar Biofizikai Társaság; ESF – European Science Foundation; ISPR – International Society of Photosynthesis Research; EPSO – European Plant Science Organization), az MTA bizottságaiban, tudományos folyóiratok szerkesztőbizottságaiban, valamint külföldi intézetek átvilágító és/vagy tanácsadó testületeiben. Sikeresen bekapcsolódtak az ESF „Biophysics of Photosynthesis” néven futó, hétéves programjába; európai keretprogramokba, és általánosságban számos olyan nemzetközi együttműködésbe, amelyek mind az öt kontinensre kiterjedtek. Alapkutató-

si és alkalmazott kutatási projekteket teljesítettek, illetve rangos hazai pályázatokon (MTA Lendület, Nemzeti Kiválósági Program) szerepeltek sikeresen. Korábbi PhD-tanítványaik és ITC (International Training Course) ösztöndíjas hallgatóik közül ma többen vezető pozíciót töltenek be hazai és külföldi (Bulgária, India, Kanada, Németország, Oroszország, Románia, Svédország, Törökország, USA) kutatóintézetekben vagy egyetemeken. Munkájukat szakmai szervezetek díjaival és állami kitüntetésekkel is elismerték.

AKTUÁLIS FOTOSZINTÉZIS-KUTATÁSOK AZ SZBK-BAN

A hagyományokat folytatva a napjainkban itt folyó kutatások fő irányvonala cianobaktériumok, algák és magasabb rendű növények fényenergia-hasznosítási és szabályozó mechanizmusainak jellemzése komplex megközelítéssel, amelyben biofizikai, élettani, molekuláris biológiai és biotechnológiai módszerek egyaránt szerepet kapnak.

A fénybegyűjtés és a töltésszétválasztás mechanizmusai és dinamikus sajátosságai. A fényenergia-átalakítás első lépései – a fotonok befogása és a gerjesztett állapotok (excitonok) továbbítása a fénybegyűjtő antennarendszertől a fotokémiai reakciócentrumokba –



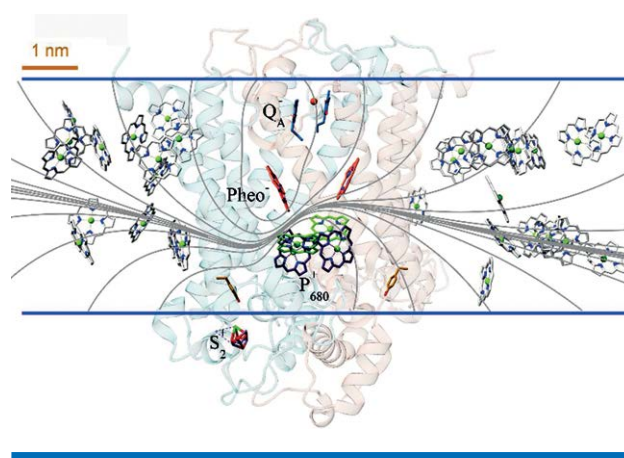
4. ÁBRA. Az energiatranszfer és az elektrontranszfer reakcióidőit cianobakteriális PSI reakciócentrumban, szerkezet alapú modellszámítások és kétdimenziós elektronspektroszkópiai mérések alapján

a femtoszekundumos (10^{-15} s) és pikoszekundumos (10^{-12} s) időskálán játszódnak le (4. ábra). Ezek a folyamatok a kvantummechanika és a klasszikus fizika határán zajlanak. Akár részleges követésük is csak a legfejlettebb lézerspektroszkópai módszerekkel lehetséges, és ismereteink a pontos fizikai mechanizmusairól erősen hézagosak. A jelenleg futó projektek során a kutatók a szerkezeti biológia, a kvantummechanikai modellszámítások és a lézerspektroszkópia számos eszközét alkalmazzák nemzetközi partnerekkel és az ELI-ALPS Lézeres Kutatóintézetrel együttműködésben, ahol az SZBK munkatársai egy nemzetközi összehasonlításban is kiemelkedő teljesítményű, multidimenziós spektroszkópai vizsgálatokra alkalmas femtobiológiai mérőállomást hoztak létre.

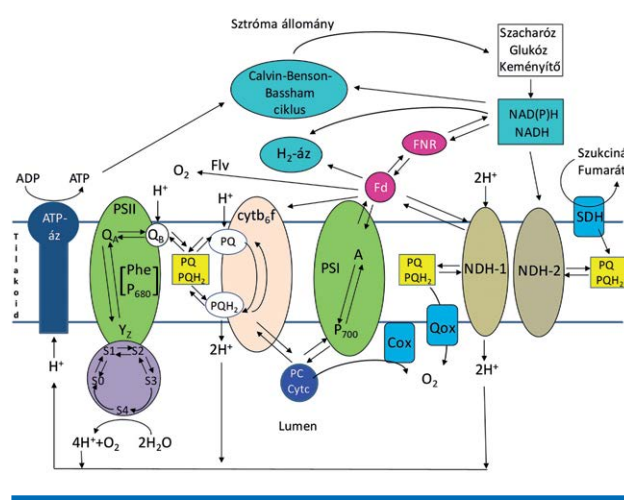
A PSII reakciócentrum fényadaptált állapota. Kutatóink megcáfolták a klorofill-a fluoreszcencia-tranziensek 60 éve alkalmazott modelljét, és kimutatták, hogy a PSII a nyitott (töltésszétválasztásra kész) és zárt (töltésszétválasztott: PSII_C) állapotokon túl fényadaptált (PSII_L) állapotot is felvesz. A PSII_C-PSII_L átmenet során a töltések stabilizálódnak, amiben rendkívül erős stacionárius és tranziens lokális elektromos terek és dielektromos relaxációs folyamatok játszanak szerepet (5. ábra). Ez új utakat nyithat a PSII reakciócentrumok működésének jobb megértése, valamint mesterséges, bioinspirált fényenergia-hasznosító molekuláris rendszerek tervezése felé.

Fotoszintetikus elektrontranszport. Az SZBK-ban folytatott fotoszintézis-kutatásokban a kezdetek óta nagy hangsúly helyeződött a fényindukált elektrontranszport-folyamatok mechanizmusának feltárására, különös tekintettel a vízbontást is végző PSII komplex működésének részleteire. Ezzel kapcsolatban fontos jelenlegi kihívás a fotoszintetikus elektrontranszport-hálózat folyamatainak számítógépes modellezése (6. ábra) egy kísérleti eszközként is használható *in silico* fotoszintézis-rendszer létrehozására. Egy ilyen rendszer segítségével jól vizsgálhatók az utóbbi időben jelentős hangsúlyt kapott ciklikus és alternatív elektrontranszport-útvonalak, amelyek fontos szerepet játszanak a környezeti stressztényezők káros hatásainak kivédésében, valamint a közvetlen energia- (pl. H₂-) és áramtermelés, illetve bizonyos értékes metabolitok termelődésének fokozásában.

Az elektrontranszport-vizsgálatok új szintjét jelenti a mikrofluidikai rendszerek és a mikroszkópos



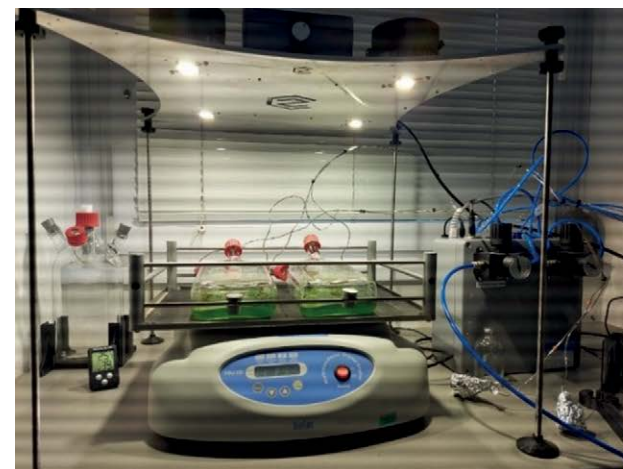
5. ÁBRA. A PSII működése során képződő stacionárius és tranziens elektromos terek összege



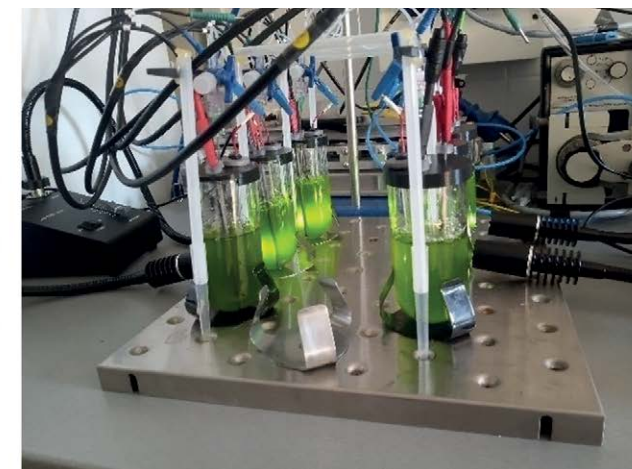
6. ÁBRA. Az *in silico* modellszámítások vázlata mikroalgákban. Látható a fotoszintetikus és a respirációs elektrontranszport-folyamatok hálózata és kölcsönhatásaik a CO₂ megkötéséért és a szénhidrátok metabolizmusáért felelős enzimmalakkal

klorofill-fluoreszcencia képalkotás kombinálása, ami lehetővé teszi a PSII-aktivitás egysejt szintű vizsgálatát a morfológiai változások követésével párhuzamosan.

Reaktív oxigénformák szerepe. A fotoszintetikus elektrontranszport-folyamatok során keletkező ROS-molekulák közül különösen fontos a szingulett oxigén (¹O₂), amelynek kimutatására elektronspin-rezonancia, fluoreszcenciás és oxigénkinetikai módszereket dolgoztak ki, és feltárták ennek a PSII fénykárosításában betöltött szerepét. A kutatások jelenlegi fázisa az ¹O₂ érzékelésének, valamint az általa kiváltott génkifejeződési változásoknak és jelátviteli folyamatoknak a felderítésére irányul a *Synechocystis* 6803 modell-cianobaktériumban.



7. ÁBRA. Zöldalga alapú H₂- és áramtermelő kísérleti berendezések



A tilakoidmembrán nem kettősréteg lipidfázisai. Az SZBK kutatói feltárták, hogy a tilakoidmembránban (TM) a lipidmolekulák a kettősréteg szerkezeten túl nem kettősréteg típusú fázisokat is képeznek, amelyek a vezikuláris TM-rendszer fontos elemeihez – membránfúziókhoz, illetve vízdékony fehérjék és lipidek asszociátumaihoz – rendelkeznek. Dinamikus kicserélődési modelljük (dynamic exchange model, DEM) kiegészíti a biológiai membránok „standard” folyadék-mozaik modelljét. Kutatásaikkal tovább tesztelik a DEM alkalmazhatóságát a TM-energizációban és a regulációs folyamatokban.

A zöldalgák H₂- és áramtermelése. A hidrogéngáz (H₂) ígéretes és tiszta energiahordozó. A H₂ kb. 99%-át azonban jelenleg fosszilis tüzelőanyagokból állítják elő, ami óriási CO₂-kibocsátással jár – ezért szükséges megújuló energiaforrásokon alapuló, lehetőség szerint egylépéses H₂-termelési módszerek kidolgozása. A zöldalgák képesek a fotoszintézisükhöz kapcsoltan H₂-t előállítani hidrogenáz enzimeik segítségével. A H₂ fotoprodukcója elméletileg a leghatékonyabb – biológiai rendszer által megvalósuló – módja a napfény

kémiai energiává történő átalakításának, azonban a jelenlegi hozam még messze áll az ipari alkalmazhatóságtól.

Kutatóink kifejlesztettek egy hatékony és fenntartható módszert, amelyre európai szabadalmi bejelentést tettek. Folyamatos H₂-termelést sikerült megvalósítaniuk a napfény intenzitásán, valamint váltakozó fényviszonyok alatt. Legfőbb jelenlegi célkitűzésük egy bioipari célú H₂-termelésre alkalmas fotobioreaktor tervezése.

A zöldalgák fotoszintézisük során nemcsak H₂-t, hanem elektromos áramot is képesek termelni, ún. bio-fotovoltaikus (BPV) eszközökben. Kutatóink több algaminta egyidejű vizsgálatára alkalmas BPV-eszközöket fejlesztettek. Sikeresen azonosítottak egy zöldalgatörzset (*Parachlorella* sp.), amelynek az áramtermelése mintegy tízszerese a korábban áramtermelésre használt zöldalgafajokénak. Jelenleg az áramtermelés mechanizmusának megértésén és az azt befolyásoló kulcslépések feltárásán dolgoznak.

GARAB GYÖZÖ, TÓTH SZILVIA ZITA,
PETAR H. LAMBREV, VASS IMRE

A SZIMBIOTIKUS NITROGÉNKÖTÉS KUTATÁSA AZ SZBK INDULÁSÁTÓL

A pillangós virágú növények és a *Rhizobium* baktériumok szimbiózisában létrejövő biológiai nitrogénkötés a kezdetektől az egyik legsikeresebb és azóta is világszínvonalú kutatási területe az SZBK-nak. A téma Budapestről, az MTA Genetikai Intézete melletti tenispályáról indult – azaz, hogy az intézet igazgatója, Györffy Barna izolált egy nitrogénkötő *Rhizobium meliloti* baktériumot az ott gyűjtött fehér somkóró gyökérgümőjéből. Az SZBK indulásáig a kutatás ennek a baktériumnak a bakteriofágjára irányult, míg a baktérium és annak genetikai állománya teljesen ismeretlen volt. Az SZBK Genetikai Intézetének egyik fő kutatási témája a szimbiotikus nitrogénkötés lett, ami napjainkban a Növénybiológiai Intézet keretein belül folyik, és még aktuálisabb, mint 50 évvel ezelőtt, amikor még nem volt nyilvánvaló a nitrogénműtrágyák rendkívüli környezetszennyezése és nagymértékű hozzájárulása a klímaváltozáshoz. Amellett, hogy a biológiai nitrogénkötés környezetbarát, a folyamat hatékonyságnak növelése, illetve kiterjesztése a hüvelyeseken kívül más, elsősorban a legnagyobb mennyiségben termesztett szántóföldi növényekre (pl. búza, kukorica, árpa) csökkentheti a nitrogénműtrágyák használatát és nagyban hozzájárulhat a fenntartható mezőgazdasághoz. A nitrogénkötést – azaz a levegő nitrogénjének ammóniává történő redukcióját – a *Rhizobium* baktériumok végzik a nitrogenáz enzimkomplexük révén. Az 1970-es évek végén még élt az a naiv elképzelés, hogy a nitrogénkötéshez elégséges a nitrogenáz strukturális génjeit bejuttatni a növényekbe. Azóta már tudjuk, hogy ez így nem működik, hiszen a nitrogenáz oxigénérzékeny, és a szimbiotikus nitrogénkötés megvalósítása más, nem hüvelyes növényekben rendkívül bonyolult, bár nem lehetetlen feladat. Ehhez azonban ismernünk kell a szimbiotikus nitrogénkötés minden egyes lépésének molekuláris mechanizmusát – azt, hogy milyen molekuláris párbeszéd zajlik a baktérium és a növénypartner között, mik a bakteriális és a nö-

vényi jelmolekulák és effektorok, milyen változások mennek végbe a növényi sejtekben és ezen belül a baktériumokban, valamint hogyan történik ezeknek a differenciálódási folyamatoknak a koordinálása.

A Szegedi Biológiai Központ indulásakor, 1971-ben Sík Tibor csoportja, és ezen belül elsősorban Orosz László folytatta a *Rhizobium meliloti* bakteriofágjával végzett kutatásokat. 1972-ben Kondorosi Ádám csatlakozott a csoporthoz, aki meghatározó alakja lett a szimbiotikus nitrogénkötés kutatásának, előbb Szegeden, majd az egész világon. Elsőként a nitrogénkötés genetikai elemzésére alkalmas rendszert kellett kidolgoznia *Rhizobium meliloti* baktériumban. Ennek első eredményei már egy éven belül közlésre kerültek a *Nature* egyik kiadványában (Kondorosi A és mtsai, 1973). Ezt követően a nitrogénkötési gének bevitelére alkalmas plazmidot állított elő, amelyet a *Nature* folyóiratban publikáltak (Dixon és mtsai, 1976). Munkatársaival hatékony mutánsizolálási eljárást és különféle génbeviteli módszereket (transzformáció, transzdukció, konjugáció) dolgoztak ki, amelyek segítségével megalkották a baktérium kromoszómájának cirkuláris kapcsoltsági térképét, amely kizárólag a szegedi csoport munkája alapján ugyancsak a *Nature* folyóiratban jelent meg (Kondorosi A és mtsai, 1977). Kimutatták, hogy a nitrogénkötésért és a gümők létrejöttéért felelős gének nem az *R. meliloti* kromoszómáján, hanem az egyik nagy molekulású megaplazmidján helyezkednek el.

A '80-as évek elején a nagy kihívást a gümőkötési, ún. nodulációs vagy *nod* gének azonosítása jelentette. Ekkorra Kondorosi Ádám már világszerte ismert volt, nagyszerű munkatársakkal és kiváló hallgatókkal dolgozott együtt. Ennek a hírnévnek köszönhetően 1982-ben Kondorosi Ádám a feleségével, a Biokémiai Intézetben dolgozó Kondorosi Évával együtt meghívást kapott Jeff Schelltől, a kölni Max Planck Intézet igazgatójától, amellyel közös munkájuk elindult. A Max Planck Intézettel éve-



Kondorosi Ádám és munkatársai az 1980-as években

ken át tartó együttműködés jött létre, ami kutatói csereprogramokra és közös PhD-programokra is kiterjedt. 1984-ben elsőként azonosították a *nod* géneket (Kondorosi E és mtsai, 1984), amelyhez Ádám hozta a genetikai tudását, Éva a molekuláris biológiai jártasságát, míg Bánfalvi Zsófia több megaplazmid-deléciós mutánszt állított elő, amelyek *Nod*-fenotípust mutattak, vagyis nem képeztek gümöket. Ugyanebben az évben elsőként publikálták a *nod* gének szekvenciáját is (Török és mtsai, 1984). Kimutatták, hogy a *nod* gének egy része közös, megtalálható más *Rhizobium*-törzsekben is, míg egy másik csoportja specifikus. Ez utóbbiakról igazolták, hogy a gazdageszpecifitásért felelősek, vagyis azért, hogy a baktérium melyik növényen képes gümöket létrehozni – e fontos eredményük 1986-ban jelent meg a *Cell* folyóiratban (Horváth és mtsai, 1986). Azonosították továbbá a *nod* gének promoterében lévő *nod* box szekvenciát (Rostás és mtsai, 1986) és a *nod* gének szabályozásáért felelős transzkripció faktorokat (Gyuris és mtsai, 1989), valamint feltárták számos *Nod* fehérje funkcióját.

IKERLABORATÓRIUM FRANCIAORSZÁGBAN, TÖRETLEN KUTATÁSI SIKEREK SZEGEDEN

Az 1988-as év váratlan kihívást hozott Kondorosi Ádámnak: a francia Nemzeti Tudományos Kutatási Központ (CNRS) felkérte egy új növénytudományi intézet létrehozására Gif-sur-Yvette-ben, annak alapító igazgatójaként. Ezt Ádám csak azzal a feltétellel vállalta el, ha a CNRS egy ikerlaboratóriumot hoz létre a szegedi csoportjával, anyagilag is támogatva az itt folyó kutatásokat, és ösztöndíjat biztosítva a szegedi munkatársaknak a francia intézetben folyó munkákhoz. Ezek a feltételek teljesültek, 1989-ben megnyílt az Institut des Sciences Végétales (ISV). Kondorosi Éva kutatási igazgató lett, és egyike a 4 induló csoport vezetőinek, míg Ádám a saját területén kívül az egész intézet felépítését, tudományos programját és a kutatók kinevezését is irányította a bonyolult francia rendszerben.

Ekkor a szegedi csoportban a baktériumpartner további vizsgálatait Dusha Ilona és Putnoky Péter vezetésével folytatták, míg Kiss György Botond irányításával



Kiss György és munkatársai

a *Rhizobium* baktérium növényi partnerének, a lucernának a genomvizsgálata lett a fő kutatási téma, amihez ki kellett dolgozni a megfelelő molekuláris genetikai vizsgálati módszereket. 1993-ra elkészült a lucerna kapcsoltsági térképe (Kiss GB és mtsai, 1993), és kezdetét vette az a kutatási folyamat, amely a szimbiotikus gének genetikai térképezésén alapuló, klónozással történő azonosítást tűzte ki célul. S bár nagy kihívás volt az NN-1008 jelű tetraploid lucerna Nod⁻-mutánszal nekivágni a térképezésén alapuló génklónozásnak, *Endre Gabriella*, *Kereszt Attila*, *Kevei Zoltán*, *Mihacea Sorina*, *Kaló Péter*, *Kiss György Botond* munkájával sikerült bizonyítani, hogy ebben a mutánsban egy receptorkináz érintett, és ez a NORK fehérje szükséges a gümőfejlődéshez – e jelentős eredményt szintén a *Nature*-ben közölték 2002-ben.

Az SZBK Genetikai Intézetében időközben ismét cserélődött a csoport kutatói állománya. Kiss György Botond és Kaló Péter Gödöllőre, míg Kereszt Attila külföldre történő távozását követően *Endre Gabriella* vezetésével *Kiss Ernő* és *Oláh Boglárka* kutatók vitték tovább a témát. Miközben a fő hangsúly továbbra is a szimbiotikus gének – például a specifikus doménfelépítésű ubiquitin E3 ligázt kódoló *LIN* – és azok funkciójának felderítése volt (Kiss E és mtsai, 2009), a kornak megfelelően modern genomikai módszerek is bevetésre kerültek. Emellett bekapcsolódtak a genomprogram új irányába, a *Medicago truncatula* modellnövény transzpozon indukálta mutáns vonalainak létrehozásába is, amely Kondorosi Ádám vezetésével a francia ikerlaboratóriumból indult.

Az ISV-ben a Nod fehérjék által termelt Nod faktorok kémiai azonosítása (Schultze és mtsai, 1992) és a Nod faktorok által kiváltott növényi reakciók vizsgálata mellett számos, a gümőfejlődésben részt vevő gén



A Gif-sur-Yvette-i csoport magyar, francia, belga és spanyol munkatársai

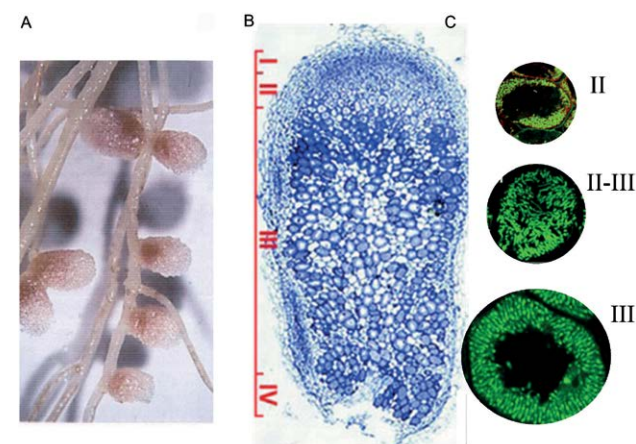
azonosítása történt meg. Emellett a szegedi munkatársak bevonásával a *Rhizobium meliloti* – későbbi nevén a *Sinorhizobium meliloti* – sejtfelszíni poliszacharidjai szimbiotikus szerepének vizsgálata, valamint a *Medicago truncatula* modellnövény mutáns vonalainak fejlesztése is folyt, amelyhez stabil transzformáns növényeket és T-DNS, illetve Tnt1 retrotranszpozon indukálta mutánspopulációkat hoztak létre.

Kondorosi Éva a sejtciklus szabályozását tanulmányozta a gümőfejlődés során, és részben *Dudits Dénes* szegedi csoportjával együttműködve több *Medicago*-sejtciklusgént azonosított és jellemzett. A legnagyobb áttörést a CCS52A fehérje felfedezése jelentette, amely minden növényben megtalálható, és szükséges a sejtciklusból való kilépéshez, majd a sejtek differenciálódásához (Cebolla és mtsai, 1999). Ez a fehérje a gümőfejlődés során a szimbiotikus sejtek endoreduplikációját, vagyis a genom többszöri, sejtosztódás nélküli duplikációját okozza, amellyel hatalmas méretű, 32- és 64-szeres DNS-tartalmú poliploid sejtek jönnek létre, amelyek akár 50 000 baktériumot is befogadhatnak a citoplazmájukba, míg a CCS52A és az endoreduplikációs ciklusok hiányában elmarad a nitrogénkötő gümők fejlődése (Vinardell és mtsai, 2003). Ez a *Plant Cell* folyóiratban megjelent közlemény bizonyította először az endoreduplikáció biológiai szerepét. A növényi sejtekben a baktériumok nitrogénkötő bakteroidokká történő átalakulását vizsgálva a kutatók arra a megdöbbentő felfedezésre jutottak, hogy a bakteroidok is képesek differenciálódásra, még hozzá a növényi sejtekhez hasonlóan endoreduplikációs ciklusok sorozatával, aminek következtében méretük megnő, elveszítik osztódási képességüket és gümön kívüli életképességüket (Mergaert és mtsai, 2006; 1. ábra). Kimutatták, hogy ez a terminális bakteroiddifferenciáció csak bizonyos pillangós virágú növényekben jön létre, és ezt a folyamatot a növény

irányítja. Bizonyították, hogy a bakteroidok terminális differenciációját a szimbiotikus sejtekben termelődő növényi peptidok váltják ki – e nagy horderejű eredményt a *Science* folyóiratban publikálták (Van de Velde és mtsai, 2010).

A BAYGEN INTÉZET MEGALAKULÁSA

Kondorosi Ádám 2006-tól súlyos betegsége miatt már nem tudta folytatni munkáját, és egyre inkább ápolásra szorult, amit nehéz volt Franciaországban biztosítani. Ebben az időben merült fel egy francia-magyar biotechnológiai központ létrehozása Szegeden egy államközi megegyezés révén. A CNRS támogatásával, csoportja megőrzésével Kondorosi Éva is beadta pályázatát a BAYGEN Intézet létrehozására a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Köz-alapítvány keretében. A pályázat nyert, és 2007. március 15-én a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) 5 évre szóló, 1,4 milliárd forintos támogatásával elindult a BAYGEN Intézet 4 témakörben. Ez lehetőséget adott tehetséges kutatók visszahívására külföldről (köztük volt *Maróti Gergely*, *Kereszt Attila*, *Nagy István*) és sok fiatal kutató felvételére is. A kutatásokhoz egyedül az épület nem volt biztosított, amit végül az SZBK-tól sikerült bérelni. 2007 és 2013 között Kondorosi Éva a két intézet között ingázott, és rendkívül előnyös kollaborációt valósított meg a francia és a szegedi intézet munkatársai között.



1. ÁBRA. (A) Nitrogénkötő gyökérgümők. (B) A gümő hosszanti metszete mutatja a szimbiotikus sejtek nagymértékű növekedését. (C) A baktériumpartner differenciálódása a szimbiotikus sejtekben a gümősejtek érése során



A BAYGEN Intézet munkatársai

A BAYGEN Intézetben folyó kutatások a szimbiózisban termelődő növényi peptidok – elsősorban a gümőspecifikus és ciszteinben gazdag NCR-peptidok – funkciójának feltárására irányultak. Mivel a gümőben előidéz a bakteriális sejtosztódás gátlását, a kutatások egy része ezek antimikrobás tulajdonságainak vizsgálatára fókuszált. Az NCR-peptidok antimikrobás tulajdonságait, a bakteriális membránnal kialakuló kölcsönhatásukat és a bakteriális citoszolban e peptidokkal kölcsönhatásba lépő molekulákat számos cikkben részletesen leírják.

A kutatás és a kutatók élete szempontjából meghatározó körülmény volt, hogy 2010-ben – más alapítványokhoz hasonlóan – egy kormányhatározat alapján megszűnt a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Köz-alapítvány. Új befogadó intézetet kellett tehát találni, ami hosszú várakozás után az SZBK lett. Eközben a túlélést az az új generációs szekvenálási szolgáltatás tette lehetővé, amelyet a BAYGEN honosított meg Magyarországon. A csoport 2012 júliusától 2017 közepéig az SZBK Biokémiai Intézetében működött, majd a Növénybiológiai Intézetbe került, ahol később a Genetikai Intézet nitrogénkötéssel foglalkozó munkatársai is csatlakoztak a csoporthoz. A kutatómunkához szükséges anyagi háttérrel Kondorosi Éva sikeres ERC Advanced Grant pályázata, majd ennek lejárta után hazai GINOP és OTKA, jelenleg pedig Kondorosi Éva NKFIH Élővonal pályázata, illetve a Balzan-díjához kapcsolódó kutatási támogatás biztosította és biztosítja, kiegészülve a Biokémiai, majd pedig a Növénybiológiai Intézet által a csoportnak nyújtott támogatással.

A növényi peptidok szimbiózisban betöltött szerepének és antimikrobás hatásmechanizmusának vizsgálatára, valamint gyógyászati és növényvédelmi



Alga és Mikrobiális Genomika Kutatócsoport (2023)

alkalmazására irányuló kutatások újabb jelentős eredményeket hoztak, beleértve számos esszenciális NCR-peptid felfedezését, az NCR247 peptid funkciójának részletes leírását és IRLC-növényekből izolált, több száz NCR-peptid antimikrobás hatásának és fizikokémiai tulajdonságának vizsgálatát. Megállapították, hogy az antimikrobás hatáshoz pozitív nettó töltés, magas izoelektromos pont és rendezetlen szerkezet kell, de emellett az aminosavsorrendnek is döntő szerepe van. Több peptid 0,8–1,6 μM koncentrációban is képes elpusztítani a legkevésbé kezelhető ESKAPE patogéneket (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* és *Enterobacter*-fajok) és számos gombát is anélkül, hogy toxikusak lennének a humán sejtekre, ezért ezek felhasználása a gyógyászatban és a növényvédelemben is rendkívül ígéretesnek tűnik.

Az NCR-gének kizárólagos gümöspecifikus kifejeződése alapján feltételezték, hogy expressziójukat olyan transzkripciósfaktorok szabályozzák, amelyek az evolúció során velük együtt jelentek meg a gümőben. A csoport munkatársai feltárták azonban, hogy az NCR-géneket a gümőben meglévő AHL DNS-kötő fehérjék indukálják, amit 2023-ban egy *Nature Plant*-cikkben publikáltak.

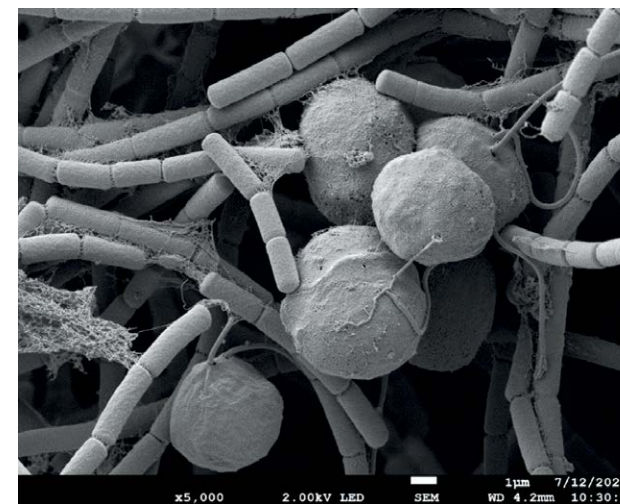
Az NCR-peptidek mellett vizsgálják a glicinben gazdag peptidek (GRP) evolúcióját és szimbiotikus funkcióikat. Kereszt Attila és munkatársai a Kentucky Egyetem kutatóival együttműködve kimutatták, hogy a növény a korábban leírt NORK fehérjével rokon recep-

torok, illetve bizonyos NCR-peptidek segítségével válogat a lehetséges szimbiotikus partnerek közül, feltárva ezzel a gazda-baktérium specificitás újabb szintjeit.

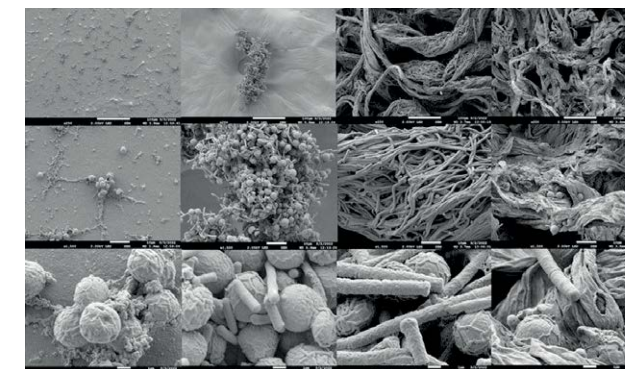
Az utóbbi évek során a kutatócsoport összetétele ismét jelentősen változott. A csoport vezetését 2018-ban Kaló Péter vette át, aki folytatta és jelenleg is folytatja a szimbiotikus növényi gének azonosítását mutánsok térképezése alapján. Az új tagok bekapcsolódásával párhuzamosan a kezdetek óta velünk dolgozó munkatársak részben új útra léptek, önálló kutatócsoportokat alakítottak. Az egyik legproduktívabb munkatársunk, Maróti Gergely a Növénybiológiai Intézetben az Alga és Mikrobiális Genomika Kutatócsoport vezetője lett.

ALGA ÉS MIKROBIÁLIS GENOMIKA KUTATÓCSOPORT

A szimbiotikus interakciók egy speciális változatának kutatására épült fel 2017-től kezdve az Alga és Mikrobiális Genomika Kutatócsoport a Növénybiológiai Intézetben Maróti Gergely vezetésével, aki korábban Kondorosi Éva munkatársaként dolgozott a BAYGEN Intézetben. A kutatócsoport fő érdeklődési területe az eukarióta zöldalgák és baktériumpartnereik közötti kölcsönhatások kutatása (2. ábra), az interkingdom-interakciók molekuláris mechanizmusainak feltárása és a természetes, illetve szintetikus alga-baktérium közösségek hasznosítási lehetőségeinek vizsgálata. A fundamentális kutatásokban nagy szerepet kapnak a modern omikai



2. ÁBRA. *Chlamydomonas* eukarióta zöldalga kölcsönhatása egy poliszacharidot termelő *Bacillus* baktériummal



3. ÁBRA. A *Chlorella* eukarióta zöldalgák és *Bacillus* baktériumpartnereinek interakciója alkalmazható biohidrogén-termelésre

technológiák: a kutatócsoport rutinszerűen alkalmaz genomikai, transzkriptomikai és metabolomikai eljárásokat. Ezeket a nagy áteresztőképességű technikákat ötvözik a hagyományos fiziológiai vizsgálatokkal (pl. növekedés- és fotoszintézis-vizsgálatok), valamint a legújabb képalkotó (imaging) eljárásokkal (elektronmikroszkópia és különféle fluoreszcens módszerek). A kutatócsoport széles nemzetközi kapcsolatrendszerének köszönhetően számos külföldi fiatal tudós és PhD-hallgató vesz részt aktívan a kutatómunkában.

Az alga-baktérium interakciók hasznosításának lehetőségeit számos területen kutatjuk: ilyen a bio-

lógiai szennyvíztisztítás hatékonyságának növelése – beleértve speciális szennyvizek (pl. egyes termálvizek) sómentesítését – vagy a növény-növekedés serkentése alga és baktérium alapú, frakcionált növényi biostimuláló ágensek létrehozásával. Emellett például biohidrogén-termelésre is alkalmazhatók a zöldalgák (3. ábra). Ennek egyik speciális megközelítési módszere, hogy az algák mellett baktériumpartnereket alkalmazunk a direkt fotolitikus és fotofermentatív hidrogéntermelés hatékonyságának fokozására.

KONDOROSI ÉVA, MARÓTI GERGELY

GÉNSZERKESZTÉS ÉS NÖVÉNYNEMESÍTÉS A ZÖLD VILÁG VÉDELMEBEN

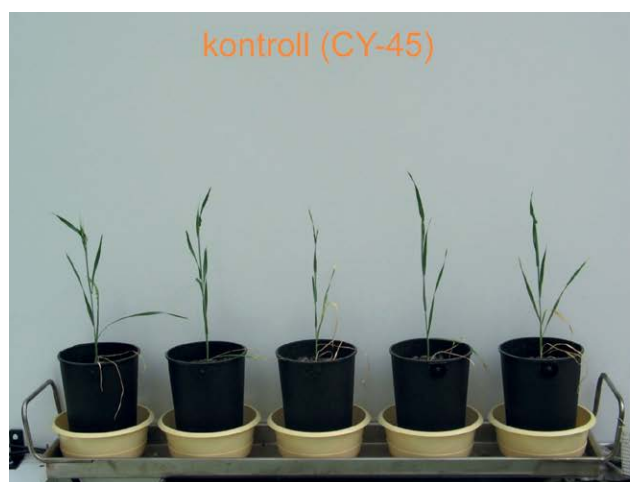
Már az SZBK alapításakor kiemelt figyelemben részesültek a növénybiológiai kutatások, és ezen belül fontos szerepet kaptak a növénynemesítéshez kapcsolódó projektek, így a mutánsok *in vitro* izolálása, majd a protoplasztok fúziójával megvalósított hibridizáció területén az SZBK munkatársai nemzetközi sikereket értek el. Összhangban az új nemzetközi kutatási irányokkal, *Koncz Csaba* kezdeményezte a rekombináns DNS-módszerek használatát a kukoricagének izolálásához. Fontos mérföldkő volt, hogy 1986-ban megjelent az első hazai transzgenikus növényt bemutató közleményünk. Ezt követően a géntechnológia mind a kutatásban, mind a nemzetközi együttműködésekben meghatározó szerepet játszott. Rendkívüli bevételt eredményezett a Gabonakutató Intézettel (GKI), valamint a Hoechst AG-vel folytatott, több mint egy évtizedes együttműködésünk. A közös szabadalommal védett transzgenikus kukoricát világszerte termesztették. Párhuzamosan intenzív génizolálási kutatás folyt, elsősorban a hiszton és a sejtciklusgének funkcionális jellemzése érdekében.

Az utóbbi évek, de különösen a 2022. év termésadatai teljesen nyilvánvalóvá tették, hogy az aszály

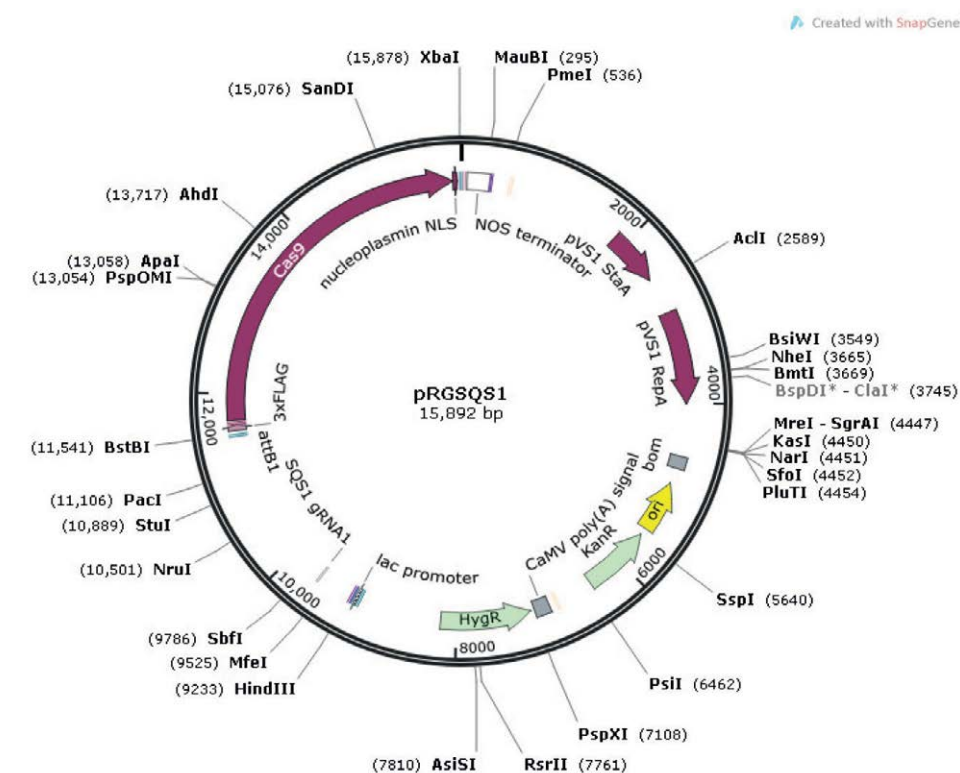
a hazai agráriumot is igen súlyosan károsíthatja. Sajnos a hazai GMO-ellenesség kikényszerítette az SZBK és a GKI által előállított, szárazságtoleráns transzgenikus búza-tenyésztanyagok megsemmisítését. Az 1. ábra jól szemlélteti, hogy a lucerna egyik méregtelenítő génjét hordozó búzanövények vízhiányban is képesek még kalászkodni. A magyar agrárium hatalmas tévedése, hogy a hazai kutatók szellemi termékét, amely kiváló alternatívát nyújthatott volna a szárazság pusztító hatásainak enyhítésére, saját magunk utasítottuk el, máig ható érvényességgel.

GÉNSZERKESZTÉSI MÓDSZEREKKEL MEGVALÓSÍTOTT, GÉNSPECIFIKUS, MEGTERVEZETT GENETIKAI BEAVATKOZÁSOK A NÖVÉNYTUDOMÁNYOK FÓKUSZÁBAN

Egy kiválasztott célgén szekvenciájának megváltoztatása akkor lehetséges, ha rendelkezésre áll olyan módszer, ami biztosítja az élő sejtekben a célgén felismerését, illetve létrehozza a megtervezett nukleotid kicserélését vagy akár cseréjét. Ezeket a kritériumokat elégíti ki többek között a CRISPR/Cas9 genomszerkesztési



1. ÁBRA. A lucerna *MsALR* génjét hordozó búza (AKR) jobb szárazságtűrősebb a méregtelenítő aldo-keto-reduktáz enzim fokozott aktivitása miatt (Juhász és mtsai, 2014)



2. ÁBRA. A kukorica szqualén-szintáz (SQS) génjének kikapcsolását eredményező mutáció indukálása érdekében szerkesztett transzformációs vektor (Nagy Bettina és Zombori Zoltán)

módszer, amely az elmúlt tíz évben nélkülözhetetlen eszköze lett a növénykutatásnak és a növénynemesítésnek. Tekintettel a kukoricát is súlyosan károsító aszály okozta veszteségekre, az Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért Nemzeti Laboratórium (RRF-2.3.1-21-2022-00007) program keretében, a kukorica szárazságtűrésének javítása érdekében folyamatban van a növény több génjének kikapcsolása a CRISPR/Cas9 módszerrel. Ahogy a 2. ábrán bemutatott transzformációs vektor szemlélteti, ez a megközelítés lényegében GM növényt eredményez, ezért különféle, éveken át tartó keresztezési programokkal kell az idegen géneket kiszűrni, illetve transzgenmentes CRISPR/Cas9 technológiák kifejlesztésére van szükség.

ALTERNATÍVA A TRANZSGÉNMENTES GÉNSZERKESZTÉSRE

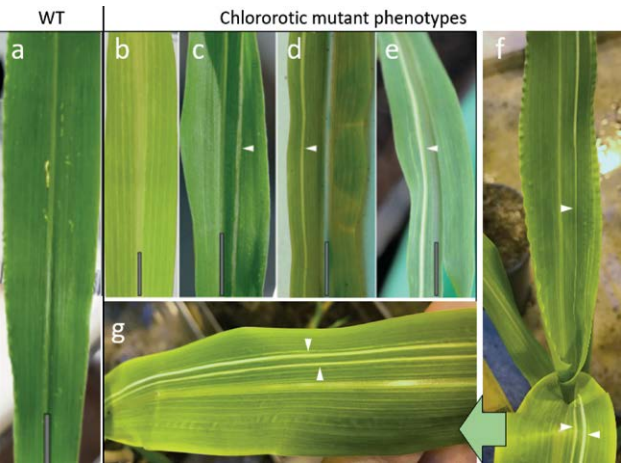
A gének szerkesztésének egy speciális, a növények esetében ritkán használt módszere, amikor a célgén szekvenciája alapján kémiai szintézissel létrehozott, rövid, 30–50 nukleotidot tartalmazó DNS-molekulát juttatunk be a növényi szövetekbe, sejtekbe.

Idehaza az OligoNukleotid-Irányított Mutagenézis (ONIM) technológia kiemelt jelentőségű, hiszen az így előállított növények nem hordoznak idegen gént, tehát a szakma szabályai szerint nem tekintendők GMO-nak. Bízva az EU tudományosan megalapozott döntésében, mi a jelenlegi kutatásainkban az ONIM hatékonyságának javítására koncentrálnak. A 3. ábrán az egyik ONIM génszerkesztési módszer sikerességét mutatjuk be. Ebben az esetben a hibás zöld fluoreszcens gént (GFP) hordozó kukorica-kalluszszöveteket a korrekt nukleotidszekvenciájú

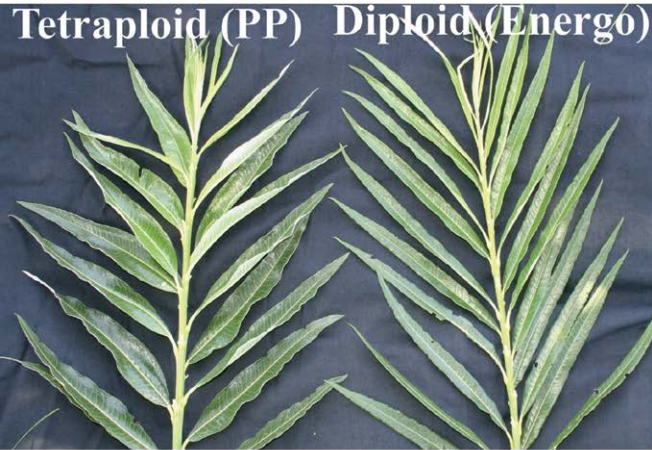


C
hibás GFP gén szekvenciája: 5'-.....AAG GGC TAG GAG CTG TTC-3'
oligonukleotid szekvencia részlet: 5'-.....AAG GGC GAG GAG CTG TTC-3'
korrigált GFP gén szekvenciája: 5'-.....AAG GGC GAG GAG CTG TTC-3'

3. ÁBRA. A specifikus nukleotidcseré helyreállítja a zölden fluoreszkáló gén működését (Tiricz és mtsai, 2018)



4. ÁBRA. Kukorica-hajtásmerisztémák kezelése a fitoén-deszaturáz (PDS) gén kikapcsolását okozó szintetikus DNS-molekulákkal (Rádi és mtsai, 2021)



5. ÁBRA. A tetraploid növények nagyobb levélfelülete fokozott CO₂-megkötéssel párosul (Dudits és mtsai, 2016)

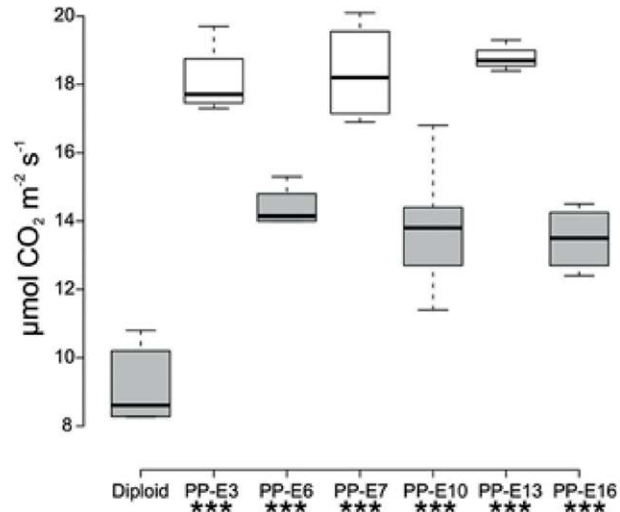
DNS-molekulák belövésével lehetett kijavítani, amit a megjelenő zöld fluoreszcens sejtek és szövetek jelenléte mutat. A korrekció a nukleotidszekvencia szintjén is igazolható.

A kukorica-csíránövény merisztémáját is kezeljük a génspecifikus, szintetikus DNS-molekulákkal. Ebben az esetben a fitoén-deszaturáz (PDS) gén elrontása klorotikus fenotípust eredményez a kifejlett levelekben. A kísérlet eredményének ugyan nincs agronómiai előnye (markerként használtuk a PDS gént), a technológia viszont kiváló megoldást nyújt nemcsak a transzgénmentes génszerkesztésre, hanem a kukoricakallusz genotípusfüggő, korlátozott regenerálódó képességének áthidalására is (4. ábra).

AZ ENERGIAFŰZ NEMESÍTÉSÉVEL
A KLÍMAVÁLTOZÁS MÉRSÉKLÉSÉÉRT

A biomasszahozam növelése érdekében két genetikai módszert, a poliploidit és a heterózishatást kombináltuk. Amint az 5. ábrán látható, a levélfelület növekedésén túl az egységnyi (m²) felület által megkötött CO₂ koncentrációja is szignifikánsan nagyobb a tetraploid növény esetében. Bár a tetraploid változatok nagyobb gyökérzetet fejlesztenek, a nagyobb levélfelülettel összefüggésben a tetraploid növények fokozottan érzékenyek a vízhiányra.

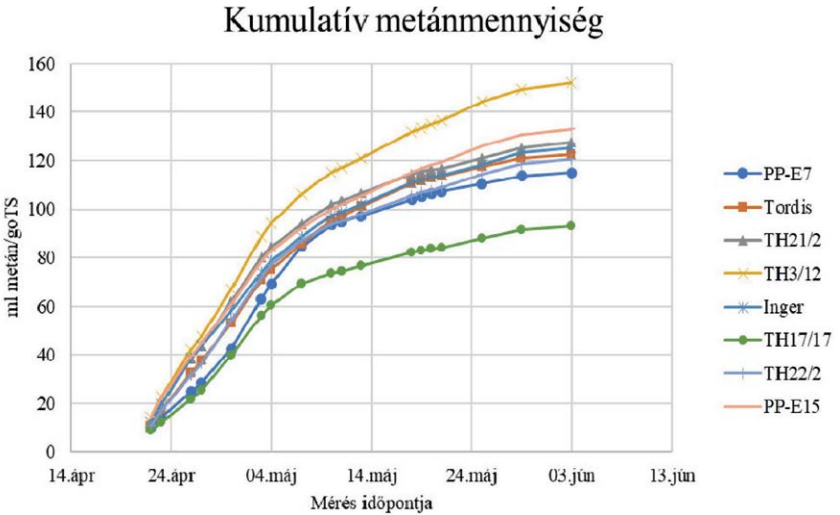
A triploid heterózis kihasználása érdekében a tetraploid fűz genotípusokat kereszteztük a sikeres svéd diploid fajtákkal. A hibrid vigor számos tulajdonság javulását okozta (6. ábra).



PP-E 15	TH 22	INGER
2n=4x 76	2n=3x=57	2n=2x 38
36,20 cm	48,66 cm	44,73 cm
9,0 db	22,0 db	15,0 db
19,49 mm	35,14mm	40,36 mm

6. ÁBRA. A triploid hibrid (TH22) zöld biomassza-paraméterei jobbak, mint a szülői növényeké

Genotípusok	Lignin (%)
Inger	16,83 ± 4,07
TH21/2	17,21 ± 4,74
PP-E7	15,02 ± 1,09
Tordis	15,18 ± 1,06
TH17/16	18,09 ± 0,25
PP-E15	16,12 ± 3,03
TH3/12	13,89 ± 350
TH22/2	16,80 ± 1,97
PP-E2/5	19,28 ± 1,19
PP-E3/5	13,11 ± 1,20



7. ÁBRA. A biogáztermelés hatékonysága függ az energiafűz-genotípusok lignintartalmától (Dudits és mtsai, 2022; biogáz-fermentációs kísérletek: Szűcs Csilla, Bagi Zoltán, Kovács Kornél)

A 2–3 éves, fás fűzhajtásokat mint energiatermelési alapanyagokat – elégetés helyett – biogáz előállítására célszerű használni. A Szegedi Tudományegyetem Biotechnológiai Tanszékének munkatársaival folytatott többéves együttműködésünk során igazolódott, hogy a kis lignintartalmú genotípus (TH3/12) aprítékainak fermentálása nagyobb biometánhozamot biztosít (7. ábra).

Az elmúlt öt évtizedben a csoport több sikeres kutatói közössége vett részt a sejt differenciálódás és -osztódás molekuláris alapjainak kutatásában, ki-

terjedt nemzetközi kapcsolatokkal. A változó összetételű csoportok kutatói aktív szerepet vállaltak az eredmények hasznosításában a biológiai produkció és a környezeti alkalmazkodás területén. Külön köszönet illeti a mostani Génspecifikus Mutagenézis és Növényi Produkció Csoport minden tagját az alkotó hozzájárulásért. Fentebb eredményeiből mutattunk be néhány példát.

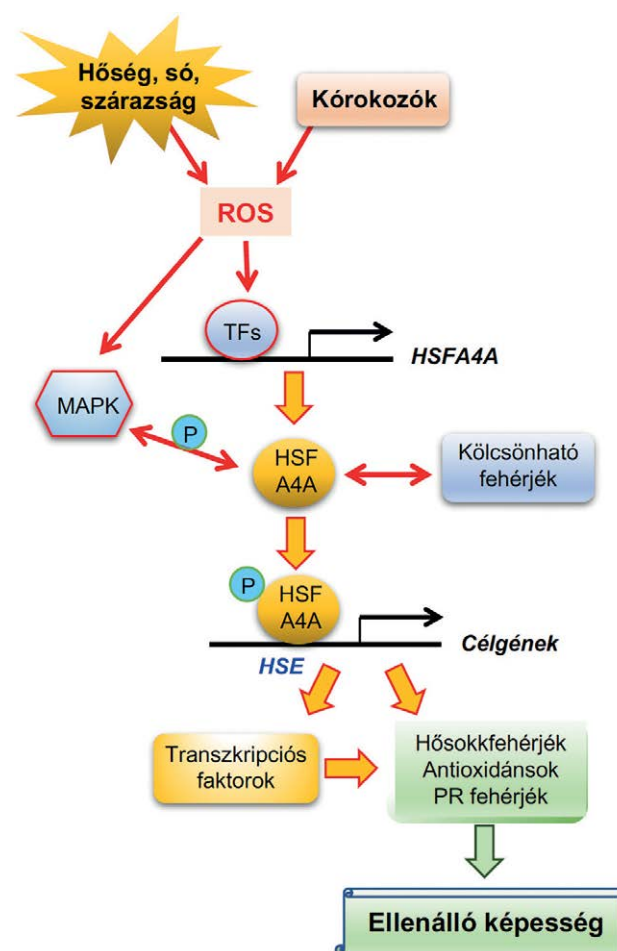
DUDITS DÉNES, FERENC GYÖRGYI, NAGY BETTINA,
ZOMBORI ZOLTÁN, RÁDI FERÍZ, FERHAN AYAYDIN

A STRESSZTŰRÉS MOLEKULÁRIS HÁTTERE A MAGASABB RENDŰ NÖVÉNYEKBEN

A növények és a környezet kapcsolatát régóta és sokféle módon vizsgálják, de a klímaváltozás miatt ennek a témakörnek megnőtt a jelentősége. Az extrém környezethez való alkalmazkodás kérdése tudományos szempontból az egyik legizgalmasabb területe a növénybiológiai kutatásoknak. Gyakorlati jelentősége is óriási, hiszen a mezőgazdaság számára egyre fontosabbak azok a növényfajták, amik a mostaniaknál jobban tűrik a szárazságot, a hőséget vagy a szikes talajokon is elfogadható termést hoznak.

A növénybiológiai kutatások legfontosabb modellje az *Arabidopsis thaliana* (lúdfű). E növény tanulmányozásával sikerült felfedezni a legfontosabb szabályozási folyamatokat, az alkalmazkodás genetikai alapjait. *Koncz Csaba*, a Növénybiológiai Intézet volt munkatársa a kölni Max Planck Institute Növény-nemesítési Kutatóintézetében dolgozta ki az *Arabidopsis* T-DNS-inszerciós mutagenesis-konceptióját és a technológia alapjait. A Koncz-laborral együttműködve *Szabados László* csoportja megvalósított egy *Arabidopsis* T-DNS inszerciós mutagenesis-programot, ami lehetővé tette a szárazság- és sótűrés szabályozásában és az abszcizinsav közvetítette jelátvitelben részt vevő mutánsok azonosítását. A mutagenesis-program egyik jelentős eredménye a *PPR40* gén azonosítása és jellemzése volt, ami a mitokondriális elektrontranszport stabilizálása révén befolyásolja az ozmotikus és sóstresszel szembeni toleranciát.

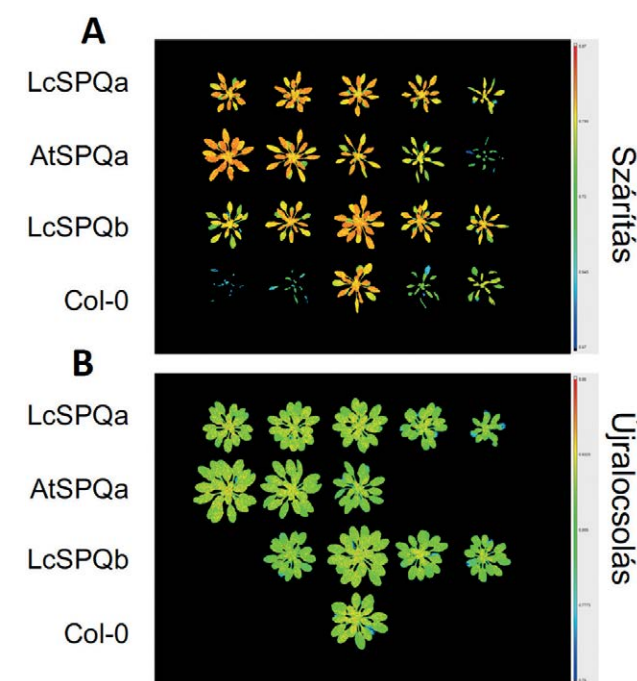
A Koncz-laborral való együttműködés másik fontos technikai fejlesztése egy új típusú genetikai rendszer kidolgozása volt, ami cDNS-könyvtár-transzformáción alapult. A génkönyvtárral nagyszámú transzgenikus *Arabidopsis*-növényt hoztunk létre, amit különféle genetikai szűréseknek vetettünk alá, hogy a sóstressznek, illetve az ozmotikus stressznek ellenálló vonalakat izoláljunk. Így sikerült azonosítani egy addig kevésbé ismert hősokkfaktort, a HSFA4A-t, ami tompítja az oxidatív és a sóstressz hatását. Kimutattuk, hogy a HSFA4A szubsztrátja a ROS indukálta MPK3, MPK6,



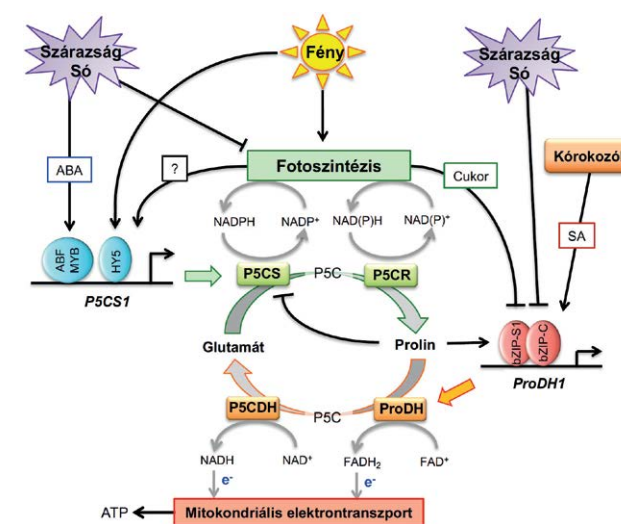
1. ÁBRA. A HSF4A transzkripciós faktor kölcsönhatásainak modellje

valamint az MPK4 MAP kinázoknak, és összekapcsolja a peroxidszignált több stresszindukált gén aktivációjával. Újabb kísérleteink megerősítették, hogy a HSFA4A faktor túltermelése segíti a növények túlélését kombinált hő- és sóstressz esetén is.

A Bayer CropScience céggel együttműködésben a cDNS-könyvtár-transzformációs rendszert használtuk a só-tűrő *Lepidium crassifolium* (sziki zsázsa) génjeinek azonosítására. Több olyan *Lepidium*-gént azonosítottunk, amelyek javítani tudták az *Arabidopsis* só-, ozmotikus vagy oxidatív stressz-

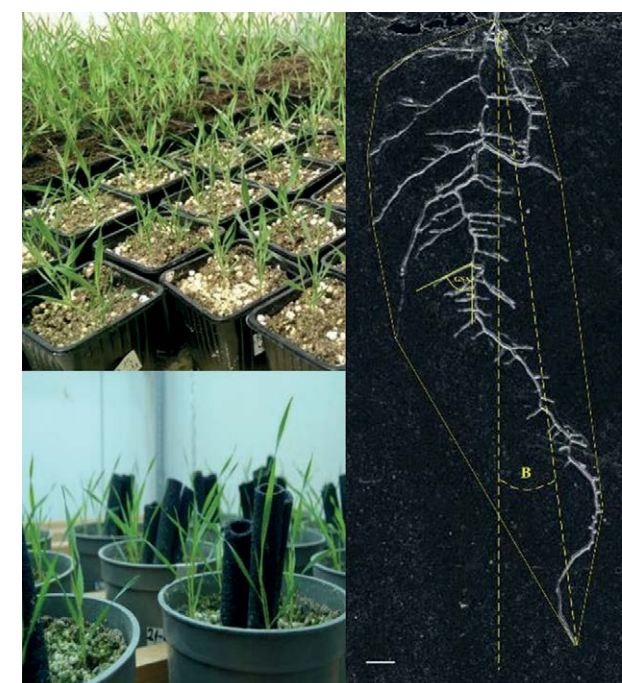


2. ÁBRA. Az SPQ-tútermelő növények jobban tűrik a vízmegvonást. Fenotipizálás segítségével igazoltuk, hogy vízmegvonás után az SPQ-tútermelő növényekben nagyobb a fotoszintetikus aktivitás és jobb a növények túlélése (klorofil-a fluoreszcia kép)



3. ÁBRA. A prolinmetabolizmus modellje. A stressz indukálta prolin-bioszintézist a fény is serkenti, míg a katabolizmust az ozmotikus stressz és a fény gátolja

szel szembeni ellenálló képességét. Így izoláltunk egy apró fehérjét kódoló gént (*SPQ*), ami fokozza az *Arabidopsis*-növények paraquatrezisztenciáját és érzékenyebbé teszi a növényeket az abszcizin-



4. ÁBRA. Szálkaperje nevelése szárazságtűrés vizsgálatokhoz és gyökérarchitektúrája rizotronban

sav (ABA) hatásával szemben. Az ABA-érzékenység javította a növények szárazságtűrését, amit a SZBK új fenotipizáló rendszerével is igazolni tudtunk (2. ábra).

A Szabados-csoport egyik fő érdeklődési területe a prolinmetabolizmus és a stresszválasz kapcsolata. A prolin az egyedüli aminosav, aminek a koncentrációja szárazság- és sóstressz hatására drasztikusan megemelkedik a növényekben. A kölni Koncz-laborral és egy izraeli kollégával (*Aviah Zilberstein*, Tel-Aviv University) megvalósított kutatásaink során bizonyítottuk, hogy a prolin-bioszintézist szabályozó P5CS enzimet két, eltérő szabályozás alatt álló *Arabidopsis*-gén kódolja. A só indukálta P5CS1 gén működését ABA-jelátvitel ellenőrzi, de a gén expressziója függ a fényszignáloktól is. Egy argentin kutatóval (*Maria-Elena Alvarez*, University of Córdoba) való együttműködés bizonyította, hogy a prolinmetabolizmus egyes növénypatogén kölcsönhatások során is fontos szerephez jut, a prolínkatabolizmus pedig elősegíti a hiperszenzitív reakció kialakulását. Egy francia kutató kollégával (*Arnould Savouré*, Sorbonne University, Paris) közösen kidolgoztunk egy új modellt a prolinmetabolizmus szabályozásáról és funkciójáról (3. ábra). A modellt leíró közleményünk a SZBK legtöbbet idézett tudományos publikációja.

A szálkaperje (*Brachypodium distachyon*) egyszikű modellnövény, amely a búza, árpa, rozs közeli rokonaként segíti a gabonafélék kutatását. Intézetünkben tíz éve folynak a szálkaperje gyökérfejlődésének szabályozását célzó kutatások (4. ábra), amivel közelebb jutunk a gabonafélék szárazságtűrésének megértéséhez is. Eredményeinkből kitűnik, hogy a növény gyökérzetében a hajtáshoz képest egyszerűbb cirkadán óra működik, alacsonyabb szinten kifejeződő óragénekkel. A vízhiány hatására a gyökérben áthangolódik a cirkadán óra működése, a *GIGANTEA* gén kifejeződésének csúcsa megemelkedik, és későbbi napfázisra tolódik. A szárazságtűrésben kulcsszerepet

játszó prolin szintje és az azt szabályozó *P5CS* gén aktivitása a stressz hatására napi ingadozást mutat a hajtásban, ami nem áll cirkadián szabályozás alatt. A prolin éjszakai lebontásáért felelős ProDH enzim génje viszont cirkadián szabályozás alatt áll. A vízhiányhoz való alkalmazkodás során a prolinbioszintézis génjei nem mutatnak megemelkedett működést a gyökérben, ami azt jelzi, hogy a prolin nem játszik számottevő szerepet a gyökér szárazsághoz való adaptációjában.

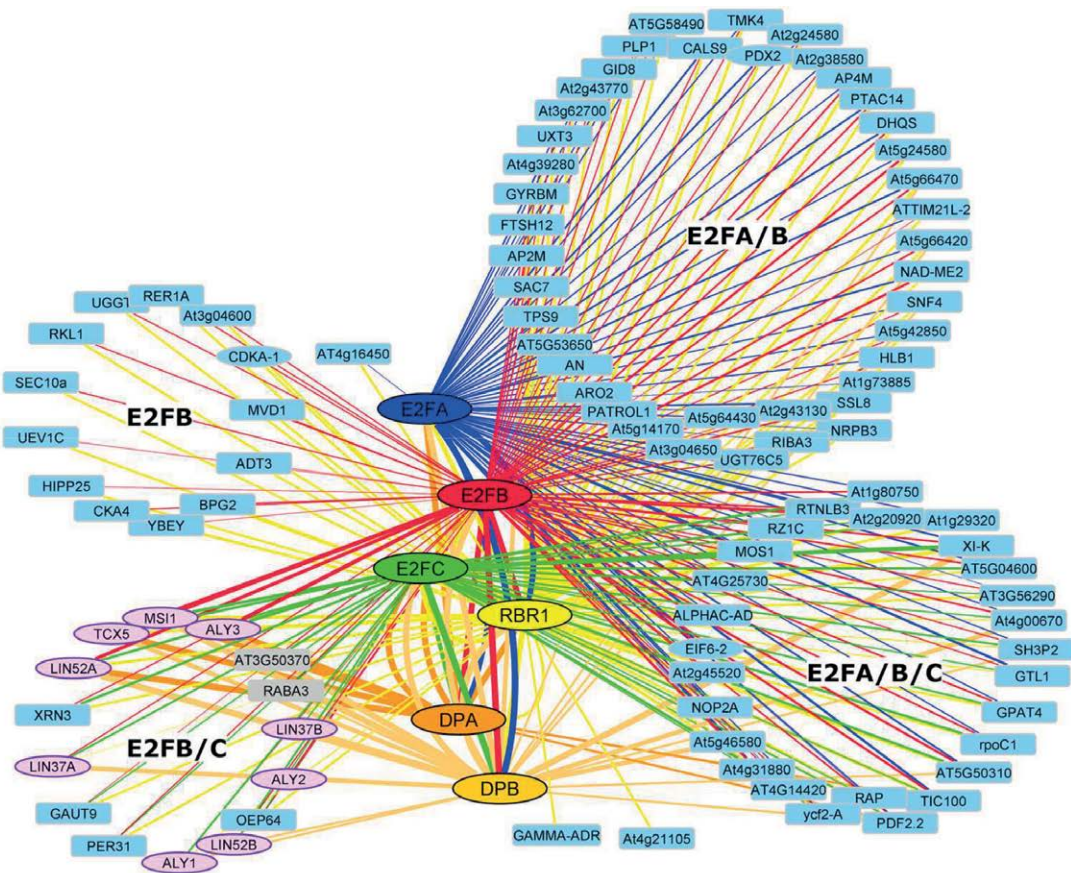
SZABADOS LÁSZLÓ, GYÖRGYÉY JÁNOS,
KONCZ CSABA

A NÖVÉNYI NÖVEKEDÉS ÉS SEJTOSZTÓDÁS SZABÁLYOZÁSA

A növények egész életük során folyamatosan hoznak létre új szerveket. Ezt a képességüket a szervképző régióknak, az ún. merisztémáknak köszönhetik: ezek a hajtás, illetve a gyökér csúcsi részei, amelyek a folyamatos növekedést és a szervek (levelek, virágok, gyökér) létrehozását teszik lehetővé a növény számára. Ezek a folyamatok egyrészt a növény fejlődési programja által meghatározottak, de a környezet is jelentősen befolyásolja őket, ezért nincs két teljesen egyforma növény. Kutatásaink alapvető célja, hogy jobban megértsük ezt

a rugalmasan szabályozott, csak a növényekre jellemző és a környezethez folyamatosan alkalmazkodó növekedési és szervképződési folyamatot. A kutatócsoport a merisztémák működésének fenntartásához és a szervképződéshez szükséges molekuláris szabályozási mechanizmusokat vizsgálja.

A merisztémasejtek akár több ezer éven át is megőrizhetik osztódási képességüket, míg a merisztémát elhagyó sejtek nyugalmi állapotba kerülnek, és differenciálódnak. Az osztódás és a nyugalmi állapot/differenciálódás közötti egyensúlyt egy evolúciósan



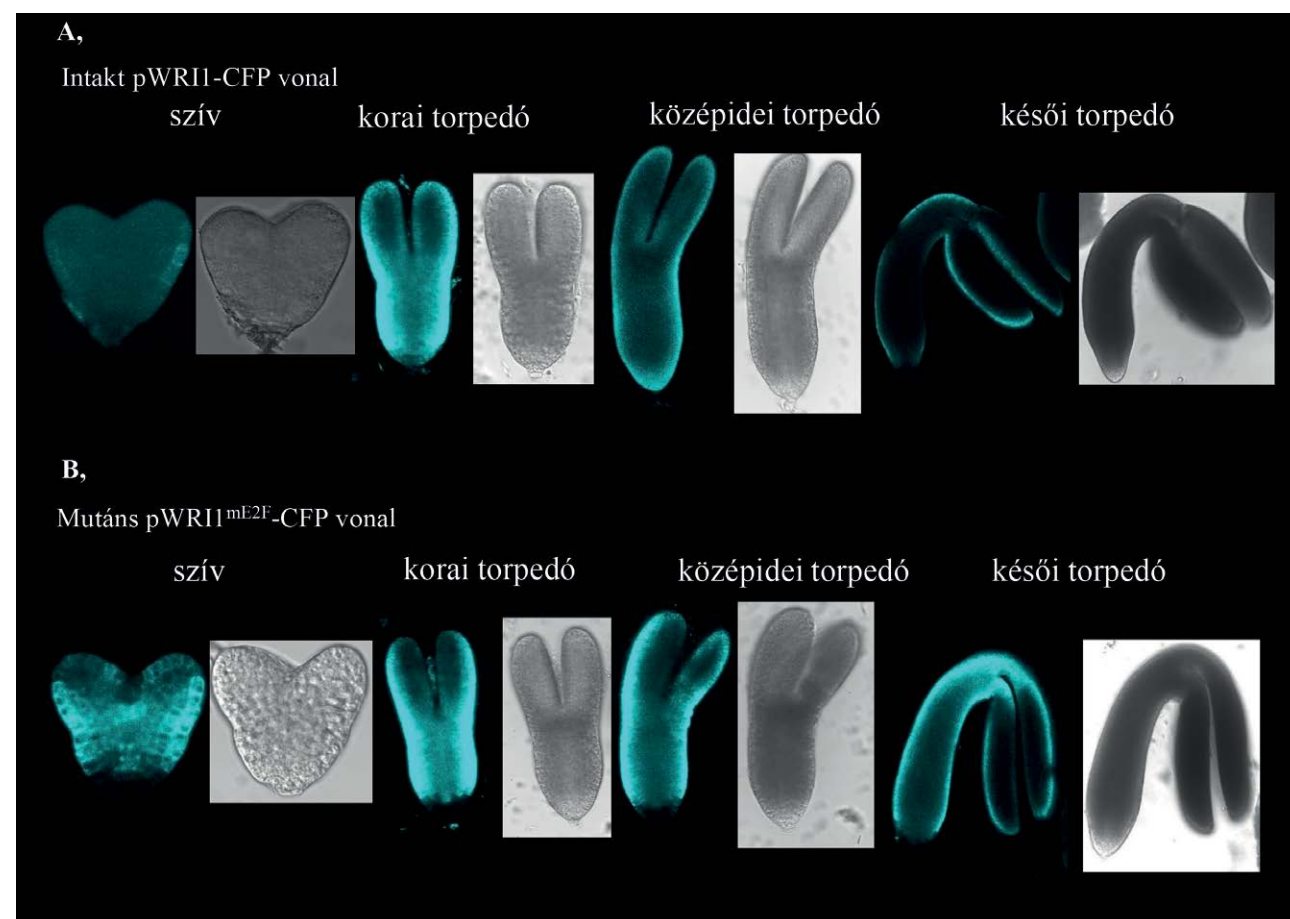
1. ÁBRA. Az E2F-DP és RBR fehérjék kölcsönható partnerei *Arabidopsis*-csíranövényekben. A meta-tömespektrometriás analízis 182 immunprecipitálási kísérlet eredménye, amelyek E2F-, DP- és RBR-GFP-vel asszociált fehérjékkel történtek. Az E2FB és E2FC transzkripciós faktorok nemcsak a DP és RBR fehérjékkel, hanem a DREAM komponensekkel is komplexbe lépnek (rózsaszínnel jelölve; cytoscape ábrázolás – Lang és mtsai, 2021)

konzerválódott transzkripció szabályozás, az E2F-RB ellenőrzi, amely a növényekben is megtalálható. Az E2F transzkripció faktor biokémiai kapcsolóként működik: a retinoblasztóma (RB) fehérje kötött formája gátolja, míg a szabad E2F bekapcsolja a sejtosztódási géneket. A retinoblasztóma-rokon (RBR) fehérje az állati RB tumorsuppresszor növényi megfelelője. Az *Arabidopsis* modellnövény egyetlen RBR génnel és három vele együttműködő E2F transzkripció faktorral rendelkezik, de az egyszikűekben két eltérő funkciójú RBR fehérje van. Az *Arabidopsis* növénybeli E2F transzkripció faktorok lehetnek aktivátorok (E2FA és E2FB) vagy represszorok (E2FC). Kimutattuk, hogy az aktivátor E2FB fehérje túltermeltetése a növényi növekedési hormon (auxin) hiányában is képes sejtosztódást stimulálni.

Megállapítottuk, hogy az auxin ellentétesen szabályozza az aktivátor E2FB és a represszor E2FC transzkripció faktorokat. Ez a két E2F azonban nemcsak

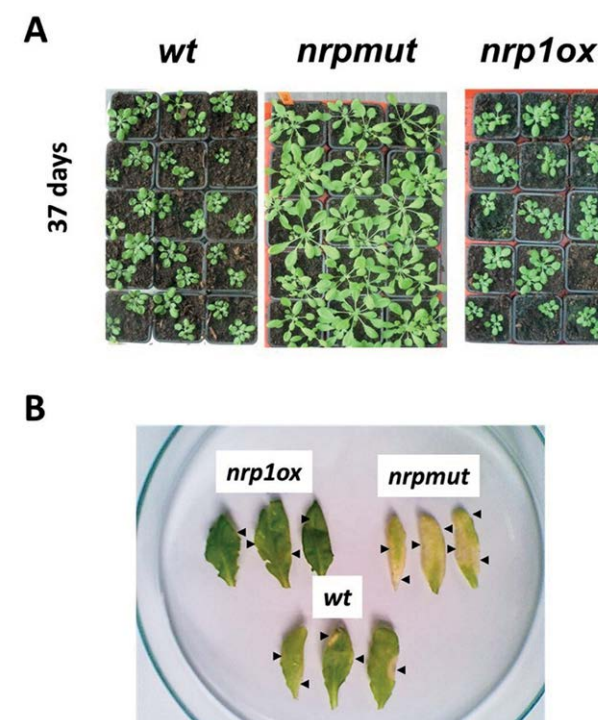
az RBR fehérjével áll kölcsönhatásban, hanem részt vesz egy többkomponensű fehérjekomplex kialakításában is, amit az állatokban DREAM komplexnek neveztek el. Ez a komplex irányítja a sejtosztódási ciklus folyamatát különböző S- és M-fázis-specifikus transzkripció faktorok koordinált beépülésével, de felelős a nyugalmi állapot kialakításáért is. Kimutattuk, hogy az állati DREAM komplex összes komponense megtalálható az *Arabidopsis*-növényben (1. ábra); DNS-károsító stresszfaktorok hatására az E2FB belép a DREAM komplexbe, és a sejtciklusgének gátlásán keresztül leállítja a gyökér növekedését.

Különböző E2F-mutánsokat tanulmányozva megállapítottuk, hogy az aktivátor E2F faktorok hiányában nem áll le a sejtosztódás az *Arabidopsis*-embrióban, de károsodik az osztódási és a mag éréséért felelős gének koordinációja (2. ábra). A legújabb eredményeink alapján az E2F faktorok az RBR fehérjével együttműködve meghatározó szerepet játszanak a nyugalmi

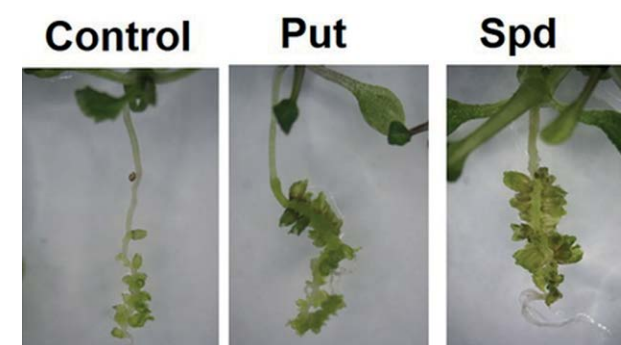


2. ÁBRA. A WRINKLED 1 (WRI1) transzkripció faktor embrióspecifikus megjelenését az E2F transzkripció faktorok szabályozzák (A–B). Éretlen magokból izolált fejlődő embriókról konfokális pásztázó (laser scanning) mikroszkóppal készült reprezentatív felvételek, amelyek az intakt (A) és az E2F kötőhelyen mutáns (B) WRI1 promotereket tartalmazzák (pWRI1-CFP és p^{mutE2F}WRI1-CFP riportervonalak; Leviczky és mtsai, 2019)

állapot kialakításában, így ezen a szabályozási mechanizmuson keresztül a növények növekedése és szerveik mérete befolyásolható lehet.



3. ÁBRA. (A) Lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) funkcióvesztéses mutáns (nrpmut) egyedeinek felgyorsult egyedfejlődése és (B) a korai öregedéssel összefüggő fokozott kórokozó-érzékenység (*Sclerotinia* gombafertőzés okozta levélsárgulás). nrp1ox – a gént túlexpresszálo növényvonal (funkciónyerés) (Barna és mtsai, 2018)



4. ÁBRA. A poliaminok (putrescin, illetve spermidin) javítják a gyökérből citokininkezeléssel indukált hajtásregeneráció hatékonyságát lúdfű (*Arabidopsis thaliana*) növényben (Kaszler és mtsai, 2021)

A közelmúltban a csoport jelentős eredményeket ért el a növényi egyedfejlődést és a kórokozókkal szembeni védekezést összehangoló jelátviteli útvonalak tanulmányozásában is. Igazolták az öregedés és a betegséggel szembeni ellenálló képesség szabályozásának molekuláris szintű összekapcsolódását (3. ábra). A növényi morfogenezishez kapcsolódó jelátviteli utakat kutatva elsőként azonosítottak és jellemezték növényekben Rho-típusú (ROP) GTPázok által aktivált proteinkinázokat, és feltárták azok növény-specifikus aktiválási mechanizmusát, továbbá elsőként igazolták kísérletekkel, hogy a ROP GTPázok maguk is foszforilációs szabályozás alatt állhatnak. Leírták a ROP GTPáz aktiválta kinázok szerepét a növényi növekedés és fejlődés szabályozásában, valamint a gombakórokozókkal szembeni védekezésben. Ez utóbbi kutatások nemzetközi együttműködésben folytak Ralph Hüchelhoven professzor munkacsoportjával (Technical University of Munich).

A növények rugalmas egyedfejlődési programja lehetővé teszi akár egyedi sejtek *in vitro* átprogramozását is oly módon, hogy abból teljes növény legyen felnevelhető (4. ábra). A növényeknek ez a rendkívüli regenerációs képessége számos növényi biotechnológiai alkalmazás (pl. mikroszaporítás, genomszerkesztés) nélkülözhetetlen alapja. A kutatócsoport több évtizedre visszanyúló hagyományokat folytatva tárta fel a növények *in vitro* regenerációs folyamatainak újabb részleteit, többek között a poliaminok szerepét (4. ábra). Emellett számos új elméletet dolgoztak ki az *in vitro* növényregenerációval kapcsolatban, és megcáfolták a kutatási területen teret hódított tudományos dogmákat.

Kutatásaink hosszú távon elvezethetnek olyan gazdaságilag fontos növényfajták nemesítéséhez, amelyek növekedése és fejlődése jobban alkalmazkodik a változó termesztési feltételekhez, illetve általánosságban jobban megfelel a termesztési/felhasználási igényeknek.

FEHÉR ATTILA, MAGYAR ZOLTÁN

ENZIMOLÓGIAI INTÉZET

1113 BUDAPEST, KAROLINA ÚT 29.
H-1518 BUDAPEST, PF. 7.



PROTEOLITIKUS ENZIMEK AZ IMMUNVÁLASZBAN

Az ELTE TTK vegyész szakán 1985-ben végeztem, de az Enzimológiai Intézet munkájába már korábban bekapcsolódtam mint diákkörös és diplomamunkás hallgató. Akkoriban nem volt könnyű diákként bejutni egy nagy hírű akadémiai intézetbe; az évfolyamunkból többen is pályáztunk a meghirdetett helyekre. Büszkeséggel töltött el, hogy a kiválasztottak között lehettem, és elkezdhettem a kutatómunkát a *Závodszky Péter* által vezetett Szerkezeti Biofizika Munkacsoportban. A kutatócsoport munkájába bekapcsolódva azonnal lenyűgözött a fehérjék sokoldalú világa, szerkezetük és az élő szervezetben betöltött változatos szerepük. Ekkor kezdtem el a komplementrendszerrel foglalkozni, ami azóta is a fő kutatási területem.

A komplementrendszer a veleszületett (vagy más néven természetes) immunitás egyik legősibb és legfontosabb effektor ága. Tulajdonképpen egy fehérjemolekulákból álló hálózatról van szó, amely mindent tud, amit az immunrendszernek általánosságban tudnia kell: felismeri a veszélyes struktúrákat (pl. baktérium, vírusfertőzött vagy sérült saját sejt), majd megjelöli és elpusztítja azokat. A szűken vett hálózatot mintegy 40 fehérjemolekula (vérben oldott, illetve sejtfelszínhez kötött proteín) alkotja. A legfontosabbak azok a szerinproteáz enzimek, amelyek szekvenciális aktiválódása vezet az effektor funkciók kiteljesedéséhez. Ebben az értelemben a komplementrendszer tulajdonképpen egy proteolitikus kaszkádrendszer, ami szoros evolúciós és funkcionális rokonságban áll a vérben található többi kaszkádrendszerrel (vér-alvadás, fibrinolízis, kallikrein-kinin rendszer). A komplementrendszer egy rendkívül hatékony sejtpusztító rendszer; a megtámadott sejtek membránjába beépülő fehérjekomplex, a membránkárosító komplex közvetlenül okozza a sejtek lízisét. Az aktiváció során keletkező proteolitikus fragmentumok pedig egyrészt gyulladások keltő hatásúak, másrészt a sejtekre lerakódva fokozzák azok fagocitózis ál-

tali eltávolítását. A komplementaktiválódás során számos regulátor fehérje biztosítja, hogy az aktiváció csak a megfelelő helyen, időben és mértékben menjen végbe, és saját sejtjeink védettek legyenek a komplementrendszer támadása ellen.

Amikor én elkezdtem a kutatómunkát, a komplementrendszernek még csak két aktiválódási útvonalát ismerték: a klasszikus és az alternatív utat. A klasszikus utat az adaptív immunválasz során keletkező antitestek (IgG, IgM) indítják be, amelyek az antigénekhez kapcsolódva immunkomplexet alkotnak azokkal. Innen ered a rendszer (mint később kiderült: hibás) elnevezése, mert korábban (a XIX–XX. század fordulóján) úgy vélték, hogy a komplementrendszer csak kiegészíti (mintegy „komplementálja”) az antitestek funkcióját. Ma már tudjuk, hogy a komplementrendszernek ennél jóval sokoldalúbb funkciói vannak; az antitestektől függetlenül is beindítja a természetes immunválaszt, és az adaptív immunválasz szabályzásában is fontos feladatokat lát el. A másik aktiválódási utat, az antitestektől független alternatív utat az 1950-es években fedezték fel, de több mint 20 év kellett ahhoz, hogy a tudományos közvéleményben általánosan elfogadottá váljon.

Amikor 1985-ben, a diploma megszerzése után mint végzett vegyész és a Tudományos Minősítő Bizottság (TMB) ösztöndíjasa kezdtem dolgozni, az Enzimológiai Intézetben a komplementaktiválódás klasszikus útja volt a fő kutatási téma, elsősorban az iniciációs komplex (azaz az öt fehérjemolekulából álló C1 komplex) szerkezete és aktiválódási mechanizmusa. *Závodszky Péter* rendkívül előrelátó módon felismerte, hogy a jövőt a molekuláris biológiai megközelítés jelenti, amit akkor Magyarországon csak az SZBK-ban lehetett megtanulni. Ezért megszervezte, hogy az első évet a *Venetianer Pál* által vezetett Biokémiai Intézetben, *Pósfai György* kutatócsoportjában tölthessem. Itt elsajátíthattam a génszabályozást és a rekombináns fehérjeexpresszió

alapjait, amit a későbbi munkám során rendkívüli mértékben tudtam hasznosítani. Budapestre visszatérve nagy lelkesedéssel láttam munkához, és *Verne N. Schumaker* amerikai vendégprofesszorral (Kaliforniai Egyetem – UCLA), aki akkor egy évet a laboratóriumunkban töltött, nekiálltunk a C1 komplex egyes komponenseinek rekombináns expressziójához. Ez a munka később több publikációt is eredményezett, de a szakmai karrieremben az igazi áttörést egy újonnan felfedezett aktiválódási útvonal, a lektin út működésének tisztázása hozta el.

HOGYAN KERÜLT LÁTÓTÉRBE A LEKTIN ÚT?

A lektin út egy antitestektől független útvonal, ami a szervezet egyik első védvonalát képezi a bakteriális fertőzések ellen. Az első bizonyíték a lektin út létezésére 1987-ben született, amikor japán kutatók kimutatták, hogy egy addig ismeretlen szérumfehérje, az MBL (mannózkötő lektin) baktériumsejtek felszínéhez kötődve képes beindítani a komplementaktivációt. Ezután a '90-es években és a 2000-es évek elején sorra fedezték fel a lektin út többi komponensét, az MBL-hez kapcsolódó szerinproteázokat (MASP-1, -2, -3) és ezek splice variánsait, valamint további, az MBL-hez hasonló funkciójú, mintázatfelismerő molekulákat. Mi az elsők között voltunk, akik a szerinproteázokat (MASP-okat) rekombináns formában előállítottuk és enzimatikusan jellemeztük, valamint az ELTE Kémiai Intézetében *Harmat Veronikával* együttműködve a térszerkezetüket is meghatároztuk röntgendiffrakciós módszerrel.

Talán a legnehezebb feladat a három proteáz-komponens, a MASP-1, a MASP-2 és a MASP-3 élettani funkciójának tisztázása volt. Sokáig az volt az uralkodó dogma, hogy a lektin út aktiválásához elegendő csupán a MASP-2, mivel ez a proteáz képes autoaktiválódni és hasítani a C2 és C4 komponenseket, ami azután a kaszkádrendszer további aktiválásához vezet. A messze legnagyobb koncentrációban jelen lévő MASP-1-nek csupán kiegészítő szerepet tulajdonítottak. Ezeket az eredményeket ugyanakkor főleg MASP-1 génkiütött (KO) egerek szérumával végzett kísérletekre alapozták. Mi úgy éreztük, hogy ez a modell nem írja le a valóságot, mivel csupán a legkisebb koncentrációban jelenlévő proteázzal (MASP-2) számol, ezért egy alapvetően más kísérleti megközelítést választottunk. Ehhez

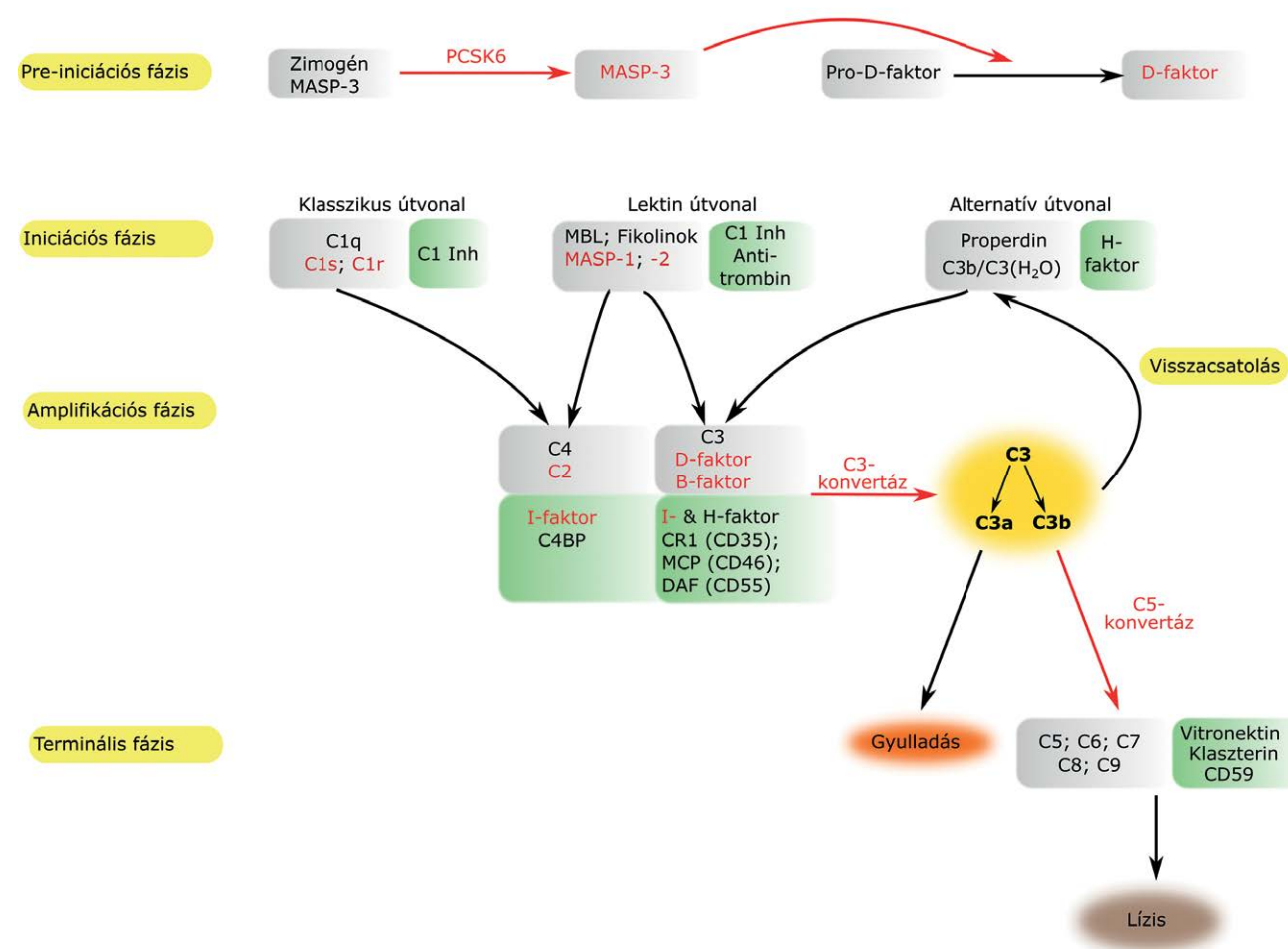
olyan, a természetben nem létező, specifikus inhibitorokra volt szükségünk, amelyek szelektíven csak a MASP-1-et vagy a MASP-2-t gátolják. Éppen ekkor tért haza amerikai tanulmányútjáról *Pál Gábor*, az ELTE Biokémiai Tanszékének kutatója, aki az akkori Magyarországon egyedülálló mesterséges fehérjeevolúciós technikát, a fágbemutatást (phage display) honosította meg laboratóriumában. Itt, az ELTE laborjában az általunk kifejezett rekombináns proteázok felhasználásával sikerült előállítani a specifikus inhibitorokat. A szelektív inhibitorokkal végzett kísérletek minden várakozásunkat felülmúlták. Kiderült, hogy a MASP-1 gátlása a lektin út teljes és tartós leállítását okozza. Hasonló eredményt kaptunk a MASP-2 gátlása során is. Mindez azt mutatta, hogy a MASP-1 nem mellékszereplő, hanem a MASP-2-vel egyenértékű főszereplő a lektin út aktiválódásában. További kísérletekkel egyértelműen igazoltuk a lektin út valós aktiválódási mechanizmusát: első lépésként a MASP-1 autoaktiválódik, és az aktív MASP-1 a MASP-2 kizárólagos aktivátora.

Mondanom sem kell, hogy az uralkodó dogmával szemben rendkívül nehéz volt Budapestről elfogadtatni az új komplementaktiválódási modellünket. Több nagy presztízsű újság szerkesztősege még csak bírálatra sem volt hajlandó kiküldeni a kéziratunkat, míg végül a *PNAS* folyóiratnál sikerült áttörést elérnünk. Azóta a modellünk általánosan elfogadottá vált, és más kutatócsoportok más módszerekkel is igazolták. Sőt, az egyik legnépszerűbb amerikai immunológia tankönyv, a *Janeway's Immunobiology* is átvette a modellünket és hivatkozik a cikkeinkre.

A KUTATÁS EZZEL NEM ÉRT VÉGET

A következő fontos eredményünk a MASP-3 fiziológiai funkciójának felderítése volt. A figyelmünket ez irányban is a MASP-1 génkiütött egerek szérumával végzett kísérletek keltették fel. Japán kutatók azt tapasztalták, hogy a MASP-1 KO egerek vérében nem működik a komplementrendszer alternatív aktiválódási útvonala, mert az egyik iniciáló enzim, a D-faktor inaktív (zimogén) állapotban van jelen. A komplementproteázokra általában az jellemző, hogy zimogén formában vannak jelen a vérben, és csak a veszélyszignálok megjelenése után aktiválódnak. Ez alól csak néhány kivétel van – az egyik a D-faktor, ami hasított, előaktivált formában található meg a vérben. A japán kutatók azt a követ-

A komplementrendszer áttekintése



1. ÁBRA. A komplementrendszer aktivációs útvonalai. A klasszikus, a lektin és az alternatív út különböző aktivációs felszíneken (patogének, megváltozott saját sejtek) indulnak be. A preiniciációs fázisban – még a veszélyszignálok megjelenése előtt – megtörténik a D-faktor aktivációja. Az ábrán a proteolitikus aktivitással rendelkező komponenseket piros szín jelöli. A komplementaktiváció szabályozását számos vérben oldott és sejt felszínhez kötött fehérje végzi. A regulátor fehérjéket zöld háttér jelzi

keztetést vonták le a kísérleteikből, hogy a MASP-1 felelős a D-faktor aktiválásáért. Nem vették azonban figyelembe, hogy a MASP-1 gén kiütése a MASP-3 proteázt is eltünteti a vérből, mivel a MASP-1 és a MASP-3 ugyanannak a génnek az alternatív splicing termékei. Kutatócsoportunkban Dobó József vezetésével egy olyan kísérleti rendszert állítottunk be, amellyel nyomon tudtuk követni a D-faktor aktiválódását az emberi vérben. Eredményeink szerint csak a vérplazmához adott MASP-3 volt képes csökkenteni a pro-D-faktor féléletidejét, a MASP-1 és -2 azonban nem. Az ELTE laboratóriumában előállított MASP-3-specifikus inhibitor pedig teljesen leállította a D-faktor aktiválódását. Igazoltuk tehát,

hogy az emberi vérben a MASP-3 a D-faktor kizárólagos aktivátora. Ezzel egyrészt sikerült tisztáznunk a MASP-3 komplementaktiválásban betöltött szerepét, másrészt alapvető kapcsolatot mutattunk ki a lektin út és az alternatív út között.

Egy fontos megválaszolandó kérdés azonban még ezután is maradt: mi a MASP-3 aktivátora? A MASP-3 ugyanis zimogén formában képződik és nem képes autoaktivációra, tehát lennie kell egy proteáznak, ami aktiválja, hogy azután képes legyen a D-faktort hasítani. Kimutattuk, hogy az emberi vérben a MASP-3 molekulák mintegy 80 százaléka aktív formában kering. Beállítottunk egy, a MASP-3 aktiválódásának nyomon követésére alkalmas rend-

szert, és azt a teljesen váratlan eredményt kaptuk, hogy a MASP-3 aktivátora nem egy tripszinszerű szerinproteáz, hanem egy, a szubtilizinek családjába tartozó proprotein-konvertáz, a PCSK6 (PACE4). A proprotein-konvertázok (pl. a furin) rendkívül fontos élettani szerepet töltenek be a különféle fehérje-előalakok (pl. hormonok, receptorok, adhéziós molekulák) érésében és processzáálásában, ám az immunválaszban betöltött szerepükről mindaddig semmit sem tudtunk.

Összegezve az eredményeinket, megállapítottuk, hogy az alternatív út általunk „preiniciációs” fázisnak nevezett szakaszában a PCSK6 aktiválja a MASP-3-at, ami azután aktiválja a D-faktort (1. ábra). Ez a mechanizmus biztosítja az alternatív út azonnali beindítását, ha veszélyes struktúra jelenik meg a vérben.

TERÁPIÁS POTENCIÁL

Az ELTE-vel közösen fejlesztett proteázinhibitorok mellett, hogy rendkívül értékes kutatási eszközöknek bizonyultak, gyógyszerfejlesztés kiindulási molekulái is lehetnek. Az utóbbi időben ugyanis számos betegségről kiderült, hogy kialakulásában és/vagy progressziójában szerepet játszik a komplementrendszer túlzott, patológiás aktiválódása. Az egyes komplement-útvonalak célzott gátlása potenciális terápiás módszer lehet az ilyen betegségek esetében. Az általunk előállított inhibitor molekulákra szabadalmi bejelentést nyújtottunk be és spin-off céget alapítottunk a hasznosításra; a fejlesztésbe igyekszünk kockázati tőkét is bevonni.

GÁL PÉTER

EGY TRANSZPORTER, EGY NUKLEÁZ ÉS EGY METABOLIT: A TRIÓ, AMELY A MESZESEDÉS KOTTÁJÁBÓL JÁTSZIK

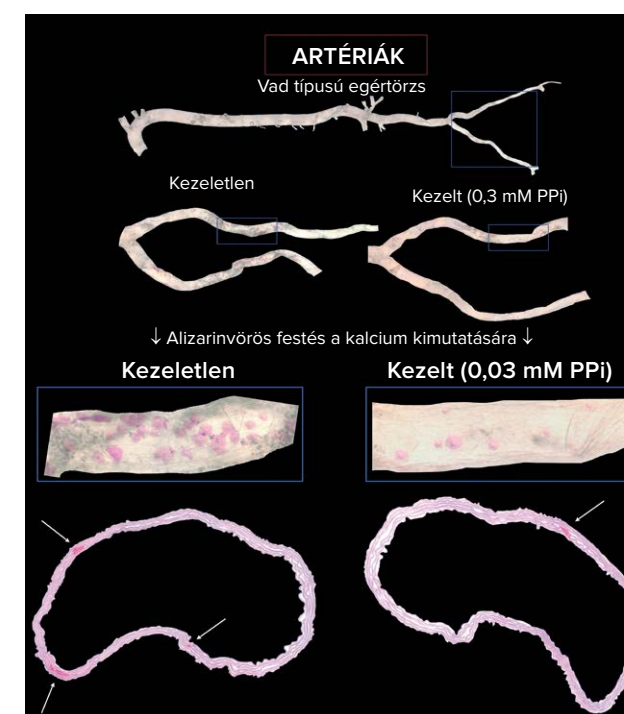
A mi kutatócsoportunkat a kötőszöveti meszesedés (*connective tissue calcification, ectopic calcification*) kutatása tartja lázban. Ez a jelenség patológiás, azaz betegséget okozó, illetve bizonyos betegségek velejárója. Leginkább az artériák meszesedéséről szoktunk hallani, de számtalan szövet és szerv lehet „áldozata” ennek a nemkívánatos folyamatnak: a bőr, a szem, a vese, az ízületek – hogy csak néhány példát említsünk a leggyakoribbnak számító artériás meszesedés mellett. Ez utóbbinak két típusát ismerjük: az egyik az ateroszklerózis, amikor plakkok képződnek az artériák belső falán, majd ezek meszesednek, szűkítve az ér belső átmérőjét. A másik típus az arterioszklerózis: az artériák középső (media) rétegét alkotó simaizomsejtek meszesedése. Ebben a kóros állapotban az érfal flexibilitását biztosító izomháló egyre ridegebbé válik. Ez utóbbi tartozik az általunk vizsgált, és számos esetben a szervezet más helyén is kialakuló meszesedési spektrumhoz.

A (pato)fiziológiai kutatások egyik eredményes útja a monogén öröklődő betegségek vizsgálata – ezeket a betegségeket a kérdéses kórfolyamatok modelljeinek tekintjük. A mi SZBK-s múltunkban nagy szerepet kapott az ABC-fehérjék kutatása; *Sarkadi Balázssal, Szakács Gergellyel, Bakos Évával, Laczka Csillával és Tusnady Gáborral* elsősorban a tumoros sejtek multihidrog-rezisztenciáját okozó ABC-transzporterekkel foglalkoztunk. A kalcifikáció felé elindító fordulópontot egy 2000-ben publikált új felfedezés jelentette: leírták ugyanis, hogy az ABCC6 fehérje génjében előforduló mutációk egy pseudoxanthoma elasticum (PXE) nevű meszesedési betegséget okoznak.

Csoportunk még az ABC-fehérjék kutatásának kezdetén bebizonyította, hogy az ABCC6 organikus aniontranszporter, és az általunk megvizsgált néhány – betegséget okozó – mutáció a transzportfunkció elvesztését okozza (Iliás és mtsai, 2002). Az ABCC6

fehérje elsősorban a májban expresszálódik, a PXE kórképre jellemző meszesedési tünetek viszont több szövetet és szervet (bőr, szem, artériák, vese) érintenek – tehát tipikus *ektopikus* kalcifikációval járó kórleírásról van szó, és ennek megfelelően a PXE a metabolikus betegségek családjába tartozik. Feltételeztük tehát – mint később kiderült: helyesen –, hogy az ABCC6 fehérje a májsejtekből a véráramba transzportál valamit, ami képes megakadályozni a meszesedést. Ha a kialakult mutációk miatt a fehérje nem működik, akkor ez az „inhibitor” hiányzik a keringésből, tehát elindul a meszesedési folyamat. A „mágikus” metabolit után hosszú évekig tartó – sajnos sikertelen – kutatást folytattunk, de nemcsak mi, hanem velünk egy időben számos más kutatócsoport is, a világ különböző országaiban. A megfjtással végül egy tehetséges holland kutató, *Koen van de Weetering* állt elő 2014-ben (Jansen és mtsai, 2014). Felfedezték, hogy az ABCC6 elősegíti az ATP hepatocitákból való kijuttatását a véráramba. Az ATP-t a májsejtek felszínén lévő ektonukleáz, az ENPP1 AMP-re és pirofoszfátra (PPi) hasítja, a pirofoszfátról pedig ismert, hogy hatékonyan képes gátolni az ektopikus kalcifikációt. Nemcsak az ABCC6, hanem az ENPP1 mutációi is öröklődő kalcifikációs betegséget okoznak (generalized arterial calcification in infancy, GACI), és mindkét betegségre jellemző, hogy a PPi keringésbeli koncentrációja lényegesen kisebb, mint az egészségesek esetében. A puzzle-t tehát sikerült összerakni! Tudományos körökben ugyanakkor egyöntetűen uralkodott az a vélemény, hogy ez a nagy felfedezés nem „fordítható le” terápiára, hiszen tankönyvi adat, hogy a PPi nem szívódik fel, ha szájon át kerül be a szervezetbe, tehát nem jut be a keringésbe, illetve a perifériára, ahol a meszesedés kialakul. Márpedig az eredményes terápia érdekében a pirofoszfát pótlásra egész életen át szükség van, ezért csak a szájon át való gyógyszerbevitel jöhet szóba.

Számunkra ugyanakkor a per os biológiai hasznosulás teljes hiányát kimondó, „bioavailability zero” dogma mégsem tűnt teljesen megalapozottnak. Rövid töprengés után úgy döntöttünk, hogy adunk egy esélyt a szájon át bejuttatott pirofoszfátnak. Mind a két betegség állatmodellje, az Abcc6 és az Enpp1 knock-out (KO) egértörzs is rendelkezésünkre állt a laborban, és tudtuk, hogyan kell a kalcifikáció előrehaladtát mérni. Nátrium-pirofoszfátot (PPi) kevertünk az állatok ivóvizébe (miközben a kontrollcsoport továbbra is tiszta vizet kapott), és megfelelő idő után összehasonlítottuk a bőrben, az artériákban, a vesében kialakult mészklerakódás mértékét a kezelt és a kontrollcsoport között. A kételkedés „bejött”: kimutattuk, hogy az ivóvízbe kevert PPi meggátolta a meszesedést (1. ábra). Ami persze azt is jelzi, hogy a PPi – egérben legalábbis – felszívódik, hiszen



1. ÁBRA. A szájon át bejuttatott pirofoszfát gátolja a kalcifikációt a meszesedési betegségek állatmodelljeiben. Az ábra az Enpp1 KO egérrel végzett egyik kísérletet mutatja be: az egerek egyik csoportja 0,3 mM koncentrációjú pirofoszfátoldatot (PPi) ivott, a másik csoport (kezeletlen kontroll) pedig vizet kapott 55 napon át. Az ábrán a láb artériája (a. iliaca) látható; az alizarinörös a lerakódott kalciumot festi. Az aorta keresztmetszeti képe bizonyítja, hogy a meszesedés az artéria középső (media) rétegében alakult ki. Kísérleteink mindkét állatmodellre (Abcc6 KO és Enpp1 KO) kiterjedtek, és az artériákon kívül a bőr, a vese és – egy indukált módszer segítségével – a szívizom meszesedését is vizsgáltuk. A szájon át bejuttatott pirofoszfát minden területen eredményesen gátolta a meszesedést

másképp hogyan láthattunk volna pozitív változást? (Később sok kísérletben azt is sikerrel demonstráltuk, hogy PPi az emberi szervezetben is felszívódik a gyomor-bél rendszerből.)

EREDMÉNYEK, SZABADALOM, GYAKORLATI JELENTŐSÉG

Az első pozitív kísérleti eredmények után fontos tényező volt, hogy a fent említett holland kutató, *Koen van de Weetering* több jó ötlettel is hozzájárult a kutatómunka további lépéseihez, majd néhány hónappal később Budapestre jött, és számos kísérletet együtt végeztünk el. Egy kiváló külföldi kollégámtól pedig a következő jó tanácsot kaptam: „Mielőtt bekülditek a cikket vagy előadást tartasz az eredményeitekről bárhol, ezt szabadalmaztatni kell!” Én húzódoztam, mert azt gondoltam: majd elolvassák a cikket, és akit érdekel, elkezd a gyógyszerfejlesztést. „A világ nem így működik! – cáfolt rá erre a kolléga – Ha nincs védve egy felfedezés, senki nem fog pénzt szánni arra, hogy továbbfejlessze, mert nem lehet biztos abban, hogy más nem fogja megelőzni, és akkor az ő összes erőfeszítése és a kutatásba investált pénze semmivé válik. Egy találmányt meg kell védeni, különben nem lesz hasznosítás.” Végül tehát megszületett a szabadalom, amely 85 százalékban a mi intézetünk és 15 százalékban a Holland Rákkutató Intézet (Nederlands Kanker Instituut, NKI – itt dolgozott *Koen van de Weetering*) tulajdona lett. Az NKI óriási kapcsolatrendszerrel és tapasztalattal rendelkezik egy ilyen felfedezés „hasznosításában”, így a megállapodás szerint ezen eredmények hasznosításán is az NKI munkálkodik. Ezzel beleugrottunk a transzlációs kutatás mélyvizébe.

Az eredményeinket bemutató kéziratot beküldtük a jól pozicionált *EMBO Molecular Medicine* folyóirat szerkesztőségéhez. Munkánk a lap egyik kiváló szerkesztőjéhez került, aki okos és nemegyszer provokatív kérdéseivel sokat segített abban, hogy a cikk – jó néhány további kísérletnek köszönhetően – egyre jobb lett és megjelent (Dedinszki és mtsai, 2017).

Ha lassan is, de lettek „fejlemények”: Franciaországban, ahol elég nagy betegcsoport áll rendelkezésre, elkezdődött a PPi-kezelés klinikai kipróbálása a pseudoxanthoma elasticum terápiájára (PROPHETI vizsgálat – PyROphosPHate Supplementation to Fight ECTopic Calcification in PseudoXanthoma Elasticum; NCT04868578, clinicaltrials.gov).

Időközben kiderítettük, hogy a pirofoszfát a bal-eseti trauma okozta meszesedést is gátolja (Tőkési és mtsai, 2020), aminek nyomán érdeklődésünk más kalcifikációval társuló betegségek felé is kinyílt. A szkleroderma (SSc, szisztémás szklerózis) az SZBK-ból kiinduló személyes érdeklődés révén került a figyelmünk középpontjába. Az Ssc autoimmun betegség, amely gyakran jár együtt a bőrben és a bőr alatti kötőszövetben a kalciumsók lerakódásával (calcinosis cutis), tehát egyfajta ektopikus meszesedéssel, amely rendkívül fájdalmas szövődmény. Egy amerikai csoporttal együtt felfedeztük, hogy az SSc-betegeknél az egészségesekre jellemzőnél alacsonyabb a keringésben lévő PPI szintje, és feltételeztük, hogy a PPI hiánya hozzájárulhat az SSc-ben kialakuló meszesedéshez, az ún. kalcinózishoz (Hsu és mtsai,

2021). Eredményeink alapján három hazai klinikai központ és a mi kutatócsoportunk részvételével klinikai vizsgálatot engedélyezett a hatóság a perorális PPI-kezelés terápiás hatékonyságának értékelésére (Calcinosis Reduction by Pyrophosphate in SSC; NCT04966416, clinicaltrials.gov). A történet tehát folytatódik (Borst és mtsai, 2019), és még sok meglepetésre számíthatunk.

Ha nagyon röviden szeretnénk összefoglalni, talán így lehetne megragadni a projekt lényegét: kellő időben és kellő mennyiségben adagolt kételkedés, egy jó csapat és nagy adag szerencse. A szerencse definíciója pedig sok év kemény munka – vagy ahogy a nagynevű borászok mondják: „*in vino veriték*”.

VÁRADI ANDRÁS

KÖZPONTI LABORATÓRIUMOK

6726 SZEGED, TEMESVÁRI KRT. 62.

6701 SZEGED, PF. 521.



A HAZAI PROTEOMIKA SZÜLETÉSE – TÖMEGSPEKTROMETRIÁS FEHÉRJEANALÍZIS A BIOLÓGIAI KUTATÁS SZOLGÁLATÁBAN

A tömegspektrometria – hasonlóan számos analitikai technikához – valóban multidiszciplináris tudományág. Fizikai módszereket és a mérnöki tudomány kimagasló teljesítményeit hasznosítjuk kémiai szerkezetek azonosítására, kvalitatív és kvantitatív jellemzésére, és az így nyert ismeretek biológiai folyamatok megértéséhez vezet(het)nek. Hosszú időnek kellett eltelnie, mire idáig jutottunk. Nagyjából a XIX. század végétől egyszerűbb műszerek és fizikai, kémiai módszerek segítségével jelentős ismeretanyagot sikerült felhalmozni a lipidekről, a szénhidrátokról, a fehérjékről, de ugrásszerű fejlődés leginkább a XX. század utolsó harmadában következett be, nem kis mértékben a tömegspektrometriának köszönhetően. Ez a folyamat egyben vissza is hatott a tömegspektrometria fejlődésére, a felmerülő biológiai kérdéseknek és igényeknek megfelelően. Az 1980-as évek végén kezdtek olyan ionizációs módszereket alkalmazni, amelyek nagyobb méretű, poláros, bomlékony molekulák vizsgálatát is lehetővé tették. Ez idő tájt készültek az első olyan készülékek is, amelyek ezen ionok tömegmérését és fragmentációs analízisét is lehetővé tették. Mindemellett a sikerhez a számítástechnika hatalmas fejlődése is elengedhetetlen volt.

Mindezekről a változásokról személyes tapasztalatokkal rendelkezem. 1988 februárjában a University of California, San Francisco Tömegspektrometriás Laboratóriumában (UCSF Mass Spectrometry Facility) kezdtem posztdoktori gyakorlatomat. Ekkor még csupán néhány laboratórium rendelkezett fehérjeanalízisre alkalmas készülékekkel, *Al Burlingame* csoportja a UCSF-en ezek közé tartozott. Eleinte csak egyes fehérjék *de novo* szekvenálására, kovalens vagy poszttranszlációs módosítások jellemzésére használtuk a tömegspektrometriát. A még újabb,



„Nobel-díjas” (2002, *J. Fenn, K. Tanaka*) ionizációs módszereknek (electrospray ionization és matrix-assisted laser-desorption ionization – röviden ESI & MALDI), a „miniatürizált” frakcionálási technikáknak (mikro- majd nano-HPLC), valamint az egyre újabb, érzékenyebb, pontosabb és gyorsabb adatgyűjtésre képes tömegspektrométereknek, továbbá a gyorsabb, hatalmas adatmennyiség kezelésére és tárolására is alkalmas számítógépeknek köszönhetően idővel egyre bonyolultabb elegyek kvalitatív és kvantitatív analízise is lehetővé vált. Ez a technikai fejlődés tette és teszi lehetővé a tömegspektrometria egyre intenzívebb alkalmazását a biológiai folyamatok során bekövetkező minőségi és mennyiségi változások – előfeltevésektől mentes – nyomon követésében. Ideális esetben a különféle nukleinsav-, fehérje-, szénhidrát-, lipid- és metabolitváltozásokat egyaránt követjük.

A PROTEOMIKAI KUTATÓCSOPORT MEGALAKULÁSA ÉS FEJLŐDÉSE

A proteomika egy adott rendszerben bekövetkező fehérjeszintű változásokat igyekszik meghatározni, beleértve a fehérjék minőségi (pl. poszttranszlációs)

módosulásait, kölcsönhatásaik átalakulását és a kvantitatív eltéréseket. Hosszú távon erre a feladatra alakult meg 2000-ben az SZBK Proteomikai Kutatócsoportja. A proteomikai elemzés folyamata a megfelelő mintaválasztást, annak analízisre való előkészítést, az analízis végrehajtását, az eredmények kiértékelését és biológiai kontextusba emelt értelmezését is magában foglalja. Bármelyik szakaszban hibázunk, kísérletünk kudarcba fulladhat. Ennek megfelelően a különböző szakaszokért felelős kutatók vagy inkább kutatócsoportok a kezdetektől – tehát már a tervezési folyamatától – együtt kell, hogy működjenek a siker érdekében. Minden projekt egyedi, akkor is, ha egyes lépésekre léteznek általánosan elfogadott protokollok.

A proteomika biológiai jelentőségét hazánkban tevőlegesen *Juhász Gábor* (ELTE) ismerte fel először, aki *Kékesi Katalinnal* egy 2D-gélfrakcionáláson és differenciált fehérjefestésen alapuló módszert (DIGE) állított be sikeresen a vizsgált rendszerek fehérjetartalom-változásának elemzésére. Ugyanakkor a változást mutató foltok fehérjéinek azonosítását rutinfeladatnak tekintette. A tömegspektrometria jelentőségét szegedi kutatók hamarabb felismerték: az akkori Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem (SZOTE, ma Szegedi Tudományegyetem – SZTE) Orvosi Vegytani Intézetében, *Penke Botond* csoportjában már működött egy olyan tömegspektrométer, amely korszerű ionizációs technikával (ESI) peptidek vizsgálatát tette lehetővé. Intézetünkben *Udvardy Andor* ítélte egyre inkább szükségesnek a tömegspektrometria szakszerű használatát a fehérjekomplexek jellemzéséhez és egyéb biológiai kutatásokban is. Így történt, hogy az SZBK és az SZTE Orvosi Vegytani Intézete közös (és sikeres) pályázatot nyújtott be egy hiánypótló, alternatív ionizációs technikával működő MALDI-TOF tömegspektrométer beszerzésére. *Vígh László*, a Biokémiai Intézet akkori igazgatója engem hívott meg a csoport vezetésére, azt is elfogadva, sőt előnyként értékelve, hogy kaliforniai (UCSF) pozíciómát megtartom. Évtizedes fehérje-tömegspektrometriás gyakorlattal, a fehérjeszekvenálástól a különféle kovalens módosítások azonosításáig terjedő tapasztalatokkal, továbbá két fiatal kutatóval, *Darula Zsuzsával* és *Hajnal Andreával* indultunk el az alapoktól. Az SZBK alagsorában korszerű laboratóriumot alakítottak ki, amely a műszer működtetésére és a minták előkészítésére is alkalmas volt. *Andrea* felügyelte ezt a munkát, a szükséges vegyszerek, fogyóeszközök, kisműszerek beszerzését, majd tesztelte az első fehérje-

emésztési protokollt. Mindez nem kevés energiát, precizitást, kitartást és találmányosságot követelt. Ezalatt *Zsuzsa*, irányításom mellett, a UCSF-en sajátította el a tömegspektrometriás fehérjeanalízis alapjait. Erre mindössze három hónap állt rendelkezésére, ám ezt az időt maximálisan kihasználta: erőfeszítéseit 3 publikáció is tanúsítja. Mire a műszer megérkezett, már minden adott volt az analízisekhez.

A csoport működését sikeresen megalapozó *Darula-Hajnal*-páros együttműködése családi okok miatt hamarosan félbeszakadt, a stafétabotot *Hunyadi-Gulyás Éva* és *Klement Éva* vette át, akik gyorsan beletanultak feladataikba, a későbbiekben pedig lelkesedésükkel, kitartásukkal, eredményeikkel hazai és külföldi kutatók elismerését egyaránt kivívták. A csoportnak ma is oszlopos tagjai, fejlődésének előmozdítói, egyenletes színvonalának fenntartói. Külön kiemelném *Klement Éva* helytállását, aki közel másfél éven keresztül egyedül vitte a labort néhány kezdő kollégával (*Szajli Emília* PhD-hallgató, *Csorba Attila*, *Buzás Krisztina*), és közben arra is jutott ideje, hogy – immáron nálunk végzett kutatásaiból – megírja PhD-dolgozatát. Eközben *Hunyadi-Gulyás Éva* a müncheni Max Planck Intézet *Chris Turck* vezette Proteomikai Csoportjában kapott lehetőséget arra, hogy a kvantitatív proteomikával ismerkedjen. Csaknem vele egy időben *Darula Zsuzsa* is visszatért. Ennek a három ambiciózus, szorgalmas és tehetséges fiatal nőnek köszönhető a Proteomikai Kutatócsoport eredményei és országos elismertsége.

KORSZERŰ MŰSZERPARK, KOLLABORÁCIÓK, NEMZETKÖZI ELISMERTSÉG

Az évek folyamán különféle pályázati támogatások révén folyamatosan bővült a műszerállományunk: először egy mikro- és nanofrakcionálásra is alkalmas HPLC készülékre tettünk szert, majd *Puskás László* segítségével megvásárolhattunk egy folyadékkromatográfiával online összekapcsolható ESI-LC-MS ioncsapda-tömegspektrométert (2008). Ez ugyan a legprimitívebb a komplex minták analízisére alkalmas készülékek között, de így is hatalmas előrelépést jelentett. Később beszerezhattunk egy előfrakcionálásra és frakciószerelésre alkalmas HPLC-rendszert is. Az igazi fejlődést viszont a lipidomikai kutatás terén elismert, és ehhez korszerű tömegspektrometriát igénylő Molekuláris Stresszbiológia Csoporttal való összefogás hozta el. Ennek az összefogásnak az eredménye volt

az első igazán korszerű készülékünk (Thermo Orbitrap ELITE, 2012) beszerzése és az annak megfelelő korszerű laboratórium kialakítása, amit az SZBK támogatása tett lehetővé. Azóta is tartó együttműködésünk kiváló példája annak, hogy egy műszer beszerzése, működtetése és karbantartása ilyen kooperációs formában is megoldható, sőt előnyösebb is lehet. Az új műszer megfelelő kihasználásához elengedhetetlen, korszerű nano-HPLC készüléket *Magyar Zoltán* csoportja biztosította egy független pályázattal. Tudni kell, hogy a tömegspektrometria szédítő tempóban fejlődik – mire egy készüléket üzembe helyeznek, már csaknem elavultnak számít. Nem csoda hát, hogy néhány évvel később (2017) újabb – ezúttal nano-LC-MS – készülékegyüttesért pályáztunk, szerencsére sikeresen.

A műszerparkunkkal párhuzamosan kutatásunk módszerei, céljai és eredményei is hatalmas változásokon mentek keresztül. Több mint 10 éve már egy technikus, *Báloné Árva Ágnes* is segíti munkánkat. A „rutin” fehérjeazonosításokon túl már „a hőskorban” is foglalkoztunk *de novo* szekvenálással és poszttranszlációs módosításokkal (PTM), de eleinte csak egyedi fehérjéket jellemezhattünk, és gyakran speciális frakcionálási lépésekre, derivatizálásra, extra „trükkökre” volt szükség egy-egy kérdés megválaszolásához, még az olyan problémák esetében is, amik ma egyetlen LC-MS/MS analízissel megoldhatók.

Komplex rendszerek PTM-analíziséhez vagy kvantitatív jellemzéséhez viszont a mai műszerezettségünk elengedhetetlen. Már *Dürgő Hajnalka* PhD-témája (a *Kondorosi*-csoporttal), a növény és a nitrogénkötő baktérium szimbiózisa kialakulásában kulcsszerepet játszó peptidek szisztematikus vizsgálata sem valósulhatott volna meg korszerű LC-MS/MS-analízis nélkül. A bennünket leginkább

foglalkoztató O-glikoziláció pedig egyáltalán nem jellemezhető az Orbitrap készülékeinken hozzáférhető alternatív fragmentációs módszer, az ún. elektrontranszfer-disszociáció (ETD) nélkül. A mucin típusú O-glikopeptidek jellemzése terén elért eredményeink úttörők és egyedülállóak – ezeknek köszönhetően lehetttem meghívott előadó és szekcióelnök a HUPO (Human Proteome Organization) két konferenciáján (2017, 2019), *Darula Zsuzsa* pedig nyitóelőadást tartott a 2022. évi International Mass Spectrometry Conference (IMSC) szénhidráts MS szekciójában. *Pap Ádám* MSc- és PhD-dolgozatát is glikozilációs vizsgálatokból írta; eredményeiből 7 cikk született, köztük egy összegző publikáció is.

Az alternatív fragmentációs technikák elérhetősége kulcskérdés lehet egyéb PTM-ek jellemzésénél is – különös tekintettel az olyan labilis módosításokra, mint például a szulfatálás, illetve toxinok és egyéb bioaktív peptidek szekvenciameghatározásánál, ami szintén az egyik specialitásunk. Többek között a Nobel-díjas *David Julius* toxinmintáit is vizsgáltuk már Szegeden. Kutatásaink során egyre növekvő igény van kvantitatív meghatározásokra is, amely vonatkozhat egy adott fehérje pozícióspecifikus PTM-változásaira vagy a vizsgálandó fehérjeelegy relatív összetételének módosulására. A legújabb készülékünk üzembe helyezésével párhuzamosan bizonyos paradigmaváltás is bekövetkezett a kutatócsoportunkban. Ez *Pettkő-Szandtnér Aladár* nevéhez fűződik, aki biológiai kutatásai során sikeresen adaptált és tökéletesített egy fehérjekomplexek izolálására alkalmas metódust, és ezt a szakértelmet hozzánk csatlakozva kívánja más kutatócsoportok hasznára fordítani.

MEDZIHRADESKY F. KATALIN

IZOTÓPJELÖLÉS AZ SZBK-BAN

A Szegedi Biológiai Kutatóközpont „B”-szintű Izotóp Laboratóriuma *Sirokmán Ferenc* egyetemi docens vezetésével 1974 januárjában kezdte meg működését az intézmény központi laboratóriumaként. A kutatómunka részét képező radioaktív nyomjelzés mellett szolgáltatási feladatokat is ellátott. A laboratóriumhoz ^{60}Co sugárforrás is tartozott.

A mindenkori vezető egyben a sugárvédelmi szolgálat vezetője is volt. Mi rendeltük meg a radioaktív izotópokkal jelzett vegyületeket a többi intézetben működő, „C”-szintű izotóplaboratóriumokban dolgozó kutatók számára. Az izotóptanfolyamokat a Szegedi Tudományegyetem Radiokémiai Tanszékének munkatársaival közösen végeztük. Az Izotóp Laboratórium fő feladatai közé tartozott és tartozik részben ma is az évenkénti sugárvédelmi ellenőrzés az SZBK minden laboratóriumában, amit radioaktív minták gyűjtésével és mérésével valósítunk meg. Emellett a radioaktív hulladékok gyűjtése, tárolása és elszállítása is fontos feladatunk. A laboratórium felállítása utáni első év-tizedben kiemelt feladatunk volt a ^{32}P -jelzett alfa- és gamma-ATP előállítása (*Lovas Sándor, Bakó László*) a Kutatóközpont munkatársai számára.

A kutatás mellett külső munkákat is végeztünk gyógyszer- és növényvédőszer-gyárak részére (Chinoin, Egis, Alkaloida, Richter, NIKE Fűzfő, ESTEVE, Basel). Az Izotóp Intézet Kft.-vel való együttműködésünk alapját a tríciummal jelzett opioidligandumok (morfinvázas és opioid peptidek) terméké fejlesztése képezte. E munkákban *Tóthné Papp Éva* vegyésztéchnikus jelentős szerepet játszott.

Laboratóriumunkban elsősorban tríciummal jelzett vegyületeket állítunk elő, de ezen kívül ^{14}C - és ^{125}I -izotópos jelöléseket is rendszeresen végzünk. A triciáló készüléket *Tóth Géza* tervezte, jórészt francia és cseh tanulmányútjai során elsajátított új ismeretei nyomán. *Sirokmán Ferenc* nyugdíjazását követően (1989) a laborvezetői feladatokat is ő vette át. Ugyancsak ő fejlesztette ki laboratóriumunkban a nem természetes aminosavak és peptidek szintézisét, szintén külföldi tanulmányutakon (Arizonai Egyetem Kémiai Tanszéke, Tucson; flamand Vrije Egyetem Szerves

Kémiai Tanszéke, Brüsszel) szerzett ismeretei révén. Jelentős kutatói és publikációs tevékenysége nyomán az MTA doktori fokozatát is elnyerte.

Tóth Gézát 2006-ban *Tömböly Csaba* követte a laborvezetői székben, aki az izotópjelölés mellett a biokémiai kutatásokat is elindította.

AZ ALAPOK

Röviddel a radioaktivitás felfedezése után *Hevesy György* kidolgozta a nyomjelzés elvét és megalkotta a nyomjelzéstechnikát (1913), amely a fizikai, kémiai és élettudományok fontos kísérleti eszközévé vált. A módszer fejlődését jelentősen segítette a mesterséges radioaktivitás felfedezése, majd az első mesterséges radioizotópok előállítása. Ez az úttörő munka tette lehetővé az élő szervezetben lezajló biokémiai és fiziológiai folyamatok dinamikai vizsgálatát, valamint a nukleáris medicina tudományágának kialakulását.

TRÍCIUMJELÖLÉS

A trícium (^3H) ideális radionuklid a biológiai jelentőségű molekulák jelöléséhez. Hosszú felezési idejének (12,35 év) köszönhetően viszonylag nagy moláris aktivitású jelzett vegyületek előállítására ad lehetőséget. Ezen kívül tiszta β -sugárzásának maximális energiája csupán 18,6 keV, és a szervezetbeli biológiai felezési ideje is rövid (12 nap), ezért biztonságosan használható, egészségkárosító kockázata kicsi.

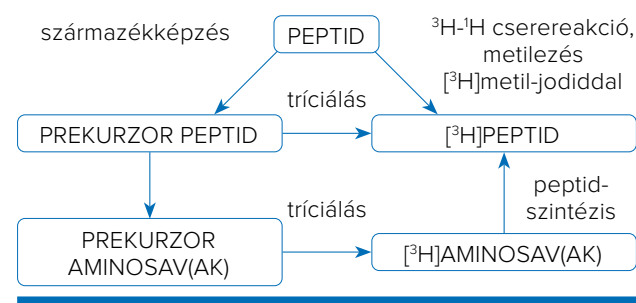
A trícium beépítése a molekulákba izotópcserereakciókkal, direkt kémiai szintézissel vagy biokémiai, enzimatis reakciókkal történhet. A gáz halmazállapotú trícium és a szerves molekulák hidrogénatomjai közötti cserereakciók végbemenetelét a trícium sugárzási energiája teszi lehetővé. Így viszont csak alacsonyabb moláris aktivitású jelzett vegyületek állíthatók elő, amelyekben a radioaktív atomok helyzetét csak statisztikai úton becsülhetjük. A modern élettudományi kutatások által igényelt magasabb moláris aktivitású, specifikusan jelzett vegyületek előállítására direkt kémiai szintézist kell alkalmazni. Ennek során a kémiai reakciók által

meghatározott pozíciókba építhetjük be a radioaktív jelet, és a molekulán belüli izotópeloszlás tekintetében is homogén terméket – nyomjelzett kísérleti eszközt – kapunk. A jelölést elsősorban tríciumgázzal végzett hidrogénezési reakcióval vagy fém-tritidekkel végzett redukcióval hajtjuk végre. Figyelemre méltó, hogy a trícium atomtömege 3-szor nagyobb, mint a próciumé (^1H , a leggyakoribb hidrogénizotóp), így az izotópeffektus jelentős. Az így előállított ^3H -jelzett vegyület alkalmazhatóságát a beépített radioaktív atom kémiai stabilitása és a jelzett vegyület radiolízissel szembeni érzékenysége határozza meg. A tríciumjel akkor a legstabilabb, ha a ^3H szénatomhoz kötődik, míg akkor, ha heteroatomhoz (O, N, S) kapcsolódik, a jel labilis. Érdekes külön figyelmet fordítani a savakra, bázisokra érzékeny, illetve a biolabilis pozíciókra is, ami segíti a felhasználás megfelelő körülményeinek megválasztását.

OPIOIDRECEPTOR-LIGANDUMOK RADIOAKTÍV JELÖLÉSE

Laboratóriumunkban fontos feladat és kutatási terület az opioidreceptor-ligandumok radioaktív jelölése és ezek alkalmazása az opioidkutatásban. E munkáink során nagy segítségünkre volt az SZBK Biokémiai Intézetének Opioid Receptor Csoportja, valamint külföldi együttműködési lehetőségeink.

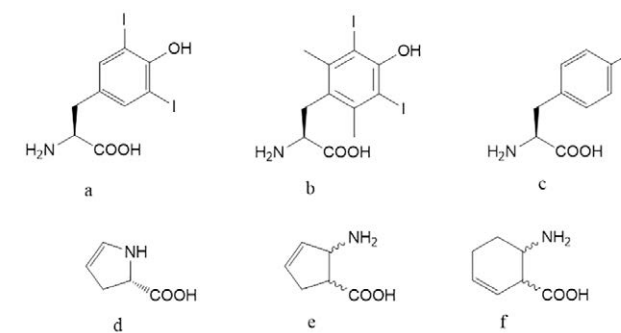
Az opioidreceptorok jelenlétét 1973-ban triciált morfin, naloxon és etorfin felhasználásával, radio-receptor-kötési vizsgálatokkal bizonyították, majd azonosították azok endogén peptidligandumait (enkefalinok, dinorfinok, endomorfink) is. Mivel az opioid rendszer nagyon összetett és az egyes receptorfehérjék szerkezete mindmáig ismeretlen, rengeteg radioligand-receptor-kötési kísérleten alapuló szerkezet-hatás összefüggésvizsgálatot végeztek az ideális, specifikus hatást kiváltó, mellékhatásoktól mentes opioidligandum(ok) fejlesztése érdekében. Csoportunkban számos, az opioidreceptorok kutatásában alkalmazott ^3H -jelzett alkaloid és peptid típusú radioligandum előállítását dolgoztuk ki. A triciált peptideket általában a megfelelő prekursorpeptidekből, trícium gáz és palládium katalizátorok felhasználásával állítjuk elő (1. ábra). Redukcióra érzékeny peptidek esetében a ^3H -jelzett peptidek előállítására lépésenkénti peptidszintézist alkalmazunk, triciált aminosavak felhasználásával. Megemlítendő, hogy Borics Attila kollégánk számos spektroszkópai és komputeres módszert fejlesztett ki az opioidkutatáshoz.



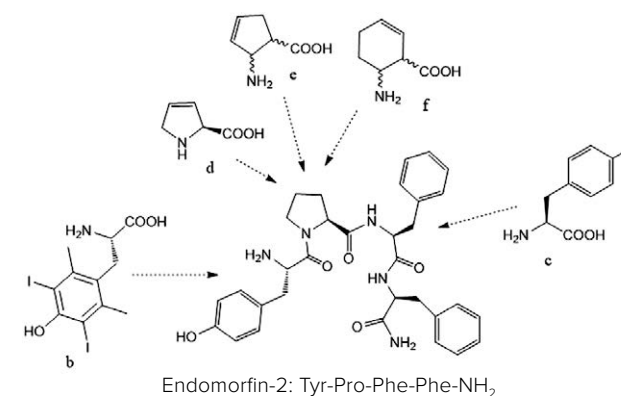
1. ÁBRA. Triciált peptidek szintézisének lehetőségei

ENDOMORFIN-SZÁRMAZÉKOK KUTATÁSA

Az opioidpeptidek családjába tartozó endomorfinkat (endomorfín-1: Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂, endomorfín-2: Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) *Zadina* és munkatársai izolálták marhaagyból (1997). Mindkét tetrapeptid-amid a μ -opioidreceptorok nagy affinitással és szelektivitással kötődő endogén liganduma. Ezzel magyarázható, hogy az endomorfink új analgetikumok fejlesztésére alkalmas vezérmolekulák. Első irodalmi leírásukat követően laboratóriumunkban azonnal előállítottuk az endomorfink több ^3H -jelzett származékát. A szintézisekhez prekursor endomorfín-származékokat használtunk fel. Ezek katalitikus dehalogénezésével vagy telítésével olyan nagy moláris aktivitású izotóp-izomereket kaptunk, amelyek a radioaktív jelet különböző aminosavakban hordozták. A kapott radioligandumokat receptorkötődési vizsgálatokban jellemeztük, majd patkányagiban történő degradációs vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy proteolitikus lebomlásuk a Pro² és a Trp³/Phe³ aminosavak közötti peptidkötés hasadásával kezdődik és a képződő dipeptidek hidrolízisével végződik. A metabolizmusvizsgálatok eredményeiből kiindulva proteolitikus enzimekkel szemben ellenálló, új endomorfín-származékokat állítottunk elő, ahol a Pro² aminosavat aliciklusos β -aminosavakkal (2-amino-ciklopentán-karbonsav, Acpc; 2-amino-ciklohexán-karbonsav, Achc) helyettesítettük, illetve dimetil-tirozint építettünk be az N-terminális pozícióba. Mivel az így kapott vegyületek megőrizték μ -opioidreceptor-affinitásukat és enzimatisz stabilitásuk is nőtt, néhányat tríciummal is jelöltünk. Az ehhez szükséges új prekursor aminosavakat a 2. ábra mutatja; ezek kereskedelmi forgalomban nem kaphatók, és mi alkalmaztuk őket elsőként radioaktív jelölés prekursoraiként. A tríciummal jelzett endomorfín-2 prekursorai a 3. ábrán láthatók.



2. ÁBRA. Triciált peptidek szintéziséhez alkalmas prekursor aminosavak: a) 3,5-dijód-tirozín; b) 3,5-dijód-2,6-dimetil-tirozín; c) p-jód-fenilalanin; d) 3,4-dehidro-prolin; e) 2-amino-3-ciklopentén-karbonsav; f) 2-amino-5-ciklohexén-karbonsav



3. ÁBRA. Prekursor endomorfín-2-származékok

A fluoreszcencia mérésén alapuló technikák elterjedése mellett a triciált peptidek még mindig jelentős kutatási eszközök, hiszen éppen a vizsgált molekulával való kémiai azonosságuk teszi lehetővé abszolút szerkezet-hatás vizsgálatok kivitelezését. Ilyen módon nagyszámú vegyület affinitása vizsgálható ismeretlen szerkezetű receptorfehérjéken végzett radioligandum-kötési vizsgálatokkal, és autoradiográfias mérésekkel az adott receptorok szöveti eloszlása is vizualizálható. Ezen túlmenően a radioaktív peptidek enziminhibitorok jellemzését is segítik.

OKTATÁS

Kutatómunkánk mellett oktatási tevékenységünk is jelentős. A laboratóriumi munkákban egyetemi hallgatók és PhD-hallgatóink is részt vettek. Tizenegy PhD-hallgatónk (*Darula Zsuzsanna, Hunyadi-Gulyás Éva, Kertész István, Tömböly Csaba, Cserpán Erzsébet, Leitgeb Balázs, Szemenyei Erzsébet, Keresztes Attila, Jayapal Reddy Mallarady, Schaffer Balázs és Argha Mitra*) sikeresen védte meg PhD-disszertációját. A PhD-hallgatók lehetőséget kaptak külföldi tanulmányutakon való részvételre, és publikációs tevékenységük is jelentős.

TÓTH GÉZA